

Pirinç Kepeği Yağlarının Fiziko-Kimyasal Özellikleri ve Oksidatif Stabilitelerinin Belirlenmesi

Ümit GEÇGEL^{1*} Orhan DAĞLIOĞLU¹ İsmail YILMAZ¹ Muhammet ARICI² Kadir G. GÜNER¹
Demet APAYDIN¹ Gizem Ç. DÜLGER³ Onur AY¹ Berna ERSÖZ² Yosun ÇOTRA¹
Murat TAŞAN¹

¹Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 59030, Tekirdağ, Türkiye

²Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

³Trakya Üniversitesi, Arda Meslek Yüksekokulu, 22100, Edirne, Türkiye

*Sorumlu yazar: E-mail: ugecgel@nku.edu.tr

Geliş Tarihi (Received): 08.08.2016

Kabul Tarihi (Accepted): 07.09.2016

Bu çalışmada; stabilizasyon işleminin pirinç kepeği yağının fizikokimyasal özelliklerine ve yağ asidi bileşimine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İki farklı pirinç kepeği çeşidi (Osmancık ve Opela); mikrodalga, etüv ve mikrodalga+etüv olmak üzere 3 farklı yöntemle stabilize edilmiştir. Pirinç kepekleri toplamda dokuz farklı stabilizasyon şartında muamele edilmiştir. Mikrodalga ile stabilizasyonda 600 W 1 dk, 600 W 2 dk, 600 W 3 dk; etüv ile stabilizasyonda 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk, 120°C'de 30dk, etüv ve mikrodalga'nın birlikte kullanıldığı kombine yöntemde ise 600 W 2dk mikrodalga+80°C'de 30dk etüv; 600 W 2dk mikrodalga+100°C'de 30dk etüv ve 600 W 2dk mikrodalga+120°C'de 30dk etüv uygulaması yapılmıştır. Stabilizasyon işleminden sonra pirinç kepek yağ solvent ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiştir. Elde edilen pirinç kepeği yağlarına ait serbest yağ asitliği değeri, peroksit sayısı, yağ asitleri bileşimi, sterol kompozisyonu, iyot sayısı, sabunlaşma sayısı, özgül ağırlık değeri ve kırılma indisi değeri belirlenmiştir. Uygulanan stabilizasyon işlemleri sonucunda pirinç kepeği yağlarının serbest yağ asitliği, peroksit sayısı ve iyot sayısı değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Stabilizasyon işlemi, pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısında istatistiksel açıdan önemli değişikliklere neden olmamıştır ($p>0,05$). Pirinç kepeği yağında en çok bulunan sterol β -sitosterol olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Pirinç kepeği yağı, oksidatif stabilite, fiziko-kimyasal özellikler, stabilizasyon

Determination of Physicochemical Properties and Oxidative Stability of Rice Bran Oils

In this research, it was aimed to determine the effects of stabilization on some physicochemical properties and fatty acid composition of rice bran oil. The rice bran samples (Osmancık and Opela) was stabilized under three ways (microwave, drying oven and microwave + drying oven) including nine conditions (drying oven: 80°C 30 min, 100°C 30 min, 120°C 30 min; microwave : 600 W 1 min, 600 W 2 min, 600 W 3 min; microwave + drying oven: 600 W 2 min microwave - 80°C 30 min drying oven, 600 W 2 min microwave - 100°C 30 min drying oven, 600 W 2 min microwave - 120°C 30 min drying oven). The rice bran oil was obtained by solvent extraction technology. The free fatty acids content, peroxide value, iodine number, saponification number, specific gravity, refractive index, fatty acid composition and the sterol composition of rice bran oil samples were determined. The acidity, peroxide value and iodine number of the oil samples were significantly decreased with the stabilization process applied ($p<0,05$). In contrast, the saponification number of rice bran oil samples exhibited non-significant changes ($p>0,05$). β -sitosterol was detected as the main sterol in rice bran oil.

Key words: Rice bran oil, oxidative stability, physicochemical properties, stabilization

Giriş

Pirinç kepeği yağı endüstriyel kullanımı, sağlık üzerindeki etkileri, eşsiz orizanol içeriği ve yüksek seviyede içerdiği sabunlaşmayan maddelerden dolayı dünyada giderek artan bir ilgi görmektedir

(Gopala Krishna, 2002; Donley, 2009). Çeltik işleme yan ürünü olarak pirinç kepeğinden elde edilen pirinç kepeği yağının dünyadaki yıllık üretimi 1 ile 1,4 milyon ton arasında değişmektedir. Söz konusu üretimin önemli bir kısmını Hindistan, Çin, Japonya ve Myanmar gibi

Asya'daki çeltik üreticisi ülkeler oluşturmaktadır. Ancak Hindistan pirinç kepeği yağının merkezidir. Dünya pirinç kepeği yağı üretiminin yarısından fazlası Hindistan'da gerçekleştirilmekte olup Japonya'dan sonra en büyük ithalatçıdır (40,000-45,000 ton/yıl). Aynı zamanda 20,000 ton ile 30,000 ton/yıl arasında da ihracat yapmakta ve pirinç kepeği yağı piyasasını belirlemektedir. Pirinç üretiminde ortalama olarak % 7-8 pirinç kepeği elde edilmekte ve pirinç kepeğinden elde edilen yağ oranı da % 15 civarında olmaktadır. Yağ ekstraksiyonundan sonra elde edilen yan ürün yağsız pirinç kepeğidir (Donley, 2009).

Bitkisel yağlar arasında pirinç kepeği yağı ticari olarak önemli biyoaktif fitokimyasalların eşsiz ve zengin bir kaynağı olup, bu fitokimyasalların çoğuna beslenme, eczacılık ve kozmetik alanlarında ilgi duyulmaktadır. Pirinç kepeği yağının sabunlaşmayan bileşenleri başlıca tokoferoller (vitamin E, % 0,10-0,14) ve γ -orizanol (steroller ve triterpenik alkoller ile birlikte *transferulic* asitin esterleri, % 0,9-2,9)'den oluşmaktadır. Buna ilave olarak lesitin ve karotenoid gibi diğer bileşenler de daha düşük konsantrasyonlarda yer almaktadırlar (Lerma Garcia ve ark., 2009).

Daha önce yapılan çalışmalar, mısır yağı ve aspir yağı gibi yaygın olarak kullanılan bitkisel yağlara benzerliği ile birlikte, lipoprotein ve serum kolesterol seviyelerini iyileştirici etkisinden dolayı pirinç kepeği yağının tercih edilen bir bitkisel yağ olduğunu göstermiştir (Tahira ve ark., 2007). İnsanlardaki kolesterol düşürücü aktivitesi, düşük doymuş yağ asidi ve zengin fitokimyasal içeriğinden dolayı, pirinç kepeği yağının insan diyetinde geniş uygulama alanı olduğu görülmektedir (Hragrove, 1994; Most ve ark., 2005).

Pirinç kepeği yağı, sahip olduğu bileşenler ve besleyici değer açısından son derece kıymetli bir yağ olup, endüstrideki kullanım alanlarının giderek artması ile her geçen gün daha da önem kazanmaktadır. Bu araştırmada, ülkemizde çok az bilinen pirinç kepeği yağının bileşimi ve farklı stabilizasyon metotları üzerinde durulmuştur.

Türkiye'de genel anlamda pirinç kepeği yağının kalitesi üzerine yapılan çalışmalar çok sınırlı olup, yerli ve ithal çeşitlerin yağlarının fiziko-kimyasal özellikleri konusunda şu ana kadar yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışma kapsamında, farklı stabilizasyon şartlarında çeltik çeşitlerinden elde edilen pirinç kepeği yağlarının

bazı fiziko-kimyasal özellikleri (yoğunluk, kırılma indisi, renk, serbest yağ asitliği, iyot sayısı, yağ asidi kompozisyonu, tokoferol ve sterol kompozisyonu v.b. gibi) ile oksidatif stabiliteyi (peroksit sayısı) belirlenmiştir. Çalışmada, ülkemizde en fazla yetiştirilen ve yerli bir çeşit olan "Osmancık" ile yurt dışından ithal olarak getirilen ve Trakya Bölgesindeki çeltik fabrikalarında işlenen çeşitlerden birisi olan "Opela" çeltik çeşitinin kepeklerinden elde edilecek yağların kalite özellikleri incelenmiştir.

Materyal ve Metod

Materyal

Bu çalışmada Osmancık ve Opela olmak üzere 2 farklı çeltik çeşidine ait pirinç kepekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan çeltiklere ait pirinç kepekleri Edirne ilinin İpsala ilçesinde bulunan "Sezon Pirinç ve Tarım Ürünleri Gıda San. Tic. A.Ş." den temin edilmiştir.

Metod

Pirinç Kepeğinin Stabilizasyonu

Çeltikten pirinç elde edilmesi esnasında bizzat İpsala'da bulunan fabrikaya gidilmiş ve proses süresince kepek elde edildikten hemen sonra fabrikadaki laboratuvarında enzim faaliyetlerinin önüne geçebilmek için derhal ve süratle stabilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Pirinç kepeği; mikrodalga, etüv ve mikrodalga+etüv olmak üzere 3 farklı yöntemle stabilize edilmiştir. Mikrodalga ile stabilizasyonda 600 W 1 dk, 600 W 2 dk, 600 W 3 dk olmak üzere 3 farklı stabilizasyon normu uygulanmıştır. Etüv ile stabilizasyonda 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk ve 120°C'de 30dk olmak üzere 3 farklı stabilizasyon normu uygulanmıştır. Etüv ve mikrodalga'nın birlikte kullanıldığı kombine yöntemde ise 600 W 2dk mikrodalga + 80°C'de 30dk etüv, 600 W 2dk mikrodalga + 100°C'de 30dk etüv, 600 W 2dk mikrodalga + 120°C'de 30dk etüv uygulaması yapılmıştır. Toplamda pirinç kepeğine 9 farklı şekilde stabilizasyon işlemi uygulanmıştır.

Pirinç kepeğinden yağ eldesi

Pirinç kepeğinden yağ eldesinde Anonim (1987b) madde 1.122'de verilen solvent ekstraksiyon (sokshelet) yöntemi uygulanmıştır. Stabilizasyon

işlemi yapılan pirinç kepeği örnekleri 4 saat süre ile ekstraksiyon işlemine tabii tutulmuş, daha sonra vakumlu rotary evaporatör yardımı ile solvent (hekzan) yağdan ayrılmış ve son olarak etüvde 105±5 °C'de 15 dk. tutularak balonlarda kalan hekzan tamamen uçurulmuştur.

Bileşen analizleri

Pirinç kepeği yağı numunelerinin kırılma indisleri Abbe tipi refraktometre ile tespit edilmiştir. Bu amaçla spatula yardımıyla alınan pirinç kepeği yağı numuneleri, refraktometrenin prizması üzerine dökülmüş ve 20 °C'de okuma yapılmıştır (Anonim, 1970a). Elde edilen pirinç kepeği yağlarının özgül ağırlıkları tayininde piknometre kullanılmış ve TS 894 standartına göre analiz yapılarak hesaplanmıştır (Anonim, 1970b).

İncelenen örneklerin iyot sayısı, serbest yağ asitliği ve peroksit sayılarının belirlenmesinde sırasıyla IUPAC 2.205, IUPAC 2.201 ve IUPAC 2.501 sayılı metotlar kullanılmıştır (Anonim 1987a).

Yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesinde Kapılar Gaz-Likit Kromatografisi (Hewlett-Packard 6890 Series II) cihazı kullanılmış ve AOCS (1993)'de verilen Ce 2-66 no'lu BF₃-metanol ile metilesterlerine dönüştürülmesi metodu uygulanmıştır. Gaz kromatografisi cihazına monte edilmiş Alev İyonizasyon (FID) dedektörü ve % 100 sianopropil polisiloksan ile kaplanmış, slika kapiler kolon (CP Sil 88, uzunluğu 50 m x iç çapı 250 µm ve film kalınlığı 0,20 µm; Chrompack, Middelburg, Holland) kullanılmıştır. Yağ asiti metil esterleri gaz kromatografisi cihazına 0.5 µL enjekte edilerek yağ asiti bileşimlerini gösteren kromatogramlar elde edilmiştir. Elde olunan pikler bileşenlerin veya yağ asitlerinin alıkonma zamanlarına göre tanımlanmış, alanlardan ise her yağ asitinin konsantrasyonu veya derişimi integratör ile hesaplanmıştır (Hışıl, 1998).

Sterol kompozisyonu

500 mg yağ örneği, 25 mL metanol ile hazırlanmış 2M potasyum hidroksit ile su buharı banyosunda 1 saat sabunlaştırılmış ve karışıma su eklendikten sonra sabunlaşan maddeler üç kez hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Kuru sodyum sülfat (Na₂SO₄) eklendikten sonra 1 saat beklenmiştir. 500 µL örnek, 100 µL BSTFA (Bistrimethylsilyl

trifluoroacetamide)/ TMSCI (Trimethyl Chlorosilan) (4:1, v:v) karışımı ile karıştırılmış ve steroller ekstrakte edilmiştir. 0,8 mL örnek, CP-SİL 24 CB kolon (60m x 0,32 mm x 1,00 µm) bulunan GC sisteminde analiz edilmiştir. Sıcaklık programı şu şekildedir: 50 °C'de 2 dk beklemekte, 60 °C dak-1 hız ile 245 °C'ye çıkmakta ve bu sıcaklıkta 1 dk beklemekte, 3 °C dk⁻¹ hız ile 275 °C'ye çıkmakta ve bu sıcaklıkta 35 dk beklemektedir. Taşıyıcı gaz olarak 0,8 mL dk⁻¹ hızında helyum kullanılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırasıyla, 280 ve 300°C'ye ayarlanmış ve örnekler 1:25 split oranı ile enjekte edilmiştir (Kamm ve ark. 2002).

İstatistiksel analizler

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel analizlerin yapılmasında SPSS 18.0 paket programı kullanılmıştır. Verilere varyans analizi uygulanarak, farklılıklar % 5 güven aralığında (p<0,05) belirlenmeye çalışılmıştır. Varyasyon kaynaklarının ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan's Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Farklı şartlarda stabilize edilen pirinç kepeği yağlarının fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler

Çizelge 1'de farklı şartlarda stabilize edilen pirinç kepeği yağlarının fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler gösterilmiştir.

Çizelgede 1'deki serbest yağ asitliği değerleri incelendiğinde, farklı sıcaklık ve sürelerde stabilizasyon işlemleri uygulanan Osmançık ve Opela pirinç kepeği çeşitlerine ait yağlarda serbest yağ asitliği değerinde kontrol örneğine göre azalmalar olduğu görülmektedir. Bu azalmalar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Başlangıçta %8,5 olan serbest yağ asitliği değeri; 600 W 1 dk, 600 W 2 dk ve 600 W 3 dk uygulanan mikrodalga işlemlerinde sırasıyla %7,5, %6,41 ve %6 değerlerine düşmüştür. Etüvde yapılan stabilizasyon işlemi de pirinç kepeği yağının serbest yağ asitliğinin düşmesine neden olmuştur. Pirinç kepeğine uygulanan 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk ve 120°C'de 30dk etüv ile stabilizasyon işlemi ile serbest yağ asitliği değerleri sırasıyla %8,3 %8 %7,8 değerlerinde bulunmuştur.

Çizelge 1. Osmancık ve Opela pirinç kepeği yağlarının farklı stabilizasyon şartlarına göre fizikokimyasal özellikleri
Table 1. Physicochemical properties of Osmancik and Opela rice bran oils due to different stabilization conditions

Örnek	Stabilizasyon Şartları	Serbest yağ asitliği (oleik asit, %)	Peroksit Değeri (meqO ₂ /kg)	İyot Sayısı	Sabunlaşma sayısı	Özgül ağırlık (g/cm ³) (25°C/25°C)	Kırılma indisi (25°C)
OSMANCIK	Kontrol	8,5±0,1a	12,0±0,2a	111,9±0,2a	192,7±0,1d	0,916±0c	1,473±0a
	Mikrodalga 600 W 1 dk	7,5±0,1c	8,0±0,1d	108,8±0,3c	193,0±0,1bc	0,916±0c	1,472±0ab
	Mikrodalga 600 W 2 dk	6,4±0,2d	7,3±0,2e	106,5±0,2e	192,0±0,1f	0,917±0bc	1,47±0,001c
	Mikrodalga 600 W 3 dk	6,0±0,1e	6,0±0,1f	106,5±0,1e	192,2±0,1e	0,917±0,001bc	1,47±0,001c
	Etüv 80°C 30 dk	8,3±0,1a	10,8±0,2b	107,2±0,4de	192,9±0,1c	0,917±0bc	1,47±0c
	Etüv 100°C 30 dk	8,0±0,1b	9,5±0,2c	110,5±0,2b	193,0±0,1bc	0,918±0b	1,472±0ab
	Etüv 120°C 30 dk	7,8±0,1b	6,4±0,2f	109,3±0,2c	193,1±0,1ab	0,92±0,001a	1,471±0,001bc
	Kombine 600 W 2dk- 80°C 30 dk	6,0±0,1e	5,5±0,1g	107,5±0,2d	193,2±0a	0,916±0,001c	1,47±0c
	Kombine 600 W 2dk- 100°C 30 dk	5,5±0,1f	4,2±0,1h	107,9±0,1d	193,2±0a	0,917±0bc	1,47±0c
	Kombine 600 W 2dk- 120°C 30 dk	4,5±0,1g	2,5±0,1i	106,5±0,2e	191,7±0,1g	0,918±0b	1,47±0,001c
	Stabilizasyon Etkisi	*	*	*	*	*	*
OPELA	Kontrol	8,0±0,1a	11,0±0,1a	108,2±0,1c	194,6±1,1a	0,917±0bc	1,472±0,001ab
	Mikrodalga 600 W 1 dk	7,7±0,1b	7,5±0,1b	105,2±0,1d	193,4±0,1b	0,916±0,001c	1,47±0,001bc
	Mikrodalga 600 W 2 dk	6,0±0,1e	4,9±0,1e	105,4±0,1d	193,3±0,1b	0,916±0c	1,47±0bc
	Mikrodalga 600 W 3 dk	5,5±0,2f	2,0±0,1i	109,5±0,1a	193,2±0,1b	0,917±0bc	1,473±0,001a
	Etüv 80°C 30 dk	8,0±0,1a	6,0±0,1c	104,6±0,1e	193,3±0,1b	0,918±0,001ab	1,47±0,001bc
	Etüv 100°C 30 dk	7,5±0,1b	4,5±0,1f	108,7±0,1b	193,4±0,1b	0,919±0,001a	1,472±0ab
	Etüv 120°C 30 dk	7,0±0,1c	3,0±0,1h	108,5±0,1b	193,4±0,1b	0,919±0,001a	1,472±0,001ab
	Kombine 600 W 2dk- 80°C 30 dk	6,4±0,1d	5,3±0,1d	103,4±0,1f	193,4±0,1b	0,916±0c	1,469±0,001c
	Kombine 600 W 2dk- 100°C 30 dk	5,8±0,1e	3,5±0,1g	102,7±0,1g	193,4±0b	0,916±0c	1,469±0,001c
	Kombine 600 W 2dk- 120°C 30 dk	4,7±0,1g	1,0±0,1j	104,6±0,1e	193,3±0b	0,918±0,001ab	1,47±0,001bc
	Stabilizasyon Etkisi	*	*	*	ns	*	*

Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir. *P<0,05 düzeyinde önemli; ns önemsiz

Etüv ile stabilizasyon işleminde sıcaklık arttıkça serbest yağ asitliği değeri azalmıştır. Mikrodalga ve etüv işlemlerinin birlikte uygulandığı kombine yöntemde ise serbest yağ asitliği değeri; mikrodalga ve etüv işlemlerinin ayrı ayrı uygulandığı yöntemlere göre çok daha düşük oranlarda bulunmuştur. (600 W 2dk-80°C'de 30dk), (600 W 2dk-100°C'de 30dk), (600 W 2dk-120°C'de 30dk) değerlerinin uygulandığı kombine yöntemlerde Osmancık pirinç kepeği yağına ait serbest yağ asitliği oranları sırasıyla %6, %5,5 ve %4,5 olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların Thanonkaew ve ark. (2012) ile Amarasinghe ve ark. (2009) yaptıkları çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Pirinç kepeği yağlarının peroksit sayılarındaki değişimler incelendiğinde, uygulanan stabilizasyon şartlarına bağlı olarak her iki çeşide ait peroksit sayısı değerlerinde kontrol örneğine göre belirli oranlarda azalmalar meydana gelmiş ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Örneğin, stabilizasyon işlemi uygulanmayan Osmancık pirinç kepeği yağında peroksit sayısı 12 meqO₂/kg yağ olarak bulunmuşken; 600 W 1 dk, 600 W 2 dk ve 600 W 3 dk uygulanan mikrodalga işlemi ile pirinç kepeği yağının peroksit sayıları sırasıyla 8 meqO₂/kg, 7,3 meqO₂/kg, 6 meqO₂/kg yağ olarak; 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk ve 120°C'de 30dk uygulanan etüv ile stabilizasyon işleminde peroksit sayısı sırasıyla 10,8 meqO₂/kg, 9,5 meqO₂/kg ve 6,4 meqO₂/kg olarak tespit edilmiştir. 600 W 2dk+80°C'de 30dk, 600 W 2dk+100°C'de 30dk ve 600 W 2dk+120°C'de 30dk değerlerinin uygulandığı kombine yöntemlerde ise pirinç kepeği yağının peroksit sayısı sırasıyla 5,5 meqO₂/kg, 4,2 meqO₂/kg ve 2,5 meqO₂/kg yağ olarak bulunmuştur. Uygulanan dokuz farklı stabilizasyon şartı arasında, en düşük peroksit sayısı 600 W 2dk-120°C'de 30dk uygulanan kombine yöntemde 2,5 meqO₂/kg yağ olarak tespit edilmiştir. Thanonkaew ve ark. (2012)'nin yaptıkları çalışmada pirinç kepeğine stabilizasyon işlemi uygulanmış ve ardından soğuk pres tekniği kullanılarak elde edilen yağların peroksit sayısı değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Bulunan sonuçların yapmış olduğumuz çalışma ile uyum içerisinde olduğu ifade edilebilir.

Stabilizasyon işlemleri Osmancık ve Opela pirinç kepeği çeşitlerine ait yağların iyot sayısı değerlerinde değişikliğe neden olmuştur ($p<0,05$). Opela çeşidinin kontrol grubunda iyot sayısı değeri 108,2 iken; 600 W 1 dk, 600 W 2 dk ve 600 W 3 dk

uygulanan mikrodalga stabilizasyon işlemi ile iyot sayısı değeri sırasıyla 105,2, 105,4, 109,5 olarak tespit edilmiştir. 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk ve 120°C'de 30dk uygulanan etüv ile stabilizasyon işleminde iyot sayısı değerleri sırasıyla 104,6, 108,7, 108,5 olarak tespit edilmiştir. 600 W 2dk+80°C'de 30dk, 600 W 2dk+100°C'de 30dk ve 600 W 2dk+120°C'de 30dk normlarının uygulandığı kombine yöntemlerde Opela pirinç kepeği yağının iyot sayısı değerleri sırasıyla 103,4, 102,7 ve 104,6 olarak tespit edilmiştir.

Dunford (2008)'a göre pirinç kepeği yağının iyot sayısı değerleri 92-108 arasında olmalıdır. Çalışmada elde edilen iyot sayısı değerlerinin literatüre uygun olduğu görülmektedir.

Başlangıçta 192,7 olan Osmancık pirinç kepeği yağına ait sabunlaşma sayısı değeri 600 W 1 dk, 600 W 2 dk ve 600 W 3 dk uygulanan mikrodalga stabilizasyon işlemi ile 193, 192, 192,2 olarak tespit edilmiştir. 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk ve 120°C'de 30dk uygulanan etüv ile stabilizasyon işleminde sabunlaşma sayısı sırasıyla 192,9, 193 ve 193,1 olarak bulunmuştur. 600 W 2dk+80°C'de 30dk, 600 W 2dk+100°C'de 30dk ve 600 W 2dk+120°C'de 30dk değerlerinin uygulandığı kombine yöntemlerde Osmancık pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısı sırasıyla 193,2, 193,2 ve 191,7 olarak tespit edilmiştir. Osmancık pirinç kepeğine uygulanan stabilizasyon işlemi, pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısı değerinde değişikliğe sebep olmuş ve bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Başlangıçta 194,6 olan Opela pirinç kepeği yağındaki sabunlaşma sayısı değeri 600 W 1 dk, 600 W 2 dk ve 600 W 3 dk mikrodalga işlemleri ile sırasıyla 193,4, 193,3 ve 193,2 olarak tespit edilmiştir. 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk ve 120°C'de 30dk uygulanan etüv ile stabilizasyon işleminde sabunlaşma sayısı sırasıyla 193,3, 193,4, 193,4 olarak tespit edilmiştir. 600 W 2dk+80°C'de 30dk, 600 W 2dk+100°C'de 30dk ve 600 W 2dk+120°C'de 30dk değerlerinin uygulandığı kombine yöntemlerde Opela pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısı sırasıyla 193,4, 193,4, 193,3 olarak belirlenmiştir. Opela pirinç kepeğine uygulanan stabilizasyon işlemi sonucunda, pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısı değerinde istatistiki olarak önemli değişim tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Amarasinghe ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada işlem görmemiş pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısını 178,18 olarak saptamışlardır. Dunford (2008)'in belirttiğine göre, pirinç kepeği yağının sabunlaşma sayısı 181-189

arasında olmalıdır. Buna göre, bulduğumuz sabunlaşma sayısı değerleri literatürde bulunan sonuçlardan bir miktar yüksek çıkmıştır.

Osmancık ve Opela pirinç kepeği yağlarının özgül ağırlık ve kırılma indisi değerlerinde stabilizasyon işleminin etkisi sonucunda kontrol örneğine göre farklılıklar meydana gelmiş (Çizelge 1) ve bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Farklı şartlarda stabilize edilen pirinç kepeği yağlarının yağ asitleri bileşiminde meydana gelen değişimler

Farklı stabilizasyon işlemleri uygulanan Osmancık ve Opela pirinç kepeği yağlarının yağ asitleri bileşiminde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli farklılıklar meydana gelmiş ($p<0,05$) ve bulunan sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2'deki yağ asidi bileşimi incelendiğinde her iki çeltik çeşitinde C16:0 (palmitik asit), C18:1 (oleik asit) ve C18:2 (linoleik asit) yağ asitlerinin diğer yağ asitlerine göre daha yüksek oranlarda bulunduğu görülmektedir. Bulunan sonuçlar, Sayre ve Saunders (1990), Orthoefer (1996), Firestone (1999) ve Gopala Krishna (2000)'nin elde ettikleri sonuçlara uygunluk göstermektedir.

Osmancık çeşidinden elde edilen pirinç kepeği yağında C16:0 oranı kontrol numunesinde %12,49 olarak bulunmuş, fakat pirinç kepeğine uygulanan stabilizasyon işlemleri sonucunda yağ asiti oranında belirgin derecede farklılıklar meydana gelmiştir ($p<0,05$). Nitekim mikrodalga, etüv ve kombine (mikrodalga+etüv) ile yapılan stabilizasyon işlemlerinde en yüksek C16:0 oranı sırasıyla %16,04, %15,62 ve %15,74 olarak belirlenmiştir. Opela çeşitinden elde edilen pirinç kepeği yağının C16:0 oranında ise belirgin derecede farklılık oluşmamıştır. Kontrol örneğindeki C16:0 oranı %17,88 olarak bulunmuş, stabilizasyon işlemleri sonucunda en düşük değer %15,33 ile mikrodalga 600 W 3 dk; en yüksek değer ise %17,43 ile kombine yöntem (600 W 2

dk+80°C'de 30 dk) uygulamasında elde edilmiştir. C16:0 oranında stabilizasyon şartlarına bağlı olarak meydana gelen bu değişimler direkt olarak toplam doymuş yağ asitleri oranlarını da etkilemiştir (Çizelge 2).

Pirinç kepeği yağının önemli tekli doymamış yağ asitlerinden olan C18:1 oranı her iki çeltik çeşidine uygulanan stabilizasyon şartlarına göre önemli derecede ($p<0,05$) farklılık göstermiştir (Çizelge 2). Osmancık çeşidine ait kontrol numunesinde %42,68 olarak bulunan C18:1 oranı, mikrodalga uygulamasında %41,72'ye kadar düşüş göstermiş, kombine yöntemde ise bu oran en düşük %41,52 olarak bulunmuştur. Diğer çeltik çeşidi olan Opela çeşidinin kontrol örneğinde %39,04 olan C18:1 oranı stabilizasyon şartlarına bağlı olarak değişiklik göstermiş ve en yüksek değer etüv uygulamasında (100 °C'de 30dk.) %40,19 olarak bulunurken, en düşük değer de mikrodalga uygulamasında (600W 1 dk.) %38,46 olarak tespit edilmiştir.

Diğer önemli bir çoklu doymamış yağ asiti olan C18:2 oranı pirinç kepeklerine uygulanan stabilizasyon şartlarına bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Osmancık kontrol örneğinde %41,46 olarak bulunan C18:2 oranı mikrodalga ve kombine yöntem uygulamalarında düşüş eğilimi göstermiş ve en düşük %38,84 (600 W 1 dk.) olarak bulunmuştur. Fakat diğer yandan etüv yönteminde ise C18:2 oranının kontrol örneğine göre daha yüksek çıktığı (%42,94) görülmüştür.

Farklı şartlarda stabilize edilen pirinç kepeği yağlarının sterol kompozisyonunda meydana gelen değişimler

Çizelge 3'te Osmancık ve Opela çeltik çeşitlerine ait pirinç kepeği yağlarının farklı stabilizasyon şartlarına göre β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, kolesterol, brassikasterol, delta-5-avenasterol, delta-stigmastenol ve delta-7-avenasterol değerlerinde meydana gelen değişimler gösterilmiştir.

Çizelge 2. Osmancık ve Opela pirinç kepeği yağlarının farklı stabilizasyon şartlarına göre yağ asidi kompozisyonu (%)

Table 2. Fatty acid composition of Osmancik and Opela rice bran oils due to different stabilization conditions (%)

Stabilizasyon Şartları		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	Toplam Doymuş Yağ Asitleri	Toplam Doymamış Yağ Asitleri
OSMANCIK	Kontrol	0,28±0ab	12,49±0,01j	nd	1,78±0,01b	42,68±0,01a	41,46±0,01c	1,3±0,01a	14,55±0,01j	85,44±0,01a
	Mikroalga 600 W 1 dk	0,27±0b	14,57±0,01h	0,13±0a	1,66±0,01cd	42,27±0,01e	39,84±0,01e	1,26±0b	16,5±0,01g	83,5±0,01d
	Mikroalga 600 W 2 dk	0,29±0,01a	15,38±0d	0,13±0,01a	1,65±0,01d	42,43±0,01b	38,84±0,01j	1,27±0,01b	17,32±0c	82,67±0,01h
	Mikroalga 600 W 3 dk	0,29±0a	16,04±0,01a	0,13±0a	1,63±0,01e	41,72±0,01i	38,94±0,01i	1,24±0,01c	17,96±0,01a	82,03±0,01j
	Etüv 80°C 30 dk	0,29±0,01a	14,16±0,01i	nd	2,35±0,01a	42,33±0,01c	40,87±0,01d	nd	16,8±0f	83,2±0e
	Etüv 100°C 30 dk	nd	15,08±0,01g	nd	nd	41,98±0,01g	42,94±0,01a	nd	15,08±0,01i	84,92±0,01b
	Etüv 120°C 30 dk	nd	15,62±0,01c	nd	nd	42,31±0,01d	42,07±0,01b	nd	15,62±0,01h	84,38±0,01c
	Kombine 600 W 2dk-80°C 30 dk	0,28±0,01ab	15,35±0,01e	0,13±0,01a	1,66±0,01cd	42,08±0,01f	39,25±0,01h	1,27±0,01b	17,29±0,01d	82,71±0,01g
	Kombine 600 W 2dk-100°C 30 dk	0,28±0ab	15,27±0f	0,13±0a	1,67±0,01c	41,79±0,01h	39,62±0,01f	1,24±0,01c	17,22±0,01e	82,78±0,01f
	Kombine 600 W 2dk-120°C 30 dk	0,29±0a	15,74±0b	nd	1,78±0b	41,52±0,01j	39,43±0g	1,24±0c	17,81±0b	82,19±0,01i
Stabilizasyon Etkisi	*	*	ns	*	*	*	*	*	*	
OPELA	Kontrol	nd	17,88±0,01a	nd	nd	39,04±0,01e	43,08±0,01a	nd	17,88±0,01g	82,12±0,01d
	Mikroalga 600 W 1 dk	nd	17,09±0,01e	nd	2,81±0,01e	38,46±0,01j	41,65±0,01d	nd	19,9±0,01d	80,1±0,01g
	Mikroalga 600 W 2 dk	nd	16,93±0,01g	nd	2,77±0,01f	38,63±0,01h	41,67±0,01c	nd	19,7±0,01f	80,3±0,01e
	Mikroalga 600 W 3 dk	0,27±0,01a	15,33±0i	nd	1,9±0g	39,81±0,01c	41,19±0,01f	1,5±0,01a	17,5±0,01h	82,5±0,01c
	Etüv 80°C 30 dk	nd	16,86±0,01h	nd	3,29±0b	38,61±0i	41,24±0,01e	nd	20,15±0c	79,85±0,01h
	Etüv 100°C 30 dk	nd	16,98±0,01f	nd	nd	40,19±0,01a	42,83±0,01b	nd	16,98±0,01j	83,02±0,01a
	Etüv 120°C 30 dk	nd	17,22±0d	nd	nd	39,96±0,01b	42,82±0,00b	nd	17,22±0,01i	82,78±0,01b
	Kombine 600 W 2dk-80°C 30 dk	nd	17,43±0,01b	nd	3,23±0,01c	38,95±0f	40,39±0,01h	nd	20,66±0,01b	79,34±0,01i
	Kombine 600 W 2dk-100°C 30 dk	nd	17,4±0,01c	nd	3,69±0,01a	38,9±0g	40±0,00i	nd	21,1±0,01a	78,9±0,01j
	Kombine 600 W 2dk-120°C 30 dk	nd	16,99±0,01f	nd	2,83±0,01d	39,2±0,01d	40,97±0,01g	nd	19,82±0,01e	80,17±0,01f
Stabilizasyon Etkisi	Ns	*	ns	*	*	*	ns	*	*	

Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir. *P<0,05 düzeyinde önemli; ns önemsiz; nd tespit edilemeyen

Çizelge 3. Osmancık ve Opela pirinç kepeği yağlarının farklı stabilizasyon şartlarına göre sterol kompozisyonu (%)

Table 3. Sterol content of Osmancik and Opera rice bran oils due to different stabilization conditions (%)

Örnek	Stabilizasyon Şartları	Kampesterol	Stigmasterol	β -sitosterol	Kolesterol	Brassikasterol	Delta-5-avenasterol	Delta-stigmastenol	Delta-7-avenasterol	
OSMANCIK	Kontrol	7,32±6,67c	11,61±0,01i	36,32±0,01i	1,52±0,01a	0,47±0,01a	1,62±0,00f	2,14±0,01d	3,83±0,01a	
	Mikrodalga	600 W 1 dk	20,61±0,01b	11,73±0,01g	36,42±0,01h	1,48±0,01b	0,25±0,00f	1,75±0,00d	2,04±0,00f	3,75±0,01b
		600 W 2dk	21,68±0,01b	12,3±0,01c	37,62±0,01c	0,68±0,00d	0,45±0,01b	1,66±0,01e	1,51±0,01i	0,95±0,00h
		600 W 3 dk	31,73±0,01a	11,88±0,01f	36,65±0,01g	1,02±0,01c	0,35±0,01d	1,79±0,01c	1,74±0,00g	1,19±0,01f
	Etüv	80°C 30 dk	21,48±0,01b	13,23±0,01a	40,49±0,01b	0,49±0,01f	0,4±0,00c	0±0,00j	1,43±0,01j	0,88±0,01j
		100°C 30 dk	20,35±0,01b	12,27±0,01d	36,77±0,01f	0,49±0,01f	0,4±0,00c	1,41±0,01g	2,41±0,01c	1,06±0,01g
		120°C 30 dk	20,28±0,01b	12,25±0,01e	40,8±0,01a	0,46±0,01g	0,29±0,01e	1,08±0,01h	1,67±0,01h	0,9±0,00i
	Kombine	600 W 2dk- 80°C 30 dk	23,52±0,01b	13,14±0,00b	37,09±0,01e	0,46±0,01g	0,34±0,00d	1±0,00i	2,08±0,01e	1,24±0,01e
		600 W 2dk- 100°C 30 dk	20,27±0,01b	11,7±0,01h	37,12±0,01d	0,56±0,00e	0,35±0,01d	2,12±0,01a	3,02±0,01a	1,98±0,01c
	600 W 2dk- 120°C 30 dk	20,27±0,01b	11,52±0,01j	35,92±0,01j	0,57±0,01e	0,45±0,00b	2,02±0,00b	2,78±0,01b	1,7±0,00d	
Stabilizasyon Etkisi		*	*	*	*	*	*	*	*	
OPELA	Kontrol	17,78±0,01i	11,66±0,01f	34,25±0,01j	0,74±0,01a	0,42±0,00a	1,85±0,01f	2,46±0,01a	1,62±0,01b	
	Mikrodalga	600 W 1 dk	31±0,01a	11,84±0,01e	37,06±0,01e	0,5±0,00b	0,15±0,00f	1,97±0,01e	1,81±0,01f	1,33±0,01f
		600 W 2 dk	19,46±0,01d	12,18±0,01a	34,27±0,01i	0,5±0,00b	0,18±0,00e	1,49±0g	2,24±0,01b	1,42±0,01c
		600 W 3 dk	19,63±0,01c	12,01±0,01b	34,93±0,01h	0,5±0,01b	0,2±0,01d	2,06±0,03c	2,08±0,01c	1,42±0,00c
	Etüv	80°C 30 dk	18,62±0,01f	11,97±0,01d	36,85±0,01f	0,48±0,01c	0,23±0,00c	2,05±0,01c	1,8±0,01f	1,25±0,01f
		100°C 30 dk	18,35±0,01h	11,84±0,01e	40,53±0,01c	0,4±0,00e	0,14±0,00f	1,47±0,01g	1,26±0,01h	0,83±0,01
		120°C 30dk	18,7±0,01e	11,99±0,01c	37,66±0,01d	0,44±0,01d	0,18±0,00e	1,84±0,01f	1,88±0,01e	1,38±0,01d
	Kombine	600 W 2dk-80°C 30 dk	19,72±0,01b	11,83±0,01e	36,66±0,01g	0,5±0,01b	0,24±0,01c	2,26±0,01a	1,96±0,01d	1,72±0,01a
		600 W 2dk-100°C 30 dk	18,45±0,01g	11,32±0,01g	41,27±0,01b	0,51±0,01b	0,29±0,01b	2,21±0,01b	1,36±0,01g	1,36±0,01e
	600 W 2dk-120°C 30 dk	18,46±0,01g	11,31±0,01g	42,85±0,01a	0,37±0,01f	0,17±0,01e	2±0,01d	1,17±0,01i	1,06±0,01	
Stabilizasyon Etkisi		*	*	*	*	*	*	*	*	

Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir. *P<0,05 düzeyinde önemli; ns önemsiz

Osmancık çeşidi kontrol grubunda %7,32 olan kampesterol değeri stabilizasyon işlemi ile yükselmiştir. Mikrodalga uygulama süresi arttıkça kampesterol oranı da artmıştır. Kontrol grubunda %11,61 olan stigmasterol stabilizasyon ile artmış, en yüksek stigmasterol oranı 80°C'de 30dk etüv uygulaması ile %13,23 olarak tespit edilmiştir. Osmancık pirinç kepeği yağının sterol kompozisyonu analizinde en yüksek oran β -sitosterolde tespit edilmiştir. β -sitosterol oranı da stabilizasyon ile artmış olup, 120°C 30dk'da etüv uygulaması ile en yüksek %40,8 olarak tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Osmancık pirinç kepeği yağının kontrol grubunda kolesterol oranı %1,52'dir. Stabilizasyon işlemi sonucunda bu değer 80°C'de 30dk, 100°C'de 30dk etüv uygulaması ile %0,49'a kadar azalmıştır. Delta-7-avenasterol oranı başlangıçta %3,83 iken 120°C 30dk etüv uygulaması ile %0,9'a inmiştir.

Opela pirinç kepeği yağının sterol kompozisyonu analizinde en yüksek oranda β -sitosterol tespit edilmiştir. β -sitosterol oranı kontrol grubunda %34,25 iken bu değer stabilizasyon sonrasında artmıştır ve en yüksek 600 W 2dk+120°C'de 30dk kombine yöntemde elde edilmiştir. Delta-stigmastenol ve Delta-7-avenasterol oranlarında başlangıç oranlarına kıyasla azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Sonuç

Dünyada pirinç kepeği yağına olan talep günden güne artmaktadır. Bu nedenle teknolojik açıdan elde edilmesi ve işlenmesi diğer bitkisel yağlara göre her ne kadar zor olsa da, içermiş olduğu önemli besin öğeleri açısından yemeklik olarak değerlendirilebilecek bir potansiyele sahiptir.

Çalışma sonuçları pirinç kepeğine uygulanan stabilizasyon işleminin, pirinç kepeği yağının fizikokimyasal özelliklerine olumlu etki yaptığını ortaya koymuştur. Etüv, mikodalga ya da kombine yöntem ile pirinç kepeğinin stabilizasyonu; pirinç kepeği yağının serbest yağ asitliği ve peroksit sayısının azalmasını sağlamıştır. Mikrodalga ile stabilizasyonun maliyetli olması, küçük ve orta ölçekli alanlarda kullanımının elverişli olmaması nedeniyle, pirinç kepeğinin stabilizasyonunda ucuz ve daha etkili olan etüv ile stabilizasyon uygulanabilir. Diğer taraftan, hem ülkemizde mevcut bir çok çeltik fabrikasında hâlihazırda değerlendirilme imkânı olmayan ve atık madde konumunda olan pirinç kepeği yağının çıkartılarak bitkisel yağ olarak değerlendirilmesi ve bu yağın

ülke ekonomisine kazandırılması, hem de yağı ekstrakte edilen ve yüksek oranda protein içeriğine sahip olan pirinç kepeği küspesinin de hayvan beslemede kullanılma imkânı doğmuş olacaktır.

Teşekkür

Bu araştırmanın yürütülmesinde Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne proje desteklerinden dolayı teşekkür ederiz (NKUBAP. 00.24.AR.13.13).

Kaynaklar

- Anonim, 1970a. Türk Standartları Enstitüsü, Refraktif indeks analizi standardı-894.
- Anonim, 1970b. Türk Standartları Enstitüsü, Özgül ağırlık tayini standardı-894.
- Anonim, 1987a. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives. International Union Pure and Applied Chemistry Division Commission on Oils, Fats and Derivatives.
- Anonim, 1987b. IUPAC– Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates, (Paquot, C. and Hautfenne, A. eds.) 7th ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburg.
- AOCS, 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. AOCS 3rd edn., Method Ce 2-66.
- Amarasinghe, B.M.W.P.K., M.P.M. Kumarasiri, N.C. Gangodavilage, 2009. Effect of method of stabilization on aqueous extraction of rice bran oil. Food Bioprod Process. 87 (2):108–114.
- Donley, A. 2009. Rice bran oil. World Grain-The international magazine for grain, flour and feed, May 78-81.
- Dunford, N.T. 2008. Germs oils from different sources. Rice bran oil. 215-220.
- Firestone, D. 1999. Physical and chemical characteristics of oils, fats and waxes, AOCS Press, Champaign, IL.
- Gopala Krishna, A.G. 2000. Nutritional components of unsaponifiable matter in rice bran oil in relation to processing. Paper presented at National Seminar on Rice Bran Oil, organized by the Solvent Extractors' Association of India, 3rd June, Goa, India, pp.29-33.
- Gopala Krishna, A.G. 2002. Nutritional components of rice bran oil in relation to processing, Lipid Technol. 14: 80-84.
- Hragrove, K.L.J. 1994. Processing and utilization of rice bran oil in the United States. In: Rice sciences and technology. W.E. Marshall and J.I. Mardsworth (eds). Marcell and Dekkar, USA.
- Hışıl, Y. 1998. Enstrumental Analiz Teknikleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Kamm W, F. Dionisi, L.B. Fay, C. Hischenhuber, H.G. Schmarr, K.H. Engel, 2002. Rapid and Simultaneous Analysis of 16-O-Methylcafestol and Sterols as Markers for Assessment of Green Coffee Bean

- Authenticity by On-line LC–GC. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79:1109-1113
- Lerma-Garcia, M.J., J.M. Herrero-Martinez, E.F. Simo-Alfonso, C.R.B. Mendonça, G. Ramis-Ramos, 2009. Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chem.* 115: 389-404.
- Most, M., R. Tulley, S. Morales, M. Lefevre, 2005. Rice bran oil, not fiber, lowers cholesterol in humans. *Amer. J. Clin. Nutr.* 81 (1): 64-80.
- Orthofer, F.T. 1996. Rice Bran Oil, p:393. In Y.H. Hui, ed. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol:2; Edible Oil and Fat Products: Oils and Oil Seeds.* John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Sayre, R.N., R.M. Saunders, 1990. Rice bran and rice bran oil. *Lipid Technology*, 2:72-76.
- Tahira, R. Ata-ur-Rehman, M.A. Butt, 2007. Characterization of rice bran oil. *J. Agric. Res.* 45 (3): 225-230.
- Thanonkaew A, S. Wongyai, D.J. McClements, E.A. Decker, 2012. Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). *LWT-Food Sci. Technol.* 48:231-23.