İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANOLA YAĞINDAN KUDRET NARI YAĞ ASİTLERİ (KLNA) İLE YAPILANDIRILMIŞ YAĞ ÜRETİMİ VE REAKSİYON KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Begüm ELİBAL

Anabilim Dalı : Kimya Mühendisliği

Programı : Kimya Mühendisliği

HAZİRAN 2009

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KANOLA YAĞINDAN KUDRET NARI YAĞ ASİTLERİ (KLNA) İLE YAPILANDIRILMIŞ YAĞ ÜRETİMİ VE REAKSİYON KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Begüm ELİBAL
(506061003)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 04 Mayıs 2009
Tezin Savunulduğu Tarih : 01 Haziran 2009

Tez Danışmanı : Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN (İTÜ)
Doç. Dr. Sevil YÜCEL (YTÜ)

HAZİRAN, 2009

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca bilgi ve yardımlarıyla bana destek olan değerli hocam, tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. H. Ayşe Aksoy'a, her konuda yol göstererek emeklerini esirgemeyen Prof. Dr. Güldem Üstün ve Prof. Dr. Melek Tüter'e teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuar çalışmalarım esnasında karşılaştığım güçlükler karşısında her zaman yanımda olan, herşeyin daha keyifli ve olumlu geçmesini sağlayan canım arkadaşlarım, Funda Süzen ve Hüma Elden'e sonsuz teşekkürler ediyorum.

Her zaman yanımda olan aileme bana bugüne kadar verdikleri emekten ve gösterdikleri sabırdan dolayı teşekkür ederim.

Haziran 2009

Begüm Elibal

Gıda Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ... **iii**
İÇİNDEKİLER ... **v**
KISALTMALAR ... **vii**
ÇİZELGE LİSTESİ ... **ix**
ŞEKİL LİSTESİ ... **xi**
ÖZET ... **xiii**
SUMMARY ... **xv**
1. GİRİŞ ... **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ ... **3**
2.1 Kanola Bitkisi ve Özellikleri ... 3
2.2 Kanola Yağı ... 5
2.2.1 Dünya'da ve Türkiye'de kanola ve kanola yağı ... 7
2.2.2 Kanola yağı kullanım alanları ... 9
2.3 Kudret Narı Meyvesi ve Özellikleri ... 11
2.3.1 Kudret narının sağlık üzerine etkileri ... 14
2.4 Konjuge Linolenik Asit ... 17
2.4.1 Konjuge linolenik asit kaynakları ... 19
2.4.2 KLNA'nın sağlık üzerine etkileri ... 20
2.5 Yapılandırılmış Yağlar ... 20
2.5.1 Yapılandırılmış yağ sentezinde kullanılan yağ asitleri ... 21
2.5.1.1 Kısa ve orta zincirli yağ asitleri ... 21
2.5.1.2 Uzun zincirli yağ asitleri ... 22
2.5.2 Yapılandırılmış yağların sentezi ... 22
2.5.2.1 Interesterifikasyon ... 23
2.5.2.2 Asidoliz ... 24
2.5.2.3 Alkoliz ... 24
2.5.2.4 Transesterifikasyon ... 24
2.5.3 Yapılandırılmış yağların kullanım alanları ... 25
2.6 Enzimatik Yöntem ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi ... 27
2.6.1 Yapılandırılmış yağ üretiminde kullanılan lipaz enzimleri ... 27
2.6.2 Enzimatik prosesi ve ürün verimini etkileyen faktörler ... 28
2.6.2.1 Lipaz seçiminin etkisi ... 28
2.6.2.2 Sıcaklığın etkisi ... 30
2.6.2.3 Su miktarının etkisi ... 30
2.6.2.4 Çözücü sisteminin etkisi ... 30
2.5.2.2 Sürenin etkisi ... 31
2.5.2.3 Substrat-mol oranının etkisi ... 31
2.6.3 Kimyasal ve enzimatik yöntemlerin karşılaştırılması ... 31
2.7 Literatürde Enzimatik Asidoliz ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi Üzerine Yapılan Çalışmalar ... 32
2.8 Tepki Yüzey Metodolojisi ... 36

3. DENEYSEL ÇALIŞMA.....39
3.1 Kullanılan Hammaddeler.....39
3.2 Çalışma Yöntemi.....39
3.2.1 Kudret narı yağı ekstraksiyonu.....39
3.2.2 Kudret narı yağından yağ asitlerinin elde edilmesi.....39
3.2.3 Kullanılan hammaddelerin karakterizasyonu.....40
3.2.4 Asidoliz reaksiyonunda uygulanan yöntem.....41
3.2.5 Asidoliz ürünlerinin analizi.....41
3.2.6 Deneysel tasarımda kullanılacak değişkenlerin ve değişken seviye değerlerinin belirlenmesi.....42
3.2.7 Deneysel tasarım ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu.....43
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....45
4.1 Kudret Narı Meyvesinin Karakterizasyon Sonuçları.....45
4.2 Kudret Narı Tohumunun Yağ İçeriği.....47
4.3 Substratların Yağ Asidi Bileşimleri.....47
4.4 Tepki Yüzey Metodolojisi'nde Kullanılacak Değişken Seviye Değerlerinin Belirlenmesi.....49
4.5 Tepki Yüzey Metodolojisi'ne göre Deneysel Tasarım ve Reaksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu.....57
4.6 Farklı Reaksiyon Koşullarının Reaksiyona Etkilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi.....59
4.7 Tepki-Yüzey ve İzdüşüm Grafiklerinin Yorumlanması.....62
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....65
KAYNAKLAR.....69
ÖZGEÇMİŞ.....81

KISALTMALAR

DHA : Dokosahekzaenoik Asit
DPA : Dokosapentaenoik Asit
EPA : Eikosapentaenoik Asit
GC : Gaz Kromatografisi
HDL : High Density Lipoprotein
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
KLNA : Konjuge Linolenik Asit
KNYA : Kudret Narı Yağ Asitleri
KY : Kanola Yağı
KZYA : Kısa Zincirli Yağ Asitleri
L : Uzun Zincirli Yağ Asidi
LDL : Low Density Lipoprotein
M : Orta Zincirli Yağ Asidi
O : Oleik Asit
OZYA : Orta Zincirli Yağ Asitleri
P : Palmitik Asit
PUFA : Polyunsaturated Fatty Acid
S : Stearik Asit
TAG : Triaçilgliserol
TYM : Tepki Yüzey Metodolojisi
UZYA : Uzun Zincirli Yağ Asitleri

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Kanola tohumunun kimyasal bileşimi. ……..4
Çizelge 2.2 : Kanola yağı ile kolza yağının yağ asidi bileşimlerinin karşılaştırılması.....6
Çizelge 2.3 : Dünya kolza yağı istatistikleri. 8
Çizelge 2.4 : Türkiye kanola yağı istatistikleri. 9
Çizelge 2.5 : Kudret narı tohumunun kimyasal bileşimi. 12
Çizelge 2.6 : Kudret narı yağının yağ asidi bileşimi. 13
Çizelge 2.7 : Bazı bitkilerin KLNA içerikleri. 19
Çizelge 3.1 : Gaz kromatografisi analiz koşulları. 41
Çizelge 4.1 : Kudret narı meyvesinin karakterizasyon sonuçları. 45
Çizelge 4.2 : Kudret narı meyvesinin nem tayini sonuçları. 46
Çizelge 4.3 : Taze meyve çekirdeği yağının yağ asidi bileşimi. 47
Çizelge 4.4 : Kudret narı tohumundan elde edilen yağ miktarları. 47
Çizelge 4.5 : Kanola yağı yağ asidi bileşimi. 48
Çizelge 4.6 : Kudret narı tohumu yağı yağ asidi bileşimi. ……48
Çizelge 4.7 : Kanola yağının kudret narı yağ asitleri (KNYA) ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi.… 49
Çizelge 4.8 : Kanola yağının kudret narı yağ asitleri (KNYA) ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi. ……50
Çizelge 4.9 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi.……51
Çizelge 4.10 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi.…..52
Çizelge 4.11 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi.…..52
Çizelge 4.12 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin enzim miktarı değişimi. 55
Çizelge 4.13 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin sıcaklık ile değişimi 56
Çizelge 4.14 : Kanola yağının KLNA ile asidoliz reaksiyonunda yüzey merkezli küp deney tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler ve bu değerler için kodlanan seviyeler. 58
Çizelge 4.15 : Yüzey merkezli küp deney tasarımındaki deney tasarım noktaları. ...58
Çizelge 4.16 : Yüzey merkezli küp deney tasarımına uygun olarak yürütülmüş deneyler sonucunda elde edilen ürünlerin tepki değerleri 59
Çizelge 4.17 : Bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiye bağlı olarak lineer ve kuadratik modellerde etkilerin tahminleri ve katsayıları.....60
Çizelge 4.18 : Bağımsız değişkenlerin kritik değerleri. 61

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Kolza çiçeği ve kolza tohumu 3
Şekil 2.2 : Kudret narı meyvesi.....11
Şekil 2.3 : α-linolenik asit ve α-eleostearik asidin genel yapısı 17
Şekil 2.4 : Bir triaçilgliserol ve asit arasındaki asidoliz reaksiyonu. 24
Şekil 2.5 : Bir triaçilgliserol ve alkol arasındaki alkoliz reaksiyonu 24
Şekil 2.6 : İki triaçilgliserol arasındaki transesterifikasyon reaksiyonu.....25
Şekil 2.7 : sn-1 ve sn-3 pozisyonlarına seçici olan lipazlar ile gerçekleşen interesterifikasyon reaksiyonu.....29
Şekil 2.8 : Merkezi bileşik deney tasarımında iki bağımsız değişkenli bir sistem için yıldız ve küp deney noktaları örneği 38
Şekil 4.1 : Kanola yağı ve kudret narı yağ asitlerinin asidoliz reaksiyonu süresince kanola yağına KLNA katılımının farklı substrat mol oranlarında zamanla değişimi. 53
Şekil 4.2 : Kanola yağı ile kudret narı yağ asitlerinin asidoliz reaksiyonu süresince kanola yağına KLNA katılımının farklı reaksiyon sürelerinde mol oranı ile değişimi……...54
Şekil 4.3 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin enzim miktarı ile değişimi 55
Şekil 4.4 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin sıcaklık ile değişimi 57
Şekil 4.5 : Tahmin edilen değerler ile gözlenen değerler arasındaki ilişki.....61
Şekil 4.6.a : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin sıcaklık ile değişimi.....62
Şekil 4.6.b : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin sıcaklık ile değişimi.....63

KANOLA YAĞINDAN KUDRET NARI YAĞ ASİTLERİ (KLNA) İLE YAPILANDIRILMIŞ YAĞ ÜRETİMİ VE REAKSİYON KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

ÖZET

Yağlar insan beslenmesinin temel öğelerinden biridir. Esansiyel yağ asitlerini içermeleri, yağda çözünen vitaminlerin emilimlerini sağlamaları ve önemli enerji kaynakları olmaları nedeniyle günlük diyette tüketilmeleri gerekmektedir. Son yıllarda bilim ve teknolojideki ilerlemeler sonucu sağlıklı ve besin içeriği zenginleştirilmiş yağlar üretilmeye başlanmıştır.

Yapılandırılmış yağlar, yağın yapısına yeni yağ asitlerinin katılması veya mevcut yağ asitlerinin pozisyonlarının değiştirilmesi sonucu elde edilen triaçilgliserollerdir. Yapılandırılmış yağlar fonksiyonel gıdalar olarak bilinmektedirler. Sahip oldukları fonksiyonel özellikler ile sağlık üzerine belirli faydalar sağlamaktadırlar. Ayrıca gelişmiş lipit modifikasyon çalışmaları ile yağ temelli ürünlerde çeşitlilik sağlanmakta, üretim maliyetleri azaltılmakta ve istenilen özellikte ürünler üretilmektedir.

Kanola bitkisi, kolza tohumlarının (*Brassica napus* L. ve *Brassica campestris* L.) genetik modifikasyon yolu ile ıslah edilmesi sonucu elde edilmektedir. Kanola tohumlarından elde edilen kanola yağı doymuş yağ asitlerini düşük, tekli doymamış yağ asitlerini yüksek oranlarda içermekte, ayrıca çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengin bir kaynak olarak görülmektedir. Kanola yağı yağ asidi profili ile sağlık üzerine birçok olumlu etkiye sahiptir.

Kudret narı (*Momordica charantia* L.) tropikal bölgelerde yetişen şifalı bir bitkidir. Karela olarak da adlandırılan kudret narı antimikrobiyal ve antikanserojenik etki göstermekte ve vücuttaki kan şekeri seviyesini düzenlemektedir. Bu etkilerin yanı sıra içerdiği konjuge linolenik asit (KLNA) izomerleri meyveyi daha da değerli kılmaktadır. KLNA, üç konjuge çift bağ içeren oktadekatrienoik asitlerin pozisyonel ve geometrik izomerlerinden oluşan bir yağ asidi grubu olarak tanımlanmaktadır. Konjuge linolenik asit genellikle belirli bitkilerin tohum yağlarında bulunmaktadır. Kalp hastalıklarına karşı koruyucu etki göstermekte, vücut ağırlığını kontrol etmekte ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirmektedir.

Bu çalışmada, kanola yağının kudret narı tohumu yağından elde edilen konjuge linolenik asit ile zenginleştirilmesi ve çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip yapılandırılmış yağlar üretilmesi amaçlanmıştır. Kanola yağı ile KLNA'nın asidoliz reaksiyonları *Thermomyces lanuginosa* L. lipazı varlığında gerçekleştirilmiştir. Tepki Yüzey Metodolojisi uygulanarak reaksiyon parametrelerinin (substrat mol oranı, enzim miktarı, sıcaklık, reaksiyon süresi) KLNA katılımı üzerine etkileri incelenmiş ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Deney sonuçları değerlendirildiğinde, reaksiyon parametrelerinden substrat-mol oranının ve sıcaklığın KLNA katılımını etkilediği belirlenmiştir. İki faktörlü ve üç seviyeli Yüzey Merkezli Küp Deney Tasarımı uygulanarak yürütülen 11 asidoliz

reaksiyonu sonucu, optimum reaksiyon koşulları 6,8:1 (KLNA:kanola yağı) substrat-mol oranı, 54,2ºC sıcaklık, %10 enzim miktarı ve 3 saat reaksiyon süresi olarak saptanmıştır. Bu koşullarda, kanola yağına %36,9 oranında konjuge linolenik asit inkorpore edilmiş ve yapılandırılmış yağlar elde edilmiştir.

PRODUCTION OF STRUCTURED LIPIDS WITH CANOLA OIL AND BITTER GOURD FATTY ACIDS (CLNA) AND OPTIMIZATION OF REACTION CONDITIONS

SUMMARY

Fats and oils are essential components of the diet. They are good sources of energy, essential fatty acids, fat-soluble vitamins, and so it's recommended to consume fats and oils properly. In recent years, with the developments in science and technology, the production of enriched and healthier fats has started.

Structured lipids are triacylglycerols that have been modified by incorporation of new fatty acids or changing the positions of existing fatty acids. Structured lipids are referred to as functional foods. They provide specific health benefits by their functional properties. Besides, improved fat modifications have produced a wider assortment of fat based products, reduced production costs and paved the way for the production of specific products.

Canola is produced by the genetic modification of rape seeds (*Brassica napus* L. and *Brassica campestris* L.). Canola oil obtained from the canola seeds is low in saturates, high in monosaturates and a good source of polyunsaturated fatty acids. Canola oil has various health benefits with its fatty acid profile.

Bitter gourd (*Momordica charantia* L.) is a medicinal plant which grows in tropical regions. Bitter gourd also named as karela shows antimicrobial and anticancerogenic activity, and regulates blood sugar level. Together with these health effects, the conjugated linolenic acid (CLNA) content makes the fruit more valuble. CLNA is an imprecisely defined term describing a group of positional and geometric isomers of octadecatrienoic acids that contain three double bonds in conjugation. CLNA mainly exists in seed oils of specific plants. CLNA defends against hearth diseases, controls body weight and enriches immunity system.

In this study, enrichment of canola oil with CLNA from bitter gourd seed oil and production of structured lipids with various functional properties are aimed. The acidolysis reactions of canola oil with CLNA are carried out in the presence of *Thermomyces lanuginosa* L. lipase. The effects of reaction parameters (substrate-molar ratio, enzyme load, temperature, reaction time) on the incorporation of CLNA are analyzed and reaction conditions are optimized by Response Surface Methodology.

By evaluating the experimental results, substrate-molar ratio and temperature are chosen as the parameters that affects on the incorporation of CLNA. 11 acidolysis reactions are performed by the two-factor, third-order Face Centered Cube Experimental Design and the optimum reaction conditions are determined as 6,8:1 substrate-molar ratio, 54,2ºC temperature, %10 enzyme load ve 3 hour reaction time. Under these conditions, the incorporation ratio of CLNA into canola oil is established as %36,9 and so structured lipids are produced.

1. GİRİŞ

Yağlar insan vücudu için gerekli olan enerjinin en önemli kaynaklarından biridir. Vücudumuz beslenme ile aldığı yağı depolamakta ardından enerjiye gereksinimi olduğu zaman bu depoları kullanmaktadır. Yağlar A, D, E, K vitamini gibi yağda çözünen vitaminlerin emilimini sağlamakta, vücut ısısının korunmasına ve organların dış darbelerden korunmasına yardımcı olmaktadırlar. Ancak yağların doğru tüketilmemeleri neticesinde insan sağlığı için olumsuz sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, olumsuz etkileri azaltmak ve özgün ürünler elde edebilmek amacıyla yeni fizikokimyasal özelliklere sahip fonksiyonel yapılandırılmış yağlar üretilmeye başlanmıştır.

Yapılandırılmış yağlar, trigliserid yapısı üzerine yeni yağ asitlerinin yerleştirilmesi veya doğal yapısındaki yağ asitlerinin dağılımlarının değiştirilmesi ile elde edilen modifiye triaçilgliserollerdir. Modifikasyon çalışmaları ile yağların özellikleri istenilen şekilde değiştirilebilmektedir. Son yıllarda yapılandırılmış yağ üretiminde kullanılan en yaygın yöntem enzimatik interesterifikasyondur. Enzimatik prosesler ile hedeflenen ürün elde edilebilmekte ve üretim maliyetleri azaltılmaktadır.

Kanola yağı, son yıllarda diğer yenilebilir bitkisel yağ kaynakları ile karşılaştırıldığında üretimi çok gelişmiş olan en önemli yağlı tohum ürünlerinden biri olarak sayılmaktadır. İnsan sağlığı için uygun yağ asidi kompozisyonu ve zengin mineral içeriği ile çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etki göstermektedir.

Konjuge linolenik asitler (KLNA), üç konjuge çift bağ içeren oktadekatrienoik asitlerin pozisyonel ve geometrik izomerlerinden oluşan bir asit grubudur. Çeşitli bitkilerin tohumlarında bulunan KLNA'nın en önemli kaynaklarından biri ise kudret narı meyvesidir. Tropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen kudret narı, KLNA içeriği nedeniyle şifalı bitkiler sınıfına girmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu kudret narının içerdiği α-eleostearik asidin insan sağlığı üzerine pek çok olumlu etkisi olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada, kanola yağının lipaz enzimi kullanılarak KLNA ile zenginleştirilmesi amaçlanmıştır. KLNA katılımı üzerine substrat-mol oranı, sıcaklık, enzim miktarı ve sıcaklık gibi farklı parametrelerin etkileri incelenerek Tepki Yüzey Metodolojisi ile reaksiyon koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Kanola Bitkisi ve Özellikleri

Kanola, önemli yağlı tohumlu bitkilerden biri olan kolzanın doğal yollarla ıslah edilmesi sonucu elde edilmiş bir bitkidir [1]. Kolza, çiçekli bitkiler sınıflamasında, *Cruciferae* familyasından *Brassicae* türüne ait *Brassica napus* L. adı ile bilinen bir yağ bitkisidir [2,3]. Kuvvetli, çok dallı kazık kök sistemine sahip olan kolza bitkisinin boyu 2 m'ye kadar çıkabilmektedir. Şekil 2.1'de görüldüğü gibi bitkinin yaprakları mavi-yeşil renkte dar ve uzun olup, aşağıdan yukarıya doğru açan çiçekleri ise sarı renktedir [4]. Yeşil sebze olarak tüketilen genç yapraklar %83,3 su, %2,9 protein, %1,7 doymamış yağ, %11,2 karbonhidrat ve %1,8 lif içermektedir [5].



Şekil 2.1 : Kolza çiçeği ve kolza tohumu [4,6].

Kahverengi-kırmızı renkteki tohumları elips ya da küre şeklinde olup çapları yaklaşık 2 mm, ağırlıkları ise 2,5-6,5 g arasındadır. Şekil 2.1'de kolza tohumları görülmektedir. Tohum ağırlığının %12-16'sını oluşturan kabuk kısmı %36 oranında lif, %26 oranında karbonhidrat ve yüksek miktarda polifenol içermektedir [7]. Kolza/kanola bitkisi, tohumlarında bulunan %40-50 yağ ve %20 protein ile önemli bir yağ bitkisi olduğunu kanıtlamaktadır [8]. Kanola tohumunun kimyasal bileşimi genel olarak Çizelge 2.1'de gösterilmektedir [9].

Çizelge 2.1 : Kanola tohumunun kimyasal bileşimi [9].

Tohum Bileşeni	Miktar (%)
Su	5,4-7,2
Yağ	40-50
Protein	19-20
Azotsuz ekstrakt	16,8-20,7
Ham lifler	4,4-5,9
Kül	3,5-4,5

Rapiska ve rapitsa isimleri ile de bilinen kanola bitkisi tropikal ve ılıman iklime sahip bölgelerde, geniş pH aralığına sahip, kumlu ve hafif topraklar dışındaki topraklarda yetiştirilebilmektedir [10]. Anavatanı Akdeniz havzası olan kolza, Çin ve Hindistan'da, ayrıca Karadeniz ülkeleri ile Polonya, Fransa, Almanya ve Kanada gibi Avrupa ülkelerinde de önemli miktarlarda üretilmektedir [11]. Ülkemize ise II. Dünya Savaşı sırasında Balkanlardan gelen göçmenler tarafından getirilmiş ve ilk olarak Trakya'da ekim alanı bulmuştur [12]. Günümüzde en fazla Marmara Bölgesi'nde, özellikle Tekirdağ ve Çanakkale'de üretilmektedir [13].

Kolza bitkisinin yağında bulunan erüsik asit (%25-50) insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Erüsik asit (cis-Δ13-dokosaenoik asit; 22:1) bitkilerde çokça rastlanan tekli doymamış yağ asididir [14,15]. 1960 yılında hayvanlarda yapılan beslenme denemelerinde ıslah edilmemiş kolza çeşitlerinde bulunan erüsik asidin kalp kaslarında aşırı yağlanmaya ve nekrozlara neden olarak ciddi kalp ve damar hastalıklarına yol açtığı tespit edilmiştir [11]. Bu nedenle ilk olarak 1969 yılında Kanadalı bilim adamları erüsik asit içermeyen kolza tohumu elde edebilmek için ıslah çalışmalarını başlatarak yağında %5 veya daha az oranlarda erüsik asit bulunan kolza tohumları (0 ya da tek sıfır kolza) elde etmişlerdir. Takip eden çalışmalarda bu oran %2'nin altındaki değerlere kadar indirilmiştir [16,17]. Yağın yapısındaki erüsik asit miktarının azaltılması ile oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit miktarında artış gözlenmiştir [18].

Erüsik asit içeriğinin düşürülmesinin ardından tohumun yüksek glukozinolat içeriğinin (80 μM/g) hayvanlarda toksik etkilere neden olduğu ortaya çıkmış ve bu maddenin miktarının azaltılmasına yönelik çalışmalara başlanmıştır. Hayvanlarda tiroid bezi büyümelerine, bağırsak iltihaplanmalarına ve karaciğer rahatsızlıklarına neden olan glukozinolatlar tek başlarına zararlı değillerdir. Kolza tohumunun

parçalanması esnasında su ve mirosinaz enzimi ile hidrolize uğrayan glukozinolatlar, tiyosiyanat, izotiyosiyanat, goitrin ve nitril gibi kükürt içeren zararlı bileşikleri açığa çıkarmaktadırlar. Bu bileşikler toksik etkilerinin yanı sıra acı ve keskin tatları nedeniyle tohum küspesinin yem olarak kullanımını da azaltmaktadırlar [19,20,21]. Bu tür olumsuz etkilerden dolayı 1970 yılında hem erüsik asit oranı (<%2) hem de glukozinolat içeriği (<30 μM/g) düşük kolza tohumları (00 ya da çift sıfır kolza) ıslah edilmiştir. İlk kez Kanada'da geliştirilmesinden dolayı ''Canadian Oil Low Acid'' kelimelerinin baş harflerinden yola çıkılarak elde edilen yeni *B. napus* L. ve *B. campestris* L. çeşidine kanola (canola) ismi verilmiştir [1, 22].

2.2 Kanola Yağı

Kanola yağı, *Brassica campestris* L. ve *Brassica napus* L. türlerinin aşılanması ile oluşan kanola bitkisinin tohumlarından elde edilen bitkisel bir yağdır. Kanola; tohumlarında %40-45 oranında yağ bulunması, katı, sıvı, ham yağ olarak kullanılması, yağının orta ve yüksek oranda oleik asit içermesi, kaynama noktasının yüksek olması (238ºC), iyi bir kızartma yağı oluşu ve E vitaminince zengin olması dolayısı ile bilinen en iyi yağ bitkilerinden biridir [5,23].

Kanola yağı, yüksek orandaki doymamış yağ asidi (oleik asit, linoleik asit, linolenik asit) ve düşük orandaki doymuş yağ asidi (palmitik asit, stearik asit) içeriği ile insan beslenmesinde ilk sıralarda tercih edilmektedir. Kanola yağı, tüm bitkisel yağlar içerisinde kalp ve damar hastalıkları riskini arttıran doymuş yağ asitlerini en az miktarda ihtiva eden yağ çeşididir. Ayçiçeği yağından sonra tekli doymamış yağ asidi olan oleik asit (18:1) içeriği en yüksek ikinci bitkisel yağdır. Birçok bilimsel çalışmada tekli doymamış yağ asitlerinin kötü kolestrol olarak adlandırılan LDL (low-density lipoprotein) seviyesini düşürürken iyi kolestrol olarak adlandırılan HDL (high-density lipoprotein) seviyesini sabit tuttuğu tespit edilmiştir [24]. Omega 6 grubu esansiyel yağ asidi olan linoleik asit (18:2-n:6) vücutta araşidonik aside metabolize olmaktadır. Kolesterol ve trigliserid seviyesini düşürerek kan hücrelerinin akışkanlığını arttırmakta böylece damar tıkanıklıklarının oluşmasını engellemektedir. Ayrıca merkezi sinir sistemi ve bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır [23,25]. Omega 3 grubu esansiyel yağ asidi olan linolenik asit ise eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahekzaenoik asit (DHA) gibi uzun zincirli doymamış yağ asitlerini sentezlemektedir. Bu yağ asidi kalp ile ilgili ritim

bozukluklarında, kronik damar hastalıklarında, prostat kanserinde ve beyin hücrelerinin yenilenmesinde önemli rol oynamaktadır [26,27]. Çoklu doymamış yağ asitlerini içeren yağların tüketimi ile önemli bir antioksidan olan E vitamini gibi yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E, K vitaminleri) vücuda faydalı hale gelmeleri sağlanmaktadır [23].

Kolza tohumunda gerçekleştirilen ıslah çalışmaları sonucu elde edilen kanola tohumu, yağının bileşimi bakımından kolza yağından farklıdır. Çizelge 2.2'de görüldüğü gibi erüsik asit miktarının düşürülmesi sonucu linoleik asit ve linolenik asit içeriği yüksek olan kanola yağı elde edilmiştir. Uğradığı hidroliz reaksiyonu sonucu kükürtlü bileşikler açığa çıkaran glikozinolatların miktarının, 70-120 μmol/g değerinden 26,5 μmol/g ve altındaki değerlere düşürülmesi ile yağdaki kükürt miktarı da azalmıştır. Bu değişimler ile insan sağlığı için tüketimi uygun bir bitkisel yağ elde edilmiştir [15].

Çizelge 2.2 : Kanola ve kolza yağının yağ asidi bileşimlerinin karşılaştırılması [1].

Yağ Asidi		**Kanola yağı**	**Kolza Yağı**
Doymuş Yağ Asitleri, (%)			
Palmitik Asit	(16:0)	4,0	1,7
Stearik Asit	(18:0)	1,4	0,9
Araşidik Asit	(20:0)	1,1	1,2
Behenik Asit	(22:0)	0,3	0,9
Lignoserik Asit	(24:0)	0,1	0,5
Tekli Doymamış Yağ Asitleri, (%)			
Palmitoleik Asit	(16:1)	0,5	0,0
Oleik Asit	(18:1)	56,9	12,3
Eikosaenoik asit	(20:1)	1,5	5,8
Erüsik Asit	(22:1)	0,0	59,4
Nervonik Asit	(24:1)	0,3	1,6
Çoklu Doymamış Yağ Asitleri, (%)			
Linoleik Asit	(18:2)	23,8	12,7
Linolenik Asit	(18:3)	10,1	7,6

Kanolanın, yağı alındıktan sonra elde edilen küspesi %38-43 oranında protein içermektedir. Bu oran küspenin hayvan yemlerinde protein kaynağı olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Küspe, lizin amino asidince düşük fakat metionin ve sistince zengindir, ayrıca treonin ve triptofan gibi temel amino asitleri de

içermektedir. İyi bir mineral kaynağı olan küspe yüksek miktarlarda selenyum ve fosfor içermektedir [1,6].

Kanola yağı yaklaşık %95 oranında triaçilgliserol içeriğine sahiptir. Kalan %5'lik kısımda ise fosfolipidler, serbest yağ asitleri, tokoferoller, steroller, klorofil, kükürt ve demir bulunmaktadır. Ham kanola yağında %2,5 oranında fosfolipid bulunurken ham kolza yağında bu oran %3,5 civarındadır. Kanola yağındaki klorofil miktarı 5-50 mg/kg, kükürt miktarı 3-25 mg/kg ve demir miktarı 2 mg/kg'dır [28].

Kanola yağının sabunlaşmayan kısmını oluşturan en önemli bileşenler steroller ve tokoferollerdir. Bitkinin yoğun olarak tohum ve kepek kısmında bulunan steroller (fitosteroller) yağın yaklaşık %0,7-1'lik kısmını oluşturmaktadırlar. Kanola yağında bulunan en önemli steroller; beta-sitosterol (%52), campesterol (%28) ve brassicasterol'dur (%14). Bu fitosteroller antikanserojenik etkiye sahip olmakla birlikte kan plazmasındaki kolestrol seviyesini düşürmektedirler. Bitkilerden elde edilen doğal antioksidanlardan en önemlileri tokoferollerdir. Tohumda hücre zarında bulunarak hücreyi serbest radikallere ve oksidasyon tehlikesine karşı korumaktadırlar. Kanola yağı, 272 ppm α-tokoferol ve 423 ppm γ-tokoferol ile yaklaşık 800 ppm tokoferol içermektedir [22,27,28]. Kanola yağı ayrıca E ve K vitamini açısından zengin bir bitkisel yağdır [31].

Yağların kimyasal özelliklerinden biri de iyot sayılarıdır. İyot sayısı yağların oksidatif stabiliteleri ile ilişkilidir. Oksidasyon sonucu açığa çıkan bileşikler, yağın depolanması sırasında istenmeyen kimyasal ve fiziksel değişikliklere neden olarak yağın raf ömrünü kısaltmaktadırlar. Ancak iyot sayısının 113 oluşu kanola yağına oksidatif stabilite ve dolayısıyla depolama ömrü açısından avantaj sağlamaktadır [21,32].

2.2.1 Dünya'da ve Türkiye'de kanola ve kanola yağı

Dünya yağ bitkileri tarımında kanola (düşük erüsik asit içeren kolza) önemli bir yer tutmaktadır. Üretim bakımından soya ve pamuk çiğidinden sonra üçüncü, ekim alanı olarak ise (23,8 milyon) soya, pamuk çiğidi ve yerfıstığından sonra dördüncü sırada yer almaktadır. Yoğun olarak Uzakdoğu'da, Avrupa ve Amerika'nın kuzey kısımlarında yetişen kanolayı en fazla ihraç eden ülke Kanada'dır [18,33].

2007-2008 yılında kolza/kanolanın dünyadaki toplam üretimi 48,43 milyon ton olup, bu oran üretilen yağlı tohumların %12,36'sını oluşturmaktadır. İstatistiklere göre

kanola bitkisinin ve yağının değerleri kolza başlığı altında verilmektedir. Yapılan araştırmalar doğrultusunda kolza/kanola yağı ile ilgili elde edilen değerler Çizelge 2.3'te verilmektedir [34].

Çizelge 2.3 : Dünya kolza yağı istatistikleri (bin ton) [34].

Kanola Yağı	2006/07	2007/08	2008/09
Üretim			
AB-27	6520	7575	8223
Çin	4067	3870	4384
Hindistan	2135	1968	2085
Kanada	1440	1675	1830
Japonya	890	902	945
Diğer	1977	2320	2743
Toplam	17029	18310	20210
İthalat			
AB-27	727	296	210
Çin	330	277	270
Hindistan	0	0	0
Kanada	136	36	40
Japonya	18	17	20
Diğer	990	1319	1475
Toplam	2201	1945	2015
İhracat			
AB-27	51	132	150
Çin	54	8	10
Hindistan	2	1	1
Kanada	1265	1285	1450
Japonya	0	0	0
Diğer	571	475	577
Toplam	1943	1901	2188
Ülke Tüketimi			
AB-27	7198	7774	8217
Çin	4343	4139	4644
Hindistan	2133	1967	2084
Kanada	353	380	410
Japonya	918	926	945
Diğer	2505	3166	3636
Toplam	17450	18352	19936

Son yıllarda gelişmiş ülkelerdeki ekimi ve üretimi devamlı artan kanola, kolza olarak 1970'li yıllarda ülkemiz çiftçisi tarafından üretimine başlanmış bir bitkidir. 1979 yılında üretimi 43000 ton seviyesine ve ekim alanı 28000 hektara ulaşan kolzanın insan sağlığı için zararlı olan erüsik asit içeriğinin %5'ten fazla olduğunun saptanması ile ekimi Sağlık Bakanlığı tarafından yasaklanmıştır. Daha sonra ıslah

çalışmaları ile erüsik asit ve glukozinolat içeriği düşük çeşitler elde edilmiştir, fakat ülkemizdeki ekimi yaygınlaştırılamamıştır [5,35].

Ülkemizin bitkisel yağ üretiminin yetersiz olmasından dolayı dışa bağımlılığımızın azaltılması için kanola alternatif bir yağ bitkisi olarak görülmüş ve 2001 yılından itibaren Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından ekimi desteklenmeye başlanmıştır [6,13]. Kanola, kışlık ve yazlık olarak yetiştirilebilmesi, birim alandan yüksek verim sağlaması, ekiminden hasada kadar bütün yetiştirme tekniğinin mekanizasyona uygun olması gibi özellikleri nedeniyle oldukça avantajlı bir bitkidir [35]. Tahıl üretimi yapılan her yerde yetiştirilebilen kanolanın hasat zamanının (Haziran sonu) diğer yağ bitkilerinden 1-2 ay erken olması atıl kapasite ile çalışan yağ ve yem fabrikalarının hammadde gereksinimini karşılamakta ve uygun bölgelerde ikinci ürün tarımına imkân sağlamaktadır [23,35]. Ülkemizde genellikle kışlık kolza ekimi tercih edilmekte ve başta Trakya olmak üzere Marmara Bölgesi'nde (toplam ekimin alanının %90'ı) ve Orta Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilmektedir. Akdeniz Bölgesi kıyı şeridinde ise yazlık çeşidinin ekimine rastlanılmaktadır [23]. Ülkemizin son altı yıldaki kanola ham yağ ithalatı ve kanola yağı tüketimi değerleri Çizelge 2.4'te verilmektedir [9].

Çizelge 2.4 : Türkiye kanola yağı istatistikleri (ton) [9].

	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Ham Yağ İthalatı	14780	9604	3000	6682	3548	-
Tüketim	8000	4000	5000	10000	13000	20000

2.2.2 Kanola yağı kullanım alanları

Son derece kaliteli ve doymamış yağ asidi oranı yüksek olan kanola yağı yemeklik yağ endüstrisinde en çok tercih edilen yağlardan biri olmuştur. Margarin, mayonez ve kızartma yağı üretiminde tercih edilmektedir [21,36]. Ayrıca yüzey aktif madde, yağlayıcı, polimer, mürekkep ve kaplama maddeleri, sabun ve boya üretiminde de kullanılabilmektedir [4,37].

Kanola yağı margarin sanayinde geniş ölçüde tüketilmektedir. Ancak margarin üretiminde kullanılacak yağların palmitik asit gibi kısa zincirli doymuş yağ asitlerince zengin olmaları beklenmektedir. Böylece depolama sırasında istenmeyen

kristalleşme olayları gerçekleşmeyecek ve margarinin raf ömrü uzayacaktır. Bu amaç doğrultusunda kanola yağı kısa zincirli yağ asitleri ile modifiye edilmektedir [1,38].

Yağlar, içerdikleri doymamış yağ asidi miktarı arttıkça oksidasyona duyarlı hale gelmektedirler. Taze kanola yağı kokusuz ve parlak renktedir ancak depolama süresince doymamış yağ asitlerinin (özellikle 18:3) oksidasyona uğramaları nedeniyle arzu edilmeyen koku ve tat oluşmakta, bu da yağın kalitesini bozmaktadır. Oksidasyon yağın ışığa ya da ısıya maruz kalması ile gerçekleşmektedir. Gıda endüstrisinde kızartma yağı olarak kullanılacak yağın yüksek sıcaklık nedeniyle oksidasyona uğramaması için linolenik asit içeriğinin düşük olması gerekmektedir. Bu nedenle kızartma yağı olarak kullanılmak üzere; linolenik asit oranı (%2,5) düşük ve oksidasyona karşı daha stabil olan oleik asit (18:1) oranı yüksek kanola yağı elde edilmiştir. Elde edilen bu yağa düşük-linolenik asit kanola yağı ya da yüksek-oleik asit kanola yağı denilmektedir [39,40,41,42].

Kanola yağı gıda olarak tüketimi dışında farklı uygulamalar için de kullanılabilmektedir. Günümüzde yenilenebilir ve çevre dostu yakıtların üretiminde bitkisel yağlardan yararlanılmaktadır. Kanola yağının monohidrik bir alkolle (etanol, metanol) katalizör (asidik ve bazik katalizörler ile enzimler) varlığındaki transesterifikasyon reaksiyonu sonucu yağ asidi esterleri ve gliserin açığa çıkmakta, elde edilen yağ asidi esterleri biyodizel olarak kullanılmaktadır [30,43].

Biyodizel, ülkemizde de mevcut olanaklarla uygulamaya alınabilecek en önemli alternatif yakıt seçeneklerinden biridir. Zararlı emisyon içermeyen ve toksik etki göstermeyen biyodizel için bitkisel yağ kaynaklarından yararlanılmalıdır. Böylelikle ülkemizin petrol konusundaki dışa bağımlılığı da azaltılabilmektedir [5,44].

Kanola yağı düşük sıcaklıklara duyarlı olması, uçuculuğunun az olması, düşük vizkozite değeri ve biyolojik bozunabilirlik özelliği ile boya ve kaplama sanayinde hammadde olarak tercih edilmektedir Ayrıca vizkozitesinin düşük olması ve oksidatif stabilite özelliği nedeniyle makine yağı olarak kullanılmaktadır [28].

Kanola bitkisi, yem sanayinde protein kaynağı açığının yaşandığı dönemde kaynak çeşitliliği ve besleyici değeri yüksek küspe sağlaması bakımından önemli bir yere sahiptir. Küspe zengin protein içeriği nedeniyle hayvan besleme alanında kullanılmaktadır [4,18]. Ayrıca ilkbaharda ilk çiçek açan kültür bitkisi olması sebebiyle arıcılıkta da bu özelliği ile büyük önem taşımaktadır [2].

2.3 Kudret Narı Meyvesi ve Özellikleri

Kudret narı (*Momordica charantia* L.) *Cucurbitaceae* familyasina ait *Momordica* cinsi tropikal bir meyvedir. Acı kabak, acı kavun, karela, balsam elması ve balsam armudu olarak da isimlendirilmektedir [45,46]. Anavatanı Hindistan olan kudret narı Asya, Güney Amerika ve Afrika'nın tropikal bölgelerinde, Çin, Tayvan ve Pakistan'da; Türkiye'de ise Marmara Bölgesi'nin batısında ve Ege Bölgesi'ndeki bahçelerde yetiştirilmektedir [47,48,49].

Kudret narı, *Momordica* cinsi diğer bitkilerden narin yaprakları, ince gövdesi ve sade filizleri ile ayrılmaktadır. Olgun iken turuncu ham iken yeşil ya da beyaz renge sahip meyve 10-20 cm uzunluğunda, geniş bir mekik şeklinde olup, üzeri girintili çıkıntılı ve pürüzlüdür. Tek yıllık, tırmanıcı, sarmaşık formda olan bitki yaz aylarında çiçek açmaktadır. Sarı ya da kırmızı renkteki küçük çiçekleri, erkek veya dişi olarak ayrı saplar üzerindedir. Yapraklar ise el şeklinde, uzun saplı, loplu olup, loplar uzunca oval şekilde, kenarları dişli, sivri uçludur. Şekil 2.2'de görüldüğü gibi meyve olgunlaşınca, kabuğu 3 ayrı parça halinde, geriye bükülerek çok sayıda, kırmızı-kahverengi tohumları ortaya çıkarmaktadır. 7-15 mm boyunda, yassı ve pütürlü olan tohumlar kırmızı renkteki tohum zarı ile çevrilidir [50,51, 52,53].



Şekil 2.2 : Kudret narı meyvesi [54]

Çıkıntılı yüzeye sahip meyve rengine göre beyaz, açık yeşil ve yeşil, şekline göre çubuk, armut biçimli ve uzun, boyutlarına göre ise normal (30 cm uzunluğunda ve 10 cm çapında) ve yabani (8 cm uzunluğunda ve 4 cm çapında) olmak üzere

gruplandırılabilmektedir. Kumlu, tınlı, hafif killi topraklarda (pH 5,5-6,5) düzenli yaz sulamalarıyla yetiştirilen kudret narı, nemli iklim bölgelerine daha iyi adaptasyon sağlamaktadır. Tohumların çimlenmesinde optimum sıcaklık 30-35°C iken meyvenin oluşumunda 25°C'dir. Düşük sıcaklıklar bitkinin gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Sığ köklü bir bitki olan kudret narının ışık isteği yüksektir. Bitkinin hasadı ise çiçeklenmesinden yaklaşık 15-20 gün sonra gerçekleştirilmektedir [52,53].

Kudret narı meyvesi %93,2 nem ve kuru bazda %0,76 yağ, %18 protein ve %8,1 kül içermektedir [55]. Meyvenin yaprakları ve kırmızı tohum zarı sırası ile %89,25 ve %94 oranında su, %3,3 ve %30,7 oranında karbonhidrat içermektedir [56]. Kudret narı tohumunun kimyasal bileşimi genel olarak Çizelge 2.5'te gösterilmektedir [57].

Çizelge 2.5: Kudret narı tohumunun kimyasal bileşimi [57].

Tohum Bileşeni	**Miktar (%)**
Nem	7,3
Ham protein	11,8
Yağ	19,3
Ham lifler	34,8
Kül	3,6

Kudret narı tohumları yağ ve protein açısından oldukça zengindir. Tohumlar yüksek yağ içeriği nedeniyle yağ endüstrisinde kullanılmaktadırlar. İçeriğindeki oleik asit yağın besleyici özelliğini arttırarak yemeklik ve kızartma amaçlı kullanımına olanak sağlamaktadır. Ayrıca hayvansal yağlarda bulunmayıp çeşitli tohumların yağlarında bulunan konjuge linolenik asit izomerleri kudret narı tohumu yağının yaklaşık %60'lık kısmını oluşturmaktadır. Konjuge linolenik asit sağlık açısından faydalı bir yağ asididir ve kudret narındaki en önemli izomeri α-eleostearik asittir [58]. Toplam konjuge linolenik asit miktarının %49'unu oluşturan α-eleostearik asit aynı zamanda tung yağında da bulunmakta ve kaplama malzemeleri, mürekkep ve boyaların üretiminde kullanılmaktadır [57]. Diğer izomerler ise β-eleostearik asit, punisik asit ve katalpik asittir. Çizelge 2.6'da kudret narı tohumu yağının yağ asidi bileşimi verilmektedir [58].

Çizelge 2.6 : Kudret narı tohumu yağının yağ asidi bileşimi [58].

Yağ Asidi	Bileşim (%)
Palmitik Asit (16:0)	1,7
Stearik Asit (18:0)	21,1
Araşidonik Asit (20:0)	0,5
Oleik Asit (18:1)	9,2
Linoleik Asit (18:2)	5,8
Linolenik Asit (18:3)	0,2
Gadoleik Asit (20:1)	1,5
Konjuge Linolenik Asit	**60,0**

Kudret narı yüksek miktarlarda C vitamini içermektedir, ancak depolama süresi uzadıkça vitamin içeriği azaldığı için kısa sürede tüketimi önerilmektedir. Meyve ve yaprakları mineral ve vitamin deposu olan bitki özellikle demir, kalsiyum, fosfor ve B vitamini bakımından oldukça zengindir [49]. Ayrıca β-karoten, potasyum, magnezyum, A vitamini ve çinko içermektedir [59,60,61,62]. Olgun meyvenin tohum zarları ise iyi birer likopen kaynağıdır [61]. Meyve lizin, sistin ve metionin hariç diğer esansiyel amino asitleri ihtiva etmektedir [55].

Meyvenin başlıca etken bileşenleri ise alkaloidler (momordicine, momordin), glikosidler (momordicoside E, F, G, H, I, J) ve steroid glikosidlerdir. Protein yapısındaki momordin, alfa ve beta-momorcharin ve cucurbitacin B antikarsinojenik etki göstermektedir [61]. Charantin, vicin (pirimidin nükleosid) ve p-polipeptid hipoglisemik özellikleri ile diyabet hastalarında insulin düzeyinin kontrolünde etkili olmaktadır [46,61,62]. Bitkide ayrıca reçine ve çeşitli polisakkaritler bulunmakta, olgunlaşma döneminde ise 14 farklı karotenoid gözlenmektedir [51,59]. Kudret narı tokoferol içeriği ile antioksidan özellik göstermektedir. Kudret narı tohumunun α-tokoferol içeriği 44,22 mg/100 g'dır. Bu miktar yetiştirilme koşullarına göre farklılık göstermektedir [65].

Acı kavun olarak da bilinen kudret narı bu ismi yapısında bulunan alkoloid momordicine adı verilen maddenin neden olduğu acı tattan dolayı almaktadır [59,61]. Meyvelerin tam olgunlaşmadan hasat edilmesi ile acı tadın azaldığı saptanmıştır [53]. Ayrıca meyveye minimal düzeyde uygulanan işlemler de acı tadın azalmasında etkili olmaktadır. Meyve yıkanıp kesilerek düşük derecelerde

saklandığında hem acı tadı azalmakta hem de uygulanan işlemlerin minimal düzeyde olması nedeniyle hiçbir kimyasal koruyucu içermemektedir [49].

Türkiye'de kudret narının hazırlanan yağlı ekstraktı çeşitli hastalıklarda tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Olgun meyvenin tümü parçalanarak saf zeytinyağı ya da badem yağı içeren bir kavanoz içine konulmakta ve tohumların erimesi için güneş ışığı altında bırakılmaktadır (2-3 hafta). Ardından karışım kaşıkla bastırılarak homojen hale getirilmektedir. Bu yağlı ekstrakt çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Aynı amaç için taze ya da kurutulmuş meyveler ezilerek saf bal ile karıştırılmakta, elde edilen karışımdan her sabah aç karnına bir kaşık alındığında tedavi edici etki gözlemlenebilmektedir. Lapa haline getirilerek bal ile karıştırılan meyvenin romatizma, ülser ve migren gibi şikâyetlere iyi geldiği bilinmektedir [48, 51,66].

Son yıllarda gıdalara aroma kazandırmak amacıyla baharatlar dışında çeşitli bitkisel kaynaklardan yararlanılmaktadır. Böylece ürünler aroma açısından zenginleştirilirken besleyici özellikleri de arttırılmakta ve sağlığa faydalı hale getirilmektedirler. Kudret narı acımsı tadı ile başta Hindistan olmak üzere birçok ülkede aroma zenginleştirici olarak kullanılmaktadır [67].

2.3.1 Kudret narının sağlık üzerine etkileri

Çok eski tarihlerden bu yana hastalıkların tedavisinde çeşitli bitkilerden ve besinlerden yararlanılmaktadır. Son yıllarda ise bu doğal kaynakların tedavi edici özelliklerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu durumun en önemli nedenleri; sentetik ilaçların yetersiz kalması ve çeşitli yan etkilerinin saptanmasıdır. Ayrıca ilaçlar tek bir bölgeye etki ederken bitkisel ilaçlar zengin içerikleri ile birçok bölgede etkili olabilmekte ve ucuz olmaları nedeniyle geniş kitleler tarafından kullanılabilmektedirler [68,69,70].

Ülkemizde de tıbbi açıdan önemli olan birçok bitki halk arasında tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Türkiye florasının zenginliği ve pek çok bitkinin doğal olarak yetişiyor olması bitkisel ilaçların kullanımını arttırmaktadır [69,71]. Kudret narı (*Momordica charantia* L.) içerdiği sağlığa yararlı bileşenler ile bu tür şifalı bitkilerden biridir. Bitki, meyve ve tohum özütlerinin birçok tıbbi öneme sahip olduğu ve sıklıkla alternatif tıp sisteminde kullanıldığı bilinmektedir [68]. Kudret

narı Brezilya, Çin, Küba, Hindistan, Panama ve Kolombiya gibi gelişmekte olan ülkelerde tedavi amaçlı kullanılmaktadır [72].

Diyabet, organ ve dokularda glikoz seviyesini düzenleyen insülin hormonunun salgısındaki yetersizlik sonucu oluşan ve yağ, protein ve karbonhidrat metobolizmasını etkileyen bir hastalıktır [73]. Kudret narının meyvesi, pulpu ve tohumları antidiyabetik özellikleri ile tıbbi amaçlı kullanılmaktadırlar. Antidiyabetik özellik gösteren en önemli bileşenler; charantin, polipeptid-p ve alkoloidlerdir [70]. Kudret narının meyvesinden ve tohumlarından izole edilen polipeptid-p, 17-amino asit olarak tanımlanmakta ve insülin ile benzer özellik göstermektedir. Bitkisel insülin olarak adlandırılan polipeptid-p vücutta kan şekeri seviyesini düşürerek Tip I diyabet hastalığında etkili olmaktadır [45,47]. Steroid saponin karışımı olan charantinin bilinen birçok hipoglisemik ilaçtan daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Oleanolik asit glikositleri ise Tip II diyabet hastalığında vücudun glikoz toleransını arttırmaktadır [62,72,74]. Böylece diyabet hastalığının sonucu olarak ortaya çıkan görme alanında bozukluk, böbrek yetmezliği ve kalp hastalığı gibi sorunların da önüne geçilmektedir [75].

Kudret narının serum glikoz konsantrasyonunu düşürdüğü kanıtlandıktan sonra bu etkinin nasıl gerçekleştiği konusunda çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu kudret narı tüketimi ile şeker absorbsiyonunun önlendiği, bağırsaklarda şeker emiliminin azaldığı ve insülin salgılanmasının arttığı belirlenmiştir [68].

Fitosterollerin sağlık üzerine birçok olumlu etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Bitkisel yağların yağ kaliteleri ihtiva ettikleri fitosterol miktarı ile orantılıdır. Sitosterol birçok bitkide olduğu gibi kudret narında da en yüksek oranda bulunan steroldur (405 mg/100 g). Sitosterol kandaki kolestrol seviyesini düşürmeye yardımcı olurken sinir sistemini de olumlu yönde etkilemektedir. Kudret narının toplam sterol miktarı 477 mg/100 g'dır, yapısında bulunan diğer steroller; squalene, campesterol ve stigmasteroldur [57,59].

Serbest radikaller kanser, kalp hastalıkları, doku zedelenmesi, diyabet gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasında rol oynamaktadırlar. Vücut fonksiyonları sonucu oluşan ya da çevreden alınan serbest radikaller doku ve organlarda oksidatif zararlara neden olmaktadırlar. Oksidasyonun neden olduğu zararlar beslenme ile alınan antioksidanlar ile önlenebilmektedir. Bu nedenle yüksek miktarlarda antioksidan

içeren sebze ve meyveler tüketilmelidir. Fenolik bileşikler antioksidan özellikleri ile serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırarak hastalıklara neden olacak zincir reaksiyonları engellemektedirler [76,77]. Kudret narı tohumunun yağında diğer bitkisel yağlara oranla daha yüksek miktarda fenolik bileşik bulunmaktadır. Kudret narı tohumu yağının toplam fenolik asit miktarı 2,04 mg/100 g'dır. Bunun en önemli kısmını vanilik asit (0,74 mg/100 g) ve kafeik asit (0,42 mg/100 g) oluşturmaktadır. Bileşimindeki diğer fenolik asitler ise; gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, ferulik asit ve p-kumarik asittir. Ayrıca kudret narının yapısında bulunan α-tokoferol, γ-tokoferol, catechin ve epicatechin gibi maddeler de antioksidan özellik göstermektedirler. Yapılan çalışmalar sonucu kudret narının yapraklarının en yüksek, ham meyvesinin ise en düşük oranda antioksidan içerdiği saptanmıştır [57,78].

Kudret narı meyvesi halk arasında yaraların ve doku bozukluklarının çabuk iyileşmesinde ve mide ülserinin tedavisinde kullanılmaktadır [51]. Meyveler, yaraların iyileşmesinde kullanılmak üzere parçalanır ve zeytinyağının içinde renk değişimi görülene kadar yaklaşık 1-2 ay bekletilir. Ardından ciltteki yaraların (apse, egzamalı deri vb.) üzerine sürülmekte ve böylece merhem görevi görmektedir. Mide ülseri tedavisi için ise taze meyveler ya da çekirdekler zeytinyağının ya da balın içine konularak yaklaşık 15 gün bekletilir. Elde edilen karışım aç karnına tüketildiğinde mide ülseri tedavisine yardımcı olduğu gözlenmektedir [48,79].

Kudret narının, özellikle yapraklarının, etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktları *Escherichia coli* L., *Salmonella paratypi* L. ve *Shigella dysenterae* L. gibi birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Kudret narında bulunan fenolik bileşiklerin mikroorganizmalarda bulunan enzimleri inhibe ettikleri ve böylece zararlı etkilerini ortadan kaldırdıkları saptanmıştır [69,71].

Kudret narı kanser hücrelerinin oluşumunu ve gelişimini engelleyen proteinler içermektedir. Momordin, alfa-momorcharin, beta-momorcharin, cucurbitacin B tümör oluşumunu önleyerek antikanserojenik etki göstermektedir [50,59,72].

Kudret narı aktif bileşenleri çeşitli patojenlerin neden olduğu cinsel yolla bulaşan hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. AIDS, HIV virüsünün enfeksiyonu sonucu oluşan ve bağışıklık sistemini zayıflatan bir hastalıktır. Kudret narının tohum, meyve ve yapraklarında bulunan alfa-momorcharin ve beta-momorcharin adı verilen proteinlerin HIV virüsünün aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir [50,70]. Kudret

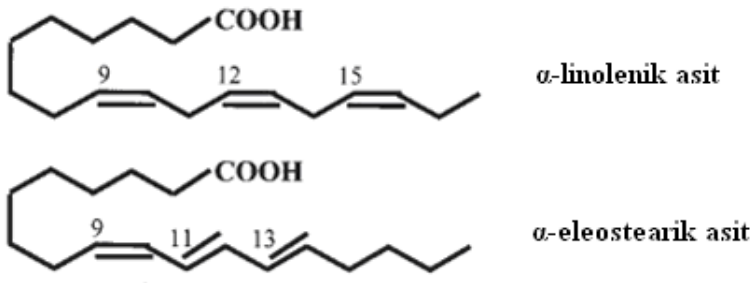
narından izole edilen ve MAP-30 adı verilen protein ise kanserli hücrelerin metastasa neden olmasını önleyerek sağlıklı hücreleri korumaktadır [80].

Kudret narı bahsedilen tüm bu etkilerin dışında karın ağrılarında, soğuk algınlığı ve ateşli hastalıklarda, gut hastalığında, kalın bağırsak ile ilgili şikâyetlerde, vücut ağırlığının kontrolünde ve dolayısıyla obezite ile ilgili problemlerde etkili olmaktadır. Ayrıca bağışıklık sistemini güçlendirerek vücut direncini arttırmaktadır [48,59,62,81].

2.4 Konjuge Linolenik Asit

Konjuge yağ asitleri oleik asit, linoleik asit, linolenik asit ve stearidonik asit kaynaklı 18 karbonlu bileşiklerdir. Dien, trien ve tetraen olarak bulunmaktadırlar [82]. Konjuge linolenik asitler (KLNA), üç konjuge çift bağ içeren oktadekatrienoik asitlerin pozisyonel ve geometrik izomerlerinden oluşan bir asit grubudur [83,84]. İçerdikleri üç çift bağ genel olarak Δ9, 11, 13 ve Δ8, 10, 12 pozisyonlarında, geometrik olarak ise cis ve trans konfigürasyonlarında bulunmaktadır [85,86,87]. Konjuge linolenik asitler insan ve hayvanlar için esansiyel yağ asidi olan α-linolenik asitten (cis-Δ9, cis-Δ12, cis-Δ15-18:3) oluşan ve bitkisel kaynaklarda rastlanan trienoik yağ asitleridir [82].

α-linolenik asit, 18 karbonlu bir yağ asidi olup, 9., 12. ve 15. pozisyonlarda cis konfigürasyonunda çift bağlar bulundurmaktadır. İlk çift bağı metil grubuna en yakın üçüncü karbonda bulunduğundan omega 3 yağ asidi olarak adlandırılmaktadır. Konjuge linolenik asit moleküllerinde α-linolenik asitten farklı olarak bir adet çift bağdan sonra bir adet tek bağ gelmektedir ve çift bağların dizilimi bu şekilde devam etmektedir [88]. Şekil 2.3'te α-linolenik asit ve konjuge linolenik asidin en önemli izomerlerinden biri olan α-eleostearik asidin genel yapısı görülmektedir [89].



Şekil 2.3 : α-linolenik asit ve α-eleostearik asidin genel yapısı [89].

Konjuge linolenik asidin toplam yedi farklı geometrik izomeri olduğu belirlenmiştir. α-eleostearik asit (cis-Δ9, trans-Δ11, trans-Δ13), punisik asit (cis-Δ9, trans-Δ11, cis-Δ13), katalpik asit (trans-Δ9, trans-Δ11, cis-Δ13), α-kalendik asit (trans-Δ8, trans-Δ10, cis-Δ12), β-kalendik asit (trans-Δ8, trans-Δ10, trans-Δ12), jakarik asit (cis-Δ8, trans-Δ10, cis-Δ12) ve β-eleostearik asit (trans-Δ9, trans-Δ11, trans-Δ13) KLNA izomerleri olarak bilinmektedir [58,86,90].

Konjuge yağ asitlerinin oluşumundan sorumlu üç grup enzim bulunmaktadır. Konjugazlar, oksidazlar ve izomerazlar bitkisel kaynaklardan elde edilerek konjuge yağ asitlerinin biyosentezinde rol oynamaktadırlar. Konjugaz enzimleri varlığında gerçekleştirilen reaksiyonlar ile metil grubu içeren polienlerdeki çift bağların yer değiştirmesi sağlanmakta ve konjuge çift bağ içeren yeni yağ asitleri elde edilmektedir. Başka bir deyişle; yağ asidi konjugaz enzimleri grubuna giren Δ12-desaturaz enzimi katalizörlüğünde meydana gelen reaksiyonlar ile α-linolenik asidin 12. pozisyonundaki çift bağ yer değiştirerek 11. ya da 13. pozisyonlara geçmektedir. Böylece cis-12 konfigürasyonundaki çift bağ trans, cis konfigürasyonu ile 11. ve 13. pozisyonlara geçmektedir. Kalendik asit gibi 8., 10. ve 12. pozisyonlarında çift bağ içeren konjuge linolenik asit izomerlerinde ise 9. pozisyondaki çift bağ yer değiştirerek 8. ya da 10. pozisyonlara geçmektedir [82,89,91].

Başka bir deyişle; α-eleostearik asit ve punisik asit elde edebilmek için yine Δ12-desaturaz enzimi ile 12. pozisyondaki çift bağa komşu olan 11. ve 14. pozisyonlardaki hidrojen atomları uzaklaştırılarak yağ asidi yapısındaki bağların konjuge (bir tek bağ bir çift bağ) biçiminde dizilmeleri sağlanmaktadır. α-kalendik asit elde edebilmek için ise 9. pozisyondaki çift bağa komşu olan 8. ve 11. pozisyonlardaki hidrojen atomları uzaklaştırılmalıdır [92,93,94].

Konjuge linolenik asitler kimyasal yapılarının kazandırdığı fonksiyonel özelliklerden dolayı endüstriyel alanlarda kullanılmaktadırlar. Konjuge çift bağ içeren yağ asitleri metilen grubu içeren çoklu doymamış yağ asitlerine oranla oksidasyona karşı daha duyarlıdırlar. Bu yağ asitlerini yüksek oranda içeren yağlar, konjuge yapı özelliğinin doğal bir sonucu olarak hava oksijeni ile kuruma tepkimesi vererek ağırlık kaybına uğramaksızın dayanıklı film oluşturmaktadırlar. Kuruma esnasındaki polimerizasyon işlemi için daha az miktarda oksijene gereksinim duymakta ve diğer yağlara oranla daha çabuk kurumaktadırlar. Ayrıca oluşturdukları film tabakası ile suya ve alkaliye

karşı dayanıklı ürünler elde edilmesini sağlamaktadırlar. Bu özellikleri nedeniyle, bu tip yağlar lak ve yağlı boya sanayi için önemli hammaddeler olarak görülmektedirler [89,92,94].

Konjuge linolenik asitlerin sağlık açısından faydalı bileşikler olduklarının saptanması ile gıdalardaki kullanımları artmıştır. Ancak oksidasyon eğilimlerinin ürünün aroma ve kalitesi üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu saptanmıştır. Bu nedenle KLNA katkılı ürünlerde oksidasyonu önlemek amacıyla antioksidan ve tokoferollerin kullanılması gerekmektedir. Böylece hem oksidasyona karşı dayanıklı hem de fonksiyonel özellikte gıdaların üretimi mümkün olmaktadır [82].

2.4.1 Konjuge linolenik asit kaynakları

Hayvansal yağlarda yaygın olarak rastlanmayan KLNA, *Punicaceae*, *Bignoniaceae*, *Rosaceae*, *Cucurbitaceae* ve *Euphorbiaceae* familyasına ait çeşitli bitkilerin tohumlarının yağlarında bulunmaktadır [85,92,96]. Tung (*Aleurites ford* L.) ve kudret narı (*Momordica charantia* L.) tohumu yağı α-eleostearik asit ve β-eleostearik asit, nar (*Punicia grannatum* L.) tohumu yağı punisik asit, kadife çiçeği (*Calendula officianalis* L.) tohumu α-kalendik asit ve β-kalendik asit, katalpa tohumu (*Catalpa ovat* L.) yağı katalpik asit, jakaranda (*Jacaranda mimosifolia* L.) bitkisi tohumu yağı ise jakarik asit içermektedir. Çizelge 2.7'de bazı bitkisel kaynakların KLNA içerikleri özetlenmektedir [82,90,97]. Bu kaynakların tümünde diğer KLNA izomerlerine de rastlanmaktadır. Örneğin; kudret narı tohumu yağı punisik asit ve katalpik asit, katalpa tohumu yağı α-eleostearik asit ve β-eleostearik asit, nar tohumu yağı β-eleostearik asit içermektedir. Ayrıca mahlep olarak bilinen *Prunus mahaleb* L. bitkisi tohumunun yağında %21 oranında α-eleostearik asit bulunmaktadır [58].

Çizelge 2.7 : Bazı bitkilerin KLNA içerikleri [90,98].

KLNA kaynağı	KLNA izomeri	Miktar (%)
Kudret narı tohumu yağı	α-eleostearik asit	55-60
Tung yağı	α-eleostearik asit	65-70
Nar tohumu yağı	Punisik asit	75-85
Katalpa tohumu yağı	Katalpik asit	32-42
Kadife çiçeği tohumu	Kalendik asit	33-63

2.4.2 KLNA'nın sağlık üzerine etkileri

Yapılan birçok araştırmada konjuge linolenik asidin sağlık üzerine pek çok olumlu etkisi olduğu tespit edilmiştir. KLNA izomerlerinin her birinin aynı ya da bir kaçının farklı etkileri bulunmaktadır [83,90]. KLNA'nın insan metabolizması üzerindeki en önemli faydalarından biri kalp ve damar hastalıklarını önleyici etkiye sahip olmasıdır. Özellikle α-eleostearik asit, β-eleostearik asit ve punisik asit kandaki kolestrol ve hepatik trigliserid seviyesini düşürerek damarların zarar görmesini engellemektedir [84,97].

Konjuge linolenik asit izomerlerinin antikanserojenik etki gösterdikleri saptanmıştır. KLNA, sitotoksik etkisi ile tümör gelişimini engellemektedir [85,89,99]. α-eleostearik asidin kolon kanseri, göğüs kanseri ve prostat kanserinin gelişimini önlediği belirlenmiştir [97,100]. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucu, yağ asitlerinin inhibisyon özelliklerinin yapılarındaki çift bağın sayısına ve pozisyonuna göre farklılık gösterdiği saptanmıştır. KLNA'nın konjuge linoleik asit ve diğer birçok yağ asidine oranla daha etkin olduğu tespit edilmiştir [82,97,99].

KLNA'nın biyolojik aktivitelerinden bir diğeri vücuttaki yağ miktarını kontrol altında tutabiliyor olmasıdır. Son yıllarda obezite ile ilgili artan şikâyetler farklı tedavi yollarına başvurulmasına neden olmuştur. Obezite hipertansiyon, kalp hastalıkları ve felç gibi birçok rahatsızlığı beraberinde getirmektedir. Başta kalendik asit ve α-eleostearik asit olmak üzere tüm KLNA izomerlerinin obeziteyi önleyici etkileri bulunmaktadır. KLNA özellikle karın bölgesindeki yağ depolarını kırarak vücuttaki yağ miktarını azaltabilmektedir [96,97,99,101]. Ayrıca KLNA'nın tüm bu olumlu etkilerinin yanında hipolipidemik etki gösterdiği ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği de bilinmektedir [86,98].

2.5 Yapılandırılmış Yağlar

Yağlar üç değerli bir alkol olan gliserol ile yağ asitlerinin esterleşmesi sonucu oluşan triaçilgliserollerdir. Yağlarda ayrıca %0,5-2,0 oranında değişen miktarlarda mono ve diaçilgliseroller, steroller, fosfatitler, serebrositler, renk ve koku maddeleri gibi farklı bileşenler de bulunmaktadır. Yağlar suda çözünmezler ancak hekzan, etil eter, kloroform gibi organik çözücülerde çözünmektedirler [102].

Yağ asitlerinin fonksiyonel ve fiziksel özellikleri oluşturdukların yağın karakterini belirlemektedir. Son yıllarda insanların beslenmesinde ve hastaların tedavisinde kullanım amaçlı farklı niteliklerde yağlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla doğal yağların ve yağ asitlerinin modifiye edilmesi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Böylece hem sağlığa yararlı hem de fonksiyonel yağlar elde edilmektedir [103].

Yapılandırılmış yağlar, triaçilgliserollerin yapısındaki yağ asitlerinin pozisyonlarının değiştirilmesi veya yeni yağ asitlerinin yerleştirilmesi ile elde edilen modifiye triaçilgliserollerdir [104].

2.5.1 Yapılandırılmış yağ sentezinde kullanılan yağ asitleri

Yağ asitleri farklı zincir yapı ve uzunluğunda, alifatik organik bileşiklerdir. Yağın temel yapısını oluşturarak kendi fiziksel ve kimyasal özelliklerini vermektedirler [104]. Bu nedenle arzu edilen ürün niteliği doğrultusunda farklı yağ asitlerinden faydalanılarak yapılandırılmış yağlar üretilebilmektedir. Kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), orta zincirli yağ asitleri (OZYA), uzun zincirli yağ asitleri (UZYA) başta olmak üzere çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), tekli doymamış yağ asitleri ve doymuş uzun zincirli yağ asitleri yapılandırılmış yağ sentezinde kullanılabilmektedirler [105].

2.5.1.1 Kısa ve orta zincirli yağ asitleri

KZYA (C2-C6) ve OZYA (C6-C12) besleyici özellikleri benzer olan yağ asitleridir. Kısa zincir uzunlukları, suda çözünebilme dereceleri ve küçük molekül yapıları nedeniyle UZYA'lara göre midede daha kolay emilmektedirler. Hidrofilik olan KZYA, triaçilgliserollerin genellikle sn-3 pozisyonunda bulunmakta ve pankreatik lipaz ile tamamen hidrolize olmaktadırlar [106]. KZYA, kalori değerlerinin (asetik asit = 3,5 kcal/mol, propiyonik asit = 5,0 kcal/mol) OZYA ve UZYA'ne göre daha düşük olması nedeni ile kalorisi azaltılmış yağların üretiminde tercih edilmektedirler [107].

Orta zincirli yağ asitlerinin gliserol ile esterifikasyonu sonucu orta zincirli triaçilgliseroller oluşmaktadır. Bu yağlar düşük vizkozite değerleri, yumuşak tat ve kokuları, oksidatif stabiliteleri ile yapılandırılmış yağ üretiminde tercih edilmektedirler [106]. Gıda uygulamalarında aroma zenginleştirici olarak, tıbbi alanlarda ise bağırsaklardaki emilim problemlerinde, hiperlipidemi ve obezite

tedavisinde kullanılmaktadırlar. UZYA'nin kalori değerleri 9 kcal/mol iken OZYA'nin kalori değerleri 8,3 kcal/mol olarak saptanmıştır, bu nedenle OZYA kalorisi azaltılmış yağların üretiminde yer almaktadır [107].

2.5.1.2 Uzun zincirli yağ asitleri

Uzun zincirli yağ asitleri (C14-C24) diğer yağ asitlerine göre daha yavaş adsorbe olurlar ve kan içinde taşınamazlar. Çeşitli hayvansal ve bitkisel yağlarda bulunmaktadırlar. UZYA doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki grupta incelenmektedirler [106].

Uzun zincirli doymamış yağ asitlerinden linoleik asit (ω-6) ve linolenik asit (ω-3) yapılandırılmış yağ üretiminde en çok tercih edilen yağ asitleridir. Birçok bitkinin tohumunda bulunan linoleik asidin vücutta kolestrol seviyesini düşürücü etkisi bulunmaktadır. Linoleik asit eikosanoid biosentezinde öncü yağ asidi olan araşidonik aside metabolize olmaktadır. Linoleik asit eksikliğinde deride su kaybı, büyüme ve gelişme bozuklukları, yaraların geç iyileşmesi gibi problemlerle karşı karşıya kalınmaktadır [107]. Linolenik asit (ω-3), soya fasulyesi ve kanola yağları ile yeşil yapraklı bitkilerin kloroplastlarında bulunmaktadır. Kalp ve damar hastalıkları, bağışıklık sistemi sorunları, alerji problemleri ve diyabet hastalığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir [106]. Eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahekzaenoik asit (DHA) ise linolenik asit tarafından sentezlenen çoklu doymamış uzun zincirli yağ asitleridir. EPA kandaki akışkanlığı sağlamakta ve antitrombotik etki yaratmaktadır; DHA ise prematüre bebeklerin büyüme ve gelişimleri üzerinde olumlu etkiye sahiptir. EPA ve DHA bu tür sağlığa yararlı etkilerinden dolayı yapılandırılmış yağların sentezinde tercih edilmektedirler [108].

Uzun zincirli doymuş yağ asitlerinin erime noktaları vücut sıcaklığından yüksektir; bu yüzden vücuttaki emilimleri düşüktür. Adsorbsiyon eğilimlerinin düşük olmasından dolayı kalorisi azaltılmış yapılandırılmış yağ üretiminde kullanılmaktadırlar [107].

2.5.2 Yapılandırılmış yağların sentezi

Yapılandırılmış yağlar başta kimyasal ve enzimatik interesterifikasyon olmak üzere, mikrobiyal sentez yoluyla ve yağlı tohumların ıslah edilerek genetik yapılarının değiştirilmesi ile elde edilebilmektedir [109].

Kimyasal yolla yapılandırılmış yağ üretimi endüstride 1940 yılından bugüne uygulanmaktadır. Kimyasal interesterifikasyon herhangi bir katalizör olmadan 300°C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmekte ve yüksek sıcaklık ürünün bileşimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir [110]. Reaksiyon sıcaklığının ve süresinin düşürülmesi için katalizör olarak alkali metaller veya alkali metal alkilatları kullanılmaktadır [105].

Reaksiyonun susuz ortamda gerçekleşmesi gerektiğinden yağ karışımları vakum altında ve yüksek sıcaklıklarda (>90°C) kurutulmaktadır. Karışım 60-70°C'ye soğutulduktan sonra katalizörün ilave edilmesi ile reaksiyon başlatılmaktadır. Karışım kahverengiye dönüştüğünde reaksiyon gerçekleşmeye başlamış demektir. Renk değişiminden yaklaşık 30 dk sonra reaksiyon tamamlanır. Reaksiyonu sonlandırmak için ortama su ilave edilmekte ve son ürünü elde etmek için yıkama, ağartma ve deodorizasyon işlemleri uygulanmaktadır [111].

Enzimatik yöntem ise 1970 yılında uygulanmaya başlanmıştır. Lipaz enzimi katalizörlüğünde gerçekleştirilen enzimatik sentez başta gıda uygulamalarında olmak üzere çeşitli endüstriyel alanlarda uygulanmaktadır [110]. Reaksiyon, substratın içinde çözündüğü organik çözücülerde lipaz enzimi varlığında gerçekleştirilmekte ve farklı fiziksel özelliklere ve yağ asidi bileşimine sahip yağlar üretilmektedir. Böylece insan sağlığı için uygun, çevreye uyumlu, ekonomik değeri olan ürünler elde edilmiş olmaktadır [112].

Bitkisel yağ üretiminin maliyetinin düşük olması ve hammadde sıkıntısının yaşanmaması bitkilerde genetik modifikasyon çalışmalarının başlamasına neden olmuştur. Tohumların ıslah edilmesi olarak da adlandırılan bu çalışmalarda gen transferi yoluyla bitkilere istenilen özellikler kazandırılmaktadır. Günümüzde başta kanola, soya fasulyesi ve mısır tohumları olmak üzere birçok yağlı tohumda bu yöntem uygulanmaktadır [113].

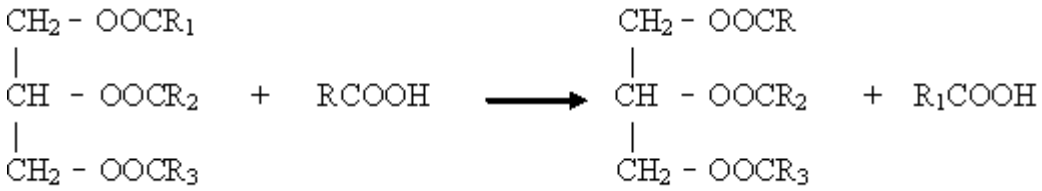
2.5.2.1 Interesterifikasyon

Interesterifikasyon reaksiyonu ile bir ester ile farklı bir bileşen arasında açil grubu değişimi gerçekleştirilmekte ve yeni bir ester oluşumu meydana gelmektedir. Kimyasal ve enzimatik olarak gerçekleşebilen reaksiyon sonucu fonksiyonel özelliklere sahip yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir. Interesterifikasyon, esterin

reaksiyona girdiği bileşenin türüne göre asidoliz, alkoliz ve transesterifikasyon olmak üzere üç farklı grupta incelenmektedir [114].

2.5.2.2 Asidoliz

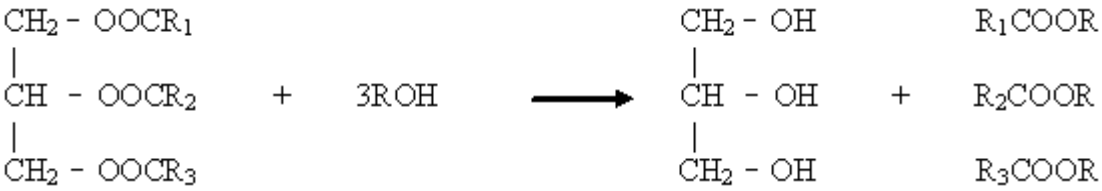
Asidoliz, bir ester ve bir asit arasındaki açil grubu değişiminin gerçekleştiği interesterifikasyon reaksiyonudur. Substrat olarak bitkisel yağlar kullanılarak 1,3-spesifik lipaz varlığında asidoliz yöntemi ile yapılandırılmış yağlar üretilmektedir [115]. Şekil 2.4'te bir triaçilgliserol ile bir yağ asidi arasındaki asidoliz reaksiyonu görülmektedir [116].



Şekil 2.4 : Bir triaçilgliserol ve asit arasındaki asidoliz reaksiyonu [116]

2.5.2.3 Alkoliz

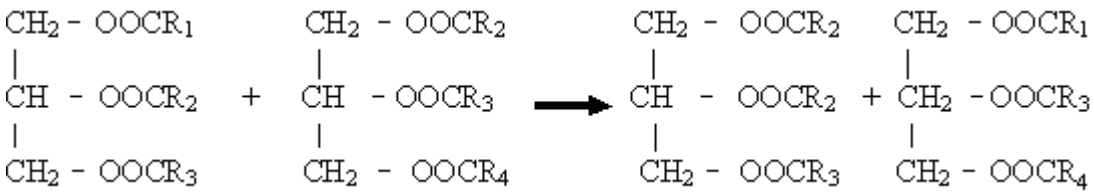
Alkoliz, bir ester ve bir alkol (metanol, gliserol) arasında gerçekleşen interesterifikasyon reaksiyonudur. Alkol olarak metanol kullanıldığında gliserol esterleri metil esterlerine dönüşmektedir. Metanol kısa zincirli, polar bir bileşik olması nedeni ile geniş kullanım alanına sahiptir. Gliserol ise triaçilgliserol ile reaksiyona girdiğinde monoaçilgliserol ve diaçilgliseroller oluşmaktadır. Şekil 2.5'te triaçilgliserol ile alkol arasındaki alkoliz reaksiyonu görülmektedir [112,116,117].



Şekil 2.5 : Bir triaçilgliserol ve alkol arasındaki alkoliz reaksiyonu [118]

2.5.2.4 Transesterifikasyon

Transesterifikasyon, iki ester arasında gerçekleşen ve farklı iki ester oluşumu ile sonuçlanan reaksiyonlardır (Şekil 2.6). İki triaçilgliserol arasında gerçekleşen yağ asidi değişimi sonucu istenilen niteliklere sahip yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir [108].



Şekil 2.6 : İki triaçilgliserol arasındaki transesterifikasyon reaksiyonu [116]

2.5.3 Yapılandırılmış yağların kullanım alanları

Yapılandırılmış yağlar, insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ve gıda uygulamalarında ürünlere fonksiyonel özellikler kazandırmaları nedeniyle üretilmektedirler. Birçok sağlık problemine çözüm bulmakta ve tüketici taleplerine uygun gıdalar elde edilmesini sağlamaktadırlar [105].

Yapılan çalışmalar sonucu, anne sütüne eşdeğer bebek mamaları elde edilmektedir. Yeni doğan bebekler büyümeleri ve gelişimleri için gerekli olan enerjinin %50-60 kadarını anne sütünden almaktadırlar. Anne sütü, sn-1 ve sn-3 pozisyonlarında doymamış yağ asitlerini, sn-2 pozisyonunda başta palmitik asit olmak üzere doymuş yağ asitlerini içermektedir. Palmitik asit toplam yağ asitleri miktarının %20-25'ini oluştururken enerji ihtiyacının %10'unu karşılamaktadır [119]. Yağ asitlerinin bu şekildeki dizilimi kalori alımını kolaylaştırmakta ve kalsiyumdan en etkili biçimde faydalanılmasını sağlamaktadır. Anne sütüne benzer nitelikte yapılandırılmış yağ elde etmek için palm yağından elde edilen tripalmitin ile bitkisel yağlardan elde edilen oleik asidin 1,3-spesifik lipaz varlığında interesterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirilmektedir. Böylece bebeklerin beslenmesine destek olarak kullanılabilecek bebek mamaları elde edilmektedir [120,121,122]. Betapol®, bu amaç doğrultusunda enzimatik reaksiyonla üretilmiş ilk yapılandırılmış yağdır. *Rhizomucor miehei* L. lipazı varlığında tripalmitinin oleik asitle interesterifikasyonu sonucu elde edilen anne sütüne eşdeğer olan Betapol® bebeklerin beslenmesinde kullanılmaktadır [123].

Obezite ve diyabet hastalığı ile ilgili problemler insanları kalorisi azaltılmış yağlara yöneltmeye başlamıştır. Bu nedenle, kısa zincirli yağ asitleri düşük kalori değerleri ile kalorisi azaltılmış yapılandırılmış yağ eldesinde kullanılmaktadırlar. Uzun zincirli yağ asitleri de emilimlerinin kısıtlı olmasından dolayı interesterifikasyonda tercih edilebilmektedirler [124,125]. Kalorisi azaltılmış yağlar Caprenin® ve Salatrim® adı altında piyasaya sunulmaktadır. Salatrim®, triasetin ile soya yağının

Rhizomucor miehei L. lipazı varlığında gerçekleşen transesterifikasyon reaksiyonu ile elde edilmekte ve fırıncılıkta, süt ve süt ürünlerinde ve soslarda kullanılmaktadır. Caprenin® ise hindistan cevizi, palm ve kolza yağları arasında gerçekleşen intesterifikasyon reaksiyonları sonucu üretilerek şekerleme endüstrisinde kullanılmaktadır [38].

Hastalıkların tedavisinde enteral ve parenteral beslenme önem taşımaktadır. Enteral ve parenteral beslenme ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda yağlarda bulunan uzun zincirli yağ asitlerinin uzaklaştırılması amaçlanmış ve yapılandırılmış yağlar kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda esansiyel yağ asitlerine duyulan gereksinimden dolayı az miktarda da olsa uzun zincirli yağ asitlerine ihtiyaç duyulduğu tespit edilmiştir [103]. Böylece orta zincirli yağ asitleri ile doymuş ya da doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin karışımlarının enteral (ağızdan tüple beslenme) ve parenteral (damardan serumla) beslenmede kullanılabileceğine karar verilmiştir [126]. Hastaların tedavisinde kullanılan yapılandırılmış yağlar, bağışıklık sisteminin kuvvetlenmesinde, kolestrol seviyesinin düşürülmesinde ve kanser riskinin azalmasında rol oynamaktadırlar [103].

Kakao yağı ikameleri ise yapılandırılmış yağların tercih edildiği diğer bir kullanım alanıdır. Kakao yağı, çikolata endüstrisinin en pahalı bileşenlerinden biridir. sn-2 pozisyonunda oleik asit, sn-1 ve sn-3 pozisyonunda doymamış yağ asitlerini (palmitik asit ve stearik asit) içeren kakao yağı erime noktasının 37ºC olması nedeni ile vücut ısısında kolayca erimektedir [114,124,127].

Doğada kakao yağının fiziksel özelliklerine benzer nitelikte yağ bulunmadığı için kakao yağı ikameleri üretimine başvurulmuştur. Palm yağı ya da palm-orta fraksiyonlarının 1,3-spesifik lipaz (*Candida antarctica* L.*, Pseudomonas sp.*) varlığında palmitik veya stearik asit ile interesterifikasyonları sonucu kakao yağı benzeri yağlar elde edilmektedir [123,124].

Yağlar enzimatik yöntemler ile esansiyel yağ asitlerince zenginleştirilerek daha sağlıklı hale getirilebilmektedirler. Balık yağları ve bitkisel yağların esansiyel yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosahekzaenoik asit (DHA) ile interesterifikasyonları sonucu yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir. Bu yağ asitlerinin sn-1 ve sn-3 pozisyonlarına yerleşimleri daha verimli olduğu için *Rhizomucor miehei* L. ve *Rhizomucor delemar* L. lipazları kullanılmaktadır.

Zenginleştirilmiş yağlar aynı zamanda sindirim esnasında yağların emiliminde güçlük yaşayan hastaların tedavisinde yer almaktadırlar. Çeşitli bitkisel yağların orta zincirli yağ asitleri ile asidolizleri sonucu kolay sindirilebilir yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir [122,128].

Margarinler, modifiye tereyağı ve diğer katı yağlar plastik yağlar olarak adlandırılmaktadırlar. Margarin üretiminde buzdolabında katı fazda olan, kolay sürülebilen ve ağızda eriyen yağ üretimi amaçlanmaktadır. Kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin interesterifikasyon reaksiyonları ile kolay sürülebilir, ısıl stabiliteye sahip yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir. Ayrıca yapılandırılmış yağlar ile doymamış yağ asidi içeren margarinler üretilerek kalp ve damar hastalıkları riskinin en aza indirilmesi amaçlanmaktadır [103, 105,129].

Yağ endüstrisinde kızartma yağı olarak kullanılmak üzere daha sağlıklı ve bozunmaya karşı daha dirençli yağlar üretilmeye başlanmıştır. Yüksek oleik asit içeren ayçiçeği yağı termooksidasyon ve kızartma stabilitesi açısından istenilen özelliklere sahiptir. Benzer özelliklerdeki yağların elde edilebilmesi için soya ve kanola tohumlarına genetik modifikasyon işlemleri uygulanmıştır. Düşük linolenik asitli kanola yağı kızartmada kullanıldığında daha üstün tat karakteristikleri elde edilmiştir [103].

2.6 Enzimatik Yöntem ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi

Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonlarında katalizör olarak hidrolaz grubu enzimlerden olan lipazlar kullanılmaktadır. Lipazlar, triaçilgliserolerin yağ asitlerine ve gliserole hidrolizlerinde katalizör görevi görmektedirler. Sulu çözeltilerde yağ-su ara yüzeyinde mükemmel bir katalitik aktivite göstermektedirler. Son yıllarda enzimatik sentezin, kimyasal katalizörler eşliğinde gerçekleşen reaksiyonlara üstünlük sağlaması ile lipazların endüstriyel kullanımları da artış göstermiştir [127,130].

2.6.1 Yapılandırılmış yağ üretiminde kullanılan lipaz enzimleri

Lipazlar bitki ve hayvanların çeşitli dokularından ya da mantar ve bakteri gibi mikroorganizmalardan fermantasyon yolu ile elde edilen enzimlerdir. Mikrobiyal lipazlar kolay üretilebilmeleri, çok yönlü olmaları ve sıcaklık değişimlerine karşı

dayanıklı olmaları nedeniyle ticari olarak yaygın şekilde kullanılmaktadırlar [131,132].

Lipazlar, deterjan, eczacılık, deri, kozmetik sanayinde, süt, meyve suyu, yağ ve margarin endüstrisinde kullanılmaktadırlar. Ayrıca fırıncılık, kakao yağı ikameleri üretimi, anne sütüne eşdeğer mama üretimi ve aroma zenginleştiricilerin üretiminde de kullanım alanı bulmaktadırlar [110,133,134].

Tersinir tepkimelerin her iki yönünü de katalizleyebilmeleri nedeniyle interesterifikasyon reaksiyonları olan asidoliz, alkoliz ve transesterifikasyon reaksiyonlarında tercih edilmektedirler. Lipazlar bu özellikleri ile yağ endüstrisinde modifiye yağ üretmek amacı ile kullanılmaktadırlar [106,121].

2.6.2 Enzimatik prosesi ve ürün verimini etkileyen faktörler

Enzimatik reaksiyonlarda amaç en yüksek verimde ve istenilen saflıkta ürün elde etmektir. İnteresterifikasyon reaksiyonlarında da lipazın seçicilik özelliğinden yararlanılarak substrata uygun lipaz seçimi prosesin verimini arttırmaktadır. Ayrıca reaksiyon koşullarının en uygun değerlere getirilmesi gerekmektedir. Su aktivitesi, ortam sıcaklığı, reaksiyon süresi, kullanılan çözücüler ve pH değerleri ürün verimini etkileyen diğer faktörlerdir [128].

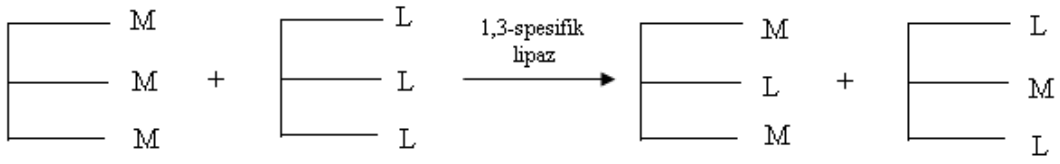
2.6.2.1 Lipaz seçiminin etkisi

Lipazlar etki ettiklere substrata göre seçicilik gösterebilmektedirler. Lipaz katalizörlüğünde gerçekleştirilen reaksiyonlarda reaksiyona girecek olan substratlar göz önünde bulundurularak substratlara karşı seçici olan enzimlerin kullanılması gerekmektedir. Lipazlar substrat seçicilikleri dışında stereoseçicilik, pozisyon ve yağ asidi seçicilikleri ile yapılandırılmış yağ üretiminde istenilen özelliklerde ürün elde edilmesini sağlamaktadırlar [38,135,136].

Pozisyonel seçicilik göstermeyen lipazlar yağ asidi zincirlerini gelişigüzel parçalayarak, istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna neden olmaktadırlar. Bu özellikleri ile kimyasal interesterifikasyon ile benzerlik göstermektedirler. *Geotrichum candidum* L., *P. cyclopium* L., *Pseudomonas fluorescens* L., *Corynebacterium acnes* L. ve *Staphylococcus aureus* L. lipazları pozisyonel seçicilik göstermeyen lipazlardır [137]. *Candida antarctica* L. lipaz A,

Geotrichum candidum L. lipaz I, *Penicillium simplicissimum* L. lipazı ve *Candida rugosa* L. lipazı ise sn-2 pozisyonuna seçicilik göstermektedirler [128,132,138].

Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonlarında spesifik ürün elde edebilmek için 1,3-spesifik lipazlar tercih edilmektedir. Bu lipazların triaçilgliseroller ile gerçekleştirdikleri reaksiyonlar sonucu sadece sn-1 ve sn-3 pozisyonlarında açil değişimi gerçekleşmektedir. 1,3-spesifik lipazların elde edildiği en önemli kaynaklar; *Rhizopus arrhizus* L., *Aspergillus niger* L., *Mucor miehei* L., *Aspergillus niger* L., *Mucor javanicus* L., *R. delemar* L. ve *R. niveus* L.'dır [106,134,139]. Şekil 2.7'de 1,3-spesifik lipaz katalizörlüğünde gerçekleştirilen interesterifikasyon reaksiyonu görülmektedir [38].



Şekil 2.7 : sn-1, 3 seçici olan lipazlar ile gerçekleşen interesterifikasyon reaksiyonu (M: Orta zincirli yağ asitleri, L: Uzun zincirli yağ asitleri) [38]

Bazı lipazlar yağ asitlerine seçicilik göstermektedirler. *G. candidum* L. lipazı doymamış yağ asitlerine, *Fusarium oxysporum* L. lipazı ise doymuş yağ asitlerine seçicidir. *Rhizomucor miehei* L. lipazı kısa zincirli yağ asitlerini parçalarken *Rhizomucor delemar* L. lipazı ise orta ve uzun zincirli yağ asitlerini parçalamaktadır [38,137].

Son yıllarda interesterifikasyon reaksiyonlarında kullanılmak üzere immobilize enzimler üretilmektedir. Asidoliz reaksiyonlarında tersinir hidroliz reaksiyonunu önlemek amacıyla ortamda su bulunmaması gerekmektedir. Tamamen susuz koşullarda ise enzim reaksiyondaki çözücüde çözünmekte ve substratlara ulaşacak şekilde ortamda dağılamamaktadır. Bu sorunu ortadan kaldırmak amacıyla immobilize enzimler kullanılmaya başlanmıştır. Enzim silika jel ya da alüminyum silika gibi taşıyıcılar üzerine adsorbe edilerek immobilize hale getirilmektedir. Enzimler istenilen özellikteki taşıcılarda immobilize edilerek saklanma süreleri uzamakta ve reaksiyona uygun pH ve sıcaklık değerlerinde kullanılabilmektedirler [128,136,137].

2.6.2.2 Sıcaklığın etkisi

Sıcaklık, enzim stabilitesini, enzim substrat ilişkisini ve reaksiyonun diğer koşullarını etkilemektedir [107]. Her enzimin optimum sıcaklık aralığı farklıdır ve bu sıcaklık aralığı enzimin elde edildiği mikroorganizmaya, enzimin kimyasal modifikasyonuna ve pH değerine göre değişmektedir [140]. Genel olarak immobilize lipazlarda optimum sıcaklık 30-62°C arasındadır. Optimum sıcaklık değerine ulaşılana kadar sıcaklık artışı ile reaksiyon hızının artış gösterdiği bilinmektedir. Ancak yüksek sıcaklıklarda hem enzimler hem de yağ asitleri ısıl bozunmaya uğramaktadırlar. Bu nedenle optimum sıcaklığın belirlenmesi ürün veriminin arttırılmasında önemli bir rol oynamaktadır [107].

2.6.2.3 Su miktarının etkisi

Enzimatik reaksiyonlarda ortamda su bulunması gerekmektedir. Su varlığında enzimlerin aktivasyonu sağlanmakta, enzimin ve reaktanların difüzyonu istenilen düzeyde gerçekleşmektedir. Genel olarak ortamdaki su miktarının artması ile enzim aktivitesinde artış olduğu görülmektedir. Ortamdaki su miktarı reaksiyon hızını, ürün verimini, ürün seçiciliğini ve reaksiyon stabilitesini etkilemektedir. Kataliz için gerekli su miktarı enzimin kaynağına ve reaksiyonun gerçekleştiği çözücüye bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle maksimum verim elde edilebilmesi için optimum su miktarının tespit edilmesi gerekmektedir [107].

Lipaz varlığında gerçekleştirilen reaksiyonlarda aşırı miktarda su bulunmaması gerekmektedir. Az miktarda bulunan su ile yağ-su ara yüzeyi oluşmakta, bu da enzimin çalışması için uygun yapıyı meydana getirmektedir. Ayrıca esterifikasyon ve hidroliz tersinir reaksiyonlar olduklarından ortamdaki su miktarı reaksiyonun yönünü belirlemektedir. Su konsantrasyonunun artması dengenin hidroliz yönüne kaymasına neden olmaktadır. Bazı reaksiyonlarda az miktarda su ile ürün verimi artmakta ancak reaksiyon hızı düşmektedir. Su miktarının yüksek olduğu bazı durumlarda ise reaksiyon hızı artarken ürün veriminde düşüş gözlenmektedir [110,141].

2.6.2.4 Çözücü sisteminin etkisi

Enzim aktivitesini belirlemede çözücü çeşidi önemli bir faktördür. Seçilen çözücü enzim aktivitesini ve reaksiyonun denge konumunu etkilemektedir. Reaktanların çözünürlüklerinin farklı olmasından dolayı organik çözücülerde gerçekleşen

reaksiyonlarda denge konumunun sağlanabilmesi su fazındaki çözücülere göre farklılık göstermektedir. Aynı zamanda çözücü çeşidi enzimin inhibisyonuna ya da inaktivasyonuna neden olabilmektedir. Çözücü seçimi yapılırken reaktanların çözünürlük derecelerine ve çözücünün reaksiyona etkisi olup olmadığına dikkat edilmesi gerekmektedir [107].

Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonlarında çözücü kullanılması ile enzimlerin homojen olarak dağılmaları sağlanmakta, ortamdaki su enzimin çevresinde tutulmakta ve reaksiyon ortamının vizkozitesi azaltılmaktadır. Ancak çözücünün yanıcı ve patlayıcı olmamasına ve reaksiyon bitiminde üründen kolayca ayrılabilmesine dikkat edilmelidir [142].

2.6.2.5 Sürenin etkisi

Biyokatalizörlerle gerçekleştirilen reaksiyonlarda sürenin etkisinin bilinmesi yüksek verim elde edilen en kısa sürenin belirlenerek üretim maliyetinin düşürülmesi açısından önem taşımaktadır. Modifikasyon çalışmalarında reaksiyon süresinin artması ile yağ asitlerinin katılım miktarının arttığı bilinmektedir. Ancak belirli bir sürenin sonunda bu artışın durduğu görülmektedir. Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonlarında inkorporasyonun maksimum olduğu süre substratlara ve enzim kaynağına göre değişmektedir [108].

2.6.2.6 Substrat mol oranının etkisi

Yapılandırılmış yağ üretiminde istenilen nitelikte son ürün elde edilebilmesi için reaksiyona girecek orjinal yağın ve yağ asitlerinin mol oranları ayarlanabilmektedir. Substrat mol oranının arttırılması belirli bir değere kadar yağ asidi katılımını da arttırmaktadır. Ancak aşırı substrat miktarı enzim inhibisyonuna neden olmaktadır. Substrat mol oranı seçimi yapılırken proses maliyetine ve reaksiyon sonrasında serbest yağ asitleri ile açil kaynaklarının ortamdan uzaklaştırılmasından kaynaklanabilecek güçlüklere dikkat etmek gerekmektedir [104,107].

2.6.3 Kimyasal ve enzimatik yöntemlerin karşılaştırılması

Kimyasal ve enzimatik yöntemlerle gerçekleştirilen reaksiyonlar ortam koşulları ve elde edilen ürün açısından farklılıklar göstermektedir. Enzimatik yöntem birçok avantajına rağmen endüstriyel uygulamalarda henüz istenilen düzeyde kullanılmamaktadır. Enzimatik sentezin en önemli özelliği reaksiyonun düşük

sıcaklıklarda gerçekleşmesidir. Termal koşulların ılımlı oluşundan dolayı substratın bozunma ihtimali ortadan kalkmakta ve enerji tasarrufu sağlanmaktadır [129,143].

Kimyasal interesterifikasyon ile rastgele dağılmış triaçilgliserol molekülleri ve bunların yanı sıra uzaklaştırılması güç istenmeyen yan ürünler oluşmaktadır. Ayrıca kimyasal katalizörler korozif etki göstermekte ve reaksiyon sonunda üründen kolayca ayrılamamaktadırlar. Katalizörler ve oluşan yan ürünlerin saflaştırılmaları mümkün olmadığından çevre kirlenmesine neden olmaktadırlar [38,113,120].

Enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin seçicilik özelliklerinden yararlanılarak istenilen yağ asitlerinin, triaçilgliserollerin istenilen pozisyonlarına yerleşmeleri sağlanmaktadır. Böylece gıda endüstrisinde ya da tıbbi alanlarda kullanılmak üzere üretimi amaçlanan yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir. Enzimatik reaksiyonların düşük sıcaklıklarda gerçekleşmesi ile prosesin maliyeti azalmakta ve ürün kalitesi artmaktadır. Ayrıca lipazlar kimyasal katalizörlerin aksine substratın nem miktarına bağlı olmaksızın etkinlik gösterebilmektedirler. Lipaz varlığında gerçekleştirilen reaksiyonlarda reaktan olarak yağ asitleri, yağ asidi esterleri ya da triaçilgliseroller kullanılabilmektedir, ancak kimyasal reaksiyonlarda yağ asitleri sabun oluşturma eğiliminde olduklarından tercih edilmemektedirler [105,127,144].

Enzimatik yöntem birçok avantajına karşın ticari alanda yaygın olarak kullanılamamaktadır. Bunun en büyük nedeni enzimlerin kimyasal katalizörlere oranla daha pahalı olmasıdır. Ayrıca enzimlerin immobilizasyon prosedürleri de üretim maliyetini arttırmaktadır [131,145].

2.7 Literatürde Enzimatik Asidoliz ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Goli ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada; kanola yağının saflaştırılmış konjuge linoleik asit ile asidoliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Substrat miktarı 10 g olup ağırlıkça konjuge linoleik asit:kanola yağı oranı 40:60 olarak belirlenmiştir. *Thermomyces lanuginosa* L. lipazı toplam substrat ağırlığının %7'si kadar kullanılmıştır. Karışım orbital karıştırıcıda 200 rpm hızda, 55°C sıcaklıkta ve 48 saat süre ile reaksiyona tabi tutulmuştur. 48 saat sonunda %26,6 oranında konjuge linoleik asit içeren yapılandırılmış yağ elde edilmiştir. Kanola yağında %56 oleik asit, %26 linoleik asit ve %9 linolenik asit bulunurken reaksiyon sonunda bu değerler

sırasıyla %43, %20 ve %3,5 olacak şekilde düşüş göstermiştir. Ayrıca elde edilen yapılandırılmış yağların oksidatif stabilitesinin kanola yağına oranla düşük olduğu gözlenmiş ve bu durum bitkisel yağlarda bulunan tokoferollerin asidoliz reaksiyonu esnasında oksidasyona uğraması şeklinde açıklanmıştır. Aynı zamanda kanola yağında bulunan oleik asidin konjuge linoleik asit ile yer değiştirmesi sonucu ürün oksidasyona karşı daha duyarlı hale gelmiştir, bu nedenle oksidasyonu ve ürünün bozulmasını önlemek amacıyla antioksidan ilavesi önerilmektedir [146].

Hamam ve Shahidi, omega 3 yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5, n-3), dokosapentaenoik asit (DPA, C22:5, n-3) ve dokosahekzaenoik asidin (DHA, C22:6n-3) yüksek laurik asit içeren kanola yağı ile asidoliz reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. *Mucor meihei* L., *Pseudomonas sp.*, *Candida rugosa* L., *Candida antarctica* L. ve *Aspergillus niger* L. lipazları kullanılarak bu lipazların reaksiyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Asidoliz reaksiyonu için enzim miktarı %2-6, reaksiyon sıcaklığı 35-55ºC ve reaksiyon süresi 12-36 saat olacak şekilde ayarlanmıştır. *Mucor meihei* L., *Pseudomonas sp.* ve *Candida rugosa* L. lipazlarının en yüksek verimle çalıştıkları belirlenmiştir. EPA katılımının %4,36 enzim oranında, 43,2ºC'de ve 23,9 saatte %62,2, DHA katılımının ise %5,25 enzim oranında, 43,7ºC'de ve 44,7 saatte %34,3 oranında olduğu tespit edilmiştir. En yüksek DPA katılımı %5,41 enzim oranında, 38,7ºC'de ve 33,5 saatte %50,8 olarak belirlenmiştir. Yağ asitlerinin zincir uzunluğuna ve çift bağların sayısına bağlı olarak en yüksek katılımı EPA, en düşük katılımı DHA göstermiştir. Yağ asitlerinin pozisyonel dağılımına bakıldığında ise EPA ve DHA'nın sn-1,3 pozisyonuna yerleştiği, DPA'nın ise triaçilgliserollerin üç pozisyonuna rastgele yerleştiği gözlemlenmiştir [147].

Chopra ve arkadaşları, pirinç kepeği yağı ve stearik asit arasında *Rhizomucor meihei* L. lipazı varlığında gerçekleştirilen asidoliz reaksiyonunu incelemişlerdir. Reaksiyon parametreleri; inkübasyon süresi ve sıcaklığı, substrat mol oranı ve enzim miktarı olarak belirlenmiştir. Stearik asit katılımının maksimum olduğu koşullar 1:6 (pirinç kepeği yağı:stearik asit) substrat mol oranı, 37ºC sıcaklık, 6 saat reaksiyon süresi ve %10 enzim miktarı olarak bulunmuştur. Asidoliz reaksiyonu sonucu pirinç kepeği yağındaki stearik asit miktarı %2,28'den %48,5'e yükselirken, palmitik asit, oleik asit ve linoleik asit miktarında düşüş gözlenmiştir. Elde edilen yapılandırılmış yağların trans yağ asidi içermedikleri ve dolayısıyla

beslenmede tercih edilebilecekleri saptanmıştır. Ürün ayrıca fırıncılıkta ve yemeklik yağ üretiminde kullanılabilmektedir [148].

Bektaş ve arkadaşları, tripalmitinden enzimatik asidoliz yoluyla kaprik asit varlığında yapılandırılmış yağ üretimine ilişkin bir çalışma yürütmüşlerdir. Çözücü olarak hekzan kullanılmış, katalizör olarak ise *Thermomyces lanuginosa* L. lipazı tercih edilmiştir. Reaksiyonlar 4:1-8:1 (kaprik asit:tripalmitin) substrat mol oranlarında, 6-10 saat süre ile 50ºC'de gerçekleştirilmiştir. Enzim miktarı ise toplam substrat miktarının %9-15'i olacak şekilde seçilmiştir. Optimum koşullar; substrat mol oranı 6,5:1, ağırlıkça enzim miktarı %11,6 ve reaksiyon süresi 8,9 saat olarak saptanmıştır. Bu koşullarda gerçekleştirilen deneyler sonucu ağırlıkça %35,7 oranında kaprik asit içeren yapılandırılmış yağ elde edilmiştir. sn-1,3 pozisyonunda orta zincirli, sn-2 pozisyonunda uzun zincirli yağ asitlerini bulunduran yapılandırılmış yağlar düşük kalorili yağlar olarak kabul edildiğinden kaprik asit ile zenginleştirilmiş tripalmitin kalorisi azaltılmış yağ olarak kullanılabilmektedir [149].

Adhikori ve arkadaşları trans yağ asidi içermeyen yağ elde edebilmek için pirinç kepeği yağı ve tam hidrojene soya yağı arasında interesterifikasyon reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Pirinç kepeği yağı katı ve sıvı faz olmak üzere iki fraksiyona ayrılmış, deneylerde trans yağ asidi içermeyen katı faz kullanılmıştır. Lipozyme TL IM lipazı katalizörlüğünde gerçekleştirilen reaksiyonda pirinç kepeği yağı ve tam hidrojene soya yağı 1:1, 1:2, 1:3 ve 1:5 substrat mol oranlarında reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyon sıcaklığı 65ºC ve reaksiyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir. Ürüne fonksiyonel özellik kazandırmak amacıyla toplam substratın %20'si kadar konjuge linoleik asit kullanılmıştır. Pirinç kepeği yağı katı fazı yağ asidi bileşimi; %12,2 konjuge linoleik asit, %37,6 stearik asit, %15 palmitik asit, %13,3 oleik asit iken bu değerler reaksiyon sonunda sırasıyla %14,2, %49, %17,9 ve %19,2 olacak şekilde artış göstermiştir. Aynı zamanda sn-2 pozisyonuna yerleşen doymuş yağ asidi miktarı da artmıştır. Ayrıca 1:5 substrat mol oranı ile elde edilen ürün fiziksel özelliği ve yağ asidi bileşimi ile şortening üretiminde kullanılabilmektedir [150].

Carin ve Crapiste yapmış oldukları bir çalışma ile kesikli bir biyoreaktörde ayçiçeği yağının palmitik-stearik asit karışımı ile asidoliz reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Doymuş yağ asitlerinin katılımı Lipozyme RM IM enziminin ağırlıkça %8 oranında kullanılması ile susuz ortamda ve çözücü ilavesi ile meydana gelmiştir. Maksimum

katılım substrat molar oranı 6:1 (doymuş yağ asidi:ayçiçeği yağı), reaksiyon sıcaklığı 50-60ºC ve reaksiyon süresi 48 saat iken elde edilmiştir. Ayçiçeği yağının doymuş yağ asitleri ile modifikasyonu sonucu hidrojenasyon ürünlerine alternatif olan yapılandırılmış yağlar üretilmektedir. Yapılandırılmış yağların margarin ikameleri olarak kullanılabilmeleri için %25-30 oranında doymuş yağ asidi içermeleri gerekmektedir. Yapılan deneyler sonucu %40-50 oranında doymuş yağ asidi içeren ürünler elde edildiği ve dolayısıyla bu ürünlerin margarin ikameleri olarak kullanılabileceği saptanmıştır [151].

Senanayake ve Shahidi çuha çiçeği yağı (evening primrose oil) ile dokosahekzaenoik asit (DHA) arasındaki asidoliz reaksiyonunun deneysel tasarımını gerçekleştirmeyi amaçlamışlardır. Katalizör olarak *Candida antarctica* L. (Novozyme-435) lipazı tercih edilmiş, reaksiyon ortamında ise substrat ve enzim miktarının %2'si kadar su ve çözücü olarak hekzan kullanılmıştır. Yapılan modellemede enzim miktarı, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi reaksiyonu etkileyen değişkenler olarak seçilmiştir. Tepki yüzey metodolojisi yöntemi ile üç faktörlü ve üç seviyeli yüzey merkezli küp deney tasarımı uygulanmış ve DHA katılımının optimum olduğu koşullar belirlenmiştir. Kullanılan enzim aktivite ünitesi birimi ile ölçülendirilmiştir. Bir birim enzim aktivitesi 1 g enzimin ürettiği yağ asitlerinin nanomol cinsinden değeri olarak tanımlanmaktadır ve Novozyme-435 enziminin aktivitesi 554 birimdir. Optimum reaksiyon koşullarını saptamak amacıyla enzim miktarı 100-200 birim, reaksiyon sıcaklığı 30-60ºC, reaksiyon süresi ise 18-30 saat alınarak deneyler gerçekleştirilmiştir. Yapılan deneyler sonucu optimum katılımın 162 birim enzim aktivitesinde, 43ºC reaksiyon sıcaklığında ve 27 saat reaksiyon süresinde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Tepki yüzey metodolojisi tarafından tahmin edilen katılım yüzdesi %31,9 iken deneyler sonucu elde edilen değer %33,5 olarak bulunmuştur. Varyans analizi ile korelasyon katsayısı, R^2 = %95 olarak saptanmış ve tahmin edilen değer ile gözlemlenen değerin yakınlığı kanıtlanmıştır [152].

Yeşilçubuk ve Karaali, sn-1,3 spesifik lipaz katalizörlüğünde gerçekleştirdikleri enzimatik asidoliz reaksiyonları ile anne sütü yağına eşdeğer ve gamma-linolenik asit ile zenginleştirilmiş fonksiyonel yapılandırılmış yağlar elde etmişlerdir. Bu amaç için fındık ve hodan yağından elde edilen serbest yağ asitleri ile tripalmitin reaksiyona sokulmuştur. Hedeflenen özellikte ürün (%10 gamma-linolenik asit, %45 oleik asit) elde edebilmek için farklı reaksiyon parametreleri denenmiştir. Yapılan deneyler

sonucu substrat mol oranı 14,8:1 (toplam yağ asitleri:tripalmitin), reaksiyon sıcaklığı 55ºC ve reaksiyon süresi 24 saat iken reaksiyonun en yüksek verimde gerçekleştiği saptanmıştır. *Rhizomucor meihei* L. lipazı ile katalizlenen asidoliz reaksiyonu sonucu elde edilen ürün %43,3 oleik asit, %41,6 palmitik asit, %5,4 linoleik asit ve %9,7 gamma-linolenik asit içermektedir. Ayrıca palmitik asidin %74,9'u sn-2 pozisyonuna yerleşmektedir. Böylece bebek beslenmesi açısından önemli olan ve anne sütü yağı ile benzer yağ asidi bileşimine sahip yapılandırılmış yağların üretimi mümkün olmaktadır [153].

Çiftçi ve arkadaşları rafine zeytin ezmesi yağının palmitik ve stearik asit ile asidoliz reaksiyonunu gerçekleştirerek kakao yağı benzeri yağ üretmeyi amaçlamışlardır. Deneyler laboratuar ölçeğindeki dolgulu yatak reaktörde ve *Mucor meihei* L. sn-1,3 spesifik lipazı varlığında yürütülmüştür. Ürün bileşimini etkileyecek reaksiyon koşulları substrat mol oranı (zeytin ezmesi yağı:palmitik asit:stearik asit; 1:1:1, 1:1:3, 1:3:3, 1:2:6), enzim oranı (%10, %20, %40), substrat akış hızı (1,5, 4,5, 7,5, 15 ml/min) ve çözücü miktarı (150, 400 ml) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan rafine zeytin ezmesi yağının bileşimi %1,1 POP, %1,05 POS ve %1,2 SOS, kakao yağının bileşimi ise %18,9 POP, %33,1 POS ve %24,7 SOS şeklindedir (P: palmitik asit, O: oleik asit, S: stearik asit). Çalışma sonucunda en yüksek verim, 1:2:6 substrat mol oranında, %40 enzim miktarı ile 45ºC sıcaklıkta, 7,5 ml/min akış hızında, 150 ml çözücü varlığında ve 3 saat reaksiyon süresi sonunda elde edilmiştir. Palmitik ve stearik asit katılımı sonucu %10,9 POP, %19,7 POS ve %11,2 SOS bileşimine sahip yapılandırılmış yağlar üretilmiştir. Kakao yağı ikamesi olarak kullanılabilecek olan ürün şekerleme endüstrisinde tercih edilebilmektedir [154].

2.8 Tepki Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology)

Optimizasyon bir tasarım ya da sistemin en etkili ve fonksiyonel şekilde çalışmasını sağlamak amacıyla gerçekleştirilen işlemler bütünüdür. Proses için uygun parametreler (optimum koşullar) belirlenerek istenilen özellikte ürün elde edilmesi amaçlanmaktadır [155]. Endüstriyel uygulamalarda yer alan enzimatik modifikasyon işlemlerinde ürün kalitesini arttırmak ve maliyeti düşürmek amacıyla çeşitli optimizasyon modelleri uygulanmaktadır [156].

Optimizasyon ile endüstriyel atıkların oluşumu en aza indirilmekte ve sistemin güvenilirliği ve uygulanabilirliği sağlanmaktadır [157]. Sistem ya da proses

davranışının karmaşık olduğu durumlarda bazı problemlerle karşı karşıya kalınmaktadır. Böyle durumlarda gerçekleşecek reaksiyonların sonuçlarını tahmin edebilmek için tercih edilen teorik modeller yetersiz kalmakta ve uygulanamamaktadır. Bu nedenle uygun metotlara ve ampirik modellere dayalı çalışmalara başvurulmaktadır. Tepki Yüzey Metodolojisi bu amaçla tercih edilen optimizasyon yöntemlerinden biridir [155,156].

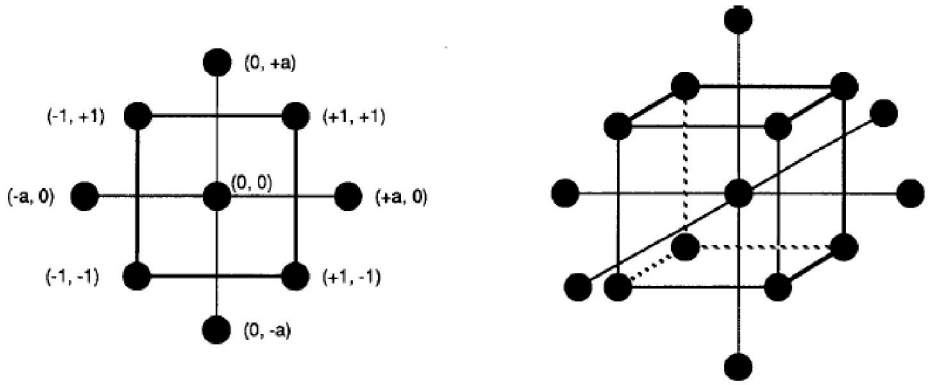
Tepki Yüzey Metodolojisi (TYM) matematiksel ve istatistiksel tekniklerin özel deney tasarımları ile bir arada kullanıldığı bir optimizasyon yöntemidir. TYM çok değişkenli deneylerde bağımsız değişkenleri parametre veya faktör, bağımlı değişkenleri tepki veya çıktı olarak değerlendirmektedir. TYM ile birden fazla bağımsız değişkenin tepki üzerine olan etkisi belirlenmekte ve optimum çalışma koşullarının hatasız bir şekilde seçilmesi sağlanmaktadır [157,158,159].

Bu metodoloji değişkenler arasındaki ilişkiyi inceleyerek tepki üzerine en fazla etki eden faktörleri belirlemektedir. Seçilen değişkenlerle gerçekleştirilecek olan deneyler için değişkenlerin ölçülebilecek değer aralıkları saptanmaktadır. Ardından model denklem seçilerek oluşan tepki proses değişkenlerinin fonksiyonu olarak ölçülmektedir. Son olarak seçilen model denkleme uygun deney tasarımı tespit edilmektedir [160].

Tepki yüzey modellerinde yürütülecek deney sayısı, modeldeki faktör sayısına ve değişken sayısına bağlı olarak seçilecek polinomların dereceleri kıstas alınarak belirlenmektedir [161]. TYM'nin en önemli avantajı istatistiksel değerlendirme için gerekli deney sayısını en aza indirmesidir. Ayrıca diğer tekniklere göre daha hızlı sonuç vermekte ve daha düşük maliyetle gerçekleştirilebilmektedir [152,162].

Merkezi bileşik deney tasarımları TYM'de en çok kullanılan deney tasarımlarından biridir. Merkezi bileşik deney tasarımlarında küp noktalar (cube points), yıldız noktalar (star points) ve merkez noktalar (center points) olmak üzere üç tip deneysel nokta bulunmaktadır. 3 seviyeli TYM modellerinde faktörlerin en düşük değerleri -1, en yüksek değerleri +1 ve orta nokta ise 0 olarak tanımlanmaktadır. Küp, merkez ve yıldız noktaları için kodlanan değişken değerleri bu temelden yola çıkılarak belirlenmektedir [163]. Küp noktalar için kodlanan değişken değerleri ± 1'dir. İkinci nokta grubu olan yıldız noktalarının koordinatları ise (± α, 0, 0, …, 0), (0, ± α, 0, …, 0), (0, 0, …,0, ± α) şeklindedir. α değeri, yıldız noktalarının deneysel alanın

merkezine olan uzaklığı olarak tanımlanmaktadır. Merkez noktaları ise (0, …., 0) koordinatları ile tasarımın merkezine yerleşmektedirler. Merkezi bileşik deney tasarımları ikinci dereceden modeller için kullanılmakta ve sonuçlar tepki yüzey ve izdüşüm grafikleri ile yorumlanmaktadır. İzdüşüm grafikleri ile deneysel alandaki herhangi bir noktada tepkinin oluşturacağı tahmin edilen değer belirlenebilmektedir [157,163]. Şekil 2.8'de ikinci dereceden regresyon modeline sahip iki bağımsız değişkenli merkezi bileşik deney tasarımındaki deney noktaları görülmektedir [163].



Şekil 2.8 : Merkezi bileşik deney tasarımında iki bağımsız değişkenli bir sistem için yıldız ve küp deney noktaları örneği [163]

İkinci dereceden TYM modelleri birinci dereceden modellere üstünlük sağlamaktadır. İkinci dereceden modeller değişkenler arasındaki karmaşık ilişkiyi çözme konusunda daha etkili olurken tahmin edilen en düşük ve en yüksek tepki değerlerini bağımsız değişkenlerin seviyeleri olarak belirlemektedirler [163].

Bir diğer deney tasarım modeli yüzey merkezli deney tasarımıdır. Yüzey merkezli deney tasarımında (Face Centered Design) dizayn merkezi (0, 0, 0) koordinatlarına sahip merkez noktasıdır. Yıldız noktalar küpün yüzlerinin tam ortasında yer almaktadır ve α değeri 1'e eşittir [157].

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

3.1 Kullanılan Hammaddeler

Deneysel çalışmada ‘‘Aymar™’’ marka kanola yağı ile piyasadan temin edilen kudret narı tohumları kullanılmıştır. Reaksiyonlarda kullanılan *Thermomyces lanuginosa* L. orijinli 1,3-spesifik Lipozyme TL IM ticari lipaz enzimi Novo-Nordisk A/S (Copenhagen, Danimarka) firmasından satın alınmıştır. Analizlerde kullanılan tüm çözücüler ve kimyasallar Merck (Darmstadt, Almanya) firmasının ürünleridir.

3.2 Çalışma Yöntemi

3.2.1 Kudret narı yağı ekstraksiyonu

Piyasadan temin edilen kudret narı çekirdeklerinden yağ elde edilmiştir. Çözücü olarak hekzan kullanılarak tohumdaki yağın çözücüye geçmesi amaçlanmıştır. 35 g kudret narı çekirdeği öğütülerek yüzey alanı genişletilmiş, ardından 500 ml hekzan içerisinde iki saat süre ile manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlem esnasında karışımın ısı ve ışıktan etkilenmemesi sağlanmıştır. Karıştırma işleminin tamamlanması ile karışım süzgeç kâğıdı yardımıyla süzülerek kudret narı yağını içeren hekzan fazı elde edilmiştir. Ardından hekzan fazı, darası alınmış bir balona alınarak döner buharlaştırıcılı (rotalab) evaporatöre bağlanmıştır. Böylece hekzan 80°C’de çalıştırılan evaporatör ile uçurulmuş ve kudret narı yağı elde edilmiştir.

3.2.2 Kudret narı yağından yağ asitlerinin elde edilmesi

Kudret narı yağında yağ asitlerinin ve sabunlaşmayan maddelerin ayrıştırılması için sabunlaşma reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 9 g kudret narı yağı ile 90 ml 1 N KOH çözeltisi karıştırılmış ve 90ºC’deki su banyosunda geri soğutucu altında 1 saat süre ile sabunlaşma reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Sabunlaşmış çözelti süre sonunda 90 ml distile su ilave edilerek ayırma hunisine alınmıştır. Ayırma hunisinde 90 ml hekzan ile iki kez ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon ile faz ayrımı meydana gelmekte üst fazda sabunlaşmayan maddeleri içeren hekzan fazı bulunmaktadır.

Böylece ilk ekstraksiyon sonunda sabunlaşmayan maddelerin ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sabunlaşan maddeleri içeren alt faz 33,75 ml 3 N HCl çözeltisi ile asitlendirilmiştir. İkinci bir ekstraksiyon için 100 ml hekzan ile iki kez faz ayrımı gerçekleştirilmiştir. Yağ asitlerini içeren hekzan fazı (alt faz) ayırma hunisinden ayrılmıştır. Son olarak istenmeyen maddelerin hekzan fazından uzaklaştırılması için çözelti 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Hekzan döner buharlaştırıcılı (rotalab) evaporatörde 80ºC'de uçurulmuş ve böylece yağ asitleri elde edilmiştir. Yağ asitleri ısı ve ışıktan etkilenmeyecek şekilde muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Kullanılan hammaddelerin karakterizasyonu

Kudret narı yağ asitlerinin ve kanola yağının yağ asidi bileşimleri kapiler gaz kromatografisi (GC) ile belirlenmiştir. Ancak gaz kromatografisinden sonuç alınabilmesi için öncelikle substratların metil esterlerinin hazırlanması gerekmektedir. Kanola yağının metil esterini hazırlamak için 0,5 g kanola yağı numunesine 6 ml 0,5 N metanolik NaOH eklenmiştir. Karışım geri soğutuculu su banyosunda 5-10 dakika kaynatılmıştır. Süre sonunda 7 ml BF_3-metanol kompleksi ilave edilerek 2 dakika kaynatılmış ve 5 ml heptan eklenmiştir. Su banyosundan alınan karışımdaki faz ayrımının belirginleşmesi amacıyla tuzlu su çözeltisi kullanılmıştır. Yağ asitlerini içeren üst faz pastör pipeti ile alınarak Na_2SO_4 içeren numune şişelerinde muhafaza edilmiş, ardından analiz için GC'ye beslenmiştir.

Kudret narı yağ asitlerinin metil esteri için ise 0,5 g yağ asidi tartılarak üzerine 7 ml BF_3-metanol kompleksi eklenmiştir. Su banyosunda geri soğutucu altında 2 dakika kaynatıldıktan sonra 5 ml heptan eklenerek 1 dakika daha beklenmiştir. Karışım su banyosundan alınmış ve soğuduktan sonra tuzlu su çözeltisi ile faz ayrımı kolaylaştırılmıştır. Heptan fazı çekilerek içerisinde numunenin nemini almak amacıyla konulan Na_2SO_4 bulunan 20 ml'lik numune şişesine aktarılmıştır.

Substratların yağ asidi bileşimlerini analiz edebilmek amacıyla hazırlanan metil esterler Hewlett-Packard 5890 Seri II (Hewlett-Packard, Waldron, Almanya) gaz kromatografi cihazına beslenmiştir. Kromatogramlarda oluşacak piklerin okunabilmesi için belirli yağ asitlerinin cihaza tanıtılması gerekmektedir. Bu amaçla standart yağ asitlerinin metil ester karışımları ve standart KLNA metil ester karışımları kullanılmıştır. Uygulanan kromatografik analiz koşulları Çizelge 3.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.1 : Gaz kromatografisi analiz koşulları.

Dedektör Tipi	FID(1)
Dedektör Sıcaklığı (ºC)	280
İnjeksiyon Sıcaklığı (^{o}C)	250
Gaz Hızları (ml/dak)	
Azot	1,6
Hidrojen	33
Hava	460
Dağıtma oranı	88:1
Fırın Sıcaklığı	150 ^{o}C (5 dak)
	150-275 ^{o}C (5 ^{o}C/dak)
	275 ^{o}C (10 dak)
Kolon Tipi	Kapiler kolon
	TRB-5 ht(2)

(1) Alev iyonizasyon dedektörü
(2) 30m x 0,25mm, 0,1µm film kalınlığında %5 difenil ve %95 dimetil polisiloksan

3.2.4 Asidoliz reaksiyonunda uygulanan yöntem

Numuneler toplam substrat miktarı (kanola yağı + kudret narı yağ asitleri) 1 g olacak şekilde istenen substrat mol oranına göre hazırlanarak 30 ml'lik koyu kahverengi, kapaklı ve ısıya dayanıklı numune şişelerine konulmuştur. Üzerine 5 ml hekzan ve toplam substrat miktarının belirli yüzdesi kadar Lipozyme TL IM enzimi eklenmiştir. Lipozyme TL IM enzimi kanola yağındaki ester bağlarını parçalayarak kudret narı yağ asitleri ile interesterifikasyonu sağlamaktadır. Hazırlanan karışım, sıcaklığı 50ºC'de ve çalkalama hızı 220 rpm'de sabitlenen orbital çalkalayıcıya (Edmund Bühler, KS-15, Almanya) yerleştirilmiş ve reaksiyon başlatılmıştır. Belirli zaman aralıkları ile 2 ml numune alınarak analizler yapılmış ve reaksiyonun ilerleyişi takip edilmiştir.

3.2.5 Asidoliz ürünlerinin analizi

Belirlenen reaksiyon süresi sonunda reaksiyon karışımından numuneler alınmıştır. Ürünün analizine geçilmeden önce reaksiyonun durdurulması yani mevcut enzimin inaktif hale getirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle karışıma 5 ml etil alkol ilave edilmiştir. Reaksiyon sonunda elde edilen asidoliz ürünü yapılandırılmış triaçilgliserollerin (TAG) yanında kudret narı yağında bulunan ve reaksiyona

girmeyen diğer yağ asitleri ile orjinal kanola yağından ayrılan yağ asitlerini içermektedir. Yapılandırılmış TAG'ların analiz edilebilmeleri için saf olarak elde edilmeleri gerekmektedir. Bu amaçla etil alkol ilave edilmiş numuneye 5 ml hekzan eklenmiştir. Ardından indikatör olarak birkaç damla fenolfitalein damlatılarak 0,02 M NaOH çözeltisi ile titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Böylece ortamdaki serbest yağ asitleri sodyum sabunları olarak elde edilmiştir. Sodyum sabunlarının yapılandırılmış TAG'lardan ayrılması için karışım ayırma hunisine alınmıştır. Karışıma 25 ml distile su ve 50 ml hekzan ilave edilmiş ve son karışım iyice çalkalanarak faz ayrımının oluşması beklenmiştir. Bir miktar tuzlu su çözeltisi ilavesi ile faz ayrımı belirginleştirilmiştir. Böylece üst fazda toplanan hekzanın içinde çözünen TAG'lar ile su fazına geçen yağ asitleri sodyum sabunlarının ayrılması sağlanmıştır. Hekzan fazı analiz edilmeden önce saflaştırılmak amacıyla birkaç kez distile su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi ile hekzan fazında kalan NaOH ve varsa sabun içeren sulu çözelti uzaklaştırılmıştır. Elde edilen hekzan-TAG karışımı döner buharlaştırıcıda hekzan tamamen uçurulana kadar evapore edilmiştir. Evaporasyon işleminin sonlanması ile saf TAG ürünleri elde edilmiştir.

Yapılandırılmış triaçilgliserollerin yağ asidi bileşimlerinin tayin edilebilmesi için metil esterlerinin hazırlanması gerekmektedir. Metil esterin hazırlanması için saf olarak elde edilen TAG ürünlerinden alınan 0,1-0,2 g numune tartılmıştır. Alınan numune 4 ml 0,5 N metanolik NaOH çözeltisi eklenerek 20 dakika geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Sürenin sonunda 5 ml BF_3-metanol kompleksi, 5 dakika sonra ise 5 ml heptan eklenmiştir. Heptan ilavesinden 2 dakika sonra karışım su banyosundan alınmıştır. Tuzlu su çözeltisi ilave edilerek faz ayrımı görülmüş ve TAG'ları içeren üst fazı analiz edilmek üzere alınmıştır. Heptan fazı Na_2SO_4 içeren numune şişesine konulmuştur. Gaz kromatografisinden alınan sonuçlar ile yapılandırılmış TAG'ların KLNA yüzdeleri belirlenmiştir.

3.2.6 Deneysel tasarımda kullanılacak değişkenlerin ve değişken seviye değerlerinin belirlenmesi

Lipaz enzimi katalizörlüğünde kanola yağı ve kudret narı yağ asitleri arasında gerçekleştirilen asidoliz reaksiyonu sonucu konjuge linolenik asitçe zenginleştirilmiş yapılandırılmış yağlar elde edilmiştir. Reaksiyon parametrelerinin belirlenmesi ve optimum koşulların saptanması amacıyla Tepki Yüzey Metodolojisi (Response

Surface Methodology) yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, 2 faktörlü (bağımsız değişkenli) ve 3 seviyeli yüzey merkezli küp deney tasarımına uygun olarak asidoliz reaksiyonları gerçekleştirilmiştir.

Enzimatik yöntem ile yapılandırılmış yağ üretiminde farklı reaksiyon parametreleri seçilebilmektedir. İstenilen özellikte ürün elde edebilmek için optimum koşulların belirlenmesi gerekmektedir. Ürünün özelliklerinin yanında reaksiyonun maliyeti ve uygulanabilirliği gibi faktörlere de dikkat edilmelidir. Bu çalışmada, substrat mol oranı, reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi ve enzim miktarı değişken olarak seçilmiştir. Kanola yağı ile kudret narı yağ asitleri belirli oranlarda bir araya getirilerek 1 g'lık substratlar oluşturulmuşlardır. Yapılan deneylerde kudret narı yağ asidi:kanola yağı oranı 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1 olarak seçilmiş ve en uygun koşul aranmıştır. Reaksiyon sıcaklığının etkisini değerlendirmek amacıyla 6 farklı sıcaklık değerinde (35ºC, 40ºC, 45ºC, 50ºC, 55ºC, 60ºC) çalışılmıştır. 1, 3 ve 5 saatlik deneyler yürütülerek sürenin ürün üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Enzim miktarı ise substrat ağırlığının %7, %10, %13, %16, %19'u olacak şekilde seçilmiştir. Belirlenen değişkenler doğrultusunda gerçekleştirilen deneyler ile optimum reaksiyon koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.2.7 Deneysel tasarım ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu

Reaksiyon koşullarının optimizasyonu Tepki Yüzey Metodolojisi'ne göre yapılmıştır. 2 faktörlü ve 3 seviyeli yüzey merkezli küp deney tasarımı uygulanmış, 11 asidoliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Deney sonuçlarının istatiksel analizleri Statistica 7.0 (Statsoft® Inc.) bilgisayar paket programı ile yapılmıştır. Programdan elde edilen sonuçlara göre belirlenen değişkenlerin tepki değerleri üzerindeki etkilerini gösteren izdüşüm (Contour Plot) ve tepki yüzey grafikleri ile reaksiyon koşulları optimize edilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Kanola yağının enzimatik asidoliz yoluyla KLNA ile zenginleştirildiği bu çalışmada yapılandırılmış yağ üretimi amaçlanmıştır. Deneyin değişken parametreleri substrat mol oranı ve reaksiyon sıcaklığı olarak seçilmiştir. Farklı reaksiyon sürelerinde yapılan deneyler sonucu optimum süre 3 saat olarak belirlenmiştir. Enzim miktarının ürün üzerinde fazla etkiye sahip olmadığı saptanmıştır.

4.1 Kudret Narı Meyvesinin Karakterizasyon Sonuçları

Kudret narı meyvesinin karakterizasyonunu yapabilmek için 11 adet kudret narı meyvesi alınmıştır. Meyvenin morfolojik özelliklerini belirleyebilmek amacıyla boyları ölçülmüştür. Ardından meyvenin bütün ağırlığı, zarları ile birlikte kırmızı çekirdeklerinin ağırlığı ve çekirdeklerin kırmızı çekirdek zarından ayrıldıktan sonraki ağırlıkları ölçülmüştür. Ölçüm sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 : Kudret narı meyvesinin karakterizasyon sonuçları.

Kudret narı meyvesi	Boy (cm)	Çekirdek sayısı	Bütün meyve ağırlığı (g)	Kırmızı çekirdek	Yaş tohum ağırlığı (g)
1.	18,5	42	178,4	33,1	12,0
2.	16,5	29	121,5	24,6	7,0
3.	21	20	162,1	23,2	5,2
4.	14,5	31	137,7	35,0	9,8
5.	16,5	42	131,7	23,8	10,5
6.	16	33	148,8	29,2	9,4
7.	15,5	13	98,8	17,3	3,7
8.	21,5	42	182,8	27,3	8,3
9.	22	30	169,6	37,2	8,9
10.	21,5	43	165,9	35,7	11,0
11.	14	13	115,7	23,8	4,3

Yapılan ölçümler sonucu meyve boylarının 14 cm ile 22 cm arasında değiştiği bütün meyve ağırlığının ise meyve boyu ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Meyvede ortalama 31 adet çekirdek olduğu bulunmuştur. Yaş tohumların ortalama ağırlıkları 8,2 g olarak ölçülmüştür. Kırmızı çekirdek ağırlığı ise toplam meyvenin ortalama olarak %19,5'i kadardır.

Morfolojik özelliklerin belirlenmesinin ardından yaş tohumlara nem tayini yapılmıştır. 18 adet yaş tohum kırmızı çekirdek zarlarından ayıklanarak vezin kabına konulmuştur. Çalışma paralel olarak iki grup numune ile gerçekleştirilmiştir. Yaş tohumlar ağırlıkları sabitlenene kadar 30 dakika boyunca etüvde kurutulmuş ve 20 dakika süre ile desikatörde soğutulmuşlardır. Yaş ve kuru tartımlar arası fark göz önünde bulundurularak ortalama nem miktarı tespit edilmiştir. Yaş tohumun ortalama nem miktarının %26,5 civarında olduğu ölçülmüştür. Tohumların nem miktarı Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : Kudret narı meyvesinin nem tayini sonuçları.

	İlk tartım (g)	Son tartım (g)	Nem miktarı (g)	Nem (%)
1. numune	5,1514	3,7971	1,3543	26,3
2. numune	4,9421	3,6039	1,3382	27

Taze olarak alınan kudret narı meyvelerinden elde edilen çekirdekler yağ miktarlarının belirlenmesi için ektraksiyon işlemine tabi tutulmuşlardır. Daha önce tohumlara uygulandığı gibi çekirdekler parçalanarak hekzan içerisinde karıştırılmış ve ardından hekzan döner buharlaştırıcılı evaporatörde uçurulmuştur. Bu şekilde taze meyve çekirdeğinden elde edilen yağ miktarının çekirdek ağırlığının %13'ü kadar olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca taze meyve çekirdek yağının yağ asidi bileşimini belirlenemek için yağdan yağ asidi elde edilmiş ve metil esteri hazırlanarak GC'ye beslenmiştir. Taze meyve çekirdeğinin yağ asidi bileşimi Çizelge 4.3'teki gibidir.

Çizelge 4.3 : Taze meyve çekirdeği yağının yağ asidi bileşimi.

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)
16:0	1,6
18:2	6,8
18:1	5,3
18:0	22,9
18:3 (KLNA)	**62,4**
α–eleostearik asit	50,5
Punisik asit	2,6
Katalpik asit	2,1
β–eleostearik asit	7,2
20:1	0,6
20:0	0,4

4.2 Kudret Narı Tohumunun Yağ İçeriği

Kudret narı yağı elde etmek amacıyla 35 g çekirdek örneği tartılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi ortalama yağ miktarına ulaşabilmek için 4 grup numune ile analiz yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre kudret narı çekirdeğinin %21 oranında yağ içerdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.4 : Kudret narı tohumundan elde edilen yağ miktarları.

Numune	Tohum Miktarı (g)	Elde Edilen Yağ Miktarı (g)
1.	34,98	6,95
2.	35,12	7,93
3.	35,10	7,44
4.	35,01	7,51

4.3 Substratların Yağ Asidi Bileşimleri

Asidoliz reaksiyonunda substrat olarak kullanılan kanola yağı ve kudret narı yağının yağ asidi bileşimleri tayin edilmiştir. Bu amaçla metil esterleri hazırlanan kanola yağı ve kudret narı yağ asitleri kapiler gaz kromatografisine beslenmiştir. Çizelge 4.5'te kanola yağının yağ asidi bileşimi görülmektedir.

Çizelge 4.5 : Kanola yağı yağ asidi bileşimi.

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)
16:0	4,8
18:2 + 18:1	89,1
18:3 (KLNA)	0
18:0	1,7
20:1	2
20:0	0,5
22:1	1,6
22:0	0,3

Bu çalışmada kullanılan kapiler kolon 18:1 ve 18:2 yağ asitlerini ayıramadığından bu yağ asitlerinin sonuçları birlikte verilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre kanola yağı temel olarak %89,1 oleik asit ve linoleik asit, %4,8 palmitik asit ve %1,7 stearik asit içermektedir. Ayrıca az miktarda araşidik asit, gadoleik asit ve erusik asit içeren kanola yağında konjuge linolenik asit bulunmamaktadır.

Kudret narı yağına ait yağ asidi bileşimi Çizelge 4.6'da verilmiştir. Deneylerde asidoliz reaksiyonu ile KLNA katılımını sağlamak amacıyla kullanılan kudret narı yağı %57,2 oranında konjuge linolenik asit içermektedir. Bileşiminde doymamış yağ asidi olarak %9,8 oranında oleik asit ve %6,2 oranında linolenik asit bulunmaktadır.

Çizelge 4.6 : Kudret narı tohumu yağı yağ asidi bileşimi.

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)
16:0	1,9
18:2	6,7
18:1	9,8
18:0	22,3
18:3 (KLNA)	**57,2**
α-eleostearik asit	50,3
Punisik asit	1,5
Katalpik asit	3,4
β-eleostearik asit	1,1
20:1	0,6
20:0	0,4

4.4 Tepki Yüzey Metodolojisi'nde Kullanılacak Değişken Seviye Değerlerinin Belirlenmesi

Asidoliz reaksiyonunun optimizasyonunu gerçekleştirebilmek için Bölüm 3.2.6'da bahsedildiği gibi seçilen reaksiyon değişkenlerinin ürün üzerindeki etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. Deneyler değişkenler için belirlenen farklı seviye değerlerinde yürütülerek optimum sonuçlara ulaşılmaya çalışılmıştır. Bu nedenle ilk olarak substrat mol oranının katılım üzerindeki etkisi ölçülmüştür. Reaksiyon sıcaklığı 50ºC olarak ayarlanarak 1, 3 ve 5 saatlik paralel deneyler yapılmıştır. Kudret narı yağ asidi (KNYA):kanola yağı (KY) oranı 3:1, 4:1, 5:1, 6:1 ve 7:1 olarak seçilmiştir. Oluşan asidoliz ürünleri saf hale getirildikten sonra metil esterleri hazırlanarak yağ asidi bileşimleri GC'de analiz edilmiştir. Çizelge 4.7'de 3:1 (KNYA:KY) mol oranında reaksiyona giren substratların dönüşüm yüzdeleri ve dönüşümün süre ile değişimi görülmektedir.

Çizelge 4.7 : Kanola yağının kudret narı yağ asitleri (KNYA) ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi (KNYA:KY mol oranı: 3:1, enzim miktarı: %10, sıcaklık: 50ºC).

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)			
	Kanola Yağı	Ürün, TAG 1 saat	Ürün, TAG 3 saat	Ürün, TAG 5 saat
16:0	4,8	3,7	3,6	3,6
18:2+18:1	89,1	59,9	58,3	58,5
18:0	1,7	12,1	12,7	13,2
α-eleostearik asit		18,3	19,4	17,9
Punisik asit		0,6	0,7	0,75
Katalpik asit		0,5	0,5	0,75
β-eleostearik asit		1,6	1,6	2,2
Toplam KLNA	**-**	**21,0**	**22,2**	**21,6**
20:1	2	1,6	1,5	1,4
20:0	0,5	0,5	0,5	0,5
22:1	1,6	1	1	1
22:0	0,3	0,2	0,2	0,2

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi incelenen koşullarda yapılandırılmış kanola yağındaki KLNA bileşimi 1 saat sonunda %21,0, 3 saat sonunda %22,2 ve 5 saat sonunda %21,6 olarak saptanmıştır. Sonuçlar en yüksek dönüşümün 3 saatlik reaksiyon süresi sonunda elde edildiğini göstermektedir.

İkinci deney setinde reaksiyonlar substrat mol oranı 4:1 (KNYA:KY) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.8'de 4:1 substrat mol oranında gerçekleşen 1, 3 ve 5 saatlik deney sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.8 : Kanola yağının kudret narı yağ asitleri (KNYA) ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi (KNYA:KY mol oranı: 4:1, enzim miktarı: %10, sıcaklık: 50ºC).

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)			
	Kanola Yağı	Ürün, TAG 1 saat	Ürün, TAG 3 saat	Ürün, TAG 5 saat
16:0	4,8	3,3	3,3	3,3
18:2+18:1	89,1	54,3	51,1	51
18:0	1,7	12,5	14,5	14,4
α-eleostearik asit		21,5	23,75	23,9
Punisik asit		1,1	0,95	1,1
Katalpik asit		0,5	0,7	0,6
β-eleostearik asit		4,1	2,9	3,1
Toplam KLNA	-	**27,2**	**28,3**	**28,7**
20:1	2	1,2	1,2	1,3
20:0	0,5	0,5	0,5	0,5
22:1	1,6	0,8	0,9	0,8
22:0	0,3	0,2	0,2	-

Substratlar mol oranı 4:1 olacak şekilde reaksiyona sokulduğunda KLNA katılımı açısından en belirgin artışın 1 ile 3 saat arasında olduğu görülmüştür. Elde edilen yapılandırılmış TAG bileşimindeki KLNA miktarı artarken diğer doymamış yağ asitlerinin (18:1 ve 18:2) miktarlarında azalma meydana gelmiştir. Bu durum orjinal kanola yağındaki oleik asit ve linoleik asidin lipaz enzimi varlığında gerçekleşen asidoliz reaksiyonu sonucu konjuge linolenik asit izomerleri ile yer değiştirdiklerini göstermektedir.

Çizelge 4.9'da KNYA:KY mol oranı 5:1 olacak şekilde gerçekleştirilen deneylerin sonuçları verilmiştir. Reaksiyona giren kudret narı yağ asitlerinin mol oranının artması ile asidoliz ürününün KLNA bileşimi artmıştır. Ayrıca 5:1 mol oranı ile gerçekleştirilen deneylerde reaksiyon süresinin dönüşüm miktarını etkilemediği belirlenmiştir.

Çizelge 4.9 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi (KNYA:KY mol oranı 5:1, enzim miktarı: %10, sıcaklık: 50ºC).

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)			
	Kanola Yağı	Ürün, TAG 1 saat	Ürün, TAG 3 saat	Ürün, TAG 5 saat
16:0	4,8	3,1	3	3,1
18:2+18:1	89,1	47,1	46,1	46,3
18:0	1,7	15,2	15,4	15,8
α-eleostearik asit		26,9	28,5	28,5
Punisik asit		1,3	1,1	1
Katalpik asit		1,1	0,8	0,7
β-eleostearik asit		2,7	2,6	2,1
Toplam KLNA	-	**32**	**33**	**32,3**
20:1	2	1,2	1,2	1,2
20:0	0,5	0,4	0,4	0,5
22:1	1,6	0,8	0,7	0,8
22:0	0,3	0,2	0,2	-

KNYA:kanola yağı mol oranının 6:1 olarak ayarlandığı bir diğer deney setinin sonuçları Çizelge 4.10'da görülmektedir. Diğer mol oranlarında olduğu gibi oleik asit ve linoleik asit miktarı azalırken KLNA miktarında artış görülmektedir.

Substrat mol oranı değişimi ile ilgili son deney setinde KNYA:KY mol oranı 7:1 olacak şekilde seçilmiştir. Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi 3 saatlik reaksiyon sonunda %38,3 oranında dönüşüm gerçekleştirilmiştir. Ancak 5 saatlik reaksiyon sonundaki dönüşüm miktarının daha az olduğu gözlenmiştir. Bu durum, ortamdaki enzimin etki edeceği yeterli miktarda substrat kalmaması şeklinde açıklanabilmektedir.

Çizelge 4.10 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi (KNYA:KY mol oranı 6:1, enzim miktarı: %10, sıcaklık: 50ºC).

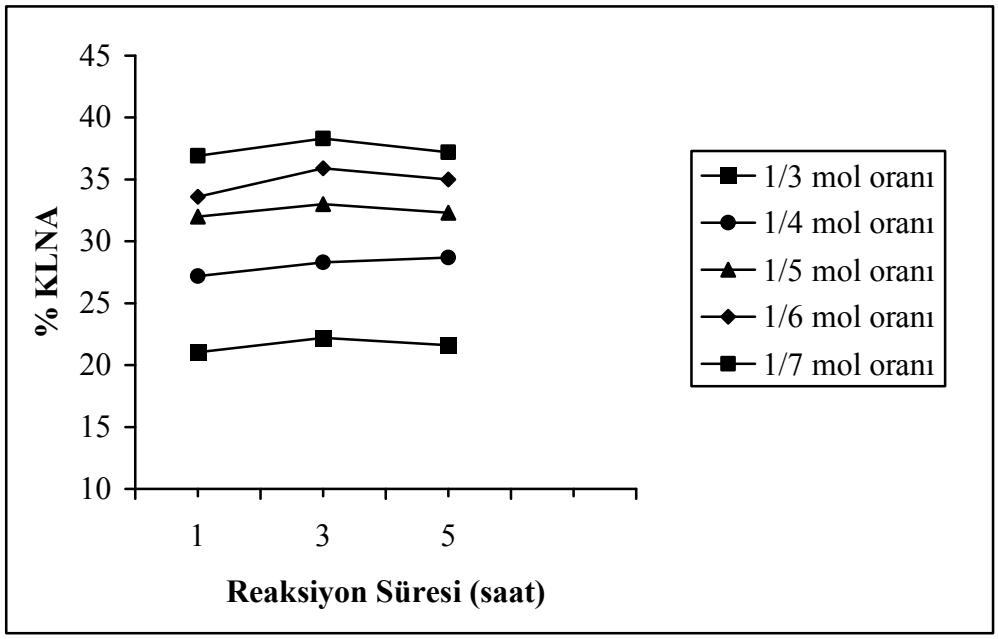
Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)			
	Kanola Yağı	Ürün, TAG 1 saat	Ürün, TAG 3 saat	Ürün, TAG 5 saat
16:0	4,8	3,1	3	3,2
18:2+18:1	89,1	43	41,2	42,1
18:0	1,7	18	17,6	18,4
α-eleostearik asit		26,7	31,3	27
Punisik asit		1,5	1	1,4
Katalpik asit		1,3	0,8	1,6
β-eleostearik asit		4,1	2,8	4,4
Toplam KLNA	**-**	**33,6**	**35,9**	**34,4**
20:1	2	1,2	1,2	0,8
20:0	0,5	0,5	0,5	0,5
22:1	1,6	0,6	0,6	0,6
22:0	0,3	-	-	-

Çizelge 4.11 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin reaksiyon süresi ile değişimi (KNYA:KY mol oranı 7:1, enzim miktarı: %10, sıcaklık: 50ºC).

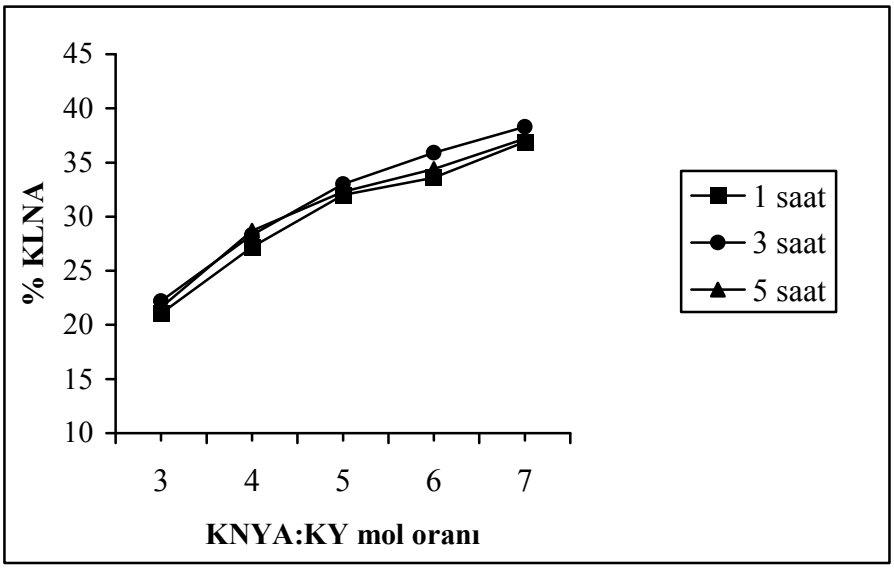
Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)			
	Kanola Yağı	Ürün, TAG 1 saat	Ürün, TAG 3 saat	Ürün, TAG 5 saat
16:0	4,8	3	2,9	3
18:2+18:1	89,1	39,4	38,1	38,4
18:0	1,7	18,7	18,7	19,3
α-eleostearik asit		30,5	31,3	28,8
Punisik asit		1,3	1,6	1,7
Katalpik asit		0,6	1,3	1,1
β-eleostearik asit		4,5	4,1	5,6
Toplam KLNA	**-**	**36,9**	**38,3**	**37,2**
20:1	2	1	1	1,1
20:0	0,5	0,5	0,5	0,5
22:1	1,6	0,5	0,5	0,5
22:0	0,3	-	-	-

Deney sonuçlarına göre, incelenen koşullarda kanola yağındaki KLNA miktarı en yüksek değerini KNYA:KY mol oranı 7:1 iken ve 3 saatlik reaksiyon sonunda almıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda reaksiyon değişkenlerinden substrat mol oranı ve reaksiyon süresinin ürün üzerine etkileri belirlenmiştir. Çalışmada KLNA kaynağı olarak kullanılan kudret narı yağ asitlerinin mol oranlarının artması ile ürünün KLNA içeriğinin de yükseldiği saptanmıştır. 3 saatlik reaksiyonlar göz önünde bulundurulduğunda 3:1 mol oranında KLNA katılımı %22,2 iken 7:1 mol oranında katılım miktarı %38,3'e ulaşmıştır.

Reaksiyon süresinin ise dönüşüm üzerinde fazla etkisinin olmadığı belirlenmiş ve en yüksek katılım 3 saatlik reaksiyonlar sonucunda elde edilmiştir. Değişen mol oranlarına göre yapılandırılmış TAG'ların KLNA miktarlarında zamanla meydana gelen değişim Şekil 4.1'de görülmektedir. Mol oranı eğrilerinin paralel olarak ilerleyişinden anlaşılacağı gibi KNYA miktarındaki artış KLNA katılımını düzenli bir şekilde arttırmıştır. Ancak en yüksek artış miktarı 3:1 oranı ile 4:1 oranı arasında gerçekleşmiş, mol oranı arttıkça artış miktarında azalma görülmüştür.



Şekil 4.1 : Kanola yağı ve kudret narı yağ asitlerinin asidoliz reaksiyonu süresince kanola yağına KLNA katılımının farklı substrat mol oranlarında zamanla değişimi



Şekil 4.2 : Kanola yağı ile kudret narı yağ asitlerinin asidoliz reaksiyonu süresince kanola yağına KLNA katılımının farklı reaksiyon sürelerinde mol oranı ile değişimi

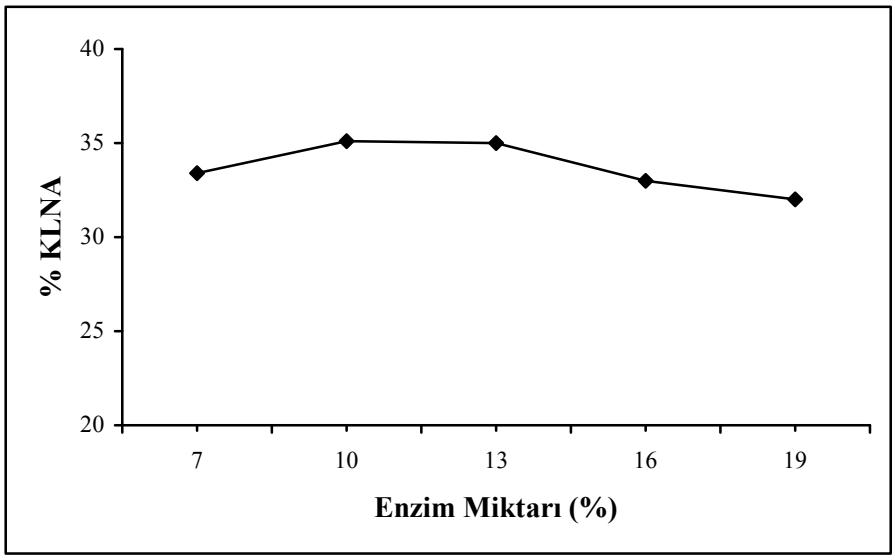
Reaksiyon süresinin KLNA yüzdesi üzerinde meydana getirdiği değişim Şekil 4.2'de görülmektedir. Şekilde görüldüğü gibi reaksiyon süresinin dönüşüm üzerinde belirgin bir etkisi bulunmamaktadır. Her mol oranı için en yüksek katılım 3 saat sonunda gerçekleşmiştir. Bu nedenle diğer değişkenlerin reaksiyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılacak deneylerde reaksiyon süresi 3 saat olarak seçilmiştir.

Optimizasyona geçmeden önce ürün niteliğini etkileyebilecek bağımsız değişkenler belirlenmektedir. Substrat mol oranı ve reaksiyon sürelerinin etkileri incelendikten sonra bir diğer bağımsız değişken olan enzim miktarı ile ilgili deneylere geçilmiştir. Enzim miktarı substrat ağırlığının (1 g) belirli oranlarında olacak şekilde seçilmiştir. Deneyler %7, %10, %13, %16, %19 enzim miktarı ile gerçekleştirilmiştir. 50ºC'de, 5:1 mol oranında ve 3 saat süre ile yürütülen deneylerdeki KLNA katılım miktarları Çizelge 4.12'de görülmektedir.

Çizelge 4.12 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin enzim miktarı değişimi (KNYA:KY mol oranı 5:1, reaksiyon süresi: 3 saat, sıcaklık: 50ºC).

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)					
	Kanola Yağı	Ürün, TAG %7	Ürün, TAG %10	Ürün, TAG %13	Ürün, TAG %16	Ürün, TAG %19
16:0	4,8	3,3	3,1	3,1	3,2	3,2
18:2+18:1	89,1	44,5	44,2	42	44,6	45,3
18:0	1,7	16,6	15,6	17,8	16,9	17,1
α-eleostearik asit		26	29,2	28,9	27,2	25,9
Punisik asit		1,6	1,6	1,4	1,3	1,4
Katalpik asit		1,2	1,3	1	1,1	1
β-eleostearik asit		4,6	3	3,7	3,4	3,7
Toplam KLNA	-	**33,4**	**35,1**	**35**	**33**	**32**
20:1	2	1,1	1	1	1,1	1,2
20:0	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5
22:1	1,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7
22:0	0,3	-	-	-	-	-

Elde edilen yapılandırılmış yağlardaki KLNA katılımlarının enzim miktarı ile değişimini daha net görebilmek için Çizelge 4.12'deki değerler Şekil 4.3'de özetlenmektedir.



Şekil 4.3 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin enzim miktarı değişimi (KNYA:KY mol oranı 5:1, reaksiyon süresi: 3 saat, sıcaklık: 50ºC)

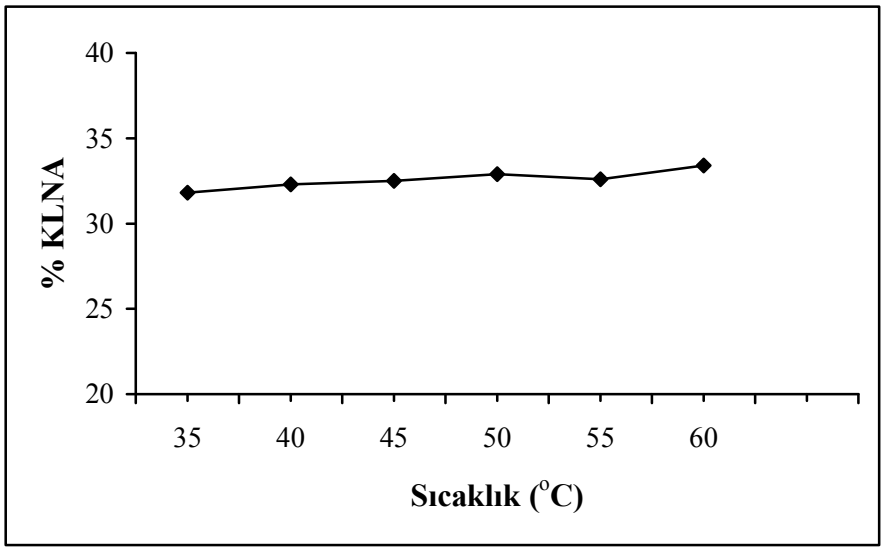
Şekil 4.3'de görüldüğü gibi en yüksek KLNA katılımı %10 enzim miktarında gerçekleşmiştir. Ortamda yeterli miktarda substrat kalmadığında KLNA'nın kanola yağındaki yağ asitleri ile yer değiştirmesi mümkün olmamaktadır. Bu nedenle %10'dan fazla enzim miktarlarında enzim etki edecek substrat bulamamakta ve dolayısıyla dönüşüm miktarı azalmaktadır.

Optimizasyonu uygulamak amacıyla belirlenen bağımsız değişkenlerden sonuncusu olan sıcaklık parametresinin dönüşüm üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, 5:1 (KNYA:KY) mol oranında, %10 enzim miktarı ve 3 saatlik reaksiyon süresi ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda 35ºC, 40ºC, 45ºC, 50ºC, 55ºC, 60ºC olmak üzere 6 farklı sıcaklık değeri uygulanmıştır. Bu reaksiyonların sonrasında yapılandırılmış yağların yağ asidi bileşimleri gaz kromatografisi ile tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.13 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin sıcaklık ile değişimi (KNYA:KY mol oranı 5:1, reaksiyon süresi: 3 saat, enzim miktarı: %10).

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi (% Ağır.)						
	Kanola Yağı	TAG 35ºC	TAG 40ºC	TAG 45ºC	TAG 50ºC	TAG 55ºC	TAG 60ºC
16:0	4,8	3,3	3,2	3,3	3,2	3,3	3,2
18:2+18:1	89,1	45,2	45,4	45,1	44,7	45	44,4
18:0	1,7	17,5	16,9	16,9	17	16,7	16,8
α-eleostearik asit		26,6	27,4	27,3	28,4	28,3	26,9
Punisik asit		1,2	1,1	1,2	1	1,1	1,5
Katalpik asit		0,9	0,8	0,8	0,7	0,6	1,2
β-eleostearik asit		3,1	3	3,2	2,8	2,6	3,8
Toplam KLNA	**-**	**31,8**	**32,3**	**32,5**	**32,9**	**32,6**	**33,4**
20:1	2	1	1	1	1	1,1	4
20:0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
22:0	1,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7
24:0	0,3	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.13'de görüldüğü gibi dönüşüm 35ºC'de %31,8 iken 60ºC'de %33,4'e ulaşmıştır. Bu değerler kullanılarak oluşturulan Şekil 4.4'te KLNA dönüşümünün sıcaklığın 35ºC'den 60ºC'ye artması ile arttığı gözlenmiştir. Ayrıca 50ºC'den sonra KLNA katılımındaki artış miktarı azalmıştır.



Şekil 4.4 : Kanola yağının KNYA ile asidolizinde TAG asidoliz ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin sıcaklık ile değişimi (KNYA:KY mol oranı 5:1, reaksiyon süresi: 3 saat, enzim miktarı: %10)

Belirlenen bağımsız değişkenlerle gerçekleştirilen deneyler sonucu ürün üzerinde en fazla etkiye sahip değişkenler ve bunların seviye değerleri saptanmıştır. Deney sonuçlarına göre KLNA katılımı üzerinde en belirgin etkiye sahip olan değişkenlerin substrat mol oranı ve reaksiyon sıcaklığı olduğu belirlenmiştir.

Substrat mol oranına göre üründeki KLNA miktarındaki artışın incelenmesi için deneysel tasarımda 3:1, 5:1 ve 7:1 mol oranları ile çalışılmasına karar verilmiştir. Bu değerler sırasıyla -1, 0 ve +1 değişken seviyelerine karşılık gelmektedir.

Yapılandırılmış yağların yağ asidi bileşimlerine bakıldığında KLNA miktarının sıcaklık artışı ile arttığı ancak belirli bir süre sonra sabitlendiği görülmektedir. Bu değerlendirme sonucunda, yüzey merkezli küp deney tasarımında kullanılacak -1, 0 ve +1 kodlarına karşılık gelecek reaksiyon sıcaklıkları 35ºC, 45ºC ve 55ºC olarak belirlenmiştir.

4.5 Tepki Yüzey Metodolojisi'ne göre Deneysel Tasarım ve Reaksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu

Lipaz enzimi katalizörlüğünde gerçekleştirilen kanola yağına konjuge linolenik asit katılımı reaksiyonu üzerinde substrat mol oranı ve reaksiyon sıcaklığı faktörlerinin etkilerinin incelenmesi ve optimum koşulların belirlenmesi amacıyla 2 faktör (bağımsız değişken) ve 3 seviyeli Tepki Yüzey Metodolojisi uygulanmıştır. Deneyler sonucu elde edilen bağımsız değişken sayısı ve kodları Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14 : Kanola yağının KLNA ile asidoliz reaksiyonunda yüzey merkezli küp deney tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler ve bu değerler için kodlanan seviyeler.

Bağımsız Değişkenler	**Kodlanan Değişken Seviyeleri**		
	-1	0	+1
KLNA:Kanola yağı oranı (mol/mol)	3	5	7
Sıcaklık (ºC)	35	45	55

Merkezi bileşik yüzey merkezli küp deney tasarımı kullanılarak 11 tasarım noktasını belirleyecek 11 asidoliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.15'te tespit edilen bağımsız değişkenler ve değişken seviyelerine göre belirlenen deney tasarım noktaları gösterilmiştir. Merkez noktada üç tekrar yapılmıştır.

Çizelge 4.15 : Yüzey merkezli küp deney tasarımındaki deney tasarım noktaları (Reaksiyon süresi: 3 saat, Enzim miktarı: %10).

Deney No	KLNA:Kanola Yağı mol oranı (mol/mol)		Sıcaklık (ºC)	
	Kod	**Değer**	**Kod**	**Değer**
1	-1	3	-1	35
2	-1	3	+1	55
3	+1	7	-1	35
4	+1	7	+1	55
5	-1	3	0	45
6	+1	7	0	45
7	0	5	-1	35
8	0	5	+1	55
9	0	5	0	45
10	0	5	0	45
11	0	5	0	45

Çizelge 4.16'da uygulanan deney tasarımına göre gerçekleştirilen 11 deneyin sonucunda oluşan reaksiyon ürünlerinin KLNA içerikleri görülmektedir.

Çizelge 4.16 : Yüzey merkezli küp deney tasarımına uygun olarak yürütülmüş deneyler sonucunda elde edilen ürünlerin tepki değerleri.

Deney No	Değişken seviyeleri		Tepki değerleri
	KLNA:KY (mol/mol), X_1	Sıcaklık (ºC), X_2	KLNA (%), Y
1	3	35	23,5
2	3	55	27,4
3	7	35	33,8
4	7	55	37
5	3	45	26,6
6	7	45	36
7	5	35	31,1
8	5	55	35
9	5	45	34,9
10	5	45	33,3
11	5	45	33,8

4.6 Farklı Reaksiyon Koşullarının Reaksiyona Etkilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi

Tepki değerlerinin istatistiksel analizlerinde STATISTICA 7.0 paket programı kullanılmıştır. Sonuçlar 'Varyans Analizi' ile değerlendirilmiştir.

2 ve daha fazla değişkenli, 3 seviyeli yüzey merkezli deney tasarımında elde edilen tepkilerin değerlendirilmesinde aşağıda verilen 2. dereceden polinom eşitliğinden yararlanılmıştır **(4.1)**.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{j=1}^{k} \sum_{i>j}^{k} \beta_{ij} x_i x_j \qquad \textbf{(4.1)}$$

Bu denklemde; β_0 ortalama etki, β_i, β_{ii}, β_{ij} sırasıyla değişkenlerin lineer, kuadratik ve etkileşimleri için belirlenen katsayılardır. Bağımsız değişkenler x_i ve x_j, Y ise tepki değeri olarak gösterilmektedir.

2 bağımsız değişken ile gerçekleştirilen yüzey merkezli deney tasarımında, lineer ve kuadratik modellerde mevcut etkilerin katsayıları ve tahminleri belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.17'de görülmektedir.

Çizelge 4.17 : Bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiye bağlı olarak lineer ve kuadratik modellerde etkilerin tahminleri ve katsayıları.

	Etki	**Standart Hata**	**t(5)**	**p**	**Katsayı**
Ortalama/Intercept	33,98421	0,279588	121,5510	0,000000	33,98421
(1)KLNA:KY mol oranı (L)	9,76667	0,445005	21,9473	0,000004	4,88333
KLNA:KY mol oranı(Q)	-5,32105	0,684848	-7,7697	0,000565	-2,66053
(2)Sıcaklık (L)	3,66667	0,445005	8,2396	0,000429	1,83333
Sıcaklık (Q)	-1,82105	0,684848	-2,6591	0,044935	-0,91053
Mol oranı * Sıcaklık	-0,35000	0,545017	-0,6422	0,549037	-0,17500

L: Lineer Q: Kuadratik

İkinci dereceden bir polinom olan model denkleme istatistiksel analiz sonucu elde edilen katsayılar ve faktör değerleri yerleştirilmiştir. Bu çalışmada 2 bağımsız değişken seçildiğinden ana denklem bu koşullara uygun olarak düzenlenmiş, aşağıda verilen eşitlik elde edilmiştir **(4.2)**. Bu denklemde bağımsız değişkenler (x_i) için kullanılan semboller ''M'' ve ''T'''dir. ''M'' substrat mol oranını, ''T'' ise sıcaklık değerini ifade etmektedir.

$$\%KLNA = 33,98 + 4,88*M - 2,66*M^2 + 1,83*T - 0,91*T^2 - 0,17*M*T \qquad \textbf{(4.2)}$$

Kanola yağına konjuge linolenik asit katılımı için oluşturulan model denklemin korelasyon katsayısı (R^2) 0,99, kalanlar toplamı (Residual) ise 0,26 olarak bulunmuştur. Korelasyon katsayısının 1'e yakın olması ve kalanlar toplamının yaklaşık olarak 0 olması oluşturulan denklemin uygunluğunu kanıtlamaktadır. Bu çalışmadan elde edilen değerler denklemin doğru sonuç verdiğini göstermektedir.

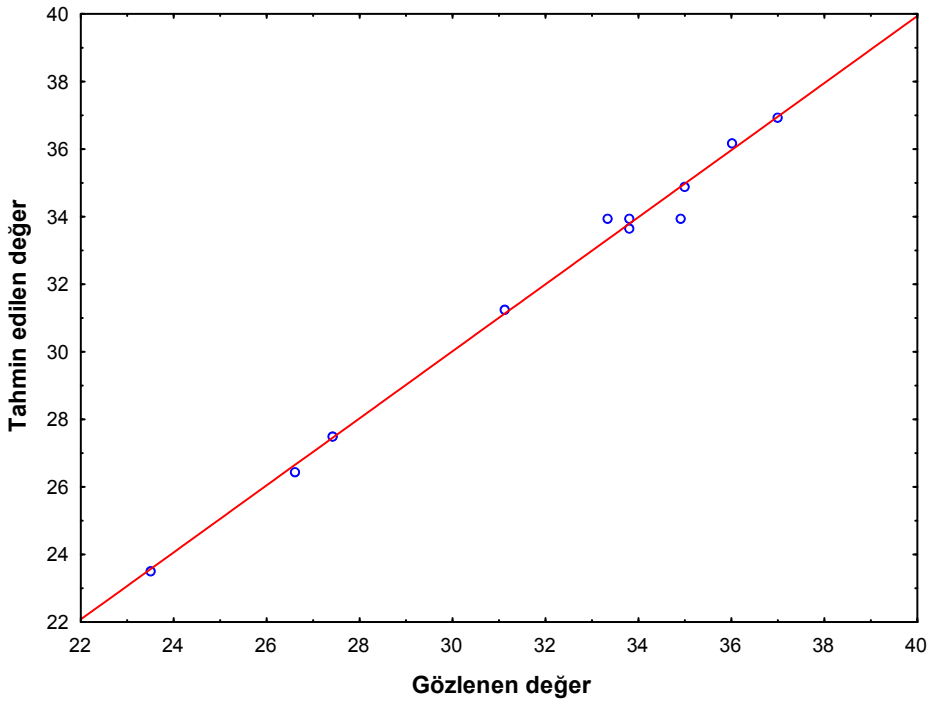
Katsayıların anlamlı olduğunu gösteren bir başka değer ise *p* değeridir. Uygulanan programın bağımsız değişkenler için verdiği *p* değerleri 0,01'den düşük ise katsayılar %99 güven aralığında anlamlı demektir, yani tahmin edilen sonuçlar ile gözlenen sonuçlar yakınlık göstermektedir. Bu doğrultuda yapılan istatistiksel analiz sonucu elde edilen *p* değerlerine göre katsayıların anlamlı olduğu söylenebilmektedir.

Asidoliz reaksiyonunun optimizasyonu amacıyla uygulanan Tepki-Yüzey modelinde KLNA:kanola yağı mol oranı ve sıcaklık olmak üzere 2 bağımsız değişken belirlenmiştir. Çizelge 4.18'de bağımsız değişkenler için gözlenen minimum, maksimum ve kritik değerler verilmiştir.

Çizelge 4.18 : Bağımsız değişkenlerin kritik değerleri.

	Gözlenen minimum değer	**Kritik değer**	Gözlenen maksimum değer
KLNA:KY mol oranı	3	**6,8**	7
Sıcaklık (^{o}C)	35	**54,2**	55

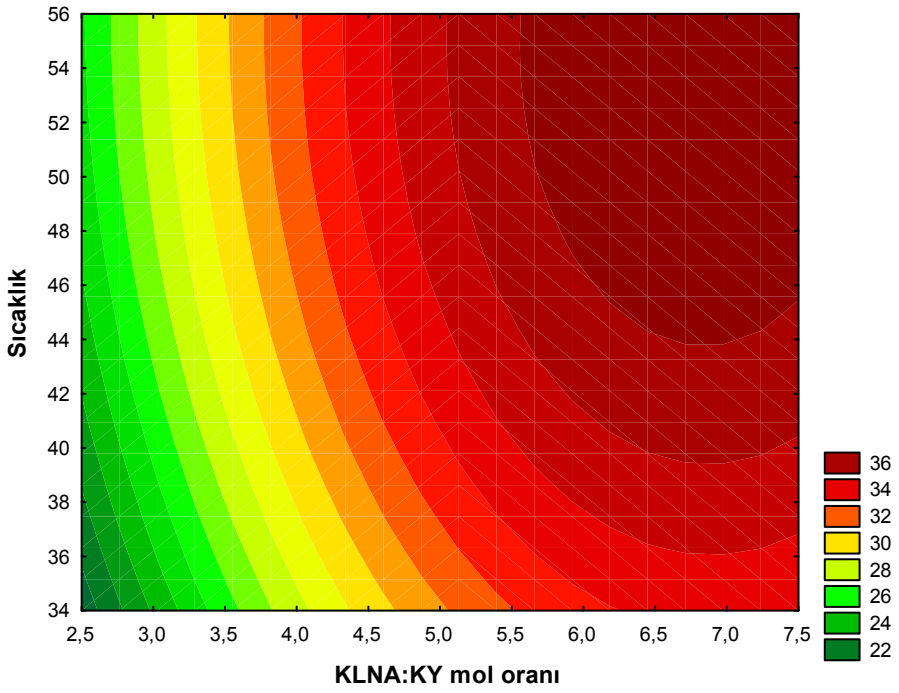
Çizelge 4.18'deki kritik değerler ile elde edilecek kritik tepki değeri %36,9 dur. 6,8:1 mol oranında ve 54,2ºC sıcaklıkta %36,9 KLNA katılımı gerçekleşmektedir. Deneyler ile elde edilen değerler ile model denklem ile ulaşılan sonuçlar arasındaki ilişkiyi gösteren grafik Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5 : Tahmin edilen değerler ile gözlenen değerler arasındaki ilişki

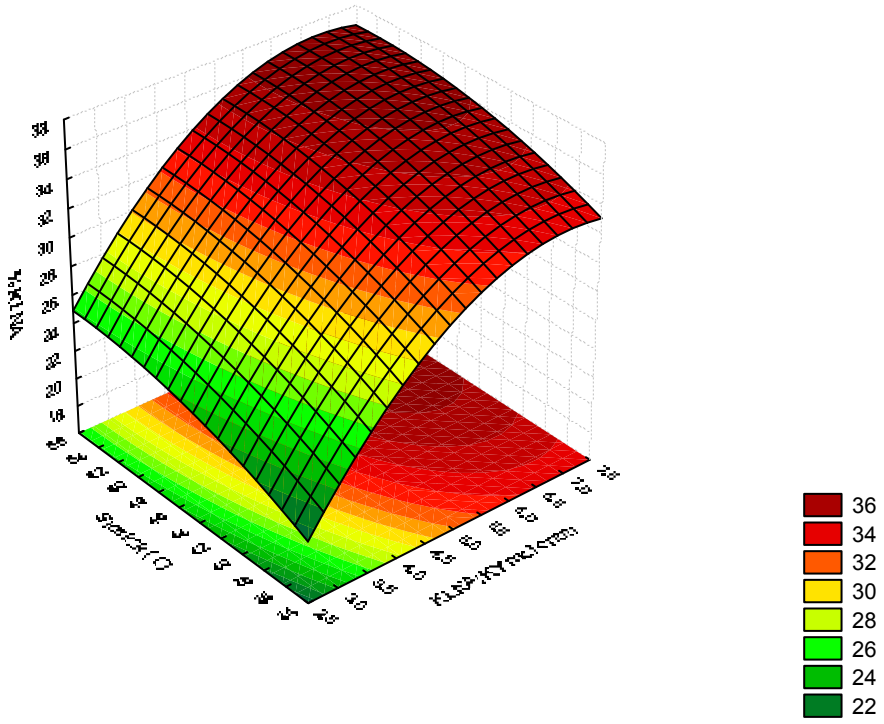
4.7 Tepki-Yüzey ve İzdüşüm Grafiklerinin Yorumlanması

İzdüşüm grafiklerinde deneyler sonucu elde edilen tepki değerlerine ait eğriler bir düzlem üzerinde gösterilmektedir. Bu düzlemde bağımsız değişkenlerin seviyelerini gösteren koordinatlar bulunmaktadır. İzdüşüm eğrileri ve bunlara karşılık gelen koordinatlar ile KLNA katılım miktarı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki incelenebilmektedir [158]. Kanola yağının konjuge linolenik asit ile enzimatik asidoliz reaksiyonu sonucu elde edilen ürünün KLNA içeriğinin sıcaklık ve KLNA:KY mol oranına göre değişimini gösteren izdüşüm (Contour Plot) ve tepki-yüzey grafikleri (Response Surface) Şekil 4.6.a ve Şekil 4.6.b'de görülmektedir.



Şekil 4.6.a : Kanola yağına KLNA katılımının mol oranı ve sıcaklık ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği

Mol oranı ve sıcaklığın KLNA katılımı üzerine etkileşimlerinden literatürde maksimum tepki (Maximum Response) olarak tanımlanan izdüşüm grafiği elde edilmiştir. Şekil 4.6.a'da görüldüğü gibi kanola yağına KLNA katılımı 5,5:1-7,5:1 mol oranında ve 45-55ºC sıcaklıkta en yüksek değerlere ulaşmıştır. Sıcaklığın artması ile KLNA katılımının arttığı ancak yüksek sıcaklık değerlerinde artış miktarında azalma olduğu gözlenmiştir. Ayrıca mol oranındaki artış ile ürünün KLNA içeriğinin belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir.



Şekil 4.6.b : Kanola yağına KLNA katılımının mol oranı ve sıcaklık ile değişimini gösteren tepki-yüzey grafiği

Bu çalışmada, kanola yağına KLNA katılım miktarına substrat mol oranı ve sıcaklığın etkileri incelenmiştir. Optimizasyon amacıyla gerçekleştirilen 11 asidoliz reaksiyonunun sonuçları göz önünde bulundurulduğunda en yüksek katılım miktarı %37 olarak belirlenmiş ve bu değerin 55ºC'de ve 7:1 substrat mol oranında elde edildiği saptanmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yağlar insan sağlığı için gerekli temel besin maddelerinden biridir. Metabolizmanın işleyişinde önemli rol oynamaktadırlar. Ancak aşırı yağ tüketimi beraberinde ciddi sağlık sorunlarını getirmektedir. Günlük diyetle alınan yağın miktarı kadar kalitesi de önem taşımaktadır. Bu nedenle yağlara çeşitli modifikasyon işlemleri uygulanarak istenilen niteliklere sahip yapılandırılmış yağlar elde edilmektedir. Böylece tüketicilere hem daha sağlıklı hem de fonksiyonel ürünler sunulmaktadır.

Kanola bitkisi, kolza bitki tohumlarının genetik yolla ıslah edilmesi ile elde edilmiştir. Kanola tohumu yüksek orandaki yağ içeriği ile önemli bitkisel yağ kaynaklarından biridir. Kanola yağı doymamış yağ asitlerince zengindir ve diğer yemeklik yağlara kıyasla doymuş yağ asitlerini en az miktarda içeren yağ çeşididir. Bu nedenlerden dolayı insan sağlığı açısından faydalı olduğu bilinmektedir. Ülkemizde de son yıllarda bitkisel yağ üretimini yetersiz olduğundan kanola alternatif bir yağ bitkisi olarak tercih edilmektedir.

Konjuge linolenik asit (KLNA), cis konfigürasyonuna sahip konjuge çift bağ içeren linolenik asidin pozisyonel ve geometrik izomerlerini içeren bir yağ asididir. Genellikle bitkisel yağlarda bulunmaktadır. KLNA insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkiye sahiptir. Kanser riskini azaltmakta, bağışıklık sistemini kuvvetlendirmekte, kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu görev yapmakta ve diyabet hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, kanola yağının konjuge linolenik asit ile zenginleştirilerek daha fonksiyonel yapılandırılmış yağların üretilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, kanola yağı ile konjuge linolenik asidin 1,3-spesifik *Thermomyces lanuginosa* L. lipazı katalizörlüğündeki asidoliz reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. KLNA kaynağı olarak yerel marketlerden temin edilen kudret narı meyvesinin tohumları kullanılmıştır.

Asidoliz reaksiyonlarının en uygun şartlarda gerçekleşmesini sağlamak amacıyla reaksiyondaki bağımsız değişkenler belirlenmiş ve koşulların optimizasyonu için Tepki Yüzey Metodolojisi yöntemi kullanılmıştır. Substrat mol oranının, sıcaklığın,

enzim miktarının ve reaksiyon süresinin ürünün özelliklerine ve KLNA içeriğine etkileri incelenmiştir.

Çalışmanın ilk kısmında KLNA:kanola yağı oranı 3:1-7:1 arasında değişen oranlarda seçilerek 50ºC'de, %10 enzim miktarı ile 1,3 ve 5 saatlik reaksiyonlar yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre substrat mol oranının artması ile üründeki KLNA miktarının arttığı gözlenmiştir. Optimizasyonda ise 3:1, 5:1 ve 7:1 mol oranları ile çalışılmasına karar verilmiştir. Reaksiyon süresinin KLNA katılımı üzerine belirgin bir etkisi olmadığı saptanmıştır. En yüksek katılım 3 saatlik reaksiyon süresi sonunda elde edildiğinden diğer deneyler bu süre ile yürütülmüştür.

Enzim miktarının etkisini belirlemek amacıyla enzim miktarı substrat ağırlığının %7-%19'u olacak şekilde seçilmiştir. Reaksiyonlar 5:1 substrat mol oranında, 50ºC sıcaklıkta ve 3 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. En yüksek KLNA katılımı %10 enzim miktarında gerçekleşmiş ve diğer oranlar arasında KLNA katılımı açısından net bir fark gözlenmemiştir. Son olarak 35-60ºC sıcaklık değerleri arasında yapılan deneyler sonucu sıcaklığın ürün üzerine etkisi incelenmiştir. Deneysel sonuçlar sıcaklık artışı ile KLNA katılımının arttığını göstermiştir. Optimizasyonda uygulanacak sıcaklık değerleri olarak 35ºC, 45ºC ve 55ºC seçilmiştir.

Tepki Yüzey Metodolojisi'ne göre reaksiyon koşullarının optimizasyonu üzerine deneyler yürütülmüştür. Bağımsız değişkenler olarak substrat mol oranı ve sıcaklık değerleri seçilmiştir. 2 faktörlü ve 3 seviyeli yüzey merkezli küp deney tasarımına uygun olarak 11 asidoliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen tepki değerleri Statistica 7.0 programı ile istatistiksel olarak analiz edilmiş ve optimum reaksiyon koşulları elde edilmiştir.

Sonuç olarak, optimizasyon sonuçlarına göre reaksiyon için optimum koşullar 6,8:1 KLNA:kanola yağı mol oranı ve 54,2ºC sıcaklık olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda %36,9 oranında KLNA içeren yapılandırılmış yağlar üretilmiştir. Böylece ilk kez enzimatik asidoliz yoluyla kanola yağına KLNA inkorpore edilmiş ve sağlığa faydalı ürünlerin elde edilmesi sağlanmıştır. Bu değerlerin doğruluğunu belirleyebilmek amacıyla kritik koşullarda gerçekleştirilen asidoliz reaksiyonu sonucunda da %36,6 oranında KLNA içeren TAG ürünü elde edilmiş ve oluşturulan model denklemin doğruluğu kanıtlamıştır.

Literatürde kanola yağının KLNA ile enzimatik asidoliz reaksiyonu ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca literatürde KLNA kaynağı olarak kullanılan kudret narı ile gerçekleştirilmiş herhangi bir interesterifikasyon reaksiyonuna da rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada elde edilen sonuçlar bilimsel literatüre katkıda bulunacaktır.

Kanola yağının içeriğinin zenginleştirilmesi amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, farklı enzimlerle ve farklı çözücülerde çalışılarak ürün üzerine etkileri incelenebilmektedir. Ürünlerin yağ asidi bileşimlerinin analizinde gaz kromatografisinden yararlanılmış ancak yalnızca katılım miktarları tespit edilebilmiştir. HPLC cihazı kullanıldığı taktirde ise TAG yapısına katılan yağ asitlerinin yerleştikleri pozisyonlar (sn-1, 2, 3) belirlenmekte ve açil migrasyonlarının meydana geldiği konumlar saptanabilmektedir.

KAYNAKLAR

[1] **Fereidoon, S.,** 1990. Canola and Rapeseed, Van Nostrand Reinford, New York.

[2] **Acar, M., Gizlenci Ş. and Dok, M.,** 2005. Orta Karadeniz geçit bölgesinde kolza için en uygun ekim zamanının belirlenmesi, *S. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, **19(36)**, 110-115.

[3] **Hammond, E. G.,** 2008. Genetic Alterations of Food Fats and Oils, in *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, p. 439-460, Ed. Chow, C. K., CRC Press, London, New York.

[4] **Tan, A. Ş.,** 2007. Kanola (kolza) Tarımı, *Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Çiftçi Broşürü*, no. 134, İzmir.

[5] **Öztürk, Ö. and Akınerdem, F.,** 2003. Yağ Açığının Kapatılmasında Alternatif Bir Yağ Bitkisi Kanola, *Türkiye I. Yağlı Tohumlar, Bitkisel Yağlar ve Teknolojileri Sempozyumu*, İstanbul, 22-23 Mayıs.

[6] **Aybal, N. Ö.,** 2007. Tilapia (Oreochromis niloticus L.) Yavrularının Yemlerinde Protein Kaynağı Olarak Kanola (*Brassica spp*.) Küspesi Kullanma Olanakları, *Doktora Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.

[7] **Pritchard, J. L. R.,** 1991. Analysis and Properties of Oil Seeds, in *Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods*, p. 39-139, Eds. Rossell, J. B. and Pritchard, J. L. R., Elsevier Applied Science, London.

[8] **Tunçtürk, M., Yılmaz İ., Erman M. and Tunçtürk, R.,** 2005. Yazlık kolza (*Brassica napus* ssp. *oleifera* L.) çeşitlerinin Van ekolojik koşullarında verim ve verim özellikleri yönünden karşılaştırılması, *Tarım Bilimleri Dergisi*, **11(1)**, 78-85.

[9] **Url-1**, <*http:// www.bysd.org.tr/bitkisel_yag.pdf* >, 21.04.2009.

[10] **Tetik, E.,** 1997. Kolza Sap-Samanının Pirolizi, *Yüksek Lisans Tezi,* İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[11] **Kayahan, M.,** 2004. Yağlı Tohumlardan Ham Yağ Üretim Teknolojisi, Gıda Mühendisleri Odası, Ankara.

[12] **Güler, M., Kara, T. and Dok, M.,** 2005. Orta Karadeniz Bölgesi'nde potansiyel kanola (Brassica napus L.) üretim alanlarının belirlenmesinde coğrafi bilgi sistemleri (CBS) tekniklerinin kullanımı, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,* **20(1)**, 44-49.

[13] **Tunçtürk, M.,** 2008. Bazı yazlık kolza (*Brassica napus* ssp. *oleifera* L.) çeşitlerinde fosforlu gübrelemenin verim ve verim öğeleri üzerine etkisi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, **14(3)**, 259-266.

[14] **McNeill, G. P.,** 1998. Enzymic Processes, in *Lipid Synthesis and Manufacture*, p. 288-320, Ed. Gunstone, F., Sheffield Academic Press, Boca Raton.

[15] **Watkins, S. M. and German, J. B.,** 2007. Unsaturated Fatty Acids, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* p. 507-538, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., CRC Press, New York.

[16] **Patterson, H. B. W.,** 1989. Handling and Storage of Oilseeds, Oils, Fats and Meal, Elsevier Applied Science, London.

[17] **İşler, A.**, 2007. Kanola Yağı Etil Esterleri ve e-dizel, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[18] **Salunkhe, D. K., Chavan, J. K., Adsuler, N. and Kadam, S. S.,** 1992. World Oilseeds: Chemistry, Technology and Utilization, Van Nostrand Reinford, New York.

[19] **Daun, J. K. and McGregor, D. I.,** 1991. Glucosinolates in Seeds and Residues, in *Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods*, p. 185-225, Eds. Rossell, J. B. and Pritchard, J. L. R., Elsevier Applied Science, London.

[20] **Odabaşı, S. and Taşkaya, B.,** 2004. Kolza (kanola), *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü TEAE Bakış*, **7(11)**, 1-4.

[21] **O'Brien, R. D.,** 2004. Fats and Oils Formulating and Processing for Applications, CRC Press, New York.

[22] **Gunstone, F. D. and Harwood, J. L.,** 2007. Occurence and Characterisation of Oils and Fats, in *The Lipid Handbook*, p. 37-141, Eds. Gunstone, F. D., Harwood, J. L. and Dijkstra, A. J., CRC Press, New York.

[23] **Sobutay, T.,** 2004. Kanola Sektör Araştırması, İstanbul Ticaret Odası Dış Ticaret Şubesi Araştırma Servisi, İstanbul.

[24] **Kemble, R. J., Armavil, V., Tulsieram, L., Baszczynski, C., Sys, B., Charne, D., Patel, J., Gillespie, B. and Grant, I.,** 1992. The Use of RFLP In The Development of Specialty Oil Canolas, in *Seed Oils For The Future*, p. 136-142, Eds. MacKenzie, S. L. and Taylor, D. C., AOCS Press, Champaign.

[25] **Eskin, N. A. M. and Tamir, S.,** 2006. Dictionary of Nutraceuticals and Functional Foods, CRC Press, New York.

[26] **Cunnane, S. C.,** 2003. α-Linolenic Acid in Brain Function and Infant Development, in *Flaxseed in Human Nutrition*, Eds. Thompson, U. L. and Cunnane, S. C., AOCS Press, Champaign.

[27] **Djoussé, L.,** 2008. Biological Effects of Alpha-Linolenic Acid, in *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, p. 813-819, Ed. Chow, C. K., CRC Press, New York.

[28] **Przybylski, R., Mag, T., Eskin, N. and McDonald, B. E.,** 2005. Canola Oil, in *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, p. 61-121, Ed. Shahidi, F., John Wiley and Sons Inc., New York.

[29] **Przybylski, R.,** 2006. Cereal Grain Oils, in *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, p. 57-69, Ed. Shahidi, F., CRC Press, New York.

[30] **Gunstone, F. D., Alander, J., Erhan, S. Z., Sharma, B. K., McKeon, T. A. and Lin, J. T.,** 2007. Nonfood Uses of Oils and Fats, in *The Lipid Handbook*, p. 591-635, Eds. Gunstone, F. D., Harwood, J. L. and Dijkstra, A. J., CRC Press, New York.

[31] **Reicherd, R. D.,** 2006. Oilseed Medicinals: Applications in Drugs and Functional Foods, in *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, p. 543-553, Ed. Shahidi, F., CRC Press, New York.

[32] **Rossell, J. B.,** 1991. Vegetable Oils and Fats, in *Analysis of Oilseeds, Fats and Fatty Foods*, p. 261-327, Eds. Rossell, J. B. and Pritchard, J. L. R., Elsevier Applied Science, London.

[33] **Gunstone, F.,** 2006. Vegetable Sources of Lipids, in *Modifying Lipids For Use in Food*, p. 11-27, Ed. Gunstone, F., CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

[34] **United States Departmant of Agriculture,** 2009. Oilseeds: World Market and Trade, Circular Series, FOP 2-09.

[35] **Çelik, H. and Kaynak, M. A.,** 2007. Kolza (*Brassica napus* L.) çeşitlerinde ekim zamanlarının verim ve verim unsurları üzerine etkisi, *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **4(1)**, 69-76.

[36] **Lee, J. H. and Lee, K. T.,** 2006. Structured Lipids Production, in *Handbook of Functional Lipids*, p. 489-507, Ed. Akoh, C., CRC Press, New York.

[37] **McKeon, T. A.,** 2005. Genetic Modification of Seed Oils For Industrial Applications, in *Industrial Uses of Vegetable Oils*, p. 1-13, Ed. Erhan, S. Z., AOCS Press, Champaign.

[38] **Bornscheuer, U. T., Adamczak, M. and Saumanou, M. M.,** 2003. Lipase-Catalyzed Synthesis of Modified Lipids, in *Lipids For Functional Foods and Nutraceuticals*, p. 149-182, Ed. Gunstone, F. D., Oily Press, Bridgewater.

[39] **Eldin, A. K.,** 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **58**, 1051-1061.

[40] **Sakurai, H. and Pokorn´y, J.,** 2003. The development and application of novel vegetable oils trailor-made for spesific human dietary needs, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **105**, 769-778.

[41] **Gillatt, P.,** 2001. Flavour and Aroma Development in Frying and Fried Food, in *Frying: Improving Quality*, Ed. Rossell, J. B., CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

[42] **Bank, D. E. and Lusas, E. W.,** 2001. Oils and Industrial Frying, in *Snack Foods Processing*, Eds. Rooney, L. W. and Lusas, E. W., CRC Press, New York.

[43] **Dube´, M., Ataya, A. and Ternan, M.,** 2007. Acid-catalyzed transesterification of canola oil to biodiesel under single and two phase reaction conditions, *Enegy & Fuels*, **21**, 2450-2459.

[44] **Öztürk, M. G. and Bilen, K.,** 2009. Kanola yağı metil esteri ve karışımlarının dizel motoru performansına etkisinin deneysel incelenmesi,

International Journal of Engineering Research and Development, **1(1)**, 35-41.

[45] **Hekim, K., Kırıkbakan, A. and Şen, A.,** 2004. Sıçan antioksidan enzimlerin ve glutatyon s-transferazların *Momordica charantia* L. meyve özütleri ile değişimi, *Turkish Journal of Biochemistry*, **29(1)**, 38.

[46] **Akihisa, T., Naoki, H., Tokuda, H., Ukiya, M., Akazawa, H., Tochigi, Y., Kimura, Y., Suzuki, T. and Nishino, H.,** 2007. Cucurbitane-type triterpenoids from the fruits of *Momordica charantia* L. and their cancer chemopreventive effects, *Journal of Natural Products*, **70**, 1233-1239.

[47] **Mahomoodally, M. F., Fakim, A. G. and Subratty, A. H.,** 2004. Experimental evidence for in vitro fluid transport in the presence of a traditional medicinal fruit extract across rat everted intestinal sacs, *Fundamental & Clinical Pharmacology*, **19**, 87-92.

[48] **Gürbüz, İ., Akyüz, Ç., Yeşilada, E. and Şener, B.,** 2000. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **71**, 77-82.

[49] **Khattak, M. K., Bibi, N., Khattak, A. B. and Chaudry, M. A.,** 2005. Effect of irradiation on microbial safety and nutritional quality of minimally processed bitter gourd (*Momordica charantia* L.), *Journal of Food Science*, **70(5)**, 255-259.

[50] **Taylor, L.,** 2002. Technical Data Report For Bitter Melon (*Momordica charantia* L.), p. 1-4, Sage Press, Austin.

[51] **Dengiz, G. Ö. and Gürsan, N.,** 2005. Effects of *Momordica charantia* L. (*Cucurbitacea*) on indomethacin-induced ulcer model in rats, *Turkish Journal of Gastroenterology*, **16(2)**, 85-88.

[52] **Thompson, A. K.,** 2003. Postharvest Technology of Fruit and Vegetables, in *Fruit and Vegetables: Harvesting, Handling, and Storage*, p. 168-169, Blackwell Publishing, Oxford and Iowa State Press, Iowa.

[53] **Rangahau, M. K.,** 2002. Balsam pear, *Crop & Food Research*, **102**, 1-2.

[54] **Url-2,** <*http://www.life-enthusiast.com*>, 20.04.2009.

[55] **Yuwai, K. E., Rao, K. S., Kaluwin J. P., Jones, G. P. and Rivetts, D. E.,** 1991. Chemical composition of *Momordica charantia* L. fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **39(10)**, 1762-1763.

[56] **Cho, S. S.,** 1999. Appendix II: Total Carbonhydrates and Total Dietary Fiber Content in Grain-Based Foods, in *Complex Carbonhydrates in Foods*, Marcel Dekker, Inc., USA.

[57] **Nyam, K. L., Tan, C. P., Lai, O. M., Long, K. and Che Man, Y. B.,** 2009. Physicochemical properties and bioactive compounds of selected seed oils, *Food Science and Technology*, pp. 1-8.

[58] **Özgül-Yücel, S.,** 2005. Determination of conjugated linolenic acid content of selected oil seeds grown in Turkey, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **82(12)**, 893-897.

[59] **Li, T. S. C.,** 2008. Vegetables and Fruits: Nutritional and Theraupeutic Values, CRC Press, New York.

[60] **Jayapalan, M. and Sushama, N. P.,** 2001. Constraints in the cultivation of bitter gourd (*Momordica charantia* L.), *Journal of Tropical Agriculture*, **39**, 91.

[61] **Donya, A., Hettiarachchy, N., Liyanage, R., Lay, J., Chne, P. and Jalaluddin, M.,** 2007. Effects of processing methods on the proximate composition and momordicosides K and L content of bitter melon vegetable, *Journal of Agricultural and Food* Chemistry, **55**, 5827-5833.

[62] **Url-3,** < *http://www.bittermelon.org*>, 15.04.2009.

[63] **Rathi, S. S., Grover, J. K., Vikrant, V. and Biswas, N. R.,** 2002. Prevention of experimental diabetic cataract by Indian ayurvedic plant extracts, *Phytotheraphy Research*, **16**, 774-777.

[64] **Roffey, B. W. C., Atwal, A. S., Johns, T. and Kubowa, S.,** 2007. Water extracts from *Momordica* charantia L. increase glucose uptake and adiponectin secretion in 3T3-L1 adipose cells, *Journal of Ethnopharmacology,* **112**, 77-84.

[65] **Ching, L. S. and Mohamed, S.,** 2001. Alpha-tocopherol content in 62 edible tropical plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 3101-3105.

[66] **Şimşek, I., Aytekin, F., Yeşilada, E. and Yıldırımlı, Ş.,** 2002. Anadolu'da Halk Arasında Bitkilerin Kullanış Amaçları Üzerine Etnobotanik Bir Çalışma, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı,Bildiriler*, Eds. Başer, K. H. C. and Kırımer, N., Eskişehir, Türkiye, 29-31 Mayıs.

[67] **Raghavan, S.,** 2007. Handbook of Spices, Seasonings and Flavourings, CRC Press, New York.

[68] **Jayasooriya, A. P., Sakono, M., Yukizaki, C., Kawano, M., Yamamoto, K. and Fukuda, N.,** 2000. Effects of *Momordica charantia* L. powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets, *Journal of Ethnopharmacology*, **72**, 331-336.

[69] **Şahin, G.,** 2007. Türkiye'den Toplanan Bazı *Paeonia* Türlerinin Antibakteriyel Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

[70] **Vermani, K. and Garg, S.,** 2002. Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS, *Journal of Ethnopharmacology*, **80**, 49-66.

[71] **Kültür, Ş.,** 2007. Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey), *Journal of Ethnopharmacology*, **111**, 341-364.

[72] **Grover, J. K. and Yadav, S. P.,** 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia* L.: A review, *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 123-132.

[73] **El Satar El Batran, S. A., El-Gengaihi, S. E. and El Shabrawy, O. A.,** 2006. Some toxicological studies of *Momordica charantia* L. on albino rats

in normal and alloxan diabetic rats, *Journal of Ethnopharmacology*, **108**, 236-242.

[74] **Kaushik, G., Satya, S., Khandelwal, K. R. and Naik, S. N.,** 2008. Commonly consumed Indian plant food materials in the management of diabetes mellitus, *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.*

[75] **Shetty, A. K., Kumar, G. S. and Salimath, P. V.,** 2005. Bitter gourd (*Momordica charantia* L.) modulates activities of intestinal and renal disaccharidases in streptozotocin-induced diabetic rats, *Molecular Nutrition & Food Research*, **49**, 791-796.

[76] **Semiz, A. and Şen, A.,** 2007. Antioxidant and chemoprotective properties of *Momordica charantia* L. (Bitter melon) fruit extract, *African Journal of Biotechnology*, **6(3)**, 273-277.

[77] **Kubola, J. and Siriamornpun, S.,** 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro, *Food Chemistry*, **110**, 881-890.

[78] **Moon, J. K. and Shibamoto, T.,** 2009. Antioxidant assays for plant and food components, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 1655-1666.

[79] **Uzun, E., Sarıyar, G., Adsersen, A., Karakoç, B., Öztürk, G., Oktayoğlu, E. and Pırıldar, S.,** 2004. Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species, *Journal of Ethnopharmacology*, **95**, 287-296.

[80] **Asres, K., Seyoum, A., Veeresham, C., Bucar, F. and Gibbons, S.,** 2005. Naturally derived anti-HIV agents, *Phytotheraphy Research*, **19**, 557-581.

[81] **Braca, A., Siciliano, T., D'Arrigo, M. and Germanò, M. P.,** 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* L. seed essential oil, *Fitoterapia*, **79**, 123-125.

[82] **Narayan, B., Hosokawa, M. and Miyashita, K.,** 2006. Occurrence of Conjugated Fatty Acids in Aquatic and Terrestrial Plants and Their Physiological Effects, in *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, p. 201-213, Ed. Shahidi, F., CRC Press, New York.

[83] **Cao, Y., Yang, L., Gao, H. L., Chen, J. N., Chen, Z. Y. and Ren, Q. S.,** 2007. Re-characterization of three conjugated linolenic acid isomers by GC–MS and NMR, *Chemistry and Physics of Lipids*, **145**, 128-133.

[84] **Chen, J., Cao, Y., Gao, H., Yang, L. and Chen, Z. Y.,** 2007. Isomerization of conjugated linolenic acids during methylation, *Chemistry and Physics of Lipids*, **150**, 136-142.

[85] **Cao, Y., Gao, H. L., Chen, J. N., Chen, Z. Y. and Yang, L.,** 2006. Identification and characterization of conjugated linolenic acid isomers by Ag+-HPLC and NMR, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 9004-9009.

[86] **Sassano, G., Sanderson, P., Franx, J., Groot, P., Straalen, J. and Bassaganya-Riera, J.,** 2009. Analysis of pomegranate seed oil for the

presence of jacaric acid, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **89**, 1046-1052.

[87] **Gunstone, F. D.,** 1999. Fatty Acid and Lipid Chemistry, Gaithersburg, Maryland, Aspen.

[88] **Cunnane, S. C.,** 2003. Dietary Sources and Metabolism of α-Linolenic Acid, in *Flaxseed in Human Nutrition*, Eds. Thompson, U. L. and Cunnane, S. C., AOCS Press, Champaign.

[89] **Tsuzuki, T., Tokuyama, Y., Igarashi, M. and Miyazawa, T.,** 2004. Tumor growth suppression by α-eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, via lipid peroxidation, *Carcinogenesis*, **25(8)**, 1417-1425.

[90] **Yasui, Y., Hosokawa, M., Sahara, T., Suzuki, R., Ohgiya, S., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K.,** 2005. Bitter gourd seed fatty acid rich in 9c,11t,13t-conjugated linolenic acid induces apoptosis and up-regulates the GADD45, p53 and PPARg in human colon cancer Caco-2 cells, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, **73**, 113-119.

[91] **Scrimgeour, C. M. and Harwood J. L.,** 2007. Fatty Acid and Lipid Structure, in *The Lipid Handbook*, p. 1-36, Eds. Gunstone, F. D., Harwood, J. L. and Dijkstra, A. J., CRC Press, New York.

[92] **Cahoon, E. B., Dietrich, C. R., Meyer, K., Damude, H. G., Dyer, J. M. and Kinney, A. J.,** 2006. Conjugated fatty acids accumulate to high levels in phospholipids of metabolically engineered soybean and arabidopsis seeds, *Phytochemistry*, **67**, 1166-1176.

[93] **Dyer, J. M., Chapital, D. C., Kuan, J. C. W., Mullen, R. T., Turner, C., McKeon, T. A. and Pepperman, A. B.,** 2002. Molecular analysis of a bifunctional fatty acid conjugase/desaturase from tung. Implications for the evolution of plant fatty acid diversity, *Plant Physiology*, **130**, 2027-2038.

[94] **Reed, D. W., Savile, C. K., Qiu, X., Buist, P. H. and Covello, P. S.,** 2002. Mechanism of 1,4-dehydrogenation catalyzed by a fatty acid (1,4)-desaturase of *Calendula officinalis* L., *European Journal of Biochemistry*, **269**, 5024-5029.

[95] **Cahoon, E. B., Carlson, T. J., Ripp, K. G., Schweiger, B. J., Cook, G. A., Hall, S. E. and Kinney, A. J.,** 1999. Biosynthetic origin of conjugated double bonds: Production of fatty acid components of high-value drying oils in transgenic soybean embryos, *Plant Biology*, **96(22)**, 12935–12940.

[96] **Hontecillas, R., Diguardo, M., Duran, E., Orpi, M. and Bassaganya-Riera, J.,** 2008. Catalpic acid decreases abdominal fat deposition, improves glucose homeostasis and upregulates PPAR α expression in adipose tissue, *Clinical Nutrition*, **27**, 74-772.

[97] **Endo, Y., Park, S. B. and Fujimoto, K.,** 2006. Marine Conjugated Polyunsaturated Fatty Acids, in *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, p. 219-224, Ed. Shahidi, F., CRC Press, New York.

[98] **Nagao, K. and Yanagita, T.,** 2005. Conjugated fatty acids in food and their health benefits, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **100(2)**, 152-157.

[99] **Huang, Y. S., Yanagita, T., Nagao, K. and Koba, K.,** 2008. Biological Effects of Conjugated Linoleic Acid, in *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, p. 825-831, Ed. Chow, C. K., CRC Press, London, New York.

[100] **Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T.,** 2004. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats, *Cancer Science*, **95(6)**, 481-486.

[101] **Nagao, K. and Yanagita, T.,** 2008. Bioactive lipids in metabolic syndrome, *Progress in Lipid Research*, **47**, 127-146.

[102] **Başoğlu, F.,** 2006. Yemeklik Yağ Teknolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

[103] **Akoh, C. C.,** 2005. Structured and Specialty Lipids, in *Healthful Lipids*, Eds. Akoh, C. C. and Lai, O. M., AOCS Press, Champaign.

[104] **Høy, C. E. and Xu, X.,** 2001. Structured Triacylgliserols, in *Structured and Modified Lipids*, p. 209-239, Eds. Gunstone, F. D., Marcel Dekker, Inc., New York.

[105] **Akoh, C. C.,** 2002. Structured Lipids, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology*, p. 877-908, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., CRC Press, New York.

[106] **Lee, J. H. and Lee, K. T.,** 2006. Structured Lipids Production, in *Handbook of Functional Lipids*, p. 490-507, Ed. Akoh, C. C., CRC Press, New York.

[107] **Akoh, C. C., Lee, K. T. and Fomuso, L. B.,** 1998. Synthesis of Positional Isomers of Structured Lipids with Lipases as Biocatalysts, in *Structural Modified Food Fats: Synthesis, Biochemistry and Use*, p. 46-72, Ed. Christophe, A. B., AOCS Press, Champaign.

[108] **Şeleci, D.,** 2007. Zeytinyağından Konjuge Linoleik Asit ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi ve Optimizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[109] **Can, A.,** 2004. Lipaz Enzimi Kullanılarak Fındık Yağının Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Omega-3 Yağ Asitlerince Zenginleştirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[110] **Rousseau, D. and Marangoni, A. G.,** 2002. The Effects of Interesterification on the Physical Properties of Fats, in *Physical Properties of Lipids*, p. 479-564, Eds. Marangoni, A. B. and Narine, S. S., Marcel Dekker, Inc., New York.

[111] **Xu, X., Guo, Z., Zhang, H., Vikbjerg, A. F. and Damstrup, M. L.,** 2006. Chemical and enzymatic interesterification of lipids for use in food,, in *Modifying Lipids For Use in Food*, p. 234-272, Ed. Gunstone, F., CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

[112] **Willis, W. M. and Marangoni, A. G.,** 2002. Enzymatic Interesterification, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* p. 839-875, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., CRC Press, New York.

[113] **Gunstone, F. D.,** 2001. Procedures Used for Lipid Modification, in Structured and Modified Lipids, p. 11-36, Ed. Gunstone, F. D., Marcel Dekker, Inc., New York.

[114] **Walsh, K. W.,** 2007. Immobilized Enzyme Technology for Food Applications, in *Novel Enzyme Technology for Food Applications*, p. 60-85, Ed. Rastall, R., CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

[115] **Gunstone, F. D.,** 2004. Chemical Properties Related to The Carboxyl Group, in *The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties, and Uses*, p. 189-210, CRC Press, Blackwell Publishing, Oxford.

[116] **Stołyhwo, A.,** 2007. Lipid and Food Quality, in *Chemical and Functional Properties of Food Components*, p. 177-206, Ed. Sikorski, Z. E., CRC Press, New York.

[117] **Knothe, G., Kenar, J. A. and Gunstone, F. D.,** 2007. Chemical Properties, in *The Lipid Handbook*, p. 535-589, Eds. Gunstone, F. D., Harwood, J. L. and Dijkstra, A. J., CRC Press, New York.

[118] **Marchetti, J. M., Miguel, V. U. and Errazu, A. F.,** 2007. Possible methods for biodiesel production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **11**, 1300-1311.

[119] **O'Shea, M., Gerritsen, J. and Mohede, I.,** 2006. Clinical Benefits of a Structured Lipid (Betapol^{TM}) in Infant Formula, in *Handbook of Functional Lipids*, p. 261-277, Ed. Akoh, C., CRC Press, New York.

[120] **Xu, X.,** 2004. Biocatalysis for Lipid Modifications, in *Nutritionally Enhanced Edible Oil and Oilseed Processing*, Eds. Dunford, N. T. and Dunford, H. B., AOCS Press, Champaign.

[121] **Weber, N. and Mukherjee, K. D.,** 2007. Lipid Biotechnology, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* p. 708-748, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., CRC Press, New York.

[122] **Shahidi, F. and Senanayake, S. P. J. N.,** 2006. Nutraceutical and Specialty Lipids, in *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, p. 2-22, Ed. Shahidi, F., CRC Press, New York.

[123] **Bednarski, W. and Adamczak, M.,** 2003. Modified Lipids and Fat Mimetics, in *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, Eds. Sikorski, Z. E. and Kolakowska, A., CRC Press, New York.

[124] **Akoh, C. C., Sellappan, S., Fomuso, L. B. and Yankah, V. V.,** 2002. Enzymatic Synthesis of Structured Lipids, in *Lipid Biotechnology*, p. 433-460, Eds. Kuo, T. M. and Gardner, H., Marcel Dekker, New York.

[125] **Mu, H. and Porsgaard, T.,** 2005. The metabolism of structured triacylglycerols, *Progress in Lipid Research*, **44**, 430-448.

[126] **Piazza, G. J. and Foglia, T. A.,** 2007. Lipase-Catalyzed Harvesting and/or Enrichment of Industrially and Nutritionally Important Fatty Acids, in *Novel Enzyme Technology for Food Applications*, p. 285-313, Ed. Rastall, R., CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

[127] **Ramamurthi, S. and McCurdy, A. R.,** 1995. Interestrification-Current Status and Future Prospects, in *Development and Processing of Vegetable Oils for Human Nutrition*, Eds. Przybylski, R. and McDonald, B. E., AOCS Press, Champaign.

[128] **Diks, R. M. M. and Bosley, J. A.,** 2000. The Exploitation of Lipase Selectivities for The Production of Acylgliserols, in *Enzymes in Lipid Modification*, p. 3-22, Ed. Bornscheuer, U. T., New York: Wiley-VCH, Weinheim.

[129] **Rousseau, D. and Marangoni, A. G.,** 2007. Chemical Interesterification of Food Lipids: Theory and Practice, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* p. 268-287, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., CRC Press, New York.

[130] **Osório, N. M., Dubreucq, E., Fonseca, M. M. R. and Ferreira-Dias, S.,** 2009. Lipase/acyltransferase-catalysed interesterification of fat blends containing n-3 polyunsaturated fatty acids, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **111**, 120-134.

[131] **Weete, J. D., Lai, O. M. and Akoh, C. C.,** 2007. Microbial Lipases, in *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology,* p. 767-794, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., CRC Press, New York.

[132] **Wong, D. W. S.,** 2003. Lipases, in *Handbook of Food Enzymology*, Eds. Whitaker, R. J., Voragen, A. G. J. and Wong, D. W. S., Marcel Dekker, Inc., New York.

[133] **Shimada, Y.,** 2006. Enzymatic Modification of Lipids for Functional Foods and Nutraceuticals, in *Handbook of Functional Lipids*, p. 437-452, Ed. Akoh, C., CRC Press, New York.

[134] **Akova, A. and Üstün, G.,** 2002. Boraj yağının enzimatik hidrolizi ile gamma-linolenik asit zenginleştirilmesi, *İ.T.Ü. Dergisi/d*, **1(1)**.

[135] **Pleiss, J.,** 2000. Molecular Basis of Specificity and Stereoselectivity of Microbial Lipases Toward Triacylgliserols, in *Enzymes in Lipid Modification*, p. 85-99, Ed. Bornscheuer, U. T., New York: Wiley-VCH, Weinheim.

[136] **Uhlig, H.,** 1998. Industrial Enzymes and Their Applications, John Wiley, New York.

[137] **Godtfredsen, S. E.,** 1990. Microbial Lipases, in *Microbial Enzymes and Biotechnology*, p. 255-274, Eds. Fogarty, F. M. and Kelly, C. T., Elsevier Applied Science, London.

[138] **Kılara, A. and Desai, M.,** 2002. Enzymes, in *Food Additives*, Eds. Branen, A. L., Davidson, P. M., Salminen, S. and Thoengate, J. H., Marcel Dekker, Inc., New York.

[139] **Gunstone, F. D.,** 2006. Modified Lipids, in *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, p. 313-325, Ed. Shahidi, F., CRC Press, New York.

[140] **Paeza, B. C., Medina, A. R., Rubio, F. C., Moreno, G. and Grima, E. M.,** 2002. Production of structured triglycerides rich in n-3 polyunsaturated fatty acids by the acidolysis of cod liver oil and caprylic acid in a packed-bed reactor: Equilibrium and kinetics, *Chemical Engineering Science*, **57**, 1237-1249.

[141] **Yamane, T.,** 2000. Lipase-Catalyzed Synthesis of Structured Triacylglyserols Containing Polyunsaturated Fatty Acids: Monitoring the Reaction and Increasing the Yield, in *Enzymes in Lipid Modification*, p. 148-169, Ed. Bornscheuer, U. T., New York: Wiley-VCH, Weinheim.

[142] **Gılmaz, E. E.,** 2002. Mısır Asidik Yağının Enzimatik Esterleşmesi ile Yağ Asidi Esterlerinin Üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[143] **Greyt, W. D. and Huyghebaert, A.,** 1998. Chemical and Physicochemical Modification of Lipids, in *Structural Modified Food Fats: Synthesis, Biochemistry and Use*, p. 1-17, Ed. Christophe, A. B., AOCS Press, Champaign.

[144] **Dijkstra, A. J.,** 2007. Modification Processes and Food Uses, in *The Lipid Handbook*, p. 263-353, Eds. Gunstone, F. D., Harwood, J. L. and Dijkstra, A. J., CRC Press, New York.

[145] **Demiröz, E.,** 2007. Kanola Yağı Esaslı Yapılandırılmış Yağ Üretimi, *Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, İstanbul.

[146] **Goli, S. A. H., Kadiyar, M., Keramat, J. and Fazilati, M.,** 2008. Conjugated linoleic acid (CLA) production and lipase catalyzed interesterification of purified CLA with canola oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **110**, 400-404.

[147] **Hamam, F. and Shahidi, F.,** 2006. Synthesis of structured lipids containing medium-chain and omega-3 fatty acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 4390-4396.

[148] **Chopra, R., Reddy, S. R. Y. and Sambaiah, K.,** 2008. Structured lipids from rice bran oil and stearic acid using immobilized lipase from *Rhizomucor miehei* L., *European Journal of Lipid Science and Technology*, **110**, 32-39.

[149] **Bektaş, İ., Yücel, S., Üstün, G. and Aksoy, H. A.,** 2008. Production of reduced calorie structured lipid by acidolysis of tripalmitin with capric acid: Optimisation by Response Surface Methodology, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **88**, 1927-1933.

[150] **Adhikari, P., Shin, J. A., Lee, J. H., Hu, J. N., Hwang, K. T. and Lee, K. T.,** 2009. Enzymatic production of trans-free hard fat stock from

fractionated rice bran oil, fully hydrogenated soybean oil, and conjugated linoleic acid, *Journal of Food Science*, **74(2)**, 87-96.

[151] **Carrín, M. E. and Crapiste, G. H.,** 2008. Enzymatic acidolysis of sunflower oil with a palmitic–stearic acid mixture, *Journal of Food Engineering*, **84**, 243-249.

[152] **Senanayake, S. P. J. N. and Shahidi, F.,** 2006. Enzymatic acidolysis of evening primrose oil with docosahexaenoic acid using Response Surface Methodology, *Journal of Food Lipids*, **13**, 235-250.

[153] **Yeşilçubuk, N. and Karaali, A.,** 2008. Gamma-linolenik asit ile zenginleştirilmiş anne sütü yağına benzer yapılandırılmış yağların üretimi, *İ.T.Ü Dergisi/d*, **7(4)**, 60-71.

[154] **Çiftçi, O. N., Fadıloğlu, S. and Göğüş, F.,** 2009. Conversion of olive pomace oil to cocoa butter-like fat in a packed-bed enzyme reactor, *Bioresource Technology*, **100**, 324-329.

[155] **Tzia, C.,** 2003. Optimization, in *Extraction Optimization in Food Engineering*, Eds. Tzia, C. and Liadakis, G., Marcel Dekker, Inc., New York.

[156] **Xu, X.,** 2003. Engineering of enzymatic reactions and reactors for lipid modification and synthesis, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **105**, 289-304.

[157] **Myers, R. H. and Montgomery, D. C.,** 2002. Response Surface Methodology Process and Product Optimization Using Designed Experiments, John Wiley & Sons, Inc., New York.

[158] **Neter, J., Wassermann, W. and Whitemore, G. A.,** 1999. Applied Statistics, Allyn and Bacon, New York.

[159] **Chopra, R., Rastogi, N. K. and Sambaih, K.,** 2009. Enrichment of rice bran oil with α-linolenic acid by enzymatic acidolysis: Optimization of parameters by Response Surface Methodology, *Food and Bioprocess Technology*.

[160] **Cornell, J. A.,** 1990. How To Apply Response Surface Methodology, Quality Press, Wisconsin,USA.

[161] **Nakai, S., Li-Chan, E. C. Y. and Dou, J.,** 2006. Experimental Design and Response-Surface Methodology, in Handbook of Food and Bioprocess Modeling Techniques, p. 294-317, Eds. Sablani, S., Rahman, M. S., Datta, A. K. and Mujumdar, A. S., CRC Press, New York.

[162] **Low, C. T., Mohamad, R., Tan, C. P., Ling, K., Ismail, R., Lo, S. K. and Lai, O. M.,** 2007. Lipase-catalyzed production of medium-chain triacylglycerols from palm kernel oil distillate: Optimization using Response Surface Methodology, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **109**, 107-119.

[163] **Meilgaard, M., Civille, G. V. and Carr, B. T.,** 1999. Sensory Evaluation Techniques, CRC Press, New York.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Begüm Elibal

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul, 29.05.1984

Adres: Yalı Yolu Sok. Site Kaya F Blok D: 345 Bostancı/İstanbul

Lisans Üniversite: Uludağ Üniversitesi