



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİSEL YAĞ DEODORİZE DİSTİLATINDAKİ E VİTAMİNİNİN KARAKTERİZASYONU VE YARI-PREPARATİF HPLC İLE GERİ KAZANIMI

Huriye ÇAKIR TAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Haziran-2019

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİSEL YAĞ DEODORİZE DİSTİLATINDAKİ E VİTAMİNİNİN KARAKTERİZASYONU VE YARI-PREPARATİF HPLC İLE GERİ KAZANIMI

Huriye ÇAKIR TAŞ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr.Hüseyin KARA

2019, 72 Sayfa

Jüri

Prof.Dr. Hüseyin KARA

Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA

Dr. Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ

Bu tez çalışmasında; yarı-preparatif HPLC tekniği kullanılarak, herhangi bir ön işleme tabii tutulmayan deodorize distilatında bulunan tokoferol ve tokotrienoller ayrılmaya ve GC-MS sistemi ile bu maddeler karakterize edilmeye çalışılmıştır.

Tokol tayini baz alarak gerçekleştirilen deneyler; ilk aşama deodorize distilatlardaki tokoferol ve tokotrienol varlığını belirlemek ve birbirinden ayırtetmek için analitik HPLC ile optimizasyon çalışmaları, ikinci aşama belirlenen tokoferol ve tokotrienol fraksiyonlarını toplamak için yarı preparatif HPLC analizleri ve son aşama da toplanan bu fraksiyonları karakterize etmek için gaz kromatografisi kütle spektroskopi (GC-MS) analizleri olmak üzere 3 aşama da gerçekleştirilmiştir.

Analizler; Agilent 1200 yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-FLD-DAD) ve Agilent 7890N-5975C gaz kromatografisi kütle spektroskopi (GC-MS) cihazları ile gerçekleştirilmiş olup, deneylerde Reprosil-Pur 120 CN, sabit fazı Silicycle CN 120 A 10 µm olan laboratuvarda hazırlanan kolon ve HP-5MS (30 m x 0.25 mm; 0.25 µm) kolonları kullanılmıştır.

Deneylerden elde edilen sonuçlardan, mısır yağı deodorize distilatında yapılan incelemede sabunlaştırma işlemi yapmadan %1,54 α-tok, %0,21 β ve ɣ tok, %0,13 δ-tok olmak üzere %1,88 toplam tokoferol içerdiği görülmüştür. Yarı-preparatif HPLC tekniği ile toplanan 6 fraksiyon içerikleri GC-MS ile analiz edildiğinde, Frk-1 ve Frk-2 çeşitli yağ asitleri ve esterlerini, Frk-3 α-tok ve α-tokotrienol, Frk-4 β-tok ve δ- tok, Frk-5 β ve δ tokotrienol ve Frk-6 ise δ-tok ve sterol çeşitleri içerdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deodorizasyon, deodorize distilat, tokoferol, tokotrienol, yarı-preparatif HPLC

ABSTRACT

MS THESIS

CHARACTERIZATION OF VITAMIN E IN DEODORIZER DISTILLATE OF VEGETABLE OIL AND ITS RECOVERY BY SEMI-PREPARATIVE HPLC

Huriye ÇAKIR TAŞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY

THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

IN CHEMISTRY

Advisor: Prof.Dr. Hüseyin KARA

Year, 72 Pages

Jury

Prof.Dr. Hüseyin KARA

Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA

Dr. Öğr. Üy. Fatih DURMAZ

In this thesis study; using semi-preparative HPLC technique, tocopherol and tocotrienols in the deodorized distillate which were not subjected to any pretreatment, were separated and characterized by GC-MS system.

In experiments carried out based on the determination of tocol three stages were performed; the first stage is optimization analysis by analytical HPLC to determine the presence of tocopherol and tocotrienol in deodorized distillates, the second stage is semi-preparative HPLC analysis to collect the determined tocopherol and tocotrienol fractions, and the final stage is gas chromatography mass spectroscopy (GC-MS) analysis to characterize these fractions collected.

In this thesis; semi-preparative HPLC analysis was performed using Agilent 1200 high performance liquid chromatography (HPLC-FLD-DAD) and Agilent 7890N-5975C gas chromatography mass spectroscopy (GC-MS) devices.In addition, Reprosil-Pur 120 CN (250x4.6; 5µm), the stationary phase Silicycle CN 120 A 10 µm laboratory column and HP-5MS (30 m x 0.25 mm; 0.25 µm) columns were used in the experiments.

According to the results obtained from the experiments, corn oil deodorized distillate showed that 1.54% α-toc, 0.21% β and ɣ toc, and 0.13% δ-toc without to saponification, 1.88% total tocopherol. When the contents of 6 fractions collected by semi-preparative HPLC technique were analyzed by GC-MS, Frk-1 and Frk-2 are various fatty acids and esters, Frk-3 α-toc and α tocotrienol, Frk-4 β-toc and δ-toc, Frk-5 β and δ tocotrienol and Frk-6 δ-toc and sterol varieties were found to contain.

Keywords: Deodorization, deodorizer distillate, tocopherol, tocotrienol, semi-preparative HPLC

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Hüseyin KARA danışmanlığında tamamlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Sunulan bu çalışmada; yağ rafinasyonu deodorizasyon kademesinden yan ürün olarak elde edilen, içerisinde bulunan birçok biyoaktif bileşen nedeniyle değerli bir ürün olan, fakat şimdiye kadar etkili bir şekilde değerlendirilemeyen deodorize distilatlardaki tokoferol ve tokotrienollerin, klasik yöntemlere alternatif yarı-preparatif HPLC tekniği temelinde oluşturulacak yeni metot ve proseslerle geri kazanımı sağlanmıştır. Böylece katma değeri yüksek kozmetik, ilaç ve gıda sektöründe doğal nitelikli antioksidan ve vitamin olarak kullanılabilme yolları açılmış olacaktır.

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın konu seçiminden tez oluşumuna kadar her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, bilimsel çalışmaların yanısıra ahlaki değerleri kazanmanın daha önemli olduğunu hayatıma nakşettiren, her daim bir baba yakınlığını üzerimden eksik etmeyen kıymetli hocam Prof. Dr. Hüseyin KARA Beyefendi'ye tüm bu kazandırdıkları için saygı ve minnetlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerini benden asla esirgemeyen, edindiğim tüm laboratuvar birikimimde tamamiyle katkısı olan, sıkıntı ve sevinçlerimi paylaştığım, tanımış olmaktan onur duyduğum, "hocam" olma sıfatından önce bana "abla ve abi" olan saygıdeğer Doç. Dr. H. Filiz AYYILDIZ'a, Doç. Dr. Mustafa TOPKAFA'ya ve Dr. Öğr. Üy. Fatma Nur ARSLAN'a katkılarından dolayı ayrı ayrı teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar grubu arkadaşlarımdan Sayın hocam Arş. Gör. Dr. İsmail TARHAN, Polat KILIÇ, Saba NAZ' ve M. Raşit BAKIR'a da yardımlarından dolayı ayrıca teşekkür ederim.

Ayrıca; her daim yanımda olan, sıkıntı ve sevinçlerimi benimle paylaşan, desteklerini benden esirgemeyen ve gerektiği zamanlarda koşulsuz yardımıma koşan, kıymetli arkadaşlarım Zehra Özden ERDOĞAN, Mutahire TOK ve Sümeyra BÜYÜKÇELEBİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında maddi ve manevi yardımlarını hiç esirgemeyen, aile olmanın anlamını hissettiren canım kardeşlerim Tahsin, Ahmet Kürşat ve Fatma Nur ÇAKIR'a ayrıca teşekkür ederim.

Hayatımın ortasına aniden düşen, sadece çalışma grubu arkadaşlarımdan biriyken sonra birde hayat arkadaşım olan Aslan TAŞ'a hayatımda ki her adımda destekçim olduğu için ve biricik evladımız Ahmet Asım'a da yaşam sevincim olduğu için sonsuz sevgi ve minnetimi sunarım.

Canım annem ve babam… Tüm eğitim hayatım boyunca bana gösterdikleri fedakarlık ve verdikleri emeklerin karşılığı asla olamaz ama naçizane bu tezimi onlara atfediyorum.

Huriye ÇAKIR TAŞ

KONYA-2019

Madem geldik dünyaya

Çalışalım Analitik Kimya'ya... (H.KARA)

İÇİNDEKİLER

ÖZET **4**

ABSTRACT **5**

ÖNSÖZ **6**

İÇİNDEKİLER **8**

1. GİRİŞ **11**

1.1. Yağın Tanımı Ve Önemi 13

1.2. Yağın Kimyasal Kompozisyonu 14

1.3. E Vitamini 16

1.4. Yağların Sınıflandırılması 18

1.5. Yağların Rafinasyonu 20

1.5.1.Degumming (Gum Giderme) 23

1.5.2.Nötralizasyon (Asitlik Giderme) 24

1.5.3.Ağartma 25

1.5.4.Vinterizasyon 26

1.5.5.Deodorizasyon 27

1.6. Deodorize Distilatı 28

1.7. Yarı-Preparatif HPLC 29

1.8. Kolon Doldurma Prosesi 32

1.9. Kemometrik Tasarımla Optimizasyon 33

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **35**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **39**

3.1. Kullanılan Kimyasallar, Cihazlar ve Kolonlar 39

3.2. Standart Maddelerin ve Yağ Numunelerin Hazırlanması 40

3.3. Tokol (Tokoferol & Tokotrienol) Analizleri 41

3.3.1. Analitik HPLC Analizleri 41
3.3.1.1 Kemometrik Tasarımla Optimizasyon Deneyleri 41
3.3.1.2. Standart Tokol Analizleri 43
3.3.1.3. Deodorize Distilat Analizleri 43
3.3.2. Yarı Preparatif HPLC Analizleri 43
3.3.2.1.Optimizasyon Deneyleri 43
3.3.2.2. Standart Tokol Analizleri 44
3.3.2.3. Deodorize Distilatından Fraksiyon Toplanma İşlemi 44
3.3.3. GC-MS Analizleri 44
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 45
4.1. Tokol (Tokoferol & Tokotrienol) Analizleri 45
4.1.1. Analitik HPLC Analizleri 45
4.1.1.1. Kemometrik Tasarımla Optimizasyon Deneyleri 45
4.1.1.2. Standart Tokol Analizleri 49
4.1.1.3. Deodorize Distilat Analizleri 52
4.1.2. Yarı Preparatif HPLC Analizleri 55
4.1.2.1. Optimizasyon Deneyleri 55
4.1.2.2. Deodorize Distilatından Fraksiyon Toplanma İşlemi 59
4.1.3. GC-MS Analizleri 60
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 67
ÖZGEÇMİŞ 69
KAYNAKLAR 70

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- α: alfa
- β: beta
- γ: gama
- δ: delta
- ppm: per permit million (milyonda bir)
- µm: mikro metre
- nm: nanometre
- Rs: ayırma gücü

Kısaltmalar

- FFA: Serbest Yağ Asidi
- HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
- GC-MS: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
- FLD: Floresas Dedektör
- DAD: Diyod Array Dedektör
- Prep: Preparatif
- DD: Deodorize Distilat
- Tok: Tokoferol
- MeOH: Metanol
- HAc: Asetik Asit
- TEA: Tri Etil Amin
- Tokol: Tokoferol ve Tokotrienol
- T: Tokoferol
- T3: Tokotrienol
- Frk: Fraksiyon

1. GİRİŞ

Bitkisel katı ve sıvı yağlar; genellikle tüketilmeden önce çeşitli saflaştırma basamaklarını içeren bazı endüstriyel işlemlere tabi tutulurlar. Rafinasyon olarak isimlendirilen bu işlemler bütünü; ham yağda bulunan safsızlıkların, yağın tabii özelliğini bozmadan, yapısını değiştirmeden yağdan uzaklaştırılmasıyla, yağa tüketilebilir özellikler kazandırmak amacı ile uygulanmaktadır (Topkafa, 2013).

Yağlarda rafinasyon işlemi, kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki yöntemle yapılmaktadır. Kimyasal rafinasyonda; fosfopilidlerin giderilmesi (degumming), asitlik giderme (nötralizasyon), renk açma ve metalleri uzaklaştırma (ağartma), mumsu maddelerin uzaklaştırılması (kışlandırma-vinterizasyon) ve koku giderme (deodorizasyon) aşamaları yer alırken, fiziksel rafinasyonda; degumming, ağartma ve vinterizasyon basamaklarının ardından nötralizasyon ve deodorizasyon işlemleri yapılır (Dumont ve Narine, 2007).

Rafinasyonu oluşturan bu kademelerin hemen hemen hepsinde, özellikle de nötralizasyon ve deodorizasyon basamaklarında önemli miktarda yan ürünler (soapstock ve deodorize distilatlar) oluşmaktadır (Mendes ve ark., 2005). Soapstock; bitkisel ham yağların rafinasyonunda, serbest yağ asitlerinin kostik ile nötralizasyonu ve yıkama sonrasında ayrıştırılan yan ürün, deodorize distilatlar ise; yağ rafinasyonu deodorizasyon basamağından elde edilen ve nötr yağ dahil olmak üzere, serbest yağ asitleri, tokoferoller, steroller, skualen gibi birçok biyoaktif bileşiği bünyesinde taşıyan oldukça değerli ve karmaşık bir yan ürün olarak bilinmektedir (Ghosh ve Bhattacharyya, 1996; Iqbal ve ark., 2005; Verhé ve ark., 2006).

Rafinasyonun en önemli ve son basamağı olan deodorizasyon kademesi; yüksek sıcaklık (220-300°C) ve düşük basınçta (1-8 mm Hg) gerçekleştirilen bir destilasyon prosesidir. Bu proseste; yağa istenmeyen tat, asitlik, renk ve koku veren: serbest yağ asitleri, metilik esterler, mumsu maddeler, olefinik ve poliolefinik maddeler, aldehitler, ketonlar, peroksitler gibi birçok madde yağdan uzaklaştırılmaktadır (De Greyt ve ark., 1999). Bu maddeler yüksek sıcaklıklarda düşük buhar basıncına sahiptirler. Bu nedenle deodorizasyon kademesinde; yüksek sıcaklık ve düşük basınç altında çalışılarak bu

maddelerin buhar basınçlarını distile edilebilecekleri basınca yaklaştırılmaya çalışılır. Ayrıca; işlem sırasında yağa direk buhar gönderilerek, buharın sürükleyici etkisi ile bu maddelerin yağdan daha kolay uzaklaştırılmaları sağlanmaya çalışılır (Hrastar ve ark., 2011). Ancak yağın kalitesini etkileyen ve içinde bulunmasını istediğimiz bazı maddeler (tokoferol, squalen, sterol vb.) de yüksek sıcaklığa maruz kaldığı için yağdan uzaklaştırılmak istenen maddelerle birlikte uzaklaşarak distilata geçmektedir. Bu aşamada deodorize distilatlar bizim için önem kazanır.

Deodorizasyon prosesinin, yağda istenmeyen bu maddelerin uzaklaştırılmasındaki etkinliği; (i) uzaklaştırılması istenen bileşenlerin buhar basınçları, (ii) yağın buharla karışma derecesi, (iii) uygulama sırasındaki mutlak basınç, (iv) bileşiklerin buhar basınçlarını kontrol altında tutan sıcaklığın derecesi, (v) mutlak basınç ve sıcaklık arasındaki ilişkiyi dengeleyen deodorizasyon zamanı ve (vi) işlemde kullanılan deodorizere bağlı olarak değişmektedir (Zehnder ve McMichael, 1967). Bu nedenle; bir deodorizasyon prosesinden maksimum verim alabilmek, ancak belirtilen bu parametre değerlerinin optimizasyonuna yönelik iyileştirme çalışmalarının yapılması ile mümkündür.

Diğer sanayi sektörlerinde olduğu gibi, günümüz yağ sanayisinde de maliyet ve ürün kaybının en az olduğu üretim yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Fakat buna rağmen; yağ sanayi sektöründe yağın işlenmesi esnasında birçok aşamada önemli kayıp meydana gelmektedir. Rafinasyon prosesinin en önemli kayıplarından biri; deodorizasyon prosesi sırasında meydana gelen ve deodorize distilatı olarak isimlendirilen biyoaktif bileşenleri kaybıdır (Martins ve ark., 2006; Gunawan ve Ju, 2009; Akgün, 2011; El-Mallah ve ark., 2011; Yan ve ark., 2012). Deodorizasyon prosesinin iyileştirilmesi ile bir miktar azaltılabilecek bu kayıpların önüne tam olarak geçmek maalesef mümkün değildir. Bu sebeple; deodorizasyon basamağının yan ürünü olarak nitelendirilen deodorize distilatlarının etkin biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Rafine yağın %1'ini teşkil eden deodorize distilatlarda ~%11 gibi oldukça fazla miktarda bulunan tokoferol /tokotrienollerin geri kazanımı konusu, özellikle son on beş yılda araştırmacılar tarafından üzerinde oldukça durulan bir konu haline gelmiştir.

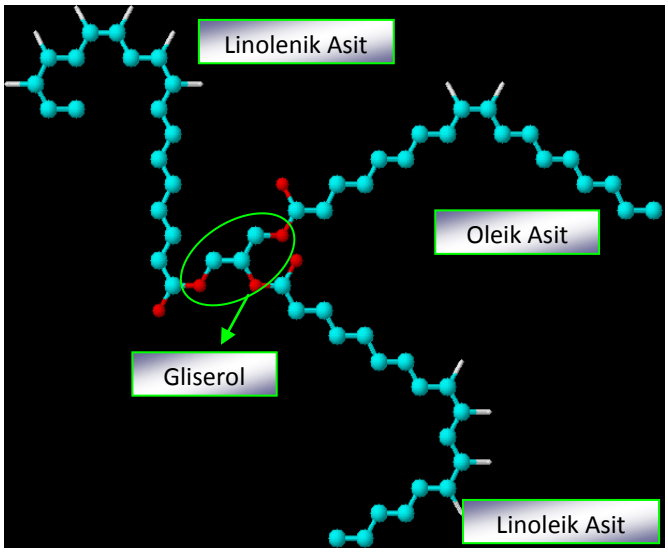
Tokollerin distilatlardan geri kazanımında sıklıkla uygulanan teknikler; moleküler distilasyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, ve enzimatik reaksiyon`dur.

1.1. Yağın Tanımı Ve Önemi

Yağlar, karbonhidratlar ve proteinler gibi insan vücudu için yaşamsal değeri olan ve insanların beslenmesinde önemli yer tutan temel ihtiyaç maddelerinden biridir. Özellikle doymuş yağ oranlarının düşük olması, hücre yapısı için gerekli olan serbest yağ asitlerini içermesi ve insan vücudunda A,D,E,K gibi yağda eriyen vitaminleri çözmesi gibi özellikleri ile bitkisel yağlar, insan sağlığına katkıları ve yüksek besin değerine sahip olmaları bakımından ayrı bir yere sahiptir (Gadoth, 2008).

Yağlar; insanların sağlıklı beslenmesi, çocukların büyümesi, yaşlanma, fizyolojik tüm faaliyetlerin normal gelişmesi, hastalıklardan korunma ve tedavilerin başarılı olması gibi hayati konularda en önemli unsurların başında gelir.

İnsan beslenmesinde ve fizyolojik ihtiyaçların karşılanmasında yaşamsal önem taşıyan ve temel gıda maddeleri arasında ilk sıralarda yer alan yağlar, yağ asitleri ile gliserinin esterleşmesi sonucu oluşurlar. Şekil 1.1`de oleik, linoleik ve linolenik asitten oluşan bir trigliseridin yapısı görülmektedir. Tüm gerçek yağların bileşiminde yağ asitleri bulunur. Bu bakımdan yağların fiziksel ve kimyasal özelliklerini, bileşimlerindeki yağ asitleri belirler (Baydar, 2000).



Şekil 1.1 Yağın Kimyasal Yapısı

1.2. Yağın Kimyasal Kompozisyonu

Gıda olarak kullanılan katı ve sıvı yağların ağırlığının % 95'ten fazlasını trigliseridler oluşturur. Diğer % 5'lik kısmı da minör bileşikler olarak adlandırılan mono ve digliseridler, serbest yağ asitleri, fosfatidler, steroller, yağ asitleri, yağda çözünen vitaminler ve diğer maddeler bulunur.

Trigliseridler, gliserol ve üç yağ asidinin esterleşmesi ile oluşmuştur. Trigliseridler yapılarındaki yağ asitlerinin kompozisyonuna göre ikiye ayrılırlar. Trigliseridin yapısındaki yağ asitlerinin üçü de aynı ise "basit trigliserid" olarak isimlendirilir. Eğer iki veya üç farklı yağ asidinden oluşuyorsa bu tip trigliseridlere "karışık trigliserid" denir.

Mono ve digliseridler yağ asitleri ile gliserolün oluşturduğu mono ve dioesterlerdir. Mono ve digliseridlerin fosfolipitleri kıvam arttırıcı (emülsifler) olarak önem arz eden bileşiklerdir. Bu amaçla gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Mono ve digliseridler, gliserol ile trigliseridlerin reaksiyon ortamında yağ asidi değişimi yoluyla veya gliserol ile yağ asitlerinin esterifikasyonu ile ticari ölçekte üretilmektedir. Sindirim sisteminde trigliseridlerin normal parçalanması ile mono ve digliseridler meydana gelmektedir. Hayvansal ve bitkisel yağlarda ise çok az miktarlarda doğal olarak oluşurlar.

Yağ asitleri, yağ içerisinde gliserol ile esterleşmemiş halde bulunan bileşiklerdir. Rafine edilmemiş bazı yağlarda serbest yağ asitleri normalden birkaç kat daha fazla bulunabilir. Bu yağ asitlerinin seviyesi rafinasyon işleminde (nötralizasyon kademesinde) azaltılır. Gıda olarak kullanılan rafine katı ve sıvı yağlar genellikle çok az düzeyde serbest yağ asidi içerirler.

Fosfatidler yapılarında gilserole ilaveten, yağ asitleri, fosforik asit ve azot içeren bileşiklerdir. Yemeklik yağlarda genel olarak bulunan fosfatid, lesitin ve sefalindir.

Steroller, steroid alkoller olarak da tarif edilirler. Steroller, steroid iskeletine ilaveten 8-10 karbonlu bir yan zincir ve bir alkol grubu içeren bileşiklerdir. Yağlarda serbest halde, yağ asidi esterleri olarak ve glukozidler olarak bulunurlar ve birçok katı

ve sıvı yağın sabunlaşmayan maddelerinin büyük bir kısmını teşkil ederler. Bitkisel steroller bir bütün olarak fitosteroller olarak bilinen bir karışımdan ibarettir.

Bazı bitkisel sıvı yağlarda yağ asitleri ile yağ alkollerinin esterleri olan **mumlar (vakslar)** çok az miktarda bulunur. Ancak bazı morina yağlarında çok daha fazla mum içeriğine rastlanmıştır.

Tokoferoller ve tokotrienoller, pek çok bitkisel yağda doğal olarak bulunan önemli izobileşenlerdir. Bunlar bitkisel yağların oksidatif stabiliteleri yönünden yardımcı olan başlıca tabii antioksidanlar olarak kabul edilmektedir. Ayrıca yağda çözünen vitamin E'nin kaynağıdırlar.

Beslenmede kullanılan gıda maddeleri arasında bitkisel yağların özel bir yeri ve önemi bulunmaktadır. Doymuş yağ oranlarının düşük olması, hücre yapısı için gerekli olan serbest yağ asitlerini içermesi ve insan vücudunda A,D,E,K gibi yağda eriyen vitaminleri çözmesi gibi özellikleri ile bitkisel yağlar; insan sağlığına katkıları ve yüksek besin değerine sahip olmaları bakımından diyetin önemli yapı taşları olarak kabul edilmektedir. Yetişkin bir insanın günlük aktiviteleri için 2000-2400 kaloriye ihtiyaç duyduğu, dengeli ve sağlıklı beslenmenin gereği olarak alınması gereken bu miktarın 650- 750 kalorilik kısmının da yağlardan karşılandığı bilinmektedir.

Yağlar genel olarak;

- Hücrelerin yapıtaşı olması ve hücrenin yarı geçirgenliğini sağlaması,
- Enerji bakımından en konsantre kaynak olması,
- Yağda çözünen vitaminler (ADEK) için taşıyıcı görevi görmesi,
- Esansiyel (elzem) niteliğe sahip çeşitli yağ asitlerini içermesi,
- Isıtma aracı ve gıdaların korunması amacıyla kullanılması,
- Vücut ısısının ayarlanması,
- Enerji depolarının oluşturulması ve

- Gıdalara lezzet katmaları gibi özellikleri bakımından insan beslenmesinde büyük önem taşımaktadır.

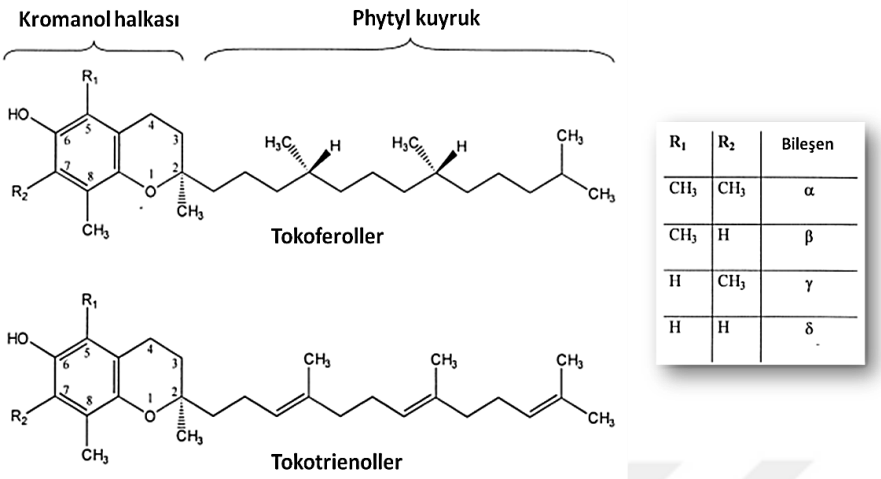
1.3. E Vitamini

Yağda çözünen 6 hidroksi kroman bileşiklerinin genel ismi olan E vitamini, metabolizmada antioksidan olarak görev yapmaktadır. Bu antioksidan gurubu 4 tokoferol ve 4 tokotrienol yapıyı kapsamaktadır (Bilber, 2010).

Tokoferoller ve tokotrienoller (tokol[1]); pek çok bitkisel yağda doğal olarak bulunan önemli izo-bileşenlerdir ve doğal kaynaklı antioksidanlar içinde en geniş kullanım alanına sahip olanlarıdır. Bitki dokularında geniş olarak yayılmış monofenolik ve lipofilik bileşikler olan tokollerin, keşfedildikleri zamandan bu yana oldukça önemli fizyolojik aktiviteler sergiledikleri kaydedilmiştir. Kardiyovasküler hastalıkların, bazı kanserler türlerinin ve birçok kronik hastalığın riskini azaltmada oldukça etkin olan vitamin E aktivitesine sahip sekiz farklı tokol mevcuttur ve bunların büyük bir kısmı farklı yemeklik yağlarda yer almaktadır.

Tokoller bir kroman halkası içerirler ve yapılarında bulunan metil gruplarının sayısı ve pozisyonuna göre α-, β-, γ- ve δ- şeklinde sınıflandırılırlar. α izomeri 5,7,8-trimetil; β izomeri 5,8-dimetil; γ izomeri 7,8-dimetil ve δ izomeri de ana bileşiğin 8-metil türevidir. Tokoferollerde doymuş (bir fitil zinciri), tokotrienollerde ise doymamış (3', 7' ve 11' pozisyonlarında çift bağ içeren) bir yan zincir bulunmaktadır (Şekil 1.2).

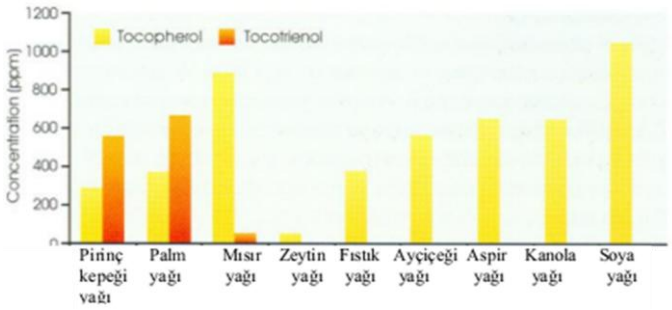
[1] Yağlı tohumlar ve yemeklik yağların minör bileşenlerinden olan tokoferol ve tokotrienollerin ikisine birden **tokol** adı verilir.



Şekil 1.2 Tokollerin kimyasal yapısı

Tokoller içerisinde E vitamini aktivitesine göre en aktif bileşen α-tokoferoldür. Diğer tokoferollerin aktivitesi; *β-tokoferol:* %15-40, *γ-tokoferol:* %1-20 ve *δ-tokoferol*: %15-30 arasında, tokotrienollerin aktivitesi ise; *α-tokotrienol:* %1, *β-tokotrienol:* %15-30, *γ-tokotrienol:* %1-5 ve *δ-tokotrienol:* %1`dir. Ayrıca; doğal α-tokoferolün (2R, 4R, 8R-tokoferol) E vitamini aktivitesi, sentetik hep rasem (all-rac-) α-tokoferolden %30 daha yüksektir (Marks, 1988).

Tokollerin antioksidan aktiviteleri kimyasal yapılarına ve konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Doğal kaynaklı antioksidanlar içinde en geniş kullanım alanına sahip olan tokoferoller; saf halde berrak, viskoz, sarımsı, hemen hemen hiç kokusuz yağ formunda olup, süksinat, palmitat gibi kristalize türevler verebilmektedir. Genel olarak tokoferollerin antioksidan aktiviteleri δ- > γ- > β- > α- sırasına göre azalır. Bitkisel yağlarda oldukça yaygın bulunan bu bileşikler; hayvansal kaynaklı gıda ürünlerinde çok az bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadırlar. Bu sebeple; hayvansal kaynaklı ürünlerin antioksidan aktivitelerini artırmada sentetik tokoferoller yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bitkisel kaynaklı sıvı yağlar ve gıda ürünleri ise; etkin oksidatif stabilite için yeterli tokoferol içeriğine sahip olduklarından, bu ürünler rafinasyon gibi ısıl işlemlerden geçirilmediği sürece tokoferol ilavesine gerek kalmamaktadır. Bu bileşenler; *yağın kalitesini koruma, raf ömrünü uzatma, rengini iyileştirme, yağın besin değerini koruma, hazırlanan gıdaların yapısını ve pişme özelliğini geliştirme* gibi birçok önemli fonksiyona sahiptirler.

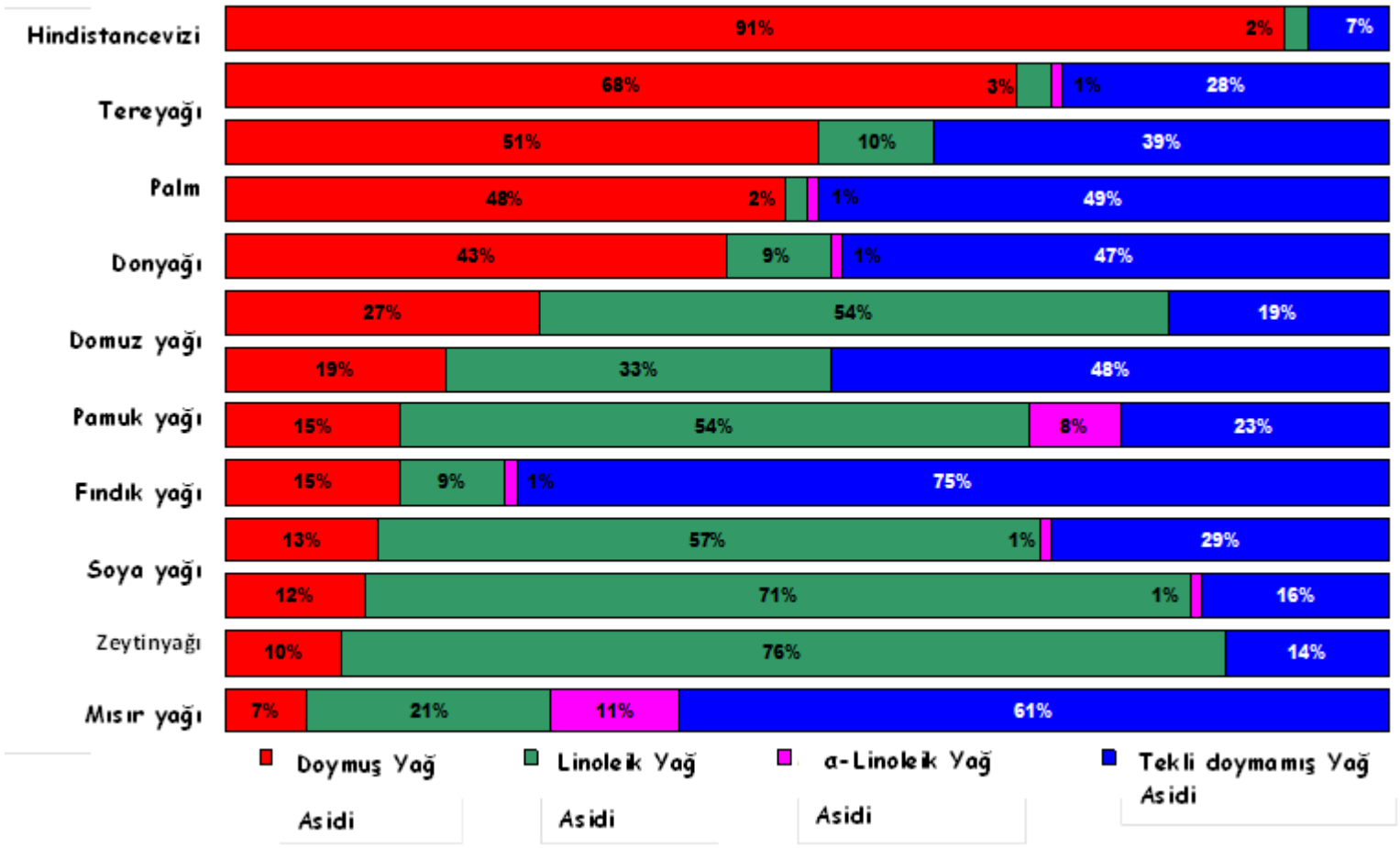


Şekil 1.3: Bazı bitkisel yağlardaki tokoferol ve tokotrienol içerikleri

1.4. Yağların Sınıflandırılması

Temel olarak doğal yağlar, bir gliserin molekülünün, üç yağ asidi molekülü ile birleşerek oluşturduğu trigliserid olarak adlandırılan yapılardır. Doğal yağlar; elde edildikleri kaynağa, yağ asidi içeriklerine (Şekil.1.2), iyot sayılarına ve yağ asit kompozisyonlarına göre farklı şekillerde sınıflandırılarak incelenmektedir.

- **Elde edildikleri kaynaklara göre**
  - Hayvansal yağlar
  - Bitkisel yağlar
  - Balık yağları
- **Yağ asit içeriklerine göre**
  - Doymuş yağlar
  - Doymamış yağlar (Tekli Doymamış ve Çoklu Doymamış Yağlar)
  - Trans yağlar
- **Yağ asit kompozisyonlarına gore**
  - Süt yağı grubu
  - Laurik asit grubu
  - Linolenik asit grubu
  - Konjuge asit grubu
  - Hayvansal yağ grubu
  - Deniz hayvanları yağı grubu
  - Oleik Linoleik asit grubu
  - Erusik asit grubu
  - Hidroksi Asit grubu
- **İyot sayılarına göre**
  - Kuruyan yağlar
  - Yarı kuruyan yağlar
  - Kurumayan yağlar



Şekil 1.3 Bazı yağlara ait yağ asit kompozisyon değerleri, % (Ayyıldız, 2010)

1.5. Yağların Rafinasyonu

Yağlı tohumlar ve meyvelereden, kabuk ayırma, kırma, presleme, çözücü ekstraksiyonu ve ayırma metotlarıyla ayrılan yağlara ham yağ denir.

Ham yağ içinde bulunan yabancı maddelerin miktarı ve cinsi;

- Bitki yetiştirma koşullarına,
- Toprak yapısına ve iklim şartlarına,
- Depolama şartlarına,
- Tohuma uygulanan işlemlere,
- Yağ alma esnasındaki parametrelere bağlı olarak değişmektedir.

Yağların, insanların kullanımına sunulabilmeleri yani; yağın tüketime uygun özellikler kazanması için ham yağda bulunan safsızlıkların dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmaları gerekmektedir, bu ise; yağların rafine edilmesi ile mümkündür. Rafinasyon işleminin esasını; yağın tabii özelliğini bozmadan ve yapısını değiştirmeden, tüketime engel olan safsızlıkların uzaklaştırılması teşkil eder (Arslan, 2009). Rafinasyonun verimli olabilmesi için, aşırı ısıtmadan kaçınmak, depolamayı uygun koşullarda yapmak, hava ile teması en aza indirmek, uygun oranlarda ve hızda karıştırma yapmak, rafinasyon esnasında sıcaklık, süre, basınç ve yardımcı madde miktarlarını iyi ayarlamak gereklidir. Bunun için karıştırma, ısıtma-soğutma, aktarma, süzme, kristallendirme ve destilasyon gibi rafinasyon işlemlerinin otomasyonlu sürekli sistemlerde yapılması daha uygundur.

Rafinasyon prosesi yağların kalitesini ve ekonomik performanslarını belirleyen en önemli etkendir. Zayıf rafinasyon prosesleri ile elde edilmiş yağların kalitelerini arttırmak için ilave prosesler uygulanması gerekmekte ve bu da ilave maliyetler gerektirmektedir.

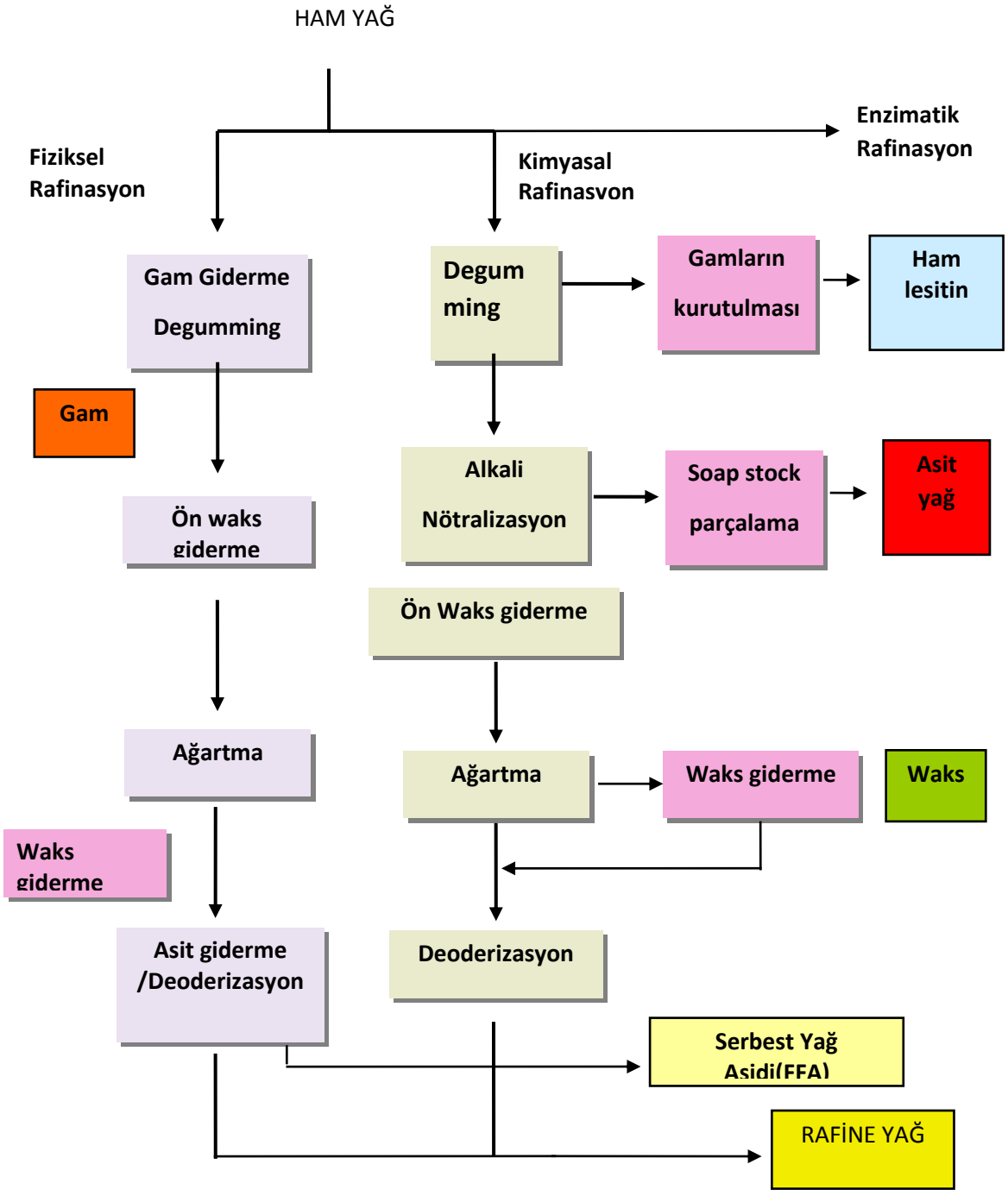
Ham yağlar ne kadar özenli ve temiz elde edilirse edilsin mutlaka rafinasyon işlemine tabii tutulmalıdır. Rafine edilmeden tüketilen tek bitkisel yağ, iyi kalite zeytinlerden elde edilen zeytinyağıdır. Fakat kötü vasıfta olan zeytinyağları da rafine

edilir. Türkiye'nin kırsal kesiminde ayçiçeği, susam, haşhaş vb. gibi hammaddelerden elde edilen yağların yerel halk tarafından rafine edilmeden de tüketildiği bilinmektedir.

Rafinasyon prosesi yaklaşık olarak 30-35 saat süren kompleks bir işlemdir. Yağlarda rafinasyon işlemi kimyasal, fiziksel ve enzimatik olmak üzere 3 yöntemle yapılmaktadır: Kimyasal rafinasyonda; degumming, nötralizasyon, ağartma, vinterizasyon ve deoderizasyon kademeleri yer alırken, fiziksel rafinasyonda ise degumming, ağartma ve vinterizasyonu ile nötralizasyon ve deoderizasyon işlemlerinin tek kademede buhar destilasyonu ile deoderizasyon işlemleri yapılmaktadır(Ayyıldız, 2010).

Yağ Rafinasyonu

Kimyasal	***Fiziksel***	***Enzimatik***
Degumming	Degumming	Enzim
⇓	⇓	
Nötralizasyon	Ağartma	
⇓	⇓	
Ağartma	Vinterizasyon	
⇓	⇓	
Vinterizasyon	Deoderizasyon / Nötralizasyon	
⇓		
Deoderizasyon		



Şekil 1.4 Yağ Rafinasyon Şeması

1.5.1.Degumming (Gum Giderme)

Yağ rafinasyon basamaklarının ilk kademesidir. Bu kademede, ham yağda bulunan fosfolipidler, proteinler, tutkal benzeri maddeler, nişasta ve metaller yağdan uzaklaştırılırlar(Topkafa, 2013). Bu maddeler susuz yapıları nedeniyle ham yağda çözünen maddelerdir fakat hidratlandıkları zaman yağda çözünürlükleri kaybolmaktadır. Hidratlanabilen fosfolipidler bu şekilde ham yağdan uzaklaştırılırken, hidratlanamayan fosfolipidler ise asitle muamele edilerek yağdan uzaklaştırılırlar.

Ülkemizde yetişen ayçiçeği, soya, keten vb. gibi yağlı tohumlar fosfatitlerce zengindirler (%1-2,5). Eğer bu tür yağlı tohumlardan elde edilen ham yağlarda degumming işlemi gerçekleştirilmezse rafinasyonda kayıplar olacaktır. Bu işlem, ham yağa %1.8-2.2 oranında yumuşak su/asit ilavesi ile yağın karıştırılarak 60-65 ^{o}C'ye kadar ısıtılmasıyla yapılır. İşlem sonunda çöken sulu tabaka (hidrotasyon çamuru) santrifüj işlemi ile yağdan ayrılır (Arslan, 2009).

Degumming işlemi sonunda elde edilen yağın, vakum altında kurutulmasıyla degummed yağ elde edilir ve yan ürün olarak ortaya çıkan sulu gam ise lesitin üretiminde ve soya yemine ilave edilerek değerlendirilmektedir.

Bu kademe diğer rafinasyon basamaklarının da verimli sonuçlanabilmesi için oldukça önemlidir. Eğer gumlar iyi bir şekilde uzaklaştırılmazlar ise emüsiyona neden olmalarından ötürü nötralizasyon kademesinde yağ kaybının artmasına, ağartma kademesinde ağartma toprağının gözeneklerinin tıkanması sonucu fazla miktarda kullanımına, deoderizasyon kademesinde yüksek sıcaklıklarda bozunma ürünleri olan kalıcı renklerin oluşmasına neden olurlar (Topkafa, 2013).

Degumming kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:	**Oluşan maddeler:**
Fosfatitler	Fosforik asit esteri
Proteinler	Serbest Yağ Asidi
Nişasta	Fosfatidik asit
Metaller…	

1.5.2.Nötralizasyon (Asitlik Giderme)

Rafinasyondaki ikinci aşama olan bu kademe, ham yağda bulunan serbest yağ asitlerinin bazlarla nötralizasyonunu içerir. Asitlik giderme (nötralizasyon) işlemi; serbest yağ asitlerinin (FFA), NaOH ile sabunlaştırılması sonucu oluşan sodyum sabunlarının (soapstok) su ile yıkanarak uzaklaştırılmasıdır. Yıkama sonucu uzaklaştırılan bu ürüne soapstok ismi verilmektedir.

Nötralizasyon işleminde; ısı değiştiriciler ile ısıtılan yağ, mikser kullanılarak stokiyometrik oranda alkali ile karıştırılmakta ve oluşan soapstok nötr yağdan yüksek devirli santrifüj seperatörler yardımı ile ayrılmaktadır. Nötr yağın bünyesinde kalan sabun ise ikinci bir seperatörde suyla yıkama yoluyla yağdan uzaklaştırılır.

Nötralizasyon işleminde kullanılacak NaOH miktarı serbest asitlik miktarına göre hesaplanmaktadır. Fakat ilave edilen bazın bir kısmı nötr yağ ile de reaksiyona girebileceğinden NaOH için hesaplanan miktarın genellikle %10 daha fazlası kullanılır. Bu kademede meydana gelecek nötr yağ kayıpları; yabancı maddelerin cins ve miktarlarına ve serbest yağ asitlerinin miktarına göre değişmektedir. Yabancı maddeler içerisinde fosfatidler ayrı bir önem taşırlar ve fosfatidler ne kadar az olursa yağ kayıpları da o denli azalacaktır. Meydana gelecek yağ kayıpları; kakao, palm, kara ve deniz hayvanlarının yağlarında serbest yağ asitlerinin yaklaşık 1,5 katı, pamuk ve soya yağında serbest 3 katı, asiditesi düşük olan yağlarda ise serbest yağ asitlerinin 5-10 katı kadardır.

Nötralizasyon işlemi için ham yağ 80-95^{o}C`ye ısıtılır. Isıtılan yağa FFA değerine göre sıvı kostik (NaOH) ilavesi yapılarak karıştırılır. Karışım içinde oluşan sabunlar seperatörler vasıtasıyla yağdan ayrılırlar.

Nötralizasyon kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:	**Oluşan maddeler:**
Serbest Yağ Asitleri	Sabun
Fosforik Asit	Monogliserid
Fosfolipid	Digliserid
Renk Pigmentleri	Su
Metaller	

1.5.3.Ağartma

Rafinasyonun üçüncü kademesi olan ağartma; ağır metaller başta olmak üzere; ham yağın doğal olarak içerdiği renk verici pigmentlerinin ve yağa renk veren diğer çeşitli maddelerin, bu basamaktan önceki işlemlerde yeterince uzaklaştırılamamış fosfolipidler, oksidasyon ürünleri, iz metalleri, sabun kalıntıları gibi maddelerin uzaklaştırılmasını içermektedir. Ağartma işlemi; yağın oksidasyon kararlılığını azaltan ve tadını bozan bu maddelerin uygun bir adsorban madde üzerinde tutulması ve işlem tamamlandıktan sonra kullanılan adsorbanların filtrasyon yardımı ile yağdan uzaklaştırılmasını esas alır.

Yağların renkleri içerdikleri ve kendilerine özgü renk veren lipokromlardan kaynaklanmaktadır. Bitkisel kaynaklı yağlarda bulunan en yaygın doğal renk maddeleri alfa ve beta karoten, ksantofil ve klorofildir. Ancak uygun olmayan sıcaklık, nem ve oksijen gibi şartlar altında depolanan ve düşük kaliteli ham maddelerden elde edilen yağlar, doğal renk maddeleri yanında oksidatif tepkimeler sonucu oluşan ve yağa koyu renk veren bileşenleri de içerirler.

Ağartma işleminde adsorban madde olarak genellikle yüzey aktivasyonu yüksek topraklar kullanılmaktadır. Bentonit gibi sanayide "ağartma toprağı" genel adı ile bilinen adsorban özellikteki toprakların yanı sıra; son yıllarda tabii killerin H_2SO_4 veya HCl ile muamele edilip yüksek sıcaklığa ısıtılmasıyla aktif hale getirilen asit aktive topraklar da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ağartma topraklarının yüzey alanları 100-400 m^2/g arasında değişmektedir. Bu topraklardan küçük tanecik boyutuna sahip olanlar, süzme zorluğuna ve yüksek oranda yağ kayıplarına sebep olmaları nedeniyle pek tercih edilmemektedirler. Ağartma Kademesi`nde kullanılacak toprağın cinsi, yağda bulunan yabancı maddelerin özelliğine göre belirlenir.

Ağartma işlemi sürekli veya kesikli çalışan sistemlerde yapılabilir. Ağartma işleminde; gumları uzaklaştırılmış ve waks miktarı belli bir seviyeye indirilmiş nötr yağ ön ısıtma işlemi ile yaklaşık 65°C'ye ısıtılır ve yağın % 0,3-3 oranında olacak şekilde ağartma toprağı ilave edilir. Daha sonra ısı değiştiriciler vasıtasıyla yağ yüksek sıcaklığa ısıtılır, bu işlem esnasında sürekli bir karıştırma işlemi uygulanarak homojen

bir yağ-ağartma toprağı süspansiyonu elde edilir. Yapılan çeşitli araştırmalarda ağartma toprağı ile yağın temas süresi (karıştırma+dinlendirme) optimum 30-60 dk olarak tespit edilmiştir.

Yüksek sıcaklıklarda (95-110^{o}C) yapılan ağartma işleminde, yağı oksidasyondan korumak gerekmektedir. Bu nedenle ağartma işlemi vakum altında (yaklaşık 50 mmHg basınç uygulanarak) yani oksijensiz bir ortamda gerçekleştirilmektedir. Isıtma işlemi tamamlandıktan sonra karıştırmaya devam edilerek dinlendirme işlemi uygulanır, daha sonra yağ presli filtrelerden geçirilerek süzülür. Ağartma işleminde yağ kaybı en fazla katılan toprak miktarı kadar olmaktadır.

Ayrıca, ağartma işleminin yağların tat stabilitesini (kararlılığını) artırıcı bir etkiye de sahip olduğu, yapılan pek çok çalışmada belirtilmiştir.

Ağartma kademesi;

Uzaklaştırılan maddeler:	**Oluşan maddeler:**
Renkli maddeler	Trans yağ asidi
Fosfatidler	Ketonlar ve aldehitler
Hidroperoksitler	Konjuge dimer ve polimerler
Metaller	Polar maddeler
Sabun	FFA
Fosforik asit	

1.5.4.Vinterizasyon

Rafinasyondaki dördüncü kademe olan vinterizasyon; yağın kademeli soğutulması ile oluşan kristallerin süzülerek yağdan uzaklaştırılmasıdır. Yağlarda bulunan mumların(waks) ve stearinlerin, düşük sıcaklıklarda donarak yağa bulanık renk vermelerini önlemek amacıyla yapılır.

Bazı yağlar yağın raf ömrünü azaltan ve rengini matlaştıran yağ harici bileşenler içerirler. Bu bileşenler wakslar (uzun zincirli yağ alkolleri), stearinler ve erime noktası yüksek olan gliserid harici maddelerden oluşurlar.

Vinterizasyonda kristallenmeyi başlatmak ve süzmeyi iyileştirmek için vinterize toprağı kullanılmakta ve bu toprak daha sonra süzme işlemi ile yağdan ayrılmaktadır. Vinterize toprağını yağdan ayırdıktan sonra yağ soğutularak filtrelenir ve berrak kısım alınır. Vinterizasyon işleminin başarılı olabilmesi için ortamdaki serbest asitlik, yapışkan maddeler ve renk maddeleri gibi kristal oluşumunu güçleştiren maddelerin, diğer rafinasyon aşamalarında tamamen giderilmesi gerekmektedir.

Vinterizasyon kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:	**Oluşan maddeler:**
Stearin	Perlit
Vakslar	Katı parçacıklar
Parafin	

1.5.5.Deodorizasyon

Rafinasyon işleminin son kademesi olan bu işlemin amacı yağa istenmeyen koku, tat-aroma, asitlik ve renk veren maddelerin uzaklaştırılmasıdır. Deodorizasyon işlemi sırasında yağdan uzaklaştırılan maddeler; sabunlaşan maddeler (serbest yağ asitleri, kısmi gliseridler, metilik esterler, mumsu maddeler), sabunlaşmayan maddeler (parafinik hidrokarbonlar, olefinik ve poliolefinik maddeler, steroller, triterpenik alkoller) ve oksidatif tepkimeler sonucu oluşan ürünler (aldehitler, ketonlar, peroksitler) olmak üzere üç grup altında toplanır.

Yağa istenmeyen tat ve koku veren maddeler trigliserid molekülündeki yağ asidi zincirlerine zayıf Van der Waals kuvvetleri ile bağlıdır. Bu maddeler yüksek sıcaklıklarda düşük buhar basıncına sahiptirler. Bu nedenle yüksek sıcaklık (220-300^{o}C) ve düşük basınç (1-8 mm Hg) altında çalışarak bu maddelerin buhar basınçlarını destile edilebilecekleri basınca yaklaştırmak mümkündür. Ayrıca, yağa direk buhar enjekte

ederek buharın sürükleyici etkisi ile bu maddelerin yağdan daha kolay uzaklaştırılmaları mümkün olmaktadır. Kokusu giderilmiş yağ yüksek vakum altında ön soğutma işlemine tabi tutulur, daha sonra da plakalı soğutuculara gönderilerek sıcaklık 30-35 °C'ye soğutulur. Buharın yüksek verimle kullanılması, sıcak yağın atmosferik oksidasyondan korunması ve hidroliz sonucu serbest yağ asitlerinin oluşumunun önlenmesi için deodorizasyon işlemi; vakum altında gerçekleştirilir.

Genellikle deodorizasyon işlemi 220-300^{o}C arasındaki sıcaklıklarda yapılmaktadır. Ancak yüksek sıcaklık doymamış yağ asitlerinde izomerizasyona neden olmakta ve özellikle 240^{o}C'den yüksek sıcaklıklarda çalışıldığında izomer yapı oluşumu ve doğal antioksidanlar olan tokoferollerin kaybı hızlanmaktadır. Deodorizasyon yalnız bir buharla destilasyon işlemi değildir. İstenmeyen koku ve aroma verici bileşiklerin uzaklaştırılması işine ilave olarak bir takım kimyasal reaksiyonlar da gerçekleşir ki bunlar deodorize yağın stabilitesini (kararlılığını) ve kalitesini etkilemektedir.

Deodorizasyon kademesinde;

Uzaklaştırılan maddeler:	**Oluşan maddeler:**	**Kayıplar:**
Serbest yağ asitleri	Trans yağ asitleri	Tokoferoller
Karatenoidler	Konjuge dimer-polimerler	Skualen
Aldehitler ve ketonlar	Hidrokarbonlar	Vitaminler
	Pestisitler	Steroller

1.6. Deodorize Distilatı

Yüksek sıcaklık ve vakum altında gerçekleştirilen deodorizasyon işlemi sırasında; yağın türü ve özelliğine, proses şartlarına ve deodorizere bağlı olarak önemli kayıplar meydana gelmekte ve önemli oranda yan ürünler oluşmaktadır. Rafine yağın ağırlıkça %1`ini teşkil eden ve tamamı "deodorize distilatı" olarak adlandırılan bu ürünler; günümüzde sadece hayvan yemi ve sabun sanayinde ham madde olarak kullanılmaktadır. Deodorize distilatlarda ki ürünlerin antioksidan ve vitamin içeriklerinin çok yüksek oldukları göz önünde bulundurulduğunda; bu değerli yan ürünün uygun amaçlar için değerlendirilemediği görülmektedir. Deodorizasyon

prosesinin iyileştirilmesi ile bir miktar azaltılabilecek bu kayıpların önüne tam olarak geçmek maalesef mümkün değildir. Bu sebeple; deodorizasyon basamağının yan ürünü olarak nitelendirilen deodorize distilatlarının etkin biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir(Naz ve ark., 2012).

Rafine yağın ağırlıkça %1`ini teşkil eden deodorize distilatlar sabunlaştırıldıktan sonra; nötr yağ dahil olmak üzere serbest yağ asitleri (% 40), steroller (% 6), tokoferoller ve tokotrienoller (E vitamini, % 11), vitaminler (% 9) ve squalene (% 2) gibi birçok biyoaktif bileşeni bünyesinde bulunduran değerli bir yan üründür (Verhé ve ark., 2006). Gıda ve ilaç sektöründe oldukça fazla öneme sahip olan bu biyoaktif bileşenler sebebiyle, deodorize distilatların değeri yıllar geçtikçe daha da önem kazanmıştır. İlk zamanlar, medikal amaçlar için başlangıç materyali ya da ara ürün olarak kullanılan fitosteroller sebebiyle, deodorize distilatlar sterol içerikleri için satılmış (Martins ve ark., 2006), son zamanlarda bağırsak kolesterol adsorpsiyonunu inhibe etmedeki potansiyelleri ve serum düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kapasitelerini düşürmeleri sebebiyle margarin gibi fonksiyonel gıdaların üretimi için değerlendirilmeye başlamıştır.(Akgün, 2011; Yan ve ark., 2012).

1.7. Yarı-Preparatif HPLC

Ekonomik değeri yüksek maddelerin ayrılması ve saflaştırılması amacıyla biyokimya ve ilaç sanayi başta olmak üzere pek çok sektörde yaygın biçimde kullanılmakta olan Preparatif Kromatografi tekniği; kromatografik uygulamaların temel çıkış noktasını temsil eden ve analitik kromatografinin gelişmesine ışık tutan, ilaç, organik ve biyokimya gibi birçok sektörde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Preparatif HPLC tekniği, analiz sırasında kullanılan akış hızı, kolon uzunluğu, dolgu maddesi partikül büyüklüğü, kolon çapı gibi faktörler bakımından; analitik HPLC tekniğine göre çok daha geniş bir skalaya sahiptir (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Analitik HPLC ve Preparatif HPLC için Ölçek Karşılaştırması

	Analitik HPLC	**Preparatif HPLC**
Akış hızı	<5 mL/dk	< 100 mL/dk
Kolon uzunluğu	2-30 cm	25 - 100 cm
Dolgu maddesi partikül	1.7-10 µm	15-100 µm
Kolon çapı	1-8 mm	50-100 mm
Numune miktarı	0.01-10 mg	50-1000 mg

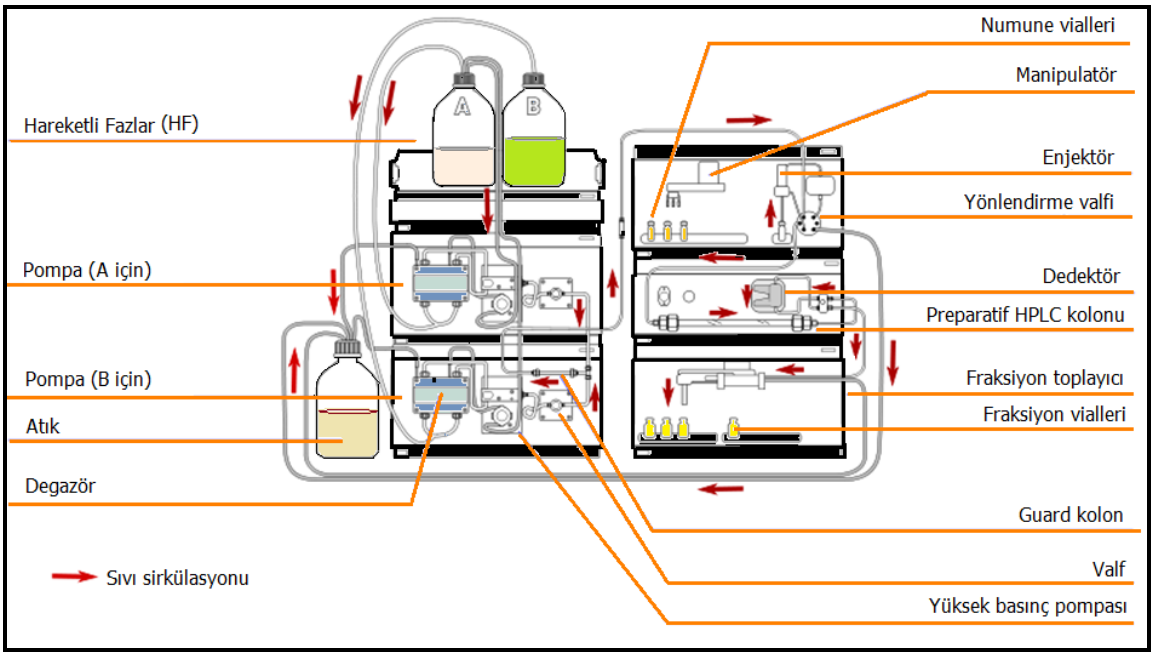
Preparatif HPLC tekniği; uygulama amacına ve saflaştırılacak türün miktarına göre farklı şekillerde isimlendirilmekte (yarı-preparatif, preparatif, pilot, proses) ve bu tekniklerde kullanılan kolon ebatı, kolon uzunluğu gibi deneysel faktörlerin özellikleri değişiklik arz etmektedir. Belirtilen teknikler arasındaki farklılıklar, Tablo 1.2`de özetlenmiştir.

Tablo 1.2 HPLC Skala Birimleri

SKALA	**Kolon iç çapı (mm)**	**Ürün miktarı**	**Tipik kolon uzunluğu (mm)**	**Amaç**
Analitik	4.6	1-40 mg	250	Biyolojik malzemeler için aktivite testleri
Yarı-Prep	10-30	100 mg -3g	250	Referans bileşikler için
Prep	50-100	5-10g	250-1000	Laboratuvar sentezlerindeki ara ürünler için
Pilot	100-300	20g -5kg	300-1000	İlaç geliştirme çalışmaları için
Proses	>300	kg-ton	500-1000	Büyük skaladaki üretimler için

Analitik HPLC cihazındaki parçalarla oldukça benzerlik gösteren preparatif HPLC cihazında; hareketli fazların yer aldığı bir çözücü haznesi, hareketli fazın ve enjekte edilen numunenin sistem içindeki akışını kontrol eden ve 6000 p.s.i. basıncın üzerine çıkabilecek özellikte olan bir pompa sistemi, numunelerin istenilen miktarda sisteme gönderilmesinde kullanılacak 20-30 mL`lik hacim kapasitesine sahip bir numune valfi, ayırma işlemlerinin gerçekleştirileceği cam veya paslanmaz çelikten

yapılmış bir preparatif kolon, preparatif skalada yapılan ayırmayı izlemede kullanılacak, çok fazla hassasiyete sahip olması gerekmeyen bir dedektör ve son olarak da saflaştırılması istenen türlerin, kolondan ayrıldıktan sonra toplanmasında kullanılacak bir fraksiyon toplayıcı bulunmaktadır **(Şekil 1.5.)**.



Şekil 1.5 Preparatif HPLC şematik gösterimi

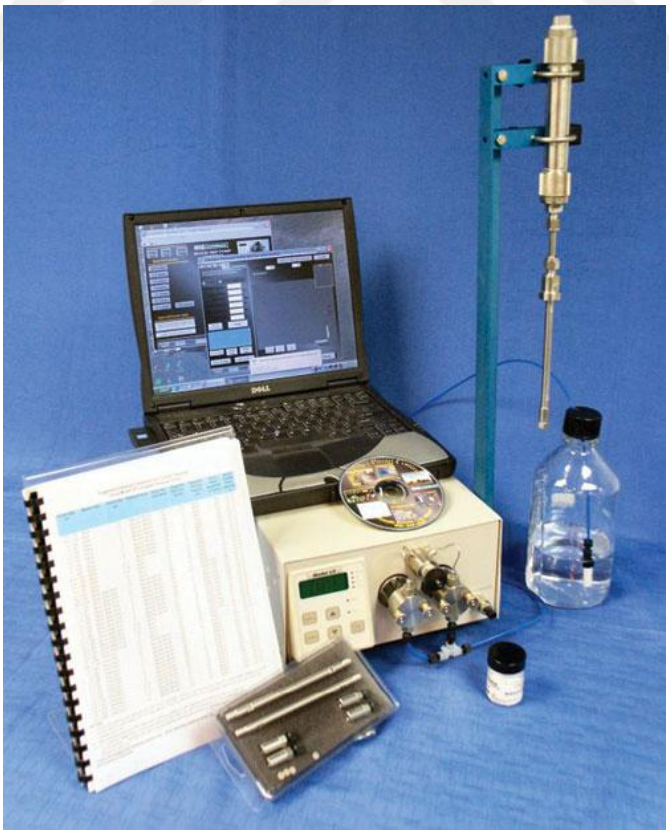
Preparatif HPLC tekniği ile maddelerin ayrılmasında/saflaştırılmasında kullanılacak uygun modun seçimi; ayrılacak/saflaştırılacak maddelerin özelliğine göre değişiklik arz etmektedir. Örneğin; polar özellikteki maddelerin ayrılmasında normal faz kolonlar tercih edilirken, apolar özellikteki maddelerin ayrılmasında ters faz kolonlar tercih edilmektedir. Preparatif skalada yürütülecek ayrım/saflaştırmada uygulanacak metodun ve elde edilen çıktının optimizasyonu ile, preparatif skalada maksimum geri kazanım sağlayabilmek amacıyla gerçekleştirilecek ölçeklendirme işlemi [2] de yürütülecek ayrımlar açısından oldukça büyük öneme sahiptir.

[2] Ölçeklendirme işlemi; preparatif skalada gerçekleştirilen ayrım/saflaştırmalarda maksimum geri kazanım sağlayabilmek amacıyla; analitik kromatografi şartlarından tespit edilen uygun parametre değerlerinin orantılı bir şekilde artırılması ile preparatif skalada kullanılacak parametre değerlerinin tespit edilmesidir.

Yarı-preparatif HPLC kolonlarını ticari olarak alabildiğimiz gibi kendimizde doldurabiliriz.

1.8. Kolon Doldurma Prosesi

Doldurma için öncelikle kolon dolgu materyali bir kap içinde emülsiyona uygun bir çözücü ile bulamaç haline getirilir. Bulamaç iyice karıştırılmalı ki kolon tüpünde sıkıştırma esnasında homojen bir kolon yatağı oluşturulabilsin. Bulamaç, hazırlandığı kapta çökmesine fırsat verilmeden kolon tüpüne derhal doldurulur. Daha sonra sıkıştırılmaya başlanır. Sıkıştırma esnasında fazla çözücü kolon çıkışından çıkar. Bir süre sonra istenilen doldurma basıncına (15000 psi) ulaşılır ve sıkıştırma işlemi tamamlanır.



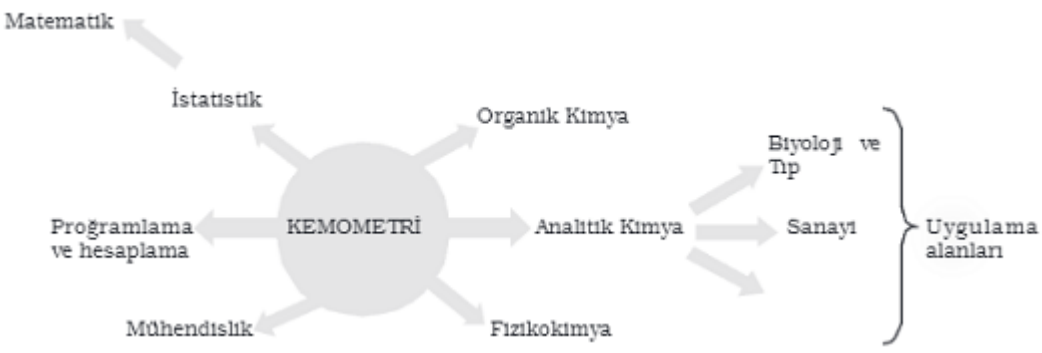
Şekil 1.6 Kolon Doldurma Sistemi

1.9. Kemometrik Tasarımla Optimizasyon

En basit anlamı ile optimizasyon eldeki kısıtlı kaynakları en optimum biçimde kullanmak olarak tanımlanabilir. Diğer bir değişle optimizasyon "en iyi amaç kriterinin en iyi değerini veren kısıtlardaki değişkenlerin değerini bulmaktır". Bu tanımlardan yola çıkarak yapacağımız çalışmalarda en az sayıda deneyle en fazla sayıda doğru bilgi elde etmek için optimizasyon yöntemini kullanmamız bize fayda sağlayacaktır.

Günümüzde bilgisayar, yazılım, istatistik ve uygulamalı matematik alanlarında ki gelişmeler, kimya alanında, özellikle de analitik kimya da kompleks sistemlerin çözümü için kemometri adı verilen yeni bir disiplinin doğuşuna neden olmuştur. Kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplinidir. Kemometri, kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilginin ekstrksiyonunu veya saklı bilgilerin ortaya çıkarılmasına olanak tanıyan güçlü bir araçtır.

Kemometrik yöntemlerin en büyük kullanıcısı analitik kimyacılar olmakla birlikte, laboratuvar ve analiz çalışması yapan komşu branşlarda da kullanıldığı gözlenmektedir. Kemometrinin farklı branşlar ile ilişkileri aşağıda ki şekilde gösterilmiştir (Dinç, 2007).



Şekil 1.7. Kemometrinin ilişkili olduğu branşlar

Deneysel çalışmanın etkin bir şekilde yapılabilmesi için deneyleri planlarken bilimsel yaklaşımın kullanılması da gerekmektedir. İstatistiksel deney tasarımı ile analiz edilebilecek uygun verilerin toplanmasını sağlayacak deneylerin planlanması ve bu deneylerden geçerli sonuçlar çıkarılabilmesi amaçlanmaktadır. Burada asıl amaç, en az sayıda deneyle çok fazla sayıda doğru bilgi elde etmektir. Yönlendirilmiş deney tekniklerinin yaygınlık kazanmasından sonra aşağıda sıralanan yöntemler ortaya çıkmıştır;

1) Her defasında bir faktörü değiştirerek deney yapma,

2) Klasik istatistiksel deney tasarımı,

a) Tam faktöriyel deney tasarımı,

b) Kesirli (kısmi) faktöriyel deney tasarımı,

3) Taguchi deney tasarımı

Kısmi Faktöriyel Deney Tasarımı

Eğer çok sayıda parametre aynı anda incelenecekse, tam faktöriyel tasarım ile yapılması mümkün olmayacak kadar fazla sayıda deney yapmak gerekebilir. Örneğin, incelenecek parametre sayısı 11 ve her bir parametrenin seviyesi 3alınırsa (3^{11}), yani 177147 adet deney yapmak gereklidir. Bu deney tasarımında, asıl etkiler hesaplanırken bazı bileşik etkilerin ihmal edilmesi söz konusu olabilir. İncelenen probleme bağlı olarak üç veya daha fazla seviyeli faktöriyel tasarım da kullanılabilir. Bir miktar bilgi kaybı olsa da, deneysel maliyetlerden sağlanan tasarruf miktarı ihmal edilemeyecek düzeylere ulaştığı için, genellikle, kesirli faktöriyel tasarım tam faktöriyel tasarıma tercih edilmektedir. Ayrıca kesirli faktöriyel tasarım kullanılarak, olayı etkileyen önemli parametreler belirlendikten sonra, istenirse, tam faktöriyel tasarım kullanılarak önemli olan parametrelerin daha ayrıntılı analizleri yapılabilir(Havuz, 2007).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bitkisel Yağ Deodorize Distilatlarında Yapılan Çalışmalar

(Batistella ve ark., 2002); bitkisel yağlardan (özellikle soya yağı deodorize distilatından) E vitaminin geri kazanımı için iki tür (düşen film ve santrifügal) moleküler destilasyon prosesinin etkinliğini incelemişler ve moleküler distilatörlerin performansını etkileyen besleme akış hızı, süre, proses sıcaklığı gibi faktörlerin sonuçlar üzerine etkilerini araştırmışlardır.

(Zhou ve ark., 2009); yağ rafinasyonunun son aşaması olan deodorizasyon aşamasındaki deodorize destilatlardan, moleküler distilasyon içeren bir proses ile tokoferolleri saflaştırmaya çalışmışlardır. Proses sırasında, varlığı tokoferollerin saflaştırılmasını engelleyen serbest yağ asitleri (FFAs) metanolle esterleştirilerek ortamdan uzaklaştırılmış, esterleşmeyi etkileyen birçok faktör detaylı bir şekilde incelenmiştir. Plackett–Burman ve merkezi kompozit tasarım modeli ile optimize edilen reaksiyon koşulları için optimal değerler şöyledir: su içeriği %21,05 - lipaz 115,45 U g^{-1} – sıcaklık 28,95 °C – dört aşamada 1 molar oranda metanol ve FFA ilavesi (4:1). Uygulanan 18 saatlik bu süreç sonunda; asit sayısında (AV) %93 üzerinde bir azalma olduğu, bunun yanı sıra tokoferol miktarında önemli bir kaybın olmadığı tespit edilmiştir (Verleyen ve ark., 2001)

(Watanabe ve ark., 2004); öncelikli olarak soya yağı deodorize distilatından tokoferol ve sterolleri kısa yollu destilasyon metodu ile geri kazanmaya çalışmışlar ve konsantre tokoferol/sterol deodorize distilatını (SODDTSC) elde etmişlerdir. Elde edilen SODDTSC, tokoferol ve sterol yanında FFA, MAG, DAG ve tanımlanmayan hidrokarbonları ihtiva ettiği için Candida rugosa lipazı ile muamele edilerek; steroller FA steril esterlerine, açilgliseroller FFA`lara ve FFA`lar FAME`lere dönüştürülmüştür. Reaksiyon iki aşamadan oluşmaktadır: SODDTSC, %20 su ve 200 U $g^{-1}$ C. Rugosa lipazı ile 30 °C`de karıştırılması ve reaksiyon karışımına 16 s sonra, 1 mol FFA`ya 2 mol MeOH eklenmesi. İşlem boyunca tokoferol miktarı değişmeden kalmış, reaksiyon ürünleri (FA steril esterleri ve FAME) kısa yollu destilasyon ile uzaklaştırılarak,

tokoferol ve sterol içeren fraksiyon lipazla tekrar muamele edilmiştir. Distilasyon prosesi sonunda saflaştırılan tokoferol yüzdesi %76,4 (geri kazanım: %89,6), sterol yüzdesi ise FA steril esterleri cinsinden %97,2 4 (geri kazanım: %86,3) olarak tespit edilmiştir.

(Ibanez ve ark., 2000); iki fazlı bir zeytinyağı üretim sisteminden elde edilen yarı-katı kalıntılar içindeki tokoferollerin geri kazanımı için süperkritik akışkan kromatografisi tekniğini kullanmışlardır. Pilot sistemde süperkritik CO_2 ile ekstraksiyonu içeren prosedür sonunda, birbirini izleyen iki fraksiyon elde edilmiştir. Yüksek yoğunlukta çalışıldığında 1. separatörden trigliseritleri, waksları ve sterolleri içeren fraksiyon elde edilmiş, 1. separatörde düşük yoğunlukta çalışıldığında ise, 2. separatörden α-, β-, ve γ- tokoferollerin geri kazanımı başarılabilmiştir.

(Mendes ve ark., 2002); gıdalarda önemli bir katkı maddesi ve antioksidan olarak kullanılan tokoferoller açısından oldukça zengin olan soya yağı deodorize distilatlarından, çeşitli sıcaklık (40, 60 and 80 °C)ve basınçlarda (90 and 170 bar) uyguladıkları süperkritik CO_2 ekstraksiyonu ile tokoferolleri (E vitamini) geri kazanmaya çalışmışlardır. Araştırmacılar, düşük sıcaklık ve basınçta daha fazla verimlilik elde ettikleri teknik ve ekonomik bu proses sonunda, en az %40`lık bir oranla tokoferolleri konsantre etmeyi başarmışlardır.

(Quancheng ve ark., 2004); kimyasal olarak modifiye edilmiş keten tohumu yağı deodorize distilatından (RDD), 3 farklı çözücü sisteminin (methanol, ethanol, and mixed ethanol) her biri için 3 farklı düzeyde (2%, 4%, and 6%) çalıştıkları iki aşamalı bir süperkritik CO_2 ekstraksiyon metodu kullanarak, tokoferolleri ekstrakte etmişlerdir. Süperkritik CO_2 (SC-CO_2)ekstraksiyonu; 120 bar altında FAME karışımının ekstrakte edilmesi ve 250 bar altında tokoferollerin konsantre edilmesi olmak üzere iki basamakta gerçekleştirilmiştir.

(Fang ve ark., 2007); soya yağı rafinasyon prosesinde bir yan ürün olan ve doğal tokoferoller ve steroller gibi değerli bileşenler açısından zengin olan deodorize distilatlardan, süperkritik CO_2 ile tokorerollerin ayrılması için 2,4 m yüksekliğinde, 20

mm iç çapında ve 750 mL toplam hacmi olan bir fraksiyonlama kolonu kullanılarak yarı sürekli karşıt akımlı bir proses geliştirmişlerdir.

(Güçlü-Üstündağ ve Temelli, 2007); kanola yağı deodorize distilatındaki sterol ve tokoferol gibi biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı için süperkritik CO_2 ekstraksiyon metodunu kullanmışlar ve basınç (20-25 mPa) sıcaklık (70-100 °C) gibi proses şartlarının ürün ekstraksiyonu ve ayırma verimliliği üzerine etkisini incelemeye çalışmışlardır.

(Yun ve ark., 2010); soya yağı deodorize distilatından tokoferol ve biyodizelin aynı anda eldesi için süperkritik CO_2 ekstraksiyonu (SC-CO_2) yöntemi uygulamışlardır. Araştırmacıların gerçekleştiridiği ön işlemler arasında; katyon iyon değiştirici bir reçine etkisiyle esterifikasyon, sterollerin giderilmesi için soğuk ortamda kristalleştirme ve ardından uygulanan alkali transesterifikasyon prosedürleri yer almaktadır. Ön işlemler sonunda; serbest yağ asitleri (FFA) ve deodorize distilatlardaki trigliseritlerin (TGs) metil esterleri olan biyodizelin dönüşüm oranı %96, tokoferollerin dönüşüm oranı ise %94`ün üzerinde bulunmuştur.

(Shimada ve ark., 2000); soya yağı deodorize distilatından tokoferollerin yüksek verimde saflaştırılmasını lipaz enzimleri kullanarak moleküler destilasyon yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Sonuçta yaklaşık %90 verimle tokoferol elde etmişlerdir.

(Torres ve ark., 2007); soya yağı deodorize distilatını, başlıca sterol esterlerini, tokoferolleri ve FAME'leri içeren bir ürün karışımı olacak şekilde enzimatik olarak modifiye etmişlerdir. İlk olarak SODD oleik asitle karıştırılarak erime noktası 65-70 C'den 30-35 C'ye düşürülmüştür. Etil esterifikasyonu ile sterol esterifikasyonunu ayırmak amacıyla iki aşamalı enzimatik işlem kullanılmıştır. İlk enzimatik adımda, 5 saatlik kısa bir zaman peryodunda orijinal sterollerin %90 dan daha fazlasının etkin bir biçimde dönüştürülmesine izin verildi. İkinci enzimatik adımda ise, 3saatten daha az bir zamanda FFA'nın %95' inden daha fazlası dönüştürülmüştür.Elde edilen final ürünü sterol esterler, tokoferoller ve FAEE'in süper kritik akışkan ekstraksiyonu ile saflaştırılması için başlangıç materyali olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

(Wan ve ark., 2008); soya yağı distilatından tokoferollerin ayrılmasını düşük basınçlı kolon kromatografisinde preparatif olarak çalışmışlardır. Ayırmalar sonucu topladıkları tokoferollerin verimini; fraksiyonları ince tabaka kromatografisinde yürüterek belirlemeye çalışmışlardır.

Çalışmanın Amacı

Yenilebilir yağlardan elde edilen distilatlardaki tokoferol & tokotrienollerin geri kazanımı için oldukça zahmetli ve masraflı metotlar kullanılmaktadır. Distilatlardaki tokoferol ve tokotrienollerin geri kazanımı için şimdiye kadar sadece bir yerde kullanılan preparatif HPLC tekniğinde (Wan ve ark., 2008), ayırmalar sonucu topladıkları tokoferollerin verimini direk olarak bir dedektörle değilde fraksiyonları ince tabaka kromatografisinde yürüterek belirlemeye çalışmışlardır. Bu da çalışmayı gerek zaman açısından gerekse mali açıdan oldukça zahmetli kılmaktadır. Bitkisel yağ deodorize distilatı üzerinde modern ve yeni *preparatif HPLC sistemleriyle yarı-preparatif bir skalada* tek seferde gerçekleştirilmesi düşünülen bu tez çalışmasının, tokollerin geri kazanımı ve saflaştırılması için etkili ve verimli bir alternatif metot olması düşünülmeltedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar, Cihazlar ve Kolonlar

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler; kullanım özelliklerine göre kromatografik saflıkta olup; Sigma-Aldrich ve BDH Chemicals firmalarından temin edilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasal ve Standart Maddeler

Kimyasal Maddeler	
Analitik HPLC	Hekzan : Isopropanol
Yarı-Preperatif HPLC	Hekzan : Isopropanol
GC-MS	Hekzan
Standart Maddeler	
• Alfa- tokoferol • Beta- tokoferol • Gama- tokoferol • Delta- tokoferol • Mix tokol	

Çeşitli bitkisel yağ ve deodorize distilatları üzerinde yapılan tokoferol analizleri; HPLC-FLD-DAD sisteminde gerçekleştirilmiştir. Sistemden toplanan tokoferol fraksiyonları GC-MS cihazında Toplam Kütle Modunda karakterize edilmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihaz, marka ve modelleri **Tablo 3.2**`de verilmiştir.

Tablo 3.2 Deneylerde Kullanılan Analiz Sistemleri ve Kolonlar

Cihaz	**Marka**
• HPLC FLD ve DAD Dedektör Sistemleri	Agilent 1260 Series
• GC-MS	7890N-5975C
• Kolon Doldurma Sistemi	LabAlliance (18000 psi)
Kolonlar	
▪ Analitik HPLC Sistemi için;	Reprosil-Pur 120 CN (250x4,6; 5µm)
▪ Yarı preperatif HPLC Sistemi için;	Silicycle CN 120A 10 µm (250x10) (Laboratuvar Yapımı)
▪ GC-MS Sistemi için;	HP-5ms (30 m x 0.25 mm; 0.25 µm)

3.2. Standart Maddelerin ve Yağ Numunelerin Hazırlanması

Analizlerde kullanılan standart, yağ ve distilat numuneleri aşağıda verilen tabloya göre hazırlanmıştır.

Tablo 3.3. Deneylerde kullanılan numune ve standartların hazırlanışı

Numunelerin Hazırlanması	
Analitik HPLC	1 g numune/10 mL Hekzan:Isopropanol (99.25:0.75)
Yarı-Preperatif HPLC	1 g numune/10 mL Hekzan:Isopropanol (99.25:0.75)
GC-MS	Yarı-prep HPLC'den toplanmış olan fraksiyonlar (0,5 mL)

Standartların Hazırlanması	**Çözücü**
Analitik HPLC	Hekzan:Isopropanol (99.25:0.75)
Yarı-Preperatif HPLC	Hekzan:Isopropanol (99.25:0.75)

Yüksek tokol içeriği esas alınarak yapılacak analizler için bu çalışmada; palm yağı, soya, ayçiçek, mısır yağı ve bunların deodorize distilat numuneleri kullanılmıştır.

Yağ numuneleri; Helvacızade Gıda İlaç Kimya San. ve Tic. A.Ş. ve Mersin Aves A.Ş. Yemeklik Bitkisel Yağ Rafinasyon tesislerinden temin edilmiştir.

3.3. Tokol (Tokoferol & Tokotrienol) Analizleri

Yarı-preparatif HPLC tekniği kullanılarak, herhangi bir ön işlem gerektirmeksizin, direk numune enjeksiyonu ile deodorize distilatlarda bulunan tokoferol ve tokotrienollerin ayrılması ve geri kazanılması amacıyla yürütülmeye başlanan tez çalışmamızda deneyler;

- Analitik HPLC Analizleri
- Yarı Preparatif HPLC Analizleri
- GC-MS Analizleri

olmak üzere 3 aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Analitik HPLC Analizleri

3.3.1.1 Kemometrik Tasarımla Optimizasyon Deneyleri

Distilatlarda tokoferol ve tokotrienollerin ayrılması üzerine uygun hareketli ve sabit faz seçiminden sonra, sıcaklık, hareketli faz kompozisyonu (% Hekzan) ve akış hızı parametreleri esas alınarak 3 faktör 5 seviyeli bir deneysel tasarım (Tablo 3.4) ile optimizasyon deneyleri (Tablo 3.5) 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo3.4. 3 Faktör 5 Seviyeli Deneysel Parametreler

	-2	***-1***	***0***	***1***	***2***
(% Hekzan)	97.00	97.72	98.45	99.18	99.90
Sıcaklık (^{o}C)	15.0	22.5	30.0	37.5	45.0
Akış Hızı (mL/dk)	0.25	0.56	0.88	1.19	1.50

Tablo 3.5 Deneysel Tasarım Modeli ve Analiz Şartları

Deney No	% Hekzan	Sıcaklık (^{0}C)	Akış Hızı (mL/dk)
1	**0** 98.45	**0** 30.0	**0** 0.88
2	**0** 98.45	**-2** 15.0	**-2** 0.25
3	**-2** 97.00	**-2** 15.0	**2** 1.50
4	**-2** 97.00	**2** 45.0	**-1** 0.56
5	**2** 99.90	**-1** 22.5	**2** 1.50
6	**-1** 97.72	**2** 45.0	**0** 0.56
7	**2** 99.90	**0** 30.0	**-1** 0.56
8	**0** 98.45	**-1** 22.5	**-1** 0.56
9	**-1** 97.72	**-1** 22.5	**1** 1.19
10	**-1** 97.72	**1** 37.5	**2** 1.50
11	**1** 99.18	**2** 45.0	**1** 1.19
12	**2** 99.90	**1** 37.5	**0** 0.88
13	**1** 99.18	**0** 30.0	**2** 1.50
14	**0** 98.45	**2** 45.0	**2** 1.50
15	**2** 99.90	**2** 45.0	**-2** 0.25
16	**2** 99.90	**-2** 15.0	**1** 1.19
17	**-2** 97.00	**1** 37.5	**-2** 0.25
18	**1** 99.18	**-2** 15.0	**0** 0.88
19	**-2** 97.00	**0** 30.0	**1** 1.19
20	**0** 98.45	**1** 37.5	**1** 1.19
21	**1** 99.18	**1** 37.5	**-1** 0.56
22	**1** 99.18	**-1** 22.5	**-2** 0.25
23	**-1** 97.72	**-2** 15.0	**0** 0.56
24	**-2** 97.00	**-1** 22.5	**0** 0.88
25	**-1** 97.72	**0** 30.0	**-2** 0.25

3.3.1.2. Standart Tokol Analizleri

Distilatlarda ayrılan lipit türlerinin yerlerini tespit etmek amacıyla çeşitli standartların gerekli metot şartlarında analizleri yapılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart tokoferol karışımları, karşılaştırma amaçlı olarak distilat analizlerinde kullanılmıştır. Standart karışımlar; 10, 20, 30, 40 ve 50 ppm konsantrasyonlarında Hekzan:İsopropanol (%99.25:0.75) çözücüsünde hazırlanmıştır.

3.3.1.3. Deodorize Distilat Analizleri

Kemometrik tasarım sonrası bulunan optimum metot şartlarında, bitkisel yağ rafine tesislerinden temin edilen deodorize distilat numuneleri, HPLC-FLD-DAD sisteminde tokol içerikleri bakımından incelenmiştir.

3.3.2. Yarı Preparatif HPLC Analizleri

3.3.2.1.Optimizasyon Deneyleri

Analitik HPLC ile kemometrik tasarım kullanılarak tespit edilen optimum metot doğrultusunda, yarı-preparatif HPLC sistemine ölçeklendirme amaçlı, yeni optimum parametreleri bulmak için *deodorize distilat* numunesinde bazı denemeler yapılmıştır. Denemelerde kullanılan parametreler aşağıdaki tabloda verilmiştir. (Tablo 3.6)

Tablo 3.6 Deodorize Distilat numunesinde yapıkan optımizasyon deney parametreleri

Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	**Sıcaklık (^{0}C)**	**Akış Hızı (mL/dk)**	**Enjeksiyon (µL)**	**Dedektör**	**Numune Miktarı (g DD/10 mL Çözücü)**
99.18 : 0.82	15	0.88 1 1.5 2 3	10 100	FLD DAD	1 2 3

3.3.2.2. Standart Tokol Analizleri

Yarı-preparatif HPLC sisteminde gerçekleştirilen dedodorize distilat analizlerinde tokoferol&tokotrienoller türlerinin çıkış yerlerini tespit etmek amacıyla tokol karışımı (α, β, γ, δ-tokoferol ve tokotrienol) aşağıda verilen deney şartlarında analiz edilmiştir.

Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	Sıcaklık (^oC)	Akış Hızı (mL/dk)	Enjeksiyon (µL)
99.18 : 0.82	15	2	10

3.3.2.3. Deodorize Distilatından Fraksiyon Toplanma İşlemi

Yarı-preparatif HPLC sisteminde ayrımı gerçekleştirilen deodorize distilat numunesinin tüm fraksiyonları manuel olarak aşağıdaki metot şartlarında 10 defa toplanmıştır.

Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	Sıcaklık (^oC)	Akış Hızı (mL/dk)	Enjeksiyon (µL)	Numune Miktarı (g DD/10 mL Çözücü)
99.18 : 0.82	15	2	100	1

3.3.3. GC-MS Analizleri

Yarı-preparatif HPLC sisteminde toplanan her bir fraksiyon numunesi gerekli işlemler sonrası GC-MS sisteminde karakterizasyon amaçlı analiz edilmiştir. Toplanan fraksiyon numunelerinin çözücüleri ısıl işlem yapılmaksızın vakum altında tamamen uzaklaştırılmıştır. Çözücüsü uzaklaştırılan numuneler, 2 mL hekzan ile tekrar çözülerek GC-MS sistemine verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Tokol (Tokoferol & Tokotrienol) Analizleri

Yarı-preparatif HPLC tekniği kullanılarak, herhangi bir ön işlem gerektirmeksizin, direk numune enjeksiyonu ile deodorize distilatlarda bulunan tokoferol ve tokotrienollerin ayrılması ve geri kazanılması amacıyla yürütülmeye başlanan tez çalışmamızda deneyler;

- Analitik HPLC Analizleri
- Yarı Preparatif HPLC Analizleri
- GC-MS Analizleri

olmak üzere 3 aşamada gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. Analitik HPLC Analizleri

4.1.1.1. Kemometrik Tasarımla Optimizasyon Deneyleri

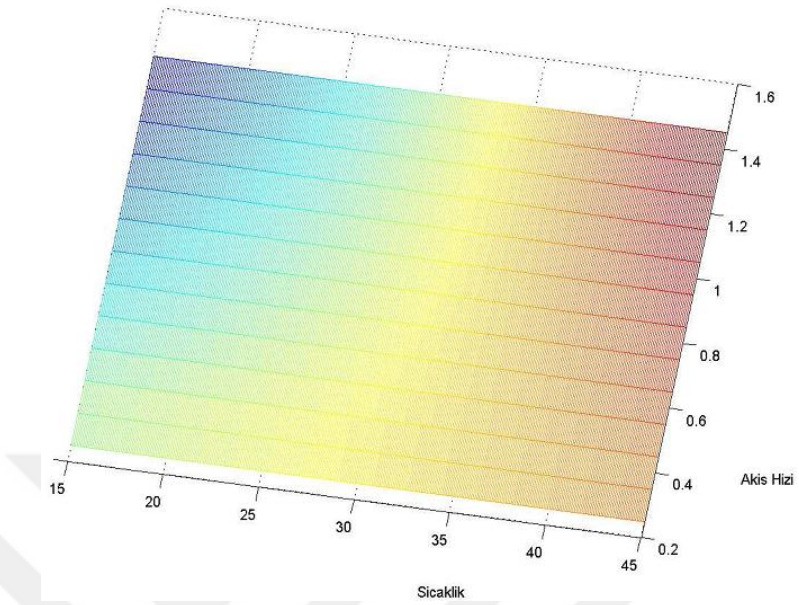
Distilatlarda tokoferol ve tokotrienollerin ayrılması üzerine uygun hareketli ve sabit faz seçiminden sonra, sıcaklık, hareketli faz kompozisyonu (% Hekzan) ve akış hızı parametreleri esas alınarak 3 faktör 5 seviyeli bir deneysel tasarım (Tablo 3.4) ile optimizasyon deneyleri (Tablo 3.5) 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Cevap değeri olarak kullanılan ayırma gücü (Rs) verileri ile MATLAB programında 3-B yüzey grafikleri çizilerek değerlendirmeler yapılmıştır. Tablo.3.4'de yer alan deneyler sırayla gerçekleştirilmiş, elde edilen kromatogramlardaki serbest yağ asitleri ile α-tokoferol pikleri arasındaki ayırma gücü (Rs) değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler cevap değeri olarak alınarak MATLAB programı ile 3-D yüzey grafikleri oluşturulmuş ve elde edilen grafikler Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'de verilmiştir. Grafikler üzerinde kırmızı renk yoğunluğu olan bölgeler optimum değerleri; mavi renk yoğunluğu olan bölgeler ise istenilmeyen deneysel parametreleri temsil etmektedir. Kırmızı renk yoğunluğunun fazla olduğu 3-D yüzey grafikleri, optimum deneysel parametrelere karar verme açısından daha doğru bir yaklaşım göstermektedir. Ayrıca grafiklerde içe ya da dışarı doğru aynı yönde bükülme gösteren ve cevap değeri yüksek

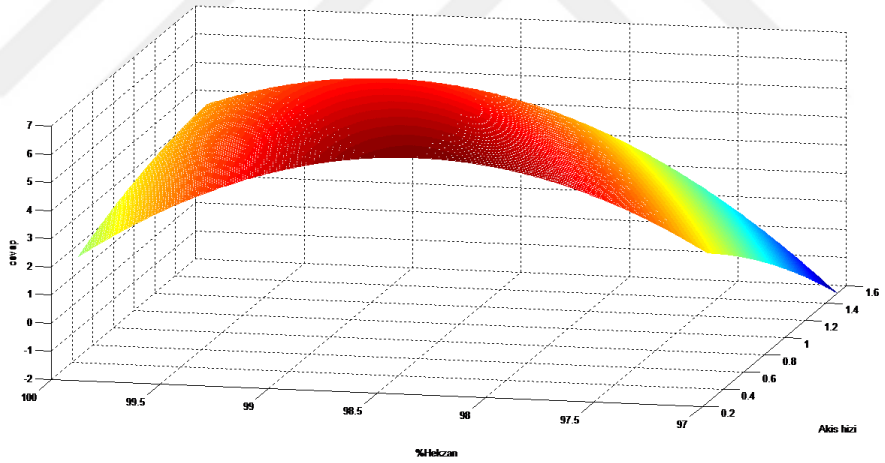
olan grafikler, optimizasyon çalışmalarında doğru parametrelere karar verilirken tercih edilmektedir.

Tablo 4.1 Deneysel Tasarım Modeli ve Analiz Şartları

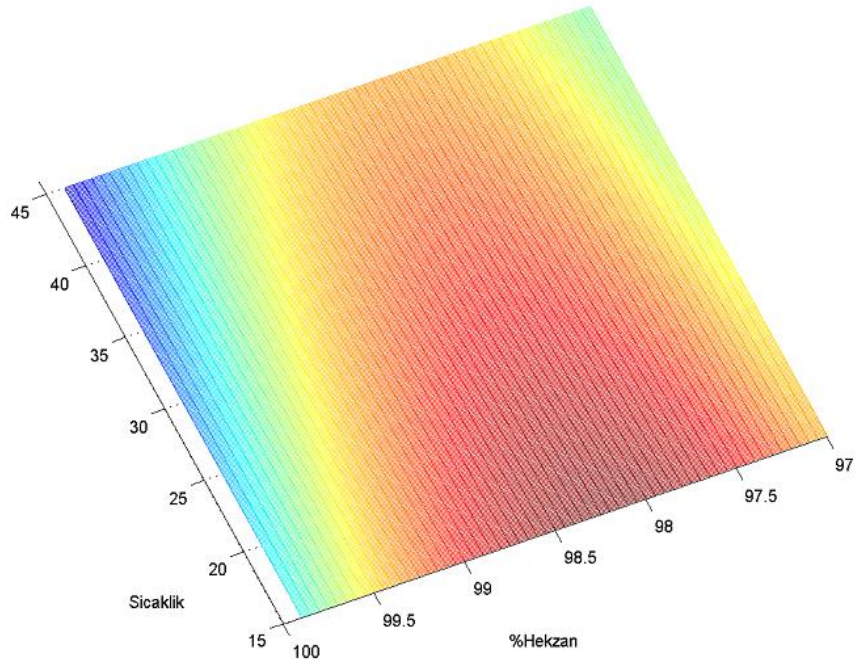
Deney No	% Hekzan	Sıcaklık (^{0}C)	Akış Hızı (mL/dk)	Cevap Değeri (Rs)
1	**0** 98.45	**0** 30.0	**0** 0.88	**5.16**
2	**0** 98.45	**-2** 15.0	**-2** 0.25	**5.68**
3	**-2** 97.00	**-2** 15.0	**2** 1.50	**2.10**
4	**-2** 97.00	**2** 45.0	**-1** 0.56	**3.21**
5	**2** 99.90	**-1** 22.5	**2** 1.50	**1.07**
6	**-1** 97.72	**2** 45.0	**0** 0.56	**3.46**
7	**2** 99.90	**0** 30.0	**-1** 0.56	**0.43**
8	**0** 98.45	**-1** 22.5	**-1** 0.56	**5.38**
9	**-1** 97.72	**-1** 22.5	**1** 1.19	**2.53**
10	**-1** 97.72	**1** 37.5	**2** 1.50	**2.71**
11	**1** 99.18	**2** 45.0	**1** 1.19	**4.26**
12	**2** 99.90	**1** 37.5	**0** 0.88	**0.04**
13	**1** 99.18	**0** 30.0	**2** 1.50	**4.51**
14	**0** 98.45	**2** 45.0	**2** 1.50	**2.22**
15	**2** 99.90	**2** 45.0	**-2** 0.25	**0.01**
16	**2** 99.90	**-2** 15.0	**1** 1.19	**3.06**
17	**-2** 97.00	**1** 37.5	**-2** 0.25	**5.14**
18	**1** 99.18	**-2** 15.0	**0** 0.88	**6.22**
19	**-2** 97.00	**0** 30.0	**1** 1.19	**3.56**
20	**0** 98.45	**1** 37.5	**1** 1.19	**4.64**
21	**1** 99.18	**1** 37.5	**-1** 0.56	**4.88**
22	**1** 99.18	**-1** 22.5	**-2** 0.25	**6.04**
23	**-1** 97.72	**-2** 15.0	**0** 0.56	**3.94**
24	**-2** 97.00	**-1** 22.5	**0** 0.88	**3.84**
25	**-1** 97.72	**0** 30.0	**-2** 0.25	**5.06**



Şekil 4.1. Sıcaklık-Akış Hızı optimum grafiği



Şekil 4.2: % Hekzan-Akış Hızı optimum grafiği



Şekil 4.3: % Hekzan-Sıcaklık optimum grafiği

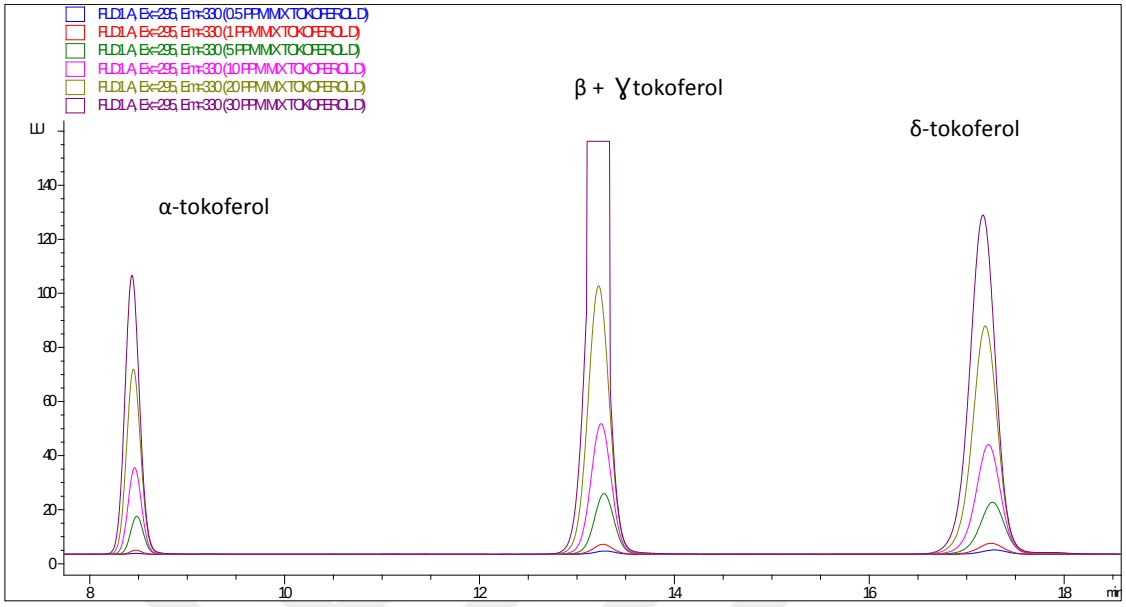
Cevap değerleri (Tablo 4.1) ve 3-D grafikleri incelendiğinde; hareketli faz kompozisyonu **% Hekzan** için **99.18**, **akış hızı** için **0.88 mL/dk** ve **sıcaklık** için **15 ^{0}C** değerlerinin optimum değer olduğu gözlenmiştir. Deneysel tasarım analiz şartları tablosuna (Tablo 4.1) bakıldığında bu değerlerin 18 numaralı metot parametrelerine tekabül ettiğini görmekteyiz. Bundan sonraki yapılan deneylerde 18 numaralı metot kullanılmıştır.

18 numaralı metot parametreleri:

%Hekzan **:** 99.18
Akış Hızı **:** 0.88 mL/dk
Sıcaklık **:** 15 ^{0}C

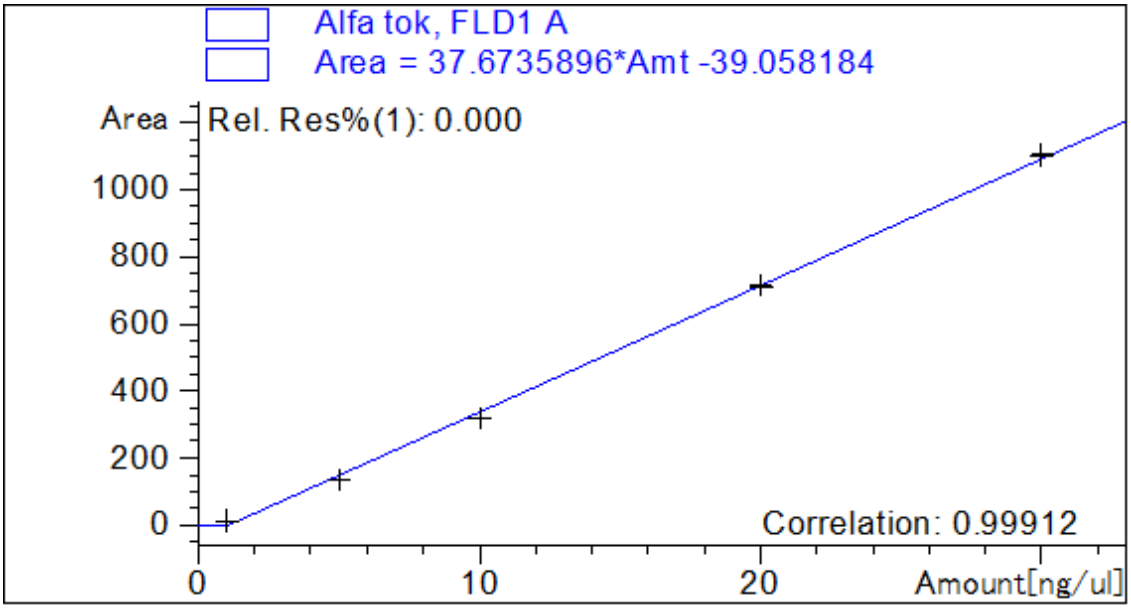
4.1.1.2. Standart Tokol Analizleri

Distilatlarda ayrılan lipit türlerinin yerlerini tespit etmek amacıyla çeşitli standartların optimum metot şartlarında analizleri yapılmıştır.

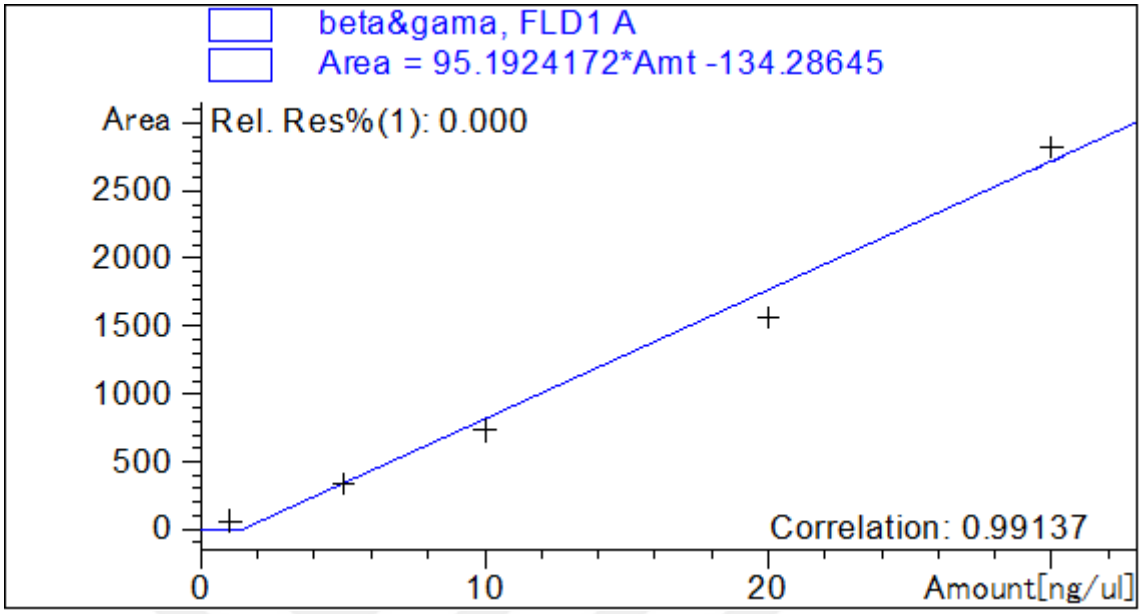


Şekil 4.4 Farklı konsantrasyonlarda ki standart karışım tokoferol numunelerinin HPLC-FLD kromatogramları

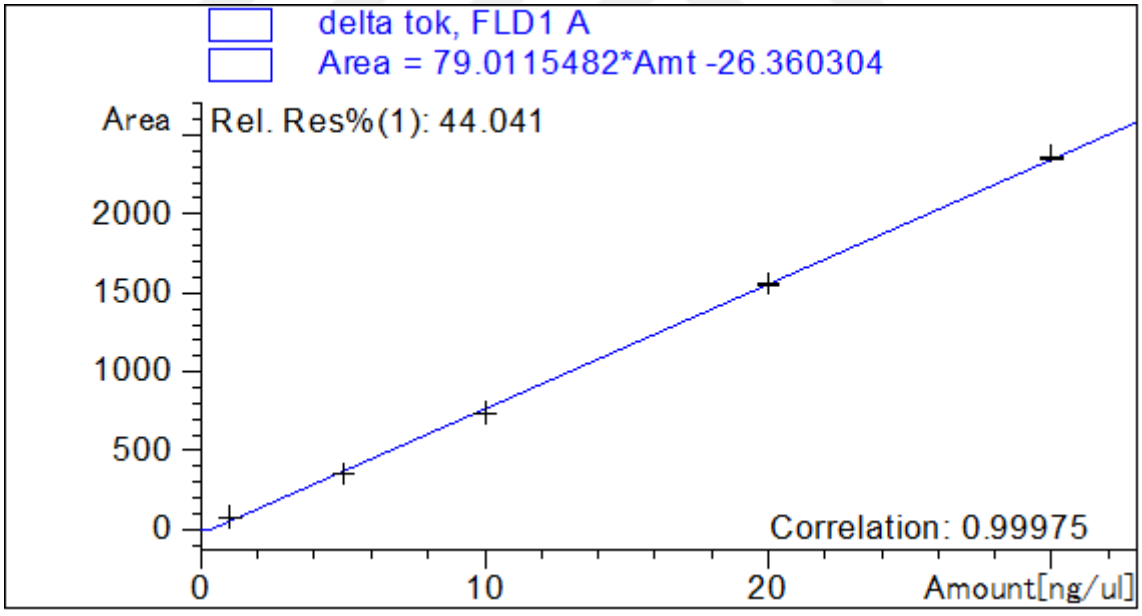
Kolon : Reprosil-Pur 120 CN (250x4,6; 5µm)
Hareketli Faz : %99.18 Hekzan-%0.82 İsopropanol
Akış Hızı : 0.88 mL/dk
Sıcaklık : 15 ^{0}C
Dedektör : FLD (295-330 nm)



Şekil 4.5 Alfa Tokoferol Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 4.6 Beta&Gama Tokoferol Kalibrasyon Eğrisi

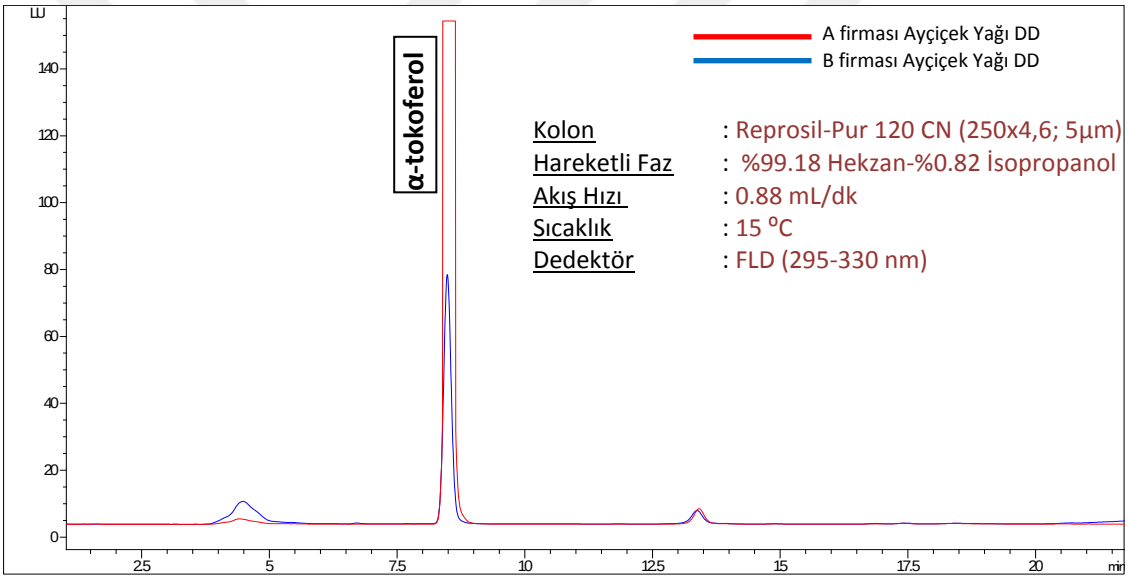


Şekil 4.7 Delta Tokoferol Kalibrasyon Eğrisi

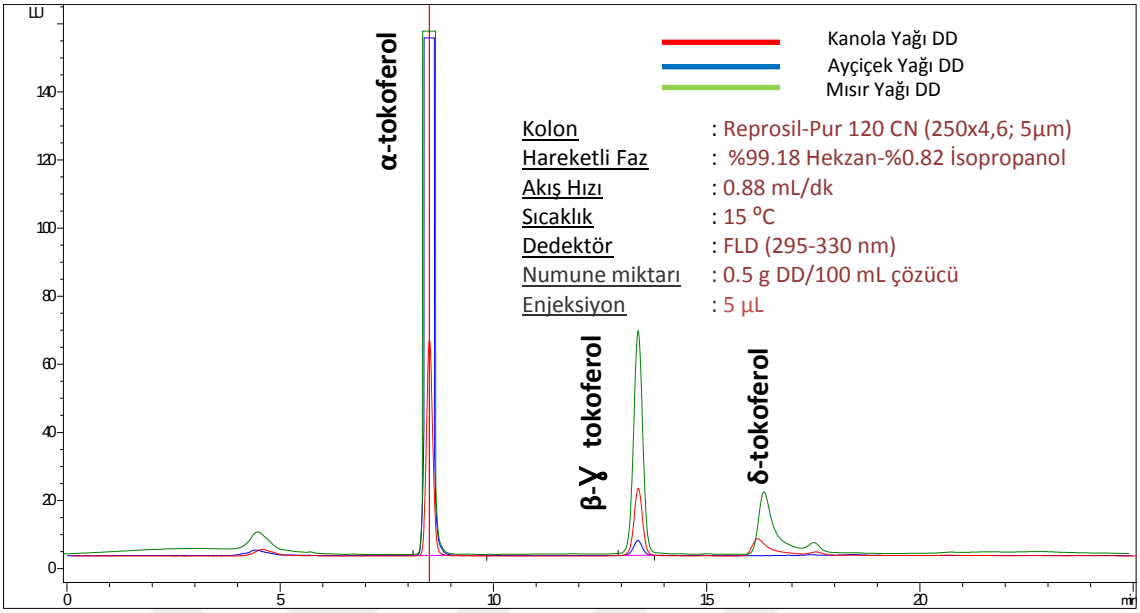
Şekil 4.4'de çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan standart tokoferol karışımlarının HPLC-FLD kromatogramları verilmiştir. Karışım konsantrasyonları 0.5 ppm'den başlayıp 30 ppm' e kadar çıkmaktadır. Karışım standart analizi tekli standart tokoferollerle karşılaştırıldığında hangi pikin hangi tokoferole ait olduğu bulunmaktadır. Tokoferollere ait kalibrasyon eğrileri Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

4.1.1.3. Deodorize Distilat Analizleri

Kemometrik tasarım sonrası bulunan optimum metot şartlarında bitkisel yağ rafinasyon tesislerinden temin edilen deodorize distilat numuneleri HPLC-FLD-DAD sistemlerinde tokol içerikleri bakımından incelenmiştir (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Bu analizler doğrultusunda hangi bitkisel yağ ve hangi firmanın ürünleriyle çalışılacağı belirlenmiştir.



Şekil 4.8 İki farklı firmadan alınan ayçiçek yağı deodorize distilat (DD) numunelerinin HPLC-FLD kromatogramları

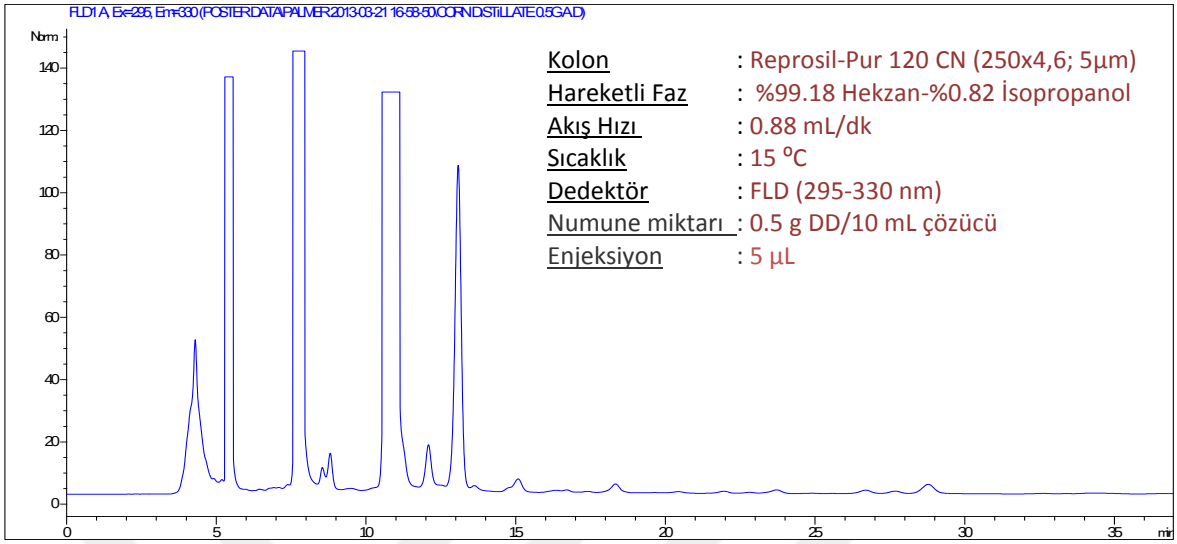


Şekil 4.9 Aynı firmadan alınan çeşitli bitkisel yağ deodorize distilat (DD) numunelerinin HPLC-FLD kromatogramları

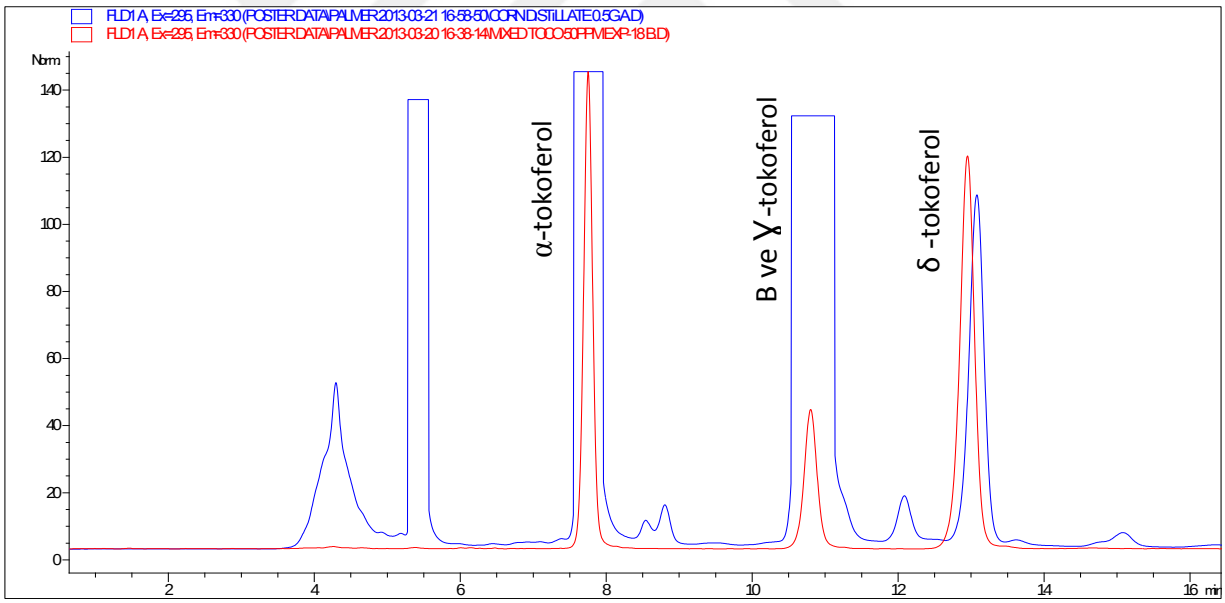
Tablo 4.2. Bitkisel Yağ Deodorize Distilatlarına ait tokoferol miktarları

	α-tok(%)	β veƔ-tok (%)	δ-tok (%)	Toplam (%)
Ayçiçek Yağı DD	1,65	0,07	-	1,72
Kanola Yağı DD	0,29	0,45	0,05	0,78
Mısır Yağı DD	1,54	0,21	0,13	1,88

Şekil 4.8'de iki farklı ayçiçek yağı deodorize distilat numunelerinin optimum sonuç olarak bulunan 18 numaralı metoda göre HPLC-FLD sisteminde yapılmış kromatogramları verilmiştir. Şekil 4.9'da aynı firmanın ayçiçek, mısır ve kanola yağı deodorize distilat numunelerinin yine 18 numaralı metoda göre yapılmış HPLC-FLD kromatogramları verilmiştir. Kromatogramlardan da görüldüğü üzere ***mısır yağı deodorize distilatının*** diğer yağlara göre miktarca daha fazla tokoferol içerdiği saptanmıştır.



Şekil 4.10 Mısır Yağı Deodorize Distilatı HPLC-FLD Kromatogramı



Şekil 4.11 Mısır yağı deodorize distilatı ve standarta ait tokoferol analiz sonuçları (Analitik kolon ve Metot-18)

Şekil 4.9 kromatogramı üzerinde yapılan hesaplamalara göre (Tablo 4.2) mısır yağı deodorize distilatında toplam % 1,88 tokoferol olduğu tespit edilmiştir.

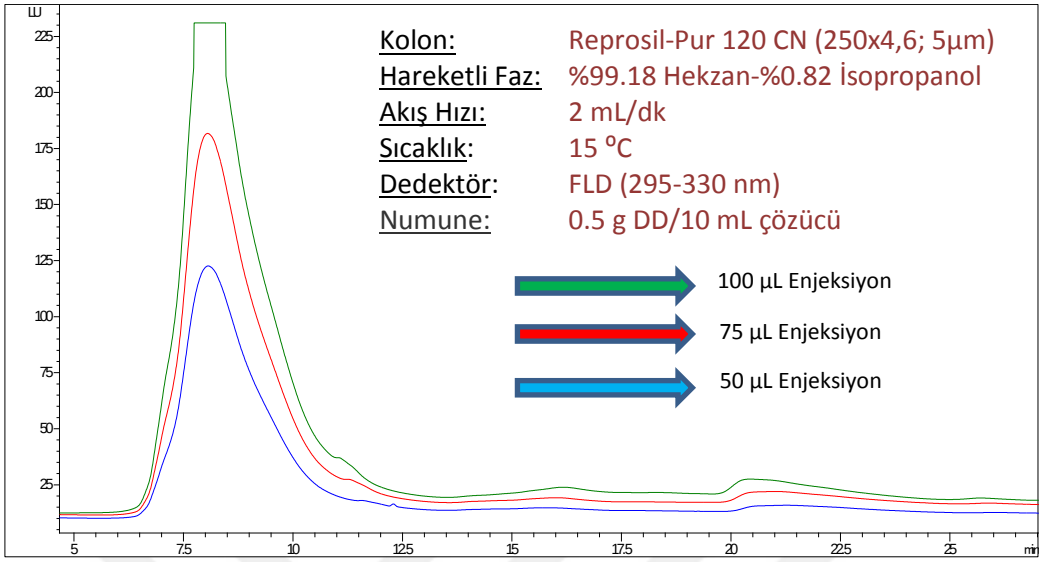
4.1.2. Yarı Preparatif HPLC Analizleri

4.1.2.1. Optimizasyon Deneyleri

Analitik HPLC analizleri için yapılan kemometrik tasarım sonucunda tespit edilen optimum metot doğrultusunda, yarı-preparatif HPLC sistemine ölçeklendirme amaçlı, yeni optimum parametreyi bulmak için *deodorize distilat* numunesinde bazı optimizasyon denemeleri yapılmıştır. Denemelerde kullanılan parametreler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 4.3: Yarı-Preparatif kolon için optimizasyon parametreleri

Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	**Sıcaklık (^{0}C)**	**Akış Hızı (mL/dk)**	**Enjeksiyon (µL)**	**Dedektör**	**Numune Miktarı (g DD/10 mL Çözücü)**
99.18 : 0.82	15	0.88 1 1.5 2 3	10 50 75 100	FLD DAD	0.5 1 2 3

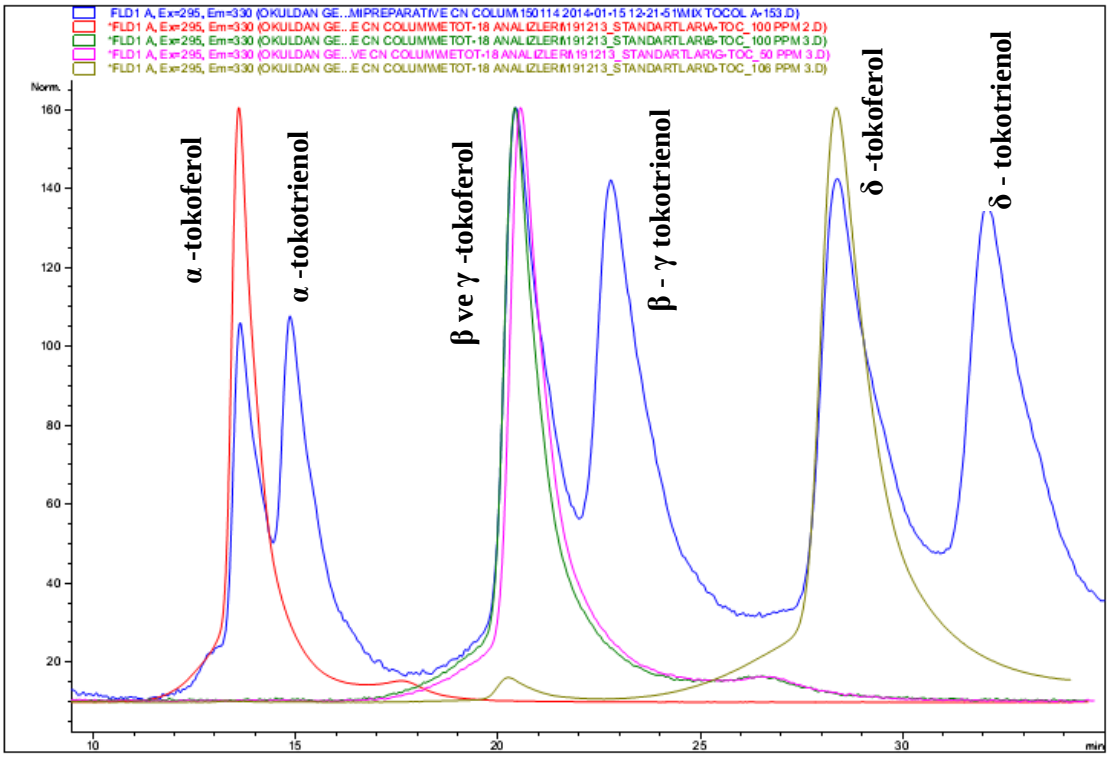


Şekil 4.11 Farklı enjeksiyonlarda Deodorize Distilat analizleri

Şekil 4.11 'de verilen örnek kromatogramda olduğu gibi numune miktarı ve akış hızı içinde bir takım optimizasyon denemeleri yapılmıştır.

Yarı-preparatif HPLC sisteminde gerçekleştirilen dedodorize distilat analizlerinde tokoferol&tokotrienoller türlerinin çıkış yerlerini tespit etmek amacıyla tokol karışımı (α, β, γ, δ-tokoferol ve tokotrienol) aşağıda verilen deney şartlarında analiz edilmiştir (şekil 4.12).

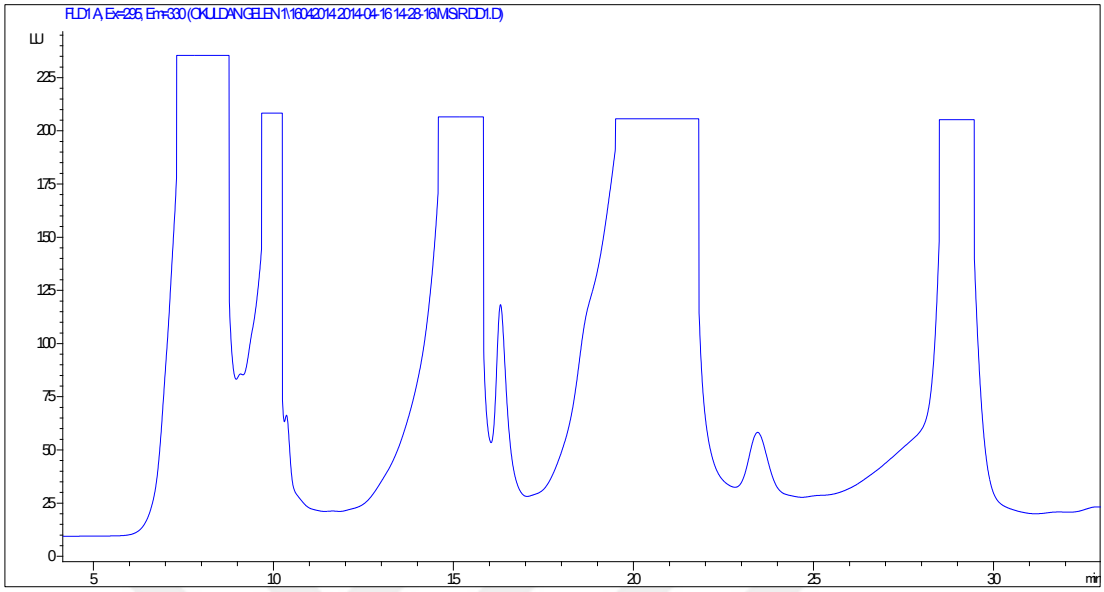
Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	**Sıcaklık (^{0}C)**	**Akış Hızı (mL/dk)**	**Enjeksiyon (µL)**
99.18 : 0.82	15	2	100



Şekil 4.12 Standart karışım tokol numunesi ve tekli standart tokoferol kromatogramları birleşimi

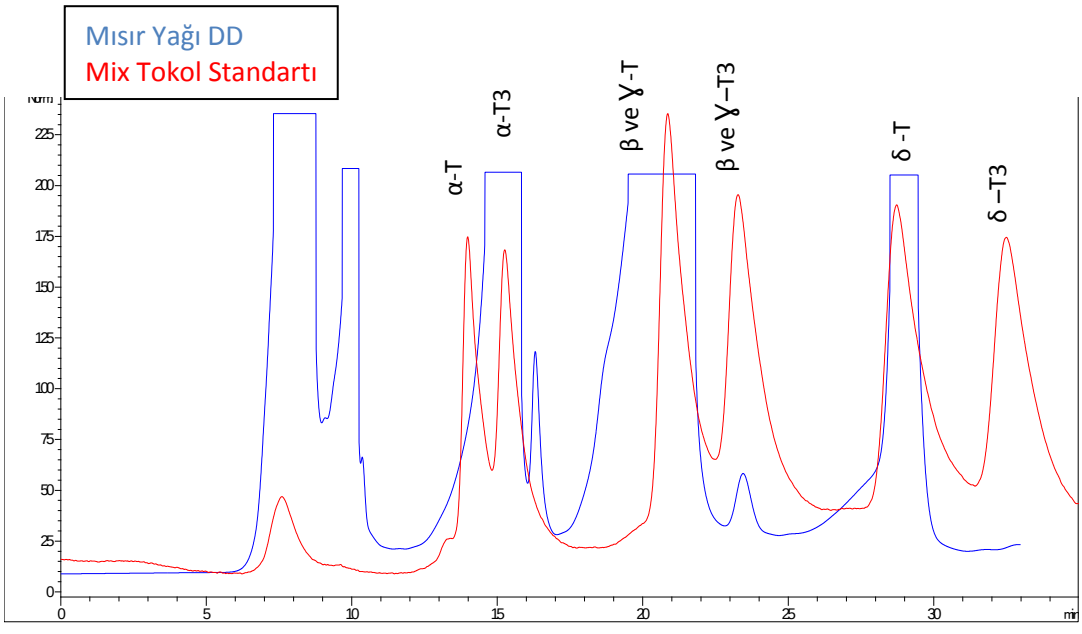
Şekil 4.12 ‘de görülen kromatogramlar standart karışım tokol analizi üzerine tekli standart tokoferol analizlerinin birleştirilmiş kromatogramlarıdır.

Bu denemeler sonucunda yarı-preparatif HPLC sisteminde fraksiyon toplayabilmek için optimum metot olarak bulunan parametrelerin analizi şekil 4.13 ‘de gösterilmiştir.



Şekil 4.13 Yarı-preparatif Sistemde Optimum Deodorize Distilat Analizi

Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	Sıcaklık (^{0}C)	Akış Hızı (mL/dk)	Enjeksiyon (µL)	Numune Miktarı (g DD/10 mL Çözücü)
99.18 : 0.82	15	2	100	1

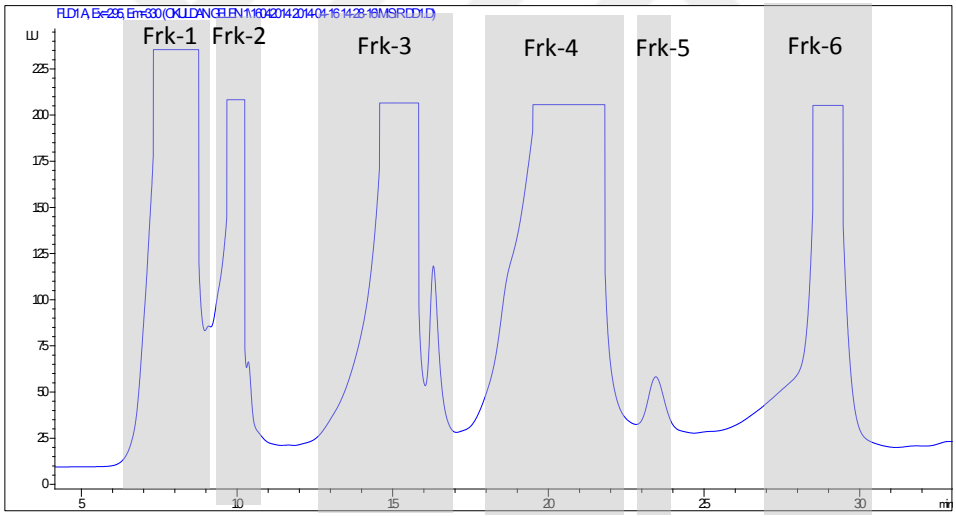


Şekil 4.14 Mısır yağı deodorize distilat kromatogramı üzerinde tokol yerleri

4.1.2.2. Deodorize Distilatından Fraksiyon Toplanma İşlemi

Yarı-preparatif HPLC sisteminde ayrımı gerçekleştirilen deodorize distilat numunesinin tüm fraksiyonları manuel olarak aşağıdaki metot şartlarında 10 defa toplanmıştır.

Hareketli Faz (%Hekzan:İsopropanol)	Sıcaklık (^{o}C)	Akış Hızı (mL/dk)	Enjeksiyon (µL)	Numune Miktarı (g DD/10 mL Çözücü)
99.18 : 0.82	15	2	100	1



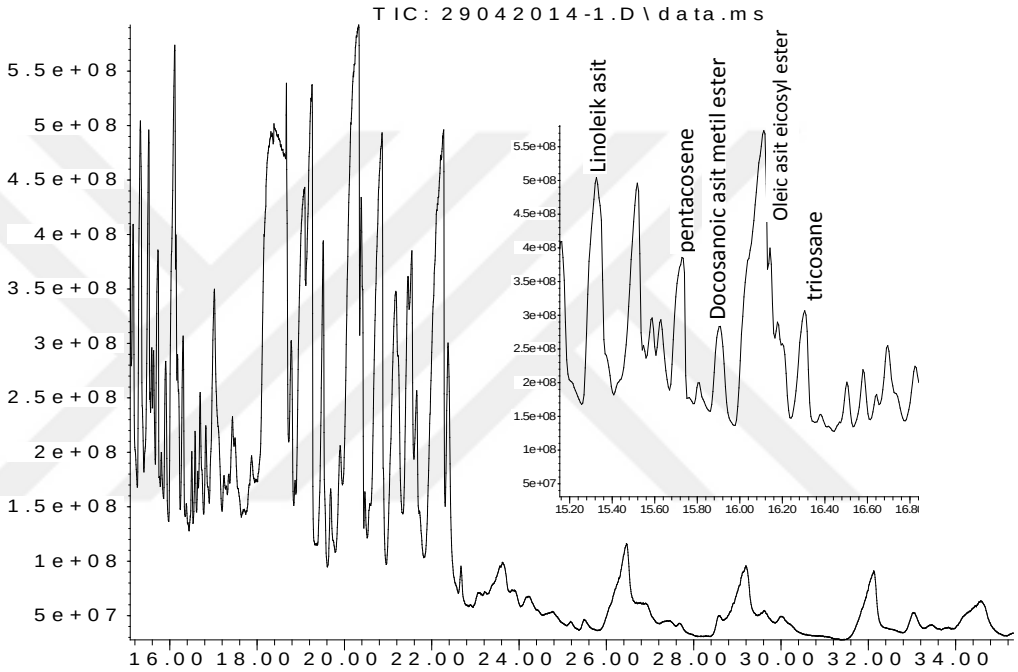
Şekil 4.15 Deodorize distilat numunesinin fraksiyon toplama kromatogramı

Şekil 4.15'de verilen kromatogramdaki pikler işaretlenen yerlere göre manuel olarak toplanmıştır. Bu analiz 10 defa tekrarlanarak fraksiyonlar biriktirilmiştir. Biriktirilen fraksiyon numuneleri Frk-1, Frk-2, Frk-3, Frk-4, Frk-5 ve Frk-6 olarak numaralandırılmıştır. Daha sonra numuneler karakterizasyon için GC-MS sisteminde analiz edilmek üzere muamele edilmiştir.

4.1.3. GC-MS Analizleri

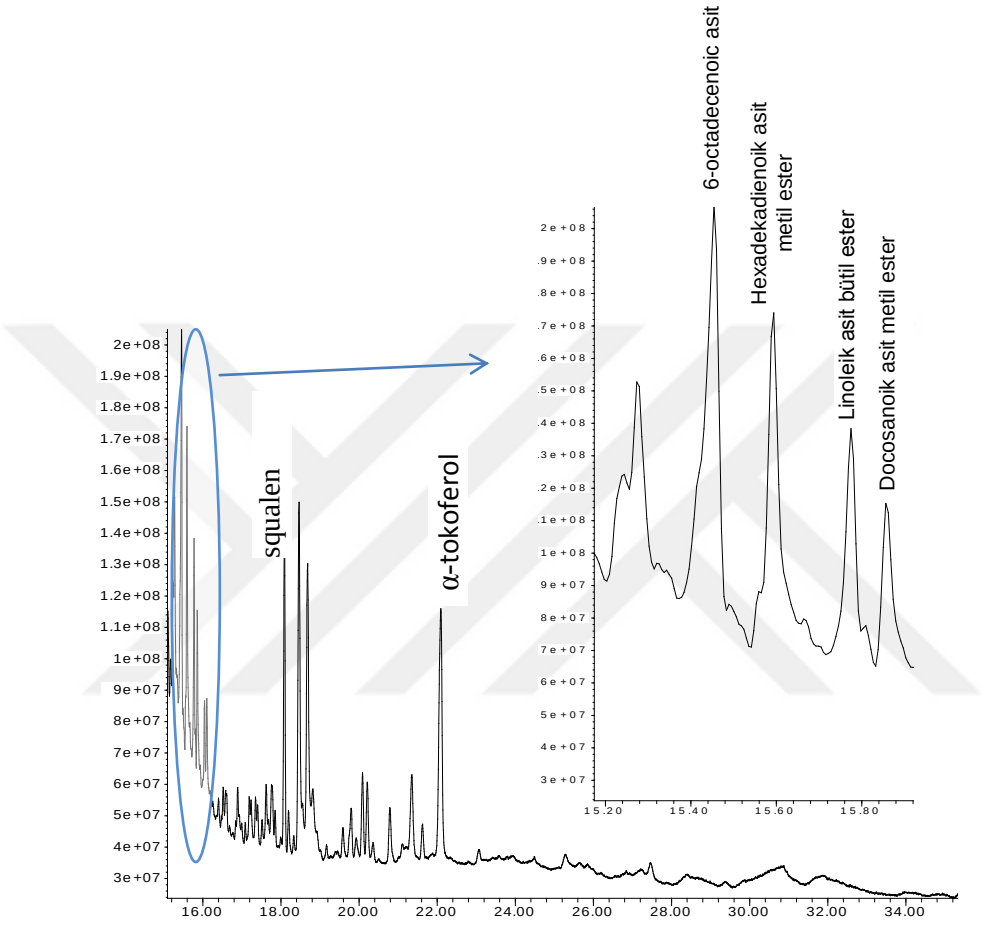
Yarı-preparatif HPLC sisteminde toplanan her bir fraksiyon numunesi gerekli işlemler sonrası GC-MS sisteminde karakterizasyon amaçlı analiz edilmiştir. Analiz raporuna göre toplanan fraksiyon numunelerinin içerikleri şöyledir;

- **Frk-1** numunesinde çeşitli **yağ asitleri ve esterleri** tespit edilmiştir.



Şekil 4.16 Fraksiyon 1'e ait GC-MS kromatogramı

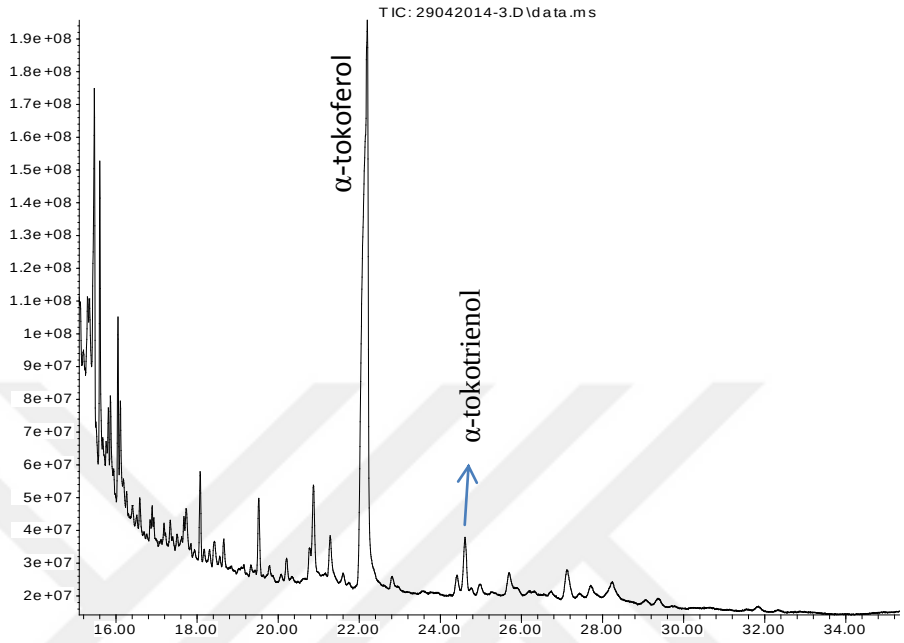
- **Frk-2** numunesinde ise yine **yağ asidi ve esterleri** yanısıra **squalen** tespit edilmiştir.



Şekil 4.17 Fraksiyon 2'e ait GC-MS kromatogramı

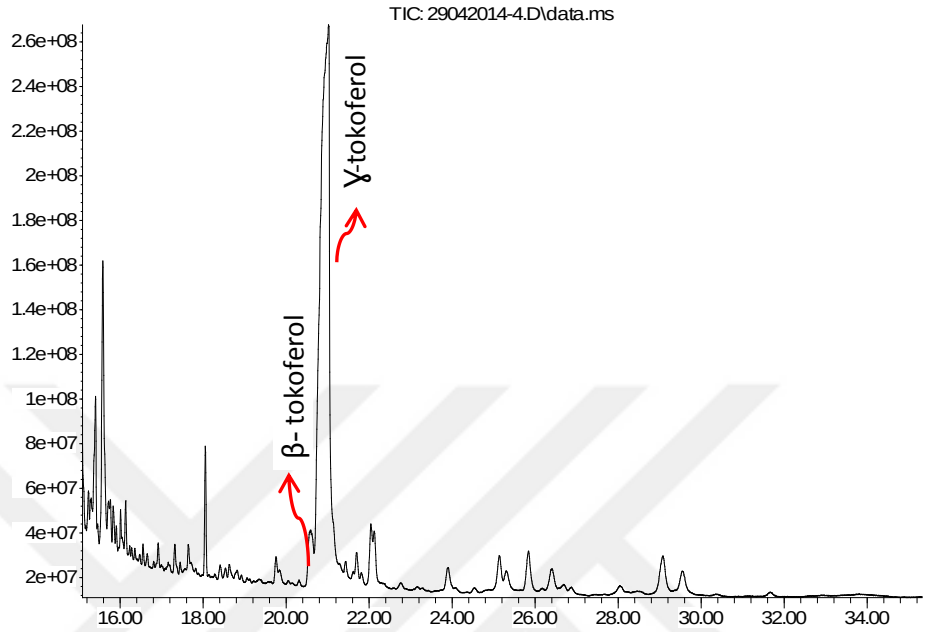
Şekil 4.17'de ki Frk-2'ye ait kromatogramda, bir sonraki fraksiyonda gelecek olan α-tokoferol maddesi, fraksiyon toplama esnasında ki girişimlerden dolayı bir miktar izlenmiştir.

➢ **Frk-3** numunesinde **α-tokoferol** ve **α-tokotrienol** tespit edilmiştir.



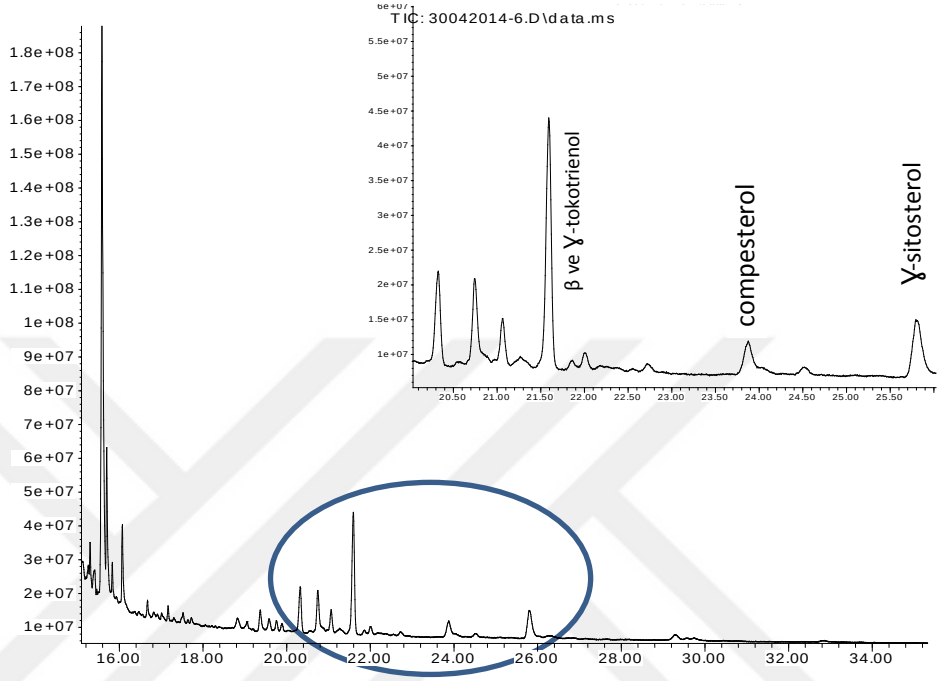
Şekil 4.18 Fraksiyon 3'e ait GC-MS kromatogramı

➢ **Frk-4** numunesinde **β-tokoferol** ve **ɣ-tokoferol** maddeleri tespit edilmiştir.



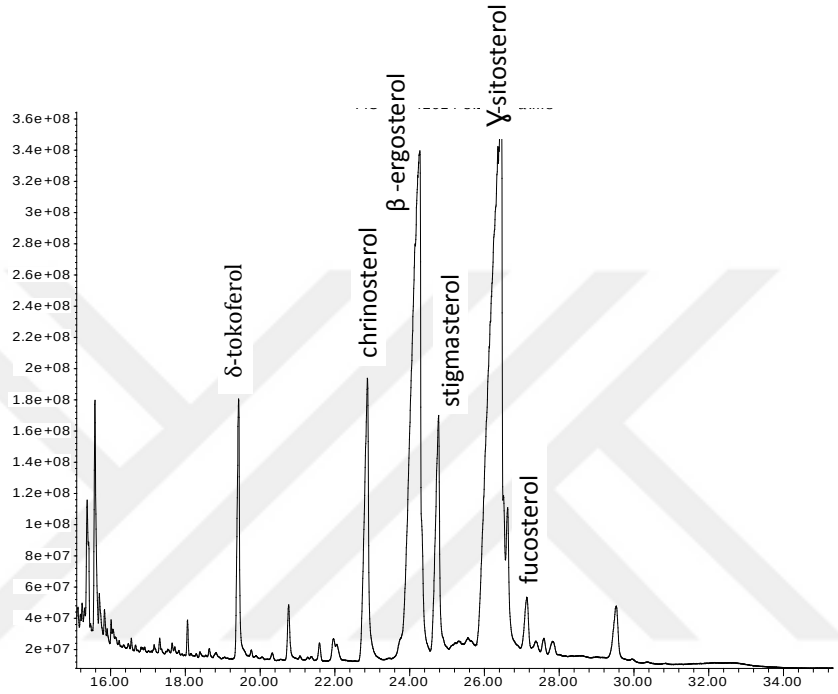
Şekil 4.19 Fraksiyon 4'e ait GC-MS kromatogramı

➢ **Frk-5** numunesinde **β ve ɣ-tokotrienol,** ɣ-sitosterol ve compesterol maddeleri tespit edilmiştir.



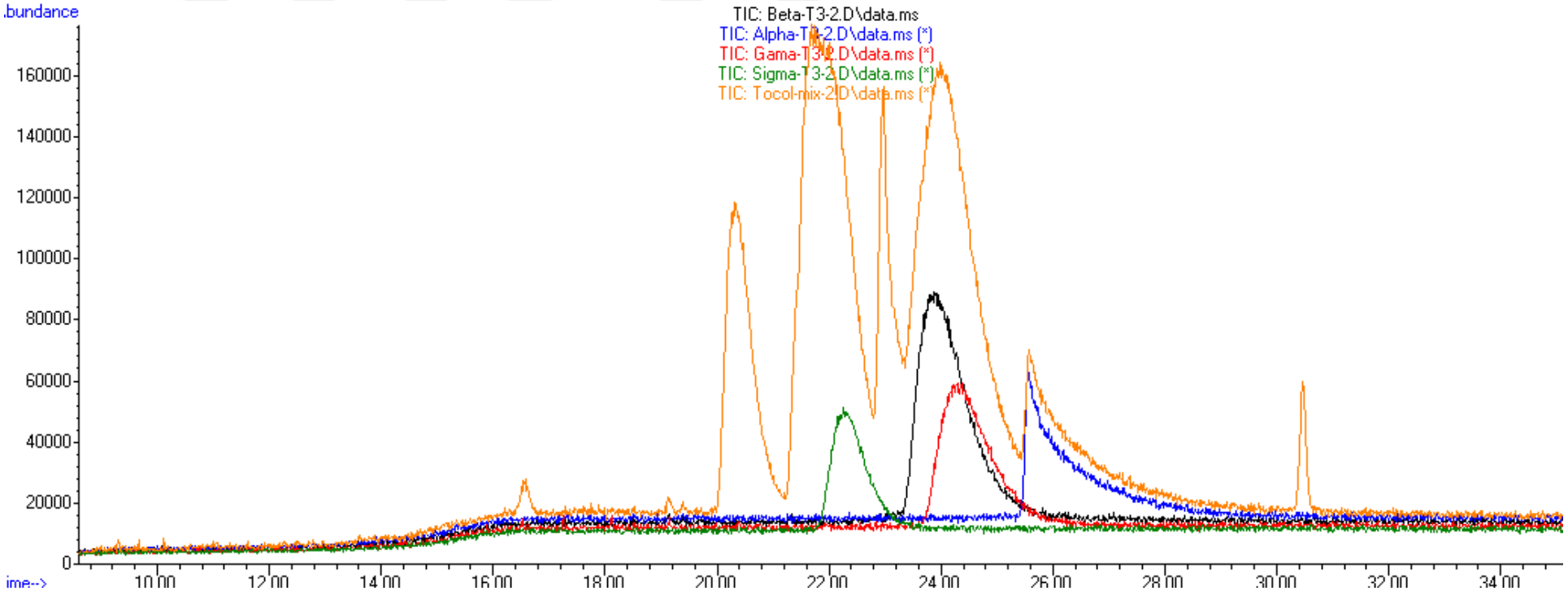
Şekil 4.20 Fraksiyon 5'e ait GC-MS kromatogramı

- **Frk-6** numunesinde ise **δ-tokoferol** ve **sterol** çeşitleri içerdiği gözlenmiştir. Chrinosterol, β –ergosterol, stigmasterol, ϒ-sitosterol, Fucosterol maddeleri tespit edilmiştir.



Şekil 4.21 Fraksiyon 6'ya ait GC-MS kromatogramı

- Tokoferol ve Tokotrienol standartlarına ait GC-MS kromatogramı aşağıda Şekil 4.22'de verilmiştir.



Şekil 4.22 Tokoferol ve Tokotrienol Standartlarına ait GC-MS Kromatogramları

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bitkisel yağ sektöründeki en önemli ve tam olarak önlenmesi mümkün olmayan kayıpların başında deodorizasyon prosesi sırasında meydana gelen biyoaktif bileşenler gelmektedir. Deodorizasyon prosesinin iyileştirilmesi ile bir miktar azaltılabilecek bu kayıpların önüne tam olarak geçmek maalesef mümkün değildir. Bu sebeple; deodorizasyon basamağının yan ürünü olarak nitelendirilen deodorize distilatlarının etkin biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Tokoferoller, antioksidan bakımından değerli doğal antioksidanlardır. Doğal E vitamini α, β, γ, ve δ tokoferol ve bunların tokotrienollerinden oluşan bir yapıdır. E vitamininin bu sekiz bileşeninin her biri farklı antioksidan ve biyolojik aktivitelere sahiptir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda deodorize distilatlardaki değerli biyoaktif bileşiklerin ayrımı ve geri kazanımı klasik metotlarla yapılmaya çalışılmış ve sonuçta çok küçük miktarlarda elde edilen türler herhangi bir değerlendirilmeye alınamamıştır.

Bu çalışmada; deodorize distilatlarda bulunan değerli biyoaktif bileşiklerden olan tokoferol ve tokotrienollerin ayrımı ve geri kazanımı, modern bir yöntem olan yarı-preparatif HPLC kullanılarak numune hiçbir ön işleme tabi tutulmadan sağlanmıştır. 3 aşamalı bir yol izlenmiştir.

İlk aşamada yağlarda tokoferol ve tokotrienolleri ayırabilecek uygun metot bulmak için analitik HPLC sisteminde siyano (CN) kolon ile bazı ön çalışmalar yapılmıştır. Bu ön çalışmalar ışığında uygun kromatografik şartların belirlenmesi için kemometrik tasarımlı optimizasyon deneyleri yapılmıştır. Optimum ayrım için bulunan parametre ile aynı zamanda literatüre yeni bir analitik metot kazandırılmıya çalışılmıştır. Optimum metot üzerinde, temin edilen çeşitli deodorize distilat numunelerini analiz ederek bundan sonraki deneyler için tokol bakımından zengin olanı seçmeye çalıştık.

İkinci aşamada ise analitik HPLC sistemi için bulunan optimum metot yarı-preparatif HPLC sistemi için uyarlanmaya çalışıldı. Bunun için bazı optimizasyon analizleri yapılarak yeni bir optimum parametre belirlendi.

Üçüncü ve son aşamada yarı-preparatif sistemde oluşturulan metot üzerinde ayrılabilecek maksimum miktarda deodorize distilat numunesi enjekte edilerek fraksiyonları manuel olarak toplandı. Toplanan fraksiyonlar GC-MS cihazında analiz edilerek içeriğinde neler olduğu incelendi. GC-MS sonuç raporuna göre; topladığımız fraksiyonların beklediğimiz gibi tokoferol ve tokotrienol maddeleri olduğu anlaşılmış oldu.

Bu sonuçlardan anlaşıldığı gibi, kozmetik, ilaç ve gıda sektöründe doğal nitelikli antioksidan ve vitamin olarak kullanılabilecek yüksek pazar payına sahip tokol türleri, rafinasyon atığı olan deodorize distilatlardan, geliştirdiğiz yeni yöntem (yarı-preparatif HPLC) ile daha büyük miktarlarda elde edilebilecekler.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Huriye ÇAKIR TAŞ

Uyruğu : T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi : Sarayönü/20.09.1989

Telefon : 505 703 87 99

e-mail : cakir89@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Selçuklu Lisesi/Selçuklu/Konya	2006
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi/Selçuklu/Konya	2010
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi/Selçuklu/Konya	-
Doktora	:	-	-

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2014-2014	Saraçoğlu Boya	Kalite Kontrol
2014-2016	Meram Çevre Teknolojileri	Kalite Yöneticisi
2018-	Sector Tarım	Analist

UZMANLIK ALANI

- Kromatografik (HPLC, GC) ayırma teknikleri ve uygulamaları
- HPLC sabit faz geliştirme ve kolon doldurma teknikleri

YABANCI DİLLER

- İngilizce

KAYNAKLAR

Akgün, N. A., 2011, Separation of squalene from olive oil deodorizer distillate using supercritical fluids, *European journal of lipid science and technology*, 113 (12), 1558-1565.

Arslan, F. N., 2009, Ülkemizde Üretilen Pamuk Yağlarının Rafinasyonunun İyileştirilmesiyle Kullanım Verimliliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi *Selçuk Üniversitesi*, Konya.

Ayyıldız, H. F., 2010, Otomatikleştirilmiş akış enjeksiyon sistemleriyle yağ analiz metotlarının geliştirilmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Batistella, C. B., Moraes, E., Maciel Filho, R. ve Maciel, M. W., 2002, Molecular distillation, *Applied biochemistry and biotechnology*, 98 (1-9), 1187-1206.

Baydar, H., 2000, Bitkilerde yağ sentezi, kalitesi ve kaliteyi artırmada ıslahın önemi, *Ekin Dergisi*, 11, 50-57.

Bilber, O., 2010, Bazı Gıdalarda Suda ve Yağda Çözünen Vitaminlerin Eşzamanlı Tayin Metodunun Optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü* Konya.

De Greyt, W. F., Kellens, M. J. ve Huyghebaert, A. D., 1999, Effect of physical refining on selected minor components in vegetable oils, *Lipid/Fett*, 101 (11), 428-432.

Dinç, E., 2007, Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri, *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 1 (27), 61-92.

Dumont, M.-J. ve Narine, S. S., 2007, Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization, *Food Research International*, 40 (8), 957-974.

El-Mallah, M. H., El-Shami, S. M., Hassanien, M. M. M. ve Abdel-Razek, A. G., 2011, Effect of chemical refining steps on the minor and major components of cottonseed oil, *Agriculture and Biology Journal of North America*, 2 (2), 341-349.

Fang, T., Goto, M., Wang, X., Ding, X., Geng, J., Sasaki, M. ve Hirose, T., 2007, Separation of natural tocopherols from soybean oil byproduct with supercritical carbon dioxide, *The Journal of supercritical fluids*, 40 (1), 50-58.

Gadoth, N., 2008, On fish oil and omega-3 supplementation in children: The role of such supplementation on attention and cognitive dysfunction, *Brain and Development*, 30 (5), 309-312.

Ghosh, S. ve Bhattacharyya, D., 1996, Isolation of tocopherol and sterol concentrate from sunflower oil deodorizer distillate, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73 (10), 1271-1274.

Güçlü-Üstündağ, Ö. ve Temelli, F., 2007, Column fractionation of canola oil deodorizer distillate using supercritical carbon dioxide, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84 (10), 953-961.

Gunawan, S. ve Ju, Y. H., 2009, Vegetable oil deodorizer distillate: characterization, utilization and analysis, *Separation & Purification Reviews*, 38 (3), 207-241.

Havuz, T., 2007, Anod Çamurunda ki Kurşunun Sodyum Karbonatli Ortamda Giderilmesi, *Atatürk Üniversitesi*.

Hrastar, R., Cheong, L. Z., Xu, X., Jacobsen, C., Nielsen, N. S., Miller, R. L. ve Košir, I. J., 2011, Deodorization optimization of Camelina sativa oil: oxidative and sensory studies, *European journal of lipid science and technology*, 113 (4), 513-521.

Ibanez, E., Palacios, J., Senorans, F., Santa-Maria, G., Tabera, J. ve Reglero, G., 2000, Isolation and separation of tocopherols from olive by-products with supercritical fluids, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77 (2), 187-190.

Iqbal, S., Sherazi, S. ve Bhanger, M., 2005, The vegetable oil industry in Pakistan-Shahid Iqbal, STH Sherazi, and MI Bhanger update the status of the vegetable oil industry in Pakistan, *Inform-International News on Fats Oils and Related Materials*, 16 (8), 526-527.

Marks, C., 1988, Determination of free tocopherols in deodorizer distillate by capillary gas chromatography, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65 (12), 1936-1939.

Martins, P., Ito, V., Batistella, C. ve Maciel, M. W., 2006, Free fatty acid separation from vegetable oil deodorizer distillate using molecular distillation process, *Separation and Purification Technology*, 48 (1), 78-84.

Mendes, M., Pessoa, F. ve Uller, A., 2002, An economic evaluation based on an experimental study of the vitamin E concentration present in deodorizer distillate of soybean oil using supercritical CO 2, *The Journal of supercritical fluids*, 23 (3), 257-265.

Mendes, M., Pessoa, F., Coelho, G. ve Uller, A., 2005, Recovery of the high aggregated compounds present in the deodorizer distillate of the vegetable oils using supercritical fluids, *The Journal of supercritical fluids*, 34 (2), 157-162.

Naz, S., Sherazi, S. T. H., Talpur, F. N., Talpur, M. Y. ve Kara, H., 2012, Determination of Unsaponifiable Constituents of Deodorizer Distillates by GC–MS, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89 (6), 973-977.

Quancheng, Z., Guihua, S., Hong, J. ve Moucheng, W., 2004, Concentration of tocopherols by supercritical carbon dioxide with cosolvents, *European Food Research and Technology*, 219 (4), 398-402.

Shimada, Y., Nakai, S., Suenaga, M., Sugihara, A., Kitano, M. ve Tominaga, Y., 2000, Facile purification of tocopherols from soybean oil deodorizer distillate in high yield using lipase, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77 (10), 1009-1013.

Topkafa, M., 2013, Yenilebilir Nar Çekirdeği Yağının Rafinasyon Özelliklerinin İncelenmesi, *Selçuk Üniversitesi*.

Torres, C. F., Torrelo, G., Senorans, F. J. ve Reglero, G., 2007, A two steps enzymatic procedure to obtain sterol esters, tocopherols and fatty acid ethyl esters from soybean oil deodorizer distillate, *Process Biochemistry*, 42 (9), 1335-1341.

Verhé, R., Verleyen, T., Van Hoed, V. ve De Greyt, W., 2006, Influence of refining of vegetable oils on minor components, *J Oil Palm Res*, 4, 168-179.

Verleyen, T., Verhé, R., Garcia, L., Dewettinck, K., Huyghebaert, A. ve De Greyt, W., 2001, Gas chromatographic characterization of vegetable oil deodorization distillate, *Journal of Chromatography A*, 921 (2), 277-285.

Wan, J., Zhang, W., Jiang, B., Guo, Y. ve Hu, C., 2008, Separation of individual tocopherols from soybean distillate by low pressure column chromatography, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85 (4), 331-338.

Watanabe, Y., Nagao, T., Hirota, Y., Kitano, M. ve Shimada, Y., 2004, Purification of tocopherols and phytosterols by a two-step in situ enzymatic reaction, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81 (4), 339-345.

Yan, F., Yang, H., Li, J. ve Wang, H., 2012, Optimization of phytosterols recovery from soybean oil deodorizer distillate, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89 (7), 1363-1370.

Yun, L., Ling, W. ve Yunjun, Y., 2010, Cogeneration of biodiesel and tocopherols by combining pretreatment with supercritical carbon dioxide extraction from soybean oil deodorizer distillate, *Chemistry and technology of fuels and oils*, 46 (2), 79-86.

Zehnder, C. ve McMichael, C., 1967, Deodorization, principles and practices, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 44 (10), A478-A480.

Zhou, W. W., Qin, D. H. ve Qian, J. Q., 2009, Optimisation of enzymatic pretreatment of soybean oil deodoriser distillate for concentration of tocopherols, *International journal of food science & technology*, 44 (7), 1429-1437.