

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MENENĞİÇ TOHUMLARINDAN YAĞ ELDESİ: SULU EKSTRAKSİYONA
ENZİM VE YÜZEY AKTİF MADDE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya SİDAR

Anabilim Dalı : İleri Teknolojiler

**Programı : Moleküler Biyoloji Genetik ve
Biyoteknoloji**

HAZİRAN 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MENENGİÇ TOHUMLARINDAN YAĞ ELDESİ: SULU EKSTRAKSİYONA
ENZİM VE YÜZEY AKTİF MADDE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Hülya SİDAR
(521091092)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 8 Nisan 2011
Tezin Savunulduğu Tarih : 10 Haziran 2011**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Melek TÜTER (İTÜ)
Doç. Dr. Sevil YÜCEL (YTÜ)**

HAZİRAN 2011

ÖNSÖZ

Tüm çalışmalarım esnasında bilgi ve deneyimlerini paylaşan, yaşadığım her sorunda tavsiyede bulunan ve desteğini hiç esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN'e, en içten teşekkürlerimi ifade etmek isterim.

Aynı zamanda çalışmalarım esnasında deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY ve Prof. Dr. Melek TÜTER'e teşekkürlerimi sunarım.

Sağladığı maddi ve manevi destek ile yüksek lisans eğitimimi ve çalışmalarımı en iyi şekilde yürütmemi sağlayan TUBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2011

Hülya SİDAR
Gıda MÜHENDİSİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	3
2.1 Menengiç (<i>Pistachia terebinthus L.</i>) Tohumu ve Yağının İncelenmesi.....	3
2.1.1 Menengiç tohumlarının kullanım alanları ve önemi.	9
2.2 Yağların Kimyasal Yapısı.....	10
2.3 Endüstriyel Bitkisel Yağ Eldesi ve Rafinasyonu	15
2.3.1 Ön işlemler	15
2.3.2 Mekanik presleme yöntemi.	18
2.3.3 Solvent ekstraksiyonu yöntemi.....	19
2.3.4 Önpresleme-ekstraksiyon yöntemi.....	20
2.3.5 Ham yağın rafinasyonu	20
2.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Yöntemi.....	21
2.5 Enzimler Hakkında Genel Bilgi.....	24
2.6 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Çalışmaları Üzerine Literatür Araştırması.....	27
3. DENEYSELÇALIŞMALAR.....	31
3.1 Kullanılan Hammaddeler.....	31
3.2 Yöntemler.....	32
3.2.1 Yabani fıstık tohumlarının karakterizasyonu.....	32
3.2.2 Yabani fıstık tohum yağlarının karakterizasyonu.	33
3.2.3 Yabani fıstık tohum yağlarının yağ asitleri bileşimlerinin saptanması	34
3.2.4 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve ekstraksiyon veriminin hesaplanması	35
3.2.5 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine yüzey aktif madde katkısını etkisi	37
3.2.6 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile en yüksek verimle elde edilmiş yağın karakterizasyonu	37
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	39
4.1 Yabani Fıstık Tohumlarının Karakterizasyonu.....	39
4.2 Yabani Fıstık Tohum Yağlarının Karakterizasyonu..	40
4.3 Menengiç Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyonla Yağ Eldesine pH, Süre, Enzim Cinsi ve Miktarının Yağ Verimine Etkisi.....	42
4.3.1 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, pH, enzim cinsi ve sürenin yağ verimine etkisi.....	42
4.3.2 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, enzim miktarının yağ verimine etkisi	45
4.3.3 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, sıcaklığın yağ verimine etkisi.....	46

4.3.4 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, süre artışının yağ verimine etkisi.....	49
4.4 Menengiç Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde, Tuz İlavesinin Yağ Verimine Etkisi.....	53
4.5 Menengiç Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde, Yüzey Aktif madde Katkısının Yağ Verimine Etkisi.....	55
4.6 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Elde Edilen Yağın Karakterizasyonu	56
5. VARGILAR VE ÖNERİLER...	57
KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	65

KISALTMALAR

AD	: Asitlik Değeri
AOCS	: Amerikan Yağ Kimyacıları Derneği
ESE	: Enzimatik Sulu Ekstraksiyon
EV_K	: Enzimatik Verim (Katı)
EV_S	: Enzimatik Verim (Sıvı)
FAME	: Yağ Asidi Metil Esteri
FFA	: Serbest Yağ Asidi
SE	: Sulu Ekstraksiyon

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: İçel yöresi menengiç tohumunun özellikleri	6
Çizelge 2.2: İçel menengiç yağının özellikleri.....	6
Çizelge 2.3: İçel menengiç tohumu yağının yağ asitleri bileşimi.....	6
Çizelge 2.4: Türkiye’de farklı yerlerden toplanmış menengiç tohumlarının yağ içerikleri	8
Çizelge 3.1: Gaz kromatografisi analiz koşulları.....	35
Çizelge 4.1: Gaziantep yöresi yabani fıstık(menengiç, menengül, cüce antep fıstığı) tohumlarının bazı fiziksel özellikleri.....	39
Çizelge 4.2: Gaiantep yöresi yabani fıstık (menengiç, menengül, cüce antep fıstığı) tohum yağlarının fizikokimyasal özellikleri ..	40
Çizelge 4.3: Gaziantep yöresi yabani fıstık (menengiç, menengül, cüce antep fıstığı) tohum yağlarının yağ asidi bileşimi.....	41
Çizelge 4.4: Menengiç tohumlarının proteaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi.....	43
Çizelge 4.5: Menengiç tohumlarının selülaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi	43
Çizelge 4.6: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi	44
Çizelge 4.7: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarının etkisi	46
Çizelge 4.8: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine sıcaklığın etkisi	47
Çizelge 4.9: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine sıcaklığın etkisi	48
Çizelge 4.10: Menengiç tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre artışının etkisi	50
Çizelge 4.11: Menengiç tohumlarının selülaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine 50 ve 60 °C da süre artışının etkisi.....	52
Çizelge 4.12: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine 40 ve 50 °C da süre artışının etkisi.....	52
Çizelge 4.13: Menengiç tohumlarının selülaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, tuz konsantrasyonunun yağ verimine etkisi	54
Çizelge 4.14: Menengiç tohumlarının selülaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, Labsa 101 yüzey aktif madde ilavesinin yağ verimine etkisi	55
Çizelge 4.15: Enzimatik sulu ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemine göre elde edilmiş menengiç yağı örneklerinin yağ asitleri bileşimleri	56

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Menengiç sürgünü.....	4
Şekil 2.2: Menengiç çiçekleri.....	4
Şekil 2.3: Ham menengiç meyvesi.....	5
Şekil 2.4: Olgun menengiç meyvesi.....	5
Şekil 2.5: Esterleşme reaksiyonları.....	10
Şekil 2.6: Bazı yağ asitlerinin 3D kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.7: Fosfotidilkolin.....	13
Şekil 2.8: Fosfotidil etanolamin.....	13
Şekil 2.9: Meyvelerden enzimatik yağ ekstraksiyonu metodu ile yağ eldesi blok diyagramı.....	22
Şekil 2.10: Bir kimyasal reaksiyonun enzim ile katalizlenmiş ve katalizlenmemiş halleri için enerji diyagramı.....	25
Şekil 3.1: Soxhlet düzeneği.....	32
Şekil 4.1: Menengiç tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi.....	45
Şekil 4.2: Menengiç tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_s) yağ verimine sıcaklık etkisi	47
Şekil 4.3: Menengiç tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_k) yağ verimine sıcaklık etkisi	49
Şekil 4.4: Menengiç tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_k) yağ verimine süre artışının etkisi	51
Şekil 4.5: Menengiç tohumlarının selüloz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, (V_s) yağ verimine tuz miktarının etkisi.....	54

MENENGIÇ TOHUMLARINDAN YAĞ ELDESİ: SULU EKSTRAKSİYONA ENZİM VE YÜZEY AKTİF MADDE ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışmada önce Anacardiaceae familyasından olan *Pistacia* türlerinden halk arasında menengiç diye bilinen *Pistacia terebinthus* tohumları ile halk arasında menengül ve cüce antep fıstığı olarak bilinen tohumların ve bu tohumlardan elde edilen yağlarının karakterizasyonu yapılmıştır. Menengiç, menengül ve cüce antepfıstığı tohumlarında sırası ile %44,3, %56,0 ve %55,5 oranlarında yağ bulunduğu tespit edilmiştir. Tohumlardan elde edilen yağların yağ asitleri bileşimleri incelendiğinde, tüm tohumların oleik asitce (%53-68) zengin olduğu belirlenmiştir.

Yağlı tohumlardan endüstriyel olarak yağ eldesinde çözücü ekstraksiyonu ve/veya presleme yöntemleri kullanılmaktadır. Hekzan ortamında çalışmak emniyet, çevre kirliliği ve sektörde çalışanların maruz kaldığı zararlarından ötürü sıkı tedbirlerin alınmasını gerektirdiğinden, ekstraksiyon ünitelerinin yatırım ve işletme maliyetleri yüksektir. Bu nedenle son yıllarda yağ eldesinde alternatif yöntemlere yönelme olduğu, özellikle enzimatik sulu ekstraksiyon yönteminin denendiği gözlenmektedir.

Çalışmalarımızın ikinci bölümünde, menengiç tohumlarından yağ eldesinde alternatif yöntemlerden biri olan sulu enzimatik ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla, tohumların ekstraksiyonu su ile yapılmış ve suya hücre çeperlerini degrade edebilecek enzimler (proteaz, selüaz ve pektinaz enzimleri) ilave edilmiştir. Yağ verimine reaksiyon parametrelerinin (pH, enzim cinsi ve miktarı ve sürenin) etkisi incelenmiş ve reaksiyon parametreleri optimize edilmiştir.

Enzimatik ekstraksiyonlar, 0,6-1 mm tohum fraksiyonu ile, 1:7 tohum:tampon çözelti oranında, pH 4-8 aralığında, 0,25-1 mL/g enzim miktarlarında ve 4-24 saatlik sürede gerçekleştirilmiştir. Proteaz olarak Alcalase 2.5L, selüaz olarak Celluclast 1.5L ve pektinaz olarak Pectinex Ultra Clear ticari enzimleri kullanılmıştır. Bu çalışmada ayrıca sulu ekstraksiyon ortamına bir anyonik yüzey aktif madde katılmış ve bu katkının yağ verimine olan etkisi de incelenmiştir.

Proteaz sulu enzimatik prosede en etkili enzim olmuştur. pH 7'de, 0,38 mL/g pektinaz miktarında 24 saat enzimatik işlem uygulandığında, küspede kalan yağ miktarının tespiti ile tohum yağının % 80,4'ünün hücrelerden sulu ortama geçmiş olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık sulu ekstraksiyon ortamından % 62,70 verimle yağ elde edilebilmektedir. Stabil yağ-su emülsiyonunun kırılmaması nedeniyle bu kayıp oluşmaktadır.

Çalışmamızın son bölümünde ise, menengiç tohumlarından konvansiyonel çözücü ekstraksiyonu ve enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiş yağlar mukayese edilmiştir. Yağ asitleri bileşimleri arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı da belirlenmiştir.

OIL EXTRACTION FROM TEREBINTH SEEDS: EFFECT OF ENZYME AND SURFACTANT ON THE AQUEOUS EXTRACTION

SUMMARY

In this study, at first, wild *Pistacia* seeds are, members of the family Anacardiaceae, locally named menengiç, menengül, cüce antep fistiği were analyzed. Seeds and their oils were characterized. Oil contents of menengiç, menengül and cüce antepfistiği were determined as 44.3%, 56.0% and 55.5% respectively. Gas chromatographic analyses of seed oils indicated that all of them are in oleic acid (53-68%).

In general plant oils are produced from seeds by solvent extraction and/or mechanical pressing methods. Because of the health hazards, safety and environmental issues associated with the use of hexane, the construction and operational costs of hexane extraction facilities are high. For these reasons, in recent years it was observed that numerous studies have been directed towards the alternative methods, especially aqueous enzymatic extraction method.

In the second part of study, to produce terebinth oil, aqueous enzymatic extraction was applied to terebinth seeds. For this purpose, protease, cellulase and pectinase enzymes were dissolved in water to degrade the cell walls of seeds. The effects of reaction parameters (pH, type and amount of enzymes, particle size and time) on the oil yield were investigated and optimized.

Enzymatic extractions were conducted with particle size 0.6-1mm taking a seed-to-buffer solution ratio of 1:7, between pH 4 to 8, using 0.25 – 1 mL/g enzyme amounts for 4–24 h at 50 °C. Alcalase 2.5L, Celluclast 1.5L and Pectinex Ultra Clear commercial enzymes were used as protease, cellulase and pectinase enzymes, respectively. Finally an anionic surfactant was added to aqueous extraction medium and its effect on the oil yield was also investigated.

Alcalase was quite effective in aqueous enzymatic process. When the enzymatic process conducted with 0.38 mL/g of alcalase at pH 7 for 24 h, the residual oil amount of the meal revealed that 80.4 % of oil released from the seeds to medium. However 62.70 % of total oil in the seeds was collected from extraction medium due to the formation of a stable oil-in-water emulsion.

The last part of the study, the oils extracted from seeds by conventional solvent extraction and aqueous enzymatic extraction methods were compared. No significant variation was observed in their fatty acid compositions.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülkemizin iklim ve toprak koşulları her tür yağ hammaddesi tarımına elverişlidir. Ayçiçeği, pamuk tohumu, susam, haşhaş, kolza, keten, soya, badem, ceviz, fındık ve mısır rüşeymi gibi pek çok yağ hammaddesinin üretimi yapılmaktadır.

Bunların dışında ise ülkemizde yüksek oranlarda yetişen, ancak yöresel kullanımın dışında pek değerlendirilemeyen yabancı olarak yetişen ağaçlar bulunmaktadır. Bunlar arasında büyük bir grup olarak, 70 milyona yakın yabancı olarak yetişen *Pistacia* türü ağaç bulunmaktadır. *Pistacia* sınıfına ait 11 farklı türden sadece antep fıstığı olarak bilinen *Pistacia vera* L. adlı türü ticari öneme sahiptir. Antep fıstığı dışında yabancı olarak yetişen ağaçların arasında Türkiye’de en fazla miktarda bulunan ağaç menengiç (*Pistacia terebintus* L.) dir. Menengiç meyveleri iştah açıcı olarak, özel köy ekmeklerinde, kahve ve çay şeklinde tüketilmektedir. Halk arasında kurutulmuş yaprak dekoksiyonunun mide rahatsızlıklarına iyi geldiği bilinmektedir. Meyveleri ise dahilen gastralgia ve romatizmada, haricen öksürükte (stimülan, diüretik ve antitüsiv olarak) kullanılmaktadır. Bu kullanımlarının dışında son zamanlarda gelişmiş kök sistemleri nedeni ile vejetatif bitki üretiminde aşı altlığı olarak bitki ıslahında kullanılmaktadır. Menengiçlere halen kalem aşısı ile Antep fıstığı aşılanmaktadır.

Yağlı tohumlarda, yağ doku yada hücreler içinde hapsolmuş olduğundan, ezme ve kavurma gibi ön işlemlerden geçirilmiş olsalar dahi, tohumlardan yağın basit bir filtrasyon veya dekantasyon işlemi ile dışarı sızdırılması olanağı yoktur. Bu nedenle yağlı tohumlardan yağ eldesinde presleme, ekstraksiyon ya da bunların kombine edildiği önpresleme-ekstraksiyon tekniklerinden birinden yararlanılmaktadır. Çözücü ekstraksiyonunda en yaygın kullanılan çözücü *n*-hekzandır, ayrıca kloroform-metanol karışımı da kullanılabilir. Genellikle hekzan kullanımı yüksek verime neden olmakla birlikte düşük protein kalitesi, yüksek yatırım ve enerji gereksinimleri gibi dezavantajları da vardır. Ayrıca hekzan, ekstraksiyon ve geri kazanılması işlemleri sırasında atmosfere yayılabilir ve diğer kirleticilerle etkileşime girerek çevreyi olumsuz yönde etkileyebilecek ozon ve fotokimyasal oksidanlar meydana getirebilir.

Hekzan kullanımına bağlı sorunları çözebilmek için, yenilebilir protein ve iyi kalitede yağ meydana getirebilecek sulu ve enzim katkılı ekstraksiyon prosesleri incelenmiştir. Sulu ekstraksiyon prosesinde yağ ekstraksiyon verimini arttırmak, yan ürünleri azaltmak ve daha hafif proses koşullarında ekstraksiyonu ele almak için, bazı enzimler, özellikle karbohidraz ve proteolitik enzimler, ekstraksiyon işleminde ilave edilmiştir.

Yüksek spesifite ve düşük proses sıcaklığı nedeniyle sıvı yağ endüstrisinde enzimatik sulu ekstraksiyon prosesi kullanılışlı olmaktadır. Çözücü ekstraksiyonu yöntemiyle karşılaştırıldığında enzimatik prosesde daha hafif koşullarda, örneğin düşük sıcaklıkta daha yüksek kalitede yağ ve proteince zengin küspe meydana gelir. Elde edilen yağın kalitesinin, özellikle renk ve serbest yağ asidi içeriği açısından daha iyi olduğu saptanmıştır. Ancak bu prosesin bazı sınırlamaları vardır, başlıcaları yağ ekstraksiyonunda düşük verim, demülsifikasyona neden olma, enzim maliyetleri ve sulu atık işlemleridir. Yağın eldesinde verimi arttırmak ve prosesi ticari olarak daha cazip hale getirebilmek için bu alanda araştırmaların sürdürölmektedir.

Menengiç tohumlarının endüstriyel olarak değerlendirilmesi, beslenmede ve yağ sanayiinde kullanımını yaygınlaştırmak için, bu çalışmada menengiç tohumları fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal olarak incelenmiş ve yüksek oranda içerdii yağın eldesinde ise, geleneksel yağ elde yöntemlerine alternatif, enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1 Menengiç (*Pistachia terebintus* L.) Tohumu ve Yağının İncelenmesi

Anacardiaceae familyasına ait olan Pistachia sınıfı ağaçları, 11 farklı türden oluşmaktadır [1]. Bunlardan sadece Antepfıstığı (*Pistachia vera* L.) çok büyük ticari öneme sahip olup, kuruyemiş ve gıda sanayinde kullanılan türdür. Antep fıstığının iki anavatanı vardır. Birisi Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkmenistan'ın yüksek kısımlarını içine alan Yakın Doğu gen merkezi, diğeri ise Orta Asya gen merkezidir. Antepfıstığının kültür formlarının gen merkezi ise Anadolu, İran, Suriye, Afganistan ve Filistin olduğu bildirilmektedir. Antepfıstığı günümüzde, 30-45 güney-kuzey paralelleri arasında ve genellikle kuzey yarımkürede, iklim olarak ifade edilen alanlarda yetiştirilmektedir.

Türkiye'de antepfıstığı dışında, yabancı Pistachia türlerinden olan *P. atlantica* (sakız) ağaçları Marmara, Ege, Akdeniz, Karadeniz ve Orta Anadolu bölgelerinde, *P. terebinthus* (menengiç) türü ise Türkiye'de en fazla yetişen yabancı Pistachia türü olup Türkiye'nin soğuk bölgeleri hariç her yerde yetişir [2]. Yabancı olarak yetişen bu türler yerel olarak tüketilmekte, yağ ve sabun üretiminde kullanılmaktadır [3]. Bu türler antepfıstığı üretimi için anaç mater yalidir, Türkiye'de bu amaçla anaç olarak kullanılabilen yaklaşık 66 milyon kadar yabancı olarak yetişen Pistacia ağacı bulunmaktadır [4].

Pistachia ile ilgili ilk monografik çalışma 1883' de Engler [5] tarafından yapılmış ve Pistachia sınıfına ait 8 türünü tanımlamıştır. En kapsamlı taksonomik çalışma Zohary [6] tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada farklı türleri ayırabilmek için yaprak özellikleri ve meyvenin (fıstık) morfolojisi arasındaki farklılıklar incelenmiştir. Yaltirik [7] ise Türkiye'deki Pistacia türleri üzerine çalışmış ve Bitlis, Mardin, Hakkari illerinde yetişen ve *P. eurycarpa* olarak adlandırılan yeni bir tür bulmuştur. Al-Yafi [8] *P. atlantica* türünü morfolojilerine göre altgruplara ayırmış, Kokwaro ve Gillett [9] ise Doğu Afrika'da yetişen yeni bir tür olan *P. aethiopica* Kokwaro'yu tanımlamıştır. El-Oqlah ise Ürdün Pistacia türlerini morfolojik, anatomik ve kıyas uygulayarak incelemişlerdir. Pistacia türlerini incelemek için ilginç bir çalışma ise

İsrail’de Grundwag ve Werker tarafından ağaç anatomilerine göre yapılmıştır [10]. Sözü edilen bu çalışmalarda, fenotipik ve morfolojik çalışmalarda yalnızca birkaç özellik kullanılarak *Pistacia* türleri belirlenmeye çalışılmıştır. Kafkas ve Perl-Treves 2001 yılında yaptıkları çalışmada Türkiye’ de yabancı olarak yetişen önemli *Pistacia* türlerini fenotipik ve morfolojik olarak farklılıkları, yüksek miktarlarda kalitatif ne kantitatif özellikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıca farklı türler arasındaki muhtemel ortak özellikler arasındaki bağlantılar incelenmiştir. *P. eurycarpa* gibi morfolojik özellikleri çok az bilinen türler detaylı olarak incelenmiştir [11].

Anacardiaceae familyasına ait olan *P. terebinthus* L, Akdeniz kıyılarında ve Türkiye’nin sıcak iklim bölgelerinde özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde Gaziantep, Adıyaman, Kahramanmaraş ve Şanlıurfa yörelerinde geniş doğal yayılışa sahiptir. Orman vejetasyonu içinde bilhassa maki formasyonu içinde 10 m’ye kadar boylanabilen, yuvarlak geniş taçlı bir ağaçtır. Mart ve nisan aylarında açan, bir önceki yıla ait sürgünlerde gelişen çiçekler kırmızımsıerguvan; kokulu, yağlı, ve küremsi küçük meyveler ise olgunlaştığında mavimsi yeşil renktedir. Türkiye’de menengiç ağacı, kıyı kesimlerdeki kayalık ve tepelik yerlerde veya Toros dağlarındaki çam ormanlarında da yaklaşık 1600 m yükseklikte de yetişir [12]. *Pistacia* türleri içinde yağ üretiminde kullanılan tek türdür [13]. Aşağıda menengiç sürgünü, çiçekleri, ham ve olgun meyveleri Şekil 2.1-2.4 de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Menengiç sürgünü



Şekil 2.2: Menengiç çiçekleri



Şekil 2.3: Ham menengiç meyvesi



Şekil 2.4: Olgun menengiç meyvesi

Gültekin ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada, menengiç türünde, ekim zamanı farklılığının ve katlama işlemlerinin, çimlenme oranına etkileri üzerine çalışmıştır. Bu çalışma sonucu, *Pistacia* taksonlarından yağ üretiminde kullanılan tek tür olan menengicin meyvelerinin ağustos-eylül döneminde olgunlaştığı, menengiç tohumlarında kabuk sertliğinden ve kalınlığından kaynaklanan fiziksel çimlenme engeli bulunduğu, yüksek oranda çimlenme elde etmek için 75 – 90 günlük soğuk katlama gerektiği belirlenmiştir. Çimlenme yüzdesi en az % 65 olan tohumların ekilmesinin temel alınması durumunda, menengiç tohumları topladıktan hemen sonra ekilmeyecekse, en az 45 gün, 6–8 °C sıcaklıkta soğuk katlamaya (soğuk-ıslak ön işlem) tabi tutulması uygun olur. Böylece, çimlenme yüzdesini % 76–86 civarına yükseltmek mümkün olabilmektedir [14].

Özcan tarafından yapılan bir çalışmada, Türkiye İçel’de yetişen menengiç tohumunun fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Olgunlaşmış menengiç meyvelerinin nem, protein, enerji, kül, HCl,çözülebilir kül, elzem yağ verimi, dimetilsülfid, ağırlık ve genişlik/boy oranları incelenmiştir (Çizelge 2.1). Menengiç tohumundan elde edilen yağın karakteristik özellikleri (relatif yoğunluk, refraktif indeksi, serbest yağ içeriği, peroksit değeri, iyot sayısı, sabunlaşma sayısı, sabunlaşmayan madde ve karetenoid içeriği) tespit edilmiş ve sonuçlar Çizelge 2.2 de verilmiştir. Yağın yağ asitleri bileşimi de gaz kromatografisi ile belirlenmiştir ve yüksek oranlarda oleik (52,3%), palmitik (21,3%) ve linoleik (19,7%) asitleri içerdiği Çizelge 2.3 de görülmektedir.

Çizelge 2.1: İçel yöresi menengiç tohumunun özellikleri [15]

Özellik	Değer
Nem (%)	6.17 ± 0.21
Ham protein (N × 6.25) (%)	9.67 ± 0.47
Ham yağ (%)	38.74 ± 2.68
Ham lif (%)	10.9 ± 1.70
Kül (%)	3.1 ± 0.71
HCl-çözülemez kül (%)	0.0047 ± 0.0018
1000 tane ağırlığı (g)	59.73 ± 0.94
Elzem yağ verimi (%)	0.084 ± 0.01
Ham enerji (cal g ⁻¹)	6189 ± 13.44
Dimetilsülfid (µgkg ⁻¹)	4.1 ± 0.14
Genişlik/boy oranı	0.93 ± 0.07

Çizelge2.2: İçel menengiç tohumu yağının özellikleri [15]

Özellik	Değer
Relatif yoğunluk (d ₂₀ ²⁰)	0.9742 ± 0.0041
Refraktif indeks (n _D ²⁰)	1.477 ± 0.007
Asitlik (oleik %)	0.86 ± 0.16
Peroksit değeri (meq kg ⁻¹)	0.47 ± 0.09
Sabunlaşma sayısı	156.7 ± 14.64
Sabunlaşmayan madde (gkg ⁻¹)	15.7 ± 3.3
Karatenoid miktar (mgkg ⁻¹)	322 ± 35.4
İyot değeri	89.06 ± 0.65

Çizelge 2.3: İçel menengiç tohumu yağının yağ asitleri bileşimi [15]

Yağ asidi	Bileşim (%)
Laurik(C12:0)	0.1 ± 0.02
Miristik(C14:0)	0.1 ± 0.03
Palmitik(C16:0)	21.3 ± 0.21
Palmitoleik(C16:1)	3.4 ± 0.10
Stearik(C18:0)	2.0 ± 0.32
Oleik(C18:1)	52.3 ± 0.17
Linoleik(C18:2)	19.7 ± 0.40
Linolenik(C18:3)	0.6 ± 0.01
Eikosanoik(C20:0)	0.1 ± 0.02
Eikosenoik(C20:1)	0.2 ± 0.03

Ayrıca yapılan bu çalışmada tohumlarda Na, K, P, Ca, Fe, Mg, Zn, Cu, Mn, Li, Ni, Pb, S, Se, Cd, Co, Cr, Sr, Ti, V, Ag, Al, As, B, Ba ve Bi gibi minerallerin bulunduğu saptanmıştır. Menengiç tohumları protein, yağ, lifler, doymamış yağ asitleri ve mineralce zengin bulunmuştur [15].

Literatürde *Pistacia* türlerinin uçucu yağ bileşimleri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Papageorgiou ve arkadaşları [16] *P. terebinthus* reçinesinin uçucu yağında temel bileşenler olarak α -pinen, β -pinen, sabinen ve terpinen-4-ol tespit etmişlerdir. Küsmenoğlu ve arkadaşları ise [17] *P. vera* meyvesinin taze kabuk uçucu yağında ana bileşen olarak α -pinen, terpinolen ve limonen saptamışlardır. Couladis ve arkadaşları tarafından Türkiye'de İçel'in Gülnar ilçesinin Ovacık beldesinde yabani olarak yetişen menengiç ağacının genç sürgün, çiçek, ham ve olgun meyvelerinin uçucu yağ içerikleri ve bileşenleri saptanmış ve karşılaştırılmıştır. Taze sürgün, çiçek, ham ve olgun meyvelerin yağ içerikleri sırasıyla %0,74, % 0,70, % 0,54 ve % 0,73'dür. Ham meyve hariç diğer kısımların uçucu yağ içerikleri benzer bulunmuştur.

Robeva ve arkadaşları [18] Bulgaristan'daki yabani *P. terebinthus*'ların farklı organlarında uçucu yağ içeriklerini belirlemişler. Genç sürgün, çiçek, ham ve olgun meyve uçucu yağlarında sırasıyla 32, 53, 51 ve 48 bileşen teşhis edilmiştir. Toplam miktarları aynı sırayla uçucu yağların %90.7, %96.1, %98 ve %99'unu oluşturmuştur. Sürgün uçucu yağında başlıca bileşen *p*-simen, çiçek uçucu yağında ana bileşen germakren D olarak saptanmıştır. Ham meyve uçucu yağının önemli bileşenleri sırasıyla limonen, α -pinen, terpinolendir. Olgun meyve uçucu yağında ise limonen ve β -pinen başlıca bileşenler olup α -felandren, terpinolen ve α -pinen de önemli miktarlardadır [17]. Genel olarak *Pistacia* türlerinin uçucu yağları monoterpen hidrokarbonlarca zengindir. Bitki organına göre değişmekle birlikte, bazı seskiterpenler ile oksijenli terpenlerde önemli olabilmektedir. Fenolik bileşenler, *Pistacia* uçucu yağlarında nadiren ve çok düşük miktarlarda bulunabilmektedir.

Sonuç olarak, menengiç ağacının değişik organları uçucu yağ açısından zengin ve farklı bileşimde materyal sayılabilir. Uçucu yağlar bazı önemli ve ilginç bileşenlerin kaynağıdır. Kimi baharatların aromasını andıran bileşimden dolayı, menengiç uçucu yağlarını gıda sanayinde, ayrıca parfümeri ve ilaç ürünlerinde değerlendirmek mümkündür.

Özcan ve Matthauss tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, 2002 yılında Türkiye'nin farklı yörelerinden temin edilmiş 20 ayrı menengiç örneklerinin tohum yağları elde edilmiş ve bu yağların yağ asitleri, tokoferoller ve steroller içerikleri incelenmiştir [19]. Örneklerin alındığı yerler ve yağ içerikleri Çizelge 2.5 de verilmiştir.

Çizelge 2.4: Türkiye'de farklı yerlerden toplanmış menengiç tohumlarının yağ içerikleri [19]

Örnek	Alındığı yer	Yağ içeriği [g/100 g]
1	Konya (Balcılar-Taskent)	42.0
2	Mugla	38.5
3	Hatay (Yayladagi)	39.7
4	Karaman (Ermenek)	40.9
5	Mersin (Silifke)	45.1
6	Kahramanmaraş	41.9
7	Antalya (Beskonak-Manavgat)	38.4
8	Mersin (Sakizköy-Mut)	41.5
9	Izmir (Hisarköyü)	40,7
10	Antalya (Akbaşköyü-Serik)	40,9
11	Mersin (Erdemli)	42,2
12	Antalya (Armutlu-Akseki)	40,1
13	Antalya (Alanya)	43,1
14	Antalya (Kepez)	42,6
	Ortalama değer	41,2
	Standart sapma	1,8

Çizelge 2.4' den, örneklerin yağ içeriklerinin %38,4-45,1 gibi bir aralıkta değişmektedir. Türkiye için ticari öneme sahip olan *Pistachia* fıstıkları (*Pistachia vera* L, Antepfıstığı) ile karşılaştırdığımız zaman menengiç tohumları daha düşük yağ içeriğine sahiptir. Antepfıstıklarındaki yağ miktarı %60 civarındadır [20].

Yağ asitleri bileşimlerinde baskın olarak oleik asit bulunmaktadır ve oranı %43,8-51,3 arasında değişmektedir. Ortalama oleik asit miktarı %46,9'dur. Antepfıstıklarının oleik asit içerikleri ise %60 'ın üstündedir [20]. Kantitatif olarak diğer önemli yağ asidi linoleik asittir. Yüzdesi 19-25,9 arasında değişmekte olup ortalama değeri %21,7'dir. Menengiç örneklerinin içerdiği linoleik asit miktarı antepfıstık örneklerine göre (%14,7-17,8) daha yüksektir [20]. Menengiç ile antepfıstığı yağ asitleri arasındaki en bariz farklılık ise palmitoleik asit ve doymuş yağ asitleri konsantrasyonlarında gözlenmektedir. Menengiç tohumlarında

palmitoleik asit ortalama olarak %3,1 konsantrasyonunda bulunmaktadır. Antep fıstığı ise sadece %0,1 kadar palmitoleik asit içermektedir. Menengiç tohumlarında doymuş yağ asitleri ortalaması %23,7 olup antepfıstığı ise %14,1 ile %16,1 arasında değişen konsantrasyonlarda doymuş yağ asitleri içerir [20].

Aynı çalışmada, menengiç tohumlarından elde edilen yağlarda tokoferol konsantrasyonu ortalama 465,7 mg/kg olarak bulunmuştur ve toplam sterol konsantrasyonunun 1341,3-1802,5 mg/kg arasında değiştiği tespit edilmiştir [19].

Yüksek yağ içeriğinin bir sonucu olarak, menengiç tohumları bitkisel yağ üretimi için önemli bir kaynaktır. Menengiç yağı ticari olarak kullanılan palm olein gibi yağlara göre daha iyidir ve dolayısıyla menengiç yağının beslenme ya da teknik uygulamalarda kullanımı muhtemeldir. Menengiç tohumundan elde edilen yağ yüksek oranda oleik ve linoleik asit içerdiğinden sağlık açısından beslenmede kullanılabilir yağ sınıfına dahil edilebilir. Yabani olarak yetişen meyve ve tohumların diyetle kullanılabilmesi için daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır. Menengiç tohumunun yüksek protein, yağ ve hoş koku ve tadı da gıda sanayinde kullanılabilmesinin yolunu açmaktadır. Doğal ürünlerin dünyada tüketimi artış gösterdiği için menengiç tohumlarının da tüketimi artmaktadır.

2.1.1 Menengiç tohumlarının kullanım alanları ve önemi

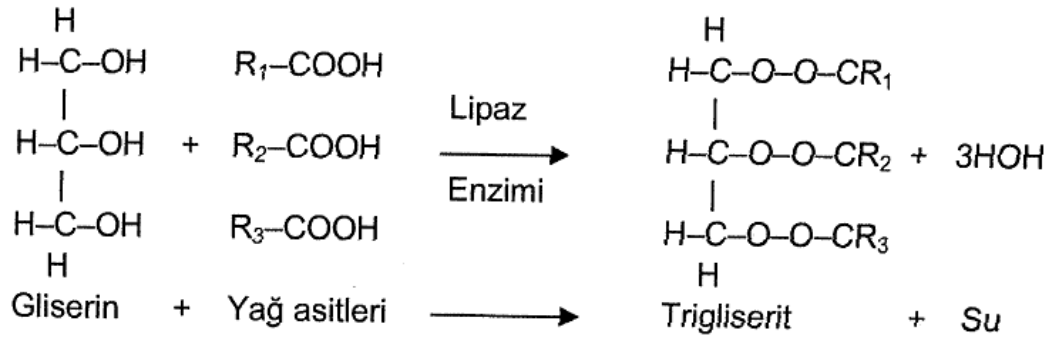
Dünyanın değişik yerlerinde menengiç ağacının farklı organlarından çok yönlü yararlanılmaktadır. Türkiye'de, arkeolojik bulgular menengicin eski çağlardan beri gıda olarak kullanıldığını göstermiştir. Taze sürgün ve meyvelerden beslenmede yararlanır. Meyveler iştah açıcı olarak, özel köy ekmeklerinde, kahve ve çay şeklinde tüketilmektedir. Halk tıbbında yaprak dekoksyonu midevidir. Meyveler ise dahilen gastralgia ve romatizmada, haricen öksürükte (stimulan, diüretik ve antitüsiv olarak) kullanılmaktadır [12].

Menengiç yabani bir meyvedir. Yabani meyveler, biyolojik çeşitliliğin sürekliliğini sağlamada önemli bir yere sahiptir. Çünkü yaban hayvanları için önemli bir besindir. Yabani meyve bitkileri, yine kıtlık ve savaş dönemlerinde insan beslenmesinde de kullanılır. Ayrıca, organik besin kaynakları olup, özellikle yaşlı insanların ve çocukların beslenmesi için değerlidir. Nitekim, günümüzde birçok yabani meyve alternatif ve modern tıpta kullanılmakta; bu bağlamda, üriner antiseptik, peptik ülserin tedavisinde ve güneş çarpmasına karşı menengiç yapraklarından faydalanılmaktadır [21].

Yabani meyve bitkileri, hem gen kaynağı olarak hem de gelişmiş kök sistemleri nedeni ile vejetatif bitki üretiminde aşı altlığı olarak bitki ıslahında da kullanılmaktadır. Nitekim, menengiçlere halen kalem aşısı ile Antepfıstığı (*P. vera* L.) aşılanmaktadır [22, 23]. Güçlü kök sistemiyle erozyon kontrol çalışmaları kapsamında da ümit vaat etmektedirler.

2.2 Yağların Kimyasal Yapısı

Yağlar üç değerli bir alkol olan gliserin ile farklı uzunluktaki yağ asitlerinin meydana getirdiği esterlerdir. Diğer bir deyimle trigliseridlerdir. Gliserin ile yağ asitleri lipaz enziminin etkisinde uygun bir ortamda esterleşerek aşağıdaki denklemde görüldüğü gibi trigliseridleri oluşturur.



Şekil 2.5 Esterleşme Reaksiyonları ($\text{R}_{1,2,3}$ = Radikaller, bir yağ asidindeki aktif grup dışında kalan tüm zincirleri gösterir.) [24].

Yemeklik yağ olarak kullanılan bitkisel ve hayvansal yağların %98-99'u saf trigliseridlerden meydana gelmiştir. Yağlar suda çözünmezler ama birçok organik çözücüde çözünürler. Sudan daha düşük yoğunluğa sahiptir. Bazı yağlar oda sıcaklığında katı halde, bazıları ise sıvı halde bulunur. Yağların katı veya sıvı durumu onların fiziksel bir özelliğidir [24].

Yağlarda trigliseritlerden başka %0,5-2,0 oranında değişen oranlarda monodigliseridler, fosfatidler, serebrositler, steroller, serbest yağ asitleri, yağda eriyen vitaminler (A, D, E ve K), renk ve koku maddeleri gibi maddeler bulunur. Bütün bu madde gruplarına lipid denmektedir [25].

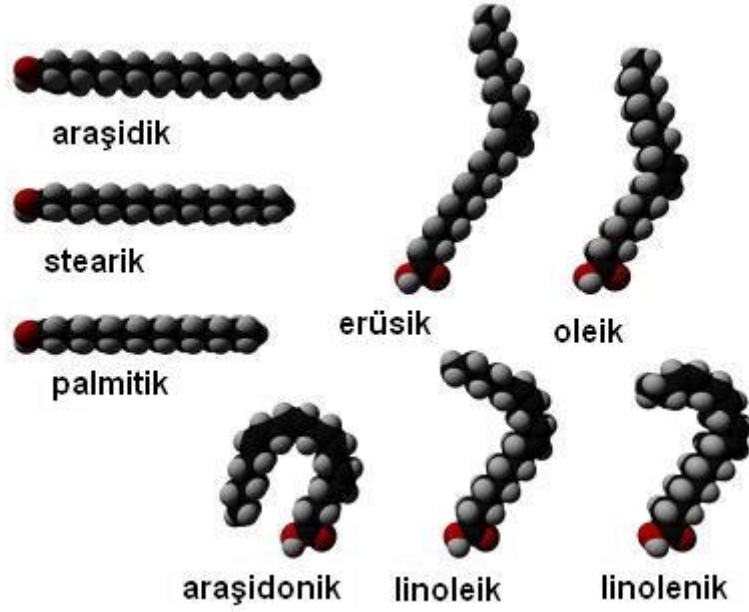
Yağ asitleri: Trigliseridlerde bulunan yağ asitleri 3-22 karbon atomu içeren zincir uzunluğunda olabilir, ancak 16 ve 18 karbon içeren yağ asitleri en fazla bulunanlardır. Genelde hayvan ve bitkilerdeki yağ asitleri Asetil-CoA'dan

sentezledikleri için zincir uzunlukları çift sayılıdır. Buna karşın bakteriler tek sayılı ve dallı zincirli yağ asitleri sentezleyebilirler. Dolayısıyla, geviş getiren hayvanların yağında, bu hayvanların işkembelerinde bulunan bakterilerin etkisiyle oluşan dallı zincirli yağ asitlerden önemli miktarda bulunur [26].

Trigliseridleri oluşturan yağ asitleri doymuş, doymamış ve farklı kimyasal yapı gösteren yağ asitleri şeklinde olabilir.

Doymuş yağ asitleri : Genel formülü $CH_3(CH_2)_nCOOH$ 'dür. Yağ asidi zincirinin başında metil (CH_3) ve sonunda karboksil ($COOH$) grubu vardır. Genellikle zincirde çift sayıda karbon atomu bulunur. Bu duruma homolog seri adı verilir. Her karbon atomu birbirine tek bağla bağlanmıştır. Donma ve kaynama noktası karbon sayısı arttıkça artarken, buhar basınçları azalma gösterir. Doymuş yağ asitlerinin ışığı kırma dereceleri ve vizkositeleri molekül ağırlığı artışına paralel olarak artarken yoğunlukları ve özgül ağırlıkları ters orantılı olarak değişmektedir. Oksidatif bozulmalara karşı oldukça dayanıklıdırlar. Karbon sayısı 4 ve 8 arasında olan doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında sıvıdır. 10 ve daha fazla karbonlu yağ asitleri katı haldedir.

Doymamış yağ asitleri : Karbon zinciri üzerindeki farklı karbon atomları arasında bir veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitleri doymamış yağ asitleri olarak isimlendirilir. Doymuş yağ asitleri kimyada alkenler grubuna dahil edilir. Yağ asitleri cis-trans izomerizasyonu gösterirler. *Cis* konumda iki komşu karbon, çift bağın aynı tarafındadırlar. Çift bağla birbirine bağlı atomlar bu bağın eksenini etrafında dönemediklerinden, *cis* izomeri durumunda yağ asidinin zinciri bu noktada bükük olur ve zincirin hareket serbestisi azalır. Bir zincirde ne kadar çok *cis* konumlu çift bağ olursa zincirin esnekliği o derece azalır. Çok sayıda *cis* bağı olan yağ asitleri en serbestçe hareket edebildikleri bir ortamda oldukça eğri bir biçimleri olur. Örneğin, linolenik asit, iki çift bağıyla, belirgin bir eğriliğe sahiptir; alfa-linolenik asit ise üç *cis* bağından dolayı çengel görünümlü olmayı tercih eder. Hareket serbestisi olmayan ortamlarda, örneğin yağ asitleri lipid zarında fosfolipidlerin parçası iken veya yağ damlacıklarındaki trigliseridlerin parçası iken, *cis* bağları yağ asitlerinin sıkı istiflenmelerine engel olur, bu da lipid zarının veya yağ damlasının ergime sıcaklığını azaltır.



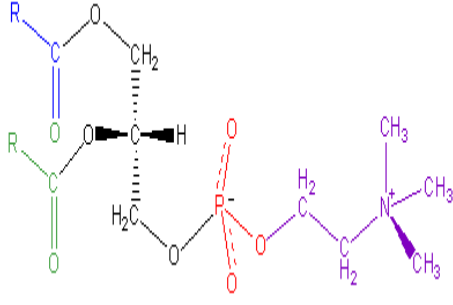
Şekil 2.6: Bazı yağ asitlerinin 3D kimyasal yapısı [26].

Trans konumda çift bağı karbonlara komşu iki karbon çift bağı karşı taraflarında yer alırlar. Bu yüzden zincir fazla eğilmez ve bu tür yağ asitlerinin şekilleri doymuş yağ asitlerine benzerler.

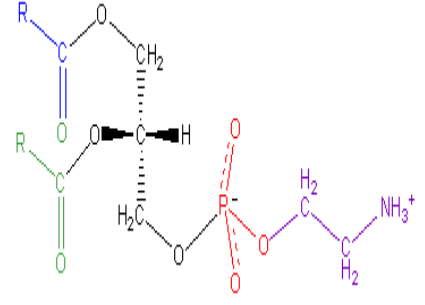
Doymamış yağ asitlerinin şekilleri arasındaki farklar, ayrıca doymuş ve doymamışlar arasındaki şekil farkları, biyolojik süreçler ve biyolojik yapıların (hücre zarları gibi) özelliklerini belirlemede önemli rol oynarlar [26].

Fosfolipidler: Fosfolipidler her yağda az miktarda bulunur. En fazla soya yağında bulunur ve yağın rafinasyonu ile ortamdan uzaklaştırılırlar. Azot ve fosfor içermeleri nedeniyle enerji metabolizmasında önemli fonksiyona sahiptir.

Kimyasal açıdan ele alındığında, gliserin molekülünün α pozisyonuna doymuş, β pozisyonuna doymamış yağ asidi; α' pozisyonuna ise fosforik asit bağlanmıştır. Fosforik asitte kolin, etanolamin, inositol ve serin bileşikleriyle esterleşmiştir. Bu grubu temsil eden iki örnek aşağıda gösterilmiştir [25].



Şekil 2.7: Fosfatidil kolin



Şekil 2.8: Fosfatidil etanolamin

Fosfatidilkolin lesitinin diğer bir adıdır. Fosfatidil etanolamin özellikle beyin ve omurilikte, ayrıca bakterilerin hücre zarlarında çok miktarda bulunur. Sefalin başlıca fosfatidil etanolamindir [25]

Sfingolipidler: Genelde hayvansal yağlar içerisinde bulunsalar da soya yağı gibi bazı bitkisel yağlarda da rastlanır. Bitkisel yağlarda bulunanlar fitosfingolipid olarak adlandırılır. Bu bileşik yağların rafinasyonunda reçinemsı maddelerin giderilmesi sırasında ortamdan alınır. Sfingomiyelin bütün ökaryotik hücre zarlarında mevcuttur ve özellikle sinir sisteminde çok miktarda bulunur. Sinir hücrelerinin etrafına sarılı olan Schwann hücreleri ve oligodendrositlerin oluşturduğu, miyelin isimli yalıtım tabakasının en önemli bileşenidir [27].

Alkoller: Hayvansal ve bitkisel sıvı yağlarda çok az miktarda bulunur. Yağların sabunlaşmayan kısmını oluşturur. Yağ alkollerini yüksek molekül ağırlıklı maddelerdir. Doğada tüm bitkilerin yaprak, tohum kabukları ve meyvelerin üzerleri bu alkollerin meydana getirdiği esterler yani mumlarla kaplanmış haldedir. Dış etkenlere karşı üzerinde bulunduğu organı korur. Bu mumsu maddelerin ve yağ alkollerinin bitkisel yağda bulunmasının sebebi ise yağ üretilirken uygulanan teknolojik işlemler sırasında yağ ile mumun temasa gelmesi ve mumların yağda erimesinden ileri gelir [19].

Steroller: Steroller steroid alkollerini olup hem hayvansal hem de bitkisel yağlarda bulunur. Steroller ökaryotik organizmaların fizyolojisinde önemlidirler. Hücre zarında yer alarak onun akışkanlığını ve işlevini düzenlerler. Ayrıca ikincil haberci olarak gelişim sürecine katkıda bulunurlar. En önemlileri hayvanlarda kolesterol, fitosterol ve steroid hormonlar, mantarlarda (fungus) ergosterol, bitkilerde kampesterol, sitosterol ve stigmasteroldur [19].

Yağda Çözünen Vitaminler: Yağda çözünen vitaminler A, D, E ve K'dır. Yemeklik yağlar içinde daha çok A, D ve E vitaminlerine rastlarız. K vitamini daha çok bitkilerin yeşil kısımlarında yer alan vitaminlerdir. Pratik olarak yağlarda yer almaz. A, D ve E vitaminleri de özellikle yağların rafinasyonu sırasında büyük bir kayba uğrar. Bu nedenle margarinlerde olduğu gibi yağa dışarıdan ilave edilmektedirler.

A vitamini vücutta büyüme faktörü olarak görev yapmaktadır. D vitamini kemiklerin oluşumunda görev alır ve anti-raşitizm faktörü olarak bilinir. E vitamininin ise kısırlığı önleyici etkisi bulunmaktadır. K vitamini eksikliğinde vücutta kanamalar olur. Bu vitaminin eksikliğinde vücutta kanamalar olur. Bu vitamin kanın pıhtılaşmasını sağlar [25].

Doğal antioksidanlar: Yağların yapısında az miktarlarda da olsa havadaki oksijenin oksitleyici etkisini önleyici ve yavaşlatıcı fenolik yapıdaki bileşiklere doğal antioksidanlar denir. Bu maddeler yağda erimiş hale geçen oksijenle birleşip kendileri parçalanır ve böylece yağın doğal yapısının oksidatif yolla parçalanması ve bozulmasına engel olurlar. Bu maddelere örnek olarak bütün yağlarda çeşitli oranlarda bulunan tokoferoller, pamuk yağlarında bulunan gossipol ve susam yağlarında bulunan sesamin, sesamol ve sesamolin örnek olarak verilebilir [25].

Tat ve koku maddeleri: Her yağın kendisine has tadı ve kokusu vardır. Yağlardaki tat ve koku maddeleri; doğal tat ve koku maddeleri ve teknolojik işlemler veya oksidatif bozulmalar sonucu oluşan tat ve koku maddeleri olarak iki grup altında incelenebilir. Doğal tat ve koku maddeleri hidrokarbonlar olup, polietilenil yapıdadır. Örnek olarak zeytin ve yerkıstığı yağlarından izole edilen tridacedien, pentadecen, hexadecadien, nonadecen, triacosahexen ve oktacosatrien verilebilir. Bunun yanında terpenik bileşiklere de rastlanılmaktadır. Hurma çekirdeğı ve hindistan cevizi yağlarındaki tipik aroma ise içerdiği ketonlardan ileri gelmektedir.

Teknolojik işlemler veya oksidatif bozulmalar sonucu oluşan kokulara gelince, oksidatif reaksiyonlar sonucu yağların yapısında aldehit, keton, alkol gibi yağın doğal aromasını bozan tat ve koku maddeleri oluşmaktadır. Özellikle hayvanların beslendikleri yemlere bağılı olarak onlardan elde edilen süt ve yağlarında da yemin tat ve kokusu bulunmaktadır. Ayrıca yağlar koku absorbe eden maddeler olup, çevresindeki her türlü tat ve kokuyu kendi bünyelerinde tutabilir. Bu nedenle yağlar

depolanırken etrafta yağın kokusunu bozacak maddelerin bulunmamasına dikkat edilmelidir [24].

Mineraller: Rafine katı ve sıvı yağlar fosfatid kalıntılarından dolayı az miktarda fosfor içerir. Yağlarda nötralizasyon işleminden dolayı 5-20 ppm sodyum sabunlarına da bulunabilir. Ham bitkisel yağlarda Zn: 0,85-1.2 ppm, Cu: 0,005-1.0 ppm, Na :0,03-5 ppm, Br: <0,01-4 ppm dolaylarında, Fe, Mn ve Ni gibi metaller de 1 ppm'den daha az miktarlarda bulunabilmektedir [24].

2.3 Endüstriyel Bitkisel Yağ Eldesi ve Rafinasyonu

2.3.1 Ön işlemler

Depolama

Bitkisel yağların beslenmedeki önemi her geçen gün artış göstermektedir. Yıllık gerekli yağ miktarında üretim yapabilmek için, milyonlarca ton hammaddenin taşınmasını ve depolanmasını zorunludur. Depolanan hammaddenin bir kısmı direkt yağ üretimi için kullanılırken büyük bir miktarı da uzun bir süre uygun koşullarda muhafaza edilmek zorundadır. Yüksek kalitede yağ eldesi için, tohumların depolanma koşullarına dikkat edilmesi gerekmektedir [25].

Tohumlarda bozulmalara neden olan etmenler, tohumun içerdiği fizyolojik (enzimler, solunum, çimlenme, doğal antioksidanlar), kimyasal (hava, su) ve biyolojik (mikroorganizmlar, haşereler) etmenlerdir. Bu etmenlerin biri yada daha fazlası aynı anda etkili oldukları gibi oluşan bir bozulma şekli başka bozulmaların başlamasına da sebep olabilir [27].

Tohum ve depo neminin ve sıcaklıkların sürekli olarak izlenmesi gerekmektedir. Gereken koşullarda depo kuru ve serin hava ile havalandırılmalıdır. Yağlı tohumların sağlıklı bir şekilde depolanabilmelerini sağlamak üzere, oluşan solunumun izlenmesi de sıkça başvurulan diğer bir yöntemdir. Bu amaçla depodaki oksijen tüketim hızı veya karbondioksit üretim hızı ölçülmektedir [28].

Başarılı bir depolama için, tohuma ait özellikler bilinmeli ve buna göre önlem alınmalıdır. Örneğin yığının fazlaca organik yabancı madde içermesi, erken hasat edilmiş olması, fazlaca metalik yabancı madde içermesi, fazlaca kırılmış ve

zedelenmiş dane içermesi tohumda ve içerdiği yağda bozulma tepkilemelerinin başlamasını ve gelişmesini kolaylaştırıcı faktörlerdir [25].

Genellikle yığma tipi depolar (muskogee depolar) ve silo tipi depolar kullanılır.

Yağlı tohumların temizlenmesi

Yemelik yağlardan özellikle tohum yağları söz konusu olduğunda, elde edilen ham yağlar, büyük bir çoğunlukla rafine edilerek tüketime sunulduklarından, çoğu kez hammaddelerinin yağa işlenmeden önce temizlenmesine pek özen gösterilmez. Oysa rafine edilerek piyasaya verilseler bile, gerek ham yağ verim ve kalitesini korumak, gerekse ham yağın rafinasyonu sırasında oluşacak kayıpları en az düzeye indirebilmek yönünden, hammaddelerin yağa işlenmeden önce, içerdiği yabancı unsurlardan temizlenmesi, kaçınılmaz bir zorunluluktur [25].

Yağlı tohum dışındaki her türlü tohum, sap, taş, toprak ve metal gibi maddeler yabancı maddeler, makinelere zarar verilmemesi için, mutlaka temizlenmelidir. Elekler, triyörler, pnömatik (havalı) ayırıcılar, mıknatıs sistemi, linterleme makinaları (pamuk tohumunu liflerinden ayırmada), fırçalama makinaları yağlı tohumların temizlenmesinde kullanılan başlıca sistemlerdir [27]. Elekler: irilik esasına göre ayırma; triyörler: şekil farkından faydalanarak ayırma; pnömatik ayırıcılar: yoğunluk farkından yola çıkılarak ayırma; mıknatıs sistemi: metal parçalarını mıknatıslık özelliğinden yola çıkarak ayırma işlemlerinde kullanılır.

Kabukların kırılması ve tohumdan ayrılması işlemi

Yağlı tohumlardan kabukların uzaklaştırılması kırma ve ayırma olmak üzere iki kademede yapılan bir işlemdir. Bu işlemin en temel amacı, elde edilecek yağda kalite ve kantite kaybını önlemektir. Kabuklar, özellikle dış yüzeyleri iç dane ile temas ederse, iç taneden kabuğa yağın migrasyonu söz konusudur. Yaklaşık kabuklarda %1 yağ bulunur. Tonlarca tohumun işlendiği ve çeşide göre tohumlardaki kabuğun %20-40 arasında değiştiği düşünülürse bu yolla yağ kaybı hiç de küçümsenemeyecek miktarlardadır [25].

Yağlı tohumlarda kabuk ayırmayı gerektiren bir başka neden ise, kabukların yağda çözünme niteliği gösteren ve yağın görünüş, renk, tat ve kokusunu bozan maddeler içermesi ve kabukların kırılıp uzaklaştırılmaması halinde bu maddelerin yağda

geçerek kalitesini düşürdüğü gibi, ham yağın rafinasyonunu da zorlaştırmasıdır. Bunun dışında kabukların uzaklaştırılması küspe kalitesi içinde oldukça önemlidir.

Yabancı maddelerden ayrılıp temizlenen tohumlar özel kırıcılarda santrifüj çarpma yöntemiyle kırılırlar. Silindirik sabit bir gövde içinde dakikada 600-650 devirle dönen paletlerden oluşan bir tambur üstten gelen tohumları cidara savurarak çarptırır. Silindirik gövdenin içi setlerle ve çentiklerle kaplıdır. Kırma işlemi cidar ile tamburun mesafesi ayarlanarak yapılır. Çarpma sonucu tohumların bir kısmı bütün, bir kısmı parçalanmış halde kabuklarından ayrılır. Pamuk tohumu, ayçiçeği ve yerfıstığı gibi esnek kabuklarla kaplı yağlı tohumların kabuklarının soyulmasında bar ve disk kabuk soyucular kullanılır. Ketan tohumu, kolza ve susam gibi çok küçük hacimli yağlı tohumlarda kabuk soyma işlemi çok zor olduğundan uygulanmaz. Kabuk soyma makinaları her yağlı tohumun özelliğine göre düzenlenmiştir [28].

Kırılan kabukların iç danelerden ayrılması için karışım düz elekten geçirilir. Bu arada ufak parçalara ayrılmış iç ve kabuklarda ayrılır. Düz eleğin orta kısmına yerleştirilmiş emici bir sistemle kabuklar hava akımı ile emilir. Ufalanmış içlerin bir kısmı kabukla sürüklenerek kayıplara neden olur. Bu da işletme randımanını düşürür. Kullanılan yöntemde kabukta için, içte de kabuğun en az seviyede olmasına özen gösterilmelidir [27].

Tohum içinin ezilmesi (Öğütme)

Yağlı tohumlarda yağ zerrecikleri hücre sitoplazması içinde olduğundan, bunları dışarı almak için tohum içinin mümkün oldukça küçük parçalara inceltilmesi, ezilmesi gerekmektedir. Bunun için genellikle dişli valsler kullanılır. Eğer yağlı tohumlarda yağ, ekstraksiyon yöntemi ile alınacaksa yağlı tohumlar pulcuklar haline getirilir. Bu mekanik proses ile boyut küçültülmesi de yapılır ve partiküllerin yüzey alanı genişletilmiş olunur. Oluşan yeni şekil ve yüzey alanı yağ çıkışı için kütle transferi için yolun kısılmasını sağlar. Özellikle çözücü ekstraksiyonunda çözücünün içe difüzyonu kolaylaşmakta ve ekstraksiyon hızını arttırmaktadır [25].

Çözücü ekstraksiyonuna tabi tutulacak yağlı tohumların pullanması, sadece preslenecek tohumlara göre oldukça farklıdır. Ekstraksiyon için geniş ve birbirini tutan pulların olması istenir; bunun için bütün veya kırılmış tohumun valsler arasından bir kere geçirilmesi yeterlidir. Bu işlem için yan yana konan iki vals

arasından yağlı tohum geçirilir. Son zamanlarde yapılan bu tip pullama valslerinde vals çapının 60-70 cm civarında olması istenmektedir [27].

Tohumların kavrulması

Yağlı tohum ve meyvelerde hücre içinde mikroskobik hatta ultra mikroskobik yapılar içindeki yağ moleküllerini hücre dışına almak ve akıcı bir hale getirebilmek için, ezilmiş veya parçalanmış tohumların kavrulması gerekir. Kavrurma işlemi ile hücre duvarında yer alan proteinler denatüre olur ve hücre içindeki yağ moleküllerinin dışarıya çıkması kolaylaşır. Ayrıca sıcaklık etkisiyle yağ molekülleri kümecikler ve zerrecikler haline gelerek kolayca hücre dışına çıkar. Sıcaklıkla yağın vizkositesi azalır ve akışı kolaylaşır. Yağlı tohumdaki su uzaklaştığından çözücü yağı kolayca çözebilir. Yağlı tohumdaki lipaz enzimi sıcaklıkla etkisini yitirir, yağın parçalanması da önlenir. Bunların dışında fosfatid ve benzeri maddeler sıcaklığın etkisiyle çözücüde çözünmez hale geçer. Küfler ve bakteriler kavrurma işlemi ile öldürülür. Pamuk tohumunda toksik formda olan gossipolun zehirlilik etkisi giderilir. Sıcaklığın etkisiyle ezilmiş tohum plastikiyetlik kazanır ve preslemenin etkinliği arttırılır [24].

Kavrurma işlemi ile tohumdaki su oranı % 7-8'den % 4-4,5'e düşürülür. Kavrurma işlemi küçük işletmelerde doğrudan ateşle ısıtılan tek katlı tavalarda, büyük ve modern işletmelerde ise 4-5 katlı tavalarda yapılmaktadır. Tavalara alınan tohum önce 15-20 dakika ısıtılır ve üzerine su buharı veya sıcak su püskürtülüp nemi % 16-18'e çıkartılır. Tohum sıcaklığı 80-90 °C' ye çıkartılarak kavrurma işlemine geçilir. 20-30 dakika kavrulan tohumun proteinleri koagüle edilmiştir. Daha sonra 110-115 °C sıcaklıkta nem oranı % 4-4,5'e düşürülür, pres veya ekstraktöre sevk edilir [29].

2.3.2 Mekanik presleme yöntemi

Endüstride yağlı tohumlardan veya diğer bitkisel tohum/çekirdeklerden yağ elde edilmesinde kullanılan yöntemlerden biri mekanik preslemedir. Presle çıkarılan yağların yemeklik kaliteleri daha yüksek olmakla birlikte küspede %2,5-6 oranında yağ kalır. Halbuki ekstraksiyon yöntemi ile küspede kalan yağ %0,5'e kadar düşürülmektedir.

Bu yöntem kimyasal kullanmayı gerektirmeyen mekanik bir prosestir. İşlem boyunca ulaşılan sıcaklık tohumun sertliğine bağlıdır ve sertlik arttıkça yağı çıkarmak için

uygulanması gereken basıncın artmasıyla daha fazla ısı açığa çıkar. Soğuk presleme işleminde harici bir ısı aktarımı durumu söz konusu değildir [30].

Mekanik presleme işlemi, katı-sıvı faz ayırım yöntemi olarak tanımlanabilir. Genellikle yağ oranı % 20'den daha yüksek olan yağlı tohumların ham yağa işlenmesinde mekanik presleme yöntemi kullanılabilir. Mekanik presleme işlemi sonucu esas ürün olarak ham yağ, yan ürün olarak yağı alınmış küspe elde edilmektedir. Mekanik preslemede istenen ekstraksiyon verimine ve kalitesine ulaşılabilmesi için tohumun gerekli ön işlemlere tabi tutulması ve mekanik presleme aşamasının başarılı bir şekilde uygulanması gerekmektedir.

Mekanik presleme işleminde kesikli çalışan hidrolik presler, sürekli vidalı presler ve döner presler kullanılabilir [29].

2.3.3 Solvent ekstraksiyonu yöntemi

Çözücü ekstraksiyonu endüstride biyolojik, anorganik ve organik maddelerin üretiminde yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup bir katı-sıvı ekstraksiyonu işlemidir. Günlük yaşamda çay ve kahve yapımı verilebilecek en güzel örnek iken, şeker pancarından şeker, yağlı tohumlardan yağ elde edilmesi endüstriyel katı-sıvı ekstraksiyonuna örneklerdir [31].

Çözücü ekstraksiyonu, çok bileşenli bir katıdan istenilen bileşenin bir çözücü ile çözülerek ayrılmasıdır. Katı içinde difüzyon yavaş olduğu için dengeye ulaşması zor olan bir süreçtir. Katı-sıvı ekstraksiyonuna üç ana faktör etki eder: Bunlardan ilki çözücü ile madde temasıdır. Çözünmesi istenen madde katı yüzeyinde ise çözücü ile ekstrakte edilmesi kolaydır, ancak, yağlı tohumlarda olduğu gibi çözünmesi istenen madde katının içinde ise, katının bir ön işlemden geçirilerek parçacık boyutu küçültülür. Böylece katı-çözücü temas yüzeyi artırılarak ekstraksiyon verimi yükseltilir [32]. İkinci faktör, kullanılacak çözücünün seçimidir. Ekstraksiyon işleminde kullanılacak çözücü istenen maddeyi çözebilecek yapıda olmalıdır. Çözücü miktarı ise inert katının miktarına göre belirlenir. Ayrıca çözücü çözünen maddeden kolayca ayrılabilen yapıda olmalıdır, bu nedenle düşük kaynama noktasına sahip çözücülerin kullanılması tercih edilir. Ekstraksiyona etki eden diğer parametre ise sıcaklıktır. Yüksek sıcaklıklarda çalışmak difüzyon hızını artırıp işlemi çabuklaştırır, bunun yanında, çok yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin yapısında bozulmalar oluşabilir veya istenmeyen bileşikler de çözünebilir [33].

Solventle ekstraksiyonda genel olarak belli bir tane büyüklüğüne öğütülmüş tohumlar organik bir çözücü ile temas ettirilir, yağın çözücüye geçmesi sağlanır. Daha sonra misella denilen çözeltiden çözücü uçurulur ve geriye ham yağ kalır. Pres yöntemine göre üstünlüğü küspede en fazla % 1 oranında yağ kalmasıdır. Çoğunlukla kalan yağ miktarı % 0,5 civarında bulunmaktadır. Bu yöntem özellikle yağ miktarı düşük olan ayçiçek, soya ve çığıt gibi yağlı tohumlarda kullanılmaktadır. Sistemde birçok organik madde çözücü olarak kullanılabilir ancak Türkiye ve Dünyada en yaygın kullanılan kaynama noktası 64-68 °C olan hekzandır [34].

2.3.4 Önpresleme-ekstraksiyon yöntemi

Modern yağ fabrikalarında, çözücü ekstraksiyonunda önce tohumlar düşük basınçlı sürekli preslerde sıkılarak yağın önemli bir kısmı, %30-35'i, alınmaktadır. Çözücü ekstraksiyonundan önce ön presleme yapmanın amacı, çözücü ekstraksiyonu tesisi kapasitesini yükseltmek, aynı zamanda bu tesisin kuruluş giderlerini azaltmaktır [24,27].

2.3.5 Ham yağın rafinasyonu

Rafinasyonun amacı berrak, açık renkli, kokusuz, serbest asit değeri belli bir seviyede olan bir yağ elde etmektir [24]. Rafine edilmeden tüketilebilen tek yağ, iyi kalitede üretilmiş, asidi ve peroksit sayısı tüketime uygun olan zeytinyağıdır. Bunların dışındaki bütün bitkisel ve hayvansal yağlar rafine edilir. Asitliği 3'ün üzerinde olan yüksek asitli zeytinyağları da rafine edilir.

Rafinasyon 6 aşamalı işlemler serisidir ve bunların uygulanış sırası fabrikalara göre bazı değişiklikler gösterebilir. Rafinasyon aşamaları sırası ile musilaj (gam, reçinemsin maddeleri) giderme, asitlik giderme (nötralizasyon), ağartma, koku giderme, vinterizasyon (soğuklatma) ve parlatmadır. Bunların ilk dört aşaması rafinasyonun temel işlem basamaklarıdır [30].

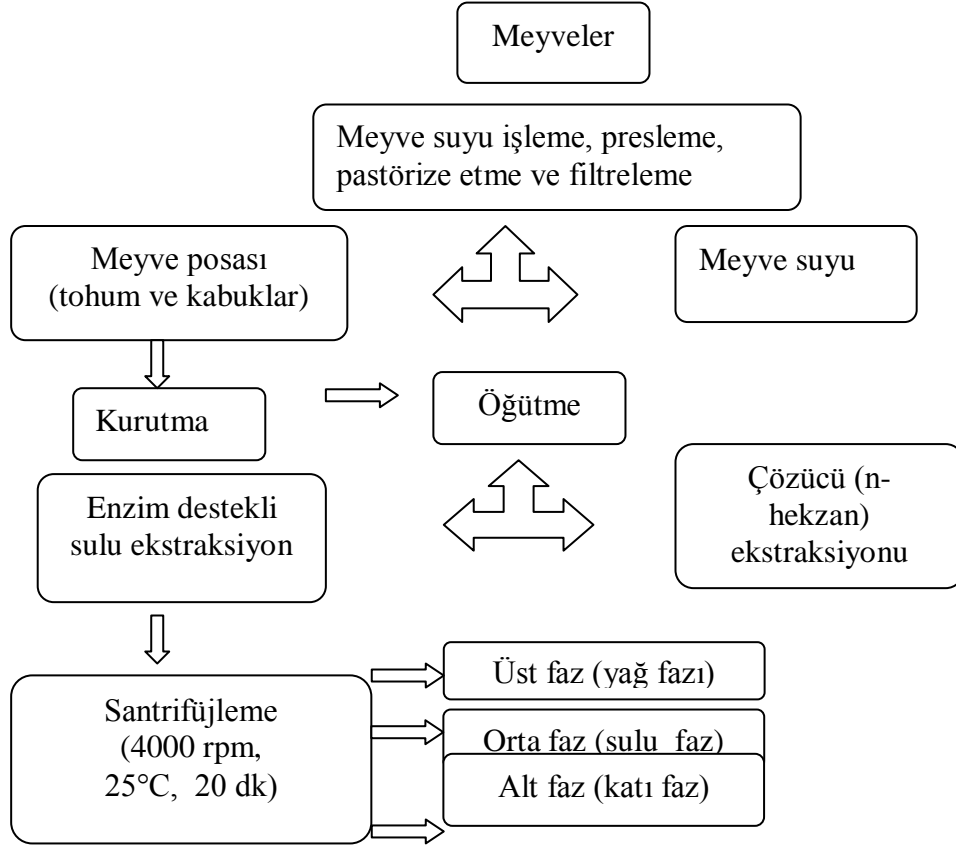
Rafinasyon günümüzde kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki şekilde uygulanabilir; ayrıca her işlem basamağını kesikli veya sürekli olarak uygulamak mümkündür. Ülkemizdeki yağ fabrikalarında rafinasyon işleminin temel basamaklarının tümü sürekli, tümü kesikli veya bir kısmı kesikli olarak uygulanabilmektedir [25].

2.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Yöntemi

Yağlı tohumlardan yağ çıkarmada organik çözücülerin kullanılması güvenlik açısından tehlike yarattığından, çözücü olarak su kullanımı denenmiş, ancak, düşük yağ verimi nedeniyle ilk denemeler başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Buna rağmen çevresel açıdan daha temiz bir yöntem olduğundan, sulu ekstraksiyona ilgi devam etmiştir. Bunun diğer bir nedeni de diğer yenilenebilir çözücülere (alkol ve süperkritik akışkanlar) göre su kullanımı en ekonomik ekstrakt çözücüsü olarak toksik çözücülerin yerini almasıdır [35]. Sulu ekstraksiyon, yangın ve patlama riski de içermediğinden soğuk presleme ve çözücü ekstraksiyonu yöntemlerinden daha avantajlıdır. İşlem daha güvenli çalışma olanağı sunması, daha düşük ilk yatırım masrafı gerektirmesi ve farklı tohumlarla çalışılabilmesi açısından daha esnek bir çözümdür. İlimli işletme koşulları, rafine edilmeyi gerektirmeyen yağ eldesini ve zehirsiz gıda üretimini olanaklı kılar. Öte yandan, sulu ekstraksiyonun verimi çözücü ekstraksiyona göre çok düşüktür. Bu önemli soruna çare olarak enzim katkılı ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmektedir.

Pekçok bitkinin hücre duvarı temel olarak pektik bileşenler, selüloz, hemiselüloz ve ligninden meydana gelmektedir ve kofullar içerisinde yağ barındırırlar [36]. Yağın ekstraksiyon verimi hücre duvarına etkileyen karbohidrazların ve proteazların hidrolitik müdahalesi ile artırılabilir [37]. *Enzim destekli sulu ekstraksiyon* veya *enzimatik sulu ekstraksiyon* ifadesi de buradan gelir, özetle, öğütülmüş tohumlar enzimler ile işleme tabi tutulur, hücre duvarlarının ve bazı lifli maddelerin parçalanması sağlanır. Yağların etrafını çevreleyen lipofilik proteinlerin de etkinliği kırılır ve yağ serbest hale gelir. Bu sayede yağın su ile ekstraksiyon işlemi kolaylaşır. Proteolitik enzimlerin kullanımı Hindistancevizi yağı, kolza yağı ve zeytinyağı eldesinde pilot ölçekte başarılı sonuçlar alınmıştır. Bunların yanısıra, kavun çekirdeği, ayçiçeği çekirdeği, kanola, pamuk tohumu, buğday, soya, yerfıstığı, üzüm çekirdeği ve kabak çekirdeği gibi yağ içeren tohumlarda enzimatik ekstraksiyon çalışmaları yapılmıştır [38,39,40].

Meyve posasından enzimatik ekstraksiyon ile yağ eldesinin şematik gösterimi aşağıdaki gibidir:



Şekil 2.9: Meyvelerden enzimatik yağ ekstraksiyonu metodu ile yağ eldesi blok diyagramı [37]

Seçilen enzimin aktivitesi çalışılacak tohum veya meyveye has spesifitede olmalıdır. Örneğin yapısında önemli miktarda selüloz ve hemiselüloz barındıran tohumlar selülaz ve hemiselülaz enzimleri ile muamele edilmelidir. Tohumlara ön işlem olarak hücre duvarını parçalamaya yönelik uygun enzimlerle enzimatik işlem uygulamak, solventle ekstraksiyonu mekanik ve sulu ortam ekstraksiyonlarında yağ verimini ve yağın kalitesini arttırmaktadır [38,39]. Enzimler tek başlarına kullanıldıkları gibi karışım halinde de kullanılabilirler. Karışım halindeki enzimlerin kullanımı ile genel olarak yüksek yağ verimlerine ulaşılmıştır.

Enzimatik sulu ekstraksiyonda birçok faktör verim ve ürün kalitesini etkilemektedir. Ekstraksiyon koşulları enzimin tavsiye edilen kullanımına uygun olması gerekir. Ekstraksiyonu etkileyen başlıca faktörler, enzim cinsi ve konsantrasyonu, yağlı

çekirdeğin boyutu, katı-sıvı oranı, inkübasyon sıcaklığı, tampon çözelti pH'ı, çalkalama hızı ve inkübasyon zamanıdır [39].

Ekstraksiyon sonrası yağı ayırabilmek için, birçok çalışmada santrifüj kullanılması gerekmiştir. Karışımlar 20 °C'de 1519-16,000 g arasında santrifüj edildiğinde genellikle dört faza ayrılır: yağ fazı, krema fazı, sulu faz ve katı faz. Bazı çalışmalarda, santrifüjleme yerine yağın ayrılması için ekstraksiyon karışımına sıcak su ilave edilmektedir. Bu işlem ile emülsiyon tabakası üst yüzeye çıkar, yüzeyden alınır ve hafifçe kaynatılarak emülsiyon kırılır. Serbest hale gelen yağ molekülleri daha sonra dekante edilir. De-emülsifikasyon ve ürün eldesi aşamaları, esas itibarıyla sulu ve enzimatik ekstraksiyonun gerçekleştirilebilirliğini belirler. Emülsiyondaki yağ kürecikleri birleşerek daha büyük damlacıklar oluşturlarsa santrifüjde yağın ayrılması daha kolay olur [39].

Enzimlerin gıda sanayinde kullanılması, yüksek verimlilikte ürün üretimi, istenmeyen yan ürünlerin azaltılması ve pek çok üretim maliyetini arttıran işlem basamağını ortadan kaldırmak gibi avantajlar sunmaktadır. Enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi özellikle yüksek spesifikite gösterdiği ve düşük sıcaklık koşullarında uygulandığı için gıda sanayi için daha da önemli bir hal almaktadır.

Prosesin çevre dostu olması ve ortama havayı kirlecek uçucu organik bileşikler vermemesi önemli avantajlarından biridir.

Proses çoğu yağlı tohumdan aynı anda yağ ve protein eldesine ve iyi kalitede yağ üretimine olanak sağlar. Genel olarak yağın sabunlaşma indis, serbest yağ asidi, peroksit ve iyot değerlerinde pek bir farklılık görülmemiştir. Bunun yanısıra enzimatik olarak elde edilen yağın renginin daha açık ve sarımsı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca enzimatik ekstraksiyon ile yağdaki fosfolipidler ve suda çözülen gıamlar yağdan uzaklaşmaktadır [41]. Özellikle yağın tokoferol miktarı daha yüksek bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin oranı daha yüksek olduğu için yağlar daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir [42].

Ayrıca, geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılırsa glukosinolat, tanin, sinapın ve fitik asit gibi bileşikler yağın içinde kalır. Bu yöntemde ise bu istenmeyen maddeler yağın içinde oldukça düşük bulunur ve bu nedenle yağlar daha yüksek oranda ürün besleme formülasyonuna dahil olur. Enzimatik ekstraksiyonda, düşük fosfatid içeriğine rağmen oldukça kararlı ve ayrıca daha düşük seviyede renkli madde

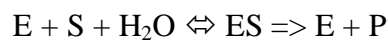
içermektedir. Bu nedenle saflaştırma için daha az ağartma toprağına ihtiyaç duyulmaktadır. Enzimatik ekstraksiyon prosesiyle elde edilen zeytinyağıının depolama stabilitesinin geleneksel sıkma yöntemine göre oldukça iyi olduğunu belirtmiştir [39].

Sulu enzimatik ekstraksiyon yönteminin başlıca dezavantajları düşük yağ verimi, yüksek sermaye gerektirmesi, uzun inkübasyon zamanına gereksinim duyulması ve önemli miktarda atıksu üretmesidir. Piyasa değeri yüksek bir yağ söz konusu ise, enzimatik ekstraksiyon prosesi geleneksel olan yöntemle kolaylıkla rekabet edebilir. Organizmadan elde edilen enzimler karışımlar halinde elde edilip kullanılırsa ve immobilize (yeniden kullanılabilir) formdaki enzimler tercih edilirse, enzimin geri dönüştürülmesi maliyeti oldukça düşürülebilir [43]. Atıksu ve enerji tüketimini azaltmak için, ekstraksiyonda kullanılan su geri kazanılabilir ve tekrar kullanılabilir. Dahası, suyun sirkülasyonu ile enzimin geri kazanılması enzimin maliyetini azaltabilir [39,44].

2.5 Enzimler Hakkında Genel Bilgi

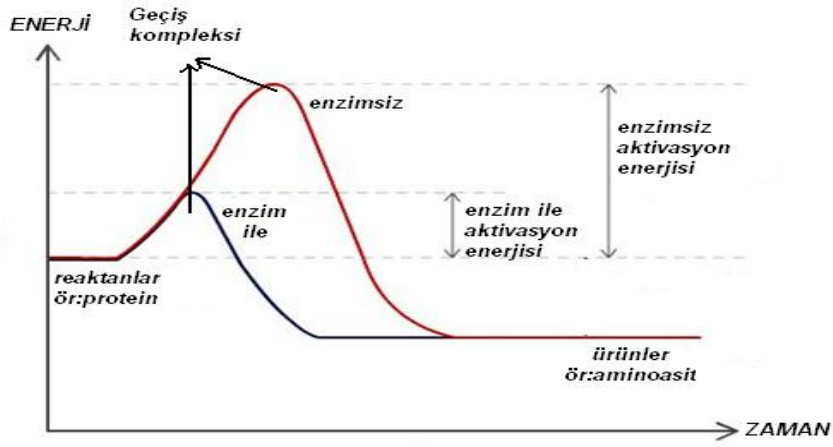
Canlıları oluşturan biyomoleküller, kinetik yönden oldukça kararlı olduklarından reaksiyon vermeleri zordur. Biyolojik katalizörler olarak tanımlanan enzimler, canlı organizmalarda kimyasal reaksiyonları hızlandırarak hiçbir yan ürün olmasına fırsat vermeden %100 lük bir ürün verimi sağlarlar. Protein yapısında olan bu enzimler, proteinlerin en büyük ve en özelleşmiş grubu olarak nitelendirilirler. Enzimlerin katalizör özelliklerinin yanı sıra hücrelerin DNA'larından bilgi aktarılmasında rol alma gibi önemli görevleri de vardır [45].

Birbirinden farklı işlevleri olan enzimler, uluslararası enzim komisyonu tarafından, katalizledikleri reaksiyon tiplerine ve reaksiyon mekanizmalarına göre 6 ana grupta sınıflandırılmıştır. Bunlar oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlardır. Üzerinde çalışılan menengiç tohumundan enzimatik yağ ekstraksiyonu deneylerinde kullanılan hidrolaz sınıfı enzimler kullanılmıştır. Bu enzimlerin gerçekleştirdikleri reaksiyonlar aşağıdaki gibidir [46]:



Enzimlerin reaksiyonları hızlandırma etkisi, reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli aktivasyon enerjisini düşürmelerinden ileri gelir (Şekil 2.10). Reaktanlarla daha

düşük enerjili bir geçiş kompleksi oluşturan katalizörler, reaksiyon sonunda bir değişikliğe uğramadan eski formlarına geri dönerler [49].



Şekil 2.10: Bir kimyasal reaksiyonun enzim ile katalizlenmiş ve katalizlenmemiş halleri için enerji diyagramı [47]

Bu avantajlı katalizörlerin aktivitesine substrat konsantrasyonu, enzim miktarı, pH, sıcaklık, iyonik şiddet, kofaktör konsantrasyonu, inhibitör ve aktivatör konsantrasyonları gibi faktörler etki eder. Enzimler, bu faktörlerin farklı değerlerinde en yüksek verimle çalışabilirler, diğer bir deyişle, her biri için optimum değerler farklıdır [46]. Bu çalışmada kullanılan enzimler için optimum değerler, enzimlerin diğer özellikleri açıklanırken verilecektir.

Selülaz enzimi

Selülaz enzimi, selülozu hidroliz etmede kullanılan, geniş çapta mantar ve bakterilerden elde edilen bir enzimdir. Endüstride yaygın olarak kullanılan bu enzim, biyoteknolojik enzimler arasında önemli bir yere sahiptir. Selülaz enzimleri yaygın olarak alkol üretiminde, deterjan sanayiinde, tekstil ve kağıt endüstrisinde, sebze ve meyve sularının berraklaştırılmasında, bira mayalanmasında ve şarap üretimi gibi sektörlerde kullanılmaktadır [48].

Yapılan araştırmalar ile selülaz enzimlerinin çalışma şartları asidik olanlar için 45-55°C ve pH 4,5-5,5; nötral olanlar için 50-60°C ve pH 6-8 optimum olarak belirlenmiştir [49].

Proteaz enzimi

Proteaz enzimi, doğal hayatta bitkisel, hayvansal ve mikrobiyal kalıntıların dekompozisyonunda önemli rol oynayarak besin döngüsünü sağlamakta ve bitkilerin besinleri alabilmelerini sağlamaktadır. Proteazlar, endüstriyel pazarda oldukça büyük bir yere sahiptirler. Özellikle son dönemde deterjan sektöründe, proteaz enzimi sayesinde önemli gelişmeler olmaktadır. Bunun yanında proteaz enzimleri, deri, et, süt, ilaç, bira, fotoğraf, organik sentezlerde ve atıkların muamelesinde de kullanılmaktadır [48]. Bu enzim üzerine yapılan çalışmalar, proteaz enziminin aktif olarak pH 4 ile 9 aralığında, sıcaklık olarak ise 10 – 70° C arasında çalıştığını göstermiştir [50].

Pektinaz enzimi

Bitki hücre duvarında, bitki dokularının bütünlüğünü sağlayan pektin maddesinin parçalanmasını sağlayan enzimdir. Endüstride özellikle, meyve sularının berraklaştırılması ve konsantre edilmesinde, şarapların berraklaştırılmasında ve keten için selüloz liflerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bir çok çeşidi bulunan pektinaz enziminin genel olarak optimum çalışma şartları, yapılan araştırmalar ve deneyler sonucu pH 3 ve 30°C olarak tespit edilmiştir [51].

Hemiselülaz enzimi

Hemiselülaz, anaerobik funguslar gibi bitkiler tarafından bitki biyokütlesini parçalamak için üretilen bir çeşit enzimdir [52]. Hemiselülaz grubu enzimler, ayrıştırdıkları substrata göre isimlendirilirler; örneğin, ksilan ayrıştırıcılar ksilanaz, mannan ayrıştırıcılar mannaz gibi [53]. Hemiselülaz, ekmek, bisküvi, kek ve diğer fırın ürünlerinin kalitesini geliştirmek amacı ile son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır [54]. Bunun yanında, büyük miktarlarda üretilmeleri nedeniyle, nisbeten daha ekonomik olan, hemiselülaz türü enzimler, kağıt endüstrisinde özellikle tercih edilmektedir. Bu enzim üzerine yapılan çalışmalar, hemiselülaz için ortam pH'nın 4-7 aralığında olması gerektiğini, sıcaklığın ise optimum 50°C olarak seçilmesini önermektedir [55,56].

2.6 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Çalışmaları Üzerine Literatür Araştırması

Literatürde enzimatik sulu ekstraksiyon ile çeşitli bitki ve yağlı tohumlardan yağ eldesi üzerine sayılı çalışmalar bulunmaktadır.

Rosenthal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, soyadan sulu ortamda enzimatik ekstraksiyon işleminde elde edilen yağ miktarı üzerine etkisi olan parametreler ve enzim aktivitesinin rolü incelenmiştir. Bu çalışmada optimizasyonu içeren istatistiksel bir yöntem olan tepki yüzey yöntemi (RSM) kullanılmıştır. Kullanılan bu yöntem ile kullanılan proteaz ve selülaz gibi iki farklı enzim ile beraber enzim konsantrasyonu, hidroliz süresi, partikül büyüklüğü ve katı-sıvı oranının yağ verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Proses parametreleri ile yağ verimi arasında iyi bir korelasyon olduğunu, yağ veriminin genel olarak önceden ısıl işlem görmüş büyük partikül boyutlarındaki fraksiyonlarda artış gösterdiği tespit edilmiştir [48].

Nyam [57] bir araştırmasında, Kalahari kavunu çekirdeğinden yağ eldesinde, iki farklı enzim, Flavourzyme 1000L ve Nötraz 0,8L kullanmıştır. Bu enzimler ile %68,58 ve 71,55 verimle yağ elde etmiştir. Tohumlardan enzimatik yöntem ile ve petrol eteri ile ekstrakte edilmiş yağların bileşimleri ve özellikleri arasında da önemli fark bulunmadığı beyan edilmiştir.

Ghodsvali ve arkadaşları [58] üç zeytin cinsi (Kroneiki, Iranian Native Oleaginous ve Mission)'den pektinaz (Pectinex Ultra SP-L ve Pectinex 1,6021) enzimleri ile yağ eldesi üzerine çalışmalar yürütmüştür. Enzimatik işlemin toplam polifenol, bulanıklık, renk, asitlik, peroksit ve iyot değerleri üzerine etkilerini incelemiştir. Enzimatik işlemin yağ verimini önemli ölçüde arttırdığı; enzim konsantrasyonunun naturel yağların renk, bulanıklık ve toplam polifenol değeri üzerine oldukça önemli etkisi olduğu, buna karşılık asitlik, peroksit ve iyot değerleri üzerinde etkisinin gözlenmediği saptanmıştır.

Dominguez ve arkadaşları [44] soya yağının ekstraksiyonunda, 1,0g enzim/100g substrat enzim-soya tohumu oranında ve soya-su oranı 1:1 – 1:2 arasında yüksek verim alındığını saptamıştır. Ayrıca inkübasyon zamanının da yağın verimi üzerine önemli bir etkisinin olduğu ve en uygun zaman aralığının 6 saat olduğu gözlenmiştir. Tanecik boyutunun küçük olması (< 1 mm) durumunda, enzimin hücre duvarına erişmesi daha kolaylaştığı için, daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Selülaz ve

hemiselülaz'dan oluşan enzim karışımı ile çalışıldığında % 44 gibi en yüksek verime erişilebileceği ortaya konmuştur.

Tano-Debrah ve arkadaşları [59] proteaz, selülaz ve hemiselülaz'dan oluşan enzim karışımı ile Shea çekirdeğinden yağ ekstrakte etmeyi denemişlerdir. Enzim uygulamadan sulu ekstraksiyon verimi %48 iken bu enzim karışımı ile verim değeri % 72'ye çıkmıştır. Optimum ekstraksiyon koşulları: % 1 enzim konsantrasyonu, 1:2 tohum-su oranı, 30 °C inkübasyon sıcaklığı ve inkübasyon süresi 4 saat olarak belirlenmiştir.

Hanmoungjai ve arkadaşları pirinç kepeğinden sulu enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesinde, tepki yüzey yöntemi ile reaksiyon parametrelerini optimize etmiştir. Ticari bir protez olan alkalaz enzimi ile çalışılmış, optimum koşullar: % 1 enzim konsantrasyonu, pH 9,0, 50 °C inkübasyon sıcaklığı ve süre 1 saat olarak belirlenmiştir. En yüksek %79 verim değerine ulaşılmıştır. Yağ verimi üzerine enzim miktarı etkisinin yüksek, inkübasyon süresinin ve sıcaklığının pek bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen ham pirinç kepeğinin serbest yağ asidi değerinin çözücü ekstraksiyonuyla elde edilen ham yağa göre oldukça düşük bulunmuştur. Bu nedenle rafinasyonda asit giderilmesi safhasında yağ kaybı daha az olacaktır. Karşılaştırılması yapılan yağların yağ asitleri bileşimlerinde fark bulunmadığı da saptanmıştır [60,61].

Jiang ve arkadaşları [62] Alcalase 2,4L enzimi kullanarak yer fıstığının yağ ve protein ekstraksiyonunu üzerinde inceleme yapmışlardır. Optimum proses koşulları: 60 °C, pH 9,5, tohum-su oranı 1:5 (ağ/hac), enzim miktarı % 1,5 (ağ/ağ) ve inkübasyon süresi 5 saat olarak tespit edilmiştir. Bu koşullar altında, yağ ve protein hidrolizatları ekstraksiyon verimleri sırasıyla, % 79,32 ve % 71,38 olmuştur.

Caetano ve arkadaşları [63] ayçiçek yağının ekstraksiyonunda, tohumlara ekstrüzyon ve enzimatik sulu ekstraksiyon işlemlerinin birlikte uygulanması ile verimin önemli derecede arttığını saptamışlardır. Vizkozim ve alkalaz ticari enzimleri denenmiştir. Proses koşulları: 70 °C, 4 saat, ekstrüzyon dönüş hızı 180 rpm, seyreltme oranı 1:5 ve enzim miktarı % 0,3 (ağ/ağ) seçildiğinde, proses verimini yaklaşık % 54 arttırmıştır. Enzimatik sulu ekstraksiyonda maksimum yağ verimi Vizkozim ve alkalaz için sırasıyla, % 82 ve % 70 olmuştur.

Latif ve arkadaşları [64] kanola tohumlarından kanola yağı ve proteinin sulu ekstraksiyonunda Protex 7L, Multifect Pectinex FE, Multifect CX 13L ve Natuzim enzimlerini kullanmış ve etkilerini incelemiştir. Enzim kullanılmadan %16,48 yağ elde edilirken enzim katkısı ile verim % 22,2 - % 26,0 değerlerine ulaşmıştır. Geleneksel çözücü ekstrasyonu ve enzimatik sulu ekstrasyon ile elde edilen kanola yağlarının fizikokimyasal özellikleri karşılaştırılmıştır. Enzimatik yöntemle elde edilen yağın serbest yağ asidi içeriği, peroksit değeri, renk ve tokoferol (alfa, gama ve delta) konsantrasyonlarında farklılıklar gözlemlenmiştir. Ancak, iyod değeri, kırılma indisi, yoğunluk, saponifikasyon değeri ve yağ asidi bileşimlerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir.

Literatürde menengiç tohumlarının genel olarak ekstraksiyonu üzerinde yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu amaçla, bu çalışmada menengiç yağı eldesinde enzimatik sulu ekstraksiyon yönteminin etkinliği incelenmeye alınmıştır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Kullanılan Hammaddeler

Bu çalışmada Türkiye'nin Gaziantep yöresinde yabani olarak yetişen *Pistachia* sınıfına ait üç farklı fıstık türüne ait tohumlar ile çalışmalar yürütülmüştür. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış menengiç (*Pistachia terebinthus* L), menengül ve cüce antep fıstığı olarak adlandırılan ağaçların tohumları Eylül-Ekim 2010 da toplanmıştır. Tüm tohumlar yabancı madde, kir, toz ve kırılmış tohumlardan temizlenmiştir. Polipropilen poşetlerde buzdolabında +4 °C da muhafaza edilmiştir.

Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, tohumlar üç farklı ticari enzimle muamele edilmiştir. Proteaz olarak Alcalase 2,5L Type-DX, selüloz olarak Celluclast 1,5L ve pektinaz olarak Pectinex Ultra Clear enzimleri kullanılmıştır. Kullanılan enzimler sıvı halde ve Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark) firmasından tedarik edilmiştir.

Alcalase 2,5L *Bacillus licheniformis* mikroorganizmalarından elde edilmiş ve proteolitik aktivitesi 2,5 AU/g (Anson Units / gram) olan, yüksek aktiviteye sahip proteaz'dır. Enzimin optimum sıcaklık aralığı 55-70 °C ve optimum pH aralığı 4,0-8,0'dir. Celluclast 1,5L *Trichoderma reesei* mikroorganizmalarından elde edilmiş ve selüloolitik aktivitesi 1,5 EGU/g (Endo-Glucanase Units/gram) olan selüloz'dır. Enzimin optimum sıcaklık ve pH aralığı sırasıyla 50-60 °C ve 4,5-6,0'dır [65,66]. Pectinex Ultra Clear ise *Aspergillus niger* mikroorganizmalarından elde edilmiş ve esas olarak poligalakturonaz, pektinesteraz ve pektin transeliminaz'dan ibaret pektinaz enzimleri karışımıdır. Pectinex Ultra Clear'ın aktivitesi 26000 PG/mL'dir (Poligalakturonaz/mL). Enzimin optimum pH aralığı 3,5 - 6,0 ve optimum sıcaklığı 50 °C dır [67]. Tüm enzimler buzdolabında +4 °C da saklanmıştır.

Fosfat tampon çözeltileri potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (1/15 mol/L) stok çözeltisi ile disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) (1/15 mol/L) stok çözeltisinin karışımı ile hazırlanmıştır.

Deneyleerde kullanılan tüm kimyasallar Merck Chemical Co. tarafından temin edilmiş olup bu reaktifler analitik kullanım amaçlı ve en yüksek saflık değerindedir. Ayrıca tüm deneyleerde deiyonize su kullanılmıştır [68].

Yağ ekstraksiyonunda yüzey aktif maddesi olarak Labsa 101 kullanılmıştır. Kullanılan yüzey aktif maddesi jel kıvamındadır ve Cognis Deutschland GmbH & Co. tarafından tedarik edilmiştir. Labsa 101 Lineer Alkil Benzen Sülfonik Asit kimyasal yapısında anyonik bir yüzey aktif maddesidir ve deterjan sanayinde kullanılmaktadır [69].

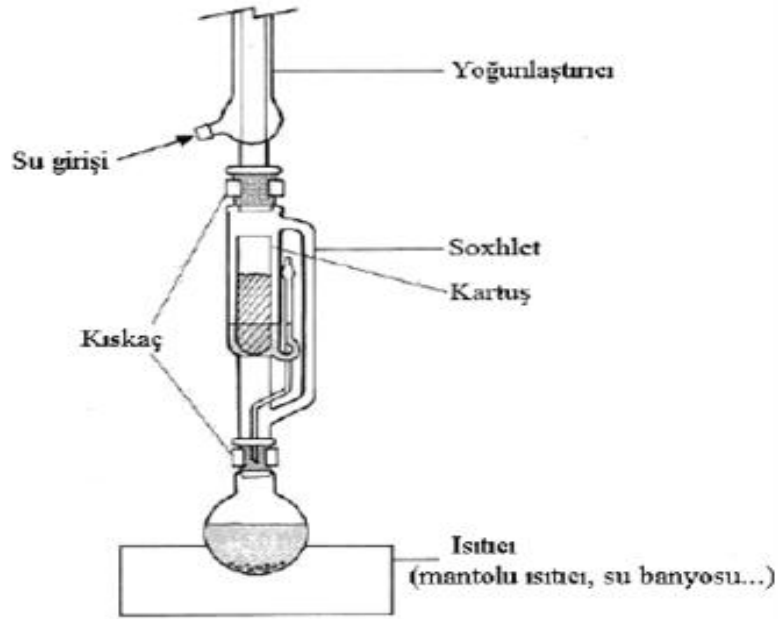
3.2 Yöntemler

3.2.1 Yabani fıstık tohumlarının karakterizasyonu

Tohumların ortalama ağırlık, boyut ve kabuk miktarları 50 adet tohum kullanılarak belirlenmiştir. Tohumlara homojenizasyon, ultrasonikasyon [70], mekanik işlemler (ekstrüzyon ve rendeleme) [71, 72], sıcak su banyosunda inkübasyon (hidrotermal ön işlem) [73] ve 105 °C'da fırında kurutma gibi ön işlemler uygulanmamıştır. Yabani fıstık tohumları kahve değirmeninde öğütülmüştür. Öğütülmüş tohumların topaklaşması nedeniyle elenmesi ve tane büyüklüğüne göre fraksiyonlanması mümkün olmamıştır.

Tohumların nem içerikleri 105 °C'da etüvde ısıtma sonucu oluşan ağırlık kaybından faydalanılarak hesaplanmıştır.

Yabani fıstık tohumlarının yağ içerikleri standard AOAC yöntemine göre Soxhlet cihazı kullanılarak saptanmıştır [74]. Şekil 3.1 de Soxhlet düzeneği görülmektedir. Öğütülmüş 5 gram tohum kağıt kartuşa konulmuş ve üzeri pamuk ile kapatılmıştır. Kartuş cihazın ekstraksiyon haznesine yerleştirilmiş ve 4 saat boyunca hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon boyunca, balonda kaynayan hekzan buharları geri soğutucuda yoğunlaşarak ekstraksiyon haznesini doldurmaya başlar ve kartuş içindeki tohumların yağını çözer. Haznenin altına bağlı olan sifon tüp de çözücüyle dolar. Çözücü seviyesi haznede sifon seviyesinin üstüne çıktığında, sifon otomatik olarak haznede biriken çözeltiyi balona geri boşaltır. Böylece hekzan içerisinde çözünmüş yağ balonda toplanmaya başlar. Bu döngü 10-15 dakikada bir kendiliğinden tekrarlanır. Bu işlem genellikle 4-6 saat devam eder.



Şekil 3.1: Soxhlet düzeneği [75]

Ekstraksiyon sonrası hekzan çözeltisi darası belirli balona alınmış ve döner buharlaştırıcıda (Laborata 4000-efficient Heidolph, USA) kullanılarak 85 °C’de hekzan uçurulmuştur. İşlem sonucunda balon tekrar tartılmış ve elde edilen yağ miktarı üzerinden tohumlarının yağ içerikleri hesaplanmıştır.

3.2.2 Yabani fıstık tohum yağlarının karakterizasyonu

Yabani fıstık tohum yağlarının refraktif indisi, serbest yağ asitleri miktarı, sabunlaşma değeri, peroksit değeri ve sabunlaşmayan madde miktarı AOAC yöntemlerine göre belirlenmiştir [76,77].

Serbest yağ asidi yüzdesinin saptanması için, bilinen miktardaki yağ örneği dietileter: etanol çözeltisi (1:1 v/v) içerisinde çözülmüş ve ardından karışım 0,1 N etanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile fenolftalein katalizörlüğünde titre edilmiştir. 1 gr yağı nötrleştirmek için harcanmış mg KOH miktarı saptanmış ve %oleik asit olarak sonuç verilmiştir.

Sabunlaşma değerinin belirlenmesinde, 2 gr yağ örneği geri soğutucu altında 1 saat 0,5 N etanollü potasyum hidroksit sabunlaştırılmıştır. Daha sonra karışım fenolftalein katalizörlüğünde 0,5 N HCl ile titre edilmiştir. 1 gr yağı sabunlaştırmak için gerekli mg KOH miktarı sabunlaşma değeri olarak hesaplanmıştır.

Sabunlaşmayan madde miktarının saptanması için, 2 gr yağ örneği geri soğutucu altında 2 saat 0,5 N etanollü potasyum hidroksit sabunlaştırılmıştır. Daha sonra

karışımında kalan sabunlaşmayan maddeler 3 defa 15 mL petrol eteri ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar toplanmış darası belirli balona alınmış ve dönerli buharlaştırıcıda çözücünün evaporasyonu sağlanmıştır. Balonda kalan madde tartımı üzerinden % sabunlaşmayan madde miktarı tespit edilmiştir [76].

Peroksit değerinin bulunması için, 2 gr yağ örneği 25 mL asetik asit:kloroform (3:2 v/v) içerisinde çözülmüş ve karışıma 1 mL doygun KI çözeltisinden ilave edilmiştir. Böylece açığa çıkan iyot nişasta indikatörlüğünde 0,002 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titre edilmiştir.

İyot değeri (ID) ise tohumların yağ asidi bileşimlerinden aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır [77] :

$$IS = (palmitoleik\% * 0.9500) + (oleik\% * 0.8601) + (linoleik\% * 1.7321) \\ + (linolenik\% * 2.616) + (eikosenoik\% * 0.7854)$$

3.2.3 Yabani fıstık tohum yağlarının yağ asitleri bileşimlerinin saptanması

Yabani fıstık tohumlarından elde edilen yağ örneklerin yağ asitleri bileşimleri gaz kromatografisi ile belirlenmiştir. Önce yağlar metanollü ortamda BF₃ ile yağ asitleri metil esterleri haline dönüştürülmüştür [78]. Daha sonra bu metil esterlerinin yağ asidi bileşimi Hewlett-Packard 5890 II (Hewlett-Packard, Waldron/Almanya) gaz kromatografi cihazı ile saptanmıştır. Uygulanan kromatografik analiz koşulları Çizelge 3.1' de verilmiştir. Kromatogramda görülen piklerin tanımlanması, piklere ait alıkonma zamanlarının aynı koşullarda analiz edilen standart metil esterleri karışımının alıkonma zamanları ile karşılaştırılması ile yapılmıştır. Pik alanların entegrasyonu ile yağ asitlerinin yüzde bileşimleri hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1: Gaz Kromatografisi Analiz Koşulları

Dedektör tipi	FID ⁽¹⁾
Dedektör sıcaklığı, °C	280
İnjeksiyon sıcaklığı, °C	250
Gaz hızları (mL/dak)	
Azot	1,6
Hidrojen	33
Hava	460
Dağıtma oranı	88:1
Fırın sıcaklığı	150 °C (5 dak) 150-275 (5 °C /dak) 275 °C (10 dak)
Kolon tipi	Kapiler kolon HP-INNOWAX ⁽²⁾

⁽¹⁾ Alev iyonizasyon dedektörü

⁽²⁾ 30 m x 0.32 mm, 0.5µm film kalınlığında polietilen glikol (PEG)

3.2.4 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve ekstraksiyon veriminin hesaplanması

Enzimatik sulu ekstraksiyon yönteminde suya ilave edilen hidrolitik enzimler (proteaz, selüloz, hemiselülozlar) hücre duvarını parçalamakta ve yağın hücre dışına çıkmasını kolaylaştırmaktadır [79]. Çalışmamızda ekstraksiyon yöntemi olarak, Moreau ve arkadaşlarının [80] uyguladıkları yöntemin modifiye edilmiş şekli kullanılmıştır. Menengiç tohumları (4 g) 50 mL'lik polikarbonat falkon santrifüj tüplerine tartılmış ve üzerine 30 mL istenen pH değerinde fosfat tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Falkon tüplerine gereken miktarda enzim katıldıktan sonra, tüpler yatay olarak orbital çalkalayıcıya (Edmund Bühler, KS-15, Germany) yerleştirilmiş ve 200 rpm hızında 50 °C'de belirli süre çalkalanmıştır. Süre bitiminde, tüpler çalkalayıcıdan alınmış ve enzimlerin aktivitesini durdurmak için 95 °C'lik sıcak su banyosunda 15 dakika bekletilmiştir. Tüplerin oda sıcaklığına soğuması beklenmiş ve daha sonra santrifüj cihazına (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) yerleştirilmiş ve 4000 rpm'de 1 saat santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen karışım tüp içerisinde dört faza ayrılmıştır. En üstte açığa çıkan yağ fazı, takiben kremamsı yağ-

su emülsiyon fazı, berrak olmayan sulu faz ve dipte çözünmeden kalan çamurumsu görünümde katı faz yer almıştır. Sulu ekstraksiyonda oluşan emülsiyon yağ kaybına sebep olmaktadır ve emülsiyonun kırılması da kolay değildir [81]. Meydana gelen yağın miktarını tespit etmek için farklı yöntemler uygulanabilir. Bu nedenden dolayı ekstraksiyon verimlerinin saptanmasında farklı çalışma yöntemleri ve hesaplama yöntemleri kullanılmaktadır. Mikropipet kullanımı ile yağın kazanılması, sıvı fazlardan yağın tekrar ekstrakte edilmesi, küspede kalan yağ üzerinden suya geçen yağın hesaplanması gibi yöntemleri sayabiliriz.

Çalışmalarımızda bu nedenlerden dolayı yağ ekstraksiyonu verimini hesaplamak için iki farklı yöntem kullanılmıştır.

Çözücü vasıtasıyla sıvı fazlardan geri kazanılan yağ üzerinden yağ veriminin (V_s) hesaplanması: Santrifüj tüpünde sıralanan yağ fazı, kremi faz ve sulu faz dikkatli bir şekilde içerisinde çözücü [(50 mL hekzan ve 50 mL su) veya (100 mL kloroform:metanol, 2:1 karışımı)] bulunan ayırma hunisine aktarılmıştır. Ayırma hunisindeki karışım çalkalanır ve fazlara ayrılması beklenir. Sulu ve çözücü fazı olmak üzere iki faza ayrılan karışımdan sulu faz başka bir ayırma hunisine aktarılmış ve aynı işlemler 2-3 defa tekrarlanmıştır. Çözücü fazı (hekzan veya kloroform) darası bilinen balona nakledilmiş ve balon döner buharlaştırıcıya yerleştirilmiştir. 80-85 °C'de çözücünün evapore edilmesinden sonra balonda kalan yağ miktarı tartılmış ve aşağıdaki eşitliğe göre V_e yağ verim değeri hesaplanmıştır:

$$V_s (\%) = (Y_s / Y_b) \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, Y_s = Sıvı fazlardan çözücü ile geri kazanılan yağ miktarı, gram; Y_b = İşleme tabi tutulan tohumların içerdiği başlangıç yağ miktarı, gram'dır.

Küspede kalan yağ üzerinden yağ veriminin (V_k) hesaplanması: Santrifüjleme sonucu tüpte kalan küspe, katı faz, süzgeç kağıdı üzerine nakledilmiş ve 105 °C'de kurutulmuştur. Daha sonra süzgeç kağıdı ve küspe birlikte 250 mL'lik behere yerleştirilmiş ve üzerine 15 mL/g madde olacak şekilde hekzan konulmuştur. Beher içeriği manyetik karıştırıcıda 800 rpm'de 1,5 saat karıştırılarak küspede kalan yağın hekzana geçmesi sağlanmıştır. Hekzanlı çözelti daha sonra süzgeç kağıdından darası belirli balona süzölmüştür. Süzgeç kağıdı üzerinde kalan küspe partikülleri birkaç defa 15 mL hekzan ile yıkanmış ve yıkama çözeltileri de balona ilave edilmiştir. Balon döner buharlaştırıcıya yerleştirilmiştir. 80-85 °C'de hekzanın evaporasyonu

sağlanmıştır. Balon tekrar tartılmıştır. Aşağıdaki eşitliğe göre V_k yağ verim değeri hesaplanmıştır [67]:

$$V_k (\%) = [(Y_b - Y_k) / Y_b] \times 100 \quad (3.2)$$

Burada, Y_b = İşleme tabi tutulan tohumların içerdiği başlangıç yağ miktarı, gram; Y_k = Küspede kalan yağ miktarı, gram'dır.

3.2.5 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine yüzey aktif madde katkısının etkisi

Bitkisel yağ ekstraksiyonunda hekzan kullanımına alternatif yöntemler arasında yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon yöntemi de yer almaktadır. Çalışmamızın bu bölümünde, enzimler ile en yüksek veriminin elde edildiği koşullarda üç ekstraksiyon deney serisi daha yürütülmüştür. 1. deney serisinde ortama ilave edilecek optimum tuz konsantrasyonu ve 2. deney serisinde ortama ilave edilecek optimum yüzey aktif madde konsantrasyonu belirlenmiştir. 3. deney serisinde ise enzime ilaveten optimum tuz ve yüzey aktif madde katılımı ile ekstraksiyon denemeleri yürütülmüş ve etkileşim değerlendirilmeleri yapılmıştır.

Yüzey aktif madde olarak standart anyonik Labsa 101 kullanılmış ve ekstraksiyon denemelerinde Bölüm 3.2.4 de açıklanan çalışma prosedürüne ve verim hesaplama eşitliklerine aynen uyulmuştur.

3.2.6 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile en yüksek verimle elde edilmiş yağın karakterizasyonu

Bu son bölümde ise enzimatik sulu ekstraksiyon ile en yüksek verimin sağlandığı koşullarda olarak elde edilmiş menengiç tohum yağının asit değeri ve yağ asitlerinin bileşimi belirlenmiştir. Asit değeri AOCS standard yöntemine göre saptanmıştır. Yağ asitlerinin bileşimleri ise Bölüm 3.2.3 de açıklanan çalışma prosedürü uygulanarak belirlenmiştir [76].

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Yabani Fıstık Tohumlarının Karakterizasyonu

Çalışmamızda Gaziantep yöresinden temin edilmiş Pistachia sınıfı üç farklı fıstık türünün, olgun ve olgunlaşmamış menengiç, menengül ve cüce antepfıstığı, tohumları incelenmeye alınmıştır. Tohumların bazı tohum karakteristikleri ile nem ve yağ içerikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1: Gaziantep yöresi yabani fıstık (menengiç, menengül, cüce antepfıstığı) tohumlarının bazı fiziksel özellikleri

Özellikler	Menengiç Olgun	Menengiç Ham	Menengül	Cüce Antepfıstığı
Nem, %	5,1	8,0	5,4	6,1
Yağ, %	44,3	32,6	56,0	55,5
1000 tane ağırlığı, g	73,4	42,2	242,7	541,8
Genişlik/Boy oranı	0,92	0,84	0,95	0,61
Kabuk/Tohum oranı	-	-	0,38	0,34

2000 yılında İçel yöresine ait menengiç tohumları üzerinde çalışmış olan Özcan’ın bulgularına göre, menengiç tohumlarının yağ içerikleri ortalama %38,7 dir ve 1000 tane ağırlığı ise 59,7 gramdır. Çizelge 4.1’e göre, menengiç tohumunun yağ miktarı ve 1000 tane ağırlığı, Özcan tarafından yapılan çalışmaya göre daha yüksek değerlerdedir. Bunun yanında boy/genişlik oranlarının hemen hemen aynı olduğu tespit edilmiştir [82]. Yağ miktarı ve diğer özellikler iklim, olgunlaşma aşaması, çekirdeklerin hasat zamanı ve ekstraksiyon koşulları gibi etkenlere bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir. Çizelge 4.1’de olgunlaşmamış menengiç tohumlarına baktığımız zaman yağ miktarında, 1000 tane ağırlığında ve genişlik/boy oranlarında azalma görülürken nem miktarında artış olduğu gözlenmektedir. Bu da hasat döneminin tohum özelliklerinde oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Halk

arasında menengül ve cüce antepfıstığı olarak adlandırılan diğer tohumları incelediğimiz zaman nem miktarlarında pek bir farklılık gözükmemektedir. Ancak bu tohumların içerdiği yağ miktarı menengül için %56, cüce antepfıstığı için %55,5 olarak bulunmuştur. Antepfıstığı yağ içeriklerinin %51-57 olduğu gözönüne alınırsa bu iki tür olup antepfıstığı türüne daha yakındır.

4.2 Yabani Fıstık Tohum Yağlarının Karakterizasyonu

Ekstrakte olan yağ sarımsı renktedir. Menengiç tohumundan elde edilen yağın fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.2’ de gösterildiği gibidir.

Çizelge 4.2: Gaziantep yöresi yabani fıstık (menengiç, menengül, cüce antepfıstığı) tohum yağlarının fizikokimyasal özellikleri

Özellikler	Menengiç Olgun	Menengiç Ham	Menengül	Cüce Antepfıstığı
Refraksiyon indisi, d_{20}	1,477	1,469	1,497	1,467
Asidite, %	1,1	11,7	2,0	2,8
Peroksit değeri	0,47	0,67	0,60	0,63
Sabunlaşma değeri	159,5	169,6	200,1	209,4
Sabunlaşmayan maddeler, %	1,59	1,48	1,51	1,47
İyot değeri	99,1	101,6	101,9	98,9

Menengiç tohumuna ait yağın fizikokimyasal özelliklerini Özcan tarafından İçel menengiç tohumları ile yapılmış çalışmanın sonuçları ile karşılaştırdığımız zaman, sabunlaşmayan madde miktarı, sabunlaşma sayısı ve peroksit değerleri hemen hemen aynı çıkmış ancak asitlik değeri (%0.9) ve iyot sayısı (89,1) daha yüksek çıkmıştır [82]. Menengiç tohumunun sabunlaşmayan madde miktarı pek çok tohumdan elde edilen yağ (kapari tohumu gibi) ile benzer özellik gösterirken [83], zeytinyağı ve palm yağı gibi pekçok meyveden elde edilen yağa göre de daha yüksektir [84]. Diğer tohumlardan elde edilen yağların sabunlaşmayan madde miktarları da menengiç tohumuyla benzer niteliktedir. Menengiç tohum yağının peroksit değeri ise $0,47 \text{ meqkg}^{-1}$ olup, genel olarak ticari olarak tüketilen yağlar için tavsiye edilen (≤ 10)

değerden daha küçüktür [85]. Olgunlaşmamış menengiç, menengül ve cüce antep fıstığı için tespit edilen peroksit değerleri de tüketim için uygun değerlerdedir.

Türkiyede yabancı olarak yetişen menengiç tohumu ve diğer yabancı fıstık türlerinin yağ asidi bileşimleri gaz kromatografisi kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3: Gaziantep yöresi yabancı fıstık (menengiç, menengül, cüce antepfıstığı) tohum yağlarının yağ asitleri bileşimleri

Yağ asitleri	Yağ asitleri bileşimi (%)			
	Menengiç Olgun	Menengiç Ham	Menengül	Cüce Antepfıstığı
Laurik asit (12:0)	<0,1	0,1	0,2	0,1
Miristik asit (14:0)	0,1	0,2	0,1	0,1
Palmitik asit (16:0)	21,1	20,6	9,1	9,5
Palmitoleik asit (16:1)	3,1	2,3	0,5	0,6
Stearik asit (18:0)	2,0	1,9	3,0	2,5
Oleik asit (18:1)	55,7	53,0	61,4	68,2
Linoleik asit (18:2)	16,8	19,7	22,0	17,1
Linolenik asit (18:3)	0,7	0,6	0,4	0,4
Eikosanoik asit (20:0)	0,2	0,3	0,7	0,3
Eikosanoik asit (20:1)	0,3	0,3	1,7	0,7
Behenik asit (22:0)	0,1	1,0	0,8	0,5

Gaziantep yöresi menengiç tohumu ile Özcan [82] tarafından incelenen İçel yöresi menengiç tohumu yağ asitleri bileşimleri açısından karşılaştırıldığında, Gaziantep menengicinin oleik asit içeriği %3 daha yüksek bir değerde olduğu gözlenmiştir. Bu da muhtemelen iklim, toprak gibi koşullardaki farklılıklardan ileri gelmektedir. Yabancı fıstık tohum yağlarının hepsi oleik asitçe zengindir. Oleik asit konsantrasyonları zeytinyağı ve fındık yağından [86] daha düşük, ancak kapari (34,66–49,87%) [83] ve frambuaz (11,96%) [87] yağlarınınkinden daha yüksektir.

Olgun ve olgunlaşmamış menengiç yağlarının yağ asitleri bileşimleri arasında büyük farklılık gözlenmemektedir. Olgun tohumların oleik asit içeriği diğerine göre %2,7 daha fazladır.

Menengül ve cüce antepfıstığı yağlarının palmitik asit içerikleri menengiçlere göre çok düşüktür. Oleik asit yüzdeleri ise %60'ın üstündedir. Oleik asit ve linoleik asit miktarlarının yüksek olması bu tohum yağlarını endüstride kullanılan pek çok yağa göre daha önemli kılmaktadır.

4.3 Menengiç Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyonla Yağ Eldesine pH, Süre, Enzim Cinsi ve Miktarının Yağ Verimine Etkisi

Literatürde menengiç tohumlarından yağ eldesi üzerine yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada bu tohumlardan selülaz, proteaz ve pektinaz enzimleri varlığında sulu ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesinde, yağ ekstraksiyon verimine pH, süre, sıcaklık, enzim cinsi ve miktarı ile yüzey aktif madde katkısının etkileri incelenmiştir. Ekstraksiyon serilerinde, her enzim için miktar gram tohum başına 0,25-1 mL arası, tampon çözelti pH'ı 4-8 arası, inkübasyon süresi 4-24saat ve inkübasyon sıcaklığı 40-60 °C arası değiştirilmiştir. Tane büyüklüğü 0,6-1 mm arası fraksiyon ile 1:7 (ağ/hac) tohum:tampon çözelti oranında ve 200 rpm çalkalama hızında çalışılmıştır. Santrifüj hızı 4000 rpm olarak seçilmiş ve 1 saat süre ile örnekler santrifüjlenmiştir.

4.3.1 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, pH, enzim cinsi ve sürenin yağ verimine etkisi

Enzimatik sulu ekstraksiyon çalışmalarına proteaz enzimi ile başlanmış ve bu enzim ile en yüksek yağ verimine erişmek için öncelikle hangi pH da ne kadar süre çalışılması gerekeceği belirlenmiştir. Bu amaçla, pH 4-8 arasında 4-8 saat ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. Enzim miktarı gram tohum başına 0,25 mL kullanılmış ve ekstraksiyon sıcaklığı 50 °C seçilmiştir. Bulunan sonuçlar Çizelge 4.4 de verilmiştir.

Çizelge 4.4: Menengiç tohumlarının proteaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi (0,25 mL enzim/g tohum; 50°C)

Süre	Yağ verimi (%V _s)				
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
4 saat	31,5	32,0	40,1	43,6	41,2
6 saat	32,0	35,4	42,0	47,5	39,0
8 saat	33,0	33,0	40,8	45,9	39,8

Çizelge 4.4 den, 4-8 saatlik süre için, genel olarak yağ verimine pH etkisinin büyük olduğunu görülmektedir. pH 7'e kadar verim değerleri artmakta, pH 7'de en yüksek değerlere ulaşmakta ve daha sonra verim değerlerinde düşme meydana gelmektedir. Her pH ortamında, verim üzerine sürenin çok büyük bir etkisi gözlenmemiştir. Süre 4 saatten 6 saate çıkarıldığında genelde %2-3 verim artışı olmuştur. Sürenin 8 saat olduğu çalışmalarda ise pH 5- 7 aralığında verim değerlerinde %1 civarı düşmelerde olmuştur. En yüksek yağ verimi pH7 de 6 saatte %47,5 olarak elde edilmiştir.

Ekstraksiyon deneylerine selüloz enzimi ile aynı koşullarda devam edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5 'de verilmiştir.

Çizelge 4.5: Menengiç tohumlarının selüloz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi (0,25 mL enzim/g tohum; 50°C)

Süre	Yağ verimi (%V _s)				
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
4 saat	6,4	8,6	10,5	8,8	7,2
6 saat	6,6	10,2	11,3	10,2	9,9
8 saat	6,9	9,7	10,8	9,4	9,4

Çizelge 4.5 den genel olarak yağ verimlerinin aynı koşullarda proteaz enzimi ile elde edilenlerden çok düşük olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon verimlerinin pH ile değişim gösterdiği, en yüksek verim değerlerine pH 6 da varıldığı gözlenmektedir.

Süre açısından ise her pH değerinde pratik olarak 6-8 arasında çok önemli fark bulunmadığı, yine de 6 saatten sonra bir miktar verim düşmesi yaşandığı çizelgeden anlaşılmaktadır.

Bu bölümde yürütülmüş çalışmaların son kısmında pektinaz enziminin ekstraksiyon etkinliği araştırılmıştır. Eşdeğer koşullarda ekstraksiyon deneyleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.6 da topluca gösterilmiştir.

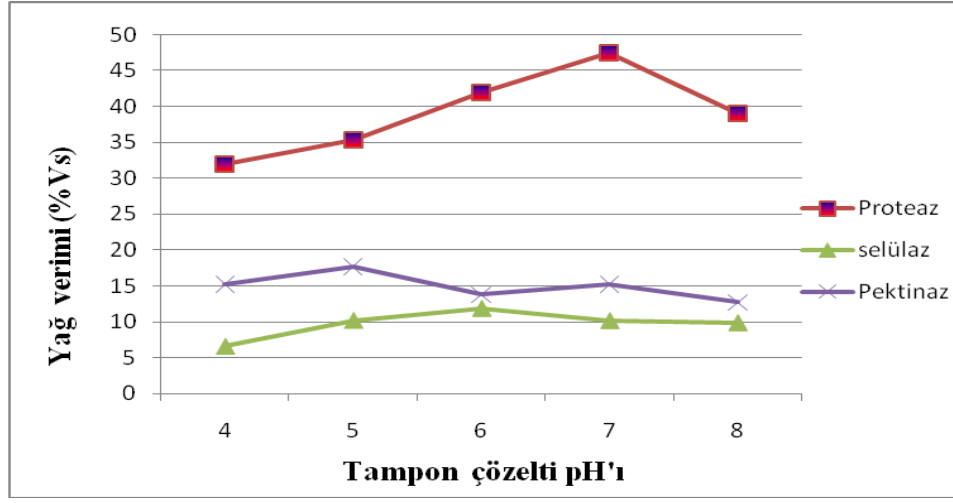
Çizelge 4.6: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi (0,25 mL enzim/g tohum; 50°C)

Süre	Yağ verimi (%V _s)				
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
4 saat	13,5	15,7	13,0	13,5	12,2
6 saat	15,5	17,4	13,8	15,2	12,7
8 saat	17,1	19,3	16,3	15,5	12,4

Çizelge 4,6'dan pektinaz enziminin selüloz enzimine göre daha etkin çalıştığını görülmektedir. Ekstraksiyon verimleri ortalama %15 değerindedir. pH4 ile pH 8 arasında enzimin etkinliği pH dan çok fazla etkilenmemektedir. Maksimum ekstraksiyon verimleri pH5 de alınmıştır. Sürenin 4 saatten 8 saate uzatılması ise verim değerlerinde ancak %3-4 lük artışlara sebebiyet vermiştir.

Çalışmamızda, takip eden deneylerimizde her enzim için inkübasyon süresi 6 saat olarak alınmıştır. Ramadan ve arkadaşları [79] kendi çalışmalarını için, enzimatik işlemlerin 2 saatlik zaman dilimi içerisinde tamamlanmasına rağmen sürenin uzamasıyla yağ miktarında hafif artışlar elde edilebildiğini söylemişlerdir. Ayrıca Dominguez ve arkadaşları da [44] soya yağının ekstraksiyonunda 6 saatlik ekstraksiyon süreni en uygun süre olarak seçmişlerdir.

Proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile 6 saatlik inkübasyon süresinde, farklı pH değerlerinde olan tampon çözeltiler kullanılarak yürütülmüş ekstraksiyon sonuçları Şekil 4.1 de topluca değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1: Menengiç tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi (0,25 mL enzim/g tohum; 50 °C; 6 saat)

Enzimler arasında en yüksek verimle yağ eldesi proteaz ile sağlanmaktadır. Daha sonra pektinaz enzimi ile elde edilen sonuçlar bulunurken en düşük ekstraksiyon verimleri ise selülaz ile elde edilmiştir. Proteaz enziminin pH dan etkilenmesi bariz olarak görülmektedir. Ortam pH'ı, 4 den 7'e yükseltilmesi ile verim değeri %32 den de %47,5 çıkmaktadır. %50 artış olmuştur. pH 7 proteaz enzimi için optimum değer seçilmiştir. Pektinaz ile selülaz enzimlerinde ise, tampon çözelti pH'ı ile verim değişim çok fazla olmamıştır. En düşük ve en yüksek verim değerleri arasında ancak %5 fark oluşmuştur. Pektinaz e selülaz enzimleri ile en yüksek verim değerleri sırasıyla pH 5 ve pH 6 ortamında elde dildiğinden bu değerler optimum pH değerleri olarak seçilmiştir.

4.3.2 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, enzim miktarının yağ verimine etkisi

Enzimlerin maliyeti bu prosesin en önemli ekonomik faktörlerinden biridir. Bu yüzden enzim miktarı proses boyunca optimize edilmelidir. Optimum enzim miktarını belirlemek için, her üç enzimin optimum pH ortamlarında 6 saat süre ile ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. Enzim miktarları tohum başına 0,25-1,0 mL

arasında değiştirilmiştir. Enzim çeşidine göre, enzim miktarının yağ verimine olan etkisi Çizelge 4.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7: Menengiç tohumlarının proteaz, pektinaz ve selülaz enzimleri ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarının etkisi (6 saat; 50°C)

Enzim cinsi	Yağ verimi (%V _s)						
	0,25 mL	0,38 mL	0,50 mL	0,63 mL	0,75 mL	0,88 mL	1,00 mL
Proteaz (pH 7)	47,5	52,2	48,9	48,1	-	-	-
Selülaz (pH 6)	10,2	10,3	11,2	13,8	7,7	4,4	2,8
Pektinaz (pH 5)	17,4	-	16,8	24,3	24,9	21,6	18,8

Çizelge 4.7’ den proteaz için enzim miktarının 0,25 mL den 0,38 mL ye artırılması ile yağ veriminde %5 lik bir artış sağlanmıştır. Daha yüksek enzim miktarlarında ise verim pratik olarak %49 da kalmıştır. Selülaz enziminde enzim miktarı tohum gramı başına 0,63 mL olduğunda en yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Enzim miktarı arttıkça enzim inhibisyonu gerçekleşmiş ve verim %3 lere kadar düşmüştür. Pektinaz enzimi ile çalışmalarda ise enzim miktarı 3 katına çıkarıldığında verim %50 artmıştır. Enzim miktarının 0,75 den 1,0 mL ye arttırılmasında da enzim inhibisyonu rol oynamış ve yağ verimi %19 a gerilemiştir. Bu sonuçların topluca değerlendirilmesi ile, proteaz enzimi için 0,38 mL/g, selülaz enzimi için 0,63 mL/g ve pektinaz enzimi için 0,63 mL/g değerlerinin optimum enzim miktarları olarak seçilmesinin uygun olacağına karar verilmiştir.

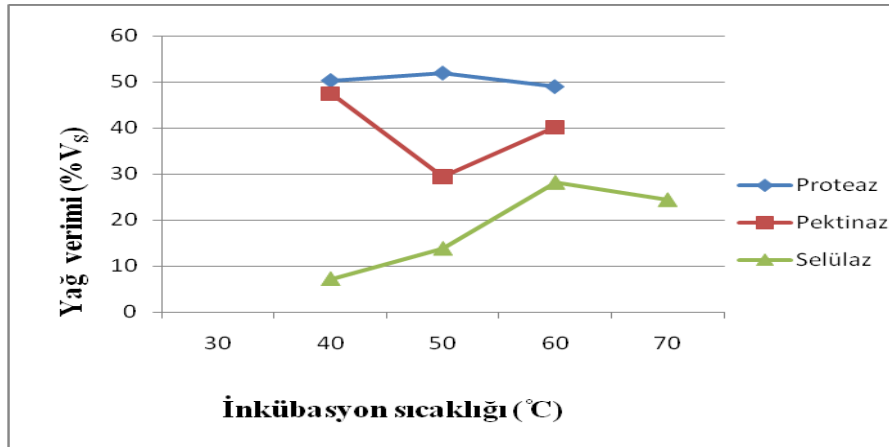
4.3.3 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, sıcaklığın yağ verimine etkisi

Prosesin bağlı olduğu sıcaklık enzimatik işlemlerin maliyetini etkileyebilen önemli bir faktördür bu yüzden inkübasyon sıcaklığı optimize edilmelidir. Bu nedenle her üç enzimin optimum pH ve enzim miktarlarında, bu kez sıcaklığın verim etkisi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Inkübasyon sıcaklığı 40-70 °C arasında değiştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8 de verilmiştir.

Çizelge 4.8: Menengiç tohumlarının pektinaz, selülaz ve proteaz enzimleri ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine sıcaklığın etkisi (6 saat)

Enzim cinsi	Yağ verimi (%V _s)			
	40 °C	50 °C	60 °C	70 °C
Proteaz (pH 7; 0,38mL/g)	50,3	51,9	49,0	-
Selülaz (pH 6; 0,63 mL/g)	7,2	13,8	28,2	24,4
Pektinaz (pH 5; 0,63 mL/g)	47,5	29,4	40,2	-

Çizelge 4.8 deki verim değerlerinin sıcaklıkla değişimini daha iyi görebilmek için değişim eğrileri Şekil 4.2 de topluca gösterilmiştir. Proteaz enzimi pratik olarak sıcaklıktan incelenen aralıkta etkilenmemektedir. Selülaz enzimi ile 60 °C da en yüksek yağ verimi (%28,2) elde edilmiştir. 70 °C da ise verim %24 e düşmüştür. Pektinaz enzimi ile çalışıldığında ise 40 °C da en yüksek yağ verimi (%47,5) olurken 50 °C da %30 inmiş ve 60 °C da ise yine %40 lara ulaşmıştır.



Şekil 4.2: Menengiç tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_s) yağ verimine sıcaklık etkisi (proteaz: pH 7 ve 0,38 mL /g ; selülaz: pH 6 ve 0,63 mL/g ; pektinaz: pH 5 ve 0,63 mL/g ; 6 saat)

Pektinaz enzimi ile elde edilen yağ verimlerindeki bu değişim, pektinaz enzimi ile hidroliz olan hücre pektin komponentlerinden açığa çıkan hidrolizatların sıcaklığa bağlı jelleşme dereceleri ile ilgili olabilir. Çalışmamızda, Bölüm 3.2.4 de açıklandığı üzere, V_s yağ veriminin hesaplanmasında, hücre dışına çıkmış ve sıvı fazlarda dağılmış yağ moleküllerinin hekzan ile ekstrakte edilebilen miktarı esas alınmaktadır. Oluşan emülsiyon tabakaları bu ekstraksiyonu zorlaştırdığından gerçek yağ verimi de ulaşılamamaktadır. Bundan dolayı literatürde pek çok çalışmada küspede kalan yağ üzerinden hesaplanmış V_k verim değerleri kullanılmıştır.

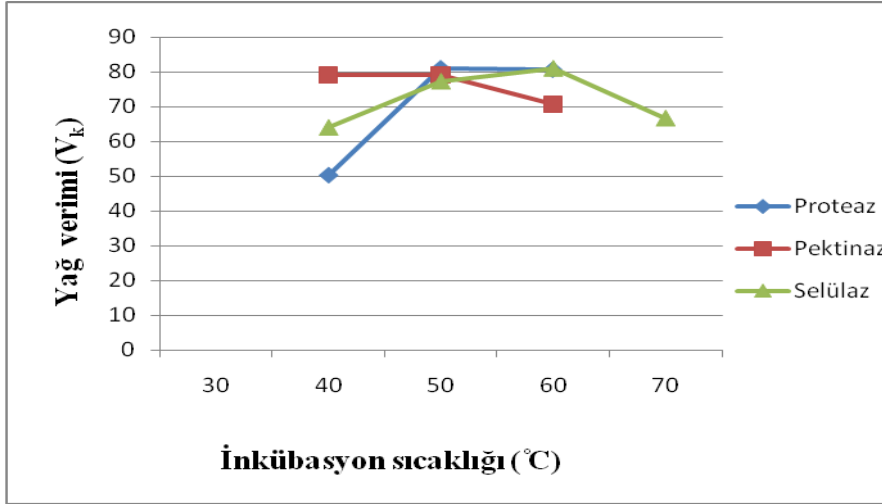
Pektin enzimi ile çalışmamızda karşılaştığımız bu verim değeri dalgalanmalarının mantıklı açıklamasını bulmak için, bir paralel ekstraksiyon serisi daha yürütülmüştür. Elde edilen V_k verim değerleri ile daha önce belirlenen V_s verim değerleri Çizelge 4.9 da birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.9: Menengiç tohumlarının pektinaz, proteaz ve selülaz enzimleri ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine sıcaklığın etkisi (6 saat)

Enzim cinsi	40 °C		50 °C		60 °C		70 °C	
	V_s	V_k	V_s	V_k	V_s	V_k	V_s	V_k
Proteaz (pH 7; 0,38 mL/g)	50,3	78,9	51,9	81,0	49,0	80,6	-	-
Selülaz (pH 6; 0,63 mL/g)	7,2	64,0	13,8	77,4	28,2	81,1	24,4	66,7
Pektinaz (pH 5; 0,63 mL/g)	47,5	79,1	29,4	79,2	40,2	70,8	-	-

Çizelge 4.9 incelendiğinde, her enzim için gerçekte hücre dışına çıkan yağ miktarının çok yüksek olduğu ortaya çıkmaktadır. Proteaz enzimi ile verim değerleri %81 seviyesine ulaşmaktadır. Sıvı fazdan kazanılan yağ ise %52 olabilmektedir. Selülaz enzimi sonuçlarına bakıldığında ise selülaz hidroliz ürünlerinin hekzan ekstraksiyonunu çok etkilediği anlaşılmaktadır. 50 ve 60 °C larda V_k değerleri %77 ve %81 iken sıvı fazdan ayrılabilen yağ %14 ve %28 seviyelerinde kalmaktadır. Pektinaz enzimi ile 40 ve 50 °C da %79 V_k verim değeri elde edilmiş iken sıvı fazdan pratik olarak 40 °C da yarısı ve 50 °C da ise üçte biri geri kazanılabilmektedir. Pektinaz hidroliz ürünlerinin ekstraksiyonda etkili olduğu

böylece açıklığa kavuşturulmuştur. Her enzim için uygun çalışma sıcaklığını belirlemek için V_k ekstraksiyon yağ verimlerinin sıcaklık ile değişim eğrileri Şekil 4.3 de topluca gösterilmiştir.



Şekil 4.3: Menengiç tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_k) yağ verimine sıcaklık etkisi (proteaz: pH 7 ve 0,38 mL /g ; selülaz: pH 6 ve 0,63 mL/g ; pektinaz: pH 5 ve 0,63 mL/g ; 6 saat)

Şekil 4.3 den, proteaz enzimi için optimum sıcaklığın 50 °C, selülaz enzimi için 60 °C ve pektinaz enzimi için 40 °C olarak seçilmesi uygun bulunmuştur.

Literatürdeki benzer tez çalışmalarında [98] inkübasyon sıcaklığı saptanmasında 30, 40, 50 ve 60 °C’de deneyler yapılmıştır. Yapılan bu deneylerde en yüksek yağ verimi 50 °C civarındaki inkübasyon sıcaklığında elde edilmiştir. Daha yüksek sıcaklıklarda (60 °C) yağ veriminde azalma görülmüştür. Jovanovic ve arkadaşları [97] ile Sharma ve arkadaşları [88] bunun nedeni olarak enzimlerin sıcaklıkla inaktive olmasını beyan etmişlerdir.

4.3.4 Menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, süre artışının yağ verimine etkisi

Şimdiye kadar yaptığımız deneylerde 4-8 saat gibi kısa bir zaman aralığında ekstraksiyonlar yapılmıştır. Bu zaman aralığında da 6 saat uygun çalışma süresi seçilmiştir. Çalışmamızın bu bölümünde, her üç enzimin optimum koşullarında 24 saate kadar ekstraksiyon süreleri uzatılmıştır. Çalışma koşulları proteaz enzimi için

pH7, 50 °C ve 0,38 mL/g; selülaz enzimi için pH 6, 60 °C ve 0,63 mL/g ve pektinaz enzimi için pH5, 40 °C ve 0,63 mL/g olarak seçilmiştir.

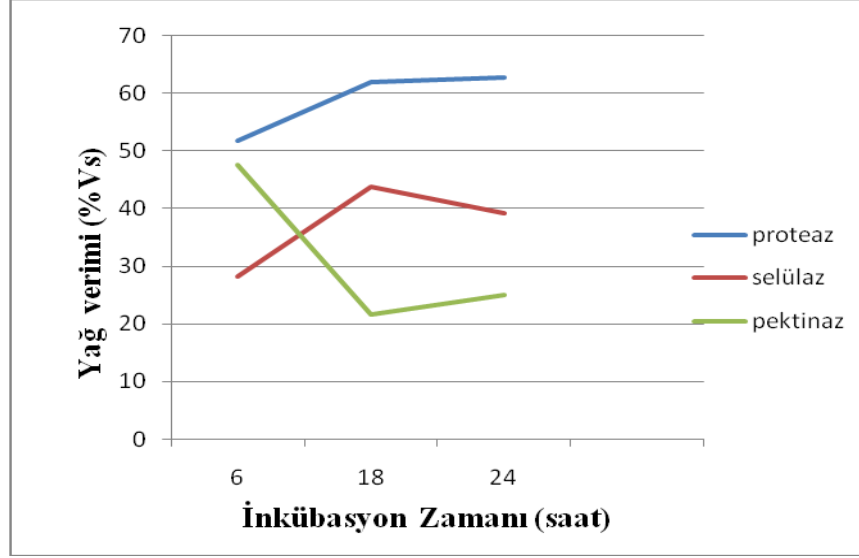
İnkübasyon işlemi, santrifüj tüpleri içerisinde MEMMERT Model WB14 (Electrotechnical Equipments, Schwabach/Germany) termostatlı ve çalkalayıcılı su banyosunda her bir enzim için gerekli optimum sıcaklığa ayarlanıp, 200 rpm'de yapılmıştır. Enzimler ile 6, 18 ve 24 saatlik inkübasyon sonrası elde edilen %Vs verim değerleri Çizelge 4.10 da topluca verilmiştir.

Çizelge 4.10: Menengiç tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre artışının etkisi

Enzim cinsi	Yağ verimi (%V _s)		
	6 saat	18 saat	24 saat
Proteaz (50 °C; pH 7; 0,38 mL/g)	51,9	61,9	62,7
Selülaz (60 °C; pH 6; 0,63 mL/g)	28,2	43,8	39,3
Pektinaz (40 °C; pH 5; 0,63 mL/g)	47,5	21,6	24,9

Elde edilen sonuçlara göre, proteaz enzimi için inkübasyon süresi arttıkça yağ verimi artmıştır. Süre 6 saatten 24 saate çıktığında yağ verimi yaklaşık %10 artmıştır. Selülaz enzimi için ise sürenin 6 saatten 18 saate çıkarılması ile beraber yağ veriminde %16 artış olduğu gözükmemekte ve 24 saatin sonunda ise verim değerinde %3 kadar bir azalma meydana gelmektedir. Selülaz enzimi için, yukarıda belirtilen koşullarda en yüksek verim %43,80 olup 18 saatin sonunda ulaşılmıştır. Pektinaz enzimi için ise, inkübasyon süresi arttıkça yağ veriminde bariz bir düşüş gözlenmiştir. 40 °C de 18 ve 24 saat sonrası, reaksiyon karışımının santrifüjlenmesi ile sıvı ve katı fazların birbirinden ayrılamadığı deneysel olarak da tespit edilmiştir. Çamur halinde bir süspansiyon tabakası ile ve dipte çok az bir katı kümesi ele geçmiştir. Bu gözlem de pektinaz hidroliz ürünlerinin faz ayırımına engel olduğunu teyit etmektedir. Dolayısı ile bu çamurumsu tabakalardan yağ molekülleri hekzan ile ekstrakte edilememekte ve yağ verimleri bu nedenle düşük çıkmaktadır.

Proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile sulu ekstraksiyon denemelerinde, süre artışı ile V_s yağ verimi değişim eğrileri Şekil 4.4. de topluca verilmiştir.



Şekil 4.4: Menengiç tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_s) yağ verimine süre artışının etkisi (proteaz: 50 °C, pH 7 ve 0,38 mL /g ; selülaz: 60 °C pH 6 ve 0,63 mL/g ; pektinaz: 40 °C pH 5 ve 0,63 mL/g)

Bu bölümde, her bir enzim için belirlenen optimum sıcaklıkta ekstraksiyon çalışmaları yürütülmüştür. Ancak elde edilen sonuçlar, özellikle selülaz ve pektinaz enzimleri ile çalışıldığında süre artışı ile verim değerlerinde düşmeler olduğunu göstermiştir. Uzun süreler için, önceden seçilen sıcaklıkların doğruluğunu tahkik etmek için birer seri deney daha yapılmıştır. Selülaz enzimi ile 50 ve 60 °C larda ve pektinaz enzimleri ile 40 ve 50 °C larda ekstraksiyon deneyleri tekrarlanmış ve aynı zamanda V_s ve V_k verim değerleri de birlikte belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12 de verilmiştir.

Çizelge 4.11: Menengiç tohumlarının selüloz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine 50 ve 60 °C da süre artışının etkisi (pH 6; 0,63 mL/g)

Süre	50 °C		60 °C	
	%V _s	%V _k	%V _s	%V _k
6 saat	13,8	77,4	28,2	81,1
18 saat	40,1	79,9	43,8	75,3
24 saat	43,9	78,9	39,3	80,1

Çizelge 4.11 den görüldüğü gibi, selüloz enzimi ile 18 saatlik inkübasyonlarda yağ verimleri 60 °C’ da daha yüksek gözükmetedir. Ancak sürenin 24 saate çıkarılması ile V_k verimi önemli ölçüde düşmektedir. Muhtemelen enzim bu sıcaklıkta kısmen inaktive olmaktadır. Buna karşılık 50 °C’ da 24 saatte de enzim aktivitesini sürdürmekte ve her iki verim değerinde artışlar devam etmektedir. Selüloz için optimum değerler yeniden düzenlenmiş ve 50 °C da 24 saat süre çalışmasına karar verilmiştir.

Aynı şekilde pektinaz enzimi yürüttüğümüz ekstraksiyon denemelerinin sonuçları Çizelge 4.12 de verilmiştir.

Çizelge 4.12: Menengiç tohumlarının pektinaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine 40 ve 50 °C da süre artışının etkisi (pH 5; 0,63 mL/g)

Süre	40 °C		50 °C	
	%V _s	%V _k	%V _s	%V _k
6 saat	47,5	79,1	29,4	79,2
18 saat	21,6	91,4	44,8	68,8
24 saat	24,9	91,9	43,1	70,2

Çizelge 4.12 den, 40 °C da hücrelerden açığa çıkan yağın aslında %92 gibi çok yüksek değerlere ulaştığı ancak hidroliz ürünlerinin yarattığı sorunlardan dolayı sıvı fazdan yağın ayrılamadığı anlaşılmaktadır. 50 °C da ise 18 saatte V_k verimi %70 lere

sıvı fazlardan ayrılabilen yağ veriminin ise %45 lere ulaştığı görülmektedir. Bundan dolayı pektinaz enzimi için uygun süre ve sıcaklık 50 °C ve 18 saat olarak yeniden belirlenmiştir.

4.4 Menengiç Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde, Tuz İlavesinin Yağ Verimine Etkisi

Enzim destekli sulu ekstraksiyonlarda, enzimlerin kullanımı ile hücre duvarı parçalanmakta ve böylece serbest kalan yağ sulu ortama geçmektedir. Ancak açığa çıkan yağ moleküllerinin bir kısmı enzimatik reaksiyon sonucu açığa çıkan hücre komponentlerinin hidroliz ürünleri tarafından hapsolmaktadır. Dolayısıyla istenilen yağ verimliliğe ulaşılmamaktadır. Literatürde, ekstraksiyon verimliliğini artırmak için ortama yüzey aktif maddeler katılması düşünülmüştür. Yüzey aktif maddeler ile yağ arasındaki yüzey gerilim azaltılarak, yağ damlacıklarının hapsoldüğü yıkılmış hücrelerden ayrılması sağlanılacaktır [89]. Ancak kullanılan bu yöntemdeki temel problem kullanım miktarları ile ilgilidir. Yüzey aktif maddeler kritik mikroemülsiyon konsantrasyonu (C_μC) diye tanımlanan miktarlarda kullanılırlar. Bunun temel sebebi ise sistemden mümkün olan en yüksek miktardaki yağı uzaklaştırmaktır. Çünkü yüzey aktif madde miktarının gerekenden fazla olduğu durumlarda yağ molekülleri bu yüzey aktif madde çözeltisinin içinde çözünür ve böylece ayrı bir faz olarak elde edilmesi güçleşir [90].

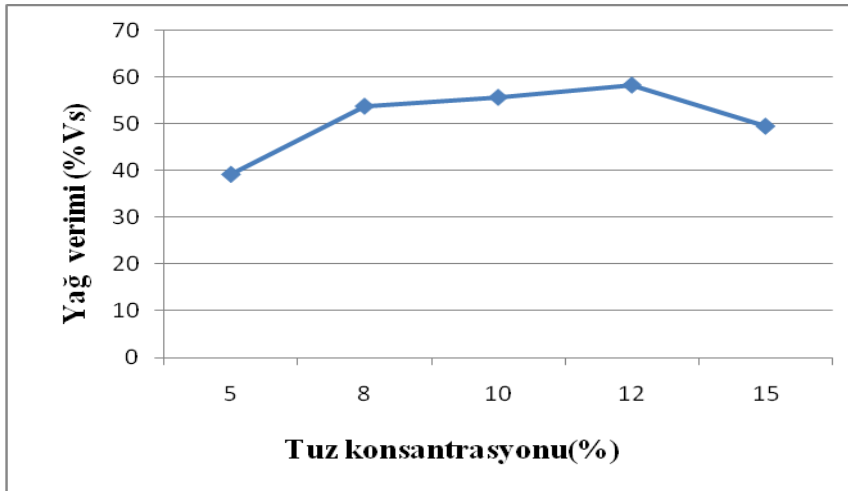
Linh ve arkadaşları sulu ortamda yüzey aktif madde kullanımı ile yağ ekstraksiyonunda, ortama farklı konsantrasyonlarda tuz ilave ederek yağ moleküllerinin yüzey gerilimini azaltmayı başarmış ve böylece kritik mikroemülsiyon konsantrasyonunu aşmayacak şekilde yüzey aktif madde kullanımı ile yağ fazını ayırabilmiştir. Bu çalışma sonucunda %6 tuz konsantrasyonunda yüzey geriliminde en yüksek düzeyde azalma sağlanabilmiştir [91].

Linh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı referans alarak, çalışmamızın bu bölümünde önce ortama ilave edilmesi gereken tuz miktarı belirlenmiştir. Selülaz enzimi ile ekstraksiyon çalışmalarına devam edilmiş, pH 6 da 0,63 mL/g tohum enzim miktarında, 50 °C sıcaklıkta 24 saatlik sürede çalışılmıştır. Ortama % 5, 8, 10, 12 ve 15 oranında tuz katılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4. 13 de verilmiştir.

Çizelge 4.13: Menengiç tohumlarının selüloz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, tuz konsantrasyonunun yağ verimine etkisi (pH 5; 0,63 mL/g; 50 °C; 24 saat)

	Tuz miktarı (%)					
	0,0	5,0	8,0	10,0	12,0	15,0
Yağ verimi, %V _s	43,9	39,3	53,8	55,7	58,3	49,5

Ortama tuz ilavesinin katkısı yüksek olmuştur. Tuz ilavesiz %43,9 yağ eldesi olurken, tuzun düşük miktarda katkısı ile önce verim az bir miktar düşmüş daha sonra tuz miktarının artışı ile yağ veriminde de yükselme olmuştur. Maksimum yağ verimi tuzun %12 katılımı ile %58,3 olarak gerçekleşmiştir. Şekil 4.5 de tuz miktarı ile yağ veriminin değişimi görülmektedir. En iyi yağ verimi %12 tuz katkısı ile olmuştur.



Şekil 4.5: Menengiç tohumlarının selüloz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, (V_s) yağ verimine tuz miktarının etkisi (50 °C, pH 5, 0,63 mL /g; 24 saat)

4.5 Menengiç Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde, Yüzey Aktif Madde Katkısının Yağ Verimine Etkisi

Çalışmamızın son bölümünde ise, enzimatik sulu ekstraksiyona yüzey aktif maddesi ilavesinin yağ verimine olan etkisi incelenmiştir. Bu deney serisinde de selülaz enzimi ile çalışılmıştır. Selülaz enziminin optimum koşullarında (pH 6, 50 °C , 24 saat, 0,63 mL/g tohum enzim miktarında ve %12 tuz miktarında) ve Labsa 101 anyonik yüzey aktif madde katılımı ile ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür.

Paralel ekstraksiyon çalışmasında ise, enzim kullanılmadan aynı koşullarda %0,1-0,2-0,3-0,4 konsantrasyonlarında Labsa101 kullanılmıştır. Elde edilen deney sonuçları Çizelge 4.14’de toplu olarak gösterilmiştir.

Çizelge 4.14: Menengiç tohumlarının selülaz enzimi ile sulu ekstraksiyonunda, Labsa 101 yüzey aktif madde ilavesinin yağ verimine etkisi (pH 5; 0,63 mL/g; 50 °C; 24 saat; %12 tuz)

	Yağ verimi (%V _s)				
	Labsa 101 %0,0	Labsa 101 %0,1	Labsa 101 %0,2	Labsa 101 %0,3	Labsa 101 %0,4
Labsa101+tuz	-	49,1	48,7	49,8	49,8
Selülaz Labsa101+tuz	58,3	38,8	44,4	47,9	46,6
Selülaz	43,9	-	-	-	-

Çizelge 4.14’i incelediğimiz zaman, en yüksek yağ veriminin %12 tuz katkılı ve optimum koşullarda selülaz enziminin kullanıldığı deneyde %58,3 olarak bulunduğu görülmektedir. Sadece yüzey aktif madde olarak Labsa101’ in kullanıldığı deneylerde, yağ verimlerinin %49-50 olduğu belirlenmiştir. Labsa konsantrasyonunun pek bir etkisi olmamıştır. Labsa ve selülaz katkılı ekstraksiyonlarda verim değerleri %39-48 arasında değişmiştir. Bu ortamda Labsa konsantrasyonunun etkisi gözlenmiştir. %0,3 Labsa katılımında verim değeri en yüksek %48 olarak elde edilmiştir. Genel olarak sadece labsa ilave edilmiş sulu ekstraksiyon ile pratik olarak tohum yağlarının %50 sinin ekstrakte edilebildiği gözlenmektedir. Ekstraksiyon verimini daha yüksek değerlere çıkarmak için başka yüzey aktif maddelerin denenmesi uygun olacaktır.

4.6 Enzimatik Ekstraksiyon ile Elde Edilen Yağın Karakterizasyonu

Enzimatik sulu ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemine göre elde edilen menengiç yağlarının asit değerleri sırasıyla, 1,3 ve 1,1 mg KOH/g olarak bulunmuştur. Asit değerleri arasında fark bulunmamaktadır. Bu sonuçlar Latif ve arkadaşları [69] ve Jovanovic ve arkadaşlarının [92] bulguları ile uyum sağlamıştır.

Çizelge 4.15’de her iki yağ örneğinin yağ asitleri bileşimleri görülmektedir. Yağ asitleri bileşimleri arasında fark görülmemektedir.

Çizelge 4.15: Enzimatik sulu ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemine göre elde edilmiş menengiç yağı örneklerinin yağ asitleri bileşimleri

Yağ asitleri	Yağ asitleri bileşimi (%)	
	Soxhlet Ekstraksiyonu	Enzimatik sulu ekstraksiyon
Laurik asit (12:0)	<0,1	<0,1
Miristik asit (14:0)	0,1	0,1
Palmitik asit (16:0)	21,1	21,7
Palmitoleik asit (16:1)	3,1	3,0
Stearik asit (18:0)	2,0	2,2
Oleik asit (18:1)	55,7	55,5
Linoleik asit (18:2)	16,8	16,5
Linolenik asit (18:3)	0,7	0,6
Eikosanoik asit (20:0)	0,2	0,2
Eikosenoik asit (20:1)	0,3	0,2
Behenik asit (22:0)	0,1	0,1

5. VARGILAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, önce Gaziantep yöresinden toplanmış yabani olarak yetişen Pistachia türlerinden, menengiç, menengül ve cüce antepfıstığı olarak adlandırılan tohumlarının ve yağlarının karakterizasyonu yapılmıştır. Bu tohumlar genel olarak yüksek yağ (%44-56) içeriklidir. Yağ asitleri bileşimleri incelendiğinde, oleik asitce (%53-68) çok zengin oldukları görülmektedir. İncelenen bu yabani fıstık türleri endüstriyel yağ üretimi için potansiyel kaynak olarak düşünülebilir.

Bu çalışmanın ikinci kısmında ise, menengiç tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesi üzerinde çalışılmıştır. Proteaz, selüloz ve pektinaz ticari enzimleri kullanılmış ve her enzim için en yüksek verimle yağ eldesi koşulları belirlenmiştir.

Proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri arasında ekstraksiyon verimi üzerine en etkili olan enzimin proteaz enzimi olduğu belirlenmiştir. 0,38 mL/g proteaz enzimi kullanarak pH 7'de, 50 °C da ve 24 saat inkübasyon süresinde % 62,70 (V_s) verimle yağ elde edilebilmiştir. Bu koşullarda V_k verim değeri %80,4 dür. Bu değer hücrelerden sulu ortama geçmiş yağ miktarının %80,4 olduğunu göstermektedir. Selüloz enzimi ile en iyi sonuçlar pH 6, 0,63 mL/g enzim miktarı, 50 °C da ve 24 saat inkübasyon süresinde elde edilmiştir. Bu koşullarda V_s ve V_k verim değerleri sırasıyla %43,9 ve %79,2 olmuştur. Gram tohum başına 0,63 mL pektinaz enzimi kullanılarak pH 5 de, 40 °C da ve 6 saat sonunda %47,5 verimle sulu fazdan yağ eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu koşullarda V_k verim değeri %79,1 dir.

Selüloz enzimi ile ekstraksiyonlarda ortama %12 tuz katılması ile %43,9 olan yağ verimi % 58,3' e yükseltilebilmiştir. Selüloz enzimi içeren ekstraksiyon ortamına Labsa101 anyonik yüzey aktif madde katılmasının etkisi az olmuştur. Yağ verimi ancak %47,9 değerine ulaşmıştır.

İleriki araştırmalar açısından, farklı enzimlerin etkisinin araştırılması (viskozim gibi enzimlerin hazırlanması ya da hücre duvarını parçalayan enzimler ve fosfolipazların kullanılması) ve ön işlem aşamaları (rendeleme, ekstrüzyon ve hidrotermal ön işlemler) enzimatik işlemlerden önce yağ miktarını arttırabileceğinden dolayı uygulanabilir. Ekstraksiyon sırasında emülsiyonlar oluşmuşsa, yağı alabilmek için emülsiyon kırılmalıdır. Halen emülsiyonlar heksan vasıtasıyla ekstraksiyonla ayırma,

dondurma ve ısıtma gibi çeşitli yöntemlerle kırılabilir. Bununla birlikte yağ eldesi için yeni de-emülsifikasyon yöntemleri geliştirilebilir.

Enzim katkılı sulu ekstraksiyon prosesi özellikle çevre ve güvenlik açısından önem arz etmektedir. Çevre dostu bu proseste iyi ürün eldesi, çevreye zararlı çözücülerin kullanılmasının gerek olmadığını göstermektedir. Elde edilen yağın kalitesi de çözücü ekstraksiyonundakine benzer olduğu görülmüştür. Ancak, ekstraksiyon ve ayırma işlemleri açısından prosesin ticari potansiyelini değerlendirmek için pilot tesis araştırmaları yapılmalıdır. Sonuç olarak, yağ eldesi aşamalarını kolaylaştırmak ve prosesi ticari olarak daha cazip hale getirebilmek için çeşitli araştırmalar gereklidir. Daha ucuz ve kolay üretilen mikroorganizmalardan elde edilecek çeşitli enzimler ve enzim karışımları denenebilir.

Enzimatik sulu ekstraksiyona alternatif olarak denenmiş yüzey aktif madde katkılı ekstraksiyon denemeleri de olumlu sonuçlar vermiştir. Ayrıca enzim maliyetleri açısından bakıldığında da yüzey aktif maddesi oldukça avantajlı olabilecek konumdadır. Ancak endüstride uygulanabilirliği daha detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Zohary, M.**, 1952. A monographical study of the genus *Pistacia*. Palestine Journal of Botany, Jerusalem Series 5: 187–228.
- [2] **Bilgen, A.**, 1968. Memleketimizde Bulunan Antepfistigi Anaclari ve Asilama Teknigi. Tarim Bakanligi Zirai Isleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- [3] **Kafkas, S.**, 1995. Preliminary studies on the selection of *P. atlantica* and *P. khinjuk* genotypes as rootstocks for *Pistachio*, MSc thesis Cuk. Univ., Adana.
- [4] **Kuru, C., Ozsabuncuoglu, I.H.**, 1990. Yabani *Pistacia* turlerinin asilanmasinda sorunlar ve cozum yollari. Turkiye 1. Antepfistigi Sempozyumu, 11–12 Sept. 1990, Gaziantep-Turkey.,51–57.
- [5] **Engler, A.**, 1883. Burseraceae et Anacardiaceae. In: De Candolle A.C. (ed.), Monographiae Phanerogamarum Vol. 4. Paris., 284-293.
- [6] **Zohary, M.**, 1972. *Pistacia* L. Flora Palestine. Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem 2: 297–300.
- [7] **Yaltirik, F.**, 1967. Anacardiaceae. In: Davis P.H. (ed.), Flora of Turkey Vol. 2.,544–519.
- [8] **Al-Yafi, J.**, 1978. New characters differentiating *Pistacia atlantica* subspecies. Candollea 33: 201–208.
- [9] **Kokwaro, J.O., and Gillett, J.B.**, 1980. Notes on the Anacardiaceae of Eastern Africa. Kew Bull. 34: 745–760.
- [10] **Grundwag, M., Werker, W.**, 1976. Comparative wood anatomy as an aid to identification of *Pistacia* species. Ist. J. Bot. 25: 152–167.
- [11] **Kafkas, S., Kafkas, E., Perl-Treves, R.**, 2002. *Genetic Resources and Crop Evolution* **49**: 261–270.
- [12] **Baytop, T.**, 1984. *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*. İstanbul Üniv. Yay. No.3255. İstanbul.
- [13] **Baytop, T.**, 1994 Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Türk Dil Kurumu Yay. No. 578 Ankara(anonymouse)
- [14] **Gültekin, H.C., Deligöz, A., Yıldız, D., Genç, M.**, 2007. Ekim zamanı ve soğuk katlamanın menengiç tohumlarında çimlenme yüzdesine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11-3, 225-231.
- [15] **Özcan, M.**, 2004. Characteristics of fruit and oil of terebinth (*Pistacia terebinthus* L) growing wild in Turkey. *J Sci Food Agric* **84**:517–520.

- [16] **Papageorgiou, V.P., Assimopoulou, A. N., Yannovits-Argiriadis, N.,** 1999. Chemical composition of the essential oil of Chios turpentine. *J Essent. Oil Res.* 11: 367-368.
- [17] **Couladis, M., Özcan, M., Tzakou, O., Akgül, A.,** 2002. Menengiç ağacının değişik organlarında uçucu yağ bileşimi. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir.
- [18] **Robeva, P., Genov, K., Stoyanova, M.,** 1990. Study on the turpentine tree (*Pistachia Terebinthus*) as an essential oil plant. *Pistacia* türlerinin asılanmasında sorunlar ve çözüm yolları. *Nauka-za-Gorata* 27: 38-46.
- [19] **Matthaus, B., Özcan, M.M.,** 2006. Quantitation of fatty acids, sterols and tocopherols in turpentine (*Pistacai terebinthus Chia*) growing wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7667–7671.
- [20] **Satil, F., Azcan, N., Baser, K. H.C.,** 2003. Fatty acid composition of Pistachio nuts in Turkey. *Chem. Nat. Compd.*, 39, 322-324.
- [21] **Yesilada, E., Gisho, H., Sezik, E., Tubate, M., Fujite T, Tanaka, T., Takedu, Y., Takaishi, Y.,** 1995. Traditional Medicine in Turkey V. Folk Medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology* 46, 133–152.
- [22] **Kaşka N.** 1995. Pistachio Nut Growing in Turkey. *Acta Hort.*, 419, 161-164.
- [23] **Ghorbel, A., Ben Salem-Fnayou, A., Chatibi, A., Twey INRST, M.,** 1998. Genetic Sources of Pistacia in Tunisia. Padulosi S. and Hadj-Hassan, A., editors. 1998, Towards a Comprehensive Documentation and Use of Pistacia Genetic Diversity in Central and West Asia, North Africa and Europe. Report of the IPGRI Workshop, 14–17 December 1998, Irbid, Jordan.
- [24] **Gümüşkesen, A.S.,** 1999. Bitkisel yağ teknolojisi. Bitkisel Yağ Sanayicileri Derneği, yayın no. 5, sayfa.59, İzmir.
- [25] **Kayahan, M.,** 2005. Yemelik Yağ Rafinasyon Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:10, Ankara.
- [26] **Kayahan, M.,** 2004. Yağlı Tohumlardan Ham Yağ Üretim Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:7, Ankara
- [27] **Nas, S., Gökalp, H.Y., Ünsal, M.,** 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları, Yayın No:005, Denizli..
- [28] **Ergönül, B., Günç, P.,** 2003. Tüketilebilir Bitkisel Sıvı Yağ Üretim Hattında HACCP Sisteminin Uygulanması. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitapları, 311-320, Ankara.
- [29] **Kayahan, M.,** 2005. Yemelik Yağ Rafinasyon Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:10, Ankara.
- [30] **Gülbaran, E.,** 1981. Kimya Mühendisliği Ünit Operasyonları Cilt-III Kütle İletimi ve Uygulamaları, İTÜ Mühendislik Mimarlık Fakültesi Yayınları, Sayı 137, İstanbul
- [31] **McCabe, W.L., Smith, J.C., Harriott, P.,** 2001. Unit Operations of Chemical Engineering (6th Edition), McGraw-Hill, Singapore.

- [32] **Seader, J.D., Henley, E.J.**, 1998. Separation Process Principles. John Wiley and Sons, USA.
- [33] **Gümüskesen, A.S.**, 1999. Bitkisel yağ teknolojisi. Bitkisel Yağ Sanayicileri Derneği, yayın no. 5, sayfa.59, İzmir.
- [34] **Mattil, K.F., Norris, F.A., Swern, D.**, 1964. Extraction of fats and oils. Bailey's industrial oil and fat products, 3rd edn. Wiley, London, pp 637-717
- [35] **Ghodsvali, A., Khodaparast, H., Hosein, M.H., Diosady, Levente, L.**, 2009. Aqueous Extraction of Virgin Olive Oil Using Industrial Enzymes, *Food Res. Int.l*, **42**, 171-175.
- [36] **Ramadan, M. F., Moersel, J., Moersel T.**,2009. Oil extractability from enzymatically treated goldenberry (*Physalis peruviana L.*) pomace: range of operational variables. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**, 435-444.
- [37] **De Moura, J. M. L. N., Campbell, K., Mahfuz, A., Jung, S., Glatz, C.E., and Johnson, I.**, 2008. Enzyme-assisted Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybeans and Cream De-emulsification, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **85**, 985-995.
- [38] **Dunford, N.T., Dunford, H.B.**, 2004. *Nutritionally Enhanced Edible Oil Processing*, Ch. 5, AOCS Publishing.
- [39] **Sharma, A., Khare, S.K., and Gupta, M.N.**, 2002. Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Peanut Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **79**, 215-218.
- [40] **Nyam, K.L., Tan, C.P., Lai, O.M.**, 2009. Physicochemical properties of Kalahari melon seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods, *Int.l J. Food Sci.*, **44**, 694-701.
- [41] **Latif, S., Anwar, F.**, 2009. Effect of aqueous enzymatic processes on sunflower oil quality. *J Am Oil Chem Soc* **86**:393-400.
- [42] **Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjana, K., Gilmour, S., and Trinca, L.**, 2001. Combined Effect of Operational Variables and Enzyme Activity on Aqueous Enzymatic Extraction of Oil and Protein from Soybean, a *Enzyme Microb. Technol.*, **28**, 499-509.
- [43] **Dominguez, H., Nunez, M.J., and Lema, J.M.**, 1993. Oil Extractability from Enzymatically Treated Soybean and Sunflower: Range of Operational Variables, *Food Chem.*, **46**, 277-284 .
- [44] **Solomon, E., Berg, L., Martin, D.**, 2002. Biology Active Learner, 6th edition, Thomson Learning, <http://www.dwm.ks.edu.tw/bio/activelearner/06/ch6c1.html>
- [45] **Keha, E., Küfrevioğlu, İ.**, 2004. Biyokimya (3. Baskı), Aktif Yayınevi, 93-115
- [46] An Introduction to Enzymes, 25 Mart 2010, http://www.biosci.ohiou.edu/introbioslab/Bios170/170_2/enzymes.htm
- [47] **Özşahin, A. D.**, (2006). Kahramanmaraş İli Kâğıt Fabrikaları Çevresinden İzolasyonu Yapılan Bacillus SP. Suşlarından Elde Edilen Selüloz Enziminin Karakterizasyonu ve Biyoteknolojide Kullanılabilirliğinin

Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.

- [48] **Aslan, M., Körlü, A.,** 2009. Selülaz Enziminin Denim Yıkamada Kullanımı. *Electronic Journal of Textile Technologies*, 3(1), 11-23.
- [49] **Parlak, B., Güngör, A., A., Demir, Y., Demir, N.,** (2008). Anadolu Orkidesi (*Orchis Anatolica*) Çiçeklerinden Proteaz Enziminin Saflaştırılması ve Peynir Üretimindeki Kullanılabilirliğinin Araştırılması. *Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.*
- [50] **Kaymak, B. Ü., Aksöz, N.,** 2005. *Aspergillus niger* 'den pektinaz eldesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(6), 8.
- [51] **Yıldız, T.,** 2008. Farklı Rumen Funguslarına Ait Selülaz ve Ksilanaz Enzimlerinin Analizi. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.
- [52] **Haktanır, K., Arcak, S.,** 2010. Toprak Biyolojisinin Konusu, Önemi ve Gelişimi. http://www.agri.ankara.edu.tr/soil_sciences/1250_karacaarcak_TBiyoloji_Hafta_hepsi.pdf
- [53] **Erem, F., Certel, M.,** 2006. Fırın Ürünlerinde Enzim Uygulamaları. *Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.*
- [54] **Yılğör, N.,** 2010. Mürekkep Giderme Sürecinde Enzimlerin Kullanılması. *Journal of the Faculty of Forestry, Istanbul University*, 60 (1,) 50-58.
- [55] **Markov, A. V., Gusakov A. V., Dzedzyulya, E. I., Ustinov, B. B., Antonov, A. A., Okunev, O. N., Bekkarevich, A. O. and Sinitsyn, A. P.,** 2006. Properties of Hemicellulases of the Enzyme Complex.
- [56] **Nyam, KL.,** 2009. Physicochemical properties of Kalahari melon seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods, *Int.l J. Food Sci.*, 44, 694-701.
- [57] **Ghodsvali, A., Khodaparast, H., Hosein, M.H., Diosady, Levente, L.,** 2009. Aqueous Extraction of Virgin Olive Oil Using Industrial Enzymes, *Food Res. Int.l*, 42, 171-175.
- [58] **Tano-Debrah, K., and Ohta, K.,** 1994. Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Fat from Kernels of the Shea Tree *Butyrospermum parkii*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71, 979-982.
- [59] **Ghodsvali, A., Khodaparast, H., Hosein, M.H., Diosady, Levente, L.,** 2009. Aqueous Extraction of Virgin Olive Oil Using Industrial Enzymes, *Food Res. Int.l*, 42, 171-175.
- [60] **Hanmoungjai, P., Pyle, D.L., and Niranjana, K.,** 2002. Enzyme-Assisted Water-Extraction of Oil and Protein from Rice Bran, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 77, 771-776.
- [61] **Jiang, L., Hua, D., Wang, Z., and Xu, S.,** 2009. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates, *Food Sci. Technol.*, 14, 533-540.

- [62] **Caetano, M. F., Couri, S., Freitas, S. P.**, 2002. Enzymatic aqueous extraction of sunflower oil from extruded kernels, *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, **79**, 165-169.
- [63] **Latif, S., Diosady, L.L., Anwar, F.**, 2008. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from canola (*Brassica napus* L.) seeds, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **110**, 887–892.
- [64] **Womeni, H.M., Ndjouenkeu, R., Kapseu, C., Mbiapo, F.T., Parmentier, Fanni, J.**, 2008. Aqueous Enzymatic Oil Extraction from *Irvingia gabonensis* Seed Kernels, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **110**, 232–238.
- [65] **Freitas, S.P., Hartman, L., Couri, S., Jablonka, F.H., and de Carvalho, C.W. P.**, 1997. The Combined Application of Extrusion and Enzymatic Technology for Extraction of Soybean Oil, *Fett Lipid*, **99** (9), 333-337.
- [66] **Kashyap, D.R., Vohra, P.K., Chopra, S., And Tewari, R.** 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, *77*, 215-227.
- [67] **Santamaría, R.I., Soto, C., Zúñiga, M.E., Chamy, R., and López-Munguía, A.**, 2003. Enzymatic Extraction of Oil from *Gevuina avellana*, the Chilean Hazelnut, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **80**, 33-36.
- [68] *Functional Products Texapon N70*, 2009.
[http://www.products.cognis.com/cognis/prodleafR2.nsf/\(\\$ProductsbyDocID_PL-Header\)/REF4FBD4616EFFF755341256AA9005A762D/\\$file/Texapon_N_70_E.pdf](http://www.products.cognis.com/cognis/prodleafR2.nsf/($ProductsbyDocID_PL-Header)/REF4FBD4616EFFF755341256AA9005A762D/$file/Texapon_N_70_E.pdf)
- [69] **Shah, S., Sharma, A., and Gupta, M. N.**, 2005. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction, *Fuel and Energy Abstracts*, **46**, 316.
- [70] **Freitas, S.P., Hartman, L., Couri, S., Jablonka, F.H., and de Carvalho, C.W. P.**, 1997 The Combined Application of Extrusion and Enzymatic Technology for Extraction of Soybean Oil, *Fett Lipid*, **99** (9), 333-337.
- [71] **Lamsal, B. P., MurpHy, P. A., Johnson, L.A., Lamsal, B. P.**, 2006. Flaking and Extrusion as Mechanical Treatments for Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Oil from Soybeans, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **83** (11), 973-979.
- [72] **Zhang, S.B., Wang, Z., and Xu, S.Y.**, 2007. Optimization of the Aqueous Enzymatic Extraction of Rapeseed Oil and Protein Hydrolysates, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **84** (1), 97- 105.
- [73] Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th edn. (1995) AOAC International, Arlington
- [74] The Soxhlet Extractor, 25 Mart 2010, <http://www.campbell.edu/faculty/jung/>
- [75] AOAC, *Official Methods of Analysis*, 14th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA (1984).

- [76] AOAC, *Official Methods of Analysis*, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (1990).
- [77] **Küsmenoğlu, S., Toker, G., Başer, KHC., Koca, U.**, 1997. Composition of the fruit oils of *Capparis* species. *Acta Pharm Turc XXXIX*:55–57.
- [78] **Ramadan, M. F., Moersel, J., Moersel T.**,2009. Oil extractability from enzymatically treated goldenberry (*Physalis peruviana L.*) pomace: range of operational variables. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 435-444.
- [79] **Moreau, R.A., Johnston, D.B., Powell, M.J., and Hicks, K.B.**, 2006. A Comparison of Commercial Enzymes for the Aqueous Enzymatic Extraction of Corn Oil from Corn Germ, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **81** (11),1071-1075.
- [80] **Santamaría, R.I., Soto, C., Zúñiga, M.E., Chamy, R., and López-Munguía, A.**, 2003. Enzymatic Extraction of Oil from *Gevuina avellana*, the Chilean Hazelnut, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **80**, 33-36.
- [81] **Özcan, M.**, 2004. Characteristics of fruit and oil of terebinth (*Pistacia terebinthus L*) growing wild in Turkey. *J Sci Food Agric* 84:517–520.
- [82] **Akgül, A., Özcan, M.**, 1999. Some compositional characteristics of capers (*Capparis* spp) seed and oil. *Grasas Aceites* **50**:49–52.
- [83] **O'Brien, RD.**, 1998. *Fats and Oils*. Technomic Publ, Basel.
- [84] TSE, *Analysis Methods of Vegetable Oil*. TS 894, Turkish Standard Institute, Ankara (1971).
- [85] **Mannina, L., Patumi, M., Fiordiponti, P., Emanuele, MC., Segre, AL.**, 1999. Olive and hazelnut oils: a study by high-field 1H NMR and gas chromatography. *Ital J Food Sci* **2**:39–149.
- [86] **Ruggeri, S., Cappelloni, M., Gambelli, L., Nicoli, S., Carnovak, E.**, 1998. Chemical composition and nutritive value of nuts grown in Italy. *Ital J Food Sci* **10**:243–252.
- [87] **Rüçhan D. Gibbins**, 2010. Optimization of aqueous enzymatic oil extraction from safflower via response surface methodology, ITU M.Sc. Thesis.
- [88] **Campbell, KA., Glatz, CE.**, 2009. Mechanism of aqueous extraction of sorbean oil. *J AgricFood Chem* 57:10904-10912.
- [89] **Childs, JD., Acosta, E., Scamehorn, JF., Sabatini, DA.**, 2005. Surfactant-enhanced treatment of oil based drill cuttings. *J Energy Resource Technol* 207(2):153-162.
- [90] **Linh D. Do, David A. Sabatini**, 2010. Aqueous Extended-Surfactant Based Method for Vegetable Oil Extraction: Proof of Concept, *J Am Oil Chem Soc*, **87**,1211–1220.
- [91] **Jovanovic, K.P., Vrbaski, Z., Milovanovic, M.**,1997. Aqueous-enzymatic extraction of plum kernel oil, *Fett Lipid*, **99** (12), 433-435.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Hülya SİDAR

Doğum Yeri ve Tarihi: İZMİR, 1987

Adres: Gülbahar Mah. Karanfil sk. Yirmiler Apt. No:28/4 Şişli-İSTANBUL

Lisans Üniversitesi:

2004 – 2009 Ege Üniversitesi
Gıda Mühendisliği

Yüksek Lisans Üniversitesi:

2009 – İstanbul Teknik Üniversitesi
Moleküler Biyoloji, Genetik & Biyoteknoloji

Staj:

2006 Şemsi Egi Gıda Ürünleri A.Ş.
Kalite Kontrol Uzmanı- Yarı Zamanlı

2008 Tat Konserve A.Ş. Pastavilla İşletmesi
Laboratuar stajı