

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORTA ZİNCİR UZUNLUĞUNDAKİ YAĞ ASİTLERİNİ YÜKSEK  
MİKTARDA İÇEREN YAPILANDIRILMIŞ YAĞLARIN  
ENZİMATİK İNTERESTERİFİKASYON YÖNTEMİ İLE  
ÜRETİMİ VE SAĞLIK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Şükran KULEAŞAN**

**Danışman: Prof. Dr. Sami ÖZÇELİK**

**II. Danışman: Prof. Dr. Aziz TEKİN**

**DOKTORA TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
ISPARTA – 2011**

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	5
2.1. İnteresterifikasyon Tepkimeleri .....	5
2.1.1. Asidolizis .....	5
2.1.2. Alkolizis .....	5
2.1.3. Transesterifikasyon .....	6
2.2. İnteresterifikasyon Tepkimelerinde Kullanılan Lipazlar .....	8
2.2.1. Lipaz aktivitesini ve tepkimeyi etkileyen önemli faktörler.....	10
2.2.1.1. Su miktarı ve su aktivitesi .....	11
2.2.1.2. Sıcaklık ve pH .....	11
2.3. Yağlar ve Sağlık.....	12
2.3.1. Kaproik, kaprilik, kaprik ve laurik asitlerin sağlık üzerine bazı antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkileri .....	17
2.3.2. Ticari olarak üretilen bazı yapılandırılmış yağlar .....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	21
3.1. Materyal .....	21
3.1.1. Yapılandırılmış yağ ve analizler için materyal .....	21
3.1.2. Sıçan besleme deneyi için materyal .....	22
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Enzimatik interesterifikasyon işlemi.....	23
3.2.2. Alkali ile asitlik giderme işlemi .....	24
3.2.3. Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması ve yağ asidi bileşiminin belirlenmesi .....	25

3.2.4. $\beta$ -yerleşimindeki yağ asidi bileşiminin tayini .....	26
3.2.5. Trigliserit dağılımının belirlenmesi.....	27
3.2.6. Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın saflaştırılması .....	28
3.2.7. Erime noktasının belirlenmesi.....	29
3.2.8. Yapılandırılmış yağın katı yağ içeriğinin belirlenmesi.....	30
3.2.9. İnteresterifikasyon tepkimesinde kullanılan 1,3-spesifik lipazın enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	30
3.2.10. İnteresterifikasyon tepkimesinde kullanılan 1,3-spesifik lipaz enziminin su aktivitesi ile kuru madde miktarının belirlenmesi.....	31
3.2.11. Sıçan besleme deneyi .....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	33
4.1. Palm Çekirdeği ve Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın Genel ve $\beta$ -Yerleşimli Yağ Asidi Bileşimi .....	33
4.2. Palm Çekirdeği ve Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın Trigliserit Bileşimi .....	34
4.3. Yapılandırılmış Yağın Üretiminde Reaksiyon Parametrelerinin Tepkime Üzerine Etkisi.....	35
4.3.1. Substrat mol oranı, tepkime süresi, enzim miktarı ve reaksiyon sıcaklığının yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi dağılımına etkisi.....	36
4.3.2. Reaksiyon parametrelerinin yapılandırılmış yağlardaki $\beta$ -yerleşimli yağ asidi dağılımına etkisi.....	46
4.3.3. Reaksiyon parametrelerinin yapılandırılmış yağlardaki trigliserit moleküllerine etkisi .....	51
4.3.4. Reaksiyon parametrelerinin yapılandırılmış yağlardaki SFC ve erime noktasına etkisi.....	55
4.4. Üretilen Yapılandırılmış Yağın Sıçanların Kilo ve Kan Değerlerine Etkisi.....	58
5. SONUÇ .....	63
6. KAYNAKLAR .....	65
EKLER.....	75
ÖZGEÇMİŞ .....	89

## ÖZET

### Doktora Tezi

# ORTA ZİNCİR UZUNLUĞUNDAKİ YAĞ ASİTLERİNİ YÜKSEK MİKTARDA İÇEREN YAPILANDIRILMIŞ YAĞLARIN ENZİMATİK İNTERESTERİFİKASYON YÖNTEMİ İLE ÜRETİMİ VE SAĞLIK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Şükran KULEAŞAN

Süleyman Demirel Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sami ÖZÇELİK

Bu çalışmada, orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zenginleştirilmiş fonksiyonel lipit üretilmiştir. Bu amaçla, kaprilik ve kaprik asit 1,3-spesifik lipaz enzimi eşliğinde, 40 °C ve 50 °C sıcaklıklarda, % 8, 10 ve 14 enzim ve 0,5:1/0,75:1/1:1 substrat mol oranları kullanılarak farklı sürelerde palm çekirdeği yağı ile interesterifiye edilmiştir. Her iki sıcaklık uygulamalarında, yağ asitlerinin ortalama bağlanma miktarı en yüksek, % 14 enzim miktarının kullanıldığı koşullarda gerçekleşmiştir. Ancak, yüksek sıcaklık uygulamalarındaki bağlanma miktarları daha düşük olmuştur. Yağ asitlerinin, palm çekirdeği yağına katılım gösterme oranları her iki sıcaklık derecesinde de reaksiyon süresi uzadıkça artmış, gliserit molekülünün β-yerleşimine olan göçü ise kullanılan enzim miktarı arttıkça yükselmiştir. Reaksiyon ortamında oluşan mono-digliserit miktarları kullanılan enzim miktarı arttıkça genel olarak artma göstermiş, yüksek sıcaklıktaki mono-digliserit miktarları ise genel olarak daha düşük düzeylerde saptanmıştır. Yapılandırılmış yağlardaki katı yağ içeriği ve erime noktası değerleri ise ortamdaki mono-digliserit miktarı arttıkça genel olarak düşme göstermiştir. Yapılandırılmış yağın sağlık üzerine etkileri, sıçanlar ile yapılan besleme deneyi ile belirlenmiştir. Yapılandırılmış yağın mono-digliserit miktarı % 27,36, erime noktası 17,6 °C, doymuş yağ asidi oranı % 76, doymamış yağ asidi oranı % 24 olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu yağın β-yerleşiminde % 72,2 oranında doymuş, % 22,81 oranında doymamış yapıda yağ asidi belirlenmiştir. Besleme deneyleri sonunda yapılandırılmış yağ ile beslenen sıçanlar yüksek dozda bu yağları tükettikleri halde kilo artışı gözlenmemiş, kanda ölçülen trigliserit, toplam kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri itibari ile de sağlıklarında olumsuz bir etki tespit edilmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Enzimatik interesterifikasyon, orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri, orta zincir uzunluğundaki trigliseritler, kaprilik asit, kaprik asit, *Thermomyces lanuginosa* lipaz enzimi, digliserit yağ.

2011, 90 sayfa

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### THE PRODUCTION OF STRUCTURED LIPIDS CONTAINING HIGH AMOUNTS OF MEDIUM CHAIN FATTY ACIDS BY ENZYMATIC INTERESTERIFICATION AND DETERMINATION OF THEIR HEALTH EFFECTS

Şükran KULEAŞAN

Süleyman Demirel University  
Graduate School of Applied and Natural Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sami ÖZÇELİK

In this study functional lipid enriched with medium chain fatty acids was produced. For this purpose, capric and caprylic acids were interesterified with palm kernel oil by using 8, 10 and 14 % of 1,3 specific lipase and 0,5:1, 0,75:1, 1:1 of substrat ratios at 40 °C and 50 ° C. The highest incorporation of fatty acids was obtained at 14 % enzyme concentration in both temperatures, while incorporation was lower at high temperatures. Incorporation rate of fatty acids to palm kernel oil increased in prolonged reaction times, besides fatty acid migration to  $\beta$ -position of glyceride molecule also increased at higher enzyme concentrations. The amount of mono-diglycerides in reaction vessel was increased when enzyme concentration was high. At high reaction temperatures, lower amounts of mono-diglycerides were determined. In structured oils, lower solid fat content and melting temperatures were determined when mono and diglyceride contents were high.

The effects of structured oil on health were determined by rat feeding experiments. Melting point of the structured oil used in feeding experiment was 17,6 °C. It contained 27,36 % mono-diglycerides along with 76 % saturated and 24 % unsaturated fatty acids. In  $\beta$ -position of structured oil, 72,2 % saturated and 22,81 % unsaturated fatty acids were determined. Although the experimental animals were fed with excess amount of structured oil, results showed that there was not any undesired health effects on experimental animals regarding their weight increase, triglycerides, total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol amounts in their blood.

**Key Words :** Enzymatic interesterification, medium chain fatty acids, medium chain triglycerides, caprylic acid, capric acid, *Thermomyces lanuginosa* lipase, diglyceride oil.

2011, 90 pages

## TEŞEKKÜR

Kendimi geliştirmek istediğim ve severek alıştığım alanda akademik kariyerime devam edebilme imkânını sağlayan, alışmalarıma destek olan saygıdeğer hocalarım Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Sami ÖZÇELİK' e ve ikinci danışmanım olmayı kabul ederek, bana bir kez daha kendisiyle alışma olanağı sunan, bilgi ve deneyimi ile her türlü desteğini gördüğüm Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Aziz TEKİN' e gönülden teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesindeki alışlarımda kolaylık ve anlayış gösteren ve beni destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Atabey MYO müdürü değerli hocam Yrd. Do. Dr. A. Betül AVCI' ya, tez izleme komitemde yer alan, alışlarımda boyunca beni yönlendiren bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım saygıdeğer hocalarım Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliđi Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Sebahattin NAS' a ve Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliđi Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Erdođan KÜÇÜKÖNER' e, tezimi tamamlayabilmem için maddi anlamda desteğini gördüğüm Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Mühendisliđi Bölümü öğretim üyesi saygıdeğer hocam Do. Dr. Nebi BİLİR' e ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi öğretim üyesi değerli arkadaşım Yrd. Do. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ' a, Ankara'daki alışlarımda sırasında GC analizlerime yardımcı olan değerli arkadaşlarımda Arř. Gör. Hakan ERİNÇ' e, HPLC analizlerime yardımcı olan Arř. Gör. Dr. Aslı YORULMAZ' a, SFC analizime yardımcı olan Arř. Gör. Kübra şAHİN' e, istatistik analizlerime yardımcı olan Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü öğretim üyesi saygıdeğer hocam Do. Dr. Yalın BOZKURT' a, su aktivitesi analizime yardımcı olan Abant İzzet Baysal Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliđi Bölümü öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Do. Dr. İbrahim AKIR' a, misafirperverliğini ve güler yüzünü esirgemeyen Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliđi Bölümündeki saygıdeğer hocalarıma ve sevgili arkadaşım Arř. Gör. Mustafa KIRALAN' a,

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde bana yardımcı olan herkese, doktora çalışmamı (1676-D-08 nolu proje) destekledikleri için Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne, yağ materyalinin temininde yardımcı olan Unilever Sanayi ve Ticaret Türk A.Ş.' ye ve emeği geçen herkese teşekkürü bir borç bilirim.

Maddi, manevi ve akademik yönden her zaman yanımda olup beni destekleyen ve bana sonsuz sabır gösteren eşim Yrd. Doç. Dr. Hakan KULEAŞAN' a, küçük yaşına rağmen laboratuvarında geçirdiğim zamanı olgunlukla karşılayan canım kızım Çağla KULEAŞAN' a, kardeşime, beni yetiştiren anne ve babama, bana yardımcı olan eşimin ailesine sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Şükran KULEAŞAN  
ISPARTA, 2011

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Asidolizis reaksiyonu.....	5
Şekil 2.2. Alkolizis ve gliserolizis reaksiyonu.....	6
Şekil 2.3. Transesterifikasyon tepkimesi .....	7
Şekil 2.4. Tepkime mekanizması .....	8
Şekil 2.5. Lipaz etki mekanizması .....	10
Şekil 2.6. Trigliseritlerin emilim ve sindirimi.....	13
Şekil 2.7. Digliseritlerin emilim ve sindirimi. ....	14
Şekil 3.1. Sıçanların barındığı kafesler .....	22
Şekil 3.2. Enzimatik interesterifikasyon için kullanılan çift cidarlı cam reaktör.....	24
Şekil 3.3. Palm çekirdeği yağının $\beta$ -yerleşimli monogliseritlerinin TLC ile belirlenmesi .....	27
Şekil 3.4. Yapılandırılmış yağın kolon kromatografisi ile saflaştırılması .....	29
Şekil 3.5. Sıçanlardan kanın alınması .....	32
Şekil 4.1. Kaprilik ve kaprik asidin, 40 °C sıcaklıkta, çeşitli enzim miktarları ve substrat mol oranları kullanılarak farklı sürelerde gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda, gaz kromatografisi ile belirlenen miktarları .....	38
Şekil 4.2. Kaprilik ve kaprik asidin, 50 °C sıcaklıkta, çeşitli enzim miktarları ve substrat mol oranları kullanılarak farklı sürelerde gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda, gaz kromatografisi ile belirlenen miktarları .....	42
Şekil 4.3. sn-2 yerleşiminde yer alan kaprilik ve kaprik asit miktarı.....	50
Şekil 4.4. Sıçanların haftalık kilo ölçüm değerleri.....	60
Şekil 4.5. Sıçanların kan testleri sonucunda belirlenen ortalama değerleri .....	62



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Palm çekirdeği ve sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın genel ve $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi (%) .....	33
Çizelge 4.2. Palm çekirdeği yağı ile sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağdaki HPLC ile belirlenen trigliserit bileşimi .....	34
Çizelge 4.3. Substrat mol oranının ve kullanılan enzim miktarının 40 °C' de gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi.....	37
Çizelge 4.4. Belirtilen koşullarda, 40 °C' de gerçekleştirilen reaksiyonlarda, C8 ve C10 yağ asitlerinin gliserit molekülüne katılım gösterme oranları .....	39
Çizelge 4.5. Substrat mol oranının ve kullanılan enzim miktarının 50 °C' de gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi.....	43
Çizelge 4.6. Belirtilen koşullarda, 50 °C' de gerçekleştirilen reaksiyonlarda, C8 ve C10 yağ asitlerinin gliserit molekülüne katılım gösterme oranları .....	44
Çizelge 4.7. Substrat mol oranının % 8 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimine etkisi.....	48
Çizelge 4.8. Substrat mol oranının % 10 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimine etkisi.....	49
Çizelge 4.9. Substrat mol oranının % 14 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimine etkisi.....	49
Çizelge 4.10. Substrat mol oranının % 8 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki trigliserit bileşimine etkisi.....	52
Çizelge 4.11. Substrat mol oranının % 10 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki trigliserit bileşimine etkisi.....	53
Çizelge 4.12. Substrat mol oranının % 14 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki trigliserit bileşimine etkisi.....	54
Çizelge 4.13. Belirtilen reaksiyon koşullarında 40 °C' de üretilen yapılandırılmış yağların SFC ve erime noktası değerleri .....	56
Çizelge 4.14. Belirtilen reaksiyon koşullarında 50 °C' de üretilen yapılandırılmış yağların SFC ve erime noktası değerleri .....	57

Çizelge 4.15. Palm çekirdeği ve sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın SFC ve erime noktası değerleri .....	58
Çizelge 4.16. Sıçanların haftalık ağırlık ölçüm değerleri (g).....	59
Çizelge 4.17. Sıçanların altı haftalık besleme sonundaki kanda belirlenen ortalama trigliserit, toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol değerleri (mg/dL).....	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PÇY	Palm çekirdeği yağı
YA	Yağ asidi
MCT	Orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliserit
LCT	Uzun zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliserit
MCFA <sub>s</sub>	Orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri
LCFA <sub>s</sub>	Uzun zincir uzunluğundaki yağ asitleri
SFA	Doymuş yağ asidi
MUFA	Tekli doymamış yağ asidi
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi
TAG	Trigliserit (triacilgliserol)
MAG	Monogliserit (monoacilgliserol)
DAG	Digliserit (diacilgliserol)
ECN	Eşdeğer karbon sayısı
TLC	İnce tabaka kromatografisi
GC	Gaz kromatografisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
SFC	Katı yağ içeriği

## 1. GİRİŞ

Yağlar, hem yüksek enerji vermeleri ve vücut sıcaklığını korumaları, hem de vücutta yapı taşı olarak görev yapmaları nedeniyle büyük önem arz etmektedirler. Bunun yanı sıra insan yaşamının sürdürülebilmesi ve vücudun farklı işlevlerini sağlıklı bir şekilde yerine getirebilmesi için mutlaka alınması gereken besin öğeleridir (Kayahan, 2003). Yağlar iştah açıcı bir etkiye sahiptirler ve tüketici beğenisinin oluşmasında etkili olmalarının yanı sıra gıdanın, fiziksel, kimyasal ve duyuşal (tat, görünüş, sürülebilirlik veya yayılabilirlik vs) özelliklerinin oluşmasında da etkilidirler. Bu nedenle yağ bileşeni olmadan gıdanın fiziksel, kimyasal ve duyuşal karakteristiğini oluşturmak oldukça güçtür (Akoh, 2002a).

Tüketilen yağların kimyasal bileşimi ve tüketiliş şekilleri sağlık açısından büyük önem taşımaktadır. Yağların yapısında bulunan kolesterol (hayvansal yağlarda), doymuş yağ asitleri ve trans formundaki doymamış yağ asitleri sağlık açısından duyarlılık gösterilmesi gereken bileşenlerdir. Çünkü söz konusu ürünler vücutta kolesterol miktarının artmasına ve kalp damar sağlığının olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadırlar. Yemeklik yağlarda yağın tamamına yakın kısmını oluşturan trigliseritler, gliserol ile yağ asitlerinin oluşturduğu esterlerdir. Yağların bileşiminde bulunan yağ asitlerinin doymuşluk derecesi kadar orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerinin trigliserit molekülüne bağlanma yerleri de bu yağların kolesterolemik etkileri açısından önemlidir (Akoh, 2002a; Kayahan, 2003). Carvajal et al. (2000), sıçanlar ile yaptıkları besleme çalışmasında sn-1(3) pozisyonunda orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerini içeren trigliseritlerin, sn-2 pozisyonunda içerenlere göre, uzun zincir uzunluğundaki doymuş yağ asitlerinin emilimini artırdığı bulgusuna varmışlardır.

Son yıllarda katı ve sıvı yağların besinsel ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmeye yönelik yöntemlerdeki ilerlemeler gıda sanayinin ilgi odağı haline gelmiştir. Yağ asitlerinin molekül ağırlığı, doymamışlık derecesi ve yağ asitlerinin gliserol molekülündeki dağılımı, katı ve sıvı yağların fiziksel özelliklerini belirleyen temel faktörlerdir.

Yapılandırılmış yağlar, kimyasal veya enzimatik interesterifikasyon yöntemleri kullanılarak, trigliserit molekülündeki yağ asitlerinin ve/veya gliserol molekülündeki yerleşimlerinin değiştirildiği lipitlerdir. İnteresterifikasyon, ister kimyasal ister enzimatik olsun, bir ester ve asit (asidolizis), bir ester ve alkol (alkolizis), bir ester ve ester arasındaki açıl gruplarının yer değiştirme tepkimesidir. Kimyasal interesterifikasyon sonucu elde edilen ürünlerde, açıl gruplarının trigliserit molekülündeki dağılımı tamamen tesadüfidir. Bu yöntem, istenen özellikte tekstürel yapıya ve stabiliteye sahip trans yağ içermeyen margarinlerin ve şorteninglerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang et al., 2001; Kayahan, 2002; Kritchevsky, 2002; Willis and Marangoni, 2002; Lopez-Hernandez et al., 2007; Criado et al., 2008; Holm and Cowan, 2008; O'Brien, 2009; Adhikari et al., 2010). İnteresterifikasyon teknolojisi ekonomik açıdan irdelendiğinde ise gerek yatırım gerekse işletme maliyetleri açısından hidrojenasyon teknolojisine göre % 32,5 oranında daha ucuzdur (De Greyt, 2004; Husum et al., 2004).

Katı ve sıvı yağların temel bileşeni olan trigliseritler elde edildiği kaynağa özgü özellikler taşırlar. Çeşitli katı ve sıvı yağların, hem farklı oran ve yapıda yağ asitlerini içermelerinden hem de bu yağ asitlerinin trigliserit molekülündeki bağlanma konumlarının farklı olmasından dolayı fiziksel özellikleri birbirinden çok farklıdır. Örneğin kakao yağı ile koyun içyağının yağ asitleri bileşimi ve trigliserit yapıları karşılaştırıldığında bu yağlarda yaklaşık % 60 oranında doymuş yağ asitlerinin bulunduğu görülmektedir (Kayahan, 2002). Yağ asitleri oranlarının bu kadar yakın olmasına ve hatta koyun içyağındaki stearik asit oranının, kakao yağındakinden daha düşük olmasına karşın, kakao yağının ergime noktası 28 – 36 °C arasında iken, koyun içyağının ergime noktası 44-55 °C arasında değişmektedir. Bunun başlıca nedeni, kakao yağındaki trigliseritlerin büyük bir çoğunluğunun, tekli doymamış yapıda (S<sub>2</sub>U) olması ve doymamış yağ asitlerinin de trigliseritlerin β-yerleşiminde (sn-2) yer almış olmasıdır. Doymamış yağ asitlerinin trigliseritlerin β-yerleşiminde yer alması ergime noktasını düşürmektedir (Kayahan, 2002; O'Brien, 2009).

Enzimatik interesterifikasyon tepkimeleri kimyasal tepkimelere göre çok daha seçicidirler ve elde edilen modifiye yağ hedeflenen yapıdadır. Bu amaçla gliserol molekülünün sn-1, sn-2 veya sn-3 yerleşimlerine seçicilik gösteren lipaz grubu enzimler ticari olarak üretilmektedir (Kayahan, 2002; Marangoni 2002; Hayes, 2004).

Yapılandırılmış yağlar, doğal trigliserit yapısındaki yağların gliserol köküne bağlı yağ asidi profilinin yeniden düzenlenmesi ile veya yapıya yeni yağ asitinin bağlanmasıyla oluşturulmuş trigliserit yapısında olan bileşiklerdir. Gliserol molekülünün sn-1 ve sn-3 pozisyonlarına orta veya kısa zincirli yağ asitlerinin, sn-2 pozisyonuna ise uzun zincirli yağ asitlerinin bağlanması ile yapılandırılmış yağların elde edilmesi mümkündür (Macrae, 1983; Kawashima et al., 2001; Akoh, 2002b; Akoh and Xu, 2002; Osório et al., 2006).

Enzimatik interesterifikasyon yönteminden yararlanılarak yapılandırılmış yağların üretilmeleri ile erime noktası, sindirilebilirlik ve metabolize olma düzeyi veya beslenmede yararlılığı bakımından farklı özelliklere sahip yağ asitleri, istenilen kompozisyonda aynı gliserol kökünde bir araya getirilebilmektedir. Böylece elde edilen yağ özel bir karaktere sahip olmaktadır. Bebek mamalarında kullanılan anne sütü yağı ikâmelerinin (Akoh and Xu, 2002; Yang et al., 2003a; Yang et al., 2003b; Şahin et al., 2005), kakao yağı ve tereyağı benzeri yağların, düşük enerji içeren yapılandırılmış vb. yağların üretiminde enzimatik interesterifikasyon teknolojilerinden yararlanılmaktadır (Wong et al., 2000; Yang et al., 2001; Xu et al., 2002; Uribe and Hernandez, 2004; Hamam and Shahidi, 2005; Kim et al., 2005).

Yapılan bu çalışmada, aşırı kilo, yüksek kolesterol gibi çeşitli nedenlerden dolayı tedavi gören kişilere yönelik mono ve digliseritleri de içeren yapılandırılmış bir yağ üretilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin olan bitkisel palm çekirdeği yağı, belirlenen reaksiyon koşullarında saf haldeki kaprilik ve kaprik asit ile enzimatik interesterifikasyon yöntemi kullanılarak yeniden yapılandırılmıştır.

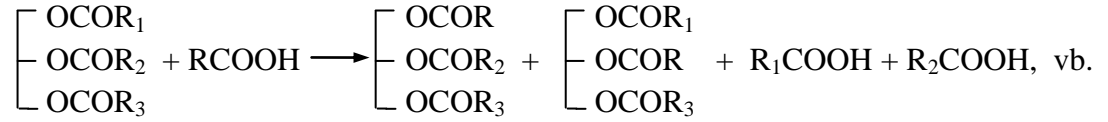
Üretilen yapılandırılmış yağın metabolize olma düzeyi ve sağlık üzerine etkilerinin ölçülebilmesi amacı ile fare besleme deneyi yapılmıştır. Rasyonlarına bu yağ ilâve edilerek beslenen farelerin kan değerlerindeki değişimler, biyokimyasal testler ile belirlenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. İnteresterifikasyon Tepkimeleri

Biyokatalizörlerin veya kimyasal katalizörlerin varlığında gerçekleşen yağ asidi köklerinin yer değişimi tepkimeleri asidolizis, alkolizis ve transesterifikasyon olmak üzere üç şekilde gerçekleşmektedir.

#### 2.1.1. Asidolizis



Şekil 2.1. Asidolizis reaksiyonu (Senanayake and Shahidi 2005a)

Şekil 2.1.' de de görüldüğü üzere asidolizis reaksiyonu bir esterin serbest formda bulunan bir yağ asidiyle reaksiyona girmesidir. Bu reaksiyonlar reaktanların miktarına ve işlem koşullarına bağlı olarak sistem dengeye ulaşınca ya da değin sürer. Asidolizis, bitkisel yağları veya balık yağlarını, DHA(22:6n-3)/EPA(20:5n-3) gibi, yağ asitlerince zenginleştirerek bu yağların fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla, orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zenginleştirilmiş düşük kalorili yağların üretilmesinde, kakao yağı ikâmelerinin üretilmelerinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Lee and Akoh, 1998b; Willis and Marangoni, 2002; Kim et al., 2002; Senanayake and Shahidi 2005a; Hamam and Shahidi, 2006).

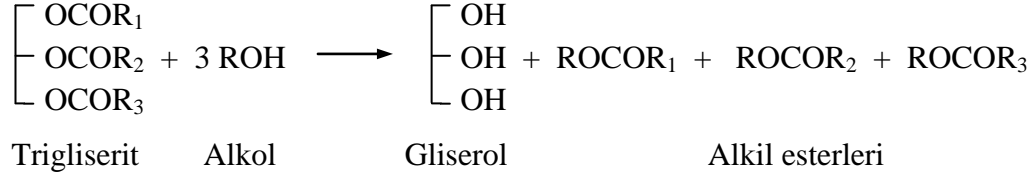
#### 2.1.2. Alkolizis

Alkolizis bir trigliserit ile alkolün ester değişimi tepkimesidir. Bu reaksiyon sonucunda trigliserit molekülünde bağlı durumda bulunan yağ asidi esterleri, etanol veya metanol gibi alkollerle yağ asitlerinin etil ya da metil esterlerini oluşturacak şekilde tepkimeye girerler. Bunun yanı sıra Şekil 2.2.' de görüldüğü üzere trigliseritlerin gliserol ile alkolizis tepkimesine girmesi sonucunda mono- ve di-

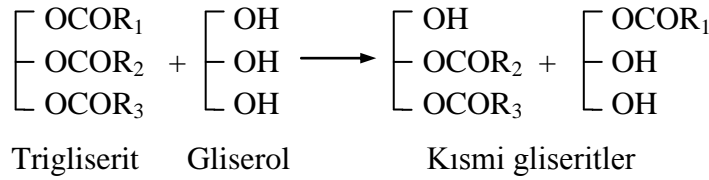


gliseritler açığa çıkar. Gıda sanayinde büyük bir öneme sahip yüzey aktif maddelerin ve emülgatörlerin (mono- ve digliseritler) ticari olarak üretiminde alkolizis reaksiyonu uygulanmaktadır (Willis and Marangoni, 2002; Gümüşkesen ve Yemişçiöglü 2004; Senanayake and Shahidi 2005a).

(a) Alkolizis



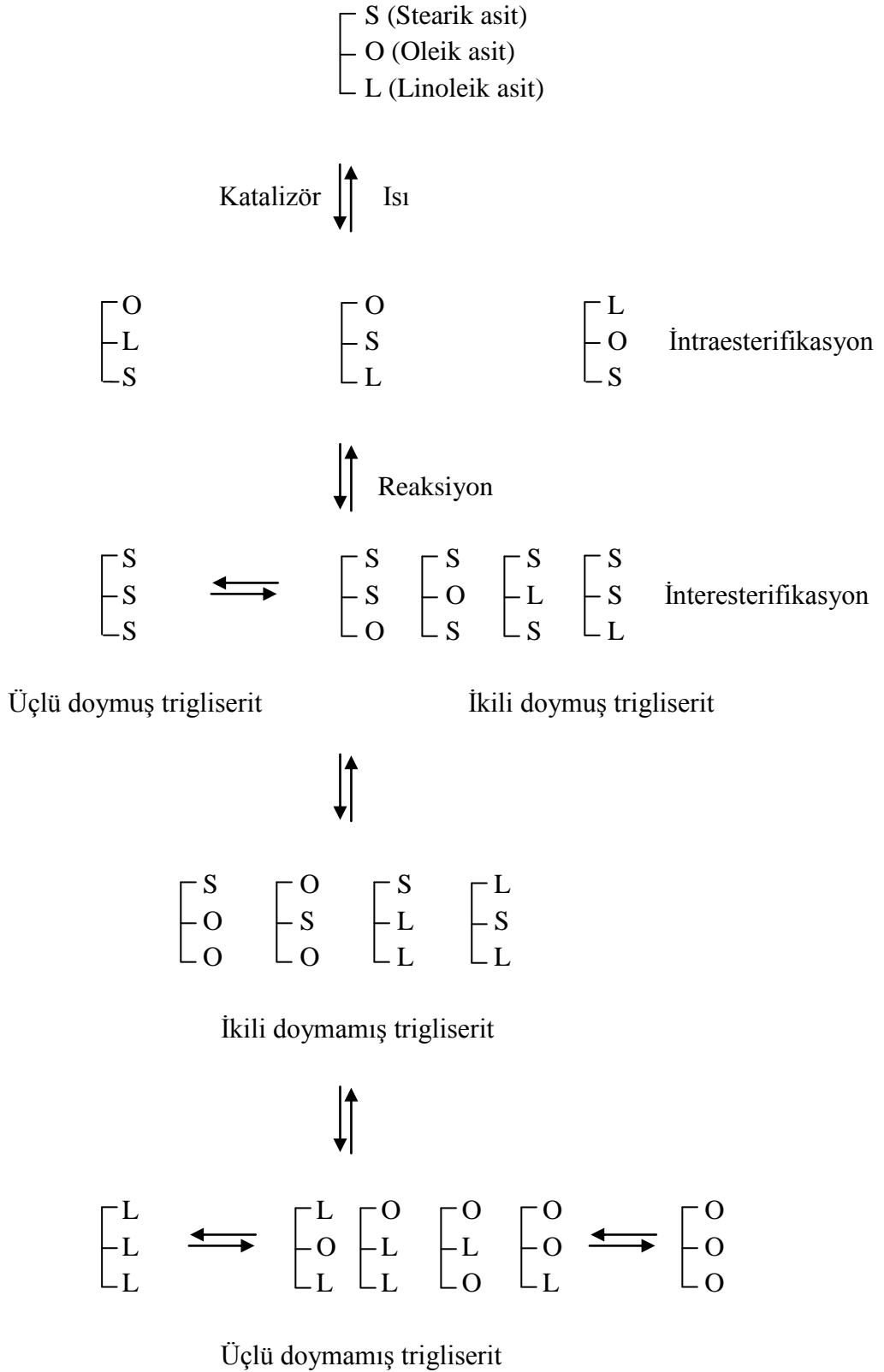
(b) Gliserolizis



Şekil 2.2. Alkolizis ve gliserolizis reaksiyonu (Senanayake and Shahidi 2005a)

### 2.1.3. Transesterifikasyon

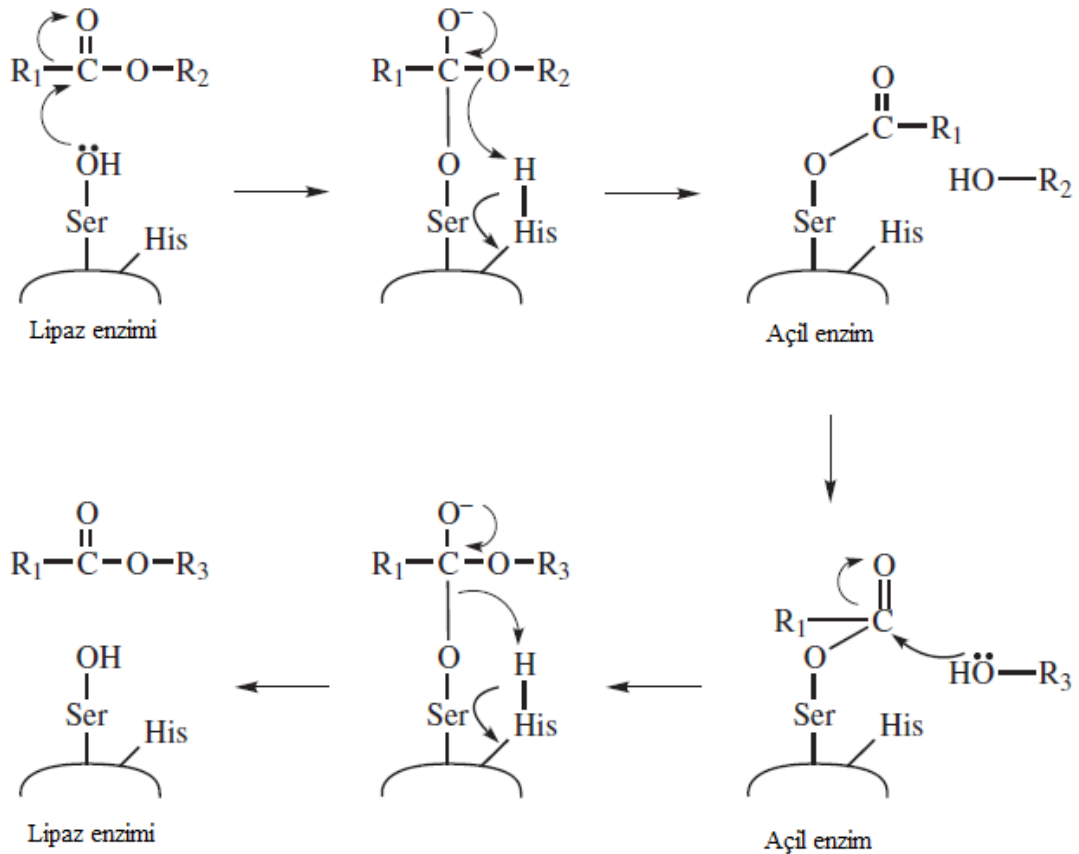
Yağ asidi köklerinin yer değişiminin aynı trigliserit molekülü içerisinde gerçekleşmesi *intraesterifikasyon*; farklı trigliserit moleküllerinde yer alan yağ asitlerinin termodinamik bir dengeye ulaşınca dek yer değiştirmesi ise *interesterifikasyon* olarak tanımlanmaktadır. Şekil 2.3. stearik, oleik ve linoleik asit içeren bir trigliserit molekülündeki yağ asitlerinin ester bağlarının, bir katalizör yardımıyla rastgele koparılması; bu yağ asitlerinin olasılık yasalarına bağlı olarak tesadüfî bir şekilde gliserollerin boş kalan karbon bağlarına ester bağları ile bağlanması kademelerini içermektedir. Bu reaksiyon tereyağının plastisitesinin iyileştirilmesinde, kakao yağı ikâmelerinin üretilmesinde kullanılmaktadır (Willis and Marangoni, 2002; Gümüşkesen ve Yemişçiöglü 2004; Senanayake and Shahidi 2005a).



Şekil 2.3. Transesterifikasyon tepkimesi (Senanayake and Shahidi 2005a)

## 2.2. İnteresterifikasyon Tepkimelerinde Kullanılan Lipazlar

Lipaz enzimleri (triasilgliserol açıl hidrolazlar, E.C.3.1.1.3), gliseritlerin hidroliz ve sentez tepkimesini katalizler. Bu enzimler bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir. En iyi bilinen ve en çok çalışılan lipaz enzimleri insan ve domuzdan elde edilen lipazlar ile bazı mikrobiyel lipazlardır. Bu enzimler yağ-su ara yüzeyinde aktivite göstermektedirler (Şekil 2.4.). Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonlarının en büyük avantajı bu tepkimelerin kimyasal tepkimelere göre daha seçici olması ve yüksek kalitede ürünlerin elde edilmesidir. Bir diğer avantajı ise, reaksiyonların 40-60 °C sıcaklıkta gerçekleşmesinden dolayı reaksiyona giren bileşenlerin ve elde edilen ürünlerin termal zarara karşı korunmaları ve enerji maliyetlerinin de daha az olmasıdır (Ramamurthi and McCurdy, 1995; Hou, 2002; Kayahan, 2002; Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a; Lafuente, 2010).



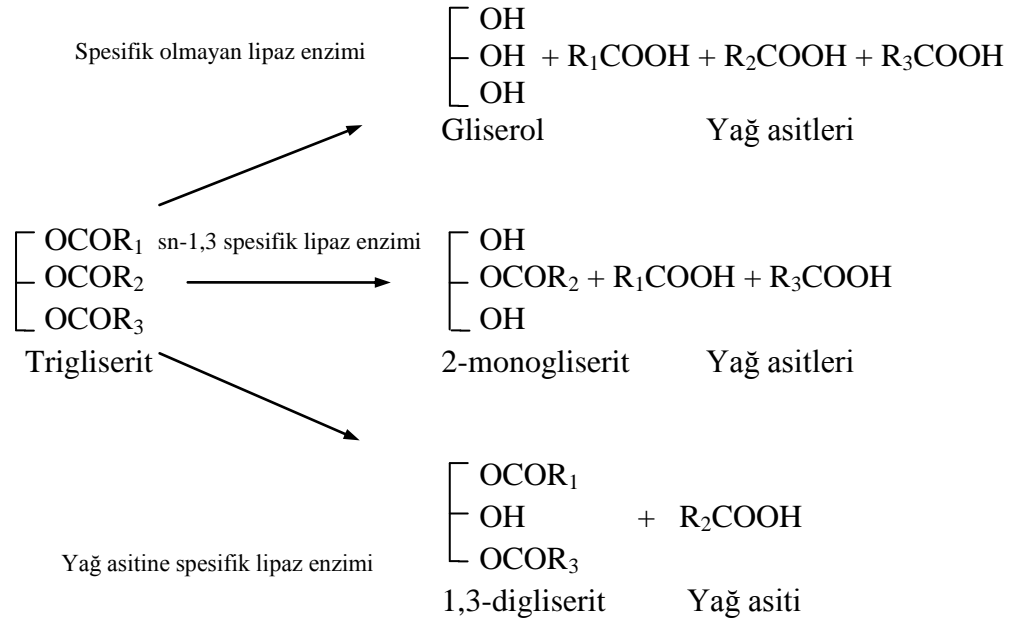
Şekil 2.4. Tepkime mekanizması (Senanayake and Shahidi 2005a)

Genetik mühendisliği, biyoteknoloji ve modern proses yöntemlerindeki gelişmeler, daha düşük maliyetle daha iyi özellikte enzim üretimine imkân sağlamaya başlamıştır. Enzimler çeşitli yöntemler kullanılarak immobilize edilmekte ve bu sayede yeniden kullanılabilirlik kazanarak büyük ölçekli endüstriyel üretimlerin gerçekleşmesi mümkün olmaktadır (Senanayake and Shahidi 2005a; Dijkstra, 2009).

Mikrobiyel kaynaklı lipazlar yağları hidrolize ederek serbest yağ asitlerinin, kısmi gliseritlerin ve gliserolün oluşmasını sağlamaktadır. Lipaz etkisinde oluşan bu tepkime tersinir özellikte olup, tepkime koşullarına bağlı olarak, kullanılan enzim, ortamdaki serbest gliserol ve yağ asitlerinden tekrar gliseritlerin oluşumunu katalizleyebilmektedir. Lipazların katalizlediği tepkimelerde ortamın su içeriğine bağlı olarak, oluşan hidroliz veya sentez tepkimelerinin oranı değişmektedir. Ortamda su miktarının artırılması, tepkimenin hidroliz yönüne kaymasına ve serbest yağ asitleri, mono ve digliseritlerin miktarının artmasına neden olmaktadır. Su miktarının sınırlandırıldığı durumlarda ise, sentez veya esterleşme reaksiyonları baskın hale gelmektedir. İnteresterifikasyon tepkimesini optimize edebilmek için, hidroliz ve esterleşme tepkimeleri arasında bir denge kurulması gerekmektedir. Tepkime ortamında esterleşme reaksiyonlarının hidroliz reaksiyonlarına kıyasla öncelikli ve çok daha hızlı gerçekleştiği belirtilmektedir. Proseste hidroliz ve esterleşmenin kontrol altına alınması verimi artırmakta ve tepkimenin ekonomik açıdan uygulanabilir olmasını sağlamaktadır (Mu et al., 1998; Willis and Marangoni, 1999; Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a).

Lipazlar, özelliklerine göre; spesifik olmayan, trigliseritin sn-1,-3 konumundaki yağ asitlerine spesifik olan (regiospecific) ve belirli yapıdaki yağ asitlerine spesifik katalitik etki gösteren olmak üzere üç grupta kategorize edilmektedir (Şekil 2.5.). Spesifik olmayan mikrobiyel lipazlara, *Candida cylindraceae*, *Corynebacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Penicillium expansum*, ve *Pseudomonas cepacia*'dan elde edilen lipaz enzimleri örnek olarak verilebilir. Trigliserit molekülünün sn-1,-3 konumundaki yağ asitlerine spesifik olan lipazlara ise, *Mucor miehei*, *Mucor javanicus*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*' dan elde edilen lipaz enzimleri ile pankreatik lipaz örnek olarak verilebilir.

Üçüncü gruptaki lipazlar trigliserit molekülünden belirli yapıdaki yağ asitlerinin ayrılmasını katalizleyebilmektedir. *Geotrichum candidum*'dan elde edilen lipaz enzimi, uzun zincirli yağ asitlerinden bazılarının hidrolizini gerçekleştirmektedir. Uzun zincirli yağ asitlerinden dokuzuncu karbon atomunda cis formda çift bağ içerenleri trigliserit yapısından ayırmaktadır. Doymuş yağ asitleri ile 9-yerleşiminde cis formda çift bağ içermeyen yağ asitlerinin ester bağlarını ise oldukça yavaş bir şekilde parçalayabilmektedir (Ramamurthi and McCurdy, 1995; Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a; Lafuente, 2010).



Şekil 2.5. Lipaz etki mekanizması (Senanayake and Shahidi 2005a)

### 2.2.1. Lipaz aktivitesini ve tepkimeyi etkileyen önemli faktörler

Enzim katalizörlüğünde gerçekleşen bu reaksiyonlarda, reaksiyon ortamındaki su miktarı, tepkime sıcaklığı, tepkime süresi, biyokatalizör tipi ve miktarı, substratın molar oranı ve karıştırma hızı tepkime üzerine etki eden faktörlerdir.

### 2.2.1.1. Su miktarı ve su aktivitesi

Enzim aktivitesi reaksiyon ortamının su aktivitesine göre değişmektedir. Tepkime ortamında çok az miktardaki suyun varlığı bile trigliseritlerin enzimatik hidrolizini mümkün kılmaktadır. İnteresterifikasyon tepkimesi enzim-su-yağ ara yüzeyinde gerçekleştiğinden ortamda mutlaka bir miktar suyun mevcudiyeti gereklidir. Elde edildiği kaynağın farklılığına bağlı olarak, bazı lipaz enzimleri çok düşük su aktivitesi değerinde bile faaliyet gösterirken bazıları daha yüksek miktarda su aktivitesinde faaliyet gösterebilirler. İnteresterifikasyon reaksiyonu için gerekli optimum su miktarı değerinin % 0,04-11 (w/v) aralığında değiştiği belirtilmektedir. Ancak enzim aktivitesinin ölçülmesinde reaksiyon sistemindeki toplam su miktarından ziyade enzimin içerdiği su miktarı daha önemlidir. Ortamın içerdiği su miktarı reaksiyonun ester oluşturma ya da hidroliz yönünde dengeye oturmasında belirleyici bir faktördür. Ester sentezi düşük su aktivitesinde gerçekleşmektedir. *Candida antarctica*'dan elde edilen ve ticari olarak Novo Nordisk firması tarafından üretilen lipaz enzimi (Novozyme-435) % 1-2 (w/w) oranında su içermektedir. Ortama ilâve su katmadan bu enzim katalizörlüğünde gerçekleştirilen interesterifikasyon sonucunda, elde edilen ürünün yüksek miktarda trigliserit yapısında olduğu belirtilmektedir (Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a).

### 2.2.1.2. Sıcaklık ve pH

Genel olarak artan sıcaklıkla birlikte interesterifikasyonun etkinliği de artmaktadır, ancak yüksek sıcaklık enzimin geri dönüşümsüz olarak denatürasyonuna dolayısı ile reaksiyon hızının düşmesine neden olmaktadır. Genel olarak mikrobiyel kaynaklı lipazlar bitkisel ve hayvansal lipazlara göre sıcaklığa karşı daha stabildir. Enzimlerin çeşitli destek maddeleri üzerine immobilizasyonu sayesinde hem tekrarlı kullanım sağlanabilmekte hem de enzim daha kararlı bir yapı kazanarak yüksek sıcaklıklarda çalışması mümkün olmaktadır. İmmobilize lipazlar için optimum çalışma sıcaklığı 30-60 °C aralığındadır (Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a).

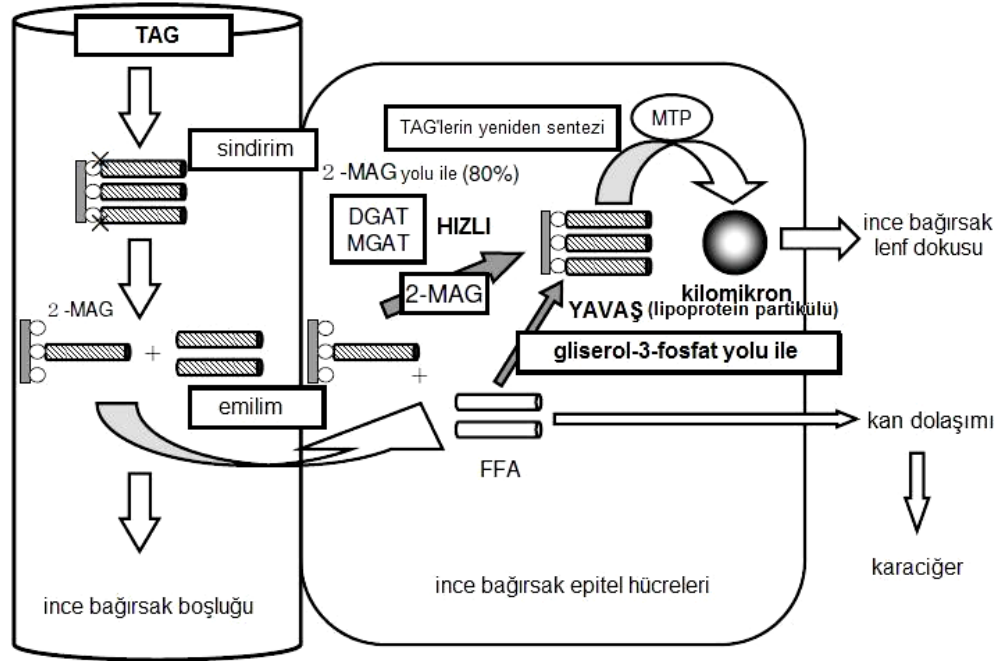
Tüm proteinler gibi lipaz enzimleri de pH' ya duyarlıdır. Genel olarak aşırı

yüksek/düşük pH değerlerinde enzimler denatüre olurlar. Lipazların optimum pH değerleri pH 4-10 arasında değişkenlik göstermektedir. Tepkime ortamında bulunan yüksek miktardaki serbest yağ asitlerinin enzim aktivitesini inhibe edebileceği göz ardı edilmemelidir (Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a).

### **2.3. Yağlar ve Sağlık**

Kalp damar sağlığı üzerine olumsuz etkilerinden dolayı birçok uzman doymuş yağ tüketiminden mutlaka kaçınılması gerektiğini belirtmişlerdir. Sağlıklı bir yağ tüketimi için doymuş/tekli doymamış/çoklu doymamış yağ asitlerinin diyetteki oranının 1/1-1,5/1 oranında olması gerektiğini belirtmektedir. Ayrıca sağlıklı bir yağ tüketimi için; günlük kalorinin % 15-30' unun yağlardan sağlanması, ve bu kalori miktarının en fazla % 10' unun doymuş yağlardan alınması, çoklu doymamış yağlardan alınan kalorinin ise % 6-10 arasında kalması ve günlük 300 mg' dan fazla kolesterol alınmaması gerektiği WHO ve Amerikan Kalp Derneği tarafından tavsiye edilmektedir (Anonymous, 2003; Anonymous, 2010).

Trigliseritler, ince bağırsakta pankreatik lipaz etkisi ile hidrolize olarak 2-monogliseritler ile serbest yağ asitlerine parçalanır ve ince bağırsak epitel hücrelerinde emilime uğrar (Şekil 2.6.). İnce bağırsak epitel hücrelerinde oluşan 2-monogliseritler diaçilgliserol açiltransferaz ve monoaçilgliserol açiltransferaz enzimlerinin katalizörlüğünde 2-monoaçilgliserol yolu ile trigliserit sentezinde yer alırken; serbest yağ asitleri gliserol-3-fosfat yolu ile trigliserit sentezinde yer alır. Oluşan trigliseritler mikrozomal trigliserit transfer proteini etkisi ile kilomikronlara bağlanarak ince bağırsak lenf dokusuna salınır ve buradan kan dolaşım sistemine katılırlar (Watanabe and Tokimitsu, 2004; Yanai et al., 2007; Şekil 2.6.).

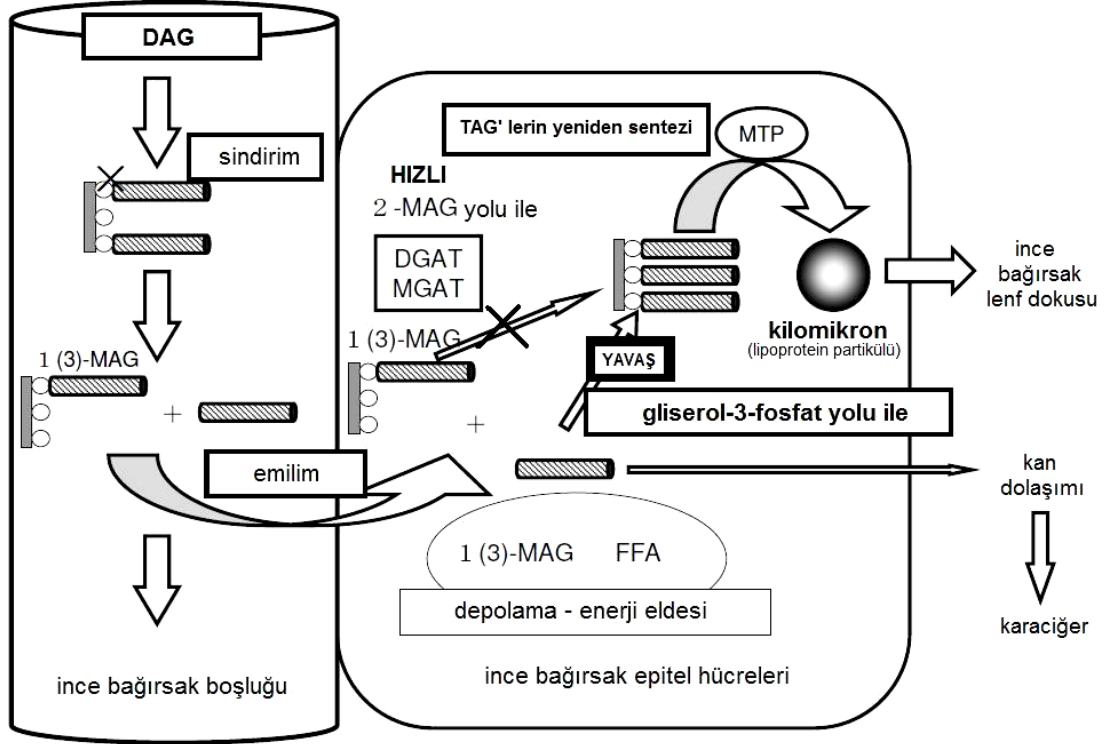


Şekil 2.6. Trigliseritlerin emilim ve sindirimi. DGAT, diaçilgliserol açıltransferaz; FFA, serbest yağ asidi; 2-MAG, 2-monoaçilgliserol; MGAT, monoaçilgliserol açıltransferaz; MTP, mikrozomal trigliserit transfer proteini; TAG, trigliserit (Yanai et al., 2007)

Digliseritler, trigliseritlerin 1,3-spesifik lipaz eşliğinde hidrolizi ile sentezlenebilmektedir. Reaksiyon sonucunda 1,2 veya 2,3-digliseritler ile 1,3-digliseritler meydana gelir. Oluşan 1,3-digliseritlerin 1,2 veya 2,3-digliseritlere oranı 7:3' tür. Digliseritler, ince bağırsakta pankreatik lipaz etkisi ile hidrolize uğrayarak 1(3)-monogliseritler, 2-monogliseritler ile serbest yağ asitlerine parçalanır. 1(3)-monogliseritler 2-monoaçilgliserol yolu ile trigliserit sentezinde yer alamazlar, çünkü bu gliseritler diaçilgliserol açıltransferaz ve monoaçilgliserol açıltransferaz enzimlerinin substratı değildir, ancak serbest yağ asitlerine kadar parçalandıklarında gliserol-3-fosfat yolu ile trigliserit sentezinde yer alabilirler (Şekil 2.7.). Gliserol-3-fosfat yolu ile trigliserit sentezi 2-monoaçilgliserol yoluna kıyasla daha yavaş ve daha az etkindir. Digliserit yağı ile beslenen deney hayvanlarının kan serumundaki trigliserit miktarının trigliserit yağ ile beslenenlere kıyasla düşük saptanması bu durum ile açıklanmaya çalışılmıştır. (Flickinger and Matsuo 2003, Watanabe and Tokimitsu, 2004; Yanai et al., 2007).



Mu ve Høy (2000), sıçanlar ile yaptıkları çalışmada, sn-1(3) pozisyonunda kaprilik, kaprik ve laurik asitleri (MCFAs); sn-2 pozisyonunda ise oleik ve linoleik asitleri (LCFAs) içeren yapılandırılmış trigliseritlerin ince bağırsakta emilimi sırasında MCFAs' ların, LCFAs' ların emilimini artırıcı veya azaltıcı bir etki yapmadığı bulgusuna varmışlardır.



Şekil 2.7. Digliseritlerin emilim ve sindirimi. DGAT, diaçilgliserol açıltransferaz; FFA, serbest yağ asidi; 2-MAG, 2-monoaçilgliserol; MGAT, monoaçilgliserol açıltransferaz; MTP, mikrozomal trigliserit transfer proteini; DAG, digliserit; TAG, trigliserit (Yanai et al., 2007)

Maki et al. (2002), kadın ve erkek olmak üzere aşırı kilolu 131 denek ile yaptıkları çalışmada, denekleri tüketecekleri yağ bakımından iki gruba ayırmışlardır (digliserit yağı - trigliserit yağı; her iki yağ da benzer yağ asidi bileşimine sahiptir). Yirmi dört hafta süre ile her iki grup da eşit oranda yağ alacak şekilde bu yağları içeren gıdaları (kraker, çorba, çörek, kurabiye, krokan) tüketmişlerdir. Deneklerin bazal metabolizma hızlarına göre günlük almaları gereken enerji hesaplanmıştır. Deney sonunda digliserit yağını tüketen grubun kilo ve vücut yağ kitlesi kaybı trigliserit yağını tüketen gruptan daha fazla bulunmuştur. Nagao et al. (2000)' ın yaptığı

çalışmada da benzer bir sonuç elde edilmiştir.

Tsuji et al. (2001), orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince (MCT; C8-C10) zengin trigliseritlerin vücuttaki yağ birikimini baskılayıcı etkisi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Çalışma yaşları 20 ile 58 arasında değişen, beden kitle indeksi ortalama  $24,7 \pm 0,2 \text{ kg/m}^2$  olan, sağlıklı 78 erkek ve kadın üzerinde yapılmıştır. Çalışmada denekler 12 hafta boyunca diyetisyen kontrolünde hazırlanan kahvaltı, öğle ve akşam yemeklerini tüketmişlerdir. Aldıkları günlük kalori miktarı 9218 kJ, katı yağ miktarı ise 60 g olarak belirlenmiştir. Deneklerin bir kısmından orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliseritleri içeren, diğer kısmından ise uzun zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliseritleri (LCT; kanola ve soya yağı karışımı) içeren test yağlarını tüketmeleri istenmiştir. Test yağlarının günlük tüketim miktarı 10 g olarak belirlenmiş ve kahvaltı ile birlikte alınması sağlanmıştır. MCT ve LCT test yağı grupları kendi içinde beden kitle indekslerine göre  $23 \leq$  ve  $23 >$  olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Deney süresinin sonunda MCT test yağını tüketen grubun vücut yağ birikimindeki azalma LCT test yağını tüketen gruba kıyasla önemli derecede daha fazla bulunmuştur. Ayrıca beden kitle indeksi  $23'$  ün üzerinde olan gruplardan MCT test yağını tüketen gruptaki kilo kaybı LCT test yağını tüketen gruptakine kıyasla daha fazla saptanmıştır. Beden kitle indeksi  $23'$  ün altında olan MCT ve LCT test yağını tüketen gruplar arasındaki kilo kaybı aynı oranda belirlenmiştir. Orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliseritleri içeren diyetle beslenen aşırı kilolu kişilerin, uzun zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliseritleri içeren diyetle beslenenlere kıyasla daha iyi kilo verdiği görülmüştür.

Tholstrup et al. (2004), yaptıkları çalışmada orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zengin trigliseritlerin (% 66 C8:0 ve % 34 C10:0 - MCT) ve oleik asidin (yüksek oleik asitli ayçiçek yağı - HOSO) kan lipitlerinin, lipoproteinlerin, glikoz, insülin ve lipit transfer protein aktivitesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Denekler çalışma süresince normal yaşantılarında tükettikleri yağ miktarından daha fazla miktarda test yağlarını tüketerek daha fazla enerji almışlardır. Bu amaçla 17 genç erkek 21 günlük çapraz iki dönem şeklinde test yağlarını tüketmişlerdir. İki dönem arasında iki

haftalık ara verilmiştir, bu süre zarfında deneklerin normal yaşantılarında tükettikleri gıdaları almalarına izin verilmiştir. Deneklerin MCT test yağını tükettikten sonraki kan analizi sonuçları HOSO test yağını tükettikten sonraki analiz sonuçları ile kıyaslandığında, LDL-kolesterol, plazma trigliserit ve plazma glikoz değerleri yüksek bulunmuştur. Ancak HDL-kolesterol, insülin, lipit transfer protein aktivitesi değerleri arasında fark görülmemiştir.

Reena ve Lokesh (2007), dengeli yağ asidi profiline sahip karışım ve interesterifiye yağların hipolipidemik (kan serumundaki lipit konsantrasyonunu düşürücü) etkilerini, sıçanlar üzerinde yaptıkları besleme deneyi ile belirlemeye çalışmışlardır. Yaptıkları çalışmada hindistan cevizi (CNO), susam (SESO) ve pirinç kavuzu (RBO) yağlarını, test yağlarındaki SFA/MUFA/PUFA miktarları 1:1:1 oranında olacak şekilde karıştırmışlardır. Karışım test yağları hindistan cevizi–pirinç kavuzu [CNO+RBO (B)] ve hindistan cevizi–susam yağı [CNO+SESO (B)] olarak iki grup olarak oluşturulmuştur. Bu iki grup yağ ayrıca 1,3 spesifik lipaz (IM RM *Rhizomucor miehei*) [CNO+RBO (I) ve CNO+SESO (I)] kullanılarak interesterifiye edilmiştir. Karışım ve interesterifiye yağların yağ asidi dağılımı ile diğer minör (tokoferol, orizanol ve lignan) bileşen miktarları karşılaştırıldığında aralarında önemli bir fark bulunmamıştır. Besleme deneyi yedi grup olarak [CNO, SESO, RBO, CNO+RBO (B), CNO+SESO (B), CNO+RBO (I) ve CNO+SESO (I)] ve her grupta dört adet sıçan olacak şekilde planlanmıştır. Bu gruplar 60 gün boyunca, % 10 oranında test yağlarını içeren yemle beslenmişlerdir. CNO, RBO ve SESO ile beslenen grupların serum toplam kolesterol değerleri ortalaması sırası ile 66,2, 42,7 ve 50,7 mg/dL; LDL-kolesterol değerleri 49,1, 24,8 ve 30,2 mg/dL; trigliserit değerleri ise 147, 110 ve 128 mg/dL olarak saptanmıştır. Serum analizi sonuçlarına göre CNO+RBO (B) ve CNO+SESO (B) ile beslenen grupların ortalama toplam kolesterol değerleri CNO ile beslenen grubun değerlerine göre sırasıyla % 23,8 ve % 20,5 daha düşük belirlenmiştir. Serumdaki LDL-kolesterol ve trigliserit değerleri ise sırası ile LDL-kolesterol bakımından % 32,4 ve % 13,9, trigliserit bakımından % 34 ve % 12,9 oranlarında daha düşük saptanmıştır. İnteresterifiye edilmiş test yağı gruplarının serum analizi sonuçlarında ise CNO+RBO (I) ile beslenen grubun toplam kolesterol ortalama değeri CNO+RBO (B), CNO ile beslenen grupların ortalama

değerlerinden sırasıyla % 14,6 ve % 35 daha düşük belirlenmiştir. RBO ile beslenen grubun değerleri ile kıyaslandığında ise fark görülmemiştir. CNO+SESO (I) ile beslenen grubun toplam kolesterol ortalama değeri CNO+SESO (B) ile beslenen grubun değerlerinden % 16 daha düşük saptanmıştır. LDL-kolesterol ve trigliserit değerleri bakımından karşılaştırıldığında ise CNO+RBO (I) ile beslenen grubun ortalama değerleri CNO+RBO (B) ve CNO ile beslenen grupların ortalama değerlerinden LDL-kolesterol bakımından sırasıyla % 24,7 ve % 49,2, trigliserit bakımından ise sırasıyla % 10,7 ve % 23 daha düşük saptanmıştır. CNO+SESO (I) ile beslenen grubun LDL-kolesterol ve trigliserit değerlerinin ortalaması CNO, SESO ve CNO+SESO (B) ile beslenen grupların ortalama değerlerinden önemli derecede düşük belirlenmiştir.

Matsuo et al. (2001), yaşları 18-24 arasında değişen, beşerli iki grup şeklinde on kadın denek ile yaptıkları çalışmada, birinci gruptaki deneklerin % 10 MCT ve % 90 LCT içeren yapılandırılmış yağ, ikinci gruptaki deneklerin ise soya yağı tüketmeleri sağlanmıştır. On iki hafta süresince her iki grubun hem yağdan aldıkları enerji miktarı hem de diğer tükettikleri gıdalardan aldıkları enerji miktarı eşit tutulmuştur. Deney süresi sonunda gruplar arasında biyokimyasal kan değerleri ile kilo artış değerleri arasında farklılık bulunmazken, yapılandırılmış yağ tüketen grubun vücut yağ kitlesi yüzdesi soya yağı tüketen grubun değerlerinden daha düşük saptanmıştır.

### **2.3.1. Kaproik, kaprilik, kaprik ve laurik asitlerin sağlık üzerine bazı antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkileri**

Kaproik, kaprilik ve kaprik asidin üçü de birbirine benzer biyolojik aktiviteye sahiptir. Kaprilik ve kaprik asidin her ikisi de antiviral aktiviteye sahiptir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda kaprilik asidin antitümör ve monokaprinin ise HIV virüsü üzerine antiviral etkileri olduğu belirlenmiştir. Ayrıca son yıllarda doymuş yağ asitlerinin sağlık üzerine etkilerini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda kaproik, kaprilik ve kaprik asidin, serum LDL-kolesterolüne artırıcı etki etmediği yönünde bulgular vardır (German and Dillard 2004).

Laurik asidin ve monolaurinin milimolar konsantrasyonlarının *Helicobacter pylori*'ye karşı bakterisit etki gösterdiği saptanmıştır (Sun et al., 2003). Bu yağ asidi ve monogliserit formu, mikroorganizmaların lipit membran yapısını bozarak antiviral, antifungal ve antibakteriyel etki göstermektedir. Ancak bu yağ asidinin kolesterolü artırıcı etkisi olduğu belirtilmektedir (German and Dillard 2004).

### **2.3.2. Ticari olarak üretilen bazı yapılandırılmış yağlar**

*Kaprenin*; 8, 10 ve 22 C' lu yağ asitlerinin gliserol ile esterleşmesi sonucu meydana gelen ve kaprokaprilobehenin olarak isimlendirilen yapılandırılmış bir lipidin genel ismidir. Hindistan cevizi, palm çekirdeği ve kolza yağlarının transesterifiye edilmesi ile üretilir. Orta zincirli yağ asitleri genellikle hindistan cevizinden, uzun zincirli olanlar ise kolza yağından elde edilirler. Kapreninin yapısında bulunan behenik asit vücutta kısmen emildiğinden, bu yağ ikâmesi 5 kcal/g'lık bir enerji değerine sahiptir. Procter&Gamble firması kapreninin yumuşak şekerlemelerde, draje kaplamalarında ve bazı kurabiyelerde güvenli olarak kullanımının iznini FDA'dan almıştır. Kapreninin % 95'i trigliseritlerden, % 2'si digliseritlerden ve % 1'i ise monogliseritlerden oluşmaktadır. Yağ asitleri dağılımının ise % 43-45'ini 8-10 C'lu, % 40-54'ünü ise 22 C'lu yağ asitleri oluşturmaktadır. Kaprenin değişik yağların karışımının tadında olup, oda sıcaklığında yarı katıdır ve sıcaklığa kısmen dayanıklıdır. Bu özellikleri ile kakao yağı yerine kullanılabilir (Chandalia and Modi, 1999; Akoh, 2002b; García-Falcón et al., 2002).

*Benefat / Salatrim*; 2, 3, 4 ve 18 C' lu yağ asitlerinin gliserol ile esterleşmesi sonucu oluşmuştur. Asetik asit, propiyonik asit veya bütirik asidin yüksek derecede hidrojene edilmiş bitkisel yağlarla interesterifikasyonu ile elde edilirler. Yağ asitleri gliserol köküne tesadüfi olarak bağlanmışlardır ve bunun sonucu olarak elde edilen yağ içerisinde çok değişik yapıda trigliserit molekülü bulunmaktadır. Fiziksel ve fonksiyonel özellikleri birbirinden farklı olan yapılandırılmış lipitlerin yapısında stearik asit gibi uzun zincirli yağ asitlerinin yanı sıra asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri de mevcuttur. Benefat, yapısında bulunan 2, 3, 4 C' lu ve uzun zincirli yağ asitlerinin miktarına ve gliserol köküne bağlanma pozisyonuna

bağlı olarak 3.5, 4.3, 5, 6 ve 9.5 kcal/g'lık enerji kapasitesine sahip olabilmektedir. Benefatın sıvı veya katı yapıda olması, içerdiği yağ asidi bileşimine, bu yağ asitlerinin sayısına ve gliserole bağlanma yerine bağlı olarak değişmektedir. Özellikle stearik asit gliserol üzerinde sn-1 ve sn-3 pozisyonlarına bağlandığında ancak % 50'si sindirilebilmektedir. Asetil ve propiyonil grupları ise mide ve bağırsağın üst kısımlarındaki lipazlar tarafından kolaylıkla hidrolize olmaktadır. Benefat, cipslerin pişirilmesinde, çikolata aromalı kaplamalarda, süt ürünlerinde, pasta süslemelerinde ve cips soslarında FDA' nın verdiği güvenli kabul edilebilir lisansı ile yağ ikâmesi olarak kullanılmaktadır (Hunter, 1998; Sandrou and Arvanitoyannis, 2000; Akoh, 2002b).

*Betapol*; Loders-Croklaan (Unilever) firmasının bir ürünü olup bebek mamalarında anne sütü yağı ikâmesi olarak kullanılmaktadır. Bu yağ çoğunlukla UPU tipinde trigliseritler içerir. Anne sütü yağında palmitik asidin önemli bir bölümü sn-2 pozisyonunda bulunur ve bu bitkisel yağlarda olan bir özellik değildir. Betapol, tripalmitin ve oleik asidin, *Mucor miehei* orjinli 1,3-spesifik lipaz kullanılarak interesterifiye edilmesiyle üretilir (Gunstone, 2005).

*Bohenin*; triolein ve behenik asidin 1,3-spesifik lipaz katalizörlüğündeki enzimatik interesterifikasyonu ile glycerol 1,3-behenate 2-oleate ticari olarak üretilmektedir. Bu yağ Bohenin olarak adlandırılmakta ve çikolataya eklendiğinde çiçeklenmeyi engellemektedir. Fuji Oil Co., Ltd. firması boheninin kakao yağı ikâmesi olarak güvenli (GRAS) kullanımının iznini FDA' dan almıştır (Gunstone, 2005; Senanayake and Shahidi 2005b).

*Kaptirin*; gliserolün orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri ile (C6, C8, C10, C12) interesterifiye edilmesiyle üretilmektedir. Başlıca yağ asitleri kaprilik ve kaprik asit olup enerji değeri 8.3 kcal/g' dır. Günümüzde yağ içermeyen gıda ürünlerinde aroma taşıyıcı olarak kullanıma FDA tarafından izin verilmiştir (Senanayake ve Shahidi 2005b) . Orta zincir uzunluğundaki trigliseritler (MCT) uzun zincir uzunluğundaki trigliseritlere (LCT) oranla çok daha hızlı bir şekilde metabolize olarak vücudun ihtiyaç duyduğu enerji gereksinimini karşılarlar. Bu yağ asitlerinin enerji kapasiteleri

ise uzun zincirli yağ asitlerine göre daha azdır. Bu nedenle aşırı kilo, pankreatik yetersizlik, epilepsi ve hatta diarenin yoğun olarak görüldüğü AIDS hastalarının tedavi sürecinde diyetlerinde orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerinin kullanıldığı belirtilmiştir (Stein 1999, Dehesh 2001, Akoh and Xu 2002, Mu and Porsgaard 2005, Hamam and Shahidi 2005, Vamecq et al. 2005, Marten et al. 2006).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Yapılandırılmış yağ ve analizler için materyal

Çalışmada kullanılan rafine palm çekirdeği yağı Unilever Sanayi ve Ticaret Türk A.Ş.'den hibe olarak alınmıştır. Hava ve nem almayacak şekilde -20 °C' da muhafaza edilmiştir. Enzimatik interesterifikasyon tepkimesinde kullanılan kaprilik asit ( $\geq\%$  99 saflıkta) ve kaprik asit ( $\geq\%$  98 saflıkta) Sigma (St. Louis, Missouri, A.B.D.) firmasından sağlanmıştır. Katalizör olarak kullanılan 1,3- spesifik lipaz enzimi *Thermomyces lanuginosa*' dan elde edilmiş olup Novozyme Corp. firmasının ürünüdür ve Sigma' dan (St. Louis, Missouri, A.B.D.) sağlanmıştır. Firma tarafından belirtilen lipaz aktivitesi  $\geq 100,000$  U/g' dır.

Yapılandırılmış yağların  $\beta$ -yerleşimindeki yağ asitlerinin belirlenmesinde kullanılan lipaz enzimi (Type II, from porcine pancreas) ve sodyum kolat Sigma (St. Louis, Missouri, A.B.D.) firmasının, tris ve kalsiyum klorür Merck (Darmstadt, Almanya) firmasının ürünüdür. Monogliseritlerin (MAG) ayrılmasında kullanılan ince tabaka kromatografi (TLC) plakaları ve 2,7-diklorofloresan indikatörü Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır. Yapılandırılmış yağın kolon kromatografisi ile saflaştırılmasında kullanılan aktif alüminyum (A9003, type wn-3 neutral) Sigma (St. Louis, Missouri, A.B.D.) firmasının ürünüdür.

Yapılandırılmış yağların yağ asidi bileşiminin belirlenmesinde kullanılan yağ asidi metil esteri standartları (a mix of 37 FAME (C4–C24)) Supelco (Bellefonte, PA, A.B.D) firmasının ürünüdür. Kullanılan diğer kimyasallar analitik veya kromatografik saflıkta olup Sigma veya Merck firmalarının ürünleridir.



### 3.1.2. Sıçan besleme deneyi için materyal

Üretilen yapılandırılmış yağın sağlık üzerindeki etkileri sıçan besleme deneyi ile subkronik olarak belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla çalışmada yirmi bir adet, yaklaşık olarak 12 haftalık erkek vistar albino rat (sıçan) kullanılmıştır. Sıçanlar Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanı Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Besleme deneyi bu laboratuvarda gerekli etik kurul onay belgeleri alınarak gerçekleştirilmiştir. Sıçanların ağırlıkları 170 - 211 g arasında olup, tesadüfi olarak üç kafese (Polycarbonate cage type 4, Plexx B.V.) ayrılmıştır (Şekil 3.1.). Laboratuvar ortamı 12 saat ışık / 12 saat karanlık döngüsünde olup, ortam sıcaklığı 22 °C, nemi ise % 45 değerindedir. Sıçanların tükettiği yem (Zirve – S2) Zirve Gıda Tarım Hayvancılık Sanayi ve Ticaret A.Ş. adına Poyraz Gıda Tarım Hayvancılık San. ve Tic. A.Ş. tarafından Dazkırı / Afyonkarahisar' da üretilmiştir ve laboratuvar yetkilileri tarafından sağlanmıştır. Su ise steril musluk suyudur.



Şekil 3.1. Sıçanların barındığı kafesler

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Enzimatik interesterifikasyon işlemi

Enzimatik interesterifikasyon tepkimesi çift cidarlı ve vakum uygulanabilir özellikte cam reaktörde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan cam reaktör 8 cm iç çaplı ve yaklaşık 1 L kapasitelidir (Şekil 3.2.). Reaktör sirküleri su banyosuna bağlanmış (Huber CC1-106A) ve bir manyetik karıştırıcı (Velp, ARE) üzerine yerleştirilmiştir.

Tepkime ortamına ilâve edilecek yağ asitlerinin (kaprilik ve kaprik asit) yağ asidi/palm çekirdeği yağı mol oranları 0,5:1, 0,75:1 ve 1:1 olarak belirlenmiştir. Belirlenen mol oranlarında, her biri 60 g olan stok substratlar (palm çekirdeği yağı ve yağ asitlerinin belirlenen mol oranlarındaki karışımı) hazırlanmıştır. Stok substratlar amber renkli cam şişelere alınarak tepe boşluğuna azot gazı verilmiş ve kullanılmaya kadar -20 °C’ da muhafaza edilmiştir.

İnteresterifikasyon tepkimesi 50 °C’ da yürütülen reaksiyonlarda 6, 12 ve 18 saat; 40 °C’ da yürütülen reaksiyonlarda 12, 18 ve 24 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Biyokatalizör olarak kullanılacak enzimlerin oranları, substratın % 8, % 10 ve % 14 ’ü olacak şekilde belirlenmiş ve reaksiyon 250 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Deneyle iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Reaksiyonların her birinde 90 g substrat kullanılmış ve belirlenen sürelerde reaksiyon ortamından örnek alınmıştır. Alınan örneklerdeki serbest asitlik alkali uygulaması ile giderilmiştir. Elde edilen nötrale yağlar diğer analizler için kullanılmak üzere azot atmosferinde şişelenerek -20 °C’ da muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Enzimatik interesterifikasyon için kullanılan çift cidarlı cam reaktör

### 3.2.2. Alkali ile asitlik giderme işlemi

Üretilen yapılandırılmış yağlar trigliseritlerin yanı sıra monogliseritler ve digliseritler ile serbest yağ asitlerini de içermektedir. Serbest yağ asitlerinin miktarının yemeklik rafine yağlarda % 0,3 'ün üzerinde bulunması istenmemektedir. Bu nedenle üretilen yapılandırılmış yağlardaki serbest asitlik Hamam ve Shahidi (2005) tarafından uygulanan yöntem ile nötralize edilerek giderilmiştir. Bu yöntemde yaklaşık 1 g substrat 20 mL aseton-etanol (1:1, v/v) karışımında çözülmüştür. Daha sonra bu karışıma birkaç damla fenolftaleyn indikatörü damlatılarak 0,5 M NaOH çözeltisi ile kalıcı pembe-mor renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Titrasyon sonrası elde edilen karışım bir ayırma hunisine aktarılmış ve üzerine 25 mL hekzan ilâve edilmiştir ve fazlar iyice karıştırılmıştır. Üst kısımda renksiz ve berrak hekzan fazı tamamen ayrılincaya kadar beklenmiştir. Alt kısımda bulunan pembe-mor renkteki sulu faz uzaklaştırılmıştır. Böylece karışımdaki mono- ve digliseritler ile trigliseritler hekzan fazına alınmıştır. Hekzan fazı kalıntı suyun uzaklaştırılması amacı ile susuz sodyum sülfat bulunan filtre kâğıdından süzümüştür. Döner buharlaştırıcı (Heidolph,

Laborota 4000 Efficient) kullanılarak hekzan 45 °C’ da ve vakum altında uzaklaştırılmış ve asitliği giderilmiş yapılandırılmış yağ elde edilmiştir. Bu yöntemde kullanılan yağ/çözücü oranları tezdeki denemelerde üretilen yapılandırılmış yağ miktarına göre hesaplanarak kullanılmıştır.

### **3.2.3. Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması ve yağ asidi bileşiminin belirlenmesi**

Yağ asitleri metil esterlerinin hazırlanması IUPAC 2.301’ e göre yapılmıştır (Anonymous, 1987). Asitliği giderilmiş olan yapılandırılmış yağdan 100 mL’ lik bir erlene 0,4 g tartılmıştır, üzerine 4 mL izooktan ilâve edilmiştir. Metanolde hazırlanmış 2 M KOH çözeltisinden 0,2 mL ilâve edilerek erlen 30 saniye çalkalanmış ve 6 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Metil oranj indikatöründen 1-2 damla damlatılmış ve 1 N HCl çözeltisi ile titre edilmiştir. Fazların ayrılması için 25-30 dakika beklendikten sonra üstteki berrak faz mikro cam şişeye (vial) alınmış ve GC analizine kadar derin dondurucuda -20 °C’ da muhafaza edilmiştir.

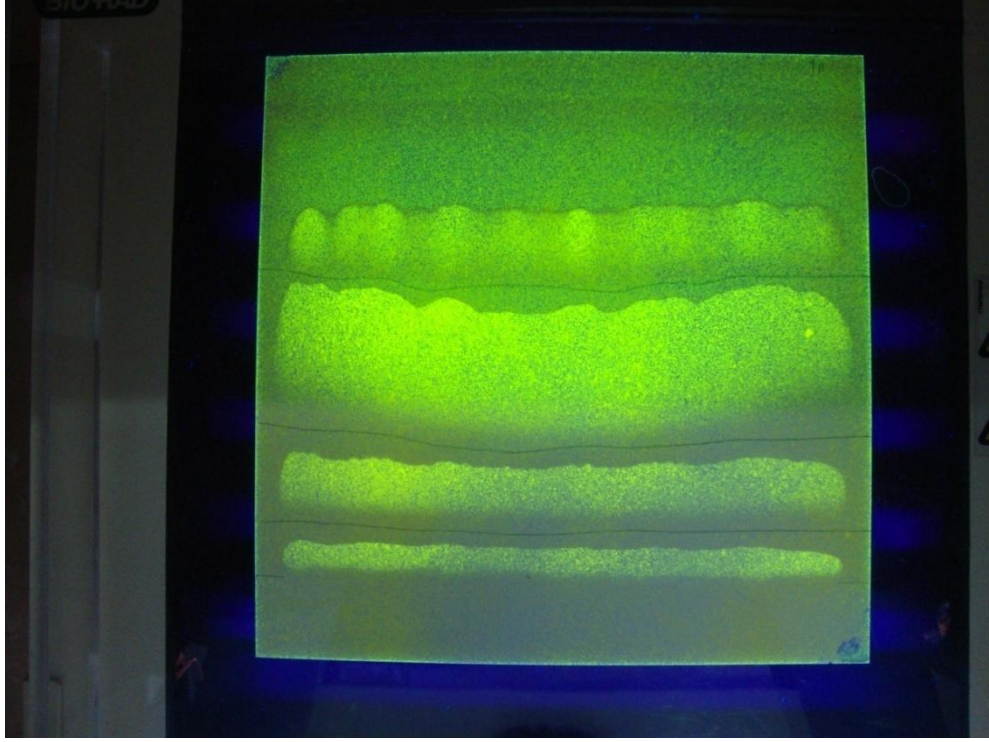
Asitliği giderilmiş olan yapılandırılmış yağların yağ asidi bileşimi gaz kromatografisi ile belirlenmiştir. Gaz kromatografisinde uygulanan koşullar aşağıda verilmiştir;

Kromatografi Cihazı	: Shimadzu GC-2010, AOC-20i Auto injector
Kolon	: J&W Scientific 122-2332 DB-23 (60 m uzunluğunda, 0.25 mm iç çapa sahip, 0.25 µm film kalınlığında)
Dedektör	: FID, Flame Ionization Detector
Sıcaklıklar	
Enjeksiyon bloğu	: 230 °C
Kolon	: 190 °C
Dedektör	: 240 °C
Taşıyıcı gaz	: Helyum
Kolon akışı	: 1.50 mL/dak
Split oranı	: 1:80

Enjeksiyon miktarı : 1 µL  
Süre : 50 dak

#### **3.2.4. β-yerleşimindeki yağ asidi bileşiminin tayini**

Her iki sıcaklık derecesinde ve diğer koşullarda 18 saat süre ile gerçekleştirilen interesterifikasyon sonucunda üretilen yapılandırılmış yağların β-yerleşimli yağ asidi bileşimi tayini AOCS Official Method Ch 3-91' e göre yapılmıştır (Anonymous, 2004). Yapılandırılmış yağdan 0,1 g kapaklı cam santrifüj tüpüne tartılmıştır. Üzerine 20 mg pankreatik lipaz ve 2 mL 1 M tris ilâve edilip vorteksle karıştırılmıştır. Daha sonra 0,5 mL Na kolat (1 g/L, su ile hazırlanmış), 0,2 mL kalsiyum klorür (220 g/L, su ile hazırlanmış) eklenip kapak kapatılarak çalkalanmış ve  $40\pm 0,5$  °C' daki su banyosunda 1 dk beklenmiştir. Tüpler su banyosundan alındıktan sonra 2 dk vortekslenmiş, üzerine 1 mL 6 M HCl eklenerek tekrar vortekslenmiş, 3 mL dietileter eklenip son defa vortekslenmiş ve 2000 rpm' de santrifüjlenerek üst faz alınmıştır. Alınan üst faz silikajel kaplı TLC plakasına sürülmüştür. Yürütücü solvent olarak hekzan:dietileter:formik asit, 70:30:1 (v/v/v) oranlarında karıştırılarak hazırlanmıştır. Kromatografi tankına 100 mL yürütücü solvent konulduktan sonra tank içerisinde buharlaşan solvent ile doymuş hale gelmesi için yaklaşık bir saat beklenmiştir. Plakalar tanka yerleştirildikten sonra plakanın üst kısmına 1 cm kalıncaya kadar solventin yürüme işleminin tamamlanması beklenmiştir. Yürüme tamamlanınca plakalara 2,7-diklorofloresan indikatörü püskürtülmüş ve UV lambası altında monogliserit bandı tespit edilmiştir ( $R_f \sim 0,035$ ) (Şekil 3.3.). Bant plakadan kazınarak esterleştirilmenin yapılacağı kaba alınmış ve IUPAC 2.301' e göre esterleştirilmiştir (Anonymous, 1987). Yapılandırılmış yağın β-yerleşimindeki yağ asidi dağılımı bir önceki başlıkta verilen koşullarda gaz kromatografisi ile belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Palm çekirdeği yağının  $\beta$ -yerleşimli monogliseritlerinin TLC ile belirlenmesi

### 3.2.5. Trigliserit dağılımının belirlenmesi

Trigliserit bileşimi, her iki sıcaklık derecesinde 18 saat süre ile gerçekleştirilen interesterifikasyon sonucu üretilen yapılandırılmış yağlarda, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlenmiştir. Çözücü, HPLC saflıktaki asetonitril, izopropil alkol ve hekzanın 2:2:1 (v/v/v) oranlarında karıştırılmasıyla elde edilmiş ve yağ örneğinin bu çözücü karışımında % 3' lük (w/v) çözeltisi hazırlanmıştır (Holçapek et al., 2005). HPLC' de yürütücü faz olarak asetonitril:izopropil alkol:hekzan 500:118:100 (v/v/v) oranlarında karıştırılarak kullanılmıştır (Herslöf, 1981). HPLC' de uygulanan koşullar aşağıda verilmiştir;

Kromatografi Cihazı	: Shimadzu LC-10A
Kolon	: Teknokroma HPLC Columns, Nucleosil 100 C18 5 $\mu$ m 25x0.46
Dedektör	: RID, Refractive Index Detector
Pompa	: LC-20AD

Fırın	: CTO-20A
Sıcaklık	: 25 °C
Kolon akışı	: 1 mL/dak
Enjeksiyon miktarı	: 10 µL
Süre	: 70 dak

Yapılandırılmış yağlara ait trigliserit pikleri, Haryati et al. (1998), Tan ve Man (2000) ile Chen et al. (2007)' nin yapmış oldukları çalışmalara göre tanımlanmıştır.

### **3.2.6. Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın saflaştırılması**

Yapılandırılmış yağdaki serbest asitlik ve kalıntı sabun alümina ( $Al_2O_3$ ) (Sigma A9003, type wn-3 neutral) dolgulu kolonda uzaklaştırılmıştır (Jensen et al., 1966). Alüminyum 260 °C' daki kül fırınında 12 saat tutularak aktifleştirilmiştir. Yürütücü faz olarak hekzan:dietileter (9:1, v/v) karışımı kullanılmıştır. Kromatografi kolonuna alüminyum tutması için (3 cm çapında, 70 cm uzunluğunda) bir miktar cam yünü yerleştirilmiştir. Kolon bir miktar yürütücü faz ile doldurulmuş ve saflaştırılacak yağın iki katı miktarda alümina ilâve edilmiştir. Alüminanın kolonda iyice yerleşmesi için yarım saat beklenmiştir. Saflaştırılacak yağa bir miktar yürütücü faz ilâve edilerek kolona verilmiştir (Şekil 3.4.). Saniyede iki damla akış hızına göre kolonun musluğu ayarlanmış ve kolondaki alüminanın yüksekliğinin iki katı yürütücü faz kolondan geçirilerek yağ saflaştırılmıştır. Elüat filtre kâğıdından geçirilerek rodajlı bir erlen içerisinde toplanmıştır. Çözücü döner buharlaştırıcı (Heidolph, Laborota 4000 Efficient) kullanılarak 45 °C' da uzaklaştırılmıştır. Çözücünün tamamen uzaklaştırıldığından emin olmak için elde edilen saf yağ tartılmıştır. İki tartım arasında fark olmayıncaya kadar azot altında 45 °C sıcaklıkta çözücünün uzaklaştırılmasına devam edilmiştir. Yağdaki % serbest asitlik ve kalıntı sabun miktarları sırasıyla AOCS Official Method Ca 5a-40 ve AOCS Recommended Practice Cc 17-95' e göre belirlenmiştir (Anonymous, 2004). Kalıntı serbest asitlik ve sabun tespit edilmemiştir. Bu şekilde sıçanlara yedirilmek üzere 450-500 g saf yapılandırılmış yağ üretilmiştir. Sıçanlara yedirilen palm çekirdeği yağı da aynı yöntem uygulanarak saflaştırılmıştır.





Şekil 3.4. Yapılandırılmış yağın kolon kromatografisi ile saflaştırılması

### 3.2.7. Erime noktasının belirlenmesi

Her iki sıcaklık derecesinde 18 saat süre ile gerçekleştirilen interesterifikasyon sonucunda üretilen yapılandırılmış yağların erime noktalarının belirlenmesi AOCS Official Method Cc 1-25 kapiler tüp metoduna göre yapılmıştır (Anonymous, 2004). Yağ örnekleri eritildikten sonra erime noktası tayin tüplerine 1 cm yüksekliğe olacak şekilde çekilmiş ve uçları kapatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan örnekler buzdolabında 36 saat +4 °C' de bekletilmiştir. Su banyosunun başlangıç sıcaklığı +8 °C ve ısıtma gücü dakikada 0,5 °C artacak şekilde ayarlanmıştır. Buzdolabından alınan örnekler su banyosuna yerleştirilmiş ve örneklerin tamamen berraklaştığı sıcaklık derecesi kaydedilmiştir.



### **3.2.8. Yapılandırılmış yağın katı yağ içeriğinin belirlenmesi**

Her iki sıcaklık derecesinde 18 saat süre ile gerçekleştirilen interesterifikasyon sonucunda üretilen yapılandırılmış yağların katı yağ içeriği (SFC) düşük çözünürlükte titreşimli (20 MHz) NMR (Resonance Instrument Ltd., Whitney, UK) cihazı ile AOCS Official Method Cd 16b-93' e göre belirlenmiştir (Anonymous, 2004).

### **3.2.9. İnteresterifikasyon tepkimesinde kullanılan 1,3-spesifik lipazın enzim aktivitesinin belirlenmesi**

İnteresterifikasyon tepkimesinde kullanılan 1,3-spesifik lipazın enzim aktivitesi AOCS Official Method Ch 3-91' de açıklanan yöntemle göre yapılmıştır (Anonymous, 2004). Öncelikle 0,1 M sodyum hidroksit, sodyum kolat (200 g/L, suda) ve gam arabik çözeltileri (100 g/L, suda) hazırlanmıştır. Gam arabik çözeltilerinden 165 mL alınarak 15 g kırılmış buz ve 20 mL nötral palm çekirdeği yağı ile iyice karıştırılmıştır. Bu karışımdan bir behere 10 mL alınmış, 0,3 mL sodyum kolat çözeltisi ve 20 mL destile su ilâve edilmiştir. Beher 37 °C' deki su banyosuna konularak içine pH metre elektrodu daldırılmış ve magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Sodyum hidroksit çözeltisi ile pH 8,5' e ayarlanarak sıvı haldeki enzim örneğinden 0,1024 g (enzim % 4,34 oranında kuru madde içermektedir) ilâve edilmiş ve 1 dakika boyunca pH'ı 8,3 değerinde tutabilmek için sarf edilen sodyum hidroksit çözeltisi kaydedilmiştir. Bu şekilde 5 dk boyunca dakikada sarf edilen sodyum hidroksit çözeltisi not edilmiş ve deney üç sefer tekrarlanmıştır. Lipaz enziminin ünitesi, dakikada 10 mikroekivalen asiti, trigliserit molekülünden kopararak serbest hale gelmesini sağlayan enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Lipaz aktivitesi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Formül 3.1.).

$$A = \frac{V \times 10}{m} \quad (\text{Formül 3.1.})$$

A= lipaz enziminin aktivitesi

V= dakikada sarf edilen sodyum hidroksit miktarı, mL

M= enzim miktarı, mg

### **3.2.10. İnterestifikasyon tepkimesinde kullanılan 1,3-spesifik lipaz enziminin su aktivitesi ile kuru madde miktarının belirlenmesi**

Enzimin su aktivitesi ( $a_w$ ), “PAWKIT-Water Activity Meter” cihazı (Decagon Devices Inc. 950 NE Nelson Court Pulman, WA 99163 USA) ile ölçülmüştür. Örnek hazırlamada ve  $a_w$  değeri ölçmede cihazın kullanım kılavuzunda verilen yöntem esas alınmıştır. Buna göre cihazın numune haznesinin tabanını kaplayacak, ancak yarısından fazla da olmayacak miktarda numune (yaklaşık 5–6 g) kaba doldurulduktan sonra, kap cihaza yerleştirilerek kapatılmış ve oda sıcaklığında ölçüm yapılmıştır. Birer dakika aralıklarla yapılan 10 ölçümden elde edilen ortalama değer, su aktivitesi olarak kaydedilmiştir.

Kuru madde miktarı, etüvde 105 °C’ de sabit ağırlığa gelinceye kadar yapılan tartımlar ile belirlenmiştir. Hem su aktivitesi hem de kuru madde miktarı tayini iki paralelli yürütülmüştür.

### **3.2.11. Sıçan besleme deneyi**

Sıçanlar, standart yem tüketen kontrol grubu, palm çekirdeği yağı verilen 1. grup ve yapılandırılmış yağ verilen 2. grup olmak üzere üç kafese ayrılmış ve her kafese 7 adet sıçan konulmuştur. Sıçanlara verilen yapılandırılmış yağ 40 °C’ de, % 14 enzim kullanarak, 0,5:1 substrat mol oranında 18 saat reaksiyon süresi koşullarında üretilmiş ve daha önce açıklandığı üzere saflaştırılmıştır. Sıvı haldeki yağlar sıçanlara gavaj ile verilmiştir. Sıçanlara verilen yağların miktarı 3500 mg/Kg/gün olarak hesaplanmıştır (Matulka et al., 2006). Besleme 6 hafta süre ile yapılmıştır. Besleme deneyinin başlangıcında kafesteki sıçanların ağırlık ortalaması kontrol

grubu için 189,43 g, palm çekirdeği yağı ile beslenecek sıçanların bulunduğu birinci grup için 190,86 g ve yapılandırılmış yağ ile beslenecek sıçanların bulunduğu ikinci grup için 190,43 g olarak ölçülmüştür. Deney süresince her haftanın sonunda sıçanların ağırlıkları tartım yapılarak belirlenmiştir.

Sıçanlar, besleme süresinin sonunda bir gece aç bırakılmış ve karın boşluğundan Ketamin/Xylazin (90 mg/kg i.p./10 mg/kg i.p.) verilerek anestezi uygulanmıştır. Sıçanların göğüs kafesi açılarak aort atardamarından kanın tamamı 2 mL' lik enjektör ile alınmıştır (şekil 3.5.). Alınan kan örnekleri kan tüplerine aktarılmıştır. Tüpler döner karıştırıcıda bir süre karıştırılmış ve 4000 rpm' de 10 dk süre ile santrifüj (Megafuge 1.0, Heraeus Instruments) edilerek serumları ayrılmıştır. Örneklerin trigliserit, toplam kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol testleri Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında Olympus AU2700 cihazında yapılmıştır.



şekil 3.5. Sıçanlardan kanın alınması

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Palm Çekirdeği ve Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın Genel ve $\beta$ -Yerleşimli Yağ Asidi Bileşimi

Çalışmada kullanılan palm çekirdeği yağının (PÇY), genel ve  $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi Çizelge 4.1.' de verilmiştir. Kullanılan palm çekirdeği yağının yağ asitlerinin ortalama molekül ağırlığı bu yağın yağ asidi bileşimi verilerinden yararlanarak 224,42 g olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan palm çekirdeği yağının 1 molünün ağırlığı ise 711,344 g olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.1. Palm çekirdeği ve sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın genel ve  $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi (%)

Yağ Asidi	PÇY <sup>1</sup>	PÇY <sup>2*</sup>	YYAĞ <sup>3</sup>	PÇY $\beta$ -Yerleşim <sup>1</sup>	PÇY $\beta$ -Yerleşim <sup>2**</sup>	YYAĞ $\beta$ -Yerleşim <sup>3</sup>
6:0	0,38 ± 0,15	0,3	0,15 ± 0,02	-	-	-
8:0	3,51 ± 0,07	4,2	6,29 ± 0,03	3,80 ± 0,01	-	6,32 ± 0,05
10:0	3,28 ± 0,00	3,7	7,55 ± 0,01	3,80 ± 0,01	-	6,41 ± 0,04
12:0	46,71 ± 0,29	48,7	39,11 ± 0,03	53,05 ± 0,02	55,5	40,60 ± 0,03
14:0	15,39 ± 0,03	15,6	13,22 ± 0,03	16,29 ± 0,01	15,7	14,20 ± 0,01
16:0	8,86 ± 0,07	7,5	7,93 ± 0,01	7,57 ± 0,00	3,8	7,64 ± 0,01
18:0	2,64 ± 0,02	1,8	1,75 ± 0,02	1,90 ± 0,01	0,47	2,03 ± 0,02
18:1	15,47 ± 0,25	15,0	13,51 ± 0,01	11,77 ± 0,01	19,5	18,81 ± 0,01
18:2	3,45 ± 0,14	2,6	8,92 ± 0,03	1,83 ± 0,03	2,5	4,00 ± 0,01
18:3	0,11 ± 0,01	-	1,27 ± 0,04	-	-	-
20:0	0,12 ± 0,01	-	0,20 ± 0,01	-	-	-
20:1	0,10 ± 0,03	-	0,11 ± 0,01	-	-	-
Diğer	-	-	-	-	2,5	-

PÇY: Palm çekirdeği yağı, YYAĞ: Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağ. <sup>1</sup> Tez çalışmasında kullanılan palm çekirdeği yağına ait veri. <sup>2</sup> Literatüre dayalı veri (\*Berger, 2003; \*\*Marikkar et al., 2005). <sup>3</sup> Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağa ait veri. <sup>1,3</sup> Değerler iki analizin ortalamasıdır.

Tez çalışmasında kullanılan palm çekirdeği yağının temel yağ asidi Çizelge 4.1' de görüldüğü üzere laurik asittir ve toplam yağ asitlerinin % 46,71' ini oluşturmaktadır. Palm çekirdeği yağının doymuş yağ asidi oranı % 80,89 iken doymamış yağ asidi

oranı % 19,13' tür. Bu oran sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağ için (YYAĞ) sırası ile % 76 ve % 24' tür. Enzimatik interesterifikasyon öncesi palm çekirdeği yağının  $\beta$ -yerleşiminde % 86,41 doymuş, % 13,6 doymamış yapıda yağ asidi bulunurken, bu oran sıçanlara yedirilen YYAĞ' da sırası ile % 72,2 ve % 22,81 olarak belirlenmiştir. Enzimatik interesterifikasyon öncesi palm çekirdeği yağının serbest asitlik değeri % 0,24, sabun değeri ise 0,2 ppm olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan enzimin su aktivitesi 0,85 olarak, kuru madde miktarı % 4,34, enzim aktivitesi ise, enzimin içerdiği kuru madde içeriği esas alınarak 152 U/g olarak belirlenmiştir.

#### 4.2. Palm Çekirdeği ve Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın Trigliserit Bileşimi

Tez çalışmasında kullanılan palm çekirdeği yağının ve sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın HPLC ile belirlenen trigliserit bileşimi Çizelge 4.2.' de verilmiştir. Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağ % 27,36 oranında mono ve digliseritleri içerirken % 72,64 oranında trigliseritlerden oluşmaktadır.

Çizelge 4.2. Palm çekirdeği yağı ile sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağdaki HPLC ile belirlenen trigliserit bileşimi

ECN	Trigliserit bileşimi, (%)	
	PÇY	YYAĞ
MAG+DAG	-	27,36
28	0,80	6,07
30	0,69	3,77
32	1,02	1,57
32	5,94	4,86
34	8,73	7,03
36	22,25	11,15
38	18,09	6,64
40	1,47	0,71
40	3,68	4,38
40	7,66	4,82
40	0,91	0,45
42	3,49	2,17

Çizelge 4.2. (devam)

42	3,74	1,91
42	0,62	0,43
44	2,74	4,70
44	4,53	4,49
44	1,85	1,03
44	1,80	0,46
46	0,60	0,80
46	0,80	0,80
48	2,69	1,02
48	0,94	0,02
48	0,28	0,03
48	1,35	1,60
50	1,97	0,99
50	1,37	0,74

ECN: Eşdeğer karbon sayısı, MAG: Monogliserit, DAG: Digliserit, PÇY: Palm çekirdeği yağı, YYAĞ: Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağ.

### 4.3. Yapılandırılmış Yağın Üretiminde Reaksiyon Parametrelerinin Tepkime Üzerine Etkisi

Enzimatik interesterifikasyon tepkimesi çift cidarlı ve vakum uygulanabilir özellikte cam reaktörde gerçekleştirilmiştir. Reaktör sirküleri su banyosuna bağlanmış ve bir manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Kaprilik asit ve kaprik asit palm çekirdeği yağına 0.5:1, 0.75:1 ve 1:1 mol oranlarında (YA/PÇY) ilâve edilmiştir. İnteresterifikasyon tepkimesi 40 °C ve 50 °C olmak üzere iki sıcaklıkta yürütülmüştür. İşlem 40 °C’ da yürütülen reaksiyonda 12, 18 ve 24 saat, 50 °C’ da yürütülen reaksiyonda ise 6, 12 ve 18 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Biyokatalizör olarak kullanılacak enzimlerin oranları, substratın % 8, % 10 ve % 14 ’ü olacak şekilde belirlenmiş ve reaksiyon 250 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonların her birinde 90 g substrat kullanılmış ve belirlenen sürelerde reaksiyon ortamından örnek alınmıştır. Düşük sıcaklıkta (40 °C) yürütülen reaksiyonlarda 24 saat süre sonunda elde edilen kaprilik ve kaprik asidin gliserole bağlanma oranları 18 saat süre ile gerçekleştirilen reaksiyon sonuçlarından biraz daha yüksektir ( $P < 0,05$ ), ancak 18 saatlik reaksiyon süresinin ekonomik olarak daha avantajlı olacağı düşünülmüştür. Bu nedenle yapılandırılmış yağlardaki  $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi, trigliserit bileşimi, erime noktası tayini, katı yağ indeksi tayini

analizleri 18 saat süresindeki reaksiyon koşullarında üretilen yağlara yapılmıştır.

#### **4.3.1. Substrat mol oranı, tepkime süresi, enzim miktarı ve reaksiyon sıcaklığının yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi dağılımına etkisi**

Reaksiyonun 40 °C sıcaklıkta gerçekleştiği koşullarda kaprilik ve kaprik asidin gliserole bağlanma miktarı % 8, % 10 ve % 14 enzim oranlarında Çizelge 4.3. ve Şekil 4.1' de görüldüğü üzere reaksiyon süresi uzadıkça genel olarak artma göstermiştir ( $P < 0,05$ ). Enzim oranının % 8 olduğu koşulda substrat mol oranı arttıkça 12 saat tepkimelerinin verileri dalgalanma göstermiştir. Aynı enzim oranında 18 saat tepkimelerinin 0,5:1 ve 0,75:1 (YA/PCY) substrat mol oranındaki verileri birbirine yakın ancak 1:1 mol oranındaki değer daha düşük saptanmıştır. Ayrıca yine aynı enzim oranında 24 saat tepkimelerinin verileri substrat mol oranı arttıkça düşüş göstermiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda mol oranlarındaki değişime karşın yağ asitlerinin bağlanma miktarlarına ait veriler birbirinden farklı bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ).

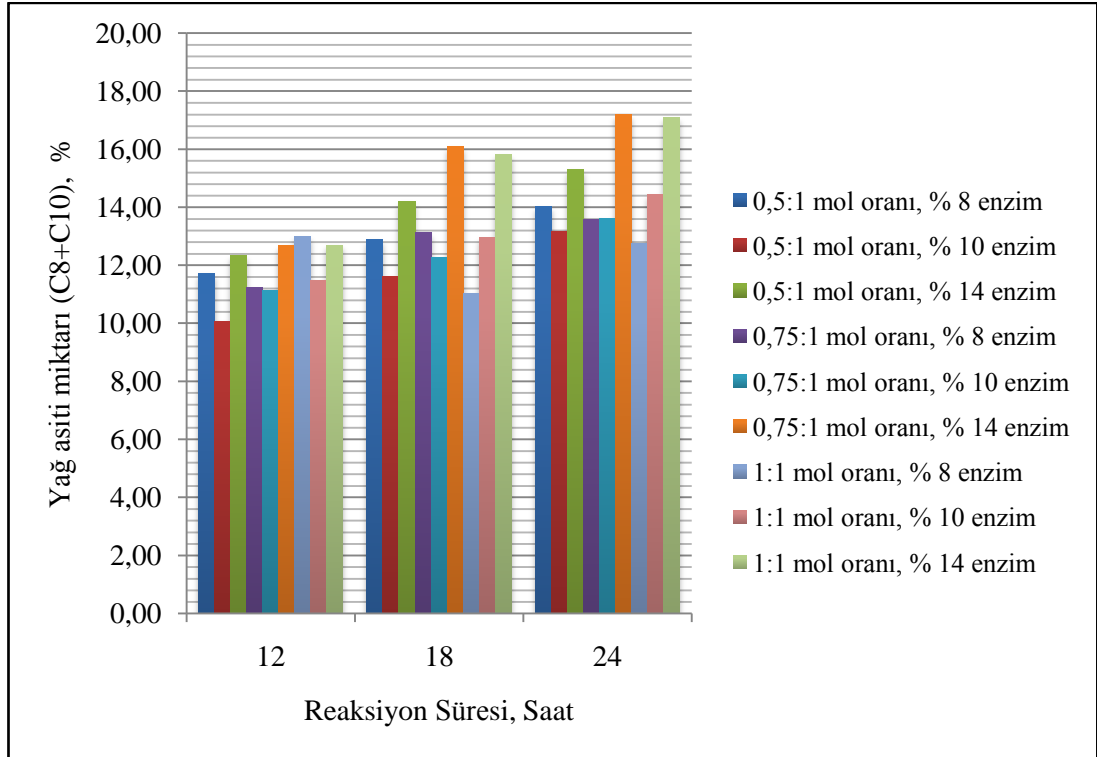
Enzim oranının % 10 ve % 14 olduğu koşulların her ikisi için mol oranı arttıkça ortama ilâve edilen yağ asitlerinin yapılandırılmış yağdaki miktarı da artmıştır. Ancak % 14 enzim oranının kullanıldığı koşulda 0,75:1 ve 1:1 (YA/PCY) mol oranları arasında, aynı sürelerde gerçekleşen reaksiyon verileri kıyaslandığında önemli bir artış olmamıştır ( $P > 0,05$ ). Reaksiyon ortamında kullanılan enzim miktarının % 8 'den % 14' e çıkarılmasıyla aynı süre ve substrat mol oranlarında gerçekleşen reaksiyon verileri kıyaslandığında ortama ilâve edilen yağ asitlerinin yapılandırılmış yağdaki miktarının arttığı saptanmıştır ( $P < 0,05$ ) (Jennings and Akoh, 2000). Ancak Çizelge 4.4' te görüldüğü üzere aynı enzim oranının kullanıldığı reaksiyonların hepsinde substrat mol oranı arttıkça kaprilik ve kaprik asidin yapılandırılmış yağa katılım gösterme oranı düşmüştür. Substrattaki yağ asitlerinin mol oranındaki artış pH' yı düşürmektedir. Bu nedenle enzimin inhibe olduğu düşünülmektedir (Kadam and Bhowmick, 2006; Lee and Akoh; 1998a).

Çizelge 4.3. Substrat mol oranının ve kullanılan enzim miktarının 40 °C’ de gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi/ Enzim miktarı	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	12	18	24	12	18	24	12	18	24
% 8 enzim									
C8	5,97 ±0,80	6,28 ±0,30	6,58 ±0,32	5,51 ±1,61	6,40 ±1,94	6,55 ±1,29	6,33 ±2,81	5,30 ±0,45	6,11 ±0,67
C10	5,74 ±0,40	6,62 ±0,50	7,45 ±0,44	5,73 ±1,54	6,71 ±1,71	7,04 ±1,05	6,66 ±3,14	5,72 ±0,51	6,64 ±0,82
% 10 enzim									
C8	4,83 ±0,18	5,47 ±0,20	6,11 ±0,41	5,30 ±0,86	5,80 ±0,76	6,39 ±0,63	5,56 ±0,47	6,11 ±0,91	6,76 ±0,85
C10	5,21 ±0,17	6,14 ±0,12	7,05 ±0,39	5,83 ±1,16	6,47 ±0,86	7,23 ±0,59	5,92 ±0,74	6,83 ±1,10	7,68 ±0,97
% 14 enzim									
C8	5,75 ±0,05	6,49 ±0,00	6,90 ±0,29	5,96 ±0,36	7,46 ±1,10	7,86 ±0,32	5,98 ±0,57	7,36 ±1,22	7,96 ±0,86
C10	6,59 ±0,20	7,69 ±0,21	8,41 ±0,49	6,73 ±0,47	8,63 ±1,22	9,34 ±0,34	6,72 ±0,73	8,44 ±1,54	9,15 ±0,77

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.





Şekil 4.1. Kaprilik ve kaprik asidin, 40 °C sıcaklıkta, çeşitli enzim miktarları ve substrat mol oranları kullanılarak farklı sürelerde gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda, gaz kromatografisi ile belirlenen miktarları

Lee ve Akoh (1998a) yaptıkları çalışmada immobilize IM60 (*Rhizomucor miehei*) lipaz enzimini kullanarak 500 g yer fıstığı ile kaprilik asidi 1:1, 1:2, 1:3 ve 1:4 substrat mol (yer fıstığı/kaprilik asit) oranlarında 72 saat interesterifiye etmiş ve trigliseritlere bağlanan kaprilik asit oranını belirlemişlerdir. Reaksiyon 1 L kapasiteli çift cidarlı bir reaktörde 50 °C sıcaklıkta, 640 rpm karıştırma hızında ve % 2 (w/w) enzim kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneyle sonuçuna göre en fazla bağlanma 1:2 (yer fıstığı/kaprilik asit) mol oranında gerçekleşmiştir.

Can ve Özçelik (2005), fındık yağını % 10 oranında Novozym 435 immobilize lipaz enzimi (*C. antarctica*) kullanarak üç bağ içeren çoklu doymamış yağ asitleri ile interesterifiye etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada düşük substrat mol oranlarında çoklu doymamış yağ asitlerinin fındık yağına katılım miktarının daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Jennings ve Akoh (1999) yaptıkları çalışmada, balık yağı ile kaprik asidi IM60 lipaz

enzimi varlığında interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyon 55 °C sıcaklıkta, 200 rpm karıştırma hızında ve % 10 (w/w) enzim kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Denemelerin sonucuna göre en fazla bağlanma çözücü içermeyen ortamda 1:6 (balık yağı/kaprik asit) mol oranında gerçekleşmiştir. Genel olarak reaksiyonda kullanılan enzim miktarı, substrat mol oranı ve reaksiyon süresindeki artışa paralel olarak bağlanan kaprik asit miktarında da artış belirlemişlerdir. Ancak substrattaki yüksek konsantrasyonda kaprik asidin enzimi inhibe edebileceği belirtilmiştir.

Çizelge 4.4. Belirtilen koşullarda, 40 °C’ de gerçekleştirilen reaksiyonlarda, C8 ve C10 yağ asitlerinin gliserit molekülüne katılım gösterme oranları

Reaksiyon koşulu; mol oranı / enzim miktarı (%)	Yağ asidi	Yağ asitlerinin bağlanma miktarı, %		
		Reaksiyon süresi (saat)		
		12	18	24
0,5:1/8	C8+C10	42,1	51,8	61,1
0,75:1/8	C8+C10	25,2	35,8	38,4
1:1 /8	C8+C10	26,3	17,9	25,2
0,5:1/10	C8+C10	27,4	40,6	53,7
0,75:1/10	C8+C10	24,4	30,8	38,4
1:1/10	C8+C10	19,8	26,0	32,3
0,5:1 / 14	C8+C10	46,7	62,2	71,5
0,75:1/14	C8+C10	33,2	52,3	58,5
1:1/14	C8+C10	24,9	38,0	43,6

Mu et al. (1998) yaptıkları çalışmada, ayçiçek yağı ile kaprilik asidi immobilize Lipozyme IM (*Rhizomucor miehei*) lipaz katalizörlüğünde, enzim yataklı sürekli bir reaktörde interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyonu 1:1, 1:2, 1:4, 1:6 ve 1:8 (ayçiçek yağı/kaprilik asit ) substrat mol oranlarında, % 0,03 su varlığında ve 60 °C sıcaklıkta gerçekleştirmişlerdir. Substratın enzim yataklı reaktörden akış hızı 1,1 mL/dk’ dır. Deneyler sonucunda elde edilen verilere göre substrattaki kaprilik asidin mol oranı arttıkça, kaprilik asidin ayçiçek yağına katılımı da artmıştır. Yüksek substrat mol oranı ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda tepkime süresinin kısa tutulması ile trigliseritlerin β-yerleşimine yağ asidi radikallerinin göçünün azaltılabileceği ayrıca

reaksiyon hızının artacağı belirtilmiştir.

Villeneuve et al. (2007), yaptıkları çalışmada trigliseritlerin 2-yerleşimi konjuge linoleik asit, 1-3 yerleşimi ise laurik asitçe zenginleştirilmiş yapılandırılmış bir yağ üretmişlerdir. Bu amaçla konjuge linoleik asit içeriği % 95' in üzerinde olan modifiye edilmiş hint yağı ile laurik asit metil esterlerini immobilize Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosa*) lipaz katalizörlüğünde (% 10, w/w) interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyon 60 °C sıcaklıkta, 300 rpm karıştırma hızında ve 1:3, 1:5, 1:10 (hint yağı/laurik asit metil esteri) substrat mol oranlarında, 8, 24, 48 ve 72 saat sürelerinde gerçekleştirilmiştir. Deneyler sonucunda elde edilen verilere göre substrattaki laurik asit metil esterinin mol oranı arttıkça, bu yağ asitinin hint yağına katılımı azalmıştır. Reaksiyon süresindeki artışa paralel olarak bağlanan laurik asit metil esteri miktarında artış belirlemişlerdir. Ancak reaksiyon süresinin uzaması ile laurik asit metil esteri radikallerinin trigliseritlerin 2-yerleşimine olan göçünün arttığını belirtmişlerdir. Deneylerin sonucuna göre reaksiyon kinetiği ve radikal göçü dikkate alınarak optimum bağlanmanın 1:3 (hint yağı/laurik asit metil esteri) mol oranında gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Xu et al. (1998a), balık yağı, orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri ve ayçiçek yağı serbest yağ asitlerini (*sn*-MLM ve *sn*-LML yapılarında trigliserit oluşturmak üzere: L-uzun zincir uzunluğundaki yağ asidi; M-orta zincir uzunluğundaki yağ asidi) Lipozyme IM lipaz enzimi varlığında 1 Kg kapasiteli bir reaktörde farklı oranlarda su katılarak (enzimle birlikte) interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyon 60 °C sıcaklıkta, 230 rpm karıştırma hızında, 6:1 (yağ asidi/balık yağı) substrat mol oranında, % 4 ve % 5 enzim miktarları kullanılarak farklı sürelerde gerçekleştirilmiştir. Katılan su ve enzim miktarındaki artışa paralel olarak hem bağlanmanın hem de yağ asidi radikallerinin trigliseritlerin 2-yerleşimine olan göçünün arttığını belirtmişlerdir.

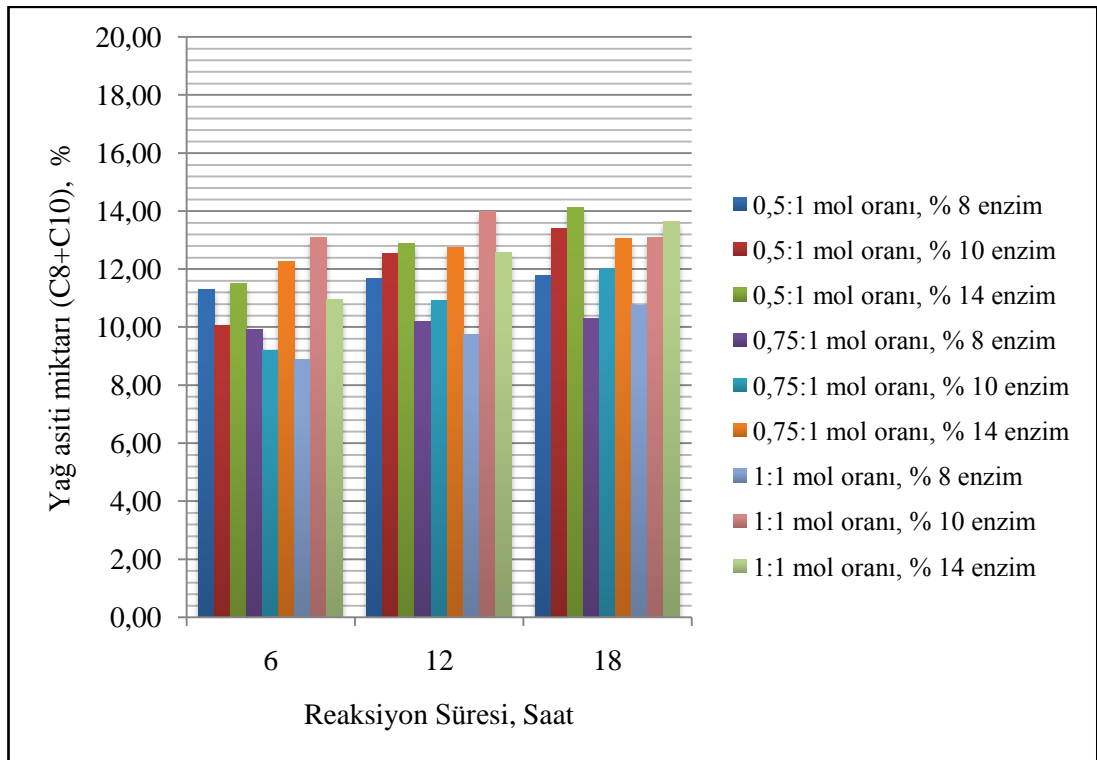
Xu et al. (2002), balık yağı ve MCT' leri (% 60 kaprilik asit, % 40 kaprik asit içeren trigliserit) immobilize Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosa*) lipaz enzimi varlığında, 1:1 substrat mol oranında (MCT trigliserit/balık yağı) farklı akış hızı ve sıcaklık uygulaması ile enzim yataklı bir reaktörde interesterifiye etmişleridir. Elde

edilen verilere göre substratın reaktörden akış hızının düşürülmesi yağ asitlerinin bağlanma miktarını önemli miktarda artırmazken ortamda daha fazla miktarda digliserit oluşumuna neden olmuştur. Tepkime sıcaklığının reaksiyon derecesi üzerine güçlü etkisinin olduğunu, reaksiyonun 55 °C’ da dengeye geldiğini belirtmişlerdir.

Zhang et al. (2000), palm stearin ve hindistan cevizi yağını (75/25, w/w) Lipozyme IM lipaz enzimi eşliğinde interesterifiye ederek, margarin olarak kullanılabilir bir yağ üretmişlerdir. Tepkime 1 Kg kapasiteli kesikli reaktörde, farklı süre, su ve enzim miktarları ile gerçekleştirilmiştir. İnteresterifikasyon derecesi üzerine enzim miktarının ve tepkime süresinin artırılması oldukça etkili olmuştur. İnteresterifikasyon derecesi, tepkimenin 60 °C sıcaklıkta, 6 saat reaksiyon süresi sonunda ve % 6 oranında enzim kullanıldığı koşullarda dengeye gelmiştir. Ortamdaki serbest yağ asidi miktarı kullanılan enzim miktarı ve sıcaklık artışı ile yükselmiştir. Susuz ortamda reaksiyon süresinin artırılması ile ortamda oluşan digliserit miktarı da bir miktar artmıştır. Reaksiyon ortamına su ilâve edilmesi, digliserit ve serbest yağ asidi miktarının artmasına neden olmuştur.

Turan et al. (2006), soya yağı ile kaprilik asidi immobilize Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosa*) lipaz enzimi varlığında çeşitli substrat mol oranı, sıcaklık, enzim oranı, reaksiyon süresi ve karıştırma hızı koşullarında interesterifiye etmişlerdir. Yapılan deneyler sonucunda 40 °C sıcaklıkta, 6 saat reaksiyon süresi sonunda, 300 rpm karıştırma hızında ve % 10 oranında enzim kullanıldığı koşullarda gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda kaprilik asit en fazla miktarda bağlanma göstermiştir. Kullanılan enzim oranında reaksiyona giren substrat mol oranı arttıkça kaprilik asit soya yağına daha düşük oranda bağlanmıştır. Optimum reaksiyon sıcaklığını 45 °C olarak belirlemişlerdir. Ayrıca kullanılan enzim miktarının artırılması ile bağlanan kaprilik asit miktarında da artış belirlemişlerdir. Kaprilik asidin soya yağına bağlanma miktarında 18 saat süren reaksiyonda keskin bir artış gözlenirken ilerleyen sürelerde bağlanmanın yavaşladığı saptanmıştır.

Reaksiyonun 50 °C sıcaklıkta gerçekleştiği koşullarda kaprilik ve kaprik asidin gliserole bağlanma miktarı % 8, % 10 ve % 14 enzim oranlarında Şekil 4.2. ve Çizelge 4.5.' te görüldüğü gibi reaksiyon süresi uzadıkça genel olarak artma göstermiştir ( $P < 0,05$ ). Enzim oranının % 8 olduğu koşulda substrat mol oranı arttıkça kaprilik ve kaprik asidin gliserole bağlanma miktarı düşüş göstermiştir ( $P < 0,05$ ). Enzim oranının % 10 ve % 14 olduğu koşulların her ikisinde de substrat mol oranı arttıkça ortama ilâve edilen yağ asitlerinin yapılandırılmış yağdaki miktarı dalgalanma göstermiştir.



Şekil 4.2. Kaprilik ve kaprik asidin, 50 °C sıcaklıkta, çeşitli enzim miktarları ve substrat mol oranları kullanılarak farklı sürelerde gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda, gaz kromatografisi ile belirlenen miktarları

Çizelge 4.5. Substrat mol oranının ve kullanılan enzim miktarının 50 °C’ de gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi/ Enzim miktarı	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	6	12	18	6	12	18	6	12	18
% 8 enzim									
C8	5,54 ±0,46	5,63 ±0,94	5,66 ±0,53	4,82 ±0,71	5,02 ±0,56	5,02 ±0,28	4,39 ±0,26	4,77 ±0,39	5,20 ±0,15
C10	5,74 ±0,13	6,06 ±1,06	6,13 ±0,74	5,09 ±0,96	5,18 ±0,54	5,28 ±0,42	4,51 ±0,28	4,98 ±0,49	5,54 ±0,26
% 10 enzim									
C8	4,90 ±0,89	5,91 ±0,92	6,36 ±0,76	4,49 ±0,01	5,26 ±0,10	5,74 ±0,31	6,32 ±2,11	6,64 ±2,05	6,10 ±0,97
C10	5,16 ±1,10	6,64 ±1,33	7,04 ±1,01	4,72 ±0,04	5,64 ±0,09	6,28 ±0,43	6,78 ±2,37	7,35 ±2,50	6,98 ±1,81
% 14 enzim									
C8	5,43 ±0,01	6,00 ±0,09	6,60 ±0,22	5,83 ±0,24	6,06 ±0,71	6,21 ±1,56	5,22 ±0,24	5,80 ±0,46	6,18 ±0,39
C10	6,07 ±0,08	6,90 ±0,20	7,52 ±0,20	6,44 ±0,41	6,69 ±0,89	6,86 ±2,08	5,74 ±0,20	6,76 ±0,01	7,48 ±0,60

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Reaksiyon ortamında kullanılan enzim miktarının % 8 ‘den % 14’ e çıkarılması ile aynı süre ve substrat mol oranlarında gerçekleşen reaksiyon verileri kıyaslandığında ortama ilâve edilen yağ asitlerinin yapılandırılmış yağdaki miktarının arttığı saptanmıştır (P < 0,05). Ancak Çizelge 4.6’ da görüldüğü gibi, aynı enzim oranının kullanıldığı reaksiyonların hemen hemen hepsinde (1:1 YA/PÇY mol oranının ve % 10 enzimin kullanıldığı 6. ve 12. saatler hariç) substrat mol oranı arttıkça kaprilik ve kaprik asidin yapılandırılmış yağa katılım gösterme oranı düşmüştür. Ortam pH’ının düşmesinden dolayı yüksek sıcaklıkla birlikte enzimin inhibe olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.6. Belirtilen koşullarda, 50 °C’ de gerçekleştirilen reaksiyonlarda, C8 ve C10 yağ asitlerinin gliserit molekülüne katılım gösterme oranları

Reaksiyon koşulu; mol oranı / enzim miktarı (%)	Yağ asidi	Yağ asitlerinin bağlanma miktarı, %		
		Reaksiyon süresi (saat)		
		6	12	18
0,5:1/8	C8+C10	38,2	41,5	42,3
0,75:1/8	C8+C10	17,6	19,3	19,8
1:1/8	C8+C10	8,9	12,5	16,7
0,5:1/10	C8+C10	27,3	48,6	55,9
0,75:1/10	C8+C10	13,6	23,2	29,5
1:1/10	C8+C10	26,7	30,5	26,5
0,5:1 / 14	C8+C10	39,2	51,4	61,9
0,75:1/14	C8+C10	30,9	33,6	35,4
1:1/14	C8+C10	17,6	24,2	28,8

Zhang et al. (2001), margarin üretimine yönelik yaptıkları bir çalışmada palm stearin ve Hindistan cevizi yağını 75:25 (w/w) oranlarında karıştırmış ve Lipozyme TL IM lipaz enzimi (*T. Lanuginosa*) varlığında interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyon 50-80 °C aralığında gerçekleştirilmiştir. Deneyler sonucunda optimum reaksiyon sıcaklığı 60 °C olarak belirlenmiştir. Yüksek sıcaklıklarda interesterifikasyon derecesinde değişiklik gözlenmemiştir. Kullanılan *T. Lanuginosa* enziminin serbest formu için optimum çalışma sıcaklığının 35-40 °C, immobilize formunun ise 55-80 °C arasında

olduğu bildirilmiştir.

Yapılan tez çalışmasında reaksiyon sıcaklığındaki 10 °C' lik artış sonucunda kaprilik ve kaprik asidin hem gaz kromatografisi ile belirlenen miktarlarında (Bkz. Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.5), hem de bu sonuçlardan yararlanarak hesaplanan yapılandırılmış yağlara katılım gösterme oranlarında (Bkz. Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.6) 18 saat süre ile gerçekleştirilen reaksiyonlar kıyaslandığında genel olarak düşme belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ). Çalışmada *T. Lanuginosa* enziminin serbest formu doğrudan reaksiyon ortamına verilerek kullanılmıştır. Bu nedenle enzimin serbest formu için optimum sıcaklık olan 40 °C' de gerçekleştirilen reaksiyonlarda ortama ilâve edilen yağ asitlerinin PÇY' ye katılım gösterme oranı 50 °C' de gerçekleştirilen tepkimelerden daha yüksek saptanmıştır. Her iki sıcaklık derecesinde gerçekleştirilen reaksiyonlarda kaprik asit, kaprilik asite göre daha yüksek miktarda katılım göstermiştir ( $P < 0,05$ ) (Karabulut et al., 2009). Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürdeki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Mu et al. (1998), ayçiçek yağı ve kaprilik asidin enzimatik interesterifikasyonunda 30 °C' deki tepkime sıcaklığında kaprilik asit % 13 oranında katılma gösterirken, 60 °C' deki reaksiyon sıcaklığında bu oran % 40 olarak belirlenmiştir. Yağ asitlerinin  $\beta$ -yerleşimine olan radikal göçünün ise % 0,3-0,6 arasında olduğunu bildirilmişlerdir. Reaksiyonun 70 °C sıcaklıkta gerçekleştiği koşulda, sadece radikal göçü artmış ve bu nedenle optimum sıcaklık 60 °C olarak saptanmıştır.

Can ve Özçelik (2005), fındık yağını % 10 oranında Novozym 435 immobilize lipaz enzimi (*C. antarctica*) kullanarak üç bağ içeren çoklu doymamış yağ asitleri ile interesterifiye etmişlerdir. Elde edilen verilerde yağ asitlerindeki en yüksek bağlanma % 21,5 oranla 47,7 °C sıcaklıkta, 1:1 substrat mol oranında, % 3 su ilâve edilen ve 36 saat süre ile gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda elde edildiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada substrat mol oranı, tepkime süresi ve ortamdaki su miktarının optimize edildiği koşullarda tepkime sıcaklığının artırılması ile yağ asitlerinin fındık yağına katılımının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.



Turan et al. (2006), soya yağı ile kaprilik asidin 35-60 °C aralığında 5 °C' lik artışlarla, 300 rpm karıştırma hızında ve % 10 oranında enzim kullanarak, 6 saat reaksiyon süresi ile gerçekleştirdikleri enzimatik interesterifikasyonda 45 °C' nin üzerinde gerçekleştirilen reaksiyonlarda kaprilik asidin trigliseritlere katılım oranlarında düşme saptamışlardır.

#### **4.3.2. Reaksiyon parametrelerinin yapılandırılmış yağlardaki $\beta$ -yerleşimli yağ asidi dağılımına etkisi**

İnteresterifikasyon tepkimelerinde radikal göçü, trigliserit molekülü içinde 1,3- yerleşimden 2- yerleşimine veya 2- yerleşiminden 1,3- yerleşimine geçiş şeklindedir. Ortamdaki 1,2(2,3)-digliseritler termodinamik olarak kararlı olmadıklarından 1,3- digliseritlere dönüşme eğilimindedir. Reaksiyon termodinamik dengeye ulaşincaya kadar radikal göçü devam etmektedir ve ortam asitliği, tepkime süresi ve tepkime sıcaklığı ile artmaktadır. Reaksiyon ortamında DAG' ların bulunması nedeniyle ortama ilâve edilen yağ asitlerinin  $\beta$ -yerleşiminde de bulunabileceği belirtilmektedir (Xu et al., 1998b; Lee et al., 2008).

Yang et al. (2005), yaptıkları çalışmada tripalmitini immobilize Lipozyme RM IM (% 10, w/w) lipaz eşliğinde kaprilik asitle (1:6 mol oranında, tripalmitin/kaprilik asit) 250 rpm karıştırma hızı ve kademeli sıcaklık (1. kademe: 65 °C' de 8 saat; 2. kademe: 40 °C' de devam eden reaksiyon) uygulayarak interesterifiye etmişlerdir. Deneyler sonucunda çözücü içermeyen ortamda kademeli ve kademersiz sıcaklık uygulamaları verileri kıyaslandığında, her iki uygulamada da kaprilik asidin katılım miktarı birbirine yakın saptanırken, kademeli sıcaklık uygulaması sonucunda kaprilik asidin trigliserit molekülündeki 2-yerleşimine olan göçünün önemli derecede düşük olduğu belirtilmiştir.

Criado et al. (2007), yaptıkları çalışmada natürel zeytinyağını Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM ve Novozym 435 lipaz enzimlerini kullanarak tam hidrojene edilmiş palm yağı ile 75 °C sıcaklıkta çeşitli substrat mol oranları ve enzim miktarları kullanarak interesterifiye etmişlerdir. Yapılan denemelerin hepsinde 1 saat

süre ile gerçekleştirilen interesterifikasyon sonucunda, kullanılan enzim miktarının % 2,5' tan % 20' ye artırılmasına paralel olarak kullanılan enzimlerin başlangıç hızı da artış göstermiştir. Ancak hidroliz sonucu oluşan istenmeyen reaksiyon ürünlerinin miktarının da arttığını bildirmişlerdir.

Torres et al. (2002), yaptıkları çalışmada mısır özü yağını tristearin ile *Thermomyces lanuginosa* lipaz enzimi varlığında, ortama moleküler nem çekici ilâve edilerek ve edilmeksizin interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyon 45 °C sıcaklıkta ve 300 rpm karıştırma hızında 8-48 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Her sekiz saatte bir reaksiyon ortamından örnek alınmıştır. Substrattaki mısır özü/tristearin oranları 9:1 ve 8:2 (w/w)' dir. Her iki substrat oranında gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucunda elde edilen yapılandırılmış yağların  $\beta$ -yerleşimindeki stearik asit miktarının, mısır özü yağının  $\beta$ -yerleşiminde yer alan stearik asit miktarından oldukça fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumun kullanılan enzimin seçiciliğinin düşük olmasından değil, yapılandırılmış yağda bulunan DAG' lara bağlanan stearik asitle ilgili olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca reaksiyon süresi kısaltıldıkça radikal göçünün daha düşük oranda gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmada, % 8 enzim oranının kullanıldığı 40 °C' deki reaksiyonlarda substrat mol oranı arttıkça kaprilik ve kaprik asidin  $\beta$ -yerleşimine olan göçü genel olarak azalma göstermiştir (Çizelge 4.7.) ( $P < 0,05$ ). Sıcaklığın 50 °C' ye çıkarılması ile yağ asitlerinin  $\beta$ -yerleşimine olan göçünde 0,5:1 ve 1:1 substrat mol oranlarında düşme saptanırken 0,75:1 mol oranındaki tepkimelerde bir miktar yükselme belirlenmiştir. Ancak sıcaklığın etkisi istatistikî olarak önemsiz ( $P > 0,05$ ) bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Substrat mol oranının % 8 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki  $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	$\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi, (%)					
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1		YA/PÇY mol oranı; 0,75:1		YA/PÇY mol oranı; 1:1	
	Reaksiyon süresi, 18 saat					
	Reaksiyon sıcaklığı, °C					
	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C
C8	5,97 $\pm$ 0,51	5,42 $\pm$ 1,16	4,70 $\pm$ 0,27	5,18 $\pm$ 1,00	4,91 $\pm$ 0,20	4,28 $\pm$ 0,05
C10	6,56 $\pm$ 0,40	5,79 $\pm$ 1,45	4,80 $\pm$ 0,25	4,95 $\pm$ 0,98	4,59 $\pm$ 0,09	4,05 $\pm$ 0,13
C12	40,32 $\pm$ 2,52	36,76 $\pm$ 8,59	34,26 $\pm$ 2,79	41,50 $\pm$ 2,20	41,38 $\pm$ 0,44	41,21 $\pm$ 2,36
C14	13,95 $\pm$ 0,19	13,04 $\pm$ 2,39	13,81 $\pm$ 1,00	14,69 $\pm$ 0,49	14,95 $\pm$ 0,22	15,24 $\pm$ 0,22
C16	7,75 $\pm$ 0,67	8,25 $\pm$ 0,07	10,25 $\pm$ 0,25	8,82 $\pm$ 0,08	8,99 $\pm$ 0,30	9,42 $\pm$ 0,65
C18	2,35 $\pm$ 0,19	2,85 $\pm$ 0,29	3,11 $\pm$ 0,05	2,64 $\pm$ 0,01	2,37 $\pm$ 0,27	2,59 $\pm$ 0,10
C18:1	18,66 $\pm$ 2,25	22,70 $\pm$ 6,38	23,55 $\pm$ 3,11	18,10 $\pm$ 0,51	18,68 $\pm$ 0,21	18,99 $\pm$ 1,63
C18:2	4,45 $\pm$ 0,51	5,18 $\pm$ 1,63	5,51 $\pm$ 0,50	4,12 $\pm$ 0,26	4,13 $\pm$ 0,03	4,21 $\pm$ 0,33

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır. PÇY' nin  $\beta$ -yerleşimindeki seçilen yağ asitleri (%) miktarı: [C8: 3,80] [C10: 3,80] [C12: 53,05] [C14: 16,29] [C18:1: 11,77] [C18:2: 1,83]' dür.

Çalışmada % 10 enzim oranının kullanıldığı reaksiyonlarda ise substrat mol oranı arttıkça kaprilik ve kaprik asidin  $\beta$ -yerleşimine olan göçü 40 °C' deki tepkimelerde artış gösterirken 50 °C' deki tepkimelerde dalgalanma göstermiştir (Çizelge 4.8.) ( $P < 0,05$ ). Sıcaklığın 50 °C' ye çıkarılması ile yağ asitlerinin  $\beta$ -yerleşimine göçü yükselmiştir (Mu et al., 1998). Ancak bu artış istatistikî olarak önemsiz ( $P > 0,05$ ) bulunmuştur.

Kullanılan enzimin % 14 oranında olduğu reaksiyonlarda da substrat mol oranı arttıkça kaprilik ve kaprik asidin  $\beta$ -yerleşimine olan göçü 40 °C' deki tepkimelerde artış gösterirken 50 °C' deki tepkimelerde dalgalanma göstermiştir (Çizelge 4.9.) ( $P < 0,05$ ). Sıcaklığın 50 °C' ye çıkarılması ile yağ asitlerinin  $\beta$ -yerleşimine olan göçünde 0,5:1 mol oranındaki reaksiyonlarda yükselme belirlenirken 0,75:1 ve 1:1 mol oranlarındaki tepkimelerde düşme belirlenmiştir. Ancak bu değişim istatistikî olarak önemsiz ( $P > 0,05$ ) bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Substrat mol oranının % 10 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki  $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	$\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi, (%)					
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1		YA/PÇY mol oranı; 0,75:1		YA/PÇY mol oranı; 1:1	
	Reaksiyon süresi, 18 saat					
	Reaksiyon sıcaklığı, °C					
	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C
C8	4,62 $\pm$ 0,99	6,12 $\pm$ 1,92	5,08 $\pm$ 0,22	5,51 $\pm$ 0,58	5,98 $\pm$ 0,51	6,21 $\pm$ 1,19
C10	5,01 $\pm$ 0,48	6,71 $\pm$ 0,77	5,36 $\pm$ 0,09	5,40 $\pm$ 0,29	5,74 $\pm$ 0,23	6,06 $\pm$ 1,79
C12	38,04 $\pm$ 0,10	38,95 $\pm$ 1,63	35,67 $\pm$ 1,64	40,66 $\pm$ 2,85	36,53 $\pm$ 2,28	38,82 $\pm$ 2,34
C14	14,04 $\pm$ 0,21	13,93 $\pm$ 0,76	13,91 $\pm$ 0,10	14,37 $\pm$ 0,14	13,65 $\pm$ 0,43	13,91 $\pm$ 1,33
C16	8,97 $\pm$ 0,42	8,11 $\pm$ 0,61	9,47 $\pm$ 0,70	8,56 $\pm$ 0,67	8,80 $\pm$ 0,20	8,34 $\pm$ 1,13
C18	2,93 $\pm$ 0,05	2,37 $\pm$ 0,13	3,01 $\pm$ 0,34	2,58 $\pm$ 0,23	2,67 $\pm$ 0,12	2,78 $\pm$ 0,14
C18:1	21,34 $\pm$ 0,63	19,32 $\pm$ 0,31	22,06 $\pm$ 0,31	18,80 $\pm$ 0,77	21,45 $\pm$ 2,08	19,20 $\pm$ 1,07
C18:2	5,04 $\pm$ 0,06	4,50 $\pm$ 0,13	5,44 $\pm$ 0,25	4,13 $\pm$ 0,46	5,17 $\pm$ 0,99	4,67 $\pm$ 0,61

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır. PÇY' nin  $\beta$ -yerleşimindeki seçilen yağ asitleri (%) miktarı: [C8: 3,80] [C10: 3,80] [C12: 53,05] [C14: 16,29] [C18:1: 11,77] [C18:2: 1,83]' dür.

Jennings ve Akoh (1999), 1,3-spesifik lipaz enzimi ile yaptığı interesterifikasyon denemelerinde kaprik asidin balık yağının  $\beta$ -yerleşimine de göçünü saptamıştır. Bu durum kullanılan enzim miktarı, reaksiyon ortamındaki suyun miktarı, reaksiyonda oluşan MAG ve DAG gibi yan ürünler, sıcaklık ve açıl donör tipiyle ilişkilendirilmiştir.

Çizelge 4.9. Substrat mol oranının % 14 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki  $\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimine etkisi

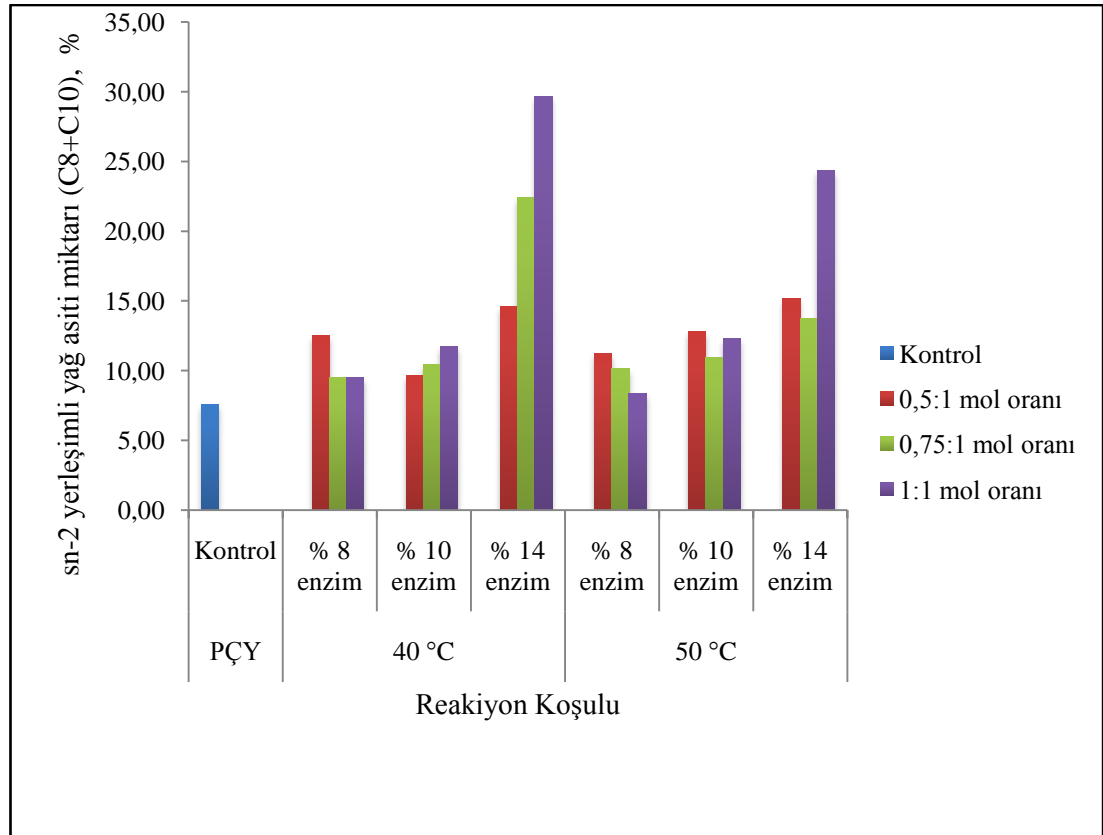
Yağ asidi	$\beta$ -yerleşimli yağ asidi bileşimi, (%)					
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1		YA/PÇY mol oranı; 0,75:1		YA/PÇY mol oranı; 1:1	
	Reaksiyon süresi, 18 saat					
	Reaksiyon sıcaklığı, °C					
	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C
C8	6,57 $\pm$ 0,39	7,43 $\pm$ 2,03	10,13 $\pm$ 3,98	6,89 $\pm$ 0,22	14,49 $\pm$ 10,58	12,55 $\pm$ 9,02

Çizelge 4.9. (devam)

C10	7,99 ±0,94	7,75 ±1,55	12,25 ±6,18	6,83 ±0,67	15,14 ±11,10	11,77 ±6,94
C12	32,74 ±4,78	37,10 ±2,61	27,70 ±8,34	37,38 ±0,12	26,07 ±10,42	37,20 ±4,22
C14	12,43 ±1,21	13,15 ±0,97	10,36 ±3,24	13,68 ±0,35	9,78 ±4,74	12,25 ±2,80
C16	8,08 ±0,16	8,04 ±0,02	7,21 ±1,66	8,52 ±0,57	8,02 ±1,69	6,47 ±2,63
C18	2,99 ±0,58	2,62 ±0,01	4,17 ±1,94	2,67 ±0,12	2,96 ±0,02	1,90 ±0,96
C18:1	23,01 ±2,47	19,54 ±0,04	22,11 ±0,36	19,58 ±0,44	18,52 ±4,25	14,52 ±4,52
C18:2	6,19 ±1,45	4,37 ±0,05	6,07 ±0,78	4,44 ±0,02	5,02 ±0,57	3,34 ±0,83

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır. PÇY' nin  $\beta$ -yerleşimindeki seçilen yağ asitleri (%) miktarı: [C8: 3,80] [C10: 3,80] [C12: 53,05] [C14: 16,29] [C18:1: 11,77] [C18:2: 1,83]' dür.

Yapılan tez çalışmasında reaksiyon ortamındaki enzim konsantrasyonu arttıkça kaprilik ve kaprik asidin  $\beta$ -yerleşimine olan göçü her iki sıcaklık derecesinde de artış göstermiştir (Şekil 4.3.) ( $P < 0,05$ ). Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürdeki çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.3. sn-2 yerleşiminde yer alan kaprilik ve kaprik asit miktarı

### 4.3.3. Reaksiyon parametrelerinin yapılandırılmış yağlardaki trigliserit moleküllerine etkisi

Yapılan bu çalışmada, hem 40 °C hem de 50 °C sıcaklıkta gerçekleştirilen reaksiyonların hepsinde enzim oranındaki artışa paralel olarak ortamda oluşan MAG ve DAG miktarlarında da genel olarak bir artış saptanmıştır (Çizelge 4.10.; Çizelge 4.11.; Çizelge 4.12.). Benzer bir sonuç Criado et al. (2007)' in yaptıkları çalışmada da gözlenmiştir. Bunun nedeninin enzimle birlikte ortama giren su miktarının, dolayısıyla tepkime sırasında gerçekleşen hidrolizin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Willis and Marangoni, 1999; Xu et al., 1999; Zainal and Yusoff, 1999; Zhang et al., 2000; Marangoni, 2002; Senanayake and Shahidi 2005a).

Vu et al. (2007), iki aşamalı bir süreçle konjuge linoleik asitçe zenginleştirilmiş MDG ve DAG' ları da içeren fonksiyonel bir yağ üretmişlerdir. İlk olarak immobilize Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*) lipaz enzimi eşliğinde mısır özü yağını konjuge linoleik asitleri yüksek miktarda içerecek şekilde modifiye etmişlerdir. Elde edilen trigliserit yapısındaki modifiye mısır özü yağı ile gliserolü 1:2 mol oranında, 60 °C sıcaklıkta, 200 rpm karıştırma uygulayarak lipaz katalizörlüğünde (% 2,5, w/w) 48 saat süre ile alkolizis tepkimesine sokmuşlardır. Sonuçta % 6,8 MDG, % 31,5 DAG ve % 61,1 TAG yapısında olan fonksiyonel bir yağ elde etmişlerdir.

Torres et al. (2002), yaptıkları çalışmada mısır özü yağını tristearin ile *Thermomyces lanuginosa* lipaz enzimi varlığında, ortama moleküler nem çekici ilâve edilerek ve edilmeksizin interesterifiye etmişlerdir. Reaksiyon 45 °C sıcaklıkta ve 300 rpm karıştırma hızında 8-48 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Her sekiz saatte bir reaksiyon ortamından örnek alınmıştır. Substrattaki mısır özü/tristearin oranları 9:1 ve 8:2 (w/w)' dir. Elde edilen verilere göre substrattaki 9:1 tristearin oranında 48 saat sürede ve nem çekici moleküllerin varlığında gerçekleştirilen reaksiyonda, aynı koşullarda fakat nem çekici moleküllerin kullanılmadığı reaksiyona göre daha düşük oranda DAG saptanmıştır. Reaksiyon ortamından alınan örneklerde MAG tespit edilmemiştir.

Çalışmada % 8 enzim oranında gerçekleştirilen reaksiyonlarda substrat mol oranı arttıkça 40 °C’ deki tepkimelerde ortamdaki MAG+DAG’ ların miktarında düşme saptanırken 50 °C’ deki tepkimelerde dalgalanma belirlenmiştir (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. Substrat mol oranının % 8 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki trigliserit bileşimine etkisi

ECN	Trigliserit bileşimi, (%)					
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1		YA/PÇY mol oranı; 0,75:1		YA/PÇY mol oranı; 1:1	
	Reaksiyon süresi, 18 saat					
	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C
MAG+DAG	17,93 ±3,51	33,95 ±38,78	16,73 ±6,83	4,22 ±2,29	14,53 ±0,19	8,81 ±6,74
28	3,21 ±0,66	6,71 ±7,65	3,87 ±1,64	0,73 ±0,52	2,50 ±0,35	1,74 ±1,67
30	2,97 ±0,60	3,67 ±2,95	2,55 ±0,14	1,43 ±0,77	1,45 ±0,23	1,31 ±0,70
32	3,16 ±0,72	1,87 ±0,06	1,84 ±1,33	2,03 ±0,72	0,79 ±0,11	0,97 ±1,19
32	8,28 ±1,76	3,96 ±3,93	7,71 ±4,07	7,16 ±0,06	5,57 ±0,28	5,98 ±2,03
34	9,20 ±1,29	5,02 ±5,12	8,92 ±3,66	9,52 ±0,26	7,20 ±0,18	8,17 ±2,16
36	13,53 ±1,38	10,09 ±9,76	16,30 ±5,60	20,62 ±2,13	15,84 ±2,09	20,32 ±4,28
38	9,81 ±0,24	7,90 ±7,94	10,67 ±1,81	12,79 ±1,12	11,30 ±0,22	13,54 ±3,03
40	0,89 ±0,21	0,53 ±0,54	0,79 ±0,11	0,97 ±0,06	0,96 ±0,04	0,71 ±0,42
40	5,64 ±1,24	3,44 ±3,00	4,21 ±0,72	5,43 ±0,01	5,00 ±0,30	4,42 ±1,41
40	7,46 ±0,91	5,02 ±5,74	6,66 ±0,12	9,24 ±0,17	8,45 ±0,22	8,82 ±1,22
40	0,53 ±0,17	0,48 ±0,27	0,60 ±0,15	0,67 ±0,04	0,64 ±0,02	0,60 ±0,10
42	2,72 ±0,89	2,32 ±1,59	2,49 ±0,72	3,40 ±0,19	3,10 ±0,15	3,36 ±0,21
42	2,73 ±0,68	2,31 ±2,16	2,72 ±0,34	3,43 ±0,22	3,49 ±0,21	3,68 ±0,04
42	0,43 ±0,22	0,50 ±0,37	0,45 ±0,31	0,52 ±0,23	0,73 ±0,01	0,65 ±0,15
44	2,35 ±0,76	2,17 ±1,29	2,25 ±0,87	2,96 ±0,10	3,03 ±0,18	2,85 ±0,53
44	3,08 ±0,94	2,91 ±2,08	2,96 ±1,17	4,08 ±0,05	3,91 ±0,22	4,45 ±0,41
44	0,83 ±0,35	1,23 ±1,23	0,75 ±0,10	1,72 ±0,20	1,71 ±0,12	1,34 ±0,22
44	0,58 ±0,49	0,41 ±0,57	2,44 ±2,67	0,99 ±0,07	1,03 ±0,15	1,06 ±0,13
46	0,36 ±0,30	0,52 ±0,22	0,56 ±0,38	0,69 ±0,02	0,65 ±0,05	0,49 ±0,25
46	0,54 ±0,28	0,55 ±0,51	0,86 ±0,37	0,95 ±0,06	0,87 ±0,02	0,74 ±0,33
48	1,17 ±0,64	0,12 ±0,08	0,95 ±0,66	1,58 ±0,07	0,86 ±1,17	1,76 ±0,30
48	0,42 ±0,22	1,33 ±0,83	0,55 ±0,19	0,66 ±0,04	1,08 ±0,59	0,36 ±0,35
48	0,34 ±0,30	0,42 ±0,40	0,76 ±0,88	0,59 ±0,77	1,04 ±0,49	0,61 ±0,81
48	0,80 ±0,43	0,63 ±0,76	0,61 ±0,55	1,30 ±0,34	1,56 ±0,25	0,46 ±0,62
50	0,57 ±0,39	1,09 ±0,58	0,17 ±0,18	1,61 ±0,77	1,54 ±0,26	1,88 ±0,36
50	0,46 ±0,26	0,85 ±0,62	0,64 ±0,77	0,70 ±0,98	1,19 ±0,54	0,93 ±0,44

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Reaksiyonların % 10 enzim oranında gerçekleştiği tepkimelerde Çizelge 4.11.' de de görüldüğü üzere 40 °C' deki koşulda substrat mol oranındaki artışa paralel olarak ortamda oluşan MAG+DAG miktarında da artış olmuştur.

Çizelge 4.11. Substrat mol oranının % 10 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki trigliserit bileşimine etkisi

ECN	Trigliserit bileşimi, (%)					
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1		YA/PÇY mol oranı; 0,75:1		YA/PÇY mol oranı; 1:1	
	Reaksiyon süresi, 18 saat					
	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C
MAG+DAG	17,25 ±2,06	16,02 ±7,96	19,27 ±4,87	9,01 ±4,30	23,34 ±7,23	7,01 ±5,10
28	2,92 ±0,09	2,29 ±1,14	4,54 ±2,18	1,32 ±0,49	4,23 ±1,62	0,87 ±1,09
30	2,52 ±1,22	3,12 ±0,87	3,17 ±0,29	2,00 ±0,46	2,66 ±0,94	2,28 ±2,18
32	1,42 ±0,57	2,91 ±1,57	1,36 ±0,44	1,84 ±0,07	0,88 ±0,01	2,90 ±1,73
32	5,29 ±1,30	6,82 ±1,83	5,11 ±0,92	6,09 ±0,24	4,87 ±0,67	8,44 ±1,95
34	7,15 ±0,93	7,70 ±1,31	6,68 ±1,28	8,57 ±0,83	6,73 ±0,65	10,10 ±1,54
36	13,18 ±0,26	12,42 ±0,11	11,91 ±1,49	18,19 ±2,36	11,23 ±2,24	16,26 ±7,30
38	10,52 ±0,11	9,75 ±0,21	9,17 ±1,42	10,89 ±0,85	9,02 ±1,29	10,89 ±2,88
40	1,04 ±0,07	1,05 ±0,18	1,01 ±0,14	1,11 ±0,03	0,92 ±0,07	0,97 ±0,14
40	5,42 ±0,52	6,65 ±1,45	4,97 ±0,83	6,21 ±0,02	4,89 ±0,58	5,91 ±1,38
40	7,49 ±1,53	7,98 ±0,73	7,07 ±1,02	8,72 ±1,46	7,37 ±1,95	8,13 ±0,94
40	0,80 ±0,25	0,64 ±0,04	0,61 ±0,16	0,61 ±0,01	0,61 ±0,09	0,60 ±0,10
42	3,23 ±0,08	3,27 ±0,38	2,51 ±0,00	3,12 ±0,01	3,03 ±0,25	3,24 ±0,13
42	3,65 ±0,24	3,09 ±0,19	3,07 ±0,33	3,36 ±0,15	3,10 ±0,34	3,43 ±0,78
42	0,81 ±0,04	0,39 ±0,01	0,33 ±0,31	0,60 ±0,06	0,73 ±0,04	0,61 ±0,28
44	2,81 ±0,10	2,72 ±0,11	4,16 ±1,28	3,06 ±0,22	2,95 ±0,22	2,75 ±0,01
44	3,73 ±0,31	3,46 ±0,18	4,28 ±0,42	4,02 ±0,29	3,40 ±0,63	3,97 ±0,43
44	1,77 ±0,08	1,55 ±0,04	1,26 ±0,30	1,61 ±0,10	1,38 ±0,17	1,57 ±0,26
44	1,00 ±0,12	0,98 ±0,05	1,16 ±0,05	1,01 ±0,04	1,09 ±0,19	0,86 ±0,20
46	0,67 ±0,11	0,51 ±0,11	0,81 ±0,02	0,70 ±0,05	0,64 ±0,19	0,49 ±0,14
46	0,99 ±0,16	0,89 ±0,16	1,03 ±0,03	0,93 ±0,12	0,90 ±0,13	0,72 ±0,03
48	1,56 ±0,12	1,55 ±0,09	0,79 ±0,97	1,65 ±0,07	1,57 ±0,06	1,50 ±0,37
48	0,74 ±0,16	0,52 ±0,27	1,23 ±0,87	0,71 ±0,05	0,64 ±0,02	0,67 ±0,31
48	0,68 ±0,89	1,40 ±0,13	0,89 ±0,59	0,03 ±0,01	1,13 ±0,05	1,05 ±0,16
48	1,38 ±0,32	1,22 ±0,11	1,03 ±0,36	1,45 ±0,60	1,65 ±0,52	3,06 ±2,40
50	1,19 ±0,14	0,97 ±0,04	1,87 ±0,21	2,12 ±0,63	0,62 ±0,84	1,38 ±0,89
50	0,79 ±0,77	0,12 ±0,10	0,70 ±0,93	1,09 ±0,03	0,45 ±0,31	0,33 ±0,11

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.



Ancak 50 °C’ deki koşulda reaksiyon ortamındaki substrat mol oranındaki artış ortamda oluşan MAG+DAG miktarında azalmaya neden olmuştur.

Çalışmada % 14 enzim oranında gerçekleştirilen reaksiyonlarda substrat mol oranı arttıkça 40 °C’ deki tepkimelerde ortamdaki MAG+DAG’ ların miktarında artma saptanırken 50 °C’ deki tepkimelerde dalgalanma belirlenmiştir (Çizelge 4.12.). Bunun nedeninin yüksek ortam pH’ sının enzim üzerine inhibe edici etkisiyle beraber standart sapma değerlerinden de görüldüğü üzere tekerrürler arasındaki farklılıktan “deneyler sırasında kullanılan cam reaktörde ortamdaki su miktarını kontrol altına alacak bir sistemin mevcut olmamasından” kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.12. Substrat mol oranının % 14 oranında enzim kullanarak üretilen yapılandırılmış yağlardaki trigliserit bileşimine etkisi

ECN	Trigliserit bileşimi, (%)					
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1		YA/PÇY mol oranı; 0,75:1		YA/PÇY mol oranı; 1:1	
	Reaksiyon süresi, 18 saat					
	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C	40 °C	50 °C
MAG+DAG	35,47 ±21,24	18,19 ±7,83	51,46 ±20,37	14,63 ±1,85	52,38 ±41,27	37,28 ±39,03
28	9,08 ±5,13	4,08 ±3,01	14,67 ±6,84	2,40 ±0,06	7,73 ±4,50	6,25 ±6,75
30	5,86 ±1,53	4,28 ±0,96	6,44 ±2,71	2,72 ±0,69	4,09 ±1,25	3,48 ±2,16
32	2,88 ±1,27	2,95 ±0,81	1,88 ±0,86	1,99 ±1,04	1,42 ±0,11	1,46 ±0,65
32	3,75 ±3,77	7,25 ±0,90	1,85 ±2,49	6,22 ±0,48	2,47 ±3,42	3,97 ±3,77
34	4,70 ±3,78	7,66 ±0,17	2,13 ±2,88	8,81 ±1,85	3,00 ±4,22	6,00 ±5,44
36	7,47 ±4,85	10,44 ±3,49	3,34 ±4,66	13,84 ±3,71	5,14 ±7,26	9,96 ±8,77
38	4,86 ±3,07	8,18 ±2,02	2,84 ±3,74	9,42 ±0,70	4,09 ±5,72	7,38 ±6,66
40	0,58 ±0,30	1,03 ±0,12	0,51 ±0,71	0,97 ±0,09	0,50 ±0,69	0,66 ±0,62
40	3,85 ±1,77	6,32 ±0,80	1,69 ±2,38	5,43 ±0,57	2,52 ±3,55	3,45 ±3,15
40	5,46 ±1,82	7,17 ±1,93	1,75 ±2,37	7,41 ±0,22	4,80 ±6,77	5,33 ±5,04
40	0,58 ±0,27	0,63 ±0,03	0,68 ±0,22	0,62 ±0,01	0,31 ±0,15	0,42 ±0,47
42	2,41 ±1,17	2,96 ±0,12	1,10 ±1,53	3,02 ±0,00	1,62 ±2,28	2,01 ±1,88
42	1,75 ±0,79	2,88 ±0,62	1,58 ±0,62	2,96 ±0,23	1,87 ±2,59	2,08 ±2,16
42	0,44 ±0,10	0,63 ±0,25	0,37 ±0,35	0,61 ±0,09	0,52 ±0,68	0,40 ±0,46
44	2,18 ±1,19	2,37 ±0,27	1,10 ±1,52	2,75 ±0,13	1,25 ±1,67	1,58 ±2,19
44	2,49 ±1,26	3,02 ±0,02	1,35 ±1,84	3,55 ±0,17	1,65 ±2,23	2,24 ±2,48
44	0,72 ±0,36	1,55 ±0,32	0,59 ±0,80	1,32 ±0,04	0,61 ±0,81	1,26 ±0,94
44	0,52 ±0,13	0,92 ±0,03	0,55 ±0,52	1,02 ±0,20	0,53 ±0,71	0,75 ±0,95

Çizelge 4.12. (devam)

46	0,32 ±0,10	0,50 ±0,06	0,37 ±0,49	0,69 ±0,21	0,34 ±0,34	0,56 ±0,02
46	0,58 ±0,36	0,75 ±0,08	0,35 ±0,47	1,13 ±0,22	0,44 ±0,50	0,92 ±0,16
48	1,40 ±0,93	1,21 ±0,80	0,67 ±0,86	0,42 ±0,43	0,71 ±0,90	0,88 ±1,20
48	0,48 ±0,27	2,36 ±1,40	0,09 ±0,02	2,22 ±0,87	0,16 ±0,16	0,41 ±0,45
48	0,02 ±0,01	1,26 ±0,32	0,08 ±0,03	1,67 ±1,52	0,05 ±0,04	0,98 ±1,16
48	0,66 ±0,13	0,69 ±0,78	1,10 ±1,22	1,15 ±0,10	0,58 ±0,77	0,08 ±0,07
50	0,82 ±0,25	0,05 ±0,03	1,07 ±0,71	1,48 ±0,15	0,82 ±1,11	0,03 ±0,01
50	0,65 ±0,04	0,69 ±0,68	0,41 ±0,46	1,56 ±0,55	0,41 ±0,56	0,19 ±0,24

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

#### 4.3.4. Reaksiyon parametrelerinin yapılandırılmış yağlardaki SFC ve erime noktasına etkisi

Yapılan bu çalışmada 18 saat süre ile gerçekleştirilen esterifikasyon sonrasında yapılandırılmış yağlardaki katı yağ miktarı ile erime noktası değerleri Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14' te verilmiştir.

Katı yağ miktarı (SFC) yağın, buzdolabı sıcaklığında sürülebilirliği, oda sıcaklığında yağ salımına gösterdiği direnç ve ürünün ağızda bıraktığı his ile ilişkilendirilmektedir. Yağdaki açilgliserollerin bileşimi, katı yağ miktarı, yağ asitlerinin zincir uzunluğu ile doymuşluk derecesi ve kristallerin yapısı yağın reolojik özelliklerini etkilemektedir. Küçük kristaller yağa daha sıkı bir yapı kazandırmaktadır (O'Brien, 2009). Yağda DAG' ların varlığı erime ve kristalizasyon davranışını büyük ölçüde etkilemekte karmaşık bir hâl almasına neden olmaktadır (Siew, 2001).

Açilgliserollerin erime noktası TAG<DAG<MAG şeklinde ve esterifikasyon derecesi ile ters orantılı olarak değişmektedir. Esterifikasyon derecesi düştükçe erime noktası yükselmektedir. Genellikle 1,3-DAG ile 1-MAG' ların erime noktası yağ asidi bileşimi aynı olan TAG' lardan yaklaşık olarak 10-20 °C daha yüksektir; 1,2-DAG ile 2-MAG' ların erime noktası ise kendi izomerlerinden yaklaşık olarak 10 °C daha düşüktür. Erime noktaları arasındaki bu farklılığın yağ asitlerinin zincir yapısından ve hidroksil grubundaki hidrojen bağının kuvvetli olmasından

kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Nakajima et al., 2004).

Çizelge 4.13' te görüldüğü üzere ortamda bulunan MAG ve DAG' ların miktarı arttıkça yapılandırılmış yağların erime noktalarında genel olarak düşüş belirlenmiştir. Ancak hem erime noktası hem de SFC değerlerinde tutarlı bir değişim görülmemiştir. Bu durumun, ortamdaki MAG ve DAG' ların miktarının yanı sıra  $\beta$ -yerleşiminde farklı miktar ve yapıda yağ asitlerinin yer almasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durum yorum yapmayı oldukça güçleştirmiştir. Aynı durum Çizelge 4.14' te verilen sonuçlarda da görülmüştür.

Çizelge 4.13. Belirtilen reaksiyon koşullarında 40 °C' de üretilen yapılandırılmış yağların SFC ve erime noktası değerleri

Reaksiyon koşulu; mol oranı / enzim miktarı (%)	Reaksiyon ortamındaki MAG+DAG miktarı, %	Katı yağ miktarı (SFC), %				Erime noktası, °C
		Sıcaklık, °C				
		0	10	21,1	33,3	
0,5:1/8	17,93	29,55	16,80	0,85	0,00	20,6
0,75:1/8	16,73	27,10	15,85	0,45	0,00	18,5
1:1/8	14,53	46,35	34,20	5,40	0,00	23,2
0,5:1/10	17,25	46,45	32,40	2,75	0,00	21,2
0,75:1/10	19,27	40,00	25,80	0,60	0,00	20,2
1:1/10	23,34	38,50	25,75	2,00	0,00	20,4
0,5:1 / 14	35,47	20,40	10,15	0,00	0,00	16,0
0,75:1/14	51,46	9,75	3,35	0,00	0,00	11,8
1:1/14	52,38	20,15	10,85	0,00	0,00	13,0

MAG: Monogliserit, DAG: Digliserit.

Saberi et al. (2011), palm yağını yine palm yağı kökenli digliserit yağ ile karıştırarak (2, 5, 10, 30 ve 50 oranlarında, % w/w) çeşitli sıcaklıklardaki kristalizasyon kinetiğini incelemişlerdir. İlk olarak palm yağının immobilize Novozym 435 lipaz enzim katalizörlüğünde gliserol ile alkolizis reaksiyonu sonucunda % 90,02 oranında DAG içeren yağ üretmişlerdir. Palm yağının doymuş yağ asidi içeriğini % 50,5, doymamış yağ asidi içeriğini ise % 49,5 olarak saptamışlardır. Bu değerler palm yağı kökenli digliserit yağı için sırası ile % 51,8 ve % 48,2 olarak saptanmıştır. Palm yağının yine palm yağı kökenli digliserit yağ ile karıştırarak yaptıkları deneyler

sonucunda % 30 ve % 50 oranlarında digliserit yağı içeren karışımların erime ve kristalizasyon başlangıç noktaları yükselmiştir. Bunun sebebi palm yağı kökenli digliserit yağının, doymuş yağ asitlerini daha yüksek doymamış yağ asitlerini ise daha düşük oranda içermesinin yanı sıra farklı yapılardaki açilgliseroller ile ilişkilendirilmiştir. Buna karşın SFC değerlerinde, 25 °C' nin altındaki sıcaklıklarda karışımdaki DAG miktarı yükseldikçe, palm yağının değerlerine göre düşme saptanırken 25 °C' nin üzerindeki sıcaklıklarda karışımdaki DAG miktarı yükseldikçe SFC değerlerinde de yükselme saptanmıştır. Yang et al. (2004)' ün tereyağı ve kanola yağı kullanarak yaptıkları benzer bir çalışmada ise karışımda bulunan MAG ve DAG oranları arttıkça tüm sıcaklıklarda SFC değerlerinde genel olarak düşme saptanmıştır. Bu durumun, DAG' ların TAG' lara göre daha büyük kristaller oluşturmasından ve kristalizasyon sırasında heterojen yapıda stabil olmayan kristallerden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Çizelge 4.14. Belirtilen reaksiyon koşullarında 50 °C' de üretilen yapılandırılmış yağların SFC ve erime noktası değerleri

Reaksiyon koşulu; mol oranı / enzim miktarı (%)	Reaksiyon ortamındaki MAG+DAG miktarı, %	Katı yağ miktarı (SFC), %				Erime noktası, °C
		Sıcaklık, °C				
		0	10	21,1	33,3	
0,5:1/8	33,95	36,45	26,2	7,35	0	17,9
0,75:1/8	4,22	68,25	57,4	23,6	0	25,4
1:1/8	8,81	62,1	51,85	19,6	0	25,1
0,5:1/10	16,02	46	33,9	4	0	21,0
0,75:1/10	9,01	50,4	37,8	6,4	0	23,3
1:1/10	7,01	37,55	25,3	3,25	0	21,4
0,5:1 / 14	18,19	35,15	21,85	0,45	0	20,3
0,75:1/14	14,63	35,85	23,15	2,9	0	20,8
1:1/14	37,28	31,5	19,4	0	0	15,6

MAG: Monogliserit, DAG: Digliserit.

Yapılan bu çalışmada PÇY' nin ve sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın katı yağ miktarı ile erime noktası değerleri Çizelge 4.15' te verilmiştir. Görüldüğü üzere interesterifikasyon reaksiyonu sonrasında hem SFC hem de erime noktası değerlerinde düşme saptanmıştır.

Çizelge 4.15. Palm çekirdeği ve sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağın SFC ve erime noktası değerleri

	Katı yağ miktarı (SFC), %				Erime noktası, °C
	Sıcaklık, °C				
	0	10	21,1	33,3	
PÇY	83,5	76,3	44,4	0	27,7
YYAĞ	25,5	11,5	0	0	17,6

PÇY: Palm çekirdeği yağı; YYAĞ: Sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağ.

Zhang et al. (2004), yaptıkları çalışmada palm stearin ve hindistan cevizi yağını 70/30 oranlarında karıştırarak immobilize Lipozyme TL IM lipaz (silikaya tutturulmuş, *Thermomyces lanuginosus*' dan elde edilmiş) katalizörlüğünde çeşitli sürelerde ve 70 °C' de interesterifiye etmişlerdir. İnteresterifikasyon sonrasında elde edilen örneklerin SFC değerlerinde 10 °C ve 20 °C' lerdeki ölçümlerde yükselme, 30, 35 ve 40 °C' lerdeki ölçümlerde ise düşme saptanmıştır. Bu durum hem trigliseritlerin sn-1,3 pozisyonuna doymuş yapıda uzun zincirli yağ asitlerinin bağlanması hem de ortamdaki uzun zincirli trigliserit moleküllerin miktarının interesterifikasyon sonrasında azalmasına karşın DAG' ların miktarının artması ile ilişkilendirilmiştir.

#### 4.4. Üretilen Yapılandırılmış Yağın Sıçanların Kilo ve Kan Değerlerine Etkisi

Altı hafta süren besleme deneyi sonucunda her üç grupta da kilo artışı olmuştur. Başlangıç ağırlıkları ile kıyaslandığında kontrol grubunda % 32,95, 1. grupta % 32,63 ve 2. grupta % 26,6 kilo artışı belirlenmiştir (Çizelge 4.16, Şekil 4.4).

Matulka et al. (2006), yağ asidi bileşimi % 9,7 kaprilik asit, % 3,3 kaprik asit, % 3,8 palmitik asit, % 1,7 stearik asit, % 51,2 oleik asit, % 18,4 linoleik asit, % 9,0 linolenik asit olan ve diğer yağ asitlerini % 2,9 oranında içeren yapılandırılmış bir yağ üretmişlerdir. Kontrol (kanola yağı) ve test yağı gruplarını her grupta 20 adet sıçan olmak üzere altı hafta süreyle, yağ tüketim miktarı 3500 mg/kg/gün olacak şekilde beslemişlerdir. Deney süresi sonunda test yağı grubunun ağırlık artışı 124 g, kontrol grubunun ise 119,9 g olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında kan

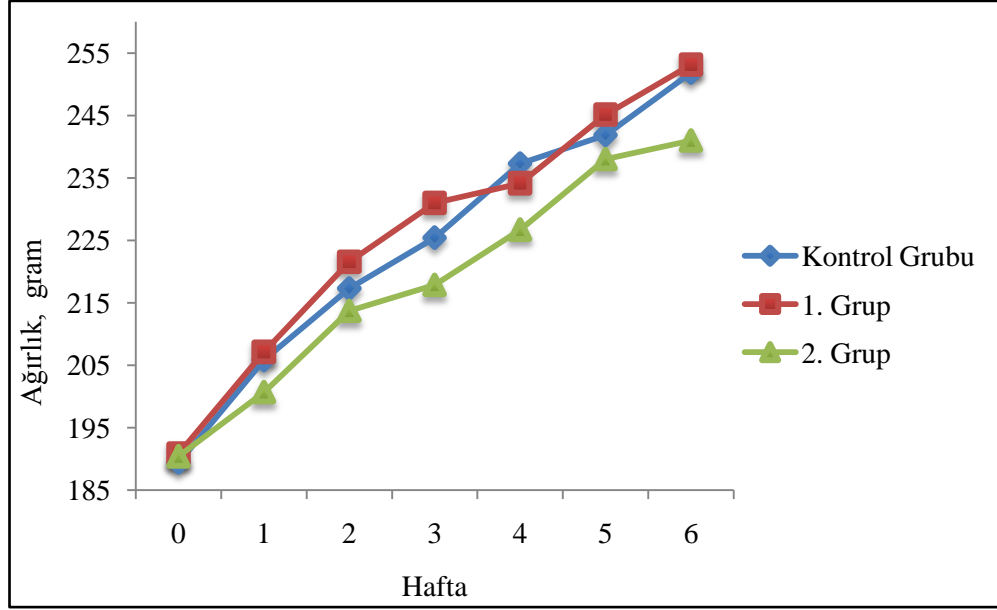
serumundaki trigliserit miktarları bakımından önemli bir fark bulunmazken, test yağı grubunun toplam kolesterol değeri kontrol grubuna kıyasla % 12,4 daha düşük bulunmuştur. Ayrıca vücuttaki yağ miktarı test yağı grubunda % 11,4 daha az saptanırken, karkastaki protein miktarı ise % 3,3 daha fazla ölçülmüştür.

Çizelge 4.16. Sıçanların haftalık ağırlık ölçüm değerleri (g)

Hafta	Kontrol Grubu	1. Grup	2. Grup
0	189,43	190,86	190,43
1	205,86	207,14	200,71
2	217,29	221,57	213,71
3	225,43	231,00	217,86
4	237,29	234,14	226,71
5	241,86	245,14	238,00
6	251,86	253,14	241,00

1. Grup: Palm çekirdeği yağı ile beslenen grup, 2. Grup: Yapılandırılmış yağ ile beslenen grup. Tablodaki veriler 7 adet sıçandan elde edilen değerlerin ortalaması alınarak verilmiştir.

Matsuo ve Takeuchi (2004), diyetle alınan MCT ve LCT' lerin sıçanlardaki vücut yağ dokusu birikimine etkilerini araştırmışlardır. Her bir grupta 24 sıçan olmak üzere MCT ve LCT grupları şeklinde sıçanları sekiz hafta boyunca test yağı içeren yemle beslemişlerdir. Sıçanların yem ve su tüketimleri serbest bırakılmıştır. Grupları kendi içinde yemlerin içerdiği yağ miktarına göre % 5, % 10, % 15 ve % 20 olmak üzere dört gruba ayırmışlardır. Deney süresi sonunda % 15 ve % 20 oranlarında yağ içeren yemle beslenen MCT gruplarının vücut ağırlığı LCT gruplarından daha düşük saptanmıştır.



Şekil 4.4. Sıçanların haftalık kilo ölçüm değerleri

Elde edilen bulgular hem Matulka et al. (2006)' in, hem de Matsuo ve Takeuchi (2004)' nin yaptığı çalışmalar sonucu elde ettikleri bulgularla benzerlik göstermektedir. Sıçanlara verilen yapılandırılmış yağ toplam % 27,36 oranında mono- ve digliseritleri içermektedir. 2. gruptaki sıçanlarda daha düşük oranda kilo artışının görülmesinin, mono- ve digliserit yağların sindiriminin daha yavaş ve depolanmalarının daha az etkin olmasından ayrıca düşük kalori değerine sahip kaprilik ve kaprik asitleri doğal palm çekirdeği yağına kıyasla yaklaşık 2,1 kat daha yüksek miktarda içermesinden dolayı olduğu düşünülmektedir (Flickinger and Matsuo 2003, Watanabe and Tokimitsu, 2004; Yanai et al., 2007). Yapılan tek yönlü anova analizi sonucunda grupların kilo ölçüm değerleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ). Gerek doğal palm çekirdeği yağı gerekse yapılandırılmış yağ ile beslenen sıçanlar yüksek dozda bu yağları tükettikleri halde yüksek oranda kilo artışı gözlenmemiştir.

Kim et al. (2006), onarlı üç grup halinde sıçanları, mısır özü yağı, ticarî digliserit yağı (test1 yağı) ve konjuge linoleik asit ve kaprik asit içeren digliserit yağı (test2 yağı) ile altı hafta süre ile beslemişlerdir. Test1 yağı % 14 trigliserit ve % 86 digliserit, test2 yağı ise % 39 trigliserit, % 31 digliserit ve % 30 monogliserit içermektedir. Test2 yağında başlıca % 9,4 kaprik asit, % 9,1 palmitik asit, % 25,6

oleik asit, % 46,6 linoleik asit ve % 7 konjuge linoleik asit bulunmaktadır. Bu yağlar % 5 (w/w) oranında yeme katılmış ve sıçanların yem-su tüketimi serbest bırakılmıştır. Test2 yağı ile beslenen grubun kan serumundaki toplam kolesterol (3,13 mmol/L) ve trigliserit değerleri (1,34 mmol/L), mısır özü yağı ile beslenen grubun değerlerinden düşük (sırası ile 3,66 mmol/L; 1,69 mmol/L) ve de istatistikî olarak farklı, test1 grubunun değerleri ise (sırası ile 3,19 mmol/L; 1,52 mmol/L) diğer iki grubun değerlerine benzer bulunmuştur. Gruplar arasındaki kilo artış değerlerinde ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Tez çalışmasında, yapılandırılmış yağ ile beslenen grubun trigliserit, toplam kolesterol ve HDL-kolesterol değerleri kontrol grubundan sırası ile % 16,81, % 2,91 ve % 4,1 daha düşük bulunmuştur. Palm çekirdeği yağı ile beslenen birinci grubun değerlerinden ise % 17,54, % 11,95 ve % 14,1 daha düşük bulunmuştur. Yapılandırılmış yağ ile beslenen grubun LDL-kolesterol değeri ise birinci gruptan % 6,82 daha düşük, kontrol grubundan % 4,7 daha fazla belirlenmiştir (Çizelge 4.17, Şekil 4.5).

Çizelge 4.17. Sıçanların altı haftalık besleme sonundaki kanda belirlenen ortalama trigliserit, toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol değerleri (mg/dL)

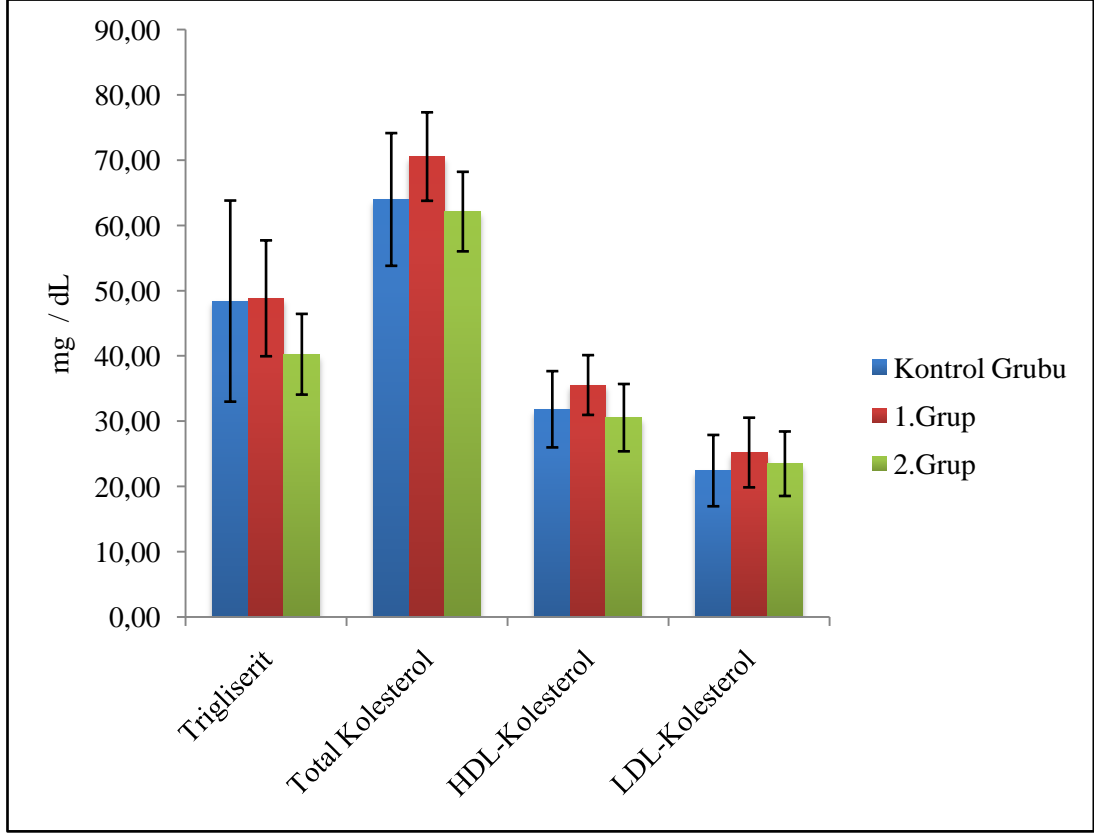
Plazma Lipit Parametreleri	Kontrol Grubu	1.Grup	2.Grup
Trigliserit	48,43	48,86	40,29
Toplam kolesterol	64,00	70,57	62,14
HDL-kolesterol	31,86	35,57	30,57
LDL-kolesterol	22,46	25,23	23,51

1. Grup: Palm çekirdeği yağı ile beslenen grup, 2. Grup: Yapılandırılmış yağ ile beslenen grup. Tablodaki veriler 7 adet sıçandan elde edilen değerlerin ortalaması alınarak verilmiştir.

Yapılan tek yönlü anova analizi sonucunda grupların trigliserit, toplam kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol ölçüm değerleri arasındaki farklılık ( $P > 0,05$  düzeyinde) önemli bulunmamıştır. Gerek doğal palm çekirdeği yağı gerekse



yapılandırılmış yağ ile beslenen sıçanlar yüksek dozda bu yağları tükettikleri halde ölçülen değerler itibari ile sağlıklarında olumsuz bir etki gözlenmemiştir.



Şekil 4.5. Sıçanların kan testleri sonucunda belirlenen ortalama değerleri

Son yıllarda yapılan çalışmalarda digliserit (DAG) yağların, kandaki açlık ve tokluk hiperlipidemi (kandaki lipit miktarının artışı) ile dokularda aşırı yağlanma oluşumuna karşı etkili olduğu belirtilmektedir (Taguchi et al., 2000; Maki et al., 2004; Kristensen et al., 2006). Uzun süre DAG yağ tüketen kişilerin kan değerleri trigliserit formunda yağ tüketenler ile karşılaştırıldığında, kan serumundaki açlık HDL-kolesterol seviyesinde yükselme belirlenirken, LDL-kolesterol, trigliserit ve toplam kolesterol seviyelerinde ise azalma görülmüştür (Yanai et al., 2007). Isıl işlem görmüş ve görmemiş digliserit yağlarının, yemeklik yağ kullanımının güvenliği üzerine yapılan hayvan ve insan deneylerinde, toksik, kanserojen ve mutajenik etkilerinin olmadığı, A, D ve E vitaminlerinin emilimini etkilemediği görülmüştür. Bu yağlar FDA tarafından güvenli (GRAS) kabul edilmektedir (Watanabe et al., 2001; Morita and Soni, 2009).

## 5. SONUÇ

Yapılan çalışmada orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zenginleştirilmiş fonksiyonel lipit üretilmiştir. Bu amaçla kaprilik ve kaprik asitler 1,3-spesifik lipaz enzimi eşliğinde çift cidarlı cam bir reaktör kullanılarak farklı koşullarda palm çekirdeği yağı ile interesterifiye edilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre 40 °C ile 50 °C' deki reaksiyonlarda yağ asitlerinin ortalama bağlanma miktarı, % 14 enzim oranının kullanıldığı koşullarda, en yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Ancak yüksek sıcaklık uygulamalarındaki bağlanma miktarları daha düşük olmuştur. Her iki sıcaklık derecesinde gerçekleştirilen reaksiyonlarda yağ asitlerinin palm çekirdeği yağına katılım gösterme oranları reaksiyon süresi uzadıkça artmış, substrat mol oranı arttıkça genel olarak düşmüştür. Yağ asitlerinin gliserit molekülünün  $\beta$ -yerleşimine olan göçü kullanılan enzim miktarı arttıkça yükselmiştir. Yüksek sıcaklık uygulamasında radikal göçü daha düşük miktarda saptanmasına karşın istatistikî olarak önemsiz bulunmuştur. Her iki sıcaklıkta gerçekleştirilen reaksiyonlar için % 8 enzim oranının kullanıldığı koşulda substrat mol oranı arttıkça radikal göçü azalırken, % 14 enzim oranının kullanıldığı koşulda genel olarak artmıştır.

Reaksiyon ortamında oluşan mono-digliserit miktarları kullanılan enzim miktarı arttıkça genel olarak artma göstermiş, sıcaklık yükseldikçe mono-digliserit miktarları genel olarak daha düşük saptanmıştır. Yapılandırılmış yağlardaki SFC ve erime noktası değerleri ise ortamdaki mono-digliserit miktarı arttıkça genel olarak düşme göstermiştir.

Sıçanlarla yapılan besleme deneyinde kullanılan yapılandırılmış yağ 40 °C' de, 0,5:1 substrat mol oranında, % 14 enzim kullanarak ve 18 saat süren reaksiyon koşullarında üretilmiştir. Elde edilen yapılandırılmış yağ % 27,36 oranında mono-digliserit içermektedir ve erime noktası 17,6 °C'dir. Palm çekirdeği yağının doymuş yağ asidi oranı % 80,89 iken doymamış yağ asidi oranı % 19,13' tür. Bu oran sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağ için sırası ile % 76 ve % 24' tür. Enzimatik

interesterifikasyon öncesi palm çekirdeği yağının  $\beta$ -yerleşiminde % 86,41 doymuş, % 13,6 doymamış yapıda yağ asidi bulunurken, bu oran sıçanlara yedirilen yapılandırılmış yağda sırası ile % 72,2 ve % 22,81 olarak belirlenmiştir. Besleme deneyleri sonunda yapılandırılmış yağ ile beslenen sıçanlar yüksek dozda bu yağları tükettikleri halde kilo artışı ile kanda ölçülen trigliserit, toplam kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerlerinde, kontrol ve PÇY ile beslenen grupların değerleri ile kıyaslandığında, olumsuz bir etki gözlenmemiştir. Ancak tüm gruplar arasında istatistikî bir farklılık da bulunmamıştır. Deney süresinin daha uzun sürmesi durumunda bu farklılığın görülebileceği düşünülmektedir.

Enzimatik interesterifikasyon yöntemi ABD, Japonya, Hollanda gibi gelişmiş ülkelerde; kakao ve anne sütü yağı ikâmelerinin, düşük kalorili diğliseritleri de içeren yağların, linoleik asit, DHA, EPA gibi fonksiyonel yağ asitlerince zenginleştirilmiş bitkisel yağların, trans yağ içermeyen margarinlerin ve orta zincir uzunluğundaki yağ asitlerince zenginleştirilmiş, kalorisi düşük, fakat hızlı metabolize olabilen yağların üretiminde sanayi ölçekli olarak uygulanabilmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşam koşullarının her geçen gün iyileşmesi ve dolayısı ile obezitenin arttığı günümüz dünyasında fonksiyonel yağların diyetle yerini alması yatsınamaz bir gerçek olmuştur. Ayrıca artan kalp ve damar hastalıkları, aşırı kilo, pankreatik yetersizlik, epilepsi gibi sağlık sorunlarını yaşayan hastalar için de yapılandırılmış yağlar alışılan damak tadını ve ürün özelliklerini vermede bir çözüm olarak görülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Adhikari, P., Shin, J.A., Lee, J.H., Hu, J.N., Zhu, X.M., Akoh, C.C., Lee, K.T., 2010. Production of *trans*-free margarine stock by enzymatic interesterification of rice bran oil, palm stearin and coconut oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 703-711.
- Akoh, C.C., 2002a. Lipid-Based Synthetic Fat Substitutes. In: *Food Lipids: Chemistry Nutrition and Biotechnology*.(Akoh, C.C., Min, D.B.,-eds.), pp. 695-727, Marcel Dekker Inc., New York.
- Akoh, C.C., 2002b. Structured Lipids. In: *Food Lipids: Chemistry Nutrition and Biotechnology*.(Akoh, C.C., Min, D.B.,-eds.), pp. 877-908, Marcel Dekker Inc., New York.
- Akoh, C.C., Xu, X.,2002. Enzymatic Production of Betapol and Other Specialty Fats. In: *Lipid Biotechnology*. (Kuo, T.M., Gardner, H.W., -eds.). pp. 461-478, Marcel Dekker Inc., New York.
- Anonymous, 1987. IUPAC: Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives. 7th Edn. Blackwell Scientific, Oxford (UK).
- Anonymous, 2003. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Technical Report Series. WHO Technical Report Series, No: 916.
- Anonymous, 2004. AOCS: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 5th Edition, 2nd Printing. AOCS Press, Champaign, IL (USA).
- Anonymous, 2010. American Heart Association.  
[http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/FatsAndOils/Fats101/Fats-and-Oils-AHA-Recommendation\\_UCM\\_316375\\_Article.jsp](http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/FatsAndOils/Fats101/Fats-and-Oils-AHA-Recommendation_UCM_316375_Article.jsp) Erişim Tarihi: 11.10.2010.
- Berger, K.G., 2003. Palm Kernel Oil. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. (Caballero B. , Trugo, L. and Finglas P.M., -eds.). pp. 4322-4324, Elsevier Science Ltd. Academic Press.
- Carvajal, O., Sakono M., Sonoki, H., Nakayama, M., Kishi, T., Sato, M., Ikeda, I., Sugano, M., Imaizumi, K., 2000. Structured triacylglycerol containing medium-chain fatty acids in sn-1(3) facilitates the absorption of dietary long-chain fatty acids in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64 (4), 793-798.
- Can, A., Özçelik, B., 2005. Enrichment of Hazelnut Oil with Long-Chain n-3 PUFA by Lipase-Catalyzed Acidolysis: Optimization by Response Surface Methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82, 27-32.

- Chandalia, S.H., Modi, S.V., 1999. Fat Replacers and Fat Blockers. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 19, 139-143.
- Chen, C.W., Chong, C.L., Ghazali, H.M., Lai, O.M., 2007. Interpretation of triacylglycerol profiles of palm oil, palm kernel oil and their binary blends. *Food Chemistry*, 100,178-191.
- Criado, M., Hernández-Martín, E., López-Hernández, A., Otero, C., 2007. Enzymatic Interesterification of Extra Virgin Olive Oil with a Fully Hydrogenated Fat: Characterization of the Reaction and Its Products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 717-726.
- Criado, M., Hernández-Martín, E., López-Hernández, A., Otero, C., 2008. Enzymatic interesterification of olive oil with fully hydrogenated palm oil: Characterization of fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 714-724.
- De Greyt, W., 2004. Chemical vs Enzymatic Interesterification IUPAC-AOCS Workshop on Fats, Oils & Oilseed Analyses & Production. December 6-8, Tunis, Tunesin.  
<http://www.aocs.org/archives/analysis/pdfs/degreyt-interesterification-modifieddgw.pdf> Erişim Tarihi: 11.04.2010.
- Dehesh, K., 2001. How Can We Genetically Engineer Oilseed Crops to Produce High Levels of Medium-Chain Fatty Acids?. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103, 688-697.
- Dijkstra, A.J., 2009. Recent developments in edible oil processing. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 857-864.
- Flickinger, B.D., Matsuo, N., 2003. Nutritional characteristics of DAG oil. *Lipids*, 38, 129-132.
- García-Falcón, M.S., Duarte-Sánchez, J.V., Ceballos-García, M.D., Pérez-Lamela, C., 2002. Non-Dietary Low-Calorie Foods: Nature and Spanish Legislation with a Survey of Claims for Foods Solid in Galicia (N.W. Spain). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 1 (2), 107-125.
- German, J.B., Dillard, C.J., 2004. Saturated fats: what dietary intake? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80 (3), 550-559.
- Gümüşkesen, A.S., Yemişçioğlu, F., 2004. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Asya Tıp Yayıncılık Ltd. Şti., 224s. İzmir.
- Gunstone, F.D., 2005. Vegetable Oils. In: *Bailey's Industrial Oil And Fat Products, Sixth Edition, Volume 1, Edible Oil and Fat Products: Specialty Oils and Oil Products.* (Edited by Fereidoon Shahidi), pp. 1, 213-267, A John Wiley & Sons Inc., New Jersey.

- Hamam, F., Shahidi, F., 2005. Enzymatic incorporation of capric acid into a single cell oil rich in docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid and oxidative stability of the resultant structured lipid. *Food Chemistry*, 91, 583-591.
- Hamam, F., Shahidi, F., 2006. Synthesis of structured lipids containing medium-chain and omega-3 fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4390-4396.
- Haryati, T., Che Man, Y.B., Ghazali, H.M., Asbi, B.A., Buana, L., 1998. Determination of Iodine Value of Palm Oil Based on Triglyceride Composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 789-792.
- Hayes, D.G., 2004. Enzyme-Catalyzed Modification of Oilseed Materials to Produce Eco-Friendly Products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, 1077-1103.
- Hernandez, A. L., Otero, C., Martín, E. H., Garcia, H.S., Hill Jr., C.G., 2007. Interesterification in batch and continuous flow processes of sesame oil and fully hydrogenated fat catalyzed by immobilized lipase. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 1147-1159.
- Herslöf, B.G., 1981. HPLC of triglycerides using UV detection. *Journal of High Resolution Chromatography*, 4, 471-473.
- Holčapek, M., Lísa, M., Jandera, P., Kabátová, N., 2005. Quantitation of triacylglycerols in plant oils using HPLC with APCI-MS, evaporative light-scattering, and UV detection. *Journal of Separation Science*, 28, 1315-1333.
- Holm, H.C., Cowan, D., 2008. The evolution of enzymatic interesterification in the oils and fats industry. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 679-691.
- Hou, C.T., 2002. Industrial Uses of Lipase. In: *Lipid Biotechnology*. (Kuo, T.M., Gardner, H.W., -eds.). pp. 387-397, Marcel Dekker Inc., New York.
- Hunter, B.T., 1998. Salatrim: A Reduced-Calorie Fat. *Consumers' Research Magazine*, Vol. 81, Issue 12, 2-8.
- Husum, T.L., Pederson, L.S., Nielson, P.M., Christensen, M.W., Kristensen, D., Holm, H.C., 2004. Enzymatic Interesterification: Process Advantages and Product Benefits, *Palm Oil Developments*, 39, 7-10.
- Jennings, B.H., Akoh, C.C., 1999. Enzymatic modification of triacylglycerols of high eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids content to produce structured lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 1133-1137.
- Jennings, B.H., Akoh, C.C., 2000. Lipase-catalyzed modification of sesame oil to incorporate capric acid. *Journal of Food Lipids*, 7 (2), 1-30.

- Jensen, R.G., Marks, T.A., Sampucna, J., Quinn, J.G., Carpenter, D.L., 1966. Purification of Triglycerides with an Alumina Column<sup>1</sup>. *Lipids*, 1, 451-452.
- Kadam, M., Bhowmick, D.N., 2006. Lipase-catalyzed modification of black currant oil. *Journal of Food Lipids*, 13, 167-176.
- Karabulut, I., Durmaz, G., Hayaloglu, A.A., 2009. Fatty Acid Selectivity of Lipases during Acidolysis Reaction between Triolein and Saturated Fatty Acids Varying from Caproic to Behenic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 7584-7590.
- Kawashima, A., Shimada, Y., Yamamoto, M., Sugihara, A., Nagao, T., Komemushi, S., Tominaga, Y., 2001. Enzymatic synthesis of high-purity structured lipids with caprylic acid at 1,3-positions and polyunsaturated fatty acid at 2-position. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78 (6), 611-616.
- Kayahan, M., 2002. *Modifiye Yağlar ve Üretim Teknolojileri*, ODTÜ Yayıncılık, 263s. Ankara.
- Kayahan, M., 2003. *Yağ Kimyası*, ODTÜ Yayıncılık, 220s. Ankara.
- Kim, I.H., Kim, H., K.T., Lee, Chung, S.H., Ko, S.N., 2002. Lipase-Catalyzed Acidolysis of Perilla Oil with Caprylic Acid to Produce Structured Lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 363-367.
- Kim, B.H., Shewfelt, R.L., Lee, H., Akoh, C.C., 2005. Sensory Evaluation of Butterfat-Vegetable Oil Blend Spread Prepared with Structured Lipid Containing Canola Oil and Caprylic Acid. *Journal of Food Science*, 70 (7), 406-412.
- Kim, H.J., Lee, K.T., Lee, M.K., Jeon, S.M., Choi, M.S., 2006. Diacylglycerol-enriched structured lipids containing CLA and capric acid alter body fat mass and lipid metabolism in rats. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 50 (3), 219-228.
- Kristensen, J.B., Jørgensen, H., Mu, H., 2006. Diacylglycerol oil does not affect portal vein transport of nonesterified fatty acids but decreases the postprandial plasma lipid response in catheterized pigs<sup>1</sup>. *Journal of Nutrition* 136 (7), 1800-1805.
- Kritchevsky, D., 2002. Fats and Oils in Human Health. In: *Food Lipids: Chemistry Nutrition and Biotechnology*. (Akoh, C.C., Min, D.B.,-eds.), pp. 543-558, Marcel Dekker Inc., New York.
- Lafuente, R.F., 2010. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62, 197-212.

- Lee, K.T., Akoh, C.C., 1998a. Solvent-free enzymatic synthesis of structured lipids from peanut oil and caprylic acid in a stirred tank batch reactor. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 1533-1537.
- Lee, K.T., Akoh, C.C., 1998b. Characterization of enzymatically synthesized structured lipids containing eicosapentaenoic, docosahexaenoic, and caprylic acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 495-499.
- Lee, J.H., Akoh, C.C., Lee, K.T., 2008. Physical Properties of trans-Free Bakery Shortening Produced by Lipase-Catalyzed Interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 1-11.
- Maki, K.C., Davidson, M.H., Tsushima, R., Matsuo, N., Tokimitsu, I., Umporowicz, D.M., Dicklin, M.R., Foster, G.S., Ingram, K.A., Anderson, B.D., Frost, S.D., Bell, M., 2002. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil<sup>1-3</sup>. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76 (6), 1230-1236.
- Maki, K.C., Matsuo, N., Dicklin, M.R., 2004. Clinical studies evaluating the benefits of diacylglycerol for managing excess adiposity. In: *Diacylglycerol Oil*. (Katsuragi, Y., Yasukawa, T., Matsuo, N., Flickinger, B., Tokimitsu, I. and Matlock, M., -eds). pp. 96-108, AOCS Press, Champaign IL.
- Makrae, A.R., 1983. Lipase-Catalyzed Interesterification of Oils and Fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60 (2), 291-294.
- Marangoni, A.G., 2002. Lipases: Structure, Function, and Properties. In: *Lipid Biotechnology*. (Kuo, T.M., Gardner, H.W., -eds.). pp. 357-386, Marcel Dekker Inc., New York.
- Marikkar, J.M.N., Ghazali, H.M., Che Man, Y.B., Peiris, T.S.G., Lai, O.M., 2005. Use of gas liquid chromatography in combination with pancreatic lipolysis and multivariate data analysis techniques for identification of lard contamination in some vegetable oils. *Food Chemistry*, 90, 23-30.
- Marten, B., Pfeuffer, M., Schrezenmeir, J., 2006. Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16, 1374-1382.
- Matsuo, T., Matsuo, M., Kasai, M., Takeuchi, H., 2001. A liquid diet supplement containing structured medium- and long-chain triacylglycerols dose not increase body fat accumulation in healthy young women\*. *Technical Bulletin of Faculty of Agriculture, Kagawa University*, 53, 35-41.
- Matsuo, T., Takeuchi, H., 2004. Effects of structured medium- and long-chain triacylglycerols in diets with various levels of fat on body fat accumulation in rats. *British Journal of Nutrition*, 91, 219-225.



- Matulka, R.A., Noguchi, O., Nosaka, N., 2006. Safety evaluation of a medium- and long-chain triacylglycerol oil produced from medium-chain triacylglycerols and edible vegetable oil. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1530-1538.
- Morita, O., Soni, M.G., 2009. Safety assessment of diacylglycerol oil as an edible oil: A review of the published literature. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 9-21.
- Mu, H., Xu, X., Høy, C.E., 1998. Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed interesterification in a laboratory-scale continuous reactor. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 1187-1193.
- Mu, H., Høy, C.E., 2000. Effects of different medium-chain fatty acids on intestinal absorption of structured triacylglycerols. *Lipids*, 35, 83-89.
- Mu, H., Porsgaard, T., 2005. The metabolism of structured triacylglycerols. *Progress in Lipid Research*, 44, 430-448.
- Nagao, T., Watanabe, H., Goto, N., Onizawa, K., Taguchi, H., Matsuo, N., Yasukawa, T., Tsushima, R., Shimasaki, H., Itakura, H., 2000. Dietary diacylglycerol suppresses accumulation of body fat compared to triacylglycerol in men in a double-blind controlled trial. *Journal of Nutrition*, 130 (4), 792-797.
- Nakajima, Y., Fukasawa, J., Shimada, A. 2004. Physico chemical Properties of Diacylglycerol. In: *Diacylglycerol Oil*. (Katsuragi, Y., Yasukawa, T., Matsuo, N., Flickinger, B., Tokimitsu, I. and Matlock, M., -eds). pp. 182-196, AOCS Press, Champaign IL.
- O'Brien, R.D., 2009. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, Third Edition, CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, 744p. FL.
- Osório, N.M., da Fonseca, M.M.R. and Ferreira-Dias, S., 2006. Operational stability of *Thermomyces lanuginosa* lipase during interesterification of fat in continuous packed-bed reactors. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 545-553.
- Ramamurthi, S., McCurdy, A.R., 1995. Interesterification-Current Status and Future Prospects. In: *Development and Processing of Vegetable Oils for Human Nutrition*. (Roman Przybylski and Bruce E. McDonald, -eds.). Chapter 6, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Reena M.B., Lokesh B.R., 2007. Hypolipidemic effect of oils with balanced amounts of fatty acids obtained by blending and interesterification of coconut oil with rice bran oil or sesame oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10461-10469.

- Saberi, A.H., Lai, O.M., Toro-Vázquez, J.F., 2011. Crystallization kinetics of palm oil in blends with palm-based diacylglycerol, *Food Research International*, 44 (1), 425-435.
- Sandrou, D.K., Arvanitoyannis, I.S., 2000. Low-Fat/Calorie Foods: Current State and Perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40 (5), 427-447.
- Sun, C.Q., O'Connor, C.J., Roberton, A.M., 2003. Antibacterial action of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 36, 9-17.
- Senanayake, S. P. J. N., Shahidi, F., 2005a. Modification of Fats and Oils via Chemical and Enzymatic Methods. In: *Bailey's Industrial Oil And Fat Products, Sixth Edition, Volume 3, Edible Oil and Fat Products: Specialty Oils and Oil Products*. (Edited by Fereidoon Shahidi), pp. 3, 555-584, A John Wiley & Sons Inc., New Jersey.
- Senanayake, S. P. J. N., Shahidi, F., 2005b. Dietary Fat Substitutes. In: *Bailey's Industrial Oil And Fat Products, Sixth Edition, Volume 3, Edible Oil and Fat Products: Specialty Oils and Oil Products*. (Edited by Fereidoon Shahidi), pp. 3, 503-534, A John Wiley & Sons Inc., New Jersey.
- Siew, W.L., 2001. Understanding the Interactions of Diacylglycerols with Oils for Better Product Performance. *Palm Oil Developments*, 36, 6-12.
- Stein, J., 1999. Chemically defined structured lipids: current status and future directions in gastrointestinal diseases. *International Journal of Colorectal Disease*, 14, 79-85.
- Şahin, N., Akoh, C.C., Karaali, A., 2005. Enzymatic production of human milk fat substitutes containing gamma linolenic acid Optimization of reactions by response surface methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82 (8), 549-557.
- Taguchi, H., Watanabe, H., Onizawa, K., Nagao, T., Gotoh, N., Yasukawa, T., Tsushima, R., Shimasaki, H., Itakura, H., 2000. Double-blind controlled study on the effects of dietary diacylglycerol on postprandial serum and chylomicron triacylglycerol responses in healthy humans. *Journal of the American College of Nutrition*, 19 (6), 789-796.
- Tan, C.P., Che Man, Y.B., 2000. Differential Scanning Calorimetric Analysis of Edible Oils: Comparison of Thermal Properties and Chemical Composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, 143-155.

- Tholstrup, T., Ehnholm, C., Jauhiainen, M., Petersen, M., Høy, C.E., Lund, P., Sandström, B., 2004. Effects of medium-chain fatty acids and oleic acid on blood lipids, lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities<sup>1-3</sup>. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79 (4), 564 -569.
- Torres, C.F., Munir, F., Blanco, R.M., Otero, C., C.G. Hill Jr. 2002. Catalytic Transesterification of Corn Oil and Tristearin Using Immobilized Lipases from *Thermomyces lanuginosa*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 775-781.
- Tsuji, H., Takeuchi, H., Nakamura, M., Okazaki, M., Kondo, K., 2001. Dietary medium-chain triacylglycerols suppress accumulation of body fat in a double-blind, controlled trial in healthy men and women. *The Journal of Nutrition*, 131 (11), 2853-2859.
- Turan, S., Karabulut, I., Vural, H., 2006. Effects of reaction parameters on the incorporation of caprylic acid into soybean oil for production of structured lipids. *Journal of Food Lipids*, 13, 306-317.
- Uribe, A.R., Hernandez, E., 2004. Solvent-free enzymatic synthesis of structured lipids containing CLA from coconut oil and tricaprylin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81 (7), 685-689.
- Vamecq, J., Vallée, L., Lesage, F., Gressens, P., Stables, J. P., 2005. Antiepileptic popular ketogenic diet: emerging twists in an ancient story. *Progress in Neurobiology* 75, 1-28.
- Villeneuve, P., Barouh, N., Bare'a, B., Piombo, G., Figueroa-Espinoza, M.C., Turon, F., Pina, M., Lago, R. 2007. Chemoenzymatic synthesis of structured triacylglycerols with conjugated linoleic acids (CLA) in central position. *Food Chemistry* 100, 1443-1452.
- Vu, P.L., Park, R.K., Lee, Y.J., Kim, Y.M., Nam, H.Y., Lee, J.H., Akoh, C.C., Lee, K.T., 2007. Two-Step Production of Oil Enriched in Conjugated Linoleic Acids and Diacylglycerol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84: 123-128.
- Watanabe, H., Onizawa, K., Naito, S., Taguchi, H., Goto, N., Nagao, T., Matsuo, N., Tokimitsu, I., Yasukawa, T., Tsushima, R., Shimasaki, H., Itakura, H., 2001. Fat-soluble vitamin status is not affected by diacylglycerol consumption. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 45, 259-264.
- Watanabe, H., Tokimitsu, I., 2004. Digestion and Absorption of Diacylglycerol. In: *Diacylglycerol Oil*. (Katsuragi, Y., Yasukawa, T., Matsuo, N., Flickinger, B., Tokimitsu, I. and Matlock, M., -eds). pp. 30-45, AOCS Press, Champaign IL.

- Willis, W.M., Marangoni, A.G., 1999. Assessment of Lipase- and Chemically Catalyzed Lipid Modification Strategies for the Production of Structured Lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 443-450.
- Willis, W.M., Marangoni, A.G., 2002. Enzymatic Interesterification. In: *Food Lipids: Chemistry Nutrition and Biotechnology*.(Akoh, C.C., Min, D.B.,-eds.), pp. 837-875, Marcel Dekker Inc., New York.
- Wong, W.C., Basri, M., Razak, C.N.A., Salleh, A.B., 2000. Synthesis of medium-chain glycerides using lipase from *Candida rugosa*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77 (1), 85-88.
- Xu, X., Balchen, S., Høy, C.E., Adler-Nissen, J., 1998a. Pilot Batch Production of Specific-Structured Lipids by Lipase-Catalyzed Interesterification: Preliminary Study on Incorporation and Acyl Migration. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 301-308.
- Xu, X., Skands, A.R.H., Høy, C.E., Mu, H., Balchen, S., Adler-Nissen, J., 1998b. Production of specific structured lipids by enzymatic interesterification: Elucidation of acyl migration by response surface design. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 1179-1186.
- Xu, X., Mu, H., Skands, A.R.H., Høy, C.E., Adler-Nissen, J., 1999. Parameters Affecting Diacylglycerol Formation During the Production of Specific-Structured Lipids by Lipase-Catalyzed Interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 175-181.
- Xu, X., Porsgaard, T., Zhang, H., Nissen, J.A.N., Høy, C.E., 2002. Production of Structured Lipids in a packed-bed reactor with *thermomyces lanuginosa* lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (6), 561-565.
- Yanai, H., Tomono, Y., Ito, K., Furutani, N., Yoshida, H., Tada, N., 2007. Diacylglycerol oil for the metabolic syndrome. *Nutrition Journal*, 6, 43.
- Yang, T.H., Jang, Y., Han, J.J., Rhee, J.S., 2001. Enzymatic Synthesis of Low-Calori Structured Lipids in a Solvent-Free System. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78 (3), 291-296.
- Yang, T., Xu, X., Che, C., Li, L., 2003a. Lipase-catalyzed modification of lard to produce human milk substitutes. *Food Chemistry*, 80, 473-481.
- Yang, T., Fruekilde, M.B., Xu, X., 2003b. Applications of Immobilized *Thermomyces lanuginosa* Lipase in Interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 881-887.

- Yang, T., Zhang, H., Mu, H., Sinclair, A.J., Xu, X., 2004. Diacylglycerols from Butterfat: Production by Glycerolysis and Short-Path Distillation and Analysis of Physical Properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, 979-987.
- Yang, T., Fruekilde, M.B., Xu, X., 2005. Suppression of acyl migration in enzymatic production of structured lipids through temperature programming. *Food Chemistry*, 92, 101-107.
- Zainal, Z., Yusoff, M.S.A., 1999. Enzymatic interesterification of palm stearin and palm kernel olein. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76, 1003-1008.
- Zhang, H., Xu, X., Mu, H., Nilsson, J., Adler-Nissen, J., Høy, C.E., 2000. Lipozyme IM-catalyzed interesterification for the production of margarine fats in a 1 kg scale stirred tank reactor. *Starch - Stärke*, 52, 221-228.
- Zhang, H., Xu, X., Nilsson, J., Mu, H., Adler-Nissen, J., Høy, C.E., 2001. Production of margarine fats by enzymatic interesterification with silica-granulated *Thermomyces lanuginosa* lipase in a large-scale study. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78, 57-64.
- Zhang, H., Smith, P., Adler-Nissen, J., 2004. Effects of Degree of Enzymatic Interesterification on the Physical Properties of Margarine Fats: Solid Fat Content, Crystallization Behavior, Crystal Morphology, and Crystal Network. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4423-4431.

## EKLER

### EK-1. Çizelge 4.3.' teki verilerin alındığı tüm yağ asitlerine ait genel yağ asidi sonuçları

Çizelge 4.3. (Devam) Substrat mol oranının, 40 °C' de % 8 enzim kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	12	18	24	12	18	24	12	18	24
C6	0,36 ±0,17	0,28 ±0,05	0,26 ±0,03	0,36 ±0,20	0,31 ±0,12	0,29 ±0,10	0,30 ±0,10	0,23 ±0,02	0,24 ±0,02
C8	5,97 ±0,80	6,28 ±0,30	6,58 ±0,32	5,51 ±1,61	6,40 ±1,94	6,55 ±1,29	6,33 ±2,81	5,30 ±0,45	6,11 ±0,67
C10	5,74 ±0,40	6,62 ±0,50	7,45 ±0,44	5,73 ±1,54	6,71 ±1,71	7,04 ±1,05	6,66 ±3,14	5,72 ±0,51	6,64 ±0,82
C12	39,94 ±2,42	43,69 ±4,92	40,22 ±2,35	46,28 ±3,31	44,86 ±3,02	44,87 ±5,30	46,43 ±3,10	43,10 ±0,19	41,72 ±1,32
C14	13,83 ±0,08	13,42 ±0,12	13,11 ±0,70	14,16 ±0,65	13,66 ±0,79	13,65 ±0,16	13,71 ±1,04	14,08 ±0,24	13,45 ±0,60
C16	7,45 ±0,88	7,05 ±1,07	7,47 ±0,12	7,40 ±1,72	7,04 ±1,80	6,97 ±1,69	6,91 ±2,33	8,16 ±0,25	7,78 ±0,31
C18	1,95 ±0,55	2,00 ±0,40	2,03 ±0,17	2,00 ±0,42	1,80 ±0,36	1,71 ±0,60	1,82 ±0,84	2,27 ±0,12	2,05 ±0,55
C18:1	18,42 ±3,13	15,26 ±2,32	15,76 ±0,71	13,30 ±1,85	13,29 ±1,00	12,10 ±3,58	12,73 ±4,62	14,63 ±0,83	14,43 ±2,19
C18:2	5,56 ±0,11	4,65 ±0,97	6,13 ±1,59	4,50 ±1,96	5,07 ±2,51	5,74 ±1,65	4,38 ±0,69	5,64 ±0,42	6,52 ±2,97
C18:3	0,49 ±0,07	0,48 ±0,13	0,72 ±0,25	0,48 ±0,15	0,54 ±0,40	0,76 ±0,08	0,46 ±0,22	0,57 ±0,18	0,71 ±0,65
C20	0,17 ±0,10	0,17 ±0,03	0,15 ±0,01	0,16 ±0,12	0,22 ±0,13	0,22 ±0,09	0,19 ±0,19	0,18 ±0,05	0,19 ±0,07
C20:1	0,12 ±0,05	0,10 ±0,04	0,13 ±0,03	0,13 ±0,02	0,10 ±0,06	0,10 ±0,06	0,09 ±0,04	0,12 ±0,00	0,15 ±0,04

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Çizelge 4.3. (Devam) Substrat mol oranının, 40 °C’ de % 10 enzim kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	12	18	24	12	18	24	12	18	24
C6	0,24 ±0,01	0,26 ±0,04	0,24 ±0,00	0,24 ±0,01	0,24 ±0,03	0,23 ±0,04	0,24 ±0,01	0,23 ±0,01	0,22 ±0,04
C8	4,83 ±0,18	5,47 ±0,20	6,11 ±0,41	5,30 ±0,86	5,80 ±0,76	6,39 ±0,63	5,56 ±0,47	6,11 ±0,91	6,76 ±0,85
C10	5,21 ±0,17	6,14 ±0,12	7,05 ±0,39	5,83 ±1,16	6,47 ±0,86	7,23 ±0,59	5,92 ±0,74	6,83 ±1,10	7,68 ±0,97
C12	42,94 ±0,65	41,48 ±0,17	39,57 ±0,76	41,86 ±1,88	41,09 ±0,66	39,74 ±0,54	41,57 ±0,88	41,15 ±1,78	39,59 ±0,99
C14	14,14 ±0,06	13,72 ±0,18	13,38 ±0,29	13,96 ±0,51	13,70 ±0,41	13,40 ±0,29	13,46 ±0,32	13,50 ±0,48	13,22 ±0,48
C16	8,30 ±0,13	8,03 ±0,12	8,04 ±0,13	8,22 ±0,24	8,05 ±0,39	7,92 ±0,31	8,05 ±0,16	7,90 ±0,18	7,88 ±0,52
C18	2,34 ±0,05	2,23 ±0,12	1,73 ±0,82	2,11 ±0,33	2,08 ±0,12	1,99 ±0,36	2,11 ±0,20	2,03 ±0,11	1,98 ±0,16
C18:1	15,73 ±0,76	16,26 ±0,43	13,84 ±4,23	15,02 ±0,34	15,32 ±1,35	14,29 ±2,74	15,75 ±0,64	14,50 ±0,46	13,96 ±2,24
C18:2	5,52 ±0,13	5,60 ±0,22	8,46 ±4,18	6,46 ±1,11	6,21 ±1,34	7,47 ±2,57	6,41 ±1,46	6,58 ±0,17	7,47 ±1,98
C18:3	0,55 ±0,10	0,57 ±0,17	1,32 ±1,14	0,73 ±0,28	0,73 ±0,26	1,01 ±0,65	0,68 ±0,34	0,83 ±0,01	0,98 ±0,47
C20	0,06 ±0,05	0,11 ±0,05	0,13 ±0,11	0,12 ±0,08	0,17 ±0,03	0,21 ±0,00	0,13 ±0,03	0,21 ±0,11	0,15 ±0,18
C20:1	0,12 ±0,03	0,14 ±0,02	0,13 ±0,05	0,15 ±0,05	0,13 ±0,01	0,13 ±0,00	0,13 ±0,00	0,12 ±0,01	0,12 ±0,01

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Çizelge 4.3. (Devam) Substrat mol oranının, 40 °C’ de % 14 enzim kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	12	18	24	12	18	24	12	18	24
C6	0,24 ±0,01	0,24 ±0,00	0,23 ±0,02	0,21 ±0,03	0,22 ±0,02	0,22 ±0,03	0,21 ±0,01	0,22 ±0,00	0,21 ±0,02
C8	5,75 ±0,05	6,49 ±0,00	6,90 ±0,29	5,96 ±0,36	7,46 ±1,10	7,86 ±0,32	5,98 ±0,57	7,36 ±1,22	7,96 ±0,86
C10	6,59 ±0,20	7,69 ±0,21	8,41 ±0,49	6,73 ±0,47	8,63 ±1,22	9,34 ±0,34	6,72 ±0,73	8,44 ±1,54	9,15 ±0,77
C12	40,32 ±0,07	38,61 ±0,58	37,47 ±1,08	40,80 ±0,57	38,46 ±0,76	36,80 ±0,49	40,91 ±1,16	39,12 ±1,19	37,53 ±0,85
C14	13,51 ±0,00	13,08 ±0,14	13,01 ±0,22	13,51 ±0,19	12,88 ±0,45	12,65 ±0,23	13,62 ±0,37	12,88 ±0,60	12,60 ±0,38
C16	8,01 ±0,00	7,67 ±0,06	7,57 ±0,07	7,96 ±0,13	7,47 ±0,43	7,34 ±0,13	8,10 ±0,13	7,54 ±0,45	7,46 ±0,23
C18	1,98 ±0,26	1,77 ±0,55	1,82 ±0,44	1,66 ±0,33	1,19 ±0,76	1,72 ±0,23	1,98 ±0,17	1,38 ±0,94	1,78 ±0,16
C18:1	14,96 ±1,06	14,51 ±4,42	15,38 ±0,92	12,31 ±1,84	9,84 ±4,73	14,01 ±2,43	13,83 ±0,38	10,89 ±5,04	12,93 ±1,14
C18:2	7,42 ±0,78	8,40 ±3,15	7,70 ±1,71	9,24 ±1,66	11,49 ±3,83	8,22 ±2,11	7,38 ±0,81	10,05 ±4,47	8,59 ±1,07
C18:3	1,00 ±0,25	1,29 ±0,91	1,18 ±0,31	1,42 ±0,48	2,11 ±1,12	1,37 ±0,41	0,93 ±0,18	1,76 ±1,25	1,27 ±0,32
C20	0,10 ±0,02	0,14 ±0,07	0,22 ±0,05	0,11 ±0,01	0,17 ±0,13	0,36 ±0,00	0,21 ±0,08	0,26 ±0,21	0,41 ±0,10
C20:1	0,12 ±0,01	0,11 ±0,02	0,11 ±0,02	0,09 ±0,02	0,09 ±0,04	0,11 ±0,01	0,13 ±0,00	0,10 ±0,04	0,12 ±0,01

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.



**EK-2. Çizelge 4.5.’ teki verilerin alındığı tüm yağ asitlerine ait genel yağ asidi sonuçları**

Çizelge 4.5. (Devam) Substrat mol oranının, 50 °C’ de % 8 enzim kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	6	12	18	6	12	18	6	12	18
C6	0,34 ±0,05	0,35 ±0,01	0,31 ±0,06	0,45 ±0,08	0,37 ±0,01	0,37 ±0,03	0,38 ±0,03	0,38 ±0,02	0,40 ±0,01
C8	5,54 ±0,46	5,63 ±0,94	5,66 ±0,53	4,82 ±0,71	5,02 ±0,56	5,02 ±0,28	4,39 ±0,26	4,77 ±0,39	5,20 ±0,15
C10	5,74 ±0,13	6,06 ±1,06	6,13 ±0,74	5,09 ±0,96	5,18 ±0,54	5,28 ±0,42	4,51 ±0,28	4,98 ±0,49	5,54 ±0,26
C12	47,69 ±3,80	43,44 ±0,40	42,51 ±1,51	45,70 ±0,10	43,87 ±1,17	44,08 ±1,01	45,51 ±0,17	44,88 ±0,43	44,28 ±0,55
C14	14,58 ±0,31	14,12 ±0,10	13,86 ±0,30	14,72 ±0,06	14,33 ±0,15	14,18 ±0,20	14,72 ±0,09	14,40 ±0,25	14,12 ±0,12
C16	7,58 ±1,64	8,18 ±0,04	7,95 ±0,09	8,47 ±0,01	8,24 ±0,16	8,16 ±0,05	8,48 ±0,05	8,28 ±0,15	8,08 ±0,01
C18	1,60 ±0,42	2,25 ±0,06	2,32 ±0,11	2,33 ±0,19	2,47 ±0,02	2,48 ±0,01	2,44 ±0,10	2,42 ±0,07	2,42 ±0,03
C18:1	12,39 ±3,30	15,23 ±0,24	16,44 ±0,18	14,52 ±1,46	16,27 ±0,53	16,36 ±0,44	15,29 ±0,48	15,74 ±0,07	15,79 ±0,16
C18:2	4,06 ±0,95	4,24 ±1,02	4,36 ±0,55	3,58 ±0,27	3,93 ±0,20	3,71 ±0,09	3,97 ±0,29	3,85 ±0,08	3,83 ±0,21
C18:3	0,32 ±0,40	0,28 ±0,17	0,20 ±0,08	0,13 ±0,05	0,12 ±0,04	0,09 ±0,01	0,14 ±0,07	0,09 ±0,00	0,10 ±0,02
C20	0,04 ±0,03	0,10 ±0,02	0,14 ±0,02	0,06 ±0,04	0,10 ±0,02	0,13 ±0,01	0,03 ±0,00	0,09 ±0,01	0,13 ±0,02
C20:1	0,10 ±0,07	0,12 ±0,01	0,12 ±0,01	0,13 ±0,03	0,11 ±0,02	0,14 ±0,03	0,14 ±0,02	0,12 ±0,01	0,11 ±0,02

YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Çizelge 4.5. (Devam) Substrat mol oranının, 50 °C’ de % 10 enzim kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	6	12	18	6	12	18	6	12	18
C6	0,36 ±0,16	0,28 ±0,09	0,30 ±0,08	0,24 ±0,01	0,25 ±0,01	0,24 ±0,00	0,28 ±0,06	0,27 ±0,04	0,24 ±0,01
C8	4,90 ±0,89	5,91 ±0,92	6,36 ±0,76	4,49 ±0,01	5,26 ±0,10	5,74 ±0,31	6,32 ±2,11	6,64 ±2,05	6,10 ±0,97
C10	5,16 ±1,10	6,64 ±1,33	7,04 ±1,01	4,72 ±0,04	5,64 ±0,09	6,28 ±0,43	6,78 ±2,37	7,35 ±2,50	6,98 ±1,81
C12	43,54 ±1,56	41,55 ±1,84	41,15 ±1,18	45,32 ±0,02	44,16 ±0,36	42,86 ±0,38	45,72 ±0,23	43,80 ±1,10	42,40 ±3,90
C14	14,30 ±0,37	13,63 ±0,41	13,40 ±0,35	14,66 ±0,00	14,10 ±0,02	13,81 ±0,18	13,86 ±1,14	13,64 ±1,07	13,76 ±0,79
C16	8,47 ±0,06	7,95 ±0,22	7,64 ±0,40	8,42 ±0,02	8,03 ±0,10	7,95 ±0,12	6,97 ±1,91	7,15 ±1,53	7,72 ±0,32
C18	1,92 ±0,75	1,75 ±0,85	2,28 ±0,08	2,35 ±0,08	2,31 ±0,08	2,29 ±0,12	1,86 ±0,82	1,86 ±0,77	2,30 ±0,06
C18:1	14,33 ±2,42	13,79 ±3,88	16,69 ±0,08	15,37 ±0,18	15,76 ±0,40	16,02 ±0,37	13,52 ±1,94	14,00 ±1,43	15,93 ±1,37
C18:2	6,21 ±2,60	7,36 ±3,89	4,47 ±0,20	4,09 ±0,23	4,02 ±0,01	4,24 ±0,36	3,97 ±0,51	4,35 ±0,78	3,88 ±0,64
C18:3	0,64 ±0,73	0,96 ±1,16	0,31 ±0,28	0,18 ±0,05	0,21 ±0,04	0,25 ±0,08	0,46 ±0,44	0,60 ±0,47	0,32 ±0,23
C20	0,06 ±0,02	0,10 ±0,02	0,24 ±0,16	0,05 ±0,00	0,14 ±0,00	0,19 ±0,03	0,19 ±0,12	0,26 ±0,09	0,27 ±0,05
C20:1	0,10 ±0,03	0,09 ±0,04	0,11 ±0,01	0,11 ±0,00	0,11 ±0,01	0,11 ±0,00	0,08 ±0,04	0,09 ±0,04	0,11 ±0,01

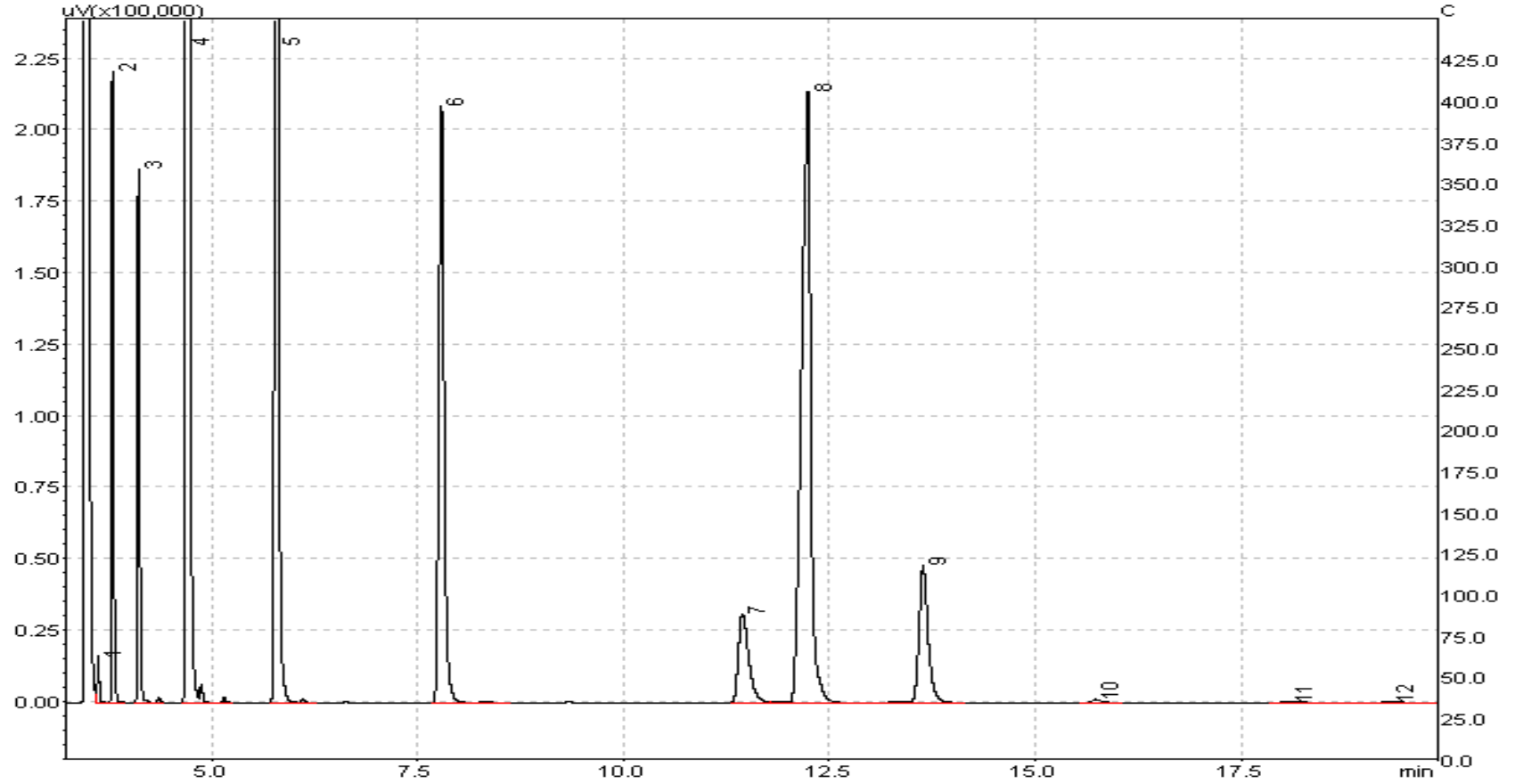
YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

Çizelge 4.5. (Devam) Substrat mol oranının, 50 °C’ de % 14 enzim kullanarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda yapılandırılmış yağlardaki yağ asidi bileşimine etkisi

Yağ asidi	Yağ asidi bileşimi, (%)								
	YA/PÇY mol oranı; 0,5:1			YA/PÇY mol oranı; 0,75:1			YA/PÇY mol oranı; 1:1		
	Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)			Reaksiyon süresi (saat)		
	6	12	18	6	12	18	6	12	18
C6	0,24 ±0,01	0,24 ±0,02	0,25 ±0,01	0,23 ±0,00	0,24 ±0,01	0,24 ±0,02	0,23 ±0,00	0,21 ±0,05	0,17 ±0,08
C8	5,43 ±0,01	6,00 ±0,09	6,60 ±0,22	5,83 ±0,24	6,06 ±0,71	6,21 ±1,56	5,22 ±0,24	5,80 ±0,46	6,18 ±0,39
C10	6,07 ±0,08	6,90 ±0,20	7,52 ±0,20	6,44 ±0,41	6,69 ±0,89	6,86 ±2,08	5,74 ±0,20	6,76 ±0,01	7,48 ±0,60
C12	41,36 ±2,41	40,32 ±1,27	40,35 ±1,67	40,94 ±3,08	40,66 ±0,87	40,59 ±1,01	42,61 ±1,71	43,19 ±0,87	44,18 ±2,87
C14	13,89 ±0,03	13,48 ±0,07	13,14 ±0,26	13,46 ±0,52	13,35 ±0,08	13,32 ±0,57	14,03 ±0,19	13,75 ±0,19	13,70 ±0,26
C16	8,01 ±0,22	7,91 ±0,30	7,65 ±0,63	8,04 ±0,25	8,02 ±0,61	8,05 ±0,90	8,33 ±0,27	7,66 ±0,15	7,16 ±0,80
C18	2,36 ±0,23	2,20 ±0,02	2,03 ±0,16	2,39 ±0,15	2,35 ±0,15	2,30 ±0,16	2,50 ±0,19	1,87 ±0,48	1,37 ±1,33
C18:1	17,12 ±2,19	16,20 ±0,33	14,81 ±2,20	17,15 ±1,70	16,87 ±0,45	16,21 ±0,26	16,39 ±1,43	13,45 ±3,48	10,21 ±7,97
C18:2	4,90 ±0,14	5,81 ±1,41	6,36 ±3,44	4,84 ±0,78	4,99 ±1,11	5,31 ±1,21	4,36 ±0,39	6,11 ±2,85	7,76 ±5,44
C18:3	0,29 ±0,31	0,56 ±0,14	0,84 ±0,56	0,28 ±0,04	0,35 ±0,04	0,46 ±0,06	0,18 ±0,10	0,72 ±0,63	1,26 ±1,36
C20	0,24 ±0,11	0,29 ±0,10	0,36 ±0,08	0,31 ±0,16	0,33 ±0,05	0,34 ±0,04	0,30 ±0,14	0,40 ±0,11	0,48 ±0,11
C20:1	0,09 ±0,02	0,10 ±0,02	0,09 ±0,01	0,09 ±0,03	0,09 ±0,02	0,10 ±0,02	0,11 ±0,00	0,08 ±0,03	0,06 ±0,07

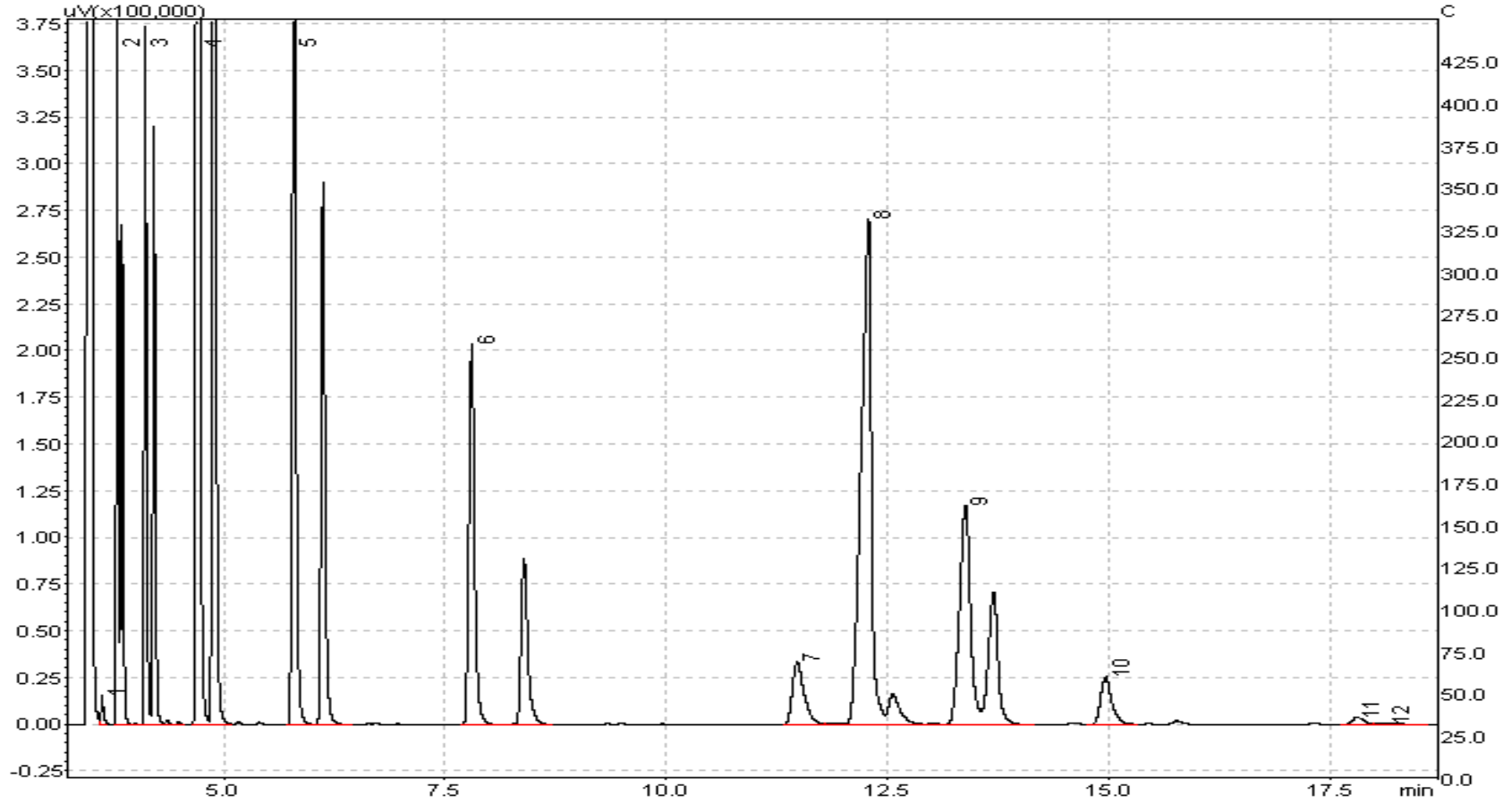
YA: Yağ asidi; PÇY: Palm çekirdeği yağı; Veriler iki tekerrür olarak yapılan deneylerin ortalamasıdır.

### EK-3. Palm Çekirdeği Yağının Gaz Kromatografisi ile Belirlenen Yağ Asidi Dağılımına Ait Kromatogram



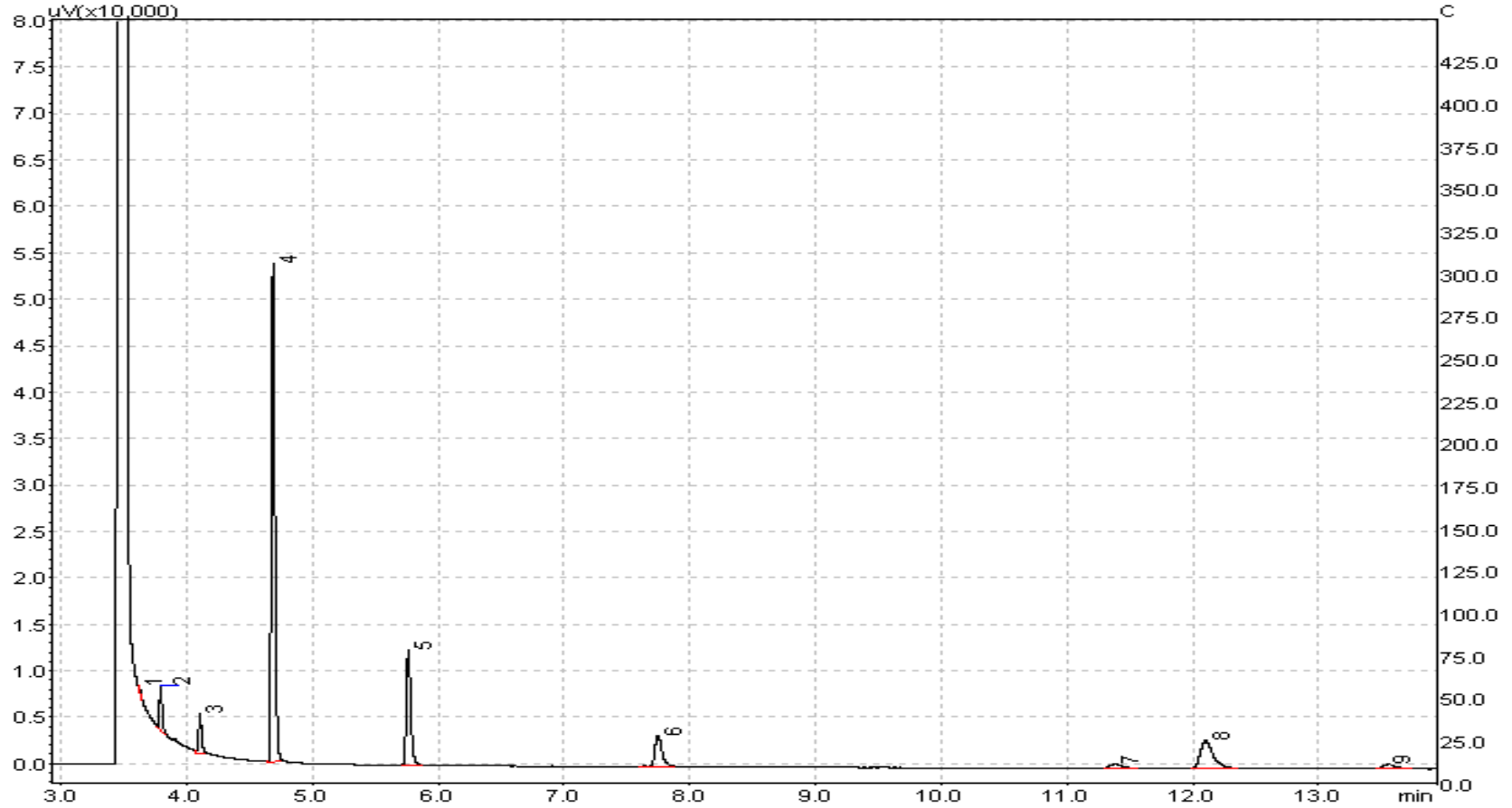
Yağ asitleri: 1: C6; 2: C8; 3: C10; 4: C12; 5: C14; 6: C16; 7: C18; 8: C18:1; 9: C18:2; 10: C18:3; 11: C20; 12: C20:1

#### EK-4. Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın Gaz Kromatografisi ile Belirlenen Yağ Asidi Dağılımına Ait Kromatogram



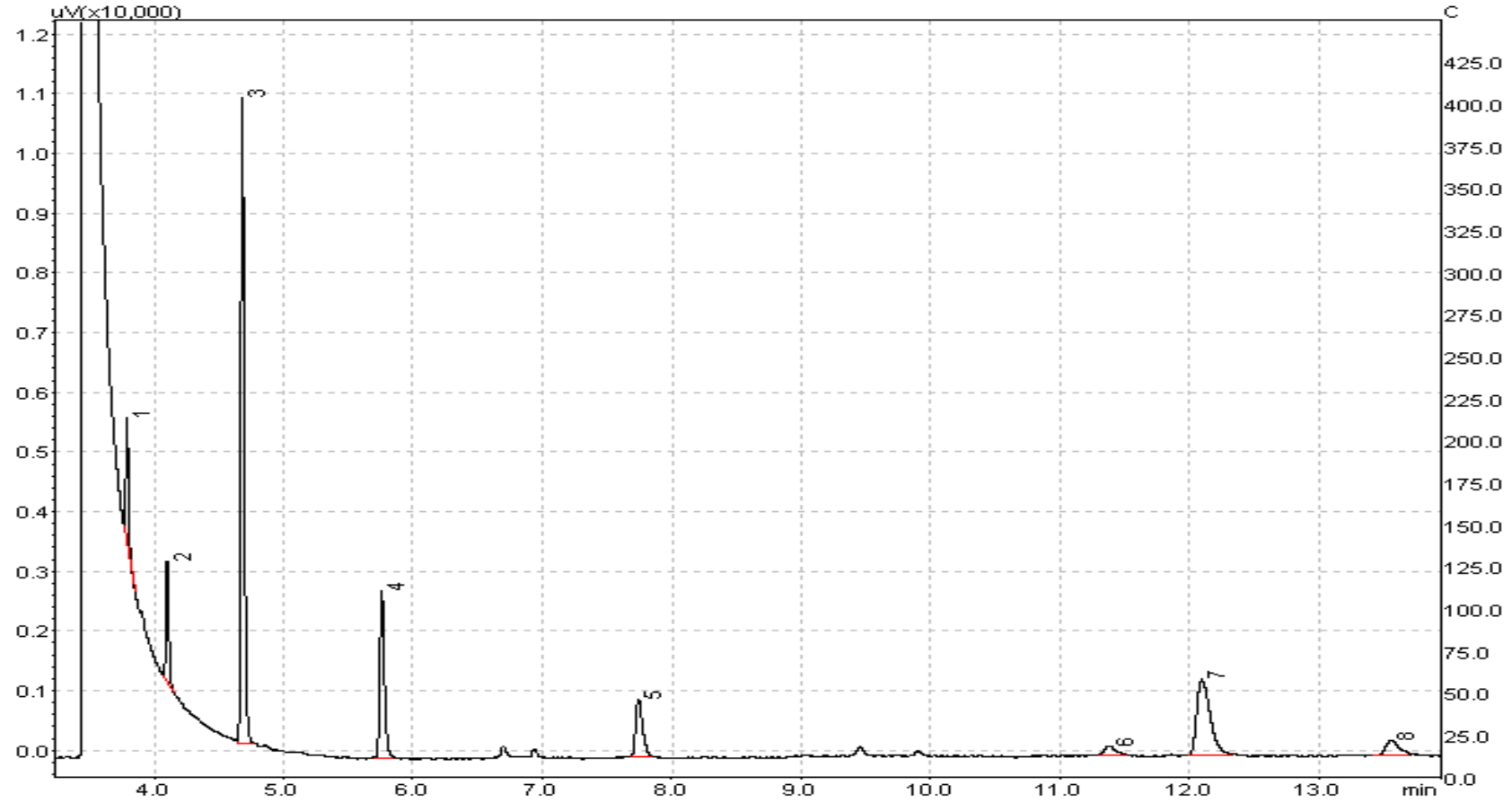
Yağ asitleri: 1: C6; 2: C8; 3: C10; 4: C12; 5: C14; 6: C16; 7: C18; 8: C18:1; 9: C18:2; 10: C18:3; 11: C20; 12: C20:1

**Ek-5 Palm Çekirdeği Yağının Gaz Kromatografisi ile Belirlenen  $\beta$ -yerleşimli Yağ Asidi Dağılımına Ait Kromatogram**



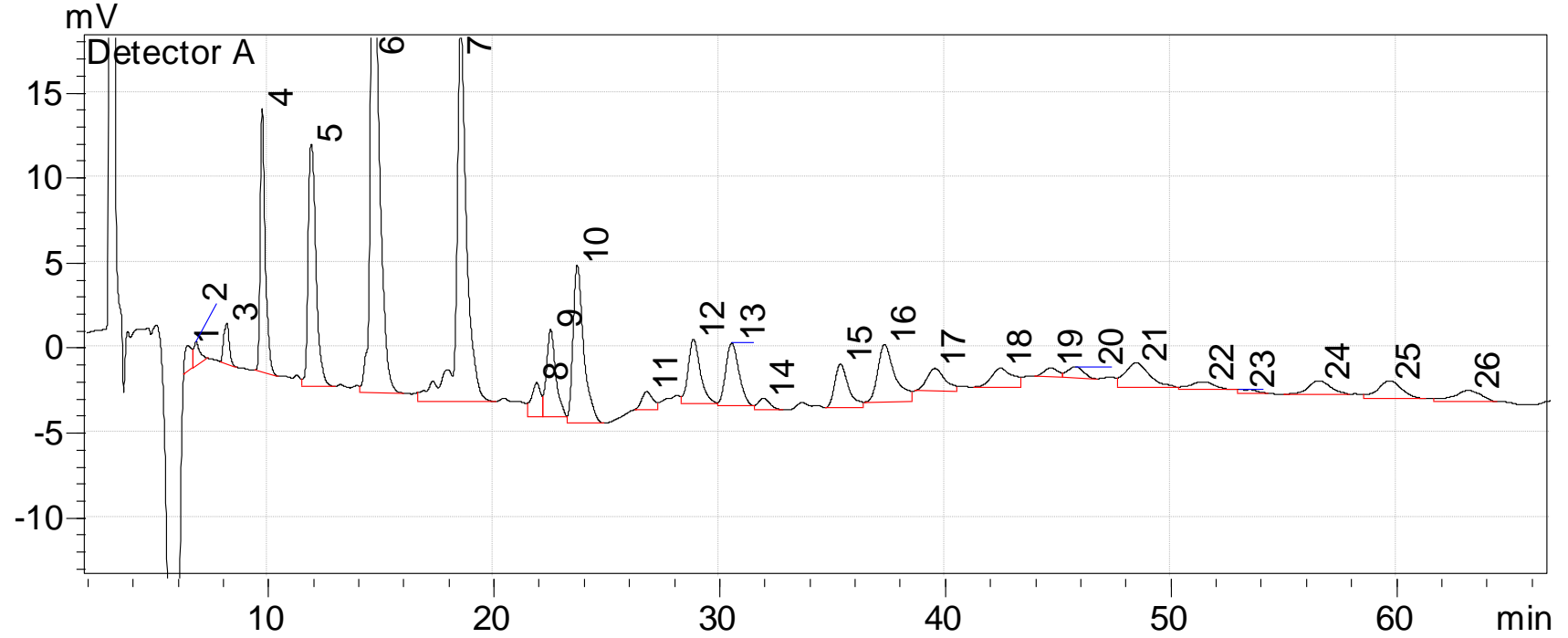
Yağ asitleri: 1: C6; 2: C8; 3: C10; 4: C12; 5: C14; 6: C16; 7: C18; 8: C18:1; 9: C18:2

**EK-6. Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın Gaz Kromatografisi ile Belirlenen  $\beta$ -yerleşimli Yağ Asidi Dağılımına Ait Kromatogram**



Yağ asitleri: 1: C8; 2: C10; 3: C12; 4: C14; 5: C16; 6: C18; 7: C18:1; 8: C18:2

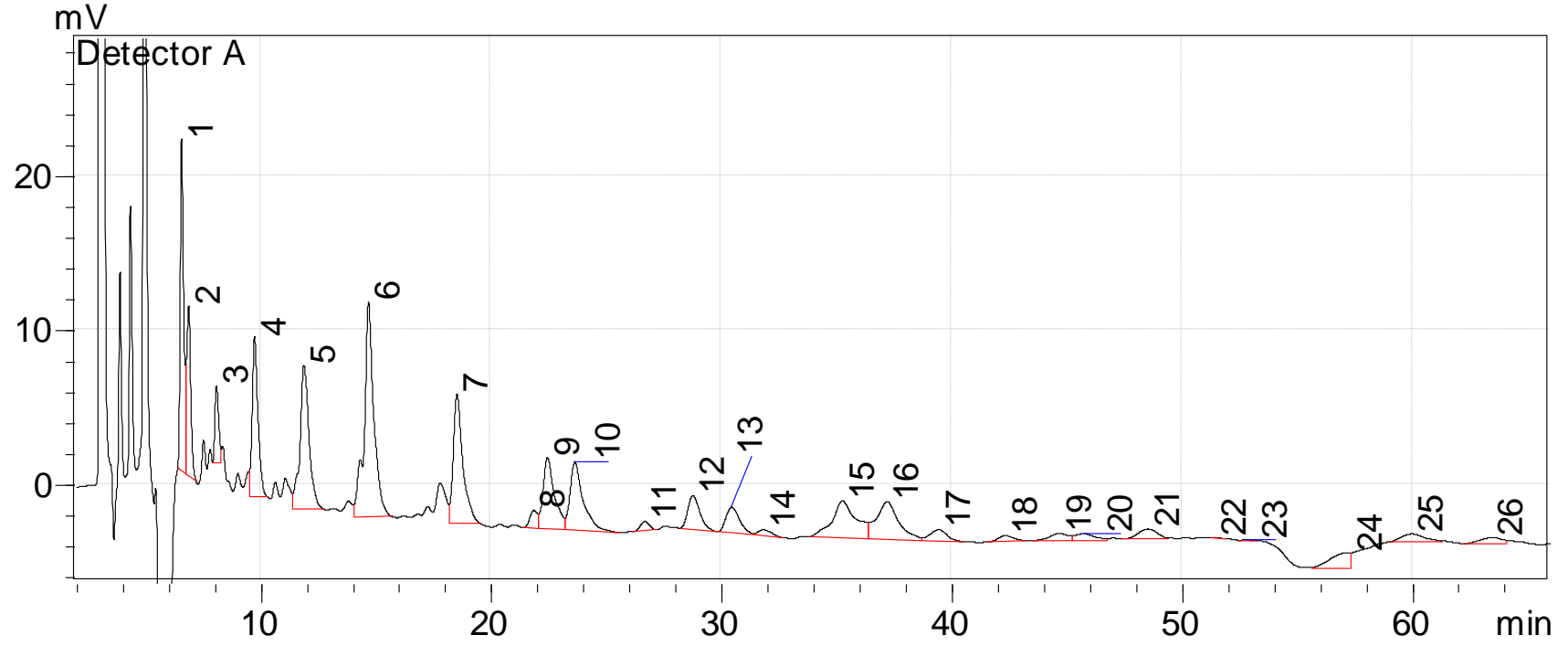
**EK-7. Palm Çekirdeği Yağının HPLC ile Belirlenen Trigliserit Dağılımına Ait Kromatogram**



PikNo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
ECN	28	30	32	32	34	36	38	40	40	40	40	42	42	42	44	44	44	44	44	46	46	48	48	48	48	50	50

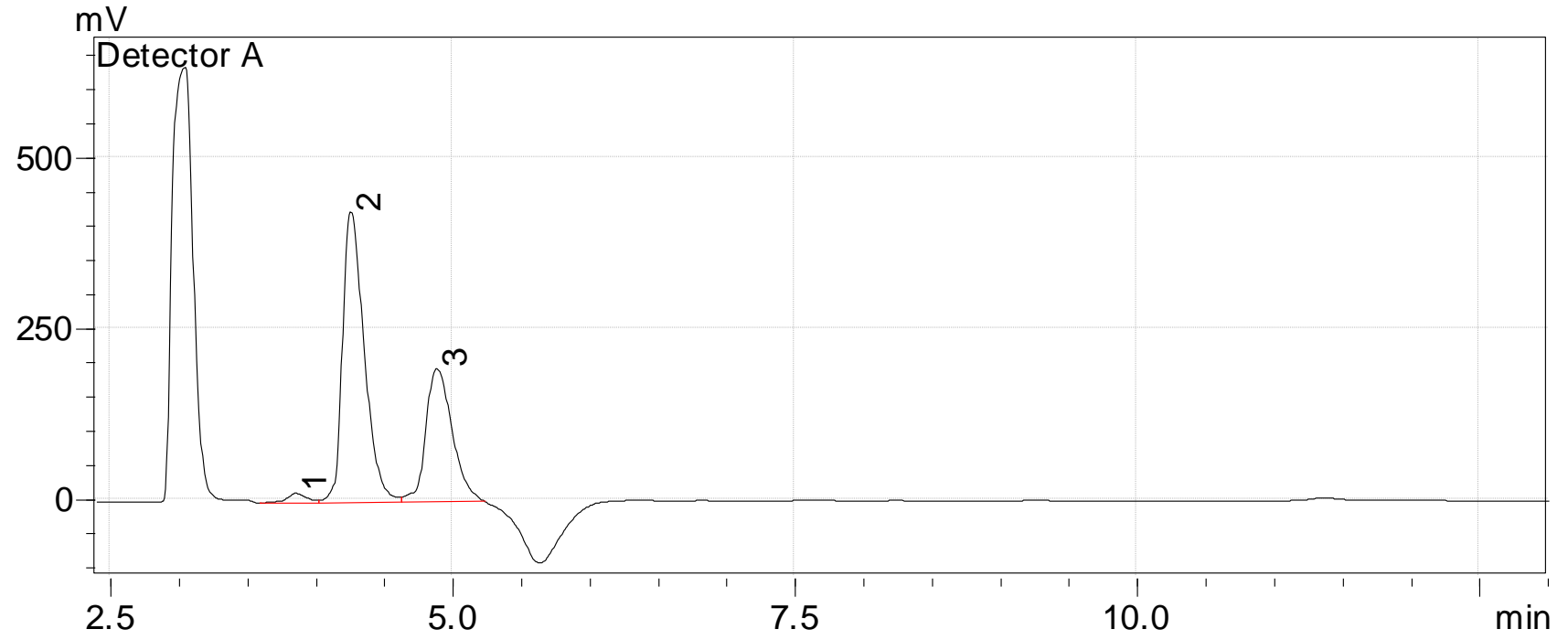


**EK-8. Sıçanlara Yedirilen Yapılandırılmış Yağın HPLC ile Belirlenen Trigliserit Dağılımına Ait Kromatogram**



PikNo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
ECN	28	30	32	32	34	36	38	40	40	40	40	42	42	42	44	44	44	44	44	46	46	48	48	48	48	50	50

**EK-9. Mono ve Digliserit Moleküllerine Ait Kromatogram**



## EK-10. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI  
(HADYEK)

Sertifika No: 2008/053

### DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Sayın : Şükran KULEAŞAN

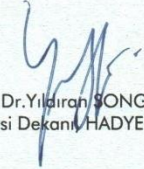
HADYEK'in, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurullarının Çalışma, Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğin 15. Maddesi ve 2007/11 sayılı Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelgeye uygun olarak **araştırmacılar için** düzenlediği **DENEY HAYVANLARI KULLANIMI EĞİTİM PROGRAMI**'nı başarıyla tamamlamış ve bu belgeyi almaya hak kazanmıştır.

14-18 Nisan 2008  
ISPARTA

#### Kurs Konuları (Ders şekli ve süresi)

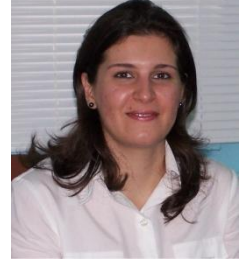
Deney hayvanlarının anatomisi, fizyolojisi, histolojisi ve biyokimyası (Teorik, 3 saat)  
Mevzuat (Teorik, 2 saat)  
Hayvan deneyleri etiği (Teorik, 2 saat)  
Alternatif yöntemler (Teorik, 4 saat)  
Tutuş teknikleri (Teorik, 3 saat)  
İlaç verme ve enjeksiyon teknikleri (Teorik, 3 saat)  
Kan ve örnek alma teknikleri (Teorik, 3 saat)  
Anestezi-Ötanazi teknikleri (Teorik, 3 saat)  
Laboratuvar işletmesi (Teorik, 1 saat)  
Temel laboratuvar güvenliği ve temizlik (Teorik, 6 saat)  
Hayvan refahı ve davranış özellikleri (Teorik, 3 saat)  
Deney hayvanlarının üretimi (Teorik, 2 saat)  
Deney hayvanlarının beslenmesi (Teorik, 1 saat)  
Hayvan hastalıkları (Teorik, 2 saat)  
İş sağlığı ve güvenliği (Teorik, 2 saat)  
Laboratuvar stajı (Uygulama, 40 saat)

  
Prof. Dr. Metin Lütfi BAYDAR  
Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörü

  
Prof. Dr. Yılmaz SONGÜR  
Tıp Fakültesi Dekanı, HADYEK Başkanı

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Şükran Kuleaşan  
**Doğum Yeri ve Yılı:** Adana, 1976  
**Medeni Hali** : Evli  
**Yabancı Dili** : İngilizce



### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Adana Paksoy Kız Lisesi, 1990-1993

Lisans : Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 1994-1998

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü, 2002-2004

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

1- Gıda Mühendisi, Katılım İnşaat Gıda San. ve Tic. A.Ş., 2000-2004

2- Öğretim görevlisi, Süleyman Demirel Üniversitesi, 2004-

### Yayınları (SCI ve diğer makaleler)

*SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale*

1- Kuleaşan, S., Tekin, A. 2008. Alkaline neutralization of crude soybean oil by various adsorbents. European Journal of Lipid Science and Technology, 110, 261-265.

*Hakemli dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale*

1- Kuleaşan, Ş., Tekin, A., Özçelik, S., 2008. Genetiği Değiştirilmiş Tohum Yağları ve Özellikleri. Gıda Dergisi, 33(4), 175-182.

2- Kuleaşan, Ş., 2009. Bitkisel Sıvı Yağların Sevk, Depolama ve Muhafazası. Standard Ekonomik ve Teknik Dergi (Türk Standardları Enstitüsü). Yıl: 48 Sayı: 570 Sayfa: 68-71.

*Ulusal toplantıda sunularak tam metin olarak yayımlanan bildiri*

1. Kuleaşan, Ş., Küçüköner, E. 2007. Lipid Bazlı Yağ İkâmeleri. Gıda Mühendisliği 5. Kongresi, 8-10 Kasım 2007, Ankara, s 555-560.

*Ulusal toplantıda sunularak özet metin olarak yayımlanan bildiri*

1. Kuleaşan, Ş., Tekin, A. 2006. Ham Soya Yağı'nın Alkali Nötralizasyonunda Çeşitli Killerin Kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, s 641.

*Uluslararası toplantıda sunularak tam metin olarak yayımlanan bildiri*

1. Kuleaşan, Ş. 2010. Importance Of Organic Vegetable Oil Production. International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems, 3-7 February 2010, Famagusta, Cyprus Island. s 105-106.

*Uluslararası toplantıda poster, sözlü sunum ile gösterimleri*

1. Gürbüz, F., Karahan, A. G., Kuleaşan, Ş., Bölük, S., Çakmakçı, M. L. 2009. Fatty acid composition of Arthrospira maxima: A new approach for possible use in the food industry. International Symposium on Biotechnology Developments and Trends. 27-20 September 2009, Ankara, Turkey. s 136.