

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PIRİNA YAĞI DEODORİZE DİSTİLATINDAN MOLEKÜLER DAMITMA
YÖNTEMİYLE SQUALEN ELDE ETME KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU**

Sena ÇETİNBAŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2018**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Sena ÇETİNBAŞ tarafından hazırlanan “PİRİNA YAĞI DEODORİZE DİSTİLATINDAN MOLEKÜLER DAMITMA YÖNTEMİYLE SQUALEN ELDE ETME KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU” adlı tez çalışması 26/03/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Aziz TEKİN

Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Ferruh ERDOĞDU

Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Aziz TEKİN

Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Behic MERT

Ortadoğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

26/03/2018



Sena ÇETİNBAŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PRİNA YAĞI DEODORİZA DİSTİLATINDAN MOLEKÜLER DAMITMA YÖNTEMİYLE SQUALEN ELDE ETME KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

Sena ÇETİNBAŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aziz TEKİN

Bitkisel yağların sabunlaşmayan kısmında yer alan squalen, kolesterol ve diğer sterollerin başlangıç maddesi olarak bilinir. Bu çalışmanın amacı, pirina yağı deodorize distilatında bulunan squalenin moleküler distilasyonla elde edilme koşullarının araştırılmasıdır. Bu amaçla, pirina yağı ve deodorize distillattan squalen eldesi çalışmaları yapılmıştır. Squalen oranı % 20.92 serbest asitliği ise % 49.16 olan deodorize distilat, 110-190 °C aralığı ve 0.05, 0.5, 5 mmHg mutlak basınçlarda damıtılmıştır. Sıcaklık ve vakum yükseldikçe squalen verimi de artmıştır. Ancak distilat karışımında elde edilen yüksek serbest asitlik nedeniyle, deodorize distilatın damıtılmadan önce gliserolle esterleştirilmesine karar verilmiştir. Transesterifikasyon reaksiyonu 190 °C'de 360 dakikada gerçekleştirilmiştir. Bu koşulda serbest asitlik % 49.34'ten % 7.87'ye düşürülürken, başlangıçta % 40.0 olan squalen oranı reaksiyon sonucu % 27.99'a düşmüştür. Bu karışım 190, 210 ve 230 °C sıcaklıklar ile 0.05, 0.5 ve 5 mmHg basınçlarda damıtma işlemlerine tabi tutulmuştur. Damıtmalarda, sıcaklık ve vakum yükseldikçe squalen verimi de artmıştır. Nitekim, 230 °C ve 0.05 mmHg mutlak basınçta yapılan damıtma işlemlerinde squalenin % 98.12'si alınırken, serbest asitlik % 1.78'e düşmüştür. Ancak sanayi 0.05 mmHg gibi yüksek mutlak basınçları uygulayamadığı için, pirina yağından squalen eldesinde olduğu gibi, 230 °C ve 0.5 mmHg koşulunun deodorize distillattan squalen eldesinde de kullanılabilceği sonucuna varılmıştır. Bu koşulda squalen verimi % 95.15, squalen içerisindeki serbest asitlik ise % 4.62'dir.

Mart 2018, 39 sayfa

Anahtar Kelimeler: Moleküler damıtma, deasidifikasyon, squalen, kullanım alanları

ABSTRACT

Master Thesis

OPTIMIZATION OF MOLECULAR DISTILLATION CONDITIONS FOR SQUALENE FROM OLIVE POMACE OIL DEODORIZER DISTILLATE

Sena ÇETİNBAŞ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof.Dr. Aziz TEKİN

Squalene, an unsaponifiable component of vegetable oils, is known as a precursor of cholesterol and other sterols. Aim of the study was investigation of distillation conditions of squalene existing in olive pomace oil deodorizer distillate. For this aim, olive pomace oil and its deodorizer distillate were distilled using a molecular distillation unit. A deodorizer distillate containing 20.92 % squalene and 49.16 % free fatty acid was distilled under 110-190 ° C and 0.05, 0.5, 5 mmHg absolute pressures. Squalene yield increased with increasing temperature and vacuum. However, distillate contained high free fatty acid at higher temperatures therefore deodorizer distillate was transesterified with glycerol before distillation. This reaction was performed at 190 ° C and 360 minutes. After the reaction, free fatty acid content in the mixture was reduced from 49.34 to 7.87 % while squalene concentration was obtained as 27.99% which was less than the initial (40 %).

The mixture was then subjected to distillate at 190, 210 and 230 ° C, and 0.05, 0.5, 5 mmHg absolute pressures. During distillations, increasing temperature and vacuum has given higher squalene yields. Thus, the highest temperature (230 ° C) and vacuum (0.05 mmHg) application resulted in 98.12 % of squalene and 1.78 % of free fatty acid in distillate. But 0.05 mmHg absolute pressure is not a condition that can be implemented by industry. Therefore, 230 °C and 0.5mmHg absolute pressure can be suggested to industry in order to distillate squalene from olive pomace oil deodorizer distillate. Squalene yield was 95.15 % while free fatty acid was 4.62 % in distillate at this condition.

March 2018, 39 pages

Key Words: Squalene, deodorizer distillate, molecular distillation

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında değerli görüşlerini ve deneyimlerini esirgemeyen saygıdeğer Danışmanım Sayın Prof.Dr. Aziz TEKİN'e ve tez izleme komitesinde bulunan değerli hocam Prof. Dr. Ferruh ERDOĞDU (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı tezimin moleküler damıtma çalışmaları kapsamında bilgi birikimi ve yorumlarını her an paylaşan değerli hocam Yrd. Doç. Onur KETENOĞLU'ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımları için Ayşe Hümeysra ALTUNTAŞ'a, manevi destekleri ve her türlü yardımları için değerli araştırma görevlisi hocalarıma ve özellikle gerek tez çalışmam kapsamında gerek tüm hayatım boyunca her türlü desteklerini hiç esirgemeyen ve sürekli yanımda olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 114 O 166 proje numarası ve "Moleküler Damıtma Yöntemiyle Yüksek Asitli Bitkisel Yağların Deasidifikasyonu ile Oleik Asit ve Squalenin Saflaştırma Koşullarının Optimizasyonu" konulu proje tarafından desteklenmiştir.

Sena ÇETİNBAŞ

Ankara, Mart 2018

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ VE KURAMSAL TEMELLER.....	2
2.1 Squalen	2
2.1.1 İnsan ve hayvanlarda (Memeliler) Squalen sentezi.....	3
2.1.2 Bitkilerde Squalen sentezi	4
2.1.3 Mikroorganizmalarda Squalen sentezi	6
2.1.4 Prokaryotlarda Squalen sentezi	6
2.1.5 Mikro alglerde Squalen sentezi.....	7
3. SQUALEN ÜRETİMİ İÇİN TEKNOLOJİK PROSESLER VE KULLANIM ALANLARI	8
3.1 Squalen Üretimi İçin Teknolojik Prosesler.....	8
3.2 Squalenin Kullanım Alanları	11
3.2.1 Antioksidan etkisi.....	11
3.2.2 Gıda takviyesi olarak etkileri	11
3.2.3 Endüstride kullanımı	12
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
4.1 Materyal	14
4.2 Yöntem	14
4.2.1 Serbest asitlik analizi	14
4.2.2 Moleküler damıtma.....	15
4.2.3 Transesterifikasyon reaksiyonu	17
4.2.4 Skualen miktarının belirlenmesi.....	17
4.2.5 Yağlarda renk tayini	18

4.2.6 Çok amaçlı (Multi-objective) optimizasyon	18
5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	20
5.1 Pirina Yağı ve Deoderize Distilattan Moleküler Distilasyon ile Squalen	
Eldesi	20
5.1.1 Squalenin moleküler distilasyonu	20
5.2 Pirina yağından squalenin distilasyonu.....	23
5.2.1 Renk değerlerine ait bulgular	24
5.3 Deoderize Distilattan Squalen Eldesi.....	26
5.3.1 Transesterifikasyon reaksiyon süresinin serbest yağ asitleri ve squalen miktarı üzerine etkisi.....	29
5.3.2 Moleküler distilasyonun squalen verimine etkisi.....	31
6. SONUÇ	34
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ.....	39

SİMGELER DİZİNİ

cP	Santipoise
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mmHg	Milimetre civa
mN	Milnewton
MPa	Megapascal
ppm	(parts per million) milyonda bir kısım
rpm	Dakikada devir
°C	Celsius

Kısaltmalar

CO_2	Karbondioksit
AOCS	American Oil Chemists' Society
ER	Endoplazmik Retikulum
GC	Gaz kromatografisi
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
HMGR	3-hidroksi-3-metil-glutaral-CoA redüktaz
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
SFE	Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu
SPE	Short-path evaporatör
SYA	Serbest yağ asitleri
TFE	İnce film Evaporatör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Squalen'in (2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,20-tetracosahexane) yapısı	2
Şekil 2.2 İnsan ve hayvanlarda squalen sentezi	3
Şekil 2.3 Bitkilerde Squalen Sentezi	5
Şekil 2.4 Prokaryotlarda Squalen Sentezi	6
Şekil 2.5 Mikro alglerde Squalen Sentezi	7
Şekil 3.1 Yağlara uygulanan fiziksel ve kimyasal rafinasyon işlemi	10
Şekil 4.1 KDL5 model moleküler damıtma sistemi)	15
Şekil 4.2 Yakın planda short-path evaporatör ve sıvayıcı kollar	16
Şekil 5.1 Distilat ve atık verimlerine ait grafik	21
Şekil 5.2 Atık verimlerine ait üç boyutlu grafik	22
Şekil 5.3 Farklı sıcaklık ve basınçlarda damıtılan pirina yağındaki squalen miktarları	24
Şekil 5.4 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen dağılımı	27
Şekil 5.5 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen ve serbest asitlik dağılımı	29
Şekil 5.6 Farklı sıcaklık ve sürelerin distilatın serbest yağ asitliği üzerine etkisi	31
Şekil 5.7 Reaksiyon sonucu elde edilen karışımın damıtılması sonucu distillata ait bilgiler	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Squalenin kimyasal ve fiziksel özellikleri	2
Çizelge 4.1 Moleküler damıtma ünitesinin özellikleri ve çalışma koşulları	17
Çizelge 4.2 Gaz kromatografi cihazının çalışma koşulları	18
Çizelge 4.3 Kolon sıcaklık programı	18
Çizelge 5.1 Atık ve distillatlara ait tartım sonuçları (g)	20
Çizelge 5.2 Farklı sıcaklık ve basınçlarda damıtılan pirina yağındaki squalen miktarları	23
Çizelge 5.3 Farklı koşullarda damıtılmış pirina yağına ait renk değerleri	26
Çizelge 5.4 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen miktarları	27
Çizelge 5.5 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen ve serbest asitlik dağılımı (%).....	28
Çizelge 5.6 Farklı sıcaklık ve sürelerin distilatın serbest yağ asitliği üzerine etkisi.....	30
Çizelge 5.7 Reaksiyon sonucu elde edilen karışımın damıtılması sonucu distillata ait veriler	32

1. GİRİŞ

Squalen bütün canlılarda bulunan ve yapısında çift bağ içeren bir hidrokarbondur. Birçok sterolün öncü maddesidir, ayrıca aşilar için yardımcı bileşen, cilt nemlendirici ve anti-timör etkileri bulunan bir bileşiktir. Diğer taraftan lipofilik özelliği nedeniyle vücutta biriken pestisit ve ağır metaller gibi toksik kimyasalları çözebilmekte, antioksidan özelliği nedeniyle de serbest radikallerin vücuda zarar vermesini engellemektedir (Xynos vd. 2016). Bu özellikleri sebebiyle squalen kozmetik ve ilaç endüstrilerinin önemli bir hammaddesi haline gelmiştir.

Bitkisel squalenin en yaygın olduğu yağlardan olan zeytinyağı ve pirina yağı, gerek ülkemizde gerekse bölge ülkelerinde yüksek tonajlarda üretilmektedir. Özellikle sızma kalitesindeki zeytinyağı üretimi düşük olan ülkemiz ile bazı Ortadoğu ve Kuzey Afrika Ülkelerinde zeytinyağlarının önemli bir kısmı rafine edilmekte ve içerdikleri squalen de büyük oranda deodorize distilata geçmektedir. Genellikle yüksek asitli olan ham pirina yağı da rafine edilmeden tüketilememektedir. Rafinasyonlardan elde edilen distilatlar düşük fiyatlara dökme olarak yurtdışına satılmaktadır.

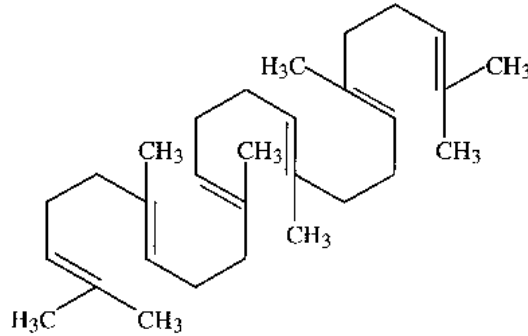
Tamamlanan çalışmada, pirina yağı deodorize distilatından squalenin saf bir şekilde ayrılabilmesine olanak tanıyacak moleküler distilasyon koşulları incelenmiştir. Ayrıca serbest asitliğin giderilmesinde transesterfikasyon yöntemi ile moleküler damıtma sisteminin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla farklı sıcaklık ve basınçlarda gerek oleik aside ve deasidifikasyona, gerekse squalene yönelik damıtmalar yapılmış ve elde edilen bulgular doğrultusunda uygulanabilecek en uygun koşulların belirlenmesine çalışılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ VE KURAMSAL TEMELLER

2.1 Squalen

Doğal bir lipit kaynağı olan squalen; $C_{30}H_{50}$ (2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,20-tetracosahexane) formülüne sahip insan ve hayvanlarda sterollerin ve steroidlerin öncü maddesidir. Yaygın bir biçimde doğada bulunmaktadır ve büyük miktarlarda da zeytin, buğday ruşeymi, amarant ve pirinç kepeği yağında bulunmaktadır. En zengin kaynağı köpekbalığı karaciğeridir (%60). İnsanlarda ise en yüksek konsantrasyonu (~%13) kadardır (Xu vd. 2004).

Squalen'in kimyasal yapısı şekil 2.1'de, kimyasal ve fiziksel özellikleri de çizelge 2.1'de görülmektedir.



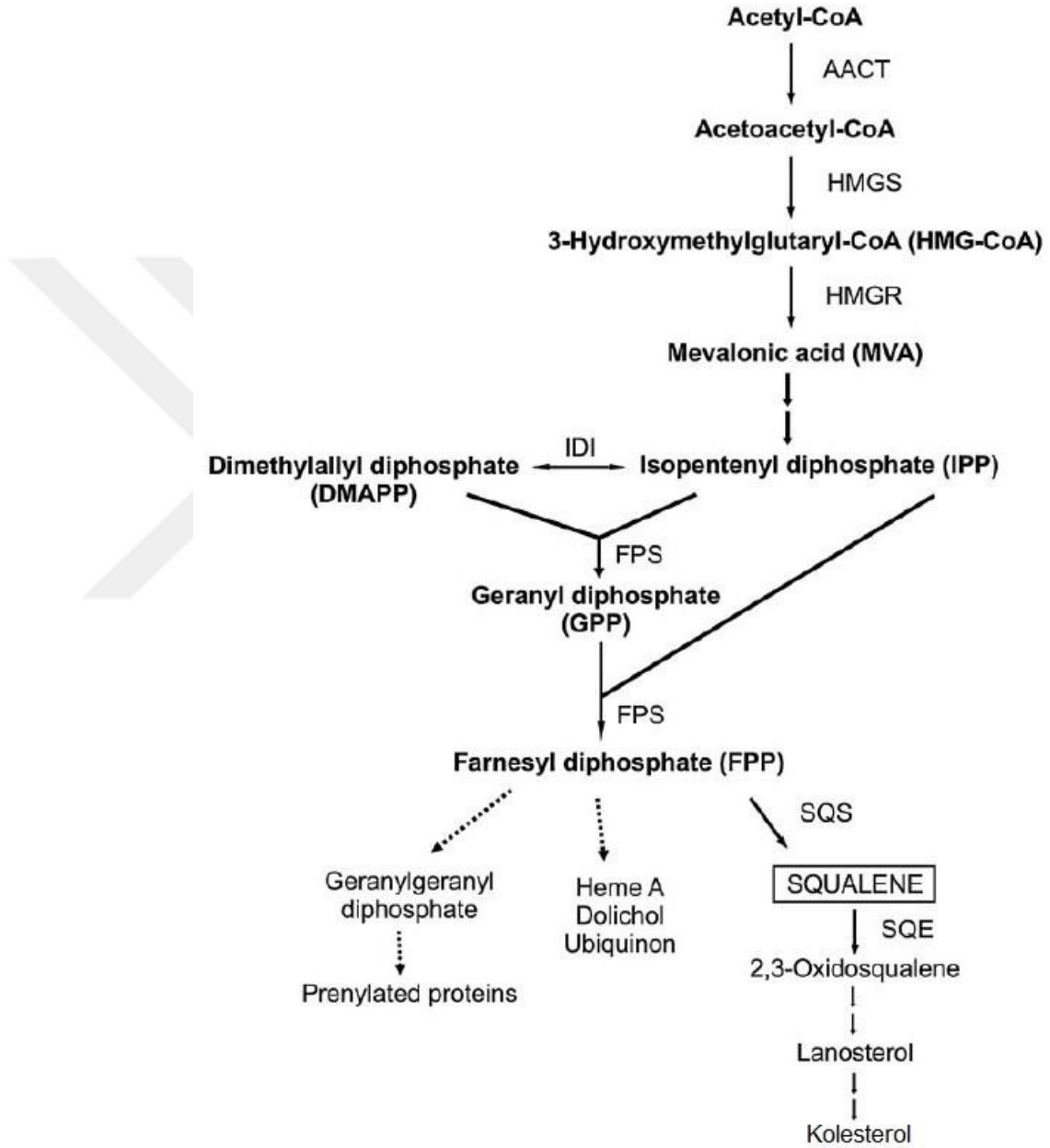
Şekil 2.1 Squalen'in (2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,20-tetracosahexane) yapısı

Çizelge 2.1 Squalenin kimyasal ve fiziksel özellikleri

Özellikler	Değerler
Molekül Ağırlığı	410.7 g mol ⁻¹
Donma Noktası	-75°C
Kırılma İndisi	1.499
Viskozite (25°C)	12 cP
Yoğunluk	0.858 g/mL
Kaynama Noktası	285°C
İyot Sayısı	381g/100g
Yüzey Gerilimi	~32 mN/m

2.1.1 İnsan ve hayvanlarda (Memeliler) Squalen sentezi

Squalen; adını ilk elde edildiği ve en zengin kaynağı olan köpek balığından (*Squalus spp.*) almıştır (Vazquez vd. 2007). Squalenin en yüksek oranlarda bulunduğu kaynak balıklar ve özellikle 400 metrenin altında yaşayan köpek balıklarıdır (Popa vd. 2015).



Şekil 2.2 İnsan ve hayvanlarda squalen sentezi

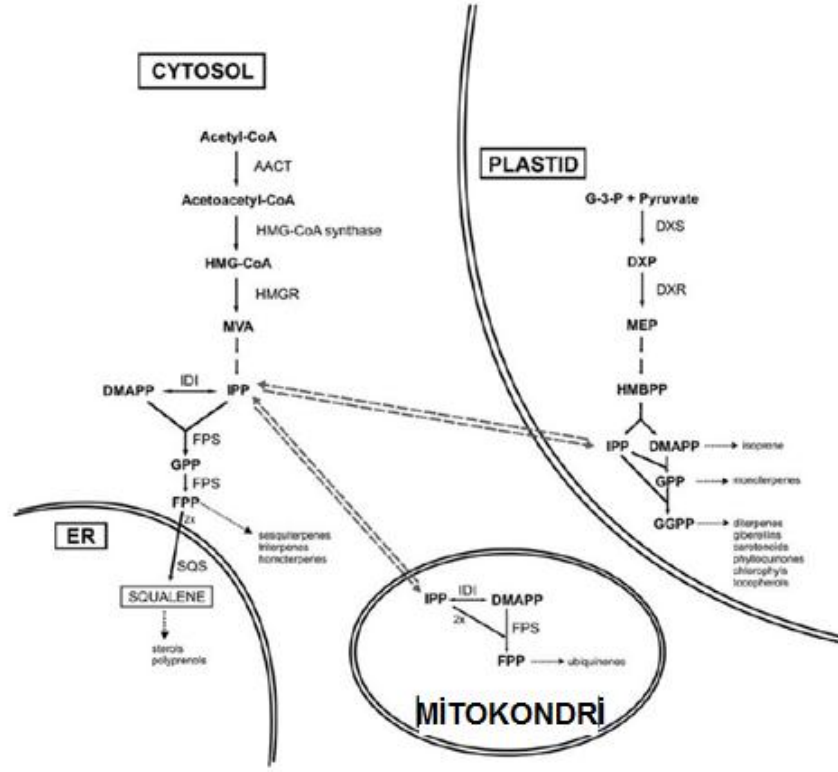
İnsanlarda ve hayvanlardaki sentez şekil 2.2' de görülmektedir, bu sentezin daha çok karaciğer ve deride meydana geldiği, sonra kana taşındığı bilinmektedir (Reddy ve Couvreur 2009).

Steroller ökaryotik hücre membranları'nın esas ve yapısal komponentleridir. Squalen ise sterol biyosentezinin başlangıcı için önemli bir role sahiptir. Squalen sentezi bütün organizmalarda benzer olmasına rağmen, farklı organizmaların içerdikleri enzim özelliklerine göre farklılık gösterebilirler. Şekil 2.2'de görülen sentezde bazı durumlarda sadece bir enzimle gerçekleşen reaksiyon, farklı durumlarda birden fazla enzime (iso-enzim) ihtiyaç duyabilmektedir (Spanova vd. 2011).

İç ve dış kolestrol kaynakları arasında bir denge vardır, bu denge geri besleme yolu ile kontrol edilir. Geri bildirim kontrolünün ana bileşeni 3-hidroksi-3-metil-glutaral-CoA redüktaz (HMGR) ve LDL reseptörleridir. Örneğin, kolesterol birikimini önlemek için sırayla HMGR aktivitesi ve LDL reseptör sayısı azaltılması gerekir bunun sonucunda squalen sentezi engellenir, dolayısıyla kolesterol miktarı tekrar dengeye girer (Goldstein vd. 2006).

2.1.2 Bitkilerde Squalen sentezi

Köpek balığı karaciğerinin yanında bazı bitkilerde değerli squalen kaynaklarıdır. Squalen yüksek konsantrasyonlarda zeytinyağı ve amarant yağında bulunurken daha düşük konsantrasyonlarda palm yağı, buğday tohumu yağı, pirinç kepeği yağı ve fıstık yağında bulunmaktadır (Spanova vd. 2011). Ayrıca zeytinyağında bulunan squalen (7mg/g yağ) ve oleik asit (% 72) kombinasyonun bitkiyi koruduğu bilinmektedir.



Şekil 2.3 Bitkilerde Squalen Sentezi

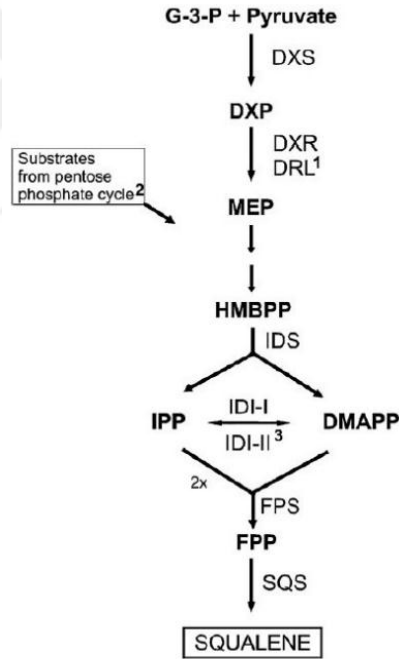
Bitkilerdeki sterol biyosentez yolu insan hücrelerinden farklıdır. Bitkilerde squalen biyosentezi sitosterol, stigmasterol ve kampesterol gibi pek çok sterol çeşidinin oluşmasına olanak sağlar. Bitkilerde squalen 2,3-oxidosqualene okside olur ve sonra insan ve mantarlarda olduğu gibi lanosterol yerine cycloartenol (9b,19-cyclo-24-lanosten-3b-ol)'e çevirilir. Bu da sitosterol sentezi için gerekli basamakların metabolizmasını başlatır (Boutté ve Grebe 2009, Bouvier vd. 2005). Fitosterollerin sentezi de Endoplazmik Retikulumda (ER) gerçekleşir ve minör miktarda squalen içeren plazma membranına transfer edilir (Grebe vd. 2003).

Yapılan çalışmalarda squalen miktarları bazı doğal kaynaklar için; zeytinyağında 564 mg/100g, soya fasulyesi yağında 9.9mg/100g, üzüm çekirdeği yağında 14.1 mg/100g, fındık yağında 27.9mg/100g, fıstık yağında 24.4 mg/100g, mısır yağında 27.4 mg/100g bulunmuştur. En yüksek miktarın ise amarant yağında 10.4-73 g/kg olduğu belirlenmiştir (Popa vd. 2015).

2.1.3 Mikroorganizmalarda Squalen sentezi

Mikrobiyel squalen üretiminde son zamanlarda ümit verici bulgular elde edilmektedir. Mikroorganizmalar, bitkiler ya da köpekbalığı karaciğeri kadar çok squalen biriktirememesine rağmen, mikroorganizmaların hızlı ve geniş alanda büyüme avantajları vardır. Yapılan çalışmalarda squalen izolasyonu yapılan mayaların, *Saccharomyces*, *Torulaspota delbrueckii*, *Pseudomonas*, *Candida*, alg olarak *Euglena* ve mikro alg *Schiochytrium mangrovei* ve *Botryococcus braunii* oldukları rapor edilmiştir (Spanova vd. 2011).

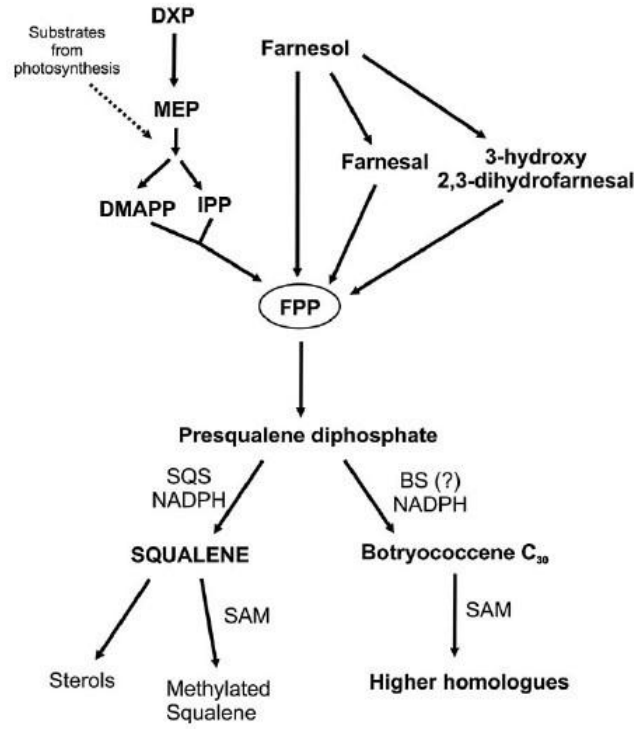
2.1.4 Prokaryotlarda Squalen sentezi



Şekil 2.4 Prokaryotlarda Squalen Sentezi

Bakterilerde squalen sentezi türlerine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin zorunlu parazitlerden olan *Rickettsia* veya *Mycoplasma* mekanizmayı kullanamazlar ve izoprenoidleri konak oldukları hücreden elde etmeleri gerekir (Spanova vd. 2011).

2.1.5 Mikro alglerde Squalen sentezi



Şekil 2.5 Mikro alglerde Squalen Sentezi

Bazı mikro algler yüksek miktarlarda squalen birikimi yapabilirler. *Traustochytrid Aurantiochytrium* sp. (*Schizochytrium* olarak bilinir.) en etkili squalen üreticilerindendir. Bu mikro alg heterotrof koşullar altında hızlıca büyüyüp, yüksek miktarlarda squalen üretebilir. Kültür içeriği doğru koşullarda optimize edilirse içeriğin ve squalen veriminin artacağı görülmüştür (Chen vd. 2010).

3. SQUALEN ÜRETİMİ İÇİN TEKNOLOJİK PROSELER VE KULLANIM ALANLARI

3.1 Squalen Üretimi İçin Teknolojik Prosesler

Köpek balığı karaciğerinden squalen elde edilmesi, çevresel etkileri yüzünden uygun bulunmamaktadır. Bu nedenle araştırmacılar bitki ve mikroorganizmalardan squalen elde etme yöntemlerine yönelmişlerdir. Zeytinyağı deodorize distilatından squalen ekstraksiyonu son zamanlarda çok yaygınlaşmıştır. Çünkü zeytinyağı deodorize distilatı %10-30 kadar squalen içermektedir (Spanova vd. 2011). Bu kaynağa alternatif olarak, amarant yağı ve Terminalia catappa ağacının yaprakları da squalen kaynağı olarak kullanılmaktadır (Ko vd. 2002).

Çoğu bitkiden yağ, mekanik sıkma veya hekzan gibi çözücüler ile alınmaktadır. Squalen doymamış düz zincirli yapısı yüzünden ısıya karşı dayanıksız bir moleküldür. Buda bitkisel yağlardan distilasyon gibi yöntemlerle ayırma ve izolasyonunun uygun olmamasına sebep olmaktadır. Ayrıca mekanik sıkma ile elde edilen verim %80 iken, kimyasal ekstraksiyon ile elde edilen verim %98 den fazladır. Bu nedenle squalen'in izolasyonu için alternatif olarak; çözücü ekstraksiyonu, moleküler distilasyon ve süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) gibi yöntemler uygulanmaktadır. Çözücü ekstraksiyonunda hekzan gibi çözücüler kullanılarak squalen etkili bir şekilde ayrılabilir. Ancak hekzanın yanıcı ve maliyetli olması, bu metodun kullanımını sınırlandırmaktadır. Kullanılan diğer bir yöntem ise yüksek vakum altında moleküler distilasyon yöntemidir. İç kısmında yoğunlaştırıcı bulunan bir evaporatör yüzeyine ince bir film tabaka olacak şekilde besleme yapılır. Çalışılan metaryele veya istenilen uygulamaya göre farklı sıcaklık ve vakumlar uygulanabilir (Lanzani vd. 1994, Spanova vd. 2011).

Nötralizasyon düşük asitli yağlara uygulanan asit giderme işlemidir. Fakat asitlik yüksek olduğunda nötralizasyon işleminin önemli düzeylerde nötral yağ kaybına neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bünyelerinde yüksek asit bulundurabilen zeytin, pirina, palm ve küflü fındıktan elde edilmiş fındık yağlarını işleyen firmalar genellikle

fiziksel rafinasyon (yüksek sıcaklıkta buhar distilasyonu) işlemi uygulamaktadır. Buhar distilasyonu işleminde yüksek sıcaklık ve düşük mutlak basınçta yağ asitleri damıtılmakta ve yağ verimi yüksek olmaktadır. Buna karşın, bu işlemden önce ham yağın bazı ön işlemlerden geçmesi ve fosfolipitlerin, ağır metallerin, renk maddelerinin ve mumların buhar distilasyonundan önce yağdan uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Moleküler distilasyon işlemi ise, daha ılımlı koşullarda ön işlem gerektiren, daha düşük sıcaklıklarda, yüksek vakumda ve buhar kullanılmadan uygulanabilen, böylece yağın yapısına zarar vermeyen ve verimi etkilemeyen bir yöntemdir. Buna ilaveten bu işlemle elde edilen distilatın bileşenlerine ayrılması su içermemesi nedeniyle daha kolaydır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, düşük asitli amarant tohumu yağından yaklaşık %6-8 squalen elde edilmiştir. Amarant yağından squalen izolasyonu moleküler distilasyon yöntemi ile denenmiş ve distilat kısmında en yüksek %76 kadar squalen saflaştırılabilmektedir (Sun vd. 1997).

Üçüncü ekstraksiyon yöntemi ise SFE kullanılan yöntemlerdendir. Çözücü olarak süper kritik karbondioksit kullanılır. Çünkü karbondioksit toksik değildir, yüksek buharlaşma özelliğine sahiptir ve düşük maliyetlidir. CO_2 7.38 MPa basınçta sıcaklık 31.1 °C'ye ulaştığında sıvı hale geçer. Bu yöntemle sıcaklığa duyarlı bileşiklerin zarar görmeden yüksek verimle ekstraksiyonu sağlanmaktadır. Bu proses hem çok pahalı olmaması, hemde solvent kullanımı gerektirmemesi sebebiyle yüksek kalitede ve verimde squalen eldesi de sağlamaktadır. Bu yöntemin dezavantajı ise kompleks bir ekipmanın olması, hassas bir bakım gerektirmesi ve ekstraksiyon örneklerinde çözücü kalıntılarının bulunmasıdır (Spanova vd. 2011).

Fiziksel Metod:Kimyasal Metod:

Ham Yağ	Ham Yağ
↓	↓
Degumming	Degumming
↓	↓
	Nötralizasyon
	↓
	Su ile yıkama
	↓
	Kurutma
	↓
Ağartma	Ağartma
↓	↓
Filtrasyon	Filtrasyon
↓	↓
Vinterizasyon	Vinterizasyon
↓	↓
Filtrasyon	Filtrasyon
↓	↓
Buhar Rafinasyonu	Deodorizasyon
↓	↓
Soğutma	Soğutma
↓	↓
Rafine yağ	Rafine yağ

Şekil 3.1 Yağlara uygulanan fiziksel ve kimyasal rafinasyon işlemi

Yağlar kullanıma sunulmadan önce rafinasyon adı verilen ve şekil 3.1’de görülen bir seri işleme tabi tutulur. Rafinasyon işlemi sonucu oluşan zeytinyağı deodorize distilatının squalen kaynağı olarak kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır, çünkü deodorize distilatta yani kalan kısmında % 10-30 oranlarında squalen bulunabilir. SFE yöntemi ile squalen izolasyonu yapıldığında, ürünlerde az miktarda da olsa karbondioksit kaldığı görülmektedir. Bunun sebebi, ters akım kolon ekstraksiyonunda CO₂’in çözünürlüğünün düşük olması ve serbest asitlerden squalen ayıramamasıdır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, problemi çözmek için farklı membranlar ile nanofiltrasyon denenmiş ve şaşırtıcı bir şekilde squalenin membranda oleik aside göre daha çok yayıldığı görülmüştür. Bu durum, membran ve molekül arasında farklı bir interaksiyon olması ile açıklanmıştır. En iyi ayırımın, polimetil siloxane ve poliamid membranda olduğu gözlenmiştir (Ruivo vd. 2008).

Başka bir çalışmada, squalen ayırma işleminden önce deodorize yağdaki trigliseritlerin transesterifikasyon yöntemi ile mono ve digliseritlere dönüştürülmesi için

transesterifikasyon kullanılmıştır. Bu yöntemle yüksek sıcaklık ve vakum altında gliserol ve toz çinko eşliğinde trigliseritlerin mono ve digliseritlere dönüştürülmesi ve asitliğin düşürülmesi sağlanmıştır (Bondioli vd. 1993). Squalen ayırma işlemi yapılabildiği olmasına rağmen SFE yöntemi ile köpek balığı karaciğerindeki kadar yüksek verimlerde squalen elde edilemediği görülmüştür.

Mikroorganizmaların da çok iyi birer squalen kaynağı oldukları bilinmektedir ve mikrobiyel olarak squalen eldesi hala araştırılan bir konudur. Bazı mikro organizmalardan elde edilen squalen sonuçları şu şekildedir; *Torulaspota delbrueckii* ~240 mg squalen/kg kuru ağırlık, *Pseudozyma sp.* ~340 mg/L squalene (Chang vd. 2008).

3.2 Squalenin Kullanım Alanları

3.2.1 Antioksidan etkisi

Yapılan çalışmalarda, squalenin serbest radikaller tarafından vücudun zarar görmesini engelleyen, normal hücreleri koruyan bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Squalenin antioksidan etkisi farklı hücrelerde farklı sonuçlar göstermiştir. Memelilerde squalen en çok epitel hücreler ve kemik iliği hücrelerinde antioksidan aktivite göstermektedir. Squalenin antioksidan aktivitesi düşük olmasına rağmen diğer kanser tedavi yöntemlerinin zararlarından korunmak için tercih edilebileceği düşünülmektedir (Das vd. 2008).

3.2.2 Gıda takviyesi olarak etkileri

Yapılan çalışmalarda squalenin kolesterol sentezinin başlangıç maddesi olmasına rağmen günlük kullanımda kolesterol seviyesini yükseltmediği görülmüştür. Yüksek tansiyonu olan belirli yaş grubundaki insanlar ile yürütülen bir klinik denemede günlük olarak squalen kullanımı sonucunda toplam ve LDL kolesterolün azaldığı, HDL

kolesterolün ise arttığı gözlenmiştir (Chan vd. 1996). Ayrıca squalen kandaki kolesterol seviyesini düşürdüğü için kalp ve damar hastalıklarının tedavisinde önerilmektedir (Banks vd. 2004). Fare ve köpeklerde yapılan bir çalışmada yüksek dozlardaki squalen tedavisi ile vücut yağı ve kandaki glikoz seviyesinin azaldığı görülmüştür (Kamimura vd. 1991, Liu vd. 2009).

Kemirgenler üzerinde yapılan bir çalışmada ise squalen'nin kolon, deri, eklem uru ve akciğer kanserinde anti-timör özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Yapılan bir çalışmada squalen tüketiminin göğüs kanserinin etki alanını azalttığı keşfedilmiştir. Ancak squalen'nin kanser hücresi haline gelmiş hücreleri tamamen yok edemediği de fark edilmiştir (Spanova vd. 2011).

Başka bir araştırmaya göre ise insanlar yüksek oranda squalen içeren amarant yağı diyetine tabi tutulmuş ve baş ağrılarında, halsizliklerinde, yorgunluklarında azalma olduğu ve kendilerini daha sağlıklı hissettikleri rapor edilmiştir. Bu durum squalenin insan sağlığı için önemli olduğunu göstermektedir (Martirosyan vd. 2007).

3.2.3 Endüstride kullanımı

Squalen eczacılık ve kozmetik ile ilgili uygulamalarda lipit emülsiyonu için sık sık kullanılmaktadır (Fox 2009). Squalen ve squalen formları lipofilik formdaki ilaç, aşı ve yardımcı maddeleri çözündürmek için oldukça stabil ve viskoz bir yapıya sahip olması nedeniyle tercih edilmektedir (Kim vd. 2003, Blasco vd. 2006). Ancak squalen'nin aşı olarak kullanımı hala tartışılan bir konudur (Lippi vd. 2010).

Squalen üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu üzerine güçlü antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir (Dessi vd. 2002). Squalen ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır (Nagao vd. 2013). Bu konuda tamamlanmış olan sadece bir çalışma mevcuttur (Sun vd. 1997). Bu çalışmada moleküler distilasyon yöntemi kullanılarak düşük asitli bir yağdan squalen %76'lar düzeyinde izole edilebilmiştir. Elde edilen distilat serbest asitlerce zengin olduğu için,

squalenin saflığını artırmak amacıyla distilasyon öncesinde veya sonrasında nötralizasyon işlemi uygulanmıştır.

Özet olarak squalen; klinik ve günlük kullanımda detoksifikasyon amaçlı, deri ve göz için antioksidan madde, bakteriyel, fungusidal ve oksijen gibi etkenlere karşı hücre koruyucu, eczacılık ve kozmetik alanında yumuşatıcı ve nemlendirici, miknatis şeridi ve düşük sıcaklıklarda gres yağı olarak kullanılmaktadır (Bahttaahrjee ve Shingal 2003).



4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 Materyal

Deodorize distilat 4K Kimya Tic. San ve A.Ş.'den, pirina yağı ise Verde Yağ Besin Maddeleri San. Tic. A.Ş.'den temin edilmiştir. Moleküler damıtma ünitesinde kullanılan teknik hekzan Birpa Kimyevi Maddeler Paz. ve Tic. Ltd. Şti (Ankara)'den temin edilmiştir. Analizler sırasında kullanılan çözücü ve standartlardan sodyum hidroksit, gliserol, toz çinko, dietil eter, silika jel (ince tabaka kromatografisi için) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından satın alınmıştır. Analizlerde kullanılan potasyum hidroksit, etil alkol, hekzan, asetik asit, ve susuz sodyum sülfat Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya)'ten satın alınmıştır. Tüm kimyasallar analitik saflıktadır. Lauril araşidat Sigma-Aldrich'den (St. Louis, MO, ABD), squalen ise 4K Kimya Tic. San ve A.Ş.'den temin edilmiştir.

4.2 Yöntem

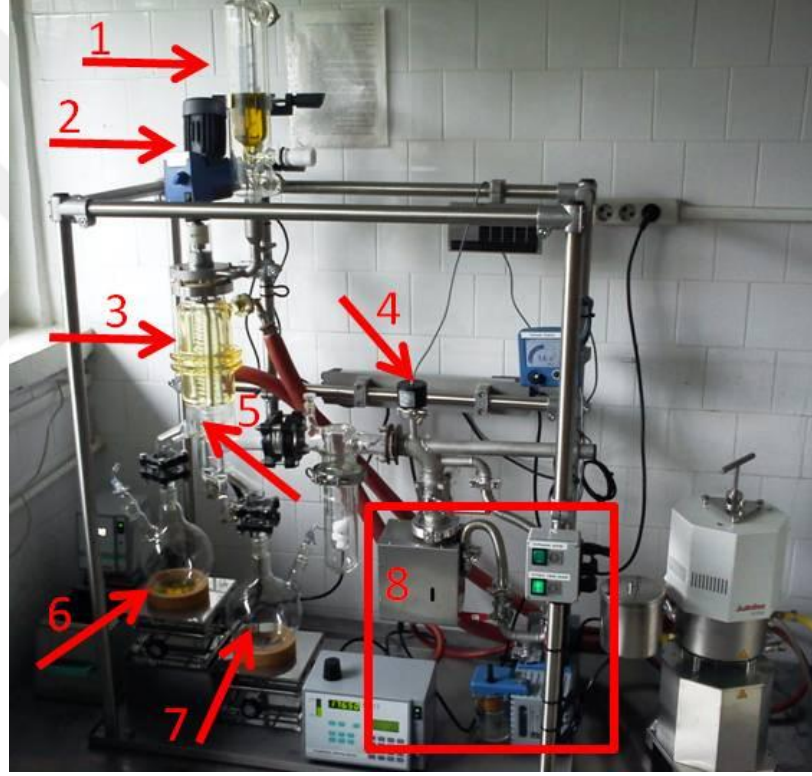
Moleküler damıtma işlemleri ve tüm kimyasal analizler 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar ortamında hazırlanan transesterifikasyon reaksiyon karışımı ve diğer yağ hammaddeleri, oksidasyon tepkimelerinden korunmak amacıyla azot gazı altında, +4 °C'de ve karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir.

4.2.1 Serbest asitlik analizi

Serbest asitlik analizi AOCS Official Method Ca 5a-40'a göre yapılmış ve tüm sonuçlar % oleik asit cinsinden verilmiştir.

4.2.2 Moleküler damıtma

Moleküler damıtma çalışmaları, özellikleri ve çalışma koşulları çizelge 4.1’de verilen laboratuvar ölçekli bir short-path evaporatör olan KDL5 (UiC GmbH, Alzenau, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.1’de Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü bünyesinde yer alan moleküler damıtma sistemi, şekil 4.2’de ise short-path evaporatör ve sıvayıcı kol sistemi gösterilmektedir.



Şekil 4.1 KDL5 model moleküler damıtma sistemi

1. Besleme, 2. Sıvayıcı kol motoru, 3. Short-path evaporatör, 4. Vakum transdüser, 5. Kondenser, 6. Atık toplama hattı, 7. Distilat toplama hattı, 8. Vakum pompası bloğu



Şekil 4.2 Yakın planda short-path evaporatör ve sıvayıcı kollar

Çizelge 4.1 Moleküler damıtma ünitesinin özellikleri ve çalışma koşulları

Evaporatör yüzey alanı:	0.048 m ²
Kondenser yüzey alanı:	0.065 m ²
Maksimum evaporatör sıcaklığı:	350 °C
Minimum mutlak basınç:	0.001 mbar
Yoğunlaştırıcı sıcaklığı:	20 °C
Besleme ünitesi sıcaklığı:	50 °C
Sıyırıcı kol hızı:	240 rpm
Besleme hızı:	3 mL / dak

Moleküler damıtma sisteminde tüm damıtmalar 100'er mL'lik besleme kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.3 Transesterifikasyon reaksiyonu

Pirina yağı deodorize distilatındaki trigliseritlerin transesterifikasyon yöntemi ile gliserole bağlanması Bondioli vd. (1993) tarafından uygulanan yöntemle yapılmıştır. Bu yöntemle yüksek sıcaklıklarda ve vakum altında gliserol ve bir katalizör eşliğinde serbest asitler gliseritlere dönüştürülmüştür.

4.2.4 Skualen miktarının belirlenmesi

Skualen miktarları, AOCS Official Method Ch 8-02'ye göre belirlenmiştir. Analiz sırasında gaz kromatografi cihazının çalışma koşulları çizelge 4.2-4.3'te belirtildiği gibidir:

Çizelge 4.2 Gaz kromatografi cihazının çalışma koşulları

Gaz kromatografi cihazı	Shimadzu GC-2010 (Japonya)
Dedektör	Alev İyonlaştırılmalı Dedektör (FID)
Kolon	HP-5 Fused Silica Kapiler Kolon (15 m, 0.32 mm iç çap, 0.25 µm film kalınlığı) (J&W Scientific, ABD)
Taşıyıcı gaz	He (1.80 mL/dakika.)
Split oranı	Bölünmesiz
Enjeksiyon bloğu sıcaklığı	300 °C
Dedektör sıcaklığı	350 °C

Çizelge 4.3 Kolon sıcaklık programı

	20 °C/dakika		5 °C/dakika		20 °C/dakika	
Başlangıç 80 °C (1 dakika)	→	240 °C	→	325 °C (6 dakika)	→	340 °C (10 dakika)

4.2.5 Yağlarda renk tayini

Yağların renk indeksi değerleri, AOCS Official Method Cc 13c-50 metodu kullanılarak hesaplanmıştır.

4.2.6 Çok amaçlı (Multi-objective) optimizasyon

Moleküler damıtma sonucunda elde edilen deneysel verilerin optimizasyonu için, distilat verimi üzerine sıcaklık ve basıncın etkisini incelemeye yönelik olarak 3 boyutlu yüzey grafikleri hazırlanmıştır. Basınç değerlerinin logaritmaları alınmış ve elde edilen deneysel veriler Statistica v10 (Statsoft, Tulsa, OK) istatistik programı kullanılarak

grafiklere yerleştirilmiştir. Grafiklerden elde edilen ikinci derece denklemler, 18 farklı optimizasyon algoritması içeren ve birden fazla hedef fonksiyonun optimize edilmesi gereken durumlarda kullanım kolaylığı ve etkin sonuçlar sunabilen modeFRONTIER v4.6 (ESTECO srl, Trieste, İtalya) yazılımı kullanılarak optimize edilmiştir. Optimizasyonda serbest bırakılan bağımsız değişkenler sıcaklık (T) ve basınç (P) değerleri olup, bu koşullara bağlı olarak değişen squalen miktarı ve distilat verimi bağımlı değişken olarak tanımlanmıştır. Hedef fonksiyonlar, sınır koşulları ve değişkenler 3.1 ve 3.2 numaralı eşitliklerde belirtilmiştir:

$$75 < \text{Maksimum (oleik asit)} = f_{\text{Oleik}}(P,T) < 100 \quad (4.1)$$

$$0 < \text{Maksimum (distilat verimi)} = f_{\text{Verim}}(P,T) < 100 \quad (4.2)$$

3.1 ve 3.2 eşitlikleri birlikte ele alındığında;

$$\text{Maksimum} (w_1 \cdot [f_{\text{squalen}}(P,T)] + w_2 \cdot [f_{\text{Verim}}(P,T)]) \quad (4.3)$$

olarak tanımlanabilir. Burada, w_1 ve w_2 fonksiyonlara verilen ağırlık değerlerini göstermekte olup, bağımsız değişkenlerin sınır koşulları ve ağırlık değerleri optimizasyon programına;

$$0.05 \leq P \leq 5 \text{ mmHg} ; 110 \leq T \leq 190 \text{ }^\circ\text{C} \quad (4.4)$$

$$w_1 + w_2 = 1 \quad (4.5)$$

şeklinde tanıtılmıştır. Burada, ağırlık değerleri toplamı 1 olmak koşuluyla, ön optimizasyon çalışmalarının sonuçlarına bağlı olarak keyfi belirlenmiştir. Squalen miktarı ve distilat veriminin maksimuma ulaştırılması amaçlanan optimizasyon çalışmalarında sezgisel optimizasyon metodu olarak “simplex” metodu seçilmiş ve toplam optimizasyon deneme sayısı 500, sonlandırma kesinliği 10^{-5} ve optimum noktaya ulaşmada izlenecek farklı yolların sayısı 25 olarak sisteme tanıtılmıştır.

5. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

5.1 Pirina Yağı ve Deoderize Distilattan Moleküler Distilasyon ile Squalen Eldesi

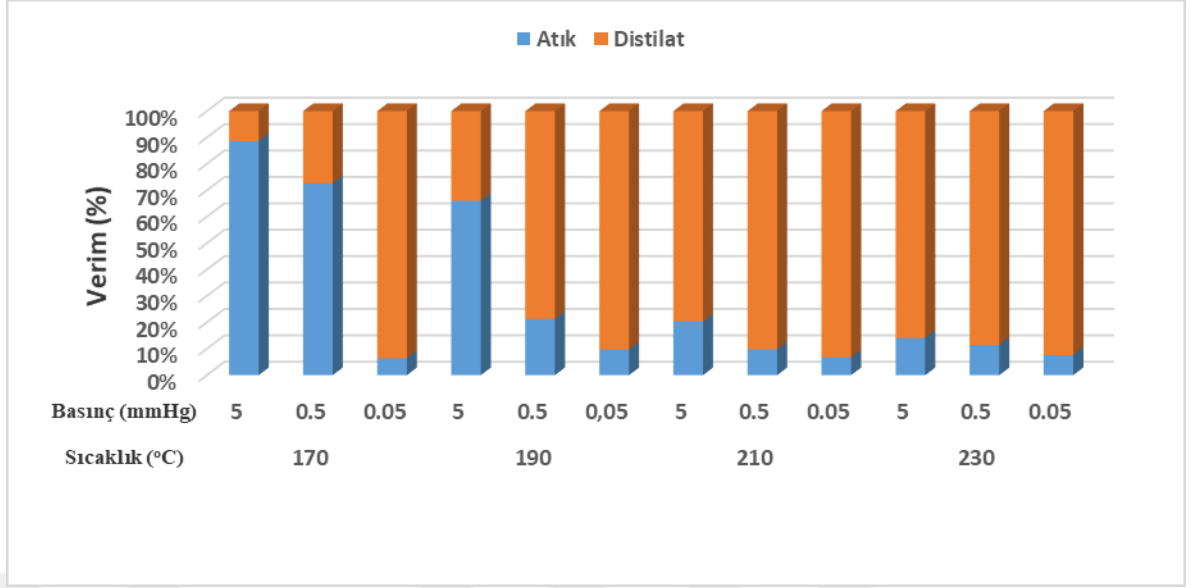
Pirina yağı ve deodorize distilattan squalenin izolasyonu için önce saf squalenin damıtma koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla 4K Kimya Tic. San ve A.Ş.'den firmasından elde edilen yüksek saflıktaki squalen farklı sıcaklık ve basınç değerlerinde damıtılmış ve verim optimizasyonu yapılmıştır. Yapılan analizde squalenin saflığının %99 seviyesinde olduğu belirlenmiştir.

5.1.1 Squalenin moleküler distilasyonu

Yüksek saflıktaki 100 g squalen 170, 190, 210, 230 °C sıcaklık ve 5, 0.5, 0.05 mmHg basınç koşullarında 3 mL/dak. besleme hızı ile iki tekerrürlü olarak damıtılmış ve elde edilen verim değerleri çizelge 5.1 ve şekil 5.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1 Atık ve distillatlara ait tartım sonuçları (g)

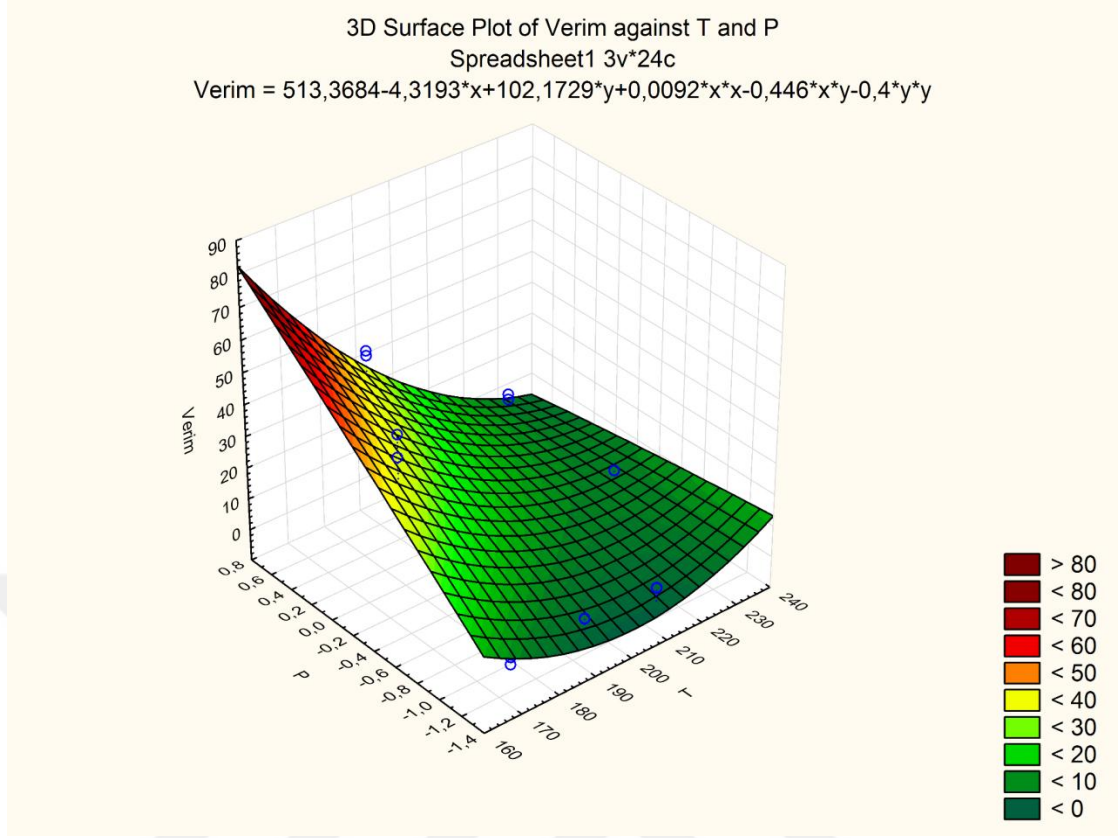
Basınç (mmHg)	Atık	Distilat	Atık	Distilat	Atık	Distilat	Atık	Distilat
	170 °C		190 °C		210 °C		230 °C	
5	58.62± 1.49	7.47 ±0.40	43.38 ±1.04	22.30 ±0.52	13.95 ±2.41	54.70 ±2.17	9.29 ±1.27	56.50 ±1.99
0.5	46.80± 5.00	17.60 ±6.39	13.27 ±2.64	49.03 ±0.85	6.42 ±0.14	59.23 ±0.30	7.53 ±0.10	57.90 ±0.32
0.05	4.22 ±1.59	61.85 ±1.17	5.93 ±0.10	55.13 ±0.21	4.38 ±0.14	60.73 ±0.05	5.07 ±0.49	60.97±0 .19



Şekil 5.1 Distilat ve atık verimlerine ait grafik

Çizelge 5.1’de görüldüğü üzere, sıcaklık artışı ve uygulanan mutlak basınç düşüşü ile damıtmalardan elde edilen distilat miktarı artmakta ve atık miktarı azalmaktadır. Düşük sıcaklıklarda uygulanan mutlak basıncın squalen verimi üzerine oldukça etkili olduğu gözlenmektedir. Ancak sıcaklık arttıkça basıncın etkisinin de azaldığı görülmektedir.

Şekil 5.2’de verilen squalenin damıtılması ile elde edilen atıkların verim değerleri kullanılarak Statistica İstatistik programı ile aşağıdaki üç boyutlu grafik elde edilmiştir. Optimizasyonun atıkta yapılmasının nedeni damıtmalar sırasında kondenserde bir miktar squalenin tutulması ve distilata geçememesidir. Nitekim Çizelge 5.1’de de görüldüğü gibi, atık ve distilat toplamı başlangıç değerini (100g) vermemektedir. Bu durum özellikle doğrudan verim üzerine yapılacak distilasyonlarda dikkat edilmesi gereken bir husustur. Bu işlemden atıkta % 5’in altında squalen kalması hedeflenmiştir.



Şekil 5.2 Atık verimlerine ait üç boyutlu grafik

Grafikte de görüldüğü gibi, en düşük atık değerleri yüksek sıcaklık ve düşük basınçta elde edilmiştir ve bu bölge grafikte koyu yeşil alan olarak dikkat çekmektedir. Ayrıca yukarıdaki grafiği ifade eden denklem modeFRONTIER optimizasyon programında kullanılmıştır. Buna göre,

$$f=513,3684-4,3193*x+102,1729*y+0,0092*x*x-0,446*x*y-0,4*y*y$$

denklemini x: sıcaklık ve y: basınç olmak üzere $f < 5$ sınır koşulları ile programda tanımlanmıştır.

min[f] fonksiyonu ile çalıştırılan programında 0.07 mmHg basınç ve 195.18 °C sıcaklıkta 3.01 gram atık değeri bulunmuştur.

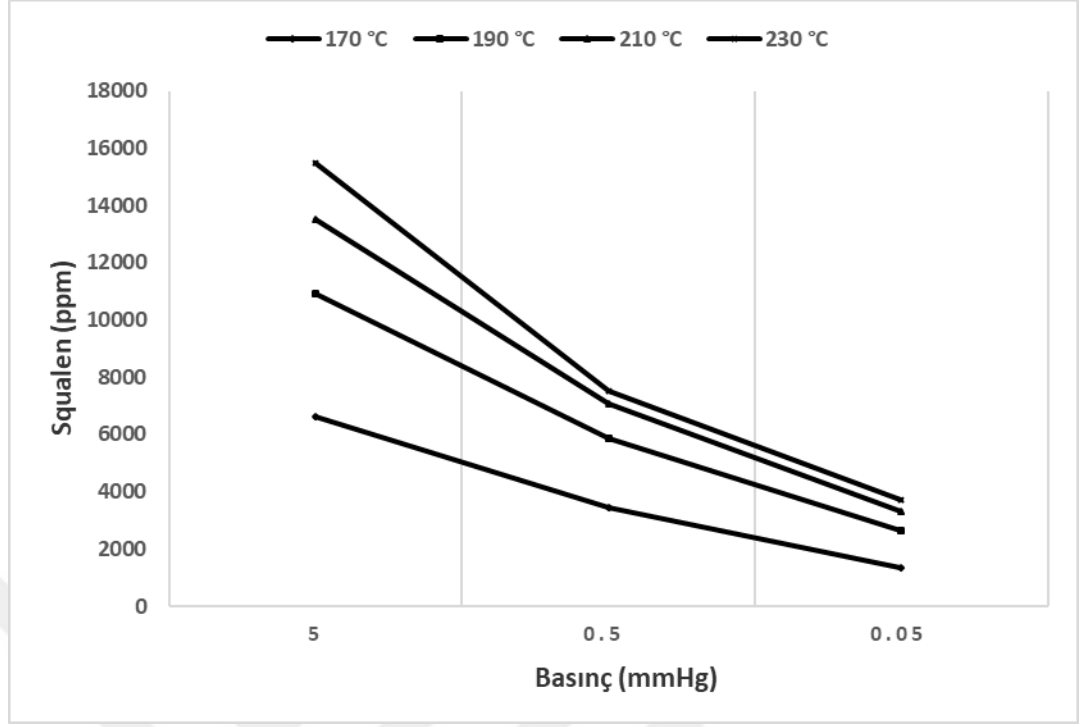
Programın verdiği 0.07 mmHg basınç ve 195.18 °C sıcaklık değerlerinde, doğrulama amacıyla squalen tekrar damıtılmış ve atık miktarı iki tekerrürün ortalaması olarak 6.54 g bulunmuştur. Optimizasyon programının verdiği değerden farklı olması programın kullandığı metot gereğidir. Verim optimizasyonundan elde edilen değer %5'in üzerinde çıktığı için, pirina yağı ve deodorize distilatta squalen damıtma koşullarının aynı uygulanmasına karar verilmiştir. Çünkü saf squalenin aksine, gerek pirina yağı, gerekse deodorize distilatta, squalenin dışında başka bileşikler de bulunmakta ve verilen ısının bir kısmı söz konusu bu bileşikler tarafından tutulmaktadır. Bu nedenle pirina yağı ve deodorize distilat damıtmalarında saf squalen verimleri daha yüksek sıcaklıklarda elde edilebilir.

5.2 Pirina yağından squalenin distilasyonu

Pirina yağı, squalen eldesi amacıyla damıtılmadan önce serbest asitlerinden ve renk maddelerinden uzaklaştırılmış ve damıtmalarda ağartılmış pirina yağı kullanılmıştır. Pirina yağı da saf squalenin damıtma koşullarında damıtılmış ve bulgular çizelge 5.2 ve şekil 5.3'te verilmiştir.

Çizelge 5.2 Farklı sıcaklık ve basınçlarda damıtılan pirina yağındaki squalen miktarları

Basınç (mmHg)	Squalen (ppm)			
	170 °C	190 °C	210 °C	230 °C
Ağartılmış Pirina	8627.7±36.23	8627.7±36.23	8627.7±36.23	8627.7±36.23
5	6636.3±28.28	4045.5±29.95	2317.4±52.61	1316.3±48.32
0.5	3425.4±27.48	2620.5±40.14	1118.7±35.02	440.2±27.66
0.05	1357.6±42.43	1132.9±41.66	708.1±25.74	364.1±51.22



Şekil 5.3 Farklı sıcaklık ve basınçlarda damıtılan pirina yağındaki squalen miktarları

Çizelge 5.2 ve şekil 5.3 incelendiğinde, saf squalen damıtılmasının aksine, hedeflenen % 5 kalıntı squalen miktarına ancak yüksek sıcaklık ve yüksek vakum değerlerinde ulaşılabildiği görülmektedir. Buna göre, 210 °C, 0.05 mmHg koşulunda yağda kalan squalen miktarı % 8.2 iken, 230 °C, 0.5 mmHg'de % 5.1 ve aynı sıcaklık 0.05 mmHg'de ise % 4.2'dir. Bu sonuçlara göre, ağartılmış pirina yağından 230 °C ve 0.05 mmHg mutlak basınçta yapılan damıtmada hedeflenen %5 değerinin altında (% 4.2) squalen eldesi sağlanabilmiştir. Ancak sanayide bu basınç değerlerine düşmek oldukça zor olduğu için, squalen damıtılması amacıyla 230 °C sıcaklıkta 0.5 mmHg mutlak basıncın yeterli olacağı düşünülmektedir. Bu koşulda elde edilen kalıntı squalen de % 5.1'dir ve hedeflenen değere çok yakındır.

5.2.1 Renk değerlerine ait bulgular

Pirina yağından squalen eldesi için uygulanan yüksek sıcaklıklar sebebiyle renk kararması veya renk değiştirmesi söz konusu olabileceği düşünülerek, çalışmalarda ağartılmış pirina yağı kullanılmıştır. Fakat ağartma işlemlerinin yağlardaki renk

maddelerinin tamamını uzaklaştırmadığı da bilinen bir gerçektir. Özellikle renk maddelerince zengin olan ham pirina yağı düşünüldüğünde bu renk maddelerinin yağda kalan miktarının daha fazla olduğu da göz önüne alınmalıdır. Bu nedenle damıtma işlemlerinden sonra pirina yağında da renk değişimleri izlenmiştir.

Ağartılmış pirina yağının farklı koşullarda damıtılması sonucu elde edilen renk değerleri çizelge 5.3’de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi ağartılmış pirina yağına ait L, a ve b değerleri sırasıyla 93.06, -11.18, 57.60 olarak tespit edilmiştir. Ağartılmış pirina yağının 170, 190, 210 ve 230 °C sıcaklık ile 0.05, 0.5 ve 5 mmHg basınçlarda damıtılması sonucu elde edilen damıtılmış pirina yağının renk analizi verileri incelendiğinde, yüksek sıcaklıklarda ve düşük basınçlarda yapılan distilasyon işlemlerinde, yağın L, a ve b değerlerinde önemli değişimler gözlenmemiştir. Nitekim yapılan istatistik analiz sonucunda da L*, a ve b değerlerine ait *p* değerleri sırasıyla 0.382, 0.708 ve 0.779 bulunmuştur. Elde edilen *p* değerleri >0.05 olduğu için bu değerlere ait renkler arasındaki farkın önemsiz olduğu sonucuna varılmıştır. Damıtmalarda kullanılan yağın asitliği çok düşüktür ve damıtma işlemlerinde yağdan SYA uzaklaştırılmadığı için renk değerlerinde de kayda değer değişimler gözlenmemiştir. Diğer taraftan yağdan önemli oranda squalen damıtma yoluyla alınmasına rağmen renkte değişim olmaması, squalenin renk üzerine etkili olmadığını göstermektedir. Bu nedenle ağartılmış ve düşük asitli bir pirinadan renk değerleri değişmeden 230 °C’de 0.5 mmHg civarında bir mutlak basınç uygulanarak squalen eldesi yapılabilir.

Çizelge 5.3 Farklı koşullarda damıtılmış pirina yağına ait renk değerleri

Distilasyon Koşulları		Renk değerleri		
Sıcaklık (°C)	Basınç (mmHg)	L*	a	b
Ağartılmış pirina yağı		93.06± ^C 0.65	-11.18± ^c 0.54	57.60± ^{XY} 0.76
170	5	88.21± ^{AB} 0.77	-9.78± ^{ab} 0.32	55.78± ^{XY} 0.25
	0.5	86.12± ^A 0.28	-9.04± ^{ab} 0.02	55.94± ^{XY} 0.99
	0.05	88.08± ^{AB} 0.72	-9.53± ^{ab} 0.28	55.60± ^X 1.50
190	5	88.55± ^{AB} 0.36	-9.69± ^{ab} ±0.23	57.72± ^{XY} 1.13
	0.5	88.26± ^{AB} 0.20	-9.95± ^{ab} 0.11	56.44± ^{XY} 0.82
	0.05	88.68± ^{AB} 0.54	-9.76± ^{ab} 0.27	55.79± ^{XY} 1.48
210	5	88.16± ^{AB} 0.28	-9.06± ^{ab} 0.01	58.85± ^{XY} 1.40
	0.5	87.87± ^{AB} 0.57	-8.79± ^{ab} 0.35	59.15± ^{XY} 1.77
	0.05	87.85± ^{AB} 1.17	-8.83± ^{ab} 0.76	58.08± ^{XY} 1.68
230	5	87.27± ^{AB} 0.66	-8.39± ^{ab} ±0.30	60.14± ^{XY} 2.03
	0.5	87.16± ^{AB} 0.75	-8.48± ^{ab} 0.33	59.91± ^{XY} 1.63
	0.05	86.76± ^{AB} 0.37	-7.96± ^a 0.39	60.06± ^{XY} 1.46

$p < 0.05$ (Aynı sütundaki farklı harfleri içeren grupların ortalamaları arası fark önemlidir)

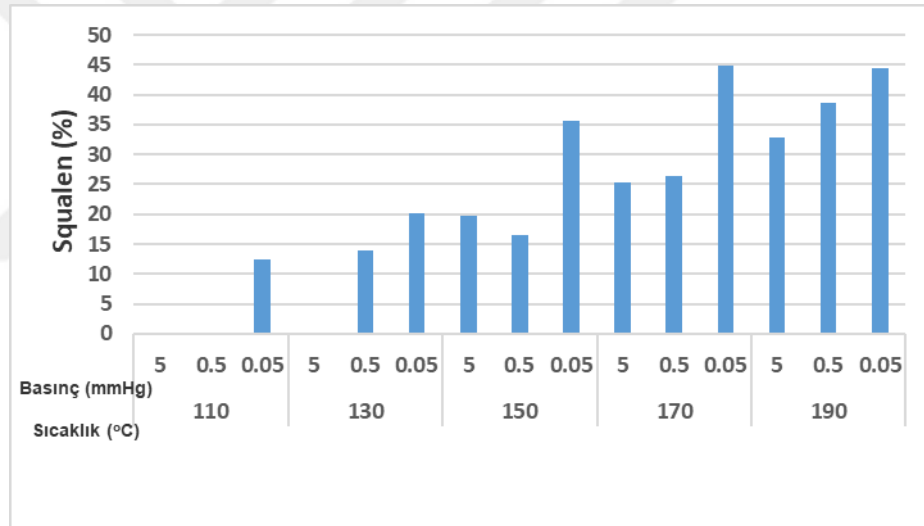
5.3 Deoderize Distilattan Squalen Eldesi

Zeytinyağı ve pirina yağı yüksek oranda bitkisel squalen içermektedir. Yüksek asitli zeytinyağı ile pirina yağı öncelikle yüksek sıcaklıklarda fiziksel rafinasyona tabi tutulur ve asitlikleri belirli düzeylere düşürülür. Buradan elde edilen distilatlar da gerek serbest asitlik, gerekse squalen yönünden oldukça zengindir. Çalışmamızda da zeytinyağı ve pirina yağı rafinasyonu yapan bir firmadan temin edilen deodorize distilat kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan deodorize distilatta % 20.92 oranında squalen ve % 49.16 düzeyinde serbest asitlik bulunmuştur. Yüksek serbest asitlik nedeniyle, deodorize distilat düşük sıcaklıklardan başlanarak distile edilmiştir. Buradaki amaç düşük sıcaklıklarda distilattaki squalen-asitlik verilerini gözlemleyip, sanayide yapıldığı gibi ikinci bir distilasyonla squaleni daha saf elde edebilmektir. Yapılan damıtmalar sonucu squalen miktarlarındaki değişim çizelge 5.4 ve şekil 5.4'de verilmiştir.

Çizelge 5.4 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen miktarları

Basınç (mmHg)	Squalen (%)				
	110 °C	130 °C	150 °C	170 °C	190 °C
Deoderize Distilat	20.92±1.15	20.92±1.15	20.92±1.15	20.92±1.15	20.92±1.15
5	0	0	19.75±0.80	25.31±1.51	30.80±1.20
0.5	0	7.03±0.35	16.58±0.21	26.44±1.32	38.63±1.46
0.05	12.40±1.52	17.59±0.14	34.63±1.84	43.76±1.74	44.35±1.90



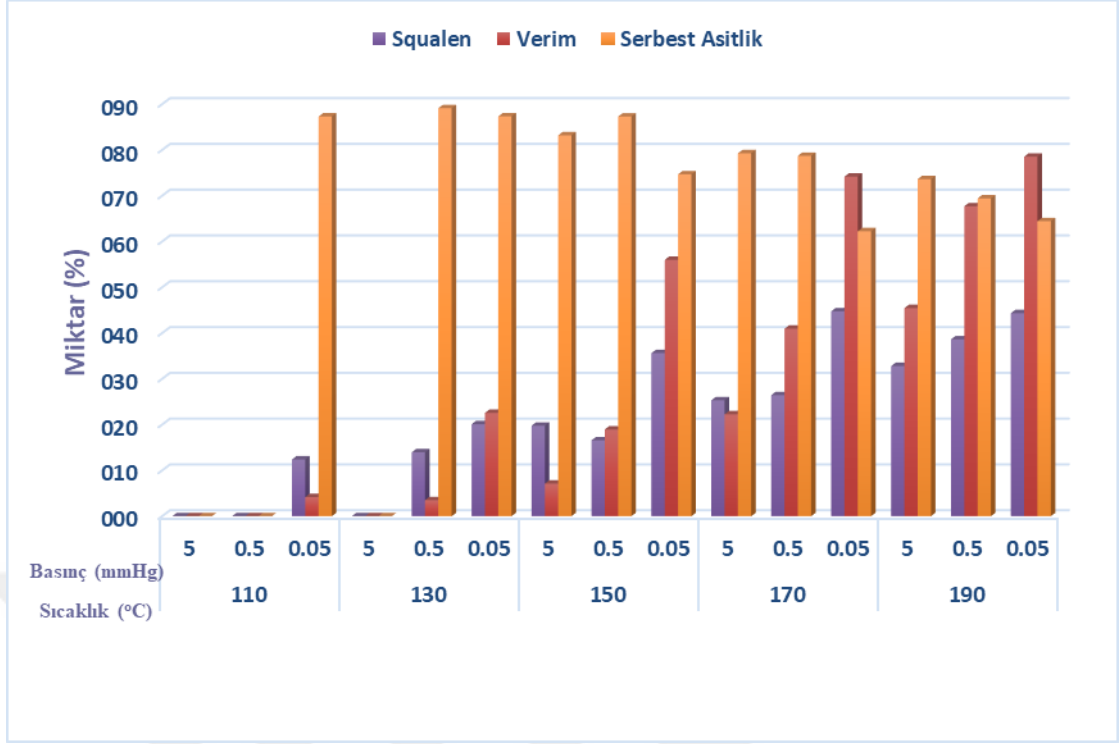
Şekil 5.4 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen dağılımı

Çizelge 5.4'de de görüldüğü gibi uygulanan en düşük mutlak basınçta (0.05 mmHg) 110, 130 °C de elde edilen squalen miktarları sırasıyla % 12.40 ve % 17.59 bulunurken 150, 170 ve 190 °C sıcaklıklara çıkıldığı zaman squalen miktarları sırasıyla % 34.62, % 43.76 ve % 44.35 bulunmuştur. Sıcaklığın squalen saflaştırılmasındaki önemi aynı zamanda basınçların artışları ile de doğru orantılıdır. 190 °C de 5, 0.5 ve 0.05 mmHg basınçlardaki squalen miktarlarının sırasıyla % 30.80, % 38.63, % 44.35 olduğu tespit edilmiştir. Squalen saflaştırılması işleminde yüksek sıcaklık ve vakumun etkili olduğu

anlaşılmaktadır. Fakat yapılan damıtmalarda bir taraftan squalen elde edilirken, diğer taraftan serbest asitlerin distilat fazına yüksek oranlarda geçtiği görülmektedir. Nitekim çizelge 5.5 ve şekil 5.5 incelendiğinde, squalen miktarının distilatta artışına karşın, serbest asitliğin yeterince azalmadığı görülmektedir. 0.05 mmHg' da 170 ve 190 °C'de squalen miktarı sırasıyla % 43.76 ve % 44.35'e kadar çıkarken serbest asitlikler de sırasıyla % 62.24 ve % 64.43 olarak bulunmuştur. Bu durum serbest asitlerin distilasyonda verilen ısının önemli bir kısmını aldığını ve buharlaşabildiğini göstermektedir. Diğer taraftan elde edilen distilatlar yüksek asitlidir ve ne ikinci bir damıtma ne de nötralizasyon yapabilmek için uygun bulunmamışlardır. Bu nedenle söz konusu damıtma işlemleri 190 °C'de kesilmiş ve deodorize distilattaki asitliğin transesterifikasyonla gliseritlere bağlanarak, serbest asitliğin mümkün olduğunca düşürülmesine ve damıtmaların daha önceki uygulamalarda yapılan koşullarda yapılmasına karar verilmiştir. Böylece verilen enerjinin serbest asitlerin buharlaşma gizli ısısı için harcanmayacağı ve deodorize distilattan squalen veriminin artacağı düşünülmüştür.

Çizelge 5.5 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen ve serbest asitlik dağılımı (%)

Distilasyon Koşulları		Atık		Distilat		
Sıcaklık (°C)	Basınç (mmHg)	Verim	Serbest Asitlik	Verim	Serbest Asitlik	Squalen
Deoderize Distilat					49.34±0.68	20.92±1.15
110	5	100.00	49.17±0.50	0.00	0.00	0.00
	0.5	100.00	49.09±0.16	0.00	0.00	0.00
	0.05	95.83	46.98±1.01	4.17±1.31	87.31±1.55	12.40±1.52
130	5	100.00	49.43±0.98	0.00	0.00	0.00
	0.5	96.50	47.83±2.41	3.50±0.77	89.11±0.80	7.03±0.35
	0.05	77.44	38.52±2.29	22.56±0.38	87.34±0.38	17.59±0.14
150	5	92.88	45.55±1.85	7.12±2.98	83.20±1.75	19.75±0.80
	0.5	81.06	39.88±2.57	18.94±1.93	87.30±4.08	16.58±0.21
	0.05	44.01	19.02±0.42	55.99±2.71	74.67±3.17	34.63±1.84
170	5	77.75	39.71±1.30	22.25±3.70	79.28±2.18	25.31±1.51
	0.5	59.04	28.97±2.96	40.96±5.37	78.70±4.84	26.44±1.32
	0.05	25.82	17.21±0.86	74.18±0.19	62.24±3.83	43.76±1.74
190	5	54.54	27.32±1.27	45.46±0.01	73.62±2.57	30.80±1.20
	0.5	32.32	12.85±0.69	67.68±1.27	69.42±0.13	38.63±1.46
	0.05	21.48	17.18±1.26	78.52±1.56	64.43±5.62	44.35±1.90



Şekil 5.5 Deodorize distilatın damıtılması sonucunda elde edilen distillatlara ait squalen ve serbest asitlik dağılımı

5.3.1 Transesterifikasyon reaksiyon süresinin serbest yağ asitleri ve squalen miktarı üzerine etkisi

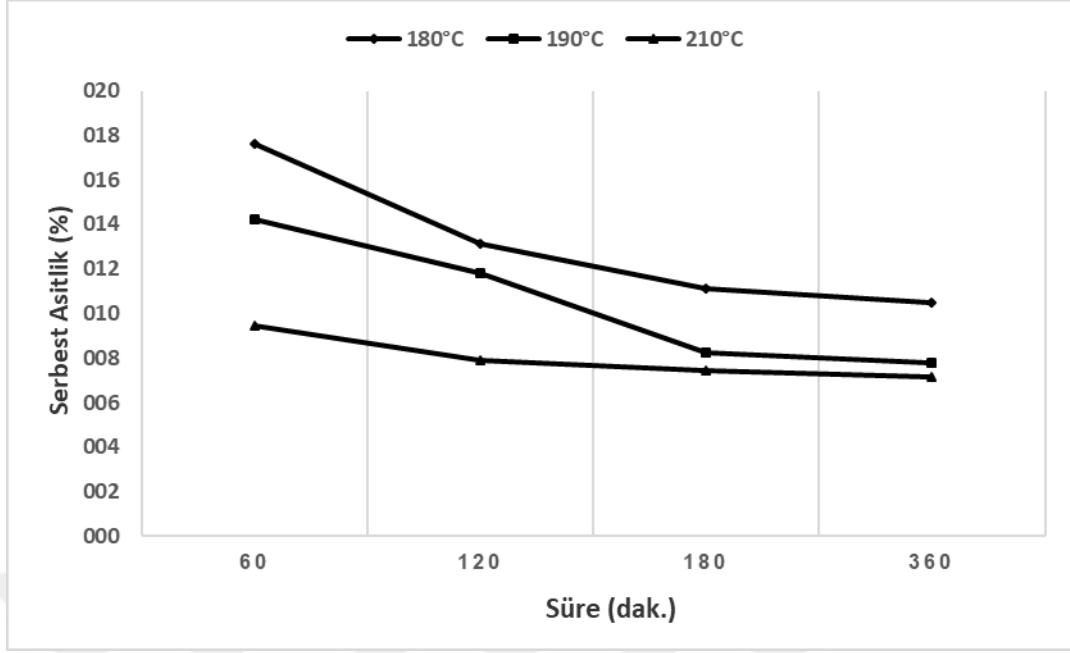
Dedodorize distilatta bulunan serbest asitlerin gliseritlere bağlanması amacıyla uygun bir katalizör eşliğinde ve vakum altında deodorize distilat gliserolle reaksiyona sokulmuştur. Öncelikle Bondioli vd. (1993) tarafından önerilen 180 °C sıcaklık kullanılmış, fakat bu sıcaklıkta 6 saat reaksiyon yapılsa bile %10 serbest asitlik değerinin altına düşülemedi (Çizelge 5.6 ve Şekil 5.6). Metodun alındığı kaynakta söz konusu reaksiyon için sadece sıcaklık değeri verilirken süreden bahsedilmemiştir. Fakat serbest asitliğin %1'in altına düşeceği belirtilmiştir. Denememizde 360 dakika gibi uzun bir süre kullanmamıza rağmen, bahsedilen asitlik değerine düşülemedi. Bu nedenle sıcaklık yükseltilmiş ve reaksiyon, hesaplanan gliserol ve katalizör oranları sabit tutularak 190 °C'de yapılmıştır. Bu sıcaklıkta da yine, 60, 120, 180 ve 360 dakika olmak üzere dört farklı süre denenmiş ve 360. dakika sonunda % 7.87 değerine ulaşılabilmektedir. Daha düşük asitlik değerlerine ulaşabilmek için, sıcaklık 210 °C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta da 4 farklı sürede (60, 120, 180 ve 360 dakika) serbest asitlik

değerleri ölçülmüştür. Özellikle 120. dakikadan sonraki sürelerde serbest asitlikte çok önemli değişimler gözlenmemiş ve serbest asitliğin 190 °C’de olduğu gibi, % 7’ler civarında sabitlendiği görülmüştür. Nitekim 210 °C’de 120, 180 ve 360. dakikalarda elde edilen serbest asitlik değerleri sırasıyla % 7.88, 7.43 ve 7.15 olarak ölçülmüştür.

Çalışmanın bu kısmında yüksek squalen içerikli (% 40 olarak ölçülmüştür) bir deodorize distilat kullanılmıştır. Söz konusu sıcaklıklarda gerçekleştirilen reaksiyonların tamamı geri soğutucu kullanılarak yapılmasına rağmen özellikle sıcaklık yükseldikçe önemli düzeyde squalen kayıpları yaşanmıştır. Yapılan analizlerde 210 °C’deki atıkta kalan squalen değerlerinin % 10’dan daha düşük olduğu gözlenmiştir. 190 °C’deki değerler ise % 30’lar civarındadır. Nitekim 190 °C’de 360 dakikalık reaksiyon sonucunda serbest asitlik % 49.34’ten % 7.87’ye düşürülürken, içerikte % 27.99 oranında squalen kaldığı belirlenmiştir (Çizelge 5.7). Bu nedenle distilasyonlar için hazırlanacak yağ örneklerinin 210 °C 120 dakika yerine 190 °C 360 dakika olmasına karar verilmiştir. Reaksiyonlar sırasında ortamdan uzaklaşan squalenin önemli bir kısmı vakum pompasından önce kullanılan tuzakta tutulmaktadır. Çalışmamızda bu kısım tekrar reaksiyon içeriğine dahil edilmemiştir. Çünkü elde edilen %27.99’luk squalen distilasyonlar için oldukça uygundur. Squalen kayıplarının ise sürekli bir sistemle önlenebileceği düşünülmektedir.

Çizelge 5.6 Farklı sıcaklık ve sürelerin distilatın serbest yağ asitliği üzerine etkisi

Süre (dak)	Serbest Asitlik (%)		
	180°C	190°C	210°C
Deoderize distilat	49.34±0.53	49.34±0.53	49.34±0.53
60	17.63±0.11	14.22±0.62	9.47±0.23
120	13.13±0.24	11.83±0.10	7.88±0.18
180	11.13±0.53	8.26±0.31	7.43±0.11
360	10.49±0.16	7.87±0.16	7.15±0.27



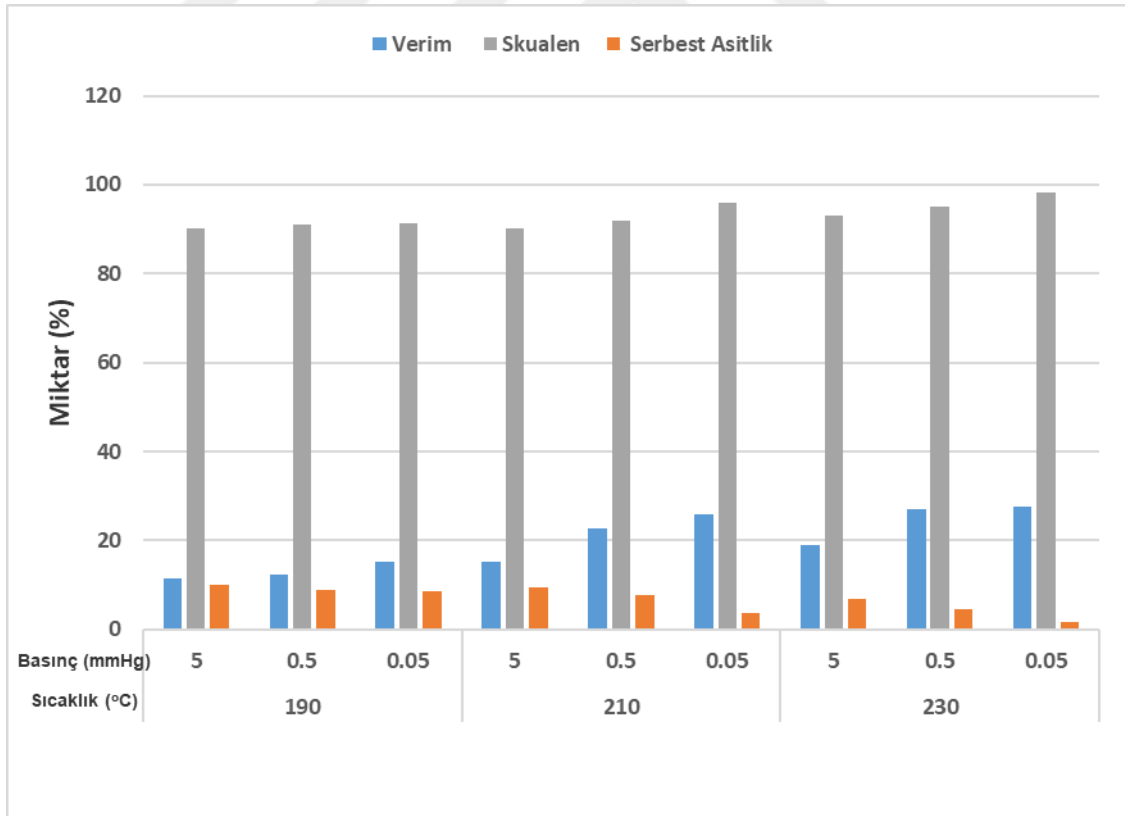
Şekil 5.6 Farklı sıcaklık ve sürelerin distilatın serbest yağ asitliği üzerine etkisi

5.3.2 Moleküler distilasyonun squalen verimine etkisi

Ağartılmış pirinaya ait damıtma sonuçları çizelge 5.4'den incelendiğinde, 190 °C ve daha yüksek sıcaklıklarda yapılan damıtma işlemlerinde squalen veriminin arttığı görülebilmektedir. Bu nedenle transesterifikasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ve %7.87 serbest asitlik ile % 27.99 oranında squalen içeren karışım, 190, 210 ve 230 °C sıcaklıklar ile 0.05, 0.5 ve 5 mmHg basınçlarda damıtma işlemlerine tabi tutulmuştur. Yapılan damıtmalara ait veriler çizelge 5.7 ve şekil 5.7'de verilmiştir.

Çizelge 5.7 Reaksiyon sonucu elde edilen karışımın damıtılması sonucu distilata ait veriler

Damıtma Koşulları		Verim (%)		Distilat		
Sıcaklık (°C)	Basınç (mmHg)	Atık	Distilat	Serbest Asitlik (%)	Squalen (%)	Squalen (ppm)
Damıtma Başlangıcı				7.87±0.54	27.99±1.22	279918.1±12242.2
190	5	88.41±0.33	11.59±0.33	9.92±0.35	90.08±1.17	900823.5±11770.1
	0.5	87.52±0.13	12.48±0.13	8.84±0.48	91.14±1.25	911437.0±12547.1
	0.05	84.86±0.11	15.14±0.11	8.59±0.24	92.39±2.07	923912.6±15760.7
210	5	84.90±0.13	15.10±0.13	9.62±0.52	90.29±1.35	902864.2±13487.9
	0.5	77.16±0.39	22.84±0.39	7.81±0.38	91.86±0.98	918591.9±9875.5
	0.05	74.07±0.19	25.93±0.19	3.77±0.27	95.93±1.58	959279.5±15793.3
230	5	81.04±0.72	18.96±0.72	6.81±0.34	93.06±1.41	930594.5±14163.5
	0.5	72.94±0.32	27.03±0.32	4.62±0.48	95.15±1.12	951455.8±11975.6
	0.05	72.28±0.56	27.72±0.56	1.78±0.58	98.12±1.31	981178.8±12859.7



Şekil 5.7 Reaksiyon sonucu elde edilen karışımın damıtılması sonucu distilata ait bilgiler

Bulgular incelendiğinde, ağartılmış pirina damıtılmasına benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Sıcaklık ve vakum yükseldikçe elde edilen distilat ve bu distilattaki squalen miktarı yükselmiştir. Burada ilginç olan nokta ise, distilattaki serbest asitliğin sıcaklık yükselişi ve vakum artışı ile düşmesidir. Bu durum işletmeler için oldukça önemlidir. Çünkü distilatta kalan yağ asitlerinin de nötralizasyonla alınması gerekmektedir ve bu miktar ne kadar yüksekse, nötralizasyon sırasındaki squalen kaybı da o kadar yüksek olacaktır. 230 °C ve 0.05 mmHg mutlak basınçta yapılan damıtma işlemlerinde squalenin % 98.12'si alınırken, serbest asitlik % 1.78'e düşmüştür. Yine bu koşulda verim % 27.72'dir, yani squalenin tamamına yakını alınabilmiştir.

210 °C ve 0.05 mmHg'da verim % 25.93'tür ve bu karışımdaki squalen yüzdesi % 95.93, serbest asitlik ise %3.77 olarak bulunmuştur. 190 °C ve 0.05 mmHg'da ise verim % 15.14'tür. Bu koşulda da squalen verimi %90'ın üzerinde olmasına rağmen, serbest asitlik %8.59'dur. Sıcaklık yükseldikçe, vakumun verim üzerine etkisi azalmaktadır. Fakat serbest asitlik üzerine etkisi devam etmektedir. 210 °C, 0.05 mmHg ile 230 °C, 0.05 ve 0.5 mmHg mutlak basınçlarda yapılan damıtma işlemlerinde hem yüksek verim hem de yüksek squalen oranları elde edilmiştir. Fakat serbest asitlikler özellikle vakum veya sıcaklık düştükçe artmaktadır. Buna rağmen hem verimin hem de squalenin yüksek olduğu ve sanayinin uygulayabileceği vakum değerleri arasında bulunduğu için, 230 °C ve 0.5 mmHg koşulunun squalen eldesinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Bu sonuç pirina yağından squalen eldesi için de önerilmiştir.

6. SONUÇ

Squalen ülkemiz açısından son derece önemli bir üründür. Çünkü zeytinyağının bünyesinde önemli oranda bulunan squalen maalesef daha çok deodorize distilatta kalmakta ve bu distilat ta düşük fiyatlara dökme olarak yurt dışına satılmaktadır. Projede elde edilen sonuçlar ise, yüksek asitli deodorize distilatların uygun katalizör kullanıldığında kısa sürede gliseritlere dönüştürülebildiğini, yine uygun koşullarda yapılacak distilasyon işlemiyle de yüksek oranda ve verimde squalen eldesinin mümkün olabileceğini göstermektedir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, transesterifikasyon işlemleri sırasında elde edilecek distilatın sürekli olarak sisteme geri verilmesidir.

Çalışmada squalenin damıtma koşullarını belirlemek amacıyla önce saf squalen ile çalışılmış ve bulgular Mode FRONTIER yöntemiyle optimize edilmiştir. Yapılan optimizasyon sonucunda, 0.07 mmHg basınç ve 195.18 °C sıcaklıkta yapılan damıtmalar sonucunda, 3.01 gram atık değeri bulunmuştur. Bu bulgulara göre, ağartılmış pirina yağında squalenin tek damıtmayla alınmasına çalışılmıştır. Bu amaçla 170-230 °C sıcaklık aralığında, 0.05-0.5 mmHg basınç aralığı kullanılmıştır. Pirinada % 5 ve altında squalen bırakılması hedeflenmiştir.

Yapılan damıtma işlemleri sonucunda, sanayinin de uygulayabileceği 230 °C sıcaklıkta 0.5 mmHg mutlak basınç koşulu belirlenmiştir. Bu koşulda elde edilen kalıntı squalen de %5.1'dir ve hedeflenen değere çok yakındır. Kullanılan materyal ağartılmış pirina yağı olmasına rağmen, damıtma işlemleri sırasında rengin değişebileceği düşüncesiyle, tüm distilasyonlardan sonra kalıntıda renk analizi yapılmıştır. Sonuçta, yağdan önemli oranda squalen damıtma yoluyla alınmasına rağmen renkte herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Araştırmada kullanılan deodorize distilatta % 20.92 oranında squalen ve % 49.16 düzeyinde serbest asitlik bulunmuştur. Öncelikle serbest asitliğin ilk distilasyonla alınması ve kalan kısımdan 2. distilasyonla squalenin alınması hedeflenmiştir. Fakat yapılan damıtmalarda bir taraftan squalen elde edilirken, diğer taraftan serbest asitlerin distilat fazına yüksek oranlarda geçtiği görülmüştür. Nitekim 0.05 mmHg' da 170 ve

190 °C da squalen miktarı sırasıyla %43.76 ve %44.35'e kadar çıkarken serbest asitlikler de sırasıyla %62.24 ve %64.43 olarak bulunmuştur. Bu nedenle, deodorize distilattaki asitliğin transesterifikasyonla gliseritlere bağlanarak, serbest asitliğin mümkün olduğunca düşürülmesine ve damıtmaların daha önceki uygulamalarda yapılan koşullarda yapılmasına karar verilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, transesterifikasyon reaksiyonunun 190 °C'de 360 dakika olmasına karar verilmiştir. Bu koşulda serbest asitlik % 49.34'ten % 7.87'ye düşürülürken, içerikte % 27.99 oranında squalen kaldığı belirlenmiştir. Bu karışım 190, 210 ve 230 °C sıcaklıklar ile 0.05, 0.5 ve 5 mmHg basınçlarda damıtma işlemlerine tabi tutulmuştur. Damıtmalarda, sıcaklık ve vakum yükseldikçe squalen verimi de artmıştır. Nitekim, 230 °C ve 0.05 mmHg mutlak basınçta yapılan damıtma işlemlerinde squalenin % 98.12'si alınırken, serbest asitlik % 1.78'e düşmüştür. 0.05 mmHg mutlak vakum değeri sanayinin uygulayabileceği bir parametre olmadığı için, pirina yağından squalen eldesinde olduğu gibi, 230 °C ve 0.5 mmHg koşulunun deodorize distilattan squalen eldesinde de kullanılabilceği sonucuna varılmıştır. Bu koşulda squalen verimi %95.15, squalen içerisindeki serbest asitlik ise % 4.62'dir.

KAYNAKLAR

- Banks, W.A., Coon, A.B., Robinson, S.M., Moinuddin, A., Shultz, J.M., Nakaoka, R. and Morley, J.E. 2004. Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes*, 53(5), 1253-1260.
- Bhattacharjee, P. and Singhal, R.S. 2003. Extraction of squalene from yeast by supercritical carbon dioxide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(6), 605-608.
- Blasco, L., Duracher, L., Forestier, J. P., Vian, L. and Marti-Mestres, G. 2006. Skin Constituents as Cosmetic Ingredients. Part I: A Study of Bio-mimetic Monoglycerides Behavior at the Squalene-Water Interface by the "Pendant Drop" Method in a Static Mode. *Journal of dispersion science and technology*, 27(6), 799-810.
- Boutté, Y. and Grebe, M. 2009. Cellular processes relying on sterol function in plants. *Current opinion in plant biology*, 12(6), 705-713.
- Bouvier, F., Rahier, A. and Camara, B. 2005. Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. *Progress in lipid research*, 44(6), 357-429.
- Chan, P., Tomlinson, B., Lee, C.B. and Lee, Y.S. 1996. Effectiveness and Safety of Low-Dose Pravastatin and Squalene, Alone and in Combination, in Elderly Patients with Hypercholesterolemia. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 36(5), 422-427.
- Chang, M.H., Kim, H.J., Jahng, K.Y. and Hong, S.C. 2008. The isolation and characterization of *Pseudozyma* sp. JCC 207, a novel producer of squalene. *Applied microbiology and biotechnology*, 78(6), 963-972.
- Chen, G., Fan, K.W., Lu, F.P., Li, Q., Aki, T., Chen, F. and Jiang, Y. 2010. Optimization of nitrogen source for enhanced production of squalene from thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. *New biotechnology*, 27(4), 382-389.
- Das, B., Antoon, R., Tsuchida, R., Lotfi, S., Morozova, O., Farhat, W. and Baruchel, S. 2008. Squalene selectively protects mouse bone marrow progenitors against cisplatin and carboplatin-induced cytotoxicity in vivo without protecting tumor growth. *Neoplasia*, 10(10), 1105-IN4.
- Fox, C.B. 2009. Squalene emulsions for parenteral vaccine and drug delivery. *Molecules*, 14(9), 3286-3312.
- Goldstein, J.L., DeBose-Boyd, R.A. and Brown, M.S. 2006. Protein sensors for membrane sterols. *Cell*, 124(1), 35-46.
- Grebe, M., Xu, J., Möbius, W., Ueda, T., Nakano, A., Geuze, H. J. and Scheres, B. 2003. Arabidopsis sterol endocytosis involves actin-mediated trafficking via ARA6-positive early endosomes. *Current Biology*, 13(16), 1378-1387.

- Kamimura, H., Fuchigami, K., Inoue, H., Kodama, R. and Yoshimura, H. 1991. [Studies on distribution and excretion of squalane in dogs administered for 2 weeks]. *Fukuoka igaku zasshi= Hukuoka acta medica*, 82(5), 300-304.
- Kim, Y.J., Kim, T.W., Chung, H., Kwon, I.C., Sung, H.C. and Jeong, S.Y. 2003. The effects of serum on the stability and the transfection activity of the cationic lipid emulsion with various oils. *International journal of pharmaceutics*, 252(1), 241-252.
- Ko, T.F., Weng, Y.M. and Chiou, R.Y.Y. 2002. Squalene content and antioxidant activity of Terminalia catappa leaves and seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(19), 5343-5348.
- Lanzani, A., Bondioli, P., Mariani, C., Folegatti, L., Venturini, S., Fedeli, E. and Barreteau, P. 1994. A new short-path distillation system applied to the reduction of cholesterol in butter and lard. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(6), 609-614.
- Lippi, G., Targher, G. and Franchini, M. 2010. Vaccination, squalene and anti-squalene antibodies: Facts or fiction?. *European journal of internal medicine*, 21(2), 70-73.
- Liu, Y., Xu, X., Bi, D., Wang, X., Zhang, X., Dai, H. and Zhang, W. 2009. Influence of squalene feeding on plasma leptin, testosterone and blood pressure in rats. *Indian Journal of Medical Research*, 129(2), 150.
- Martirosyan, D.M., Miroshnichenko, L.A., Kulakova, S.N., Pogojeva, A.V. and Zolodov, V. I. 2007. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension. *Lipids in health and disease*, 6(1), 1.
- Naziri, E., Mantzouridou, F. and Tsimidou, M.Z. 2011. Squalene resources and uses point to the potential of biotechnology. *Lipid Technology*, 23(12), 270-273.
- Popa, O., Băbeanu, N.E., Popa, I., Niță, S. and Dinu-Pârvu, C.E. 2015. Methods for obtaining and determination of squalene from natural sources. *BioMed research international*, 2015.
- Ruivo, R., Couto, R. and Simoes, P. C. 2008. Supercritical carbon dioxide fractionation of the model mixture squalene/oleic acid in a membrane contactor. *Separation and Purification Technology*, 59(3), 231-237.
- Spanova, M. and Daum, G. 2011. Squalene–biochemistry, molecular biology, process biotechnology, and applications. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(11), 1299-1320.
- Sun, H., Wiesenborn, D., Tostenson, K., Gillespie, J. and Rayas-Duarte, P. 1997. Fractionation of squalene from amaranth seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(4), 413-418.

- Vázquez, L., Torres, C.F., Fornari, T., Señoráns, F.J. and Reglero, G. 2007. Recovery of squalene from vegetable oil sources using countercurrent supercritical carbon dioxide extraction. *The Journal of supercritical fluids*, 40(1), 59-66.
- Xu, R., Fazio, G.C. and Matsuda, S.P. 2004. On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry*, 65(3), 261-291.
- Xynos, N., Zervos, M., Angelis, A., Aligiannis, N. and Skaltsounis, A. L. 2016. A single-step isolation of squalene from olive oil deodorizer distillates by using centrifugal partition chromatography. *Separation Science and Technology*, 51(5), 830-835.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sena ÇETİNBAŞ
Doğum Yeri : Kütahya
Doğum Tarihi : 09.08.1992
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Kütahya Aligüral Anadolu Lisesi (2010)
Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
(2015)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı (Şubat 2016- Mart 2018)

(SCI)

Altuntas, AH., Ketenoglu, O. **Cetinbas, S.**, Erdogdu, F and Tekin, A. 2018. Deacidification of Crude Hazelnut Oil Using Molecular Distillation - Multiobjective Optimization for Free Fatty Acids and Tocopherol, *Eur. J. of Lipid Sci. and Technol.*, DOI: 10.1002/ejlt.201700369

Çetinbaş, S , Kemeriz, F , Göker, G , Biçer, İ , Velioglu, Y . 2017. İnsan Mikrobiyomu: Beslenme ve Sağlık Üzerindeki Etkileri. *Akademik Gıda*, 15 (4), 409-415. DOI: 10.24323/akademik-gida.370267

Uluslararası Köngre

Cetinbas, S. Erdogdu, F and Tekin, A. 2017. Squalene distillation from olive oil deodorizer distillate using short path distillation, 15th Euro Fed Lipid Congress, 27-30 August 2017, Uppsala/Sweden