

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENGEREK OTU TOHUMU YAĞI VE LAURİK ASİT KULLANARAK
ENZİMATİK YÖNTEMLE DÜŞÜK KALORİLİ YAĞ ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Jülide GÖKÇE**

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği

Programı : Gıda Mühendisliği

HAZİRAN 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENGEREK OTU TOHUMU YAĞI VE LAURİK ASİT KULLANARAK
ENZİMATİK YÖNTEMLE DÜŞÜK KALORİLİ YAĞ ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Jülide GÖKÇE
(506071509)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 06 Temmuz 2011

Tezin Savunulduğu Tarih : 06 Haziran 2011

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Neşe ŞAHİN YEŞİLÇUBUK (İTÜ)
Eş Danışman : Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Necla ARAN (İTÜ)
Doç. Dr. Murat TAŞAN (NKÜ)
Yrd. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL (İTÜ)**

HAZİRAN 2011

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince, yardım ve desteklerini esirgemeyen, bana her konuda yardımcı olan, bilgi birikimi ve tecrübeleri ile yol gösteren değerli hocalarım, Sayın Yrd. Doç. Dr. Neşe Şahin Yeşilçubuk'a, Sayın Prof. Dr. Güldem Üstün'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca Prof. Dr. Ayşe Aksoy'a da sunduğu çalışma imkanlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca her zaman olduğu gibi bu çalışmam sırasında da yanımda olan ve bana destek olan annem Ayten Gökçe ve babam Ömer Gökçe'ye ve tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2011

Jülide GÖKÇE
(Gıda Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 Engerek Otu Bitkisi ve Özellikleri.....	3
2.1.1 Engerek otu yağının sağlık üzerine etkileri	6
2.2 Yapılandırılmış Yağların Tanımı	7
2.3 Yapılandırılmış Yağların Üretim Yöntemleri.....	8
2.3.1 Enzimatik sentez.....	8
2.3.1.1 Esterleşme reaksiyonu	9
2.3.1.2 İnteresterifikasyon (iç-esterleşme) reaksiyonu.....	9
2.3.1.3 Asidoliz reaksiyonu	10
2.3.1.4 Transesterifikasyon reaksiyonu.....	10
2.3.1.5 Alkoliz reaksiyonu.....	11
2.3.2 Kimyasal sentez.....	11
2.3.3 Mikrobiyal sentez.....	12
2.3.4 Genetik mühendisliği.....	12
2.3.5 Enzimatik yöntemin avantajları	13
2.4 Yapılandırılmış Yağların Kullanım Alanları.....	13
2.4.1 Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar.....	13
2.4.1.1 Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar ile ilgili yapılan çalışmalar	14
2.4.1.2 Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar ile ilgili ticari örnekler.....	15
2.5 Orta ve Uzun Zincirli Yağ Asitleri Metabolizması.....	16
2.5.1 Laurik asit	17
2.5.2 Omega-3 yağ asitleri.....	18
2.5.2.1 Stearidonik asit	19
2.5.3 Omega-6 yağ asitleri.....	21
2.5.3.1 Gama– Linolenik asit	22
3. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	25
3.1 Kullanılan Hammaddeler.....	25
3.2 Çalışma Yöntemi.....	25
3.2.1 Engerek otu tohumundan yağ eldesi.....	25
3.2.2 Kullanılan hammaddelerin karakterizasyonu.....	26
3.2.3 Engerek otu yağının laurik asit ile asidolizinde uygulanan yöntem.....	26
3.2.4 Asidoliz ürünlerinin analizi.....	26
3.2.5 Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması.....	27
3.2.6 Yağ asitlerinin gaz kromatografisi ile analizi.....	27

3.2.7 Deneysel tasarım ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu.....	28
3.2.8 İstatistiksel analiz ve model doğruluğunun tespiti.....	28
3.2.9 Yağ asitlerinin sn-2 pozisyonel analizi	29
3.2.10 Ürünün büyük ölçekte üretimi	29
3.2.11 Reaksiyon ürünlerinden serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılması.....	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1 Substratların Yağ Asitleri Bileşenleri	31
4.2 Tepki Yüzey Yöntemine Göre Deneysel Tasarım ve Reaksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu	31
4.3 Farklı Reaksiyon Koşullarının Asidoliz Reaksiyonuna Etkilerinin İstatiksel Açıdan Değerlendirilmesi	33
4.4 Tepki Yüzey ve İzdüşüm Grafiklerinin Yorumlanması.....	36
4.5 Modelin doğrulanması ve büyük ölçekte üretim	38
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	43

KISALTMALAR

ALA	: Alfa-linolenik Asit
ÇDYA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
DHA	: Dokosahekzaenoik Asit
DPA	: Dokosapentaenoik Asit
DYA	: Doymamış Yağ Asidi
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
GSK	: Gaz-Sıvı Kromatografisi
GLA	: Gama- linoleik asit
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
OZT	: Orta Zincirli Triaçilgliserol
OZYA	: Orta Zincirli Yağ Asitleri
ÇDYA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
SDA	: Stearidonik Asit
SL	: Yapılandırılmış Yağ (Structured Lipid)
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol
LA	: Laurik asit
TYT	: Tepki Yüzey Yöntemi
UZYA	: Uzun Zincirli Yağ Asitleri
UZT	: Uzun Zincirli Triaçilgliserol

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Bazı <i>Echium</i> bitkisi türlerin yağ asitlerine ait veriler	3
Çizelge 2.2 : <i>Echium</i> türlerinin yağ asidi kompozisyonu	5
Çizelge 2.3 : Farklı bitkisel kaynakların yağ asidi profilleri	7
Çizelge 3.1 : Gaz kromatografisi cihazında uygulanan koşullar ve kolon özellikleri.	27
Çizelge 3.2 : Merkezil Birleşik deney tasarımında belirlenen bağımsız değişkenlere ve belirlenen noktalara karşılık gelen değerler	28
Çizelge 4.1 : Engerek yağının yağ asidi kompozisyonu	31
Çizelge 4.2 : Laurik asidin yağ asidi bileşimi.	31
Çizelge 4.3 : Merkezil Bileşik Deney tasarımında belirlenen 11 deneyin koşulları ve kod değerleri	33
Çizelge 4.4 : Tepki Yüzey Yöntemi ile geliştirilen deney tasarımı ve gözlenen tepkiler	34
Çizelge 4.5 : Modelin laurik asit katılıma ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri.	34
Çizelge 4.6 : Laurik asit katılımı için varyans analizi sonuçları.	35
Çizelge 4.7 : Laurik asit katılımının maksimum olduğu koşullardaki yağ asidi bileşimi	38
Çizelge 4.8 : Optimum koşullarda küçük ölçek ve büyük ölçekte üretilen YY'lerin yağ asidi kompozisyonu ve sn-2 yağ asidi kompozisyonu (%mol).	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Yapılandırılmış yağların genel yapısı	8
Şekil 2.2 : Esterleşme reaksiyonu	9
Şekil 2.3 : Triaçilgliserol ve asit arasındaki asidoliz reaksiyonu	10
Şekil 2.4 : İki triaçilgliserol arasındaki transesterifikasyon reaksiyonu	10
Şekil 2.5 : Bir triaçilgliserol ve alkol arasındaki alkoliz reaksiyonu	11
Şekil-2.6 : Omega-3 yağ asitlerinin izlediği metabolik yol ve besinsel kaynakları...	19
Şekil-2.7 : Omega-6 yağ asitlerinin vücutta izlediği metabolik yol.....	22
Şekil 3.1 : <i>Echium vulgare</i> bitkisi	25
Şekil 4.1 : Reaksiyon sonuçları ile laurik asit katılımına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki.	36
Şekil 4.2 : Laurik asit katılımının substrat mol oranı ve süre ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği.	37
Şekil 4.3 : Ürünün % laurik asit içeriğinin, substrat/mol oranı ve süre ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği.	37

ENGEREK OTU TOHUMU YAĞI VE LAURİK ASİT KULLANILARAK ENZİMATİK YÖNTEMLE DÜŞÜK KALORİLİ YAĞ ÜRETİMİ

ÖZET

Yağların sağlık ve beslenme açısından önemi ve kalp-damar hastalıkları, kanser ve diğer hastalıklarla ilişkisi düşünüldüğünde tüketilen yağın kalitesinin ve özelliklerinin geliştirilmesi son yıllarda önem kazanmıştır.

Düşük kalorili yağlar; kalori alımı sınırlanması gereken ve obezite sorunu olan bireyler için veya tüketici taleplerine uygun gıdalar için geliştirilen yapılandırılmış yağlardır. Düşük kalorili yapılandırılmış yağların enzimatik yollarla üretimi için sn-1,3 pozisyonlarında orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri (C6-C12) yer almakta olup, sn-2 pozisyonlarında uzun zincir uzunluğundaki yağ asitleri (C14-C22) bulunmalıdır.

Uzun zincirli yağ asitlerini içeren engerek otu tohumu yağı kalp ve damar hastalıkları, bağışıklık sistemi sorunları, alerji problemleri ve diyabet hastalıklarının önlenmesi üzerinde olumlu etkilere sahip omega-3 yağ asitlerine (eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, 22:6n-3) metabolize olan α -linolenik (ALA, 18:3n-3) ve stearidonik asitçe (SDA, 18:4n-3) zengin; bu yönüyle DHA ve EPA alımının sağlaması açısından balık yağlarına alternatif ve omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin öncülleri açısından çok zengin bir bitkisel kaynaktır. Orta zincirli bir yağ asidi olan laurik asit ise antiviral, antibakteriyel ve antiprotozal aktivite gösteren bir yağ asididir.

Bu çalışmada engerek otu (*Echium vulgare*) tohumu yağı ve laurik asit kullanılarak enzimatik asidoliz tepkilemeleri ile düşük kalorili yapılandırılmış yağların üretimi amaçlanmıştır.

Tepki yüzey yöntemi (TYY) kullanılarak reaksiyon koşulları incelenmesi ve optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Enzimatik asidoliz tepkimelerinde *Rhizomucor miehei*'den elde edilen ve sn-1,3 spesifik bir lipaz olan *Lipozyme*[®] RM IM enzimi kullanılmıştır.

Tepki-yüzey yöntemi ile substrat mol oranı (2-5 mol/mol; laurik asit/TAG) ve reaksiyon süresi (4-8 saat) olmak üzere seçilen iki faktörün reaksiyon koşullarına etkisinin modellenmesi ve reaksiyon koşullarının optimizasyonunda 5 seviyeli Merkezli Bileşik Deney Tasarımı (CCD) kullanılmıştır.

Reaksiyonlar sonucunda seçilen tepki [laurik asit miktarı (%)] regresyon analizi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı kuadratik model elde edilmiştir.

Tepki-yüzey grafikleri incelendiğinde, maksimum laurik asit katılımının; substrat mol oranının 5:1(mol/mol); reaksiyon süresinin 4 saat olduğu koşullarda gerçekleştiği görülmektedir.

Bu koşulda gerçekleştirilen deneylerle modelin doğruluğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak, belirlenen optimum koşulda büyük ölçekte üretim gerçekleştirilerek elde edilen YY'nin karakterizasyonu yapılmıştır. Büyük ölçekte üretilen YY'nin SDA miktarının %8,5 olduğu görülmektedir. Bu koşullarda elde edilen düşük kalorili yapılandırılmış yağ büyük oranda (%43,8) laurik asit içerirken, %11,1 linoleik asit, %16,5 alfa-linolenik asit, %8,7 gama-linoleik asit ve %6,1 stearidonik asit gibi uzun zincirli ÇDYA'leri de içermiştir. Doğada benzeri olmayan yağ asidi profili ile; sağlığa faydalı hem de düşük kalorili bir yapılandırılmış yağ elde edilmiştir.

ENZYMATIC PRODUCTION OF LOW-CALORIE STRUCTURED LIPIDS BY USING ECHIUUM SEED OIL AND LAURIC ACID

SUMMARY

The importance of fats and oils in terms of health and nutrition and the relation between heart diseases, cancer and other diseases with the consumption of fats and oils is taken in consideration; improving the quality and special features of lipids are becoming important nowadays.

Low-calorie lipids are modified lipids developed for obese individuals who have to limit their calorie intakes besides these lipids provide convenient foods to be produced for consumer demands. Low-calorie structured lipids produced by enzymatic modifications contain medium chain fatty acids (C6-12) in the sn-1,3 position and long chain fatty acids (C14-C22) in the sn-2 position of triacylglycerols.

Echium seed (*Echium vulgare*) oil containing long chain polyunsaturated fatty acids (PUFA) is a very rich source of α -linolenic (ALA, 18:3n-3) and stearidonic acid (SDA, 18:4n-3) which are the precursors of omega-3 fatty acids (eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3).

Echium seed oil with a unique ratio of omega-3 to omega-6 fatty acids which is not present in any other plant is an alternative vegetable source to marine sources in the means of omega-3 fatty acids that has been positively associated with the prevention of cardiovascular diseases, arthritis, inflammatory diseases, and autoimmune diseases in humans. Lauric acid which is a medium chain fatty acid, also has unique properties related to its antiviral, antibacterial and antiprotozoal functions.

In this study, production of low-calorie structured lipids was aimed using *Echium* seed oil and lauric acid by enzymatic acidolysis reactions. Reaction conditions were investigated and optimized by response surface methodology (RSM). *Lipozyme*[®] *RM IM*, commercially immobilized sn-1,3 specific lipase derived from *Rhizomucor miehei*, was used in enzymatic acidolysis reactions.

Central composite design (CCD) with five levels was and two factors chosen as “substrate molar ratio” and “reaction time” were used to model and optimize the reaction conditions via RSM.

Good quadratic model was obtained for the response [amount of lauric acid (%)] by regression. Maximum incorporation of lauric acid is achieved with reaction time (4 hour) and substrat molar ratio [(5:1) (mol/mol) (lauric acid/ TAG)].

Further experiments were done at these optimal conditions in order to verify the models. In addition, the optimal conditions were used for large-scale production to characterize the obtained sturctured lipid. Stearidonic acid content of the final structured lipid was %8,5.

At these reaction conditions, low calorie structured lipid includes very high content of lauric acid (%43,8) and PUFAs like linoleic acid (%11,1), alfa-linolenic acid (%16,5), gama-linoleic acid (%8,47) and stearidonic acid (%6,1). Therefore, a unique low-calorie structured lipid was obtained with having important health benefits.

1. GİRİŞ

Yağlar; beslenmede temel besin maddelerinden olup vücut için önemli bir enerji kaynağıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, esansiyel yağ asitlerinin özellikle kalp ve beyin sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olduğunu; kanser, diyabet, bağışıklık sistemi gibi sağlık sorunları üzerinde tedavi edici özellikte olduğunu ortaya koymuştur. Tüketilen yağın özellikleri ile sağlık arasındaki bu ilişki sebebiyle; tüketilen yağın özelliklerinin geliştirilmesi ve sağlığa faydalı hale getirilmesi önem kazanmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmalardan biri de yapılandırılmış yağların üretimidir.

Yapılandırılmış yağlar, triaçilgliserol (TAG) yapısına yeni yağ asitlerinin yerleştirilmesi veya yağ asitlerinin yerleşimlerinin değiştirilmesi ile oluşturulan özgün TAG'lar olarak tanımlanmakta ve geleceğin yağları olarak bilinmektedir. Yağlara fonksiyonellik kazandırılması; kimyasal, enzimatik, mikrobiyal sentez ve biyolojik yöntemler ile mümkün olmaktadır. Bu yöntemlerden enzimatik sentez; yağ asitlerinde istenmeyen değişikliklere yol açmayan, son ürünlerdeki yağ asidi dağılımının kontrolüne imkan sağlayan, immobilize lipazların kullanımıyla beraber üretim maliyeti avantajları olan bir yöntemdir (Willis ve Marangoni, 2002).

Lipazların kullanıldığı enzimatik modifikasyon yöntemleri ile düşük kalorili yağlar, bebek mamaları ile enteral ve parenteral beslenme için tasarlanan yapılandırılmış yağlar ve kakao yağı ikameleri gibi çeşitli fonksiyonel ve nutrasötik özellikteki yapılandırılmış yağlar üretilmektedir.

Literatürde spesifik lipaz enzimlerinin kullanıldığı enzimatik yöntemlerle üretilen hem yapılandırılmış yağlar hem de düşük kalorili yağlar üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Orta zincirli yağ asitleri (OZYA) ile yapılandırılmış yağ çalışmalarında, laurik asidin diğer OZYA ile yapılmış çalışmalara göre çok az sayıda kullanıldığı, engerek otu yağının düşük kalorili yapılandırılmış yağ üretiminde kullanıldığı bir çalışmanın olmadığı gözlenmiştir.

Bu çalışmada omega-3 ve omega-6 yağ asidi öncüllerini içeren engerek otu tohum yağı kullanılarak hem düşük kalorili yağların ve yağ ikame maddelerinin üretiminde

kullanılabilecek hem de sağlığa yararlı; vücut metabolizmasını ve bağışıklık sistemini olumlu yönde etkileyen yapılandırılmış yağın üretimi amaçlanmaktadır. Doğada bulunmayan ve kimyasal sentezle hazırlanması zor olan düşük kalorili yağlar, enzimatik asidoliz reaksiyonları ile engerek otu tohum yağına laurik asit katılarak elde edilmiştir. Reaksiyon parametreleri olarak seçilen süre ve substrat mol oranının elde elden ürünler üzerindeki etkilerinin tepki yüzey yöntemi ile incelenmesi, reaksiyon parametrelerinin modellenmesi hedeflenmiştir. Modelin doğruluğu optimum koşullarda küçük ölçekte gerçekleştirilerek; bu koşullarda gerçekleştirilen daha büyük ölçekteki üretim ile elde edilen YY'nin yağ asidi kompozisyonları, sn-2 pozisyonundaki yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Engerek Otu Bitkisi ve Özellikleri

Engerek otu (*Echium spp.*), *Boraginaceae* ailesine ait bir bitkidir (Guerrero ve diğ, 2000; Coupland, 2008). *Boraginaceae* ailesi tropikal ve sıcak iklimlerde yaşayan 100 cins ve 2000 türden oluşmaktadır (Berti ve diğ, 2007).

Türkiye’de de yüksek ekolojik toleransları ile farklı habitatlarda aynı ailenin çok farklı türleri yaşamaktadır (Özcan, 2008). Türkiye florasında *Echium* cinsine ait 9 tür mevcut olup, tohumların yağ içerikleri %7,10 (*E. fastuosum*) ile % 23,65 (*E. plantagineum*) arasında değişmektedir (Usta ve diğ, 2007; Guerrero ve diğ, 2000). Özcan ve diğ. (2008) Türkiye’den toplanan farklı türlerle yaptığı çalışmadan elde edilen toplam yağ asitlerine ait veriler Çizelge 2.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1 : Bazı *Echium* bitkisi türlerin yağ asitlerine ait veriler (Özcan ve diğ, 2008).

<i>Echium</i> Bitkisi Türü	Toplam Yağ İçeriği, (%)	Doymuş Yağ İçeriği, (%)	Tekli Doymamış Yağ İçeriği, (%)	Çoklu Doymamış Yağ İçeriği, (%)	Toplam Doymamış Yağ İçeriği, (%)
<i>Echium italicum</i>	19,58	11,99	11,43	75,72	87,15
<i>Echium vulgare</i>	20,40	9,08	11,90	78,39	90,29
<i>Echium plantegenium</i>	20,60	10,98	14,92	73,42	88,34
<i>Echium angustifolium</i>	22,60	11,90	18	69,63	87,63

Echium bitkisi türlerinden olan *E. plantegenium*, tüm dünyada yetişen 70 – 120 cm boyunda yıllık, tohumları koyu kahverengi, gri renkli 3 mm uzunluğunda ve üç köşeli olan bir bitkidir (Berti ve diğ, 2007).

Echium plantagineum ticari olarak İngiltere ve Avrupa’da yetiştirilmektedir (Coupland, 2008; Berti ve diğ, 2007). *Echium* bitkisi aynı zamanda önemli bir yabancı bal bitkisidir (Usta ve diğ, 2007).

Borageniacea ailesine ait türlerde; toprak ve sıcaklık gibi çevresel faktörler, coğrafi ve ekolojik koşullar, mevsimsel ve türler arası değişiklikler tohum yağ kompozisyonunda değişikliklere neden olmaktadır (Miller ve diğ, 2008). Yağ asidi miktarları çoklukla aynı kalırken, daha soğuk iklimli yerlerde daha yüksek tohum yağ içeriği, kurak mevsimlerde düşük tohum yağ içeriği gözlemlenmiştir (Özcan, 2008). *Echium* bitkisinden elde edilen tohum yağları 200 – 250 gram/kg'dır (Berti ve diğ, 2007).

Engerek otu (*E. vulgare*) Türkiye’de doğal olarak yetişmektedir. Habitatı orman altları, buğday, nohut, tek yıllık yem bitkileri ve ayçiçeği tarlalarıdır. Bu sebeple istilacı bitki olarak da tanımlanmaktadır (Yıldırım ve Ekin, 2003). Çevre ve Orman Bakanlığın verilerine göre engerek otu Kırklareli, İstanbul, Bursa, Bolu, Kastamonu, Sinop, Samsun, Giresun, Erzurum, Çorum ve Ankara’da yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bitki üzerine Orta Anadolu Bölgesi’nde yapılan bir çalışmada Türkiye florasında mevcut 9 türün tamamının da varlığı saptanmıştır. Bunlardan *E. italicum* L. ve *E. vulgare* L. daha yaygın olmak üzere Afyon, Ankara, Çankırı, Eskişehir, Isparta, Konya, Kırşehir, Nevşehir, Niğde, Sivas ve Yozgat illerindeki tarım alanlarında bulunmaktadır (Yıldırım ve Ekin, 2003). Trakya Bölgesi’nde yaygın olarak bulunan *E. vulgare*, Hodangiller ailesinden diğer dört tür ile birlikte bu bölgede, arıcılıkta sahip olduğu potansiyeli ile ön plana çıkmaktadır (Sıralı ve Deveci, 2002). Çizelde 2.2’de farklı *Echium* türlerinde elde edilen yağların yağ asidi kompozisyonları verilmektedir.

Çizelge 2.2 : Echium türlerinin yağ asidi kompozisyonu (Guil- Guerrero ve diğ., 2000; Guil- Guerrero, 2007; Guil – Guerrero ve diğ., 2001).

Engerek Türü	(%mol)								
	16:0	16:1w7	18:0	18:1w9	18:2w6	18:3w6	18:3w3	18:4w3	20:0
<i>E. plantagenium</i>	6,42	0,12	2,83	12,98	13,76	9,15	36,65	12,94	0,10
<i>E. giganteum</i>	7,64	0,27	3,52	12,33	23,34	21,68	23,07	5,70	0,27
<i>E. vulgare</i>	7,38	0,06	2,52	11,14	21,18	11,74	34,14	9,68	0,1
<i>E. asperrimum</i>	7,7	0,13	2,77	14,68	16,33	9,62	35,3	2,06	0,98
<i>E. aculeteum</i>	7,73	0,44	4,04	12,72	20,19	22,29	22,42	6,64	0,00
<i>E. triste</i>	8,22	0,26	3,92	10,20	35,46	17,19	19,14	3,28	0,15
<i>E. leucophaeum</i>	7,47	0,0	3,36	12,55	23,87	22,48	24,32	5,95	0,00
<i>E. wildpreti</i>	6,02	0,17	3,58	13,66	17,67	15,16	31,19	8,97	0,26
<i>E. simplex</i>	9,2	0,21	4,78	9,47	19,19	19,28	27,39	7,50	0,23
<i>E. virescens</i>	7,77	0,15	4,01	9,79	24,0	21,6	23,15	7,04	0,00
<i>E. fastuosum</i>	7,49	0,24	3,02	9,75	16,17	23,77	25,52	10,90	0,00
<i>E. sventenii</i>	9,14	0,38	4,36	11,81	23,34	24,39	18,75	4,69	0,31
<i>E. nervosum</i>	7,03	0,07	3,87	9,85	21,96	24,52	24,44	7,23	0,00
<i>E. candicans</i>	9,13	0,27	5,01	21,05	21,39	23,66	12,33	3,37	0,30
<i>E. acanthocarpum</i>	5,97	0,15	3,90	11,49	19,26	24,51	24,23	7,45	0,06
<i>E. onosmifolium</i>	6,9	0,14	4,50	9,81	21,0	23,44	24,52	7,11	0,18
<i>E. callithyrsum</i>	6,38	0,00	4,13	9,64	17,62	26,31	24,92	9,40	0,18
<i>E. hierrense</i>	7,74	0,16	4,36	9,96	19,76	19,75	28,98	7,20	0,17
<i>E. auberianum</i>	7,03	0,17	2,52	19,22	29,15	17,45	18,92	3,03	0,05
<i>E. decaisnei</i>	7,51	0,14	4,19	12,08	28,09	19,92	21,94	4,39	0,21
<i>E. strictum</i>	6,89	0,14	4,22	11,56	28,82	18,75	23,03	4,36	0,15

Echium türüne ait bitkiler, GLA ve SDA yağ asitlerince zengin olması bakımından omega-3 ve omega-6 yağ asitleri için önemli ve eşsiz bir kaynaktır.

Guil-Guerrero ve diğ. (2000) 19 *Echium* türü üzerinde yaptıkları çalışmada çoklu doymamış bir yağ asidi olan stearidonik asit (SDA) içeriğinin %3,03 (*E. auberianum*) %12,9 (*E. plantagineum*) arasında değiştiği ve % 6,69 ortalamaya sahip olduğu görülmektedir. Linoleik asit (LA) içeriği ise %16,17 (*E. fastuosum*) %35,46 (*E. triste*) arasında değişmektedir ve %22,32 ortalama değere sahiptir.

Aynı çalışmada toplam yağ asitlerindeki gama- linoleik asit (GLA) yüzdesi %9,15 (*Echium plantagenium*) ile %26,31 (*Echium callithyrsum*) arasında değişmekte olup, ortalama içeriği % 20,79'dur. Linolenik asit (ALA) içeriği %12,33 (*E. candicans*) %36,65 (*E. plantagineum*) arasında değişmektedir ve %23,98 ortalama değere sahiptir (Guil-Guerrero, 2000).

Tekli doymamış bir yağ asidi olan oleik asit (18:1n-9) %9,47 (*E. simplex*) ile %21,05 (*E. candicans*) arasında değişmekte olup, %12,10 ortalama değere sahiptir. Doymuş yağ asidi olan palmitik asit (16:0) miktarının %5,47 (*E. acanthocarpum*) ile %9,20

(*E. simplex*) arasında değiştiği görülmektedir, bu yağ asidi ortalama olarak %7,45 oranında bulunmaktadır (Guil-Guerrero, 2000).

Guil-Guerrero ve diğ. (2000)  alışmasında Makorenezya adalarında yetişen *Echium plantagineum* türlerinin yağ miktarı ve GLA ve SDA içerikleri sırasıyla %23,65, %9,15, % 12,94 olarak verilmektedir. Erdemoğlu ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada ise İstanbul'dan toplanan *Echium plantagineum* ve Ankara'dan toplanan *Echium italicum* türlerinin SDA içerikleri sırasıyla %12,3 ve %11,9 olarak bulunmuştur (Türkay ve diğ; 2006). Berti ve diğ. (2007)  alışmasına göre de *Echium* türlerinin %9 -%16 arasında SDA içerdiği tespit edilmiştir.

2.1.1 Engerek otu yağının sağlık üzerine etkileri

Boraginaceae ailesindeki bitkilerden *Echium* cinsine ait olanlar SDA bakımından zengin olması ile diğerlerinden ayrılmaktadır. Alfa-linolenik asit'in (ALA), eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) sentezindeki ilk metabolitinin SDA olduğu bilinmektedir. Bu nedenle engerek tohumunun stearidonik asitçe zengin olması EPA ve DHA sentezi için önemlidir. EPA ve DHA linolenik asitten sentezlenen çoklu doymamış uzun zincirli omega-3 yağ asitleridir. Kardiovasküler hastalıklar, iltihap, kanser, nörolojik bozuklukların azaltılmasında etkilidirler (Guil-Guerrero, 2007). Bu  oklu doymamış yağ asitlerinin çeşitli akut ve kronik hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde büyük bir etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Whealan, 2009). Kanser riskini azaltmakla beraber, tümör büyümesini engellemek, kemoterapide tümör hassasiyetini artırmak gibi yararlı etkilere de sahip olduğu belirlenmiştir (Whelan, 2009). DHA özellikle sinir sistemi için gerekliyen, EPA kanın pıhtılaşma eğilimini azaltarak kardiovasküler hastalık riskini azaltır (Willis ve Marangoni, 2002). Omega-3 yağ asitlerinin tüketimi beyin ve retina fonksiyonları için de önemlidir (Kim ve Hill, 2006).

Engerek otu tohumunda bulunan diğer yağ asitleri olan α -linolenik asit (ALA) ve linoleik asit (LA) esansiyel yağ asitleri olup, eksikliklerinde kardiovasküler problemler, iltihabi hastalıklar, viral enfeksiyonlar, çeşitli kanser türleri, bağışıklık sistemi sorunları ortaya çıkabilmektedir. Bu iki yağ asidi pek çok sebze ve yağlı tohum aracılığı ile alınabilirken, EPA ve DHA'nın ancak balık yağlarından direkt olarak alımı mümkündür (Akoh, 2002; Bode ve diğ, 2003; Guil-Guerrero, 2007). Bu

anlamda SDA deniz ürünlerinden sağlanan yağ asitlerine alternatif olarak bitkilerden elde edilen bir omega-3 ÇDYA kaynağıdır.

Engerek otu yağı gama-linolenik asitçe zengin olması açısından da önemlidir. Guil-Guerrero ve diğ. (2000) yaptıkları çalışmada *Echium* türlerini doğadaki en zengin GLA kaynağı olarak tanımlamışlardır.

GLA, *Echium* türlerinin yanı sıra, frenk üzümü, boraj (hodan) ve gece sefası bitkilerin de de bulunmaktadır. Çalışmalar; GLA içeren yağların, atopik egzama, diyabet, hiperaktivite, kardiyovasküler, gastro-intestinal, jinekolojik, nörolojik, immünolojik hastalıkların tedavisinde etkili olduğunu, normal hücrelere zarar vermeden seçimli olarak tümör hücrelerini öldürebildiğini de göstermiştir (Türkay ve diğ; 2006).

Yapılandırılmış yağ çalışmalarında kullanılan farklı bitkisel kaynakların ve engerek otunun SDA ve GLA içerikleri Çizelge 2.3’de gösterilmektedir. Engerek otunun SDA açısından diğer kaynaklardan daha zengin olduğu görülmektedir.

Çizelge 2.3 : Farklı bitkisel kaynakların yağ asidi profilleri (Yang ve diğ, 2003).

(%Ağırlık)	16:0	18:0	18:1n-9	18:2n-6	18:3n-6 (GLA)	18:3n-3	18:4n-3 (SDA)
Gece sefası	7- 10	1,5- 3,5	6- 11	65- 80	6- 14	-	-
Boraj(Hodan)	10	4	18	37	22	-	-
Frenk üzümü	6- 7	1,5	9- 11	46- 49	14- 16	13- 14	2,5- 3
Engerek otu	5- 9	2- 5	9- 13	16- 35	9- 26	18- 36	3,5- 13

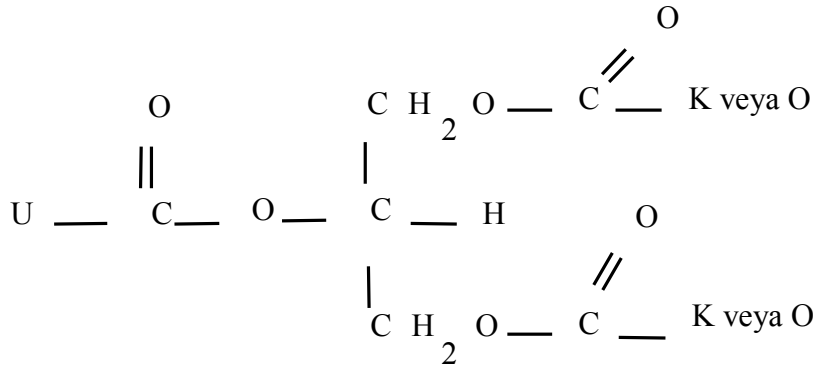
SDA içeren yağlar; zenginleştirilmiş gıdalar, diyet takviyeleri, medikal gıdalar, eczacılık, kişisel bakım ürünleri gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır (Coupland, 2008). Kuru cilt, egzama, sedef hastalığı gibi deri yaralarının tedavisi, kozmetik ve kişisel bakım ürünleri de *Echium* yağının mevcut kullanım alanlarını oluşturmaktadır (Usta ve diğ., 2007; Berti ve diğ., 2007).

2.2 Yapılandırılmış Yağların Tanımı

Yapılandırılmış yağlar, muhtemel hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kullanılmakta, ayrıca gıda ürünlerine fonksiyonel özellikler kazandırarak tüketici taleplerine uygun gıdalar elde edilmesi de sağlamaktadır.

Yapılandırılmış yağ eldesinde kullanılan yağ asitleri, kısa zincirli yağ asitleri, orta zincirli yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitleri ile tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri doymuş uzun zincirli yağ asitleridir (Akoh, 2002). Yağ asitleri yağın temel yapısını oluşturarak kendi fiziksel ve kimyasal özelliklerini aktararak istenen fiziksel ve kimyasal özellikteki yağların oluşmasını sağlamaktadır (Hoy ve diğ., 2001).

Şekil 2.1’de yapılandırılmış yağların genel yapısı verilmektedir.



Şekil 2.1 : Yapılandırılmış yağların genel yapısı (Gunstone, 2001).

(U: uzun zincirli yağ asidi, O: orta zincirli yağ asidi, K: Kısa zincirli yağ asidi)

2.3 Yapılandırılmış Yağların Üretim Yöntemleri

Kimyasal ve enzimatik katalizörler varlığında esterleşme reaksiyonları ile mikrobiyal sentez yoluyla ve yağlı tohumların genetik yapılarının değiştirilmesi yöntemleri ile yapılandırılmış yağlar elde edilebilmektedir. Yapılandırılmış yağlar kimyasal ya da enzimatik katalizörler ile iç-esterleşme ya da trans-esterleşme reaksiyonları sonucu elde edilirler. Kimyasal ve enzimatik yöntemlerle gerçekleştirilen reaksiyonlar ortam koşulları ve elde edilen ürün açısından farklılık göstermektedir.

2.3.1 Enzimatik sentez

Enzimatik sentez, 1970 yılında uygulanmaya başlamıştır. Reaksiyon, substratın içinde çözündüğü organik çözücülerde katalizör olarak lipaz enzimi kullanılarak gerçekleşmektedir. Bu enzimler genellikle maya ve küf kaynaklıdır (Willis ve Marangoni, 2002).

Endüstriyel lipazlar genellikle hücre dışı lipaz üreten mikroorganizmalardan sağlanır (Takaç, 2008). Lipazlar gliserol ester hidrolazları olarak da adlandırılır; çünkü lipazlar açılgliserollerdeki karboksi ester bağlarının hidrolizini katalizler (Willis ve Marangoni, 2002). *Aspergillus niger*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*,

Pseudomonas fluorescens, *Hemicola lanuginosa* ve *Mucor miehei*'den elde edilen lipazlar sn 1,3 pozisyonlarına spesifiktir (Camp ve diğ, 1998).

Enzimatik reaksiyonlarda amaç en yüksek verimde ve istenilen saflıkta ürün elde edebilmektir. İç-esterleşme reaksiyonlarında da lipazın seçicilik özelliğinden yararlanılarak substrata uygun lipaz seçimi prosesin verimini arttırmaktadır.

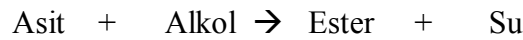
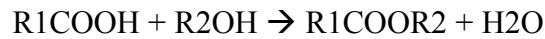
Lipazlar TAG yapısını monoaçilgliserol, diaçilgliserol, gliserol ve yağ asitlerine hidrolize eder, esterleşme, asidoliz ve alkoliz reaksiyonlarını da katalizler (Osborn ve Akoh, 2002).

Ayrıca reaksiyon koşullarının en uygun değerlere getirilmesi gerekmektedir. Su aktivitesi, ortam sıcaklığı, reaksiyon süresi, kullanılan çözücüler ve pH değerleri ürün verimini etkileyen diğer faktörlerdir (Akoh, 2002).

Enzimatik modifikasyon yöntemleri ile düşük kalorili yağlar, bebek mamaları ile enteral ve parenteral beslenme için tasarlanan yapılandırılmış yağlar ve kakao yağı ikameleri gibi çeşitli fonksiyonel ve nutrasötik özellikteki yapılandırılmış yağlar üretilmektedir.

2.3.1.1 Esterleşme reaksiyonu

Bir alkol ile bir asidin katalizör varlığında reaksiyona girerek ester oluşturduğu reaksiyonlar esterleşme reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır. Bu reaksiyonun tersi hidroliz reaksiyonudur (Esen, 2003). Esterleşme bir denge reaksiyonudur ve esterin yanında su da oluşmaktadır (Kurşun, 2002). Şekil 2.2'de genel bir esterleşme reaksiyonu gösterilmektedir.



Şekil 2.2 : Esterleşme reaksiyonu (Osborn ve Akoh, 2002).

2.3.1.2 İnteresterifikasyon (iç-esterleşme) reaksiyonu

Bir ester ile farklı bir bileşen arasında gerçekleşen, açıl grupların yer değiştirmesi ile karakterize edilen ve farklı bir ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlar olarak tanımlanabilir (Kurşun, 2002).

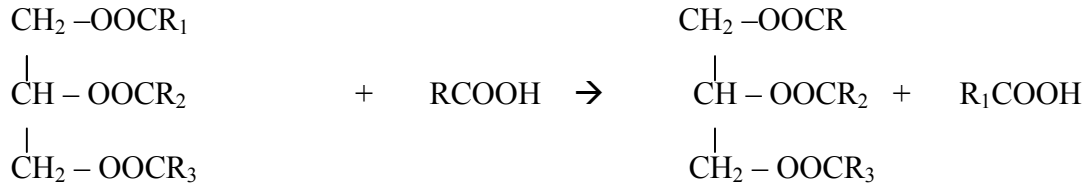
İç esterleşme reaksiyonları kimyasal ya da enzimatik olarak, esterin bir alkolle, bir asitle ya da başka bir alkolle olan reaksiyonlarıdır ve ester ile alkol arasındaki reaksiyon alkoliz, ester ile asit arasındaki reaksiyon asidoliz ve ester ile bir başka

ester arasındaki iç esterleşme reaksiyonları transesterifikasyon olarak incelenmektedir (Willis ve Marangoni, 2002).

Ancak bazı kaynaklara göre transesterifikasyon bir esterin bir asit, bir alkol, başka bir ester ve bir amin ile olan reaksiyonlarını ifade eden genel bir terim olarak kullanılmaktadır (Kıldırın, 1993).

2.3.1.3 Asidoliz reaksiyonu

Bir asit ile bir esterin reaksiyona girmesi ile açıl grupların yer değiştirmesi sonucu yeni bir ester oluşması asidoliz reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır. Substrat olarak bitkisel yağlar kullanılarak sn-1,3 spesifik lipaz varlığında asidoliz yöntemi ile yapılandırılmış yağlar üretilmektedir. Şekil 2.3.'de genel asidoliz reaksiyonu verilmiştir.

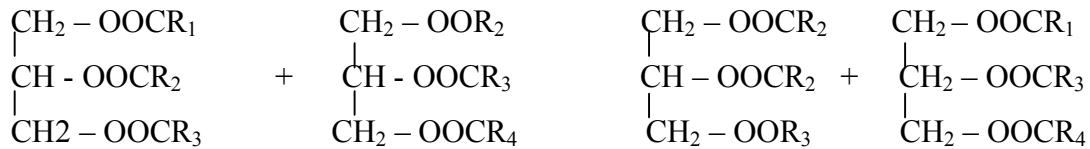


Şekil 2.3 : Triaçilgliserol ve asit arasındaki asidoliz reaksiyonu (Willis ve Marangoni, 2002).

Asidoliz reaksiyonları DHA ve EPA gibi önemli yağ asitlerinin beslenme özelliği artırılmak istenen yağa ilavesinde kullanılır (Willis ve Marangoni, 2002). Kakao yağı eşdeğerlerinin eldesinde de asidoliz kullanılmaktadır. En yaygın yöntem palm yağı orta fraksiyonunun asidolizidir (Willis ve Marangoni, 2002). Enteral ve paranteral beslenmede kullanılan yağlar da asidoliz reaksiyonları sonucu elde edilmektedir.

2.3.1.4 Transesterifikasyon reaksiyonu

Transesterifikasyon, iki ester arasında gerçekleşen ve farklı iki ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlardır (Kurşun, 2002). Şekil 2.4'te genel transesterifikasyon reaksiyonu verilmiştir.

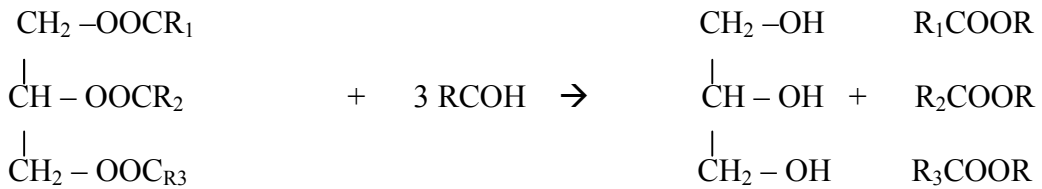


Şekil 2.4 : İki triaçilgliserol arasındaki transesterifikasyon reaksiyonu (Willis ve Marangoni, 2002).

Transesterifikasyon genellikle sıvı yağlar ve bunların triaçilgliserol yapısındaki yağ asitlerinin pozisyonel dağılımını değiştirerek yağların fiziksel özelliklerini modifiye etmek için kullanılır (Willis and Marangoni, 2002). Genellikle enzimatik transesterifikasyon kimyasal transesterifikasyonla karşılaştırıldığında, enzimatik yöntem ile elde edilen yağın katı yağ yüzdesi daha düşüktür çünkü son üründe lipazlarla transesterifikasyonda oluşan monoaçil, diaçil ve serbest yağ asitleri bulunabilir (Willis and Marangoni, 2002). Kakao yağı ikameleri ya da eşdeğerlerinin eldesinde de transesterifikasyon reaksiyonları kullanılmaktadır (Willis and Marangoni, 2002).

2.3.1.5 Alkoliz reaksiyonu

Bir alkol (metanol, gliserol) ile bir esterin reaksiyona girmesiyle yeni bir ester ve alkol oluşmasına alkoliz denir. Şekil 2.5'te genel alkoliz reaksiyonu verilmiştir.



Şekil 2.5 : Bir triaçilgliserol ve alkol arasındaki alkoliz reaksiyonu (Willis ve Marangoni, 2002).

Bu reaksiyon alkali metaller ve çeşitli katalizörler varlığında (asidik, bazik katalizörler ya da enzimler) ile katalizlenerek esterleşir, esterleşme reaksiyonu sonucunda yan ürün olarak di ve monoaçilgliseroller, reaktan fazlası ve serbest yağ asitleri oluşur (Osborn ve Akoh, 2002).

Alkoliz reaksiyonunun temel kullanım alanı gliseroliz reaksiyonları olup, gliseroliz gliserol ve triaçilgliserol arasındaki açil gruplarının yer değiştirerek monoaçil, diaçil ve triaçilgliserollerini oluşturmalarıdır (Willis ve Marangoni, 2002). Yüzey aktif ajanlar, emülsifiye edici ajan olarak kullanılan monoaçilgliserollerin eldesinde alkoliz kullanılmaktadır (Willis ve Marangoni, 2002).

2.3.2 Kimyasal sentez

Kimyasal yolla yapılandırılmış yağ üretimi endüstride 1940'lı yıllardan beri uygulanmaktadır (Rousseau ve diğ, 2002). Kimyasal reaksiyonlar alkali metaller ve metal alkalitleri ile katalizlenir, yüksek sıcaklık ve susuz ortam gerektirir (Osborn ve

Akoh, 2002). Bu reaksiyon genellikle OZYA ve UZYA'nın hidrolizi ve karıştırma işlemi ile ester iç değişimi olarak gerçekleşir (Osborn ve Akoh, 2002).

2.3.3 Mikrobiyal sentez

Tek hücre yağları özellikle EPA ve DHA açısından yeni ve yenilenebilir esansiyel yağ asidi kaynaklarıdır (Miller ve diğ, 2008).

Mortiella isabellina, *Mortiella alpina* ve *Crythecodium cohnii*'den çoklu doymamış yağ asitlerinin elde edildiği çok sayıda çalışma mevcuttur (Gunstone, 2001).

2.3.4 Genetik mühendisliği

İstenen yağ asit kompozisyonuna sahip ticari olmayan bitkilerden elde edilen genlerin aktarımı ile yeni bir kompozisyona sahip tohum yağlarının eldesi genetik mühendisliği ile mümkün olmaktadır (Thelen ve Ohlrogge, 2002). Tek başına melezleme yöntemi ile elde edilemeyecek özellikteki yağlar moleküler tekniklerle birleştirildiğinde çift bağların pozisyonel değişiklikleri, çift bağ sayısında, zincir uzunluğunda varyasyonlar için yeni yöntemler model sistemlerde geliştirilmiştir (Osborn ve Akoh, 2002; Töpfer ve diğ, 1995). % 70-80'den fazla orta zincirli yağ asidi içeren, soya yağı, kolza yağı; % 90'dan fazla oleik asit, %7'den az doymuş yağ içeren ayçiçek yağı, yüksek miktarda linoleik asit içeren fakat linolenik asit içermeyen keten tohumu yağı mutajenez ile elde edilen yağlardır (Osborn ve Akoh, 2002). Ayçiçek yağı %16-%20 oleik asit içermektedir, mutajenez ile elde edilen yüksek oleik asit içerikli ayçiçek yağının oksidatif stabilitesi yüksek bir yağdır (Osborn ve Akoh, 2002). Çoklu doymamış yağ asitlerinin serum kolesterolü üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu bilinmektedir fakat bu yağ asitleri çabuk okside olmaktadır; tekli doymamış yağ asidi olan oleik asitin kolesterol üzerindeki etkisi linoleik asit (18:2n-6) ile aynı olması sebebiyle soya ve kanola yağlarında tekli doymamış yağ asidi miktarının artırılması genetik yöntemle elde edilen yapılandırılmış yağlarla ilgili çalışmalardan biridir (Osborn ve Akoh). Sato ve arkadaşlarının (2004) yaptığı çalışmada *Borago officinalis*'ten elde edilen $\Delta 6$ desaturaz geni soya yağına aktararak, GDA ve SDA'ca zengin transgenik soya yağı eldesi de mümkün olmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda yağ miktarı artırılmış tohum yağları eldesi, daha stabil yapıdaki yeni yağlar eldesi, insan sağlığına faydalı, endüstriyel hammaddeler için yenilenebilir kaynaklar oluşturulması sağlanmaktadır (Thelen ve Ohlrogge, 2002).

2.3.5 Enzimatik yöntemin avantajları

Enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin seçicilik özelliklerinden dolayı istenen pozisyonlara yerleştirilmiş bir TAG yapısı ve spesifik kompozisyona sahip ürünler sağlanmaktadır. Ayrıca lipazlar kimyasal katalizörlerin aksine substratın nem miktarından etkilenmeden etkinlik gösterebilmektedir. Kimyasal interesterifikasyon ile ise rastgele dağılmış TAG molekülleri ve yan ürünler oluşmaktadır (Xu ve diğ., 2006).

Enzimatik interesterifikasyon yöntemiyle, kimyasal katalizörlerle gerçekleştirilen reaksiyonlara göre spesifik kompozisyona sahip ürünler elde edilmesi, daha ılımlı koşullarda gerçekleşmesi, reaksiyonlar sonucunda çok az yan ürün oluşması veya hiç oluşmaması gibi nedenlerle üstünlük sağlamasından ötürü enzimatik yöntemin kullanımında artış olmuştur ancak avantajlarına rağmen endüstriyel uygulamalarda henüz istenilen düzeyde kullanılmamaktadır (Willis ve Marangoni, 2002).

2.4 Yapılandırılmış Yağların Kullanım Alanları

Yapılandırılmış yağlar tıbbi ve beslenme amaçlı olarak kullanılabilir. Yapılandırılmış yağ uygulamaları; düşük kalorili yağlar, kakao yağı ikameleri, anne sütü yağı benzerleri, çeşitli esansiyel yağ asitleri ile zenginleştirilmiş yağlar, enteral ve parantral beslenmede kullanılan yağlar, gıda uygulamaları için plastik yağları, kızartma yağları olarak sınıflandırılabilir.

2.4.1 Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar

Düşük kalorili yapılandırılmış yağların sn-1,3 pozisyonlarında orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri (C6-C12) yer almakta olup, sn-2 pozisyonlarında uzun zincir uzunluğundaki yağ asitleri (C14-C22) bulunmalıdır.

Orta zincirli yağ asitlerini (OZYA) sn-1,3 pozisyonlarında, uzun zincirli yağ asitlerini (UZYA) sn-2 pozisyonunda bulunduran yapılandırılmış yağların beslenme faydaları ve uygulamaları ile ilgili yapılan çalışmalar son yıllarda artmıştır (Senanayake ve Shahidi, 2006).

Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar, pankreatik lipaz enzimleri tarafından orta zincirli iki yağ asidi molekülü ve 2-monoağılgiserol (2-MAG) molekülüne kolayca hidrolize olur. Orta zincirli yağ asitleri bağırsaklarda absorbe olarak ve doğrudan

karaciğere taşınarak bir enerji kaynağı olarak kullanılırken; 2-monoaçilgliserol bir esansiyel yağ asit kaynağı olarak işlev görmektedir (Senanayake ve Shahidi, 2006).

Protein ve karbonhidrat bazlı düşük kalorili yağ ikameleri de bulunmaktadır fakat yüksek sıcaklıklara maruz bırakılmadıkları düşünüldüğünde doğal yağlara en yakın ikameler yapılandırılmış düşük kalorili yağ eldesi ile mümkün olmaktadır (Osborn ve Akoh, 2002).

2.4.1.1 Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar ile ilgili yapılan çalışmalar

Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar ile ilgili literatürdeki çalışmalar özetlenmeye çalışılmıştır.

Trioleinin kaproik ve butirik asit ile *Mucor miehei* IM60 lipazıyla katalizlenmiş asidolizi ile düşük kalorili yapılandırılmış yağ eldesi de Fumosa ve diğ. (1997) tarafından çalışılmıştır.

Akoh ve Yee (1997) *Rhizomucor miehei*'den elde edilen ticari Lipozyme® RM IM enzimini kullanarak tristearin ve trikaprin'den enzimatik sentez ile düşük kalorili yağ eldesinde zaman, sıcaklık, enzim miktarı, substrat mol oranı, su miktarının ürün bileşimi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Miura ve diğ. (1999) laurik asit ile triolein arasındaki enzimatik transesterifikasyonla Lipozyme IM kullanarak %70 LaOLA içeren bir fraksiyon elde etmişlerdir. Kolon kromatografisi ile saflaştırma sonrası % 99'dan daha yüksek bir LaOLA fraksiyonu elde edilmiştir.

Mangos ve diğ. (1999) yaptığı çalışmada *Carica papaya*'dan elde edilen lipaz interesterifikasyonu ile triasetin ve hidrojene soya yağı arasında reaksiyon gerçekleştirilerek, reaksiyon koşulları incelenmiştir.

Yang ve diğ. (2001) enzimatik sentezi gerçekleştirdikleri düşük kalorili yağların açık kapalı reaktör sistemleri, vakum reaktördeki reaksiyon koşulları ve on farklı lipaz enziminin aktivitelerini incelemişlerdir.

Demirci ve diğ. (2006) trioleinin enzimatik asidolizi ile düşük kalorili yapılandırılmış yağ üretimi adlı çalışmasında *Mucor miehei* orijinli Lipozyme® RM IM lipazı kullanarak triolein ile laurik asit arasında asidoliz reaksiyonları gerçekleştirmiş ve TAG'lerin üretimine substrat mol oranı, enzim miktarı ve süre gibi reaksiyon parametrelerinin etkisi incelenmiştir.

Bektaş ve diğ. (2008) tripalmitinden enzimatik asidoliz yoluyla kaprik asit varlığında %35,7 oranında sn-1,3 pozisyonunda kaprik asit içeren düşük kalorili yapılandırılmış yağ üretimine yönelik bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmada *Thermomyces lanuginosa* 'dan elde edilen ticari Lipozyme[®] TL IM enzimi kullanılmıştır.

2.4.1.2 Düşük kalorili yapılandırılmış yağlar ile ilgili ticari örnekler

Kalorisi azaltılmış yapılandırılmış yağ ile ilgili ticari örnekler Captrin[®], Caprenin[®], Captex[®] ve Benefat (TM) adlarıyla piyasaya sürülmüştür. Captrin[®] (Stepan Corp, New Jersey, A.B.D.) gliserol ile hindistan cevizi ve palm çekirdeklerinden fraksinasyon ile elde edilen OZYA (ağırlıklı olarak kaprilik ve kaprik asit) arasında gerçekleşen esterifikasyon ile sentezlenmiş 40 yılı aşkın süredir ticari olarak kullanılan bir yağdır (Auerbach ve diğ, 2001). Sağladığı net enerji değeri 6,8 kcal/g. Caprenin[®] (Procter & Gamble, Ohio, A.B.D.) ise hindistan cevizi, palm ve kolza yağları arasında gerçekleşen interesterifikasyon reaksiyonları sonucu üretilerek kakao yağına benzer özellikler göstermekte ve şekerleme endüstrisinde kullanılmaktadır; iki OZYA (kaprilik ve kaprik asit) bir UZYA (behenik asit) içeren TAG yapısındadır. 5 kcal/g enerji sağlamaktadır (Bornscheuer ve diğ, 2003; Osborn ve Akoh, 2002). Captex[®] (Abitec Corp., Ohio, A.B.D.) ise düşük kalorili olmasının yanında genellikle çocuklarda pankreastaki lif dejenerasyonu ve solunum yetmezliği şeklinde görülen bir hastalık olan kistik fibroz hastaları için kullanıldığında uzun zincirli yağ asidi absorpsiyonunda artış sağladığı görülmüştür (Galante ve Tenore, 2006).

Benefat, yüksek içerikli stearik asit, iki, dört ve altı karbon uzunluğundaki kısa zincirli yağ asitlerinden oluşmaktadır, hem düşük kalorili bir yağ olarak, hem de çikolata kaplamalarında ve barlarda kullanılmaktadır (Lee and Lee, 2006). Benefatta kullanılan kısa zincirli yağ asitleri diğer yağ asitleriyle karşılaştırıldığında düşük yanma ısısına sahip olması nedeniyle daha az kalorilidir. C2:0 3,5kcal/g, C3:0 5kcal/g; C4:0 6kcal/g ve C6:0 7,5kcal/gram enerji vermektedir (Osborn ve Akoh, 2002). Benefat, Caprenin gibi 5kcal/g enerji sağlamaktadır (Akoh, 2002). Salatrim (short and long acyltriglyceride molecule) Nabisco Grup tarafından geliştirilen ve normal beslenme yağlarının yarısı kadar enerji sağlayan yapılandırılmış yağların genel adıdır (Lee and Lee, 2006). Salatrim, triasetin ile soya yağının *Rhizomucor*

miehei lipazı varlığında gerçekleşen transesterifikasyon reaksiyonu ile elde edilebilmektedir (Bornscheuer ve diğ, 2003).

2.5 Orta ve Uzun Zincirli Yağ Asitleri Metabolizması

OZYA'leri oda sıcaklığında katı ve sıvı halde bulunabilen, 6-12 karbon uzunluğuna sahip yağ asitleridir. Kalori değerlerinin uzun zincirli yağ asitlerine oranla daha düşük olması nedeniyle kalorisi azaltılmış yapılandırılmış yağların eldesinde kullanılmaktadır. OZYA'leri sağlık açısından faydaları sebebiyle panteral ve enteral beslenmede de kullanılmaktadır. Molekül yapıları, iyi çözünürlükleri, vücut içerisindeki transfer ve metabolik farklılıkları sebebiyle esansiyel uzun zincirli yağ asitleri ile yapılandırılmış yağ çalışmalarında en çok kullanılan yağ asitleridir (Osborn ve Akoh, 2002). Ancak bu yağ asitleri tek başlarına organizmanın esas yağ asidi ihtiyacını karşılayamamaktadır.

OZYA uzun zincirli yağ asitlerine (UZYA) göre daha kolay yükseltgenmeleri; küçük molekül ağırlıkları, kısa yağ asidi zincirleri, yüksek çözünürlükleri nedeniyle UZYA'ne göre hızlı absorbe edilir ve aynı nedenlerle metabolize edilme şekilleri farklıdır (Galante ve Tenore, 2006). UZYA'leri suda çözünmezken, OZT'ler suda çözünerek stabil bir emülsiyon oluşturur, bu farklılık sebebiyle metabolize edilme şekilleri UZT'lerden farklıdır (Galante ve Tenore, 2006). OZT ise UZT'ye göre daha fazla hidrofilik özellikte olduğu için absorpsiyon için safra tuzlarına ihtiyaç duymaz (Akoh, 2002; Osborn ve Akoh, 2002; Bell ve diğ, 1997; Galante ve Tenore, 2006). Sn-1,3-spesifik pankreatik lipaz enzimi ile açığa çıkan OZYA kolaylıkla kan yoluyla karaciğere taşınmakta ve beta-oksidasyona uğrayarak kendilerinden enerji sağlamaktadır (Mu ve Porsgaard, 2005). UZT'ler ise pankreatik lipaz aktivitesi sonucu sn-2 monogliserit ve uzun zincirli yağ asitleri olarak hidrolize edilir. Hidroliz sonucunda açığa çıkan UZYA safra tuzları ile emülsiyon oluşturarak tekrar sn-2 monogliserit yapısına katılır ve UZT oluşturur (Mu ve Hoy, 2000). UZT'ler şilomikron adı verilen protein kompleksleri oluşturarak lenf sistemiyle taşınır ve enerji ihtiyacı yoksa yağ hücrelerinde depolanır. UZYA'nin mitokondri membranından geçerek enerjiye dönüşebilmesi için karnitin gereklidir (Bell ve diğ, 1997). OZT'ler ise hücrelerdeki mitokondrilere karnitinden bağımsız olarak taşınmaktadır ve mitokondride ATP sentezi için UZYA'de olduğu gibi karnitine

ihtiyaç duyulmamaktadır (Akoh, 2002; Osborn ve Akoh, 2002; Bell ve diğ, 1997; Galante ve Tenore, 2006).

OZYA'lerinin lenf yoluyla taşınımı karbon zincir sayısı arttıkça hızlanmaktadır (Mu ve Hoy, 2000). (Akoh, 2002; Osborn ve Akoh, 2002; Bell ve diğ, 1997; Galante ve Tenore, 2006). OZYA, şilomikron oluşumunu da gerektirmez. OZT hızlı bir şekilde OZYA'lerine dönüşerek doğrudan bağırsaklarda absorblanır; serum albumin ile bağlanarak ana toplardamarı ile karaciğere ulaşır ve keton bileşikleri ile hızlıca enerji sağlar. Orta zincirli yağ asitleri triaçilgliserol yapısına tekrar sentezlenmedikleri ve karaciğerde hemen kullanıldığı için adipoz hücrelerde yağ depolanması olmaz (Akoh, 2002; Osborn ve Akoh, 2002; Bell ve diğ, 1997; Galante ve Tenore, 2006).

OZYA, bu hızlandırılmış metabolik transferin sonunda yağ olarak depolanmak yerine, organlar ve kaslarda doğrudan kullanım için verimli bir enerji kaynağına dönüşürler. OZYA'lerinin UZYA'leri kadar yağ olarak depolanamaması özelliğinin yanında, yağ yakımını hızlandırdığı görülmüştür. Termojenik özelliğinin OZYA'lerinin bazı açılardan metabolik açıdan karbonhidratlara benzemeleri ve keton oluşturmaları sebebiyle olduğu düşünülmektedir. Bu sebeplerle OZYA'lerinin kalori değerleri UZYA'ne göre daha düşüktür. UZT'ler 9 kcal/g enerji sağlarken, OZT'ler metabolize olmaları sırasındaki ısı kayıplarından dolayı 6,8 kcal/g enerji vermektedir (Galante ve Tenore, 2006). Hem UZYA'leri hem OZYA'leri içeren yapılandırılmış yağlar, yağ asitlerinin kana eşzamanlı ve OZYA'lerinin daha düşük hızda ve kontrollü olarak saliverilmesini sağlamak amacıyla tasarlanmaktadır (Osborne ve Akoh, 2002; Hoy ve Xu, 2001). Aynı zamanda yüksek dozda OZT alımının toksik etkilere neden olduğu görülmüştür (Mu ve Hoy, 2000). Bu sebeple OZT'ler hızlı sindirim ve hızlı enerji gereksinimi olan belirli gruptaki hastalarda kullanılmaktadır. OZT'ler ticari olarak 1955 yılında yağ malabsorpsiyon sendromu, premature doğumlar gibi hastalıklarda hızlı absorpsiyon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaya başlanmıştır (Galante ve Tenore, 2006). Hindistan cevizi yağı ve palm yağı en yaygın OZYA'leri kaynaklarıdır (Galante ve Tenore, 2006).

2.5.1 Laurik asit

Hindistan cevizi yağında bulunan temel yağ asidi olan laurik asit; benzersiz özellikleriyle sabun yapımında ve kozmetik endüstrisindeki kullanımları nedeniyle uzun yıllardır bilinmektedir. Son yıllarda ise antiviral, antiprotozal, antibakteriyel

fonksiyonlarının yarattığı eşsiz özellikleri sebebiyle gıda alanında da fark edilmektedir. Laurik asit, insan vücudunda monolaurine dönüşmektedir. Monolaurin antiviral, antibakteriyel ve antiprotozal bir monoasit gliseroldür ve HIV, herpes, influenza, çeşitli patojen bakteriler ve protozaların inaktivasyonunda kullanılmaktadır. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, groups A, F ve G streptococci, gram-pozitif organizmalar monolaurinin inaktive edebildiği mikroorganizmalardır (Senanayake ve Shahidi, 2006).

Laurik asit ayrıca anne sütünde bulunan temel yağ asitlerinden birisidir. Anne sütünde bağışıklık sistemi gelişene kadar bakteriyel, protozal, viral ve fungal enfeksiyonlardan bebek bağırsağını korumak için önemli bir komponenttir (Senanayake ve Shahidi, 2006).

Laurik asitçe zengin hindistancevizi yağının çok yaygın olarak tüketildiği Sri Lanka gibi ülkelerde hindistan cevizi yağının tüketilmesinin; yüksek serum kolesterolüne ve kronik kalp rahatsızlığından kaynaklanan hastalık ve ölümlere neden olmadığı belirtilmektedir (Senanayake ve Shahidi, 2006).

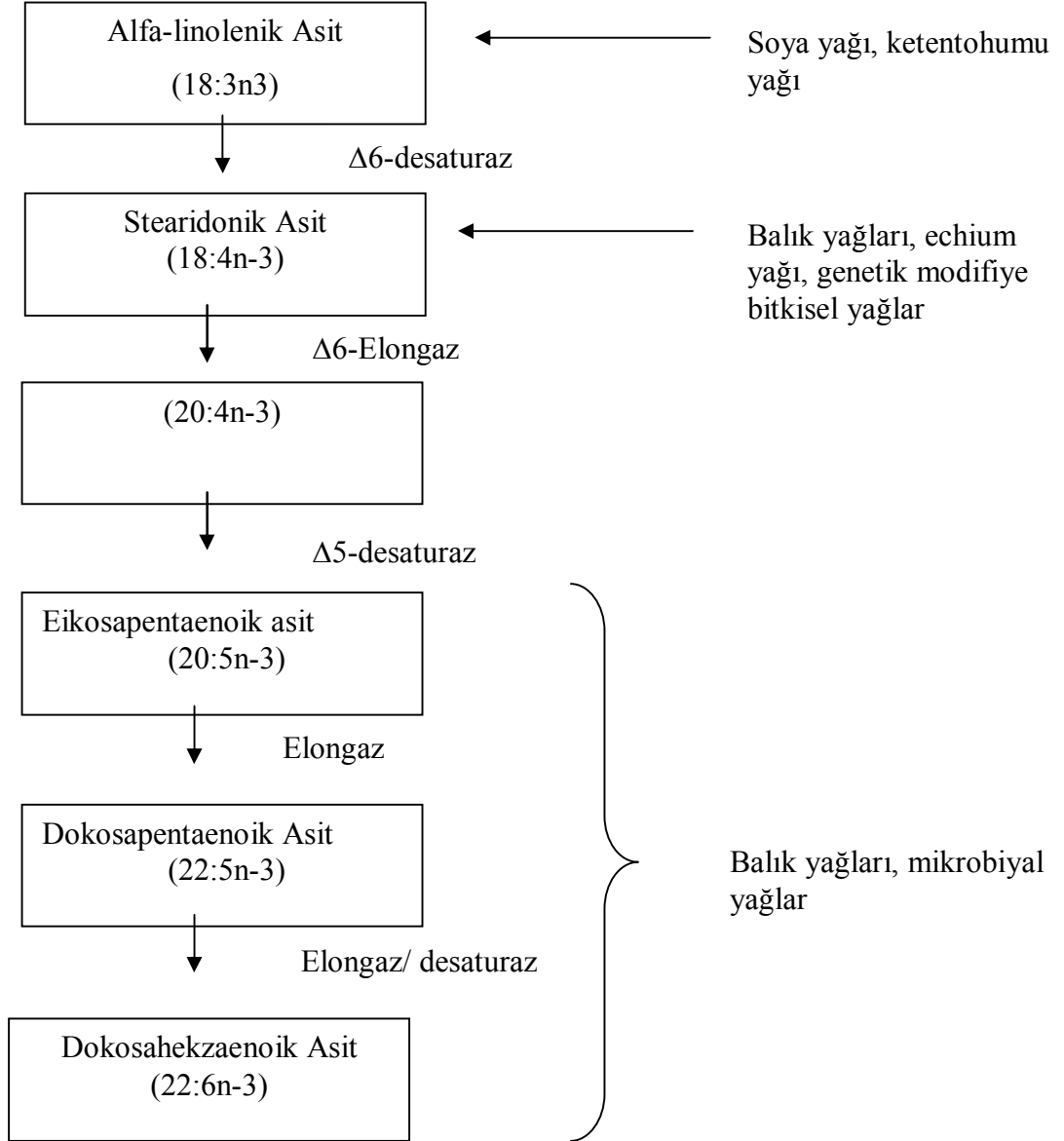
2.5.2 Omega-3 yağ asitleri

Omega-3 ailesine ait yağ asitlerinden alfa-linolenik asit esansiyel bir yağ asidi olup, en çok soya, keten tohumu gibi bitkilerin tohumlarında ve yeşil yapraklı bitkilerin kloroplastlarında bulunur. Vücut için önemli olan diğer omega-3 yağ asitleri balık yağlarında özellikle okyanus balıklarında bulunan EPA ve DHA'dır. Omega-3 yağ asitleri için birincil kaynak olan balık yağları %14-30 EPA ve DHA içermektedir (Kim ve Hill, 2006).

Omega-3 yağ asitlerini içeren balık yağına alternatif yenilenebilir kaynaklar; genetiği değiştirilmiş organizmalar, mikrobiyal kaynaklar ve doğal bitkilerdir. SDA her üç kategoride de bulunuyorken; EPA ve DHA sadece mikroorganizmalar yoluyla güvenilir şekilde elde edilebilmektedir (Coupland, 2008).

Omega-3 yağ asitlerinin kalp ve damar hastalıkları, bağışıklık sistemi sorunları, alerji problemleri ve diyabet hastalığı, kanser, nörolojik bozukluklar üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu belirtilmektedir (Akoh, 2002, Whelan, 2009).

Omega-3 yağ asitlerinin vücuttaki metabolizması ve omega-3 kaynakları Şekil 2.5.3’de gösterilmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi α - linolenik asit vücutta öncelikle SDA’ya daha sonra EPA ve DHA’ya metabolize olmaktadır (Jacobsen, 2004).



Şekil-2.6 : Omega-3 yağ asitlerinin izlediği metabolik yol ve besinsel kaynakları (Türkay ve diğ, 2006; Akoh, 2002; Coupland, 2008; Jacobsen, 2004).

2.5.2.1 Stearidonik asit

Stearidonik asit, Cis 6,9,12,15-oktadekatetraenoik asit ya da moroktik asit olarak da adlandırılan omega-3 gurubu yağ asitlerindendir (Guil-Guerrero, 2007). 1960’lı yıllarda bitkilerde varlığı keşfedilmiş olsa da, son yıllarda yoğun olarak çalışmalara konu olmuştur.

Stearidonik asit ALA'nın uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri olan EPA ve DHA dönüşümündeki ilk metabolittir. EPA ve DHA özellikle son yıllarda insan vücudundaki fizyolojik fonksiyonları sebebiyle önem kazanmıştır. Bu anlamda SDA'ce zengin bitkisel kaynaklar, omega-3 kaynağı balık yağlarına alternatif olarak adlandırılmaktadır (Whelan, 2009).

Stearidonik asidin oluşumu $\Delta 6$ -desaturaz enzimiyle gerçekleşmektedir. ALA'in EPA ve DHA'ya metabolizmadaki dönüşümü sınırlıdır. $\Delta 6$ desaturaz enzimi aktivitesi, yaşlanma, stres, diyabet, alkol, sigara, kolesterol, trans ve doymuş yağ asidi tüketimi, vitamin ve mineral eksiklikleri gibi faktörlere bağlı olarak azalmaktadır (Türkay ve diğ., 2006; Coupland, 2008) Enzimin sınırlı olduğu durumlarda ALA yerine SDA alımı önerilmektedir. SDA'nın EPA'ya dönüşümünün aynı miktardaki ALA'dan 3-4 kat daha verimli olduğu çalışmalar sonucunda gözlenmiştir (Coupland, 2008).

EPA ile karşılaştırıldığında SDA'nın, plazma fosfolipitlerindeki EPA seviyelerini yükseltmede yaklaşık olarak %17-30 oranında daha etkili olduğu belirtilmektedir (James ve diğ, 2003).

Doğal SDA kaynakları algler, küfler ve özellikle *Echium* (*Boraginacea*) türleri olmak üzere *Grossulariaceae*, *Caryophyllaceae*, *Primulaceae* ailelerine ait bitkilerdir (Guil-Guerrero, 2007; Whealan, 2009). Ayrıca deniz yosunları da (*Undaria pinnatifida*) 0,7-1,9 mg/g (kuru ağırlıkta) SDA içermektedir (Whelan, 2009). *Echium* bitkisi yağı ise doğadaki en zengin SDA kaynağıdır (Whelan, 2009).

Amerika'da yapılan beslenme anketi sonuçlarına göre; çoğunluğu LA'dan oluşmak üzere ortalama DYA alımı yaklaşık olarak 20 g/gündür. Popülasyonlara göre değişiklik göstermekle birlikte, günlük ÇDYA alım miktarı 100-170 mg/gün arasında değişmektedir, tavsiye edilen miktar ise 300 mg/gündür. Kalp hastaları için tavsiye edilen miktar ise 1g/güne çıkmaktadır. Kardiyovasküler hastalar üzerinde yapılan klinik çalışmalarda günlük 1g civarında alınan EPA'nın ölüm oranını %20 oranında, ani ölüm oranlarını ise %45 oranında azalttığı görülmüştür (Coupland, 2008).

SDA omega-3 yağ asitlerine benzer özellikte sağlık iddaları taşımaktadır ancak Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi tarafından sağlık iddaları henüz tanımlanmamıştır. SDA'nın enfeksiyon giderici, kanserli hücre inhibisyonu, deri semptomlarının iyileştirilmesinde ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalar sonucunda iddia edilmektedir (Ruiz-Lopez ve diğ, 2009).

Kısa bir zaman önce kardiyovasküler hastalık için omega-3 indeksi adı verilen, toplam eritrosit yağ asitlerinin yüzdesi olarak açıklanan eritrosit membranlardaki EPA+DHA toplamı yani yeni bir klinik biyogösterge ortaya konmuştur. Omega-3 indeksi kardiyovasküler hastalıkların ölüm riskini gösteren bir parametredir. Omega-3 indeksi üzerinde değişikliklere yol açan ALA, SDA ya da EPA takviyelerinin etkilerini değerlendirmek için yapılan bir araştırmada, SDA ve EPA'nın ALA'dan (sırasıyla $P=0,0005$ ve $P=0,0001$) daha etkili olduğu görülmüştür. SDA ve EPA karşılaştırıldığında da SDA'nın EPA'dan %17 daha fazla etkili olduğu belirtilmektedir (Whelan, 2009).

SDA ve EPA'nın karşılaştırıldığı başka bir çalışmada her ikisiyle de ödemde ve kan akışında azalma görülmüştür. SDA'nın iltihabi rahatsızlıklar üzerindeki etkileri EPA ile aynı olduğu görülmüştür (Whelan, 2009).

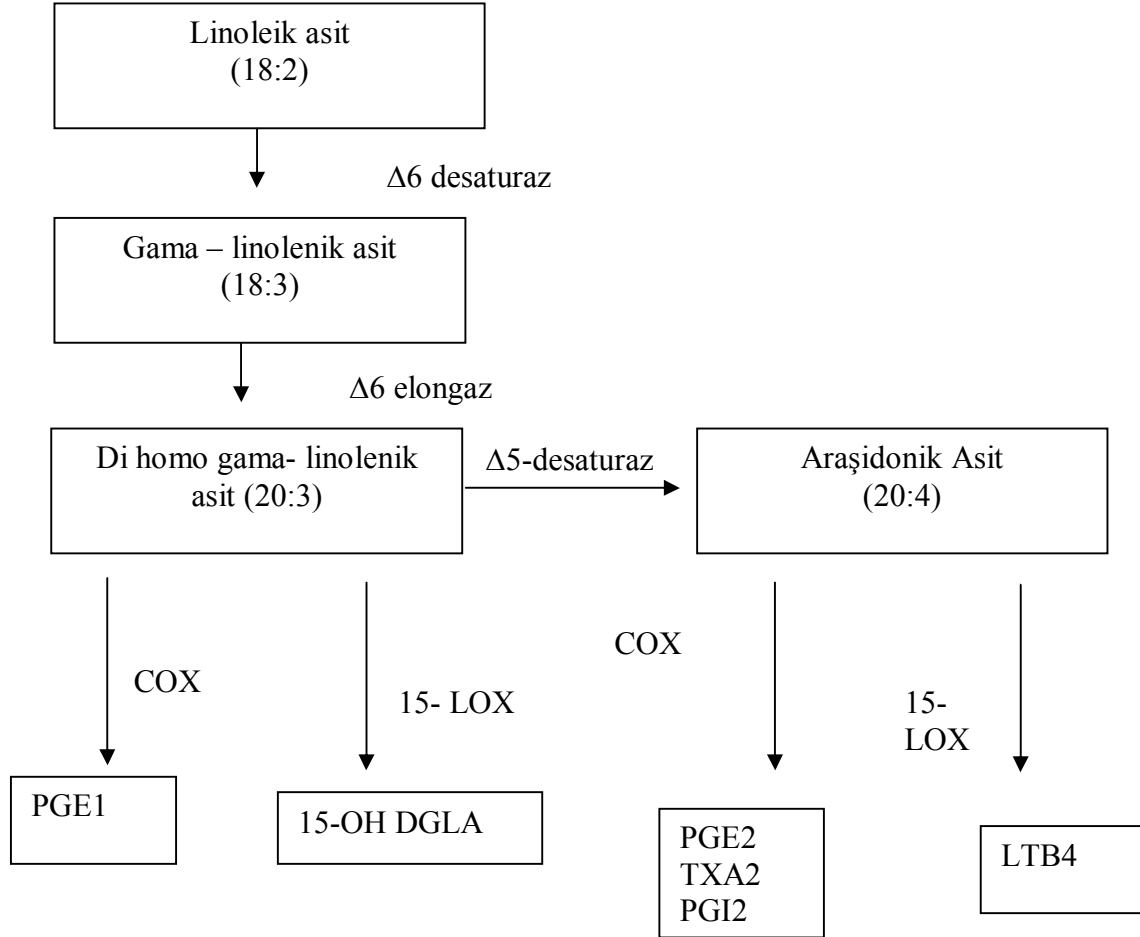
Yapılan klinik bir çalışmada yaşları 18-65 arasında değişen 45 sağlıklı insan üç gruba ayrılarak keten tohumundan ALA, engerek otundan SDA ve balık yağından EPA elde edilerek, bireylere verilmiştir. SDA verilen deneklerin kan hücrelerinde ve plazmalarındaki EPA miktarında artış gözlenmiştir. 1 gram SDA'dan, 300 mg EPA oluşmaktadır. 750 mg SDA'dan aynı miktardaki ALA'ya göre EPA oluşumu 5 kat fazla olmuştur. Aynı çalışmada 1,5 gram SDA'nın toplam kolesterolde düşüşe neden olduğu da gözlenmiştir (Coupland, 2008).

2.5.3 Omega-6 yağ asitleri

En çok bilinen ve en önemli omega-6 esansiyel yağ asidi linoleik asittir. Linoleik asit hindistan cevizi, kakao ve palm gibi pekçok bitki tohumundan elde edilir (Akoh, 2002). Linoleik asidin kolesterol düşürücü etkisinin olduğu ve atar damar pıhtı oluşumunu önlediği bilinmektedir (Akoh, 2002). Linoleik asit eksikliği dermatit, aşırı terleme, büyüme-gelişme bozuklukları ve yaraların güç iyileşmesi gibi belirtiler ile ortaya çıkmaktadır (Akoh, 2002). Linoleik asidin diyetle %1-2 oranında alınmasının bebeklerde çeşitli biyokimyasal eksiklikleri önlediği gözlenmiştir. Yapılandırılmış yağların %3-4 oranında omega-6 içermesinin esansiyel yağ asidi gereksinimi için yeterli olduğu bilinmektedir (Akoh, 2002). Omega-6 esansiyel yağ asitlerinin özellikle de linoleik asidin gereğinden fazla alımı da kardiyovasküler hastalıklar, kanser, bağışıklık sistemi sorunları gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Miller ve diğ, 2008).

2.5.3.1 Gama– Linolenik asit

GLA; $\Delta 6$ desaturaz enzimi ile linoleik asitten üretilen omega-6 sınıfına ait bir yağ asidi olup, vücutta önemli iki prostaglandin'in (PGE1 ve 15-OH-DGLA) oluşumunda görev alan dihomogama-linolenik asite (DGLA) dönüştürülmektedir. Omega-6 yağ asitlerinin vücuttaki metabolizması Şekil-2.7'de gösterilmektedir.



Şekil-2.7 : Omega-6 yağ asitlerinin vücutta izlediği metabolik yol (Türkay ve diğ., 2006; Akoh, 2002; Wanasundara ve Wanasundra, 2006; Jacobsen, 2004; Guil-Guerrero, 2007).

Prostaglandinler hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde hayati öneme sahiptir. Bu bileşikler özellikle kalp, dolaşım, deri ve savunma sisteminde etkilidir. Hormonlara benzer olup, etkileri daha bölgesel ve ömürleri daha kısadır (Jacobsen, 2004). PGE1 prostaglandininin; pıhtı oluşumu ve enfeksiyonu engelleme, damarları genişletme, kolesterol biyosentezini engelleme, bağışıklık sistemini düzenleme ve kan basıncını düşürme gibi etkileri bulunmaktadır. 15-OH-DGLA ise enfeksiyon oluşturan maddelerin oluşmasını engellemektedir. $\Delta 5$ desaturaz enzimi ile DGLA daha sonra

araşidonik aside dönüşür (Türkay ve diğ., 2006). Hastalık durumlarında $\Delta 6$ desaturaz enziminin azalması ile di homo gama- linolenik asit (20:3) ve onun metabolitleri olan prostaglandin (PGE1) ve 15-hidroksidihomo gama-linolenik asit (15-OH DGLA) sentezi azalır. Bu durumda GLA beslenme takviyeleri ile $\Delta 6$ desaturaz enzimi eksikliğinden kaynaklanan hastalıklar önlenabilmektedir (Senanayake ve Shahidi, 2002).

GLA hücre zarında bulunması gereken mitokondriyon bileşeninin oluşumunda yer alan en önemli maddedir. Bu yağ asidinin eksikliğinin hücrelerin zedelenmesine, ciltteki nem dengesizliğine, cilt kurumasına ve hassaslaşmasına ve egzamaya yol açabildiği belirtilmektedir (Shahidi ve Senanayake, 2006).

Doku sertleşmesi, menapoz öncesi sendrom, diyabet, kanser gibi hastalık durumlarında GLA alınması önerilmektedir. GLA kaynağı olarak Boraginaceae ailesi en iyi kaynak olup %9-26 oranında GLA içermektedir. (Guil-Guerrero, 2001). SDA ve GLA sadece *Boraginaceae*, *Primulaceae* ve *Ribes* cinsine ait bitkilerin tohum yağlarında birlikte bulunmaktadır (Guil- Guerrero, 2000).

GLA'nın tavsiye edilen günlük alım miktarı 500 mg'lık çuhaçiçeği yağı tabletlerinden 2-6 adet arasında değişmektedir. Bu değer, GLA içeriğinin %9 olduğu göz önüne alınırsa günde 90-250 mg GLA olarak hesaplanabilir. Beslenme amaçlı 25-50 mg GLA, iyileştirme amaçlı 100-500 mg, ilaç olarak kullanımında ise 500-1000 mg GLA tavsiye edilmektedir (Clough, 2001). Günümüzde GLA'nın besin ve tıbbi açıdan değerinin anlaşılması; bu yağ asidi kaynaklarından saflaştırılması ve zenginleştirilmesi üzerine olan çalışmaları hızlandırmıştır. Bu amaçla; GLA içeren yağlara, değişik yöntemler uygulanarak GLA açısından zengin ürünler elde edilmeye çalışılmaktadır. Bunlar arasında en iyi sonuçlar alınan ve endüstriyel üretimde de ümit vadeden yöntem, enzimatik yolla zenginleştirmedir. Bu yöntemde; yağlar lipaz enzimi katalizörlüğünde seçimli hidroliz, seçimli esterleşme veya alkoliz reaksiyonlarına tabii tutulmaktadır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

3.1 Kullanılan Hammaddeler

Bu çalışmada kullanılan engerek otu tohumu (*Echium vulgare*) Edirne ili ve civarından toplanmıştır. Laurik asit Merck-Schuchardt (Hohenbrunn, Almanya)'dan temin edilmiştir. Asidoliz reaksiyonlarında Lipozyme® RM IM ticari lipaz enzimi kullanılmıştır. *Rhizomucor miehei*'den kaynaklı ve 1,3- spesifikliği olan bu enzim Nova Nordisk, İstanbul'dan temin edilmiştir. Tohumdan yağ ve yağ asidi elde etme aşamasında, yağ asitlerinin reaksiyonu ve reaksiyon sonucunda elde edilen ürünlerin analizlerinde, yağ asitlerinin bileşimlerinin saptanmasında ve tanımlanmasında kullanılan kimyasallar Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

Şekil 3.1'de *Echium vulgare* bitkisi gösterilmektedir.



Şekil 3.1 : *Echium vulgare* bitkisi.

3.2 Çalışma Yöntemi

3.2.1 Engerek otu tohumundan yağ eldesi

Edirne bölgesinden toplanmış engerek otu (*Echium vulgare*) tohumlarından yağ eldesi için çözücü olarak hekzanın kullanıldığı Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Engerek otu tohumları öğütücüde öğütüldükten sonra Soxhlet ekstraksiyonu ile altı saat ekstraksiyon uygulanmıştır. Döner buharlaştırıcılı evaporatörde 50°C'de hekzan uzaklaştırılarak engerek otu yağı elde edilmiştir. Yağ kullanılabilecek -18°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Kullanılan hammaddelerin karakterizasyonu

Çalışmada substrat olarak kullanılan laurik asit ve engerek otu yağının bileşimi kapiler gaz-sıvı kromatografisi (GSK) ile saptanmıştır. Bunun için öncelikle laurik asidin ve engerek otu yağ asitlerinin metil esterleri hazırlanmıştır. Tartılan örneklerle (0,1 g) 3 ml metanolde hazırlanan %6'lık HCl çözeltisi ile 0,40 µl C17:0 yağ asidi ilave edilerek, 3.2.5'te verilen yöntemle engerek otunun metil esterleri hazırlanmıştır.

3.2.3 Engerek otu yağının laurik asit ile asidolizinde uygulanan yöntem

Engerek otu yağı ile laurik yağ asitleri arasında gerçekleştirilen asidoliz tepkimeleri kapaklı deney tüplerinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı 5 ml hekzan, engerek otu tohumu yağı ve laurik asidin farklı molar substrat oranlarından ve Lipozyme® RM IM enziminden oluşmaktadır.

Dört farklı substrat/mol oranı (2:1, 3:1, 4:1, 5:1), üç farklı reaksiyon sıcaklığı (40 °C, 50°C, 60°C), farklı enzim miktarları (%5, %10, %15) ve reaksiyon sürelerinde (2 saat, 4 saat, 6 saat) asidoliz reaksiyonları gerçekleştirilmiş ve laurik asidin engerek otu yağına katılma oranlarının belirlendiği ön deneyler yapılmıştır.

Tepkimelerin tamamı 200 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan çalkalamalı su banyosunda (Biotek, NB 303) 2'şer paralel olacak şekilde yürütülmüş ve katılım değerleri sonuçların ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

3.2.4 Asidoliz ürünlerinin analizi

Asidoliz ürünlerinin analizinde öncelikle ince tabaka kromatografisi kullanılarak oluşan TAG bantlarının ayrımı sağlanmıştır. İnce tabaka kromatografisinin ilkesi silikajel ile kaplanmış plaka üzerine bileşimi analiz edilmek istenen yağ örneğinin enjekte edilmesi ve hareketli faz olarak adlandırılan sıvı karışımın plakada yürütülmesi şeklindedir.

Asidoliz reaksiyonları sonucunda, reaksiyon karışımı susuz sodyum sülfat kolonundan filtre edilerek enzim ve nem içeriğinden uzaklaştırılmıştır. 50 µl reaksiyon ürünü daha öncesinde 110 °C'deki etüvde 1 saat boyunca bekletilen silika jel G ile kaplanmış 20*20 cm boyutundaki TLC plakalarına uygulanmıştır. Örnekler ince tabakaya spotlandıktan sonra petrol eteri:dietil eter:asetik asit (80:20:0.5, hacimce) çözgen sistemiyle yürütülmüştür. Reaksiyon ürünlerinin uygulandığı plakalar; petrol eteri: dietil eter: asetik asit (hacimce 80:20:0.5) çözgen sisteminin yer

aldığı tanka yerleştirilmiştir. Çözgen sistemi plaka üzerinde yürütüldükten sonra plakalar üzerine 2,7-diklorofloresinin metanoldeki % 0,2'lik çözeltisi sprey edilerek görünür hale gelen (TAG) bandı plakadan kazınarak kapaklı tüplere aktarılmıştır (Şahin-Yeşilçubuk ve Karaali, 2008; Jennings ve Akoh, 1999).

3.2.5 Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması

TLC plakalarından kazınan ve tüplere alınan TAG bantlarına 3 ml metanolde hazırlanan %6'lık HCl çözeltisi ile 0,40 µl C17:0 yağ asidi ilave edilerek, 70-80°C'deki etüvde 2 saat süreyle metillendirilmiş ve yağ asitleri metil esterleri (YAME) 2 kez 2 ml hekzan ve 1 ml 4 M KCl çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. Yağ asitlerinin metil esterlerini içeren faz susuz sodyum sülfat kolondan geçirilerek nemi uzaklaştırılmıştır (Şahin-Yeşilçubuk ve Karaali, 2008). Hekzan miktarı 0,5 ml oluncaya dek azot gazı altında uçurulmuştur (Jennings ve Akoh, 1999).

3.2.6 Yağ asitlerinin gaz kromatografisi ile analizi

Çalışmada substrat olarak kullanılan engerek otu tohum yağı serbest yağ asitlerinin ve reaksiyon ürünlerinin yağ asidi kompozisyonları gaz-sıvı kromatografisi (GSK) ile belirlenmiştir. Bunun için Thermoquest Trace GC 2000 marka GSK cihazı kullanılarak AOAC 969.33 metoduna göre analiz yapılmıştır. 30 m uzunluğuna sahip kapiler kolon ZB wax (Bellaforte, PA) kullanılmış olup, GSK cihazının koşulları ve kullanılan kolonun özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : Gaz kromatografisi cihazında uygulanan koşullar ve kolon özellikleri.

Dedektör tipi ve sıcaklığı	Alev iyonizasyon dedektörü (260 °C)
Enjektör sıcaklığı	250 °C
Helyum akış hızı	1,5 ml/dk
Fırın sıcaklığı	1. 150 °C (3 dak) 2. 5 °C/dk ile 225 °C 3. 225 °C (5 dak)
Kolon tipi	30 m uzunluğunda, 0.25 mm iç çaplı 0.25 µm film kalınlığında kapiler kolon
Enjeksiyon miktarı	1 µL

Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırasıyla 250°C ve 260°C olarak ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 150°C'de 3 dak daha sonra 10°C/dak sıcaklık programıyla kademeli olarak 215°C'ye kadar arttırılmış ve 215°C'de 10 dak bekletilmiştir. 1 µL örnek enjekte edilmiş ve analiz sonuçları yağ asidi metil esterlerinin % mol miktarları

olarak belirtilmiştir. Bunun için C17:0 iç standardı kullanılarak bilgisayar programı yardımıyla hesaplamalar yapılmıştır (Şahin-Yeşilçubuk ve Karaali, 2008).

3.2.7 Deneysel tasarım ve reaksiyon koşullarının optimizasyonu

Literatür araştırmasından ve ön deneme sonuçlarından Lipozyme[®] RM IM lipaz enzimi kullanılarak engerek otu yağına laurik asit katılmasının gerçekleştiği enzimatik asidoliz tepkimelerini etkileyen bağımsız değişkenlerin aralıkları belirlenmiştir. Substrat mol oranı ve reaksiyon süresi değişken faktörler olarak seçilmiştir. Enzimatik asidoliz reaksiyonu üzerine substrat mol oranı ve reaksiyon süresi faktörlerinin incelenmesi ve optimizasyonu için tepki-yüzey yöntemi kullanılmıştır. 5 seviyeli Merkezil Bileşik Deney Tasarımı (CCD) Modde 9 (Umetrics, İsveç) programı yardımıyla belirlenmiştir.

Seçilen iki faktör ve limit değerleri; substrat mol oranı (Sr, laurik asit/ engerek yağı, mol/mol) 2:1- 5:1; reaksiyon süresi (t, saat) 4-8 saat aralığındadır. Merkezil Birleşik deney tasarımında belirlenen bağımsız değişkenlere ve belirlenen noktalara karşılık gelen değerler Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 : Merkezil Birleşik deney tasarımında belirlenen bağımsız değişkenlere ve belirlenen noktalara karşılık gelen değerler.

Bağımsız Değişkenler	Kullanılan Seviyeler ve Değerleri				
	-α	-1	0	1	α
Sr	1,379	2	3,5	5	5,621
t	3,172	4	6	8	8,828

3.2.8 İstatistiksel analiz ve model doğruluğunun tespiti

Matematiksel ve istatistiksel tekniklerin birarada kullanıldığı ve bağımlı değişkenin çok sayıda bağımsız değişkenden etkilendiği problemlerin analizinde ve modellenmesinde ve tepkime optimizasyonunda kullanılan bir yöntem olan Tepki-yüzey yöntemi kullanılmıştır. Reaksiyonlar sonucunda seçilen tepki (laurik asit miktarı (%mol)) için, lineer ve kuadratik model elde edilmiştir. Reaksiyon etkilerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi Modde 9 (Umetrics, İsveç) programı kullanılarak varyans analizi ve R² model katsayısı ile yapılarak, tepkinin değişken faktörlere göre değişimini gösteren izdüşüm (Contour Plot) ve tepki- yüzey (Response Surface) grafikleri yorumlanmıştır.

3.2.9 Yağ asitlerinin sn-2 pozisyonel analizi

Asidoliz tepkimeleriyle üretilen yapılandırılmış yağların sn-2 pozisyonunda bulunan yağ asitlerinin kompozisyonunun belirlenmesi için ilk olarak, TLC plakalarından kazınan TAG bantları üzerine 2 ml Tris tamponu (1,0 M), 0,5 ml safra tuzu çözeltisi (%0,05) ve 2 ml kalsiyum klorür çözeltisi eklenerek 2 dakika süreyle tüp karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Daha sonra, karışımı içeren test tüplerine 40 mg pankreatik lipaz enzimi eklenip 40°C'deki su banyosunda 3 dakika bekletilmiştir. Su banyosundan alınan tüpler 2 dakika tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Reaksiyonun durdurulması için tüplerdeki karışıma 1 ml HCl (6 N) ve 4 ml dietil eter eklenmiştir. TAG bantlarındaki yağı ekstrakte etmek için tüpler 1 dakika tüp karıştırıcıda karıştırılmış ve ardından 3 dakika süreyle 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası test tüplerindeki üst faz sodyum sülfat kolondan geçirilmiştir. Tüplerde kalan karışım TLC plakalarına uygulanarak hekzan:dietil eter:formik asit (60:40:1,6, hacimce) çözgen sisteminde yürütülmüştür. Sonraki aşamada, TLC plakaları üzerine 2,7-diklorofloresinin metanol ile hazırlanmış %0,2'lik çözeltisi püskürtülerek TAG bantları görünür hale getirilmiştir. TAG bantları spatül yardımıyla plakalardan kazınarak test tüplerine aktarılmış ve 3.2.5'te belirtilen yöntem ile yağ asidi metil esterleri hazırlanıp, gaz-sıvı kromatografisinde analiz edilmiştir (Pina-Rodriguez ve Akoh, 2009). Yağ asidi metil esterlerinin gaz-sıvı kromatografisinden elde edilen sonuçlar, C17:0 iç standardı ile yağ asitlerinin % mol miktarları belirlenmiştir.

3.2.10 Modelin doğrulanması ve ürünün büyük ölçekte üretimi

Tepki Yüzey Yöntemi ile elde edilen izdüşüm grafiklerinden belirlenen optimum koşullarda asioliz reaksiyonları tekrarlanarak modelin doğruluğu araştırılmıştır. Ayrıca optimum koşullarda substrat miktarları 20 kat arttırılarak yapılandırılmış yağların büyük ölçekte üretimi gerçekleştirilmiştir. 2 paralel olacak şekilde çalkalamalı su banyosunda yapılan üretim, reaksiyon sıcaklığı 50°C, reaksiyon süresi 4 saat ve substrat mol oranı 5:1 mol/mol olan reaksiyon koşullarında gerçekleştirilmiştir. Büyük ölçekte üretim için kullanılan toplam yağ miktarı 50 mg'dan 10 gr'a yükseltilmiş; kullanılan hekzan miktarı da 8 kat arttırılmıştır.

3.2.11 Reaksiyon ürünlerinden serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılması

Yapılandırılmış yağların büyük ölçekte üretiminden sonra elde edilen reaksiyon karışımından serbest yağların uzaklaştırılması için Lee ve diğ. (2004)'in uyguladığı

yöntem kullanılmıştır. Bu yönteme göre, enzimatik reaksiyon sonrasında reaksiyon ürünleri susuz sodyum sülfat kolondan geçirilmiştir. Daha sonra, reaksiyon karışımına %20 etanol ile hazırlanan 0,5 N KOH çözeltisinden 20 ml ve 36 ml hekzan eklenir ve ayırma hunisine aktararak çalkalanmış ve faz ayrımının olması için beklenmiştir.. Faz ayrımı gerçekleştikten sonra üst faz (hekzan fazı) bir beherde toplanarak içerisine 1-2 damla fenolfitaleyn çözeltisi eklenmiş ve %20 etanol ile hazırlanan 0,5 N KOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Karışımın rengi pembeye döndükten sonra doymuş tuz çözeltisinden 10 ml karışıma eklenmiştir. Ayırma hunisine aktarılan karışım kuvvetlice çalkalanmış ve üst (hekzan fazı) susuz sodyum sülfat kolonundan geçirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Substratların Yağ Asitleri Bileşenleri

Gaz kromatografisi kullanılarak Engerek otu tohumu yağının yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Engerek otu tohumundan yağ ekstraksiyonu sonucunda tohumun yağ içeriği ortalama %20 olarak bulunmuştur.

Engerek yağının yağ asidi kompozisyonu Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 : Engerek yağının yağ asidi kompozisyonu.

Yağ asidi	16:0	18:0	18:1n9	18:2n6	18:3n6	18:3n3	18:4n3	20:0
Miktar (% mol)	7,9	4,8	16,2	15,3	10,2	32,9	12,2	0,4

Çizelge 4.1’den de görüldüğü gibi engerek otu yağı uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerince zengin benzersiz bir yağdır.

Kullanılan laurik asidin yağ asit bileşimi Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : Laurik asidin yağ asidi bileşimi.

Yağ asidi	12:0	14:0	16:0	18:1	18:2
Miktar (% mol)	99,5	0,07	0,1	0,2	0,07

Çizelge 4.2’den de görüleceği üzere, kullanılan laurik asit % 99,5 saflıktadır.

4.2 Tepki Yüzey Yöntemine Göre Deneysel Tasarım ve Reaksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu

Engerek otu yağına enzimatik asidoliz ile laurik asit katılarak düşük kalorili bir yağ eldesinin hedeflendiği çalışmada, tepki yüzey yöntemine göre deneysel tasarımı yapabilmek için öncelikle enzim miktarı, substrat mol oranı, sıcaklık ve reaksiyon

süresi olarak seçilen bağımsız değişkenlerin seviye değerlerinin belirlenmesi gerekmiştir. Bu amaçla ilk olarak farklı mol oranları ve farklı reaksiyon süresi ve sıcaklık değerlerinde asidoliz reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Öncelikle dört farklı substrat/mol oranı (2:1, 3:1, 4:1, 5:1) ve üç farklı reaksiyon süresinde (2 saat, 4 saat, 6 saat) asidoliz reaksiyonları 50°C sıcaklık ve %10 enzim miktarı değerleri sabit tutularak gerçekleştirilmiştir. Belirlenen substrat/mol oranı ve reaksiyon sürelerinin seviye değerleri üzerinden üçüncü değişken olan enzim miktarı değiştirilmiştir. Bunun için %5, %10, %15 enzim miktarları ile ön deneyler yapılmış, bu denemelerden enzim miktarı % 10 olarak belirlenerek dördüncü değişken olan farklı sıcaklık değerleri ile deneyler yapılmıştır. Reaksiyon sıcaklığı 40°C, 50°C, 60°C’de denenerek; son olarak en uygun sıcaklık değeri 50°C olarak belirlenmiş olup, tepki-yüzey yönteminde uygulanacak deney tasarımı için yapılan ön analizler sonuçlanmıştır.

Ön analiz sonuçları ve literatür bilgisi ile yapılan değerlendirmeler sonucunda substrat/mol oranı ve reaksiyon süreleri bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir.

Enzim miktarı ve sıcaklığın laurik asit katılımına etkisinin çok düşük olduğu görülmüştür. Bu nedenle sıcaklık değeri olarak 50°C ve enzim miktarı olarak en ekonomik koşullar açısından uygun değer olan %10 seçilmiştir. Bu değerler sabit tutularak; farklı substrat mol oranı ve reaksiyon süreleri deney deseni oluşturulmuştur. Asidoliz reaksiyonları için üç deney merkez noktası olmak üzere toplam 11 adet deney noktası oluşturulmuştur. Deney deseni noktaları Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Bütün tasarım noktalarında 3’er paralel deney yapılmıştır (Şahin-Yeşilçubuk ve Karaali, 2008).

Çizelge 4.3 : Merkezil Bileşik Deney tasarımı belirlenen 11 deneyin koşulları ve kod değerleri.

Deney no	Substrat/mol oranı		Süre	
	Kod	Değer	Kod	Değer
1	-1	2	-1	4
2	-1	2	+1	8
3	+1	5	-1	4
4	+1	5	+1	8
5	0	3,5	-α	3,172
6	0	3,5	+ α	8,828
7	- α	1,379	0	6
8	+α	5,621	0	6
9	0	3,5	0	6
10	0	3,5	0	6
11	0	3,5	0	6

4.3 Farklı Reaksiyon Koşullarının Asidoliz Reaksiyonuna Etkilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi

Enzimatik asidoliz reaksiyonlarından elde edilen veriler Modde 9 (Umetrics, İsveç) programı kullanılarak analiz edilerek çoklu regresyon analizi, geriye dönük eleme yöntemleri ile tepkimelere ait modeller oluşturulmuş; varyans analizi yapılarak, elde edilen veriler ile oluşturulan modellerin uygunluğu incelenmiştir. 2 değişkenli 5 seviyeli deneysel tasarımda elde edilen tepkinin (laurik katılımı %mol) değerlendirilmesinde aşağıdaki 2. Derece polinom eşitliğinden yararlanılmıştır.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (4.1)$$

Eşitlikte yer alan:

Y: Tepki

β_0 : Kesişim terimi

β_i : Lineer (1.derece) regresyon katsayısı

β_{ii} : Kuadratik (2.derece) regresyon katsayısı

β_{ij} : Etkileşim regresyon katsayısı

X_i ve X_j : Bağımsız değişkenlerdir.

Modde 9 (Umetrics, İsveç) programıyla oluşturulan 2 değişkenli, 5 seviyeli Birleşik deney tasarımına ait deney noktalarında gözlenen tepki değerleri (laurik asit (%mol)) Çizelge 4.4'te yer almaktadır.

Çizelge 4.4 : Tepki Yüzey Yöntemi ile geliştirilen deney tasarımı ve gözlenen tepkiler.

Deney No	Bağımsız Değişkenler		Tepki (%mol)
	Sr (mol/mol)	t (saat)	Laurik asit
1	2	4	30,7
2	2	8	34,9
3	5	4	43,8
4	5	8	38
5	3,5	3,172	26
6	3,5	8,828	39,8
7	1,379	6	38,6
8	5,621	6	41,4
9	3,5	6	39,2
10	3,5	6	37,8
11	3,5	6	39,84

Elde edilen modelin gözlenen tepkiye (laurik katılımı) ait regresyon katsayıları (β) ve önem dereceleri istatistiksel olarak hesaplanarak, Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 : Modelin laurik asit katılımına ait regresyon katsayıları ve önem dereceleri.

Bağımsız Değişkenler	Regresyon katsayıları (β)	<i>p</i> -değeri (önem derecesi)
Kesişim/Sabit	38,93	< 0,0001
Sr (substrat/ mol oranı)	4,49	< 0,0001
t (zaman)	0,31	0,5
Sr*Sr	-2,92	0,003
t*t	0,6	0,3
Sr*t	-2,5	0,01

Çizelge 4.5'te yer alan değerler incelendiğinde $p < 0,05$ önem düzeyinde substrat mol oranının istatistiksel açıdan önemli olduğu; diğer değişken olan zaman değişkeninin istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmektedir. Fakat “substrat/mol oranı*zaman” etkileşim teriminin istatistiksel olarak ($p < 0,05$) anlamlı düzeyde olduğu görülmektedir. almaktadır. İkinci derece terimlerden ‘zaman*zaman’ teriminin ($p < 0,05$) istatistiksel

olarak önemli olmadığı görülmüştür. İkinci derece terimlerden ‘substrat mol oranı*substrat mol oranı’ teriminin ve etkileşim terimi olan ‘substrat mol oranı*zaman’ teriminin laurik asit katılımına negatif yönde bir etkisi olduğu görülmektedir. Laurik asit katılımı için oluşturulan model denklemi aşağıdaki gibidir:

$$\text{Laurik asit katılımı (\%mol)} = 38,93 + 4,49Sr + 0,31t - 2,92Sr^2 + 0,6 t^2 - 2,5Sr*t \quad (4.2)$$

Elde edilen modelin uygunluğu varyans analizi (ANOVA) yapılarak test edilmiş olup sonuçlar Çizelge 4.6’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6 : Laurik asit katılımı için varyans analizi sonuçları.

SDA katılımı	SD	KT	KO	F Değeri	P Değeri
Toplam	11	15515,6	1410,51		
Sabit	1	15259,5	15259,5		
Toplam düzeltilen	10	256,148	25,6148		
Regresyon	5	248,48	49,6961	32,4041	0,001
Hata	5	7,66817	1,53363		
Model yetersizliği	3	5,5615	1,85383	1,75997	0,382
Tekrar hatası	2	2,10667	1,05333		

SD: Serbestlik derecesi; KT: Karaler Toplamı; KO: Karaler ortalaması; P: Olasılık Değeri

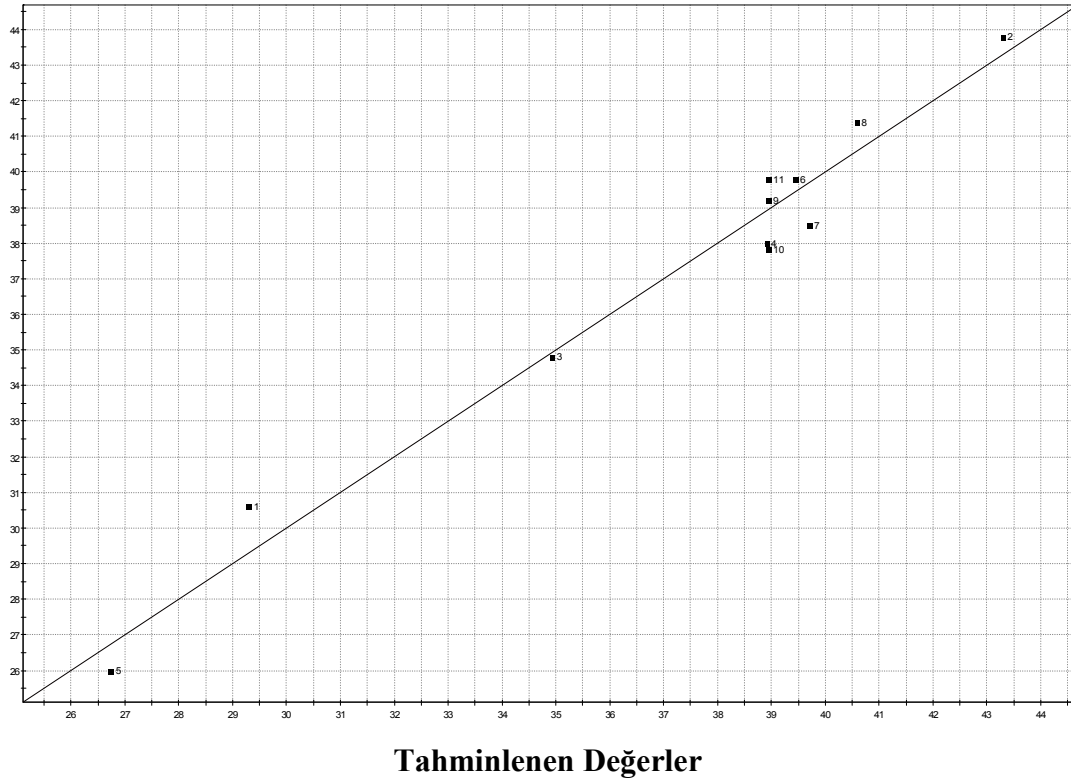
Varyans analizi sonuçlarına göre laurik asit katılımları ile elde edilen modelin F değerleri karşılaştırılmış; $p < 0,05$ önem düzeyinde, $F_{\text{model}} (32,4)$ değerinin $F_{\text{tablo}} (F_{5,5}) (5,05)$ değerinden büyük olduğu, bu sebeple modelin tahminleme için uygun olduğu görülmüştür.

Laurik asit katılımı için elde edilen model yetersizliğinin p -değeri $(0,382) > 0,05$ olduğundan laurik asit katılımına ait modelin verilerle uyumlu olduğu saptanmıştır.

Reaksiyon sonuçları ile laurik asit katılımına ait modelden tahminlenen değerler ile gözlenen değerlerin arasındaki ilişki Şekil 4.1’deki grafikte verilmiştir.

Gözlenen Değerler

Laurik Asit Katılımı



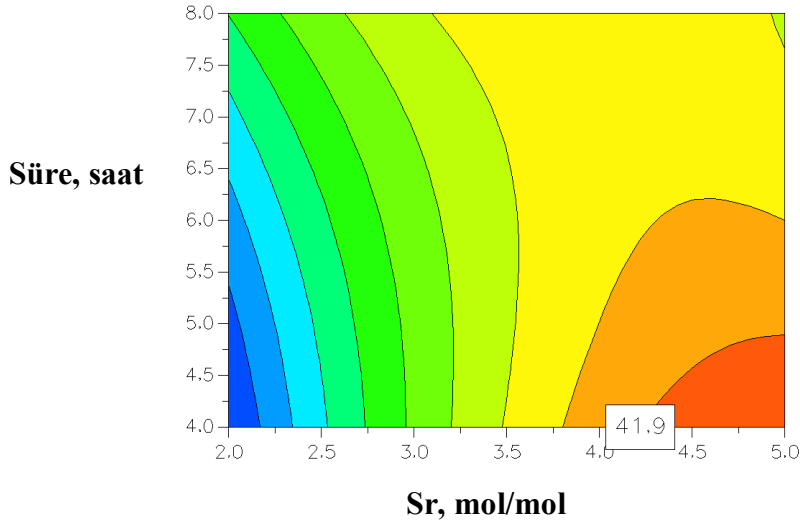
Şekil 4.1 : Reaksiyon sonuçları ile laurik asit katılımına ait modelden tahminlenen değerler arasındaki ilişki.

Varyans analizi sonuçları incelendiğinde, SDA katılımı için geliştirilen modele ait model katsayısı (R^2) 0,97, düzeltilmiş model katsayısı $R_{düz.}^2$ 0,94 ve modelin tahminleme gücü (Q^2) ise 0,83 ($> 0,25$) olarak bulunmuştur. Şekil 4.1.'de de görüldüğü üzere gözlenen değerler ile tahminlenen değerler arasındaki ilişki yüksek oranda lineerlik göstermektedir.

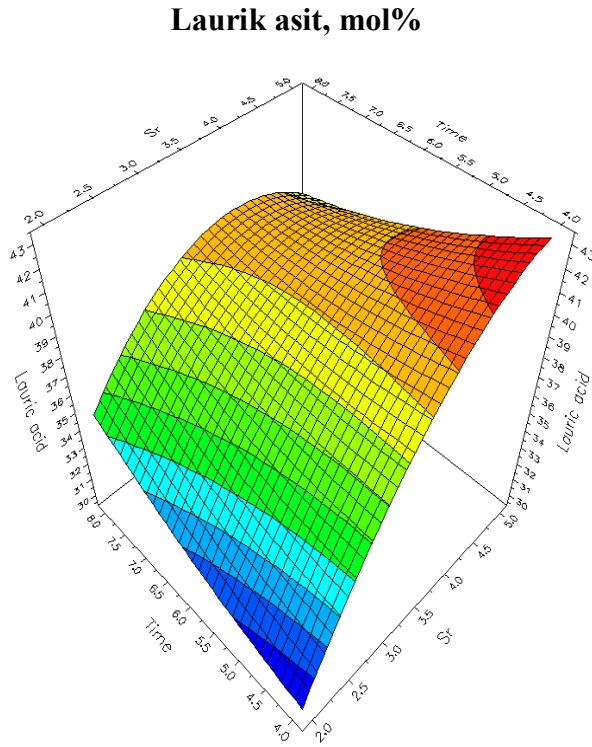
4.4 Tepki Yüzey ve İzdüşüm Grafiklerinin Yorumlanması

Enzimatik asidoliz reaksiyonları ile elde edilen ürünlerin reaksiyon parametreleri arasındaki ilişki tepki-yüzey grafikleri üzerinde gösterilmiştir.

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de yer alan grafiklerde laurik asit katılımına substrat mol oranı ve reaksiyon süresinin etkisi gösterilmektedir.



Şekil 4.2 : Laurik asit katılımının substrat mol oranı ve süre ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği.



Şekil 4.3 : Ürünün % laurik asit içeriğinin, substrat/mol oranı ve süre ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği.

Substrat mol oranı ve reaksiyon süresinin laurik asit katılımı üzerindeki etkisinin gösterildiği izdüşüm grafiği incelendiğinde substrat mol oranı arttıkça laurik asit katılımının arttığı görülmektedir. Ancak analizlenen deney koşullarında substrat mol

oranı 3,5 ve 5 mol/mol arasında, 6,5-8 saat zaman aralığında iken laurik asit katılımının sabit olduğu görülmektedir.

İncelenen aralık değerlerinde zaman etkisinin önemsiz olduğu görülmüştür. Sürenin 4 saat olduğu bölgede substrat mol oranı 5:1 iken maksimum katılım gözlenirken; sürenin 2 saat olduğu bölgede minimum katılım gözlenmiştir.

Tepki-Yüzey grafiklerinden elde edilen laurik asit için maksimum katılım değeri % 43,3 olup, bu değer asidoliz reaksiyonları ile elde edilen değere (%43,8) yakın bulunmuştur.

Maksimum laurik asit katılımı; substrat/mol oranının 5:1; reaksiyon süresininin 4 saat olduğu koşullarda gerçekleşmiştir. Bu koşullarda elde edilen yapılandırılmış yağın yağ asidi bileşimi Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7 : Laurik asit katılımının maksimum olduğu koşullardaki yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	12:0	16:0	18:1n9	18:2	18:3n3	18:3n6	18:4n-3
% mol	43,8	4,1	9,8	11,1	16,5	8,7	6,1

Çizelge 4.7’den görüleceği gibi, elde edilen düşük kalorili yapılandırılmış yağın %43,8 oranında laurik asidin yanısıra büyük oranda omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinden olan ve sağlık üzerine çeşitli olumlu etkileri kanıtlanmış olan ALA, GLA ve SDA yağ asitlerini de içermektedir.

4.5 Modelin doğrulanması ve büyük ölçekte üretim

Tepki yüzey yöntemi ile elde edilen laurik asit katılımına ait modelin doğruluğunun tespiti için hem küçük ölçekte hem de büyük ölçekte üretim gerçekleştirilmiştir. Belirlenen optimum reaksiyon koşulu olan 4 saat deney süresi 5:1 substrat-mol oranında 2 paralel olacak şekilde deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu koşullar için modelden tahminlenen laurik katılımı %43,8’dir. Belirlenen optimum koşulda ilk olarak küçük ölçekte üretim yapılarak modelin doğruluğu araştırılmış ve ardından büyük ölçekte üretim yapılmıştır.

Enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen YY’lerin yağ asidi kompozisyonu Çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8 : Optimum koşullarda küçük ölçek ve büyük ölçekte üretilen YY’lerin yağ asidi kompozisyonu ve sn-2 yağ asidi kompozisyonu (%mol).

Küçük Ölçek		Büyük Ölçek	
Yağ asidi	TAG	TAG	sn-2
C12:0	41,4	42,8	0
C16:0	3,0	3,3	0
C18:0	0,9	0,9	0
C18:1n-9	7,7	9,9	35,7
C18:2n-6	10,5	10,8	25,3
C18:3n-6	8,4	7,5	15,9
C18:3n-3	17,5	15,1	19,5
C18:4n-3	10,5	8,5	3,7

Çizelge 4.8’de görüldüğü üzere optimum koşullarda gerçekleşen küçük ve büyük ölçekte elde edilen YY’lerin içerdiği laurik asit miktarı sırasıyla %41,4 ve %42,8 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen YY’lerin laurik asit miktarı; modelden tahminlenen değerlerle karşılaştırıldığında; küçük ölçekte ve büyük ölçekte elde edilen değerlerin modelden tahminlenen değere yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca, büyük ölçekte elde edilen YY’lerin sn-2 pozisyonunda laurik asidin bulunmadığı, düşük kalorili yağlarda olması istendiği şekilde TAG’laın sn-2 pozisyonundaki yağ asitlerinin uzun zincirli yağ asitleri olduğu görülmektedir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışma ile engerek otu tohumu yağı kullanarak düşük kalorili yağların üretiminde kullanılabilecek ve vücut metabolizmasını ve bağışıklık sistemini olumlu yönde etkileyecek bir yapılandırılmış yağ eldesinde enzimatik asidoliz reaksiyon koşullarının tepki- yüzey yöntemi ile optimizasyonu mümkün olmuştur. Bu çalışmada düşük kalorili yağ üretimi için ilk defa substrat olarak engerek otu tohum yağı kullanılmıştır.

Çalışmada asidoliz tepkimeleri Lipozyme® RM IM enzimi katalizörlüğünde gerçekleştirilmiş ve tepki-yüzey yöntemi kullanılarak reaksiyon koşullarının [2-5 mol/mol (laurik asit/TAG) substrat mol oranı ve 4-8 saat reaksiyon süresi] optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar sonunda, laurik asidin engerek otu tohum yağına katılım miktarları belirlenmiştir. Substrat mol oranının artması ile katılım miktarının genelde arttığı gözlenmiştir.

Reaksiyonlar sonucunda seçilen tepkinin [laurik asit miktarı (%mol)] istatistiksel olarak değerlendirilmesi için istatistiksel olarak anlamlı kuadratik model elde edilerek, izdüşüm ve tepki-yüzey grafikleri yorumlanarak; hedeflenen ürünü elde etmek için gerekli olan optimum koşullarda modelin uygun olduğu görülmüştür. İncelenen aralık değerleri olan 2-5 substrat/mol ve 4-8 reaksiyon sürelerinde maksimum laurik asit katılımı; substrat/mol oranının 5:1; reaksiyon süresinin 4 saat olduğu koşullarda gerçekleşmiştir. Bu koşullarda gerçekleştirilen büyük ölçekli üretim sonucunda elde edilen düşük kalorili yapılandırılmış yağın bileşimi %42,8 laurik asit, %0,9 stearik asit, %9,9 oleik asit, % 10,8 linoleik asit, % 15,1 alfa-linolenik asit, %7,5 gama-linoleik asit ve % 8,5 stearidonik asit olup, bu yağ asidi profili ile sağlığa çok faydalı hem de düşük kalorili bir yapılandırılmış yağ elde edilmiştir. Elde edilen düşük kalorili yağın; sn-2 pozisyonunda gama-linolenik asit, alfa-linolenik asit, stearidonik asit olmak üzere fizyolojik faydaları olan uzun zincirli yağ asitlerince zengin bir içeriğe sahip olduğu görülmektedir. Düşük kalorili yağın eldesinde

kullanılan laurik asitte; vücudun bağışıklık sistemini inşa eden ve koruyan en önemli yağ asitlerindendir.

Çalışma sonunda elde edilen düşük kalorili yapılandırılmış yağın gıda sanayiinde kalorisi azaltılmış gıdaların formülasyonlarına ilavesi ile kullanım alanı bulacağı ve sağlığa yararlı bir yağ olarak vücut metabolizmasını ve bağışıklık sistemini de olumlu yönde etkileyeceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akoh, C.C.**, 2002. Structured Lipids, In Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biology, pp. 877- 908, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., Marcel Dekker Inc, Newyork.
- Akoh, C.C., Yee, L.N.**, 1997. Enzymatic Synthesis of Position-Specific Low-Calorie Structured Lipids, *Journal of American Chemist Society*, **74**, pp. 1409-1413.
- Auberch, H. M., Klemann, L. P., Heydinger, J. A.**, 2001. Reduced Energy Lipids. In Structured and Modified Lipids. Eds. Gunstone, F. D., Markel Dekker Inc., pp. 485- 509.
- Bektaş, I., Yücel, S., Üstün, G. and Aksoy, H. A.**, 2008. Production of reduced calorie structured lipids by acidolysis of tripalmitin with capric acid: Optimisation by surface methodology, *Journal of the science of Food and Agriculture*, **88**, pp. 1927-1933.
- Bell, S. J., Dondeena, B., Forse, R. A., Bistran, B.R.**, 1997. The new dietary fats in health and disease, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **75** (10), pp. 1329-1337.
- Berti, M., Johnson, B.L., Dash, S., Fischer, S., Wilckens, R., Hevia, F.**, 2007. Echium: A Source of Stearidonic Acid Adapted to the Northern Great Plains in the US. Reprinted from: Issues in new crops and new uses. 2007. J. Janick and A. Whipkey (eds.). ASHS Press, Alexandria, VA.
- Bode, D. O., Drummond, H., Sinclair, A. J.**, 2003. Omega-3 Fatty Acids. In Lipids for Functional Foods and Nutraceuticals, pp. 225-261, Eds. Gunstone F. D., The Oily Press, Bridgwater.
- Bornscheuer, U.T., Adamczak, M. and Saumanou, M. M.**, 2003. Lipase-Catalyzed Synthesis of Modified Lipids, In Lipids For Functional Foods and Nutraceuticals, pp. 149- 182, Eds. Gunstone, F. D., Oily Press, Bridgewater.
- Camp, J.V., Huyghebaert, A. and Goeman, P.**, 1998. Enzymatic synthesis of structured modified fats. In Structural Modified Food Fats: Synthesis, Biochemistry, and Use, Eds. A. B. Christophe, AOCS Press, pp. 20-45.
- Can, A.**, 2004. Lipaz Enzimi Kullanılarak Fındık Yağının Uzun Zincirli Çoklu Doymamış Omega-3 Yağ Asitlerince Zenginleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Clough, P.M.**, 2001. Specialty Vegetable Oils Containing γ -linolenic Acid and Stearidonic Acid. In Structured and Modified Lipids, pp. 75-85, Eds. Gunstone, F.D., Mercel Dekker, Inc., New York.
- Coupland, K.**, 2008. Stearidonic acid: A plant produced omega-3 PUFA and a potential alternative for marine oil fatty acids. *Lipid Technology*. **20**, no. 7, pp. 152-154.

- Demirci, F., Yücel, S., Üstün, G., Aksoy, H. A.,** 2006. Trioleinin Enzimatik Asidolizi ile Düşük Kalorili Yapılandırılmış Yağ Üretimi, Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Esen, A.** 2003. Fındık yağı- metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun incelenmesi., Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Fomuso, L. B and Akoh, C. C.,** 1997. Enzymatic Modification of Triolein: Incorporation of Caproic and Butyric Acids to Produce Reduced-Calorie Structured Lipids, *JAOCS*, **74**, pp. 269–272.
- Galante, J. H., Tenore, R. R.,** 2006. Medium Chain Triglycerides, In Handbook of Functional Lipids, pp. 177-183, Eds. Akoh, C. C., Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Guil-Guerrero, J.L.,** 2007. Stearidonic acid (18:4n-3): Metabolism, nutritional importance, medical uses and natural sources, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **109**, pp. 1226-1236.
- Guil-Guerrero, J.L., Gomez- Mercado, F., Garcia-Maroto, F., Campra-Madrid, P.,** 2000. Occurance and characterization of oils rich in γ -linolenic acid Part I: Echium seeds from Macaronesia, *Phytochemistry*, **53**, pp. 451-456.
- Guil-Guerrero, J.L., Lopez-Martinez, J. C., Campra-Madrid, P.,** 2008. Gamma-linolenic extraction from seed by SCF and several solvent systems, *International Journal of Food Science and Technology*, **43**, pp. 1176 – 1180.
- Guil-Guerrero, J.L., Maroto, F.F., Gimenez Gimenez, A.,** 2001. Fatty Acid Profiles from Forty-nine Plant Species That Are Potential New Sources of γ -Linolenic Acid, *Journal of American Oil Chemists' Society*, **78**, no.7, pp. 677-684.
- Gunstone, F.D.,** 2001. Procedures used for lipid modification. In Structured and Modified Lipids, pp. 11-36, Eds. Gunstone, F.D., Marcel Dekker Inc., New York.
- Hoy, C. E. and Xu, X.,** 2001. Structured Triacylglycerols, *Structured and Modified Lipids*, pp. 209-239, Eds. Gunstone, F.D., Marcel Dekker, Inc., New York.
- Jacobsen, C.,** 2004. Developing polyunsaturated fatty acids as functional ingredients. In Functional Foods, Cardiovascular Disease and Diabetes, Eds. Arnoldi A., CRC Press, Boca Raton.
- James, M. J., Ursin ,V. M., Cleland, L.G.,** 2003. Metabolism of stearidonic acid in human subjects: comparison with the metabolism of other n-3 fatty acids, *Am J Clin Nutr.*, **77**, pp. 1140- 1145.
- Jenings, B. H. ve Akoh, C.C.,** 1999. Enzymatic modification of triacylglycerol of high eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids content to produce structured lipids, *Journal of American Oil Chemists' Society*, **76**, pp. 1133 - 1137.
- Kıldiran, G.,** 1993. Soya yağının yerinde alkolizi, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kim, I. H., Hill, C. G.,** 2006. Lipase-Catalyzed Acidolysis of Menhaden Oil with Pinoleic Acid, *Journal of American Chemist Society*, **83**, no.2, pp. 109-115.

- Kurşun, E.**, 2002. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşmesi ile yağ asidi esterlerinin üretimi, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Lee, J-H., Shin, J-A., Lee, J-H. and Lee, K-T.**, 2004. Production of lipase-catalyzed structured lipids from safflower oil with conjugated linoleic acid and oxidation studies.
- Lee, J. H., Lee, K.T.**, 2006. Structured Lipids Production, In Handbook of Functional Lipids, pp. 490- 507, Eds. Akoh, C.C. And Min, D.B., Marcel Dekker Inc, Newyork.
- Mangos, T. J., Jones, K.C., Foglia, T. A.**, 1999. Lipase-Catalyzed Synthesis of Structured Low-Calorie Triacylglycerols, *Journal of American Chemist Society*, **76**, no. 10, pp. 1127- 1132.
- Miller, M.R, Nichols, P. D., Carter, C.G.**, 2008. *n*-3 Oil sources for use in aquaculture – alternatives to the unsustainable harvest of wild fish, *Nutritional Research Reviews*, **21**, pp. 85-96.
- Miura, S., Ogava, A., Konishi, H.**, 1999. A Rapid Method for Enzymatic Synthesis and Purification of the Structured Triacylglycerol, 1,3-dilauroyl-2-oleoyl-glycerol, *Journal of the American Oil Chemist Society*, **76**, pp. 927-931.
- Mu, H., Hoy, C. E.**, 2000. Effects of Different Medium-Chain Fatty Acids on Intestinal Absorption of Structured Triacylglycerols, *Lipids*, **35**, No. 1, pp. 83 – 89.
- Mu, H., Porsgaard, T.**, 2005. The metabolism of structured triacylglycerols, *Progress in Lipid Research*, **44**, pp. 430-448.
- Osborn, H.T. and Akoh, C.C.**, 2002. Structured Lipids – Novel Fats with Edical, Nutraceutical, and Food Applications, *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, **3**, pp. 93-103.
- Özcan, T.**, 2008. Analysis of the total oil and fatty acid composition of seeds of some Boraginaceae taxa from Turkey, *Plant Syst Evolution*, **274**, pp. 143– 153.
- Pina-Rodriguez, A. M. and Akoh, C. C.**, 2009. Enrichment of amaranth oil with ethyl palmitate at the sn-2 position by chemical and enzymatic synthesis, *J. Agric. Food Chem.*, **57**, pp. 4657-4662.
- Rousseau, D. And Marangoni, A. G.**, 2002. The Effects of Interesterification on the Physical Properties of Fats, *Physical Properties of Lipids*, pp. 479-564, Eds. Marangoni, A. B. and Narine, S. S., Marcel Dekker, Inc., New York.
- Ruiz – Lopez, N., Haslam, R. P., Venegas- Caleron, M., Larson, T. R., Graham, I. A., Napier, J. A., Sayanova, O.**, 2009. The synthesis and accumulation of stearidonic acid in transgenic plants: a novel source of ‘heart – healthy’ omega-3 fatty acids, *Plant Biotechnology Journal*, **7**, pp. 704–716.
- Sato, S., Xing, A., Xingguo Y., Schweiger, B., Kinney, A., Graef, G., Clemente, T.**, 2004. Production of γ -Linolenic Acid and Stearidonic Acid in Seeds of Marker-Free Transgenic Soybean, *Crop Sci.*, **44**, pp. 646 –652.

- Senanayake, S.P.J.N., Shahidi, F.**, 2002. Structured Lipids via Lipase-Catalyzed incorporation of Eicosapentaenoic Acid into Borage (*Borage officinalis* L.) and Evening Primrose (*Oenothera biennis* L.) Oils, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **50**, pp. 477-483.
- Senanayake, S.P.J.N., Shahidi, F.**, 2006. Acidolysis of Seal Blubber Oil with Lauric Acid, *Journal of Food Lipids* **14**, pp. 78–96.
- Shahidi, F., Senanayake, S.P.J.N.**, 2006. Nutraceutical and Specialty Lipids. In *Nutraceutical and Specialty Lipids and their Co-Products*, Eds. Shahidi, F., CRC Press, Boca Raton.
- Sıralı, R., M.Deveci**, 2002. Bal arısı (*Apis mellifera* L.) için önemli olan bitkilerin Trakya Bölgesinde incelenmesi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **1** (2): pp. 17-26.
- Şahin- Yeşilçubuk, N. ve Karaali, A.**, 2008. Gamma-linolenik asit ile zenginleştirilmiş anne sütü yağına benzer yapılandırılmış yağların üretimi. *İTÜ Dergisi/d mühendislik* **7**(4): pp. 60-71.
- Takaç, S.**, 2008. Lipaz Üretimi İçin İzole Edilmiş Mikroorganizmaların Genetik Yöntem ile Tanımlanması ve Üretilen Enzimlerin Saflaştırılması, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.
- Thelen, J. J., Ohirogge, J. B.**, 2002. Metabolic Engineering of Fatty Acid Biosynthesis in Plants. *Metabolic Engineering*. **4**, Kısım 1, pp. 12- 21.
- Töpfer, R.**, Martini, N., Schell, J., 1995. Modification of Plant Lipid Synthesis, *Science*, **268**, no. 5211, pp. 681 – 686.
- Türkay, S., Yücel, S. Ö., Üstün, G.**, 2006. Türkiye'nin γ -linolenik asit kaynakları ve potansiyeli üzerine bir araştırma, , 4. GAP Tarım Kongresi, Urfa, (21-23 Eylül 2005), Bildiri Kitabı, pp. 576-580.
- Usta, A., Yaşar, A., Akpınar, K., İskender, Y.İ., Yaylı, N.**, 2007. Echium Vulgare bitkisinin GS- MC analizi, 21. Ulusal Kimya Kongresi, İnönü Üniversitesi, 23-27 Ağustos, 2007.
- Wanasundara, U. N., Wanasundara J.P.D.**, 2006. γ -Linolenic acid: Purification and nutritionality. In: *Handbook of Functional Lipids*, pp. 47-52, Eds. Akoh, C.C., CRC Taylor&Francis Group, New York.
- Whelan, J.**, 2009. Dietary Stearidonic Acid is a Long Chain (n-3) Polyunsaturated Fatty Acid with Potential Health Benefits, *The Journal of Nutrition*. **139**, No. 1, pp. 5–10.
- Willis, M.W., Marangoni, A. G.**, 2002. Enzymatic Interesterification., in *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, pp. 839-875, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B., Marcel Dekker, Inc., New York.
- Xu, X., Guo, Z., Zhang, H., Vikbjerg, A. F., Damstrup, M. L.**, 2006. Chemical and enzymatic interesterification of lipids for use in food, In *Modifying Lipids For use in Food*, pp. 234 -272, Eds. Gunstone, F., CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Yang, B., Gunstone, F. D., Kallio, H.**, 2003. Oils containing oleic, palmitoleic, gamma-linolenic and stearidonic acids, In *Lipids for Functional Foods and Nutraceuticals*, Eds. Gunstone, F. D., The Oily Press, England.

- Yang, T. H., Jang, Y., Han, J. J., Rhee, J. S.**, 2001. Enzymatic Synthesis of Low-Calorie Structured Lipids in a Solvent-Free System, *Journal of American Chemist Society*, **78**, pp. 291-296.
- Yıldırım, A. and Ekin, T.**, 2003. Orta Anadolu Bölgesi Yabancı Ot Florası, *Bitki Koruma Bülteni*, **43**, pp. 1-98

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Jülide Gökçe
Doğum Yeri ve Tarihi : Edirne 29.11.1983
Adres : Bakırköy/ İstanbul
Lisans Üniversite : İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji
Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü