

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MISİRÖZÜ YAĞI DEODORIZASYON DİSTİLATINDAN TOKOFEROL
VİTAMERLERİNİN İZOLASYONU**



SÜMEYYE ATALAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

HAZİRAN-2018

Tezin Başlığı: Mısırözü Yağı Deodorizasyon Distilatından Tokoferol
Vitamerlerinin İzolasyonu

Tezi Hazırlayan: Sümeyye ATALAN

Sınav Tarihi: 08.06.2018

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Bilimleri Mühendisliği Ana Bilim
Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gökhan DURMAZ
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. İhsan KARABULUT
İnönü Üniversitesi

Dr.Öğr. Üyesi Nurullah DEMİR
Bingöl Üniversitesi

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü



Değerli Aileme...

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Mısırozü Yağı Deodorizasyon Distilatından Tokoferol Vitamerlerinin İzolasyonu” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

SÜMEYYE ATALAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MISIRÖZÜ YAĞI DEODORIZASYON DİSTİLATINDAN TOKOFEROL VİTAMERLERİNİN İZOLASYONU

Sümeyye ATALAN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

55 + ix sayfa

2018

Danışman: Doç. Dr. Gökhan DURMAZ

Bu çalışmada, mısırözü yağı üretimi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkan deodorizasyon distilatından tokoferollerin yüksek saflıkta elde edilmesi amacıyla sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniğinin kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle kullanılabilir solvent belirlenmiş ve deodorizer distilatı ile hiçbir oranda karışmayan asetonitril, ekstraksiyon solventi olarak belirlenmiştir. Ayrıca mısırözü yağı deodorizer distilatının bazı bileşimsel ve kimyasal özellikleri (serbest asitlik, sabunlaşma sayısı, peroksit sayısı, iyot sayısı ve yağ asiti bileşimi) belirlenmiştir.

Mısırözü yağı deodorizer distilatından tokoferollerin sıvı-sıvı ekstraksiyonunda; solvent/distilat oranı, ko-solvent varlığı, hekzanla seyreltme, ekstraksiyon süresi, kademe sayısı ve sıcaklık parametrelerinin etkileri incelenmiştir.

Linoleik (%49.41) ve oleik asitçe (%28.60) zengin olduğu belirlenen mısırözü yağı deodorizer distilatının, serbest asitliği %51.9, sabunlaşma sayısı 52.0 mg KOH/g yağ, peroksit sayısı 7.2 MeO₂/ kg yağ, iyot sayısı 64.8 olarak bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre, solvent/distilat oranı arttıkça tokoferol kazanımının arttığı belirlenmiştir. Ko-solventlerin varlığının tokoferol kazanımına etkisini belirlemek amacıyla etanol ve izopropil alkol kullanılmıştır. Her iki ko-solventin de asetonitril içindeki oranı arttıkça tokoferol kazanımı artmıştır. Kullanılan tüm oranlarda izopropil alkol, etanole göre daha yüksek sonuçlar vermiştir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu sırasında distilat fazına eklenen hekzan miktarı ile tokoferol kazanımı arasında ters bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin tokoferol geri kazanımında önemli bir etkisi olmadığı gözlemlenmemiştir. Kademeli ekstraksiyon çalışmalarda en yüksek tokoferol kazanımı ilk kademe sağlanmıştır. Sıcaklığın ve karıştırma süresinin tokoferol kazanımında etkili parametreler olmadığı belirlenmiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Tokoferol, mısırözü yağı, deodorizasyon distilatı, sıvı-sıvı ekstraksiyonu

ABSTRACT

Master Thesis

LIQUID-LIQUID EXTRACTION OF TOCOPHEROLS FROM CORN OIL DEODORIZER DISTILLATE

Sümeyye ATALAN

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

55 + ix pages

2018

Supervisor: Doç. Dr. Gökhan DURMAZ

In this study, the use of liquid-liquid extraction technique was investigated in order to obtain high purity tocopherol vitamers from deodorizer distillate which is a by-product of corn oil production. For this purpose, first, acetonitrile was determined as the extraction solvent as it is not miscible with deodorizer distillate in any ratio. Some compositional and chemical properties (free fatty acid content, saponification number, peroxide number, iodine value and fatty acid composition) of corn oil deodorizer distillate were determined.

The effects of the solvent/distillate ratio, presence of co-solvent, dilution with hexane, extraction time, the number of extraction stage and temperature were examined during the extraction of tocopherols from corn oil deodorizer distillate.

Corn oil deodorizer distillate was found to be rich in linoleic (%49.41) and oleic acid (%28.60) while it has 51.9% free acidity, 52.0 mg KOH/g oil saponification number, 7.2 meq/kg oil peroxides and iodine number of 64.8.

According to the results obtained from liquid-liquid extraction trials, it was determined that tocopherol recovery was increased with increasing solvent to distillate ratio. In order to determine the influence of the presence of co-solvent on tocopherol recovery, ethanol and isopropyl alcohol were used. With increasing ratio of both co-solvents in acetonitrile, tocopherol recovery was also increased. Results obtained from isopropyl alcohol were higher than ethanol alcohol in all ratios used. An inverse relationship were found between the amount of hexane in distillate phase and tocopherol recovery. In the multi-step extraction studies, the highest tocopherol recovery was achieved at the first stage, It was determined that temperature and extraction time had no significant effect on tocopherol recovery .

KEY WORDS: Tocopherol, corn oil, deodorizer distillate, liquid-liquid extraction

TEŞEKKÜR

Tez konumun şekillenmesinde ve çalışmalarım boyunca gösterdiği anlayış ve ilgi için, verdiği her türlü destek ve katkıları için danışman hocam Sayın Doç. Dr. Gökhan DURMAZ'a,

İlgi, bilgi ve desteklerini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ndeki tüm hocalarıma,

Tez yazarken desteklerini esirgemeyen bölüm arkadaşlarıma,

Manevi olarak desteklerini esirgemeyen çok değerli dostlarıma,

Haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim Anneme ve Babama,

Her alanda desteklerini her daim arkamda hissettiğim, varlıkları ile şükür vesilesi olan Abime ve Kardeşlerime,

Teşekkür Ederim.

Ayrıca,

2016-100 no'lu proje kapsamında bu çalışmayı destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

Materyal temininde yardımlarını gördüğüm Kahramanmaraş'da faaliyet gösteren DOK yağ firmasına,

Teşekkür Ederim.

İÇİNDEKİLER

	ÖZET.....	i
	ABSTRACT	ii
	TEŞEKKÜR.....	iii
	İÇİNDEKİLER	iv
	SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
	ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
	ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1.	GİRİŞ.....	1
2.	KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1.	Rafinasyon.....	6
2.1.1.	Kimyasal rafinasyon.....	8
2.1.2.	Fiziksel rafinasyon	10
2.1.3.	Ham yağ rafinasyonunda uzaklaştırılan maddeler	11
2.2.	Tokoller (Tokoferoller & Tokotrienoller).....	13
2.3.	Deodorizer Distilatlarından Tokoferollerin Ekstraksiyon Yöntemleri....	15
2.3.1.	Solvent ekstraksiyonu	15
2.3.2.	Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	18
2.3.3.	Enzim destekli ekstraksiyon.....	19
2.3.4.	Moleküler distilasyon yöntemi.....	19
3.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1.	Materyal	21

3.1.1.	Kullanılan Kimyasallar	21
3.1.2.	Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar	21
3.2.	Yöntem	22
3.2.1.	Karakterizasyon analizleri	22
3.2.1.1.	Serbest yağ asitliği tayini	22
3.2.1.2.	Sabunlaşma sayısı	22
3.2.1.3.	Peroksit sayısı	23
3.2.1.4.	İyot sayısı (Wijs yöntemi)	24
3.2.1.5.	Yağ Asiti kompozisyonun belirlenmesi	25
3.2.2.	Tokoferol analizleri	26
3.2.3.	Tokoferollerin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile kazanımı	26
3.2.3.1.	Farklı solvent/MYDD oranlarının tokoferol kazanımına etkisi	26
3.2.3.2.	Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisi	27
3.2.3.3.	Hekzanla seyreltmenin tokoferol kazanımına etkisi	27
3.2.3.4.	Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımına etkisi	27
3.2.3.5.	Ekstraksiyon kademe sayısının tokoferol kazanımına etkisi	28
3.2.3.6.	Sıcaklığın tokoferol kazanımına etkisi	28
3.3.	İstatistiksel Analizler	28
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	30
4.1.	Mısırözü Yağı Deodorizer Distilatının Bileşimsel Özellikleri	30
4.2.	Yağ Asiti Bileşimi	32
4.3.	Tokoferol Analizleri	33

4.4.	Farklı Parametrelerin Tokoferol Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Verimine Etkisi	34
4.4.1.	Solvent tipi ve solvent/mydd oranının tokoferol kazanımına etkisi.....	34
4.4.2.	Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisi.....	36
4.4.3.	Hekzan ile seyreltmenin tokoferol kazanımına etkisi	38
4.4.4.	Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımına etkisi.....	40
4.4.5.	Ekstraksiyon kademe sayısının tokoferol kazanımına etkisi.....	41
4.4.6.	Sıcaklığın tokoferol kazanımı üzerine etkisi.....	45
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
6.	KAYNAKLAR.....	49
	ÖZGEÇMİŞ.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

ANOVA	Varyans (Değişkenlik) Analizi
AOCS	American Oil Chemists' Society
ASN	Asetonitril
EtOH	Etanol
GC-FID	Gaz Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektör
HPLC-DAD	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi- Diyot Dizilim Dedektör
İPA	İzopropil Alkol
MYDD	Mısırözü Yağı Deodorizer Distilatı
SFC-FID	Süperkritik Akışkan Kromatografisi ve Alev İyonizasyon Dedektörü
UV	Ultra viole
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Fiziksel ve kimyasal rafinasyon aşamalarının şematik gösterimi	7
Şekil 2.2.	Tokollerin kimyasal yapısı	14
Şekil 2.3.	Tokoferollerin oksidasyon ürünleri	15
Şekil 2.4.	Tek kademeli ekstraksiyon akım şeması	17
Şekil 2.5.	Süperkritik akışkan faz diyagramı.....	19
Şekil 2.6.	Moleküler distilasyon şematik gösterimi.....	20
Şekil 4.1.	Mısırözü yağı deodorizer distilatının fiziksel görünümü	30
Şekil 4.2.	Mısırözü yağı deodorizer distilatının ve tokoferol standartlarının normal faz HPLC ile elde edilen kromatogramları	33
Şekil 4.3.	Mısırözü yağı deodorizer distilatının ve tokoferol standartlarının ters faz HPLC ile elde edilen kromatogramları.....	34
Şekil 4.4.	Solvent/MYDD oranının tokoferol kazanımın oranları	35
Şekil 4.5.	Ko-solvent olarak İPA ve EtOH kullanılması durumunda elde edilen α -tokoferol kazanım oranları	36
Şekil 4.6.	Ko-solvent olarak İPA ve EtOH kullanılması durumunda elde edilen β + γ -tokoferol kazanım oranları	37
Şekil 4.7.	MYDD'nin hekzan ile seyreltilmesiyle elde edilen tokoferol kazanım oranları.....	39
Şekil 4.8.	Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımın oranlarına etkisi.....	41
Şekil 4.9.	Kademe sayısının α -tokoferol kazanım oranlarına etkisi	42
Şekil 4.10.	Kademe sayısının β + γ -tokoferol kazanımın oranlarına etkisi	43
Şekil 4.11.	Toplam ekstrakta ve kademe 1'de elde edilen ekstrakta α -tokoferol kazanım oranları	44
Şekil 4.12.	Toplam ekstrakta ve kademe 1'de elde edilen ekstrakta β + γ -tokoferol kazanım oranları	45
Şekil 4.13.	Sıcaklığın tokoferollerin kazanım oranlarına etkisi	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Ham yağ işlemede uygulanan rafinasyon aşamaları ve bu aşamalarda yağdan tamamen veya kısmen ayrılan maddeler.....	12
Çizelge 2.2.	Farklı yağların fiziksel ve kimyasal rafinasyonu sonucu elde edilen deodorizer distilatlarının bileşimi.....	13
Çizelge 3.1.	Tahmini iyot değerlerine karşılık alınan örnek tartım miktarları	25
Çizelge 4.1.	Mısırözü yağı deodorizer distilatının bileşimsel özellikleri	30
Çizelge 4.2.	Farklı Deodorizer distilatlarının serbest yağ asitlik oranları	31
Çizelge 4.3.	Farklı deodorizer distilatlarının bileşimsel özellikleri.....	31
Çizelge 4.4.	MYDD'nin % yağ asiti bileşimi.....	32



1. GİRİŞ

Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin anavatanı Amerika kıtası olup Dünya'ya yayılması bu kıtanın keşfinden sonra olmuştur. Ülkemizde ise mısırın yetişme şartları ve ekim alanlarının dağılımı dikkate alındığında mısır ekimi için en elverişli bölge Karadeniz Bölgesi'dir [1, 2].

İnsan ve hayvan beslenmesinde önemli rol oynayan mısır, Dünya tahıl ekiminde buğday ve çeltikten sonra üçüncü, üretimde ise buğdaydan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Mısır, endüstride nişasta, şurup, şeker, bira ve alkol yapımında kullanılan önemli bir hammaddedir [2].

Mısırozü yağı, mısır tanelerinin rüşeyminden elde edilen bir yağdır. Mısırozü yağı, mısır tanelerinden nişasta ve glukoz şurubu üretimi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkmaktadır [3]. Türkiye'de mısırozü yağı tüketimi toplam sıvı yağ pazarı içinde yaklaşık %12-14'lük pay ile ayçiçeği ve zeytinyağından sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Özellikle son yıllarda bitkisel kaynaklı sıvı yağlar arasında talebi en hızlı artan yağ mısırozü yağıdır [4].

Mısır rüşeyminin yağ içeriği %17, protein içeriği ise %12 civarındadır. Mısırozü yağı, %19-49 arasında değişen oleik asit, %34-62 arasında değişen linoleik asit içeriği ile oleik-linoleik grubu yağlar arasında yer almaktadır. Başlıca doymuş yağ asiti ise yaklaşık %10 ile palmitik asittir. Mısırozü yağının trigliserid yapısının önemli kısmını ise 40, 42, 44, 46 ve 48 karbonlu trigliseridler oluşturmaktadır. Ham mısırozü yağı diğer bitkisel kaynaklı yağlara kıyasla önemli miktarda fosfatit (%1-3), sterol (en az %1) ve serbest yağ asiti (en az %1.5) içermektedir [5]. Mısırozü yağının karakteristik özellikleri ise yaklaşık %64 fosfatidilkolin içermesi, tokol (tokoferol ve tokotrienoller) varlığı nedeniyle de çok iyi oksidatif stabiliteye sahip olmasıdır [6].

Tokoller, E vitamini aktivitesi gösteren benzer yapıya sahip lipofilik bir grup moleküldür [7]. Antioksidan karakterleri nedeniyle tokoller aktif radikallerle reaksiyona girerek oksidasyona duyarlı moleküler yapıların istenmeyen oksidasyonlarının önlenmesinde ya da azaltılmasında etkili olurlar [8, 9]. Tokoller, özellikle de tokoferoller, gerek gıda ve gerekse de ilaç/kozmetik sanayiinde kullanılan önemli katkı maddeleridir [10]. Bu sektörlerde veya laboratuvarlarda

standart madde olarak kullanılmak üzere tokoferollerin üretimi genel olarak yağ sanayiinde deodorizasyon aşamasında elde edilen deodorizer distilatlarından yapılmaktadır.

Deodorizasyon işleminde, yüksek sıcaklık ve vakum altında aldehit ve ketonlar gibi kötü tat ve kokuya sebep olan bileşenlerin uzaklaştırılması hedeflenmektedir. Fiziksel rafinasyonda ise nötralizasyon aşaması bulunmamakta ve serbest yağ asitleri buhar distilasyonu aşamasında elimine edilmektedir. Su buharının sürükleyici etkisi, yüksek sıcaklık ve vakum altında tat ve koku bileşenleri ile birlikte, serbest asitler ve bunlarla yakın buharlaşma derecesine sahip olan tokoller de yağdan kısmen uzaklaşmaktadır. Yağın cinsine ve uygulanan rafinasyonun tekniğine bağlı olmak üzere deodorizer distilatları çok yüksek konsantrasyonda tokol içermektedirler [11].

Deodorizer distilatlarından tokoferollerin diğer bileşenlerden ayrılarak yüksek saflıkta elde edilebilmesi için çeşitli teknikler mevcuttur. Bu tekniklerden yaygın olarak kullanılanları; moleküler distilasyon, solvent ekstraksiyonu/kristalizasyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve enzim destekli ekstraksiyondur [10]. Teknik olarak eğer bir tokoferol izolatu %60 veya üzerinde bir saflığa sahipse ve serbest asitleri tamamen uzaklaştırılmışsa bu izolat vitamin E olarak satılabilmektedir. Tokoferollerden en zor ayrılan fraksiyon olan skualenin tokoferol izolatlarında bulunmasında ise herhangi bir sakınca bulunmamaktadır [12].

Bu çalışmanın amacı, mısırözü yağı üretimi sırasında bir yan ürün olarak ortaya çıkan deodorizer distilatlarından tokoferol vitamerlerinin yüksek saflıkta elde edilmesidir. Bu kapsamda yüksek saflıkta tokoferolleri izole etmek için sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile ilgili parametrelerin optimizasyonu hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Rafinasyonun deodorizasyon aşamasında uygulanan yüksek sıcaklık, düşük vakum ve kızgın buharın etkisiyle yağdaki sabunlaşmayan maddelerin önemli bir kısmı alınmakta ve deodorizer distilatında toplanmaktadır. Yapılan bir çalışmada, soya yağının deodorizasyonu sırasında sabunlaşmayan madde miktarında en az %60 oranında bir azalma meydana geldiği bildirilmektedir [13]. Yapılan benzer bir çalışmada, deodorizasyon süresince tokoferol miktarında %70'e varan azalmalar olduğunu bunda ise süre, sıcaklık ve kullanılan buhar miktarının önemli olduğu belirtilmiştir [49]. Volotovskaya ve ark. [50], kimyasal rafinasyon işleminin ayçiçeği yağının sabunlaşmayan madde miktarına etkilerini araştırmışlar ve deodorizasyon aşamasında sterol, tokoferol, hidrokarbon miktarlarında önemli düzeyde azalmalar olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada mısırözü yağının toplamda 1006 mg/kg toplam tokoferol içerdiği ve bu miktarın endüstriyel rafinasyon sırasında 707 mg/kg'a düştüğü bildirilmiştir. Bu kaybın yaklaşık 75 mg/kg'ının deodorizasyon aşamasında gerçekleştiği tespit edilmiştir [51].

Deodorizer distilatlarında mevcut olan biyoaktif bileşenlerin varlığı, miktarı ve geri kazanımı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır.

Wan ve ark. [52], soya yağı deodorizer distilatından tokoferollerin izolasyonunu sağlamak için kolon kromatografisi tekniğini kullanmışlardır. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen optimum şartlar; yürütücü faz olarak siklohekzan-EtOH (Etanol) karışımı 99.7:0.3 (v/v), akış hızı 25 ml/dk, yükleme miktarı 2 ml (konsantrasyon 1 g/ml) olarak bulunmuştur. Bu optimum şartlarda α , γ , δ -tokoferollerin saflıkları sırasıyla %92.35, 91.23, 89.95 ve geri kazanımları sırasıyla %35.21, 36.25, 61.25 olarak ölçülmüştür.

Yapılan başka bir çalışmada, Verleyen ve ark. [7], mısır, kanola, soya yağı deodorizer distilatlarını gaz kromatografisi yöntemi ile analizleyerek karakterize etmişlerdir. Türevlendirme ve sililasyon işlemlerinden sonra, distilat örnekleri kolona 60 °C'de enjekte edilmiş ve kolon fırınının sıcaklığı 340 °C'ye kadar aşamalı olarak arttırılmıştır. Fırının sıcaklık profili distilattaki farklı bileşiklerin (serbest yağ asitleri dahil, tokoferoller, steroller, squalen ve nötr yağ) ayrımını sağlamak için optimize edilmiştir. δ -tokoferol, α -tokoferol, stigmasterol ve kolesterol palmitatın geri

kazanımları sırasıyla % 97, 94.4, 95.6 ve 92 olarak gerçekleştirilmiştir. Benzer bir çalışmada, Naz ve ark. [29] kanola ve palm yağı deodorizer distilatlarında mevcut olan biyoaktif bileşenleri ayırmak, tanımlamak ve miktarını belirlemek için gaz kromatografisi kütle spektrometresini (GC-MS) kullanmışlardır. Türevlendirme işlemi olmadan, sabunlaştırma işleminden sonra GC-MS analizi yapılmıştır. Kanola ve palm yağı deodorizer distilatlarında sabunlaşmayan madde fraksiyonundaki fitosterollerin konsantrasyonu %21.27-25.53 iken, skualen ve tokoferol konsantrasyonu sırasıyla %2.89-13.21 ve %1.29-5.81 olarak bulunmuştur.

Deodorizer distilatındaki biyoaktif bileşenlerin geri kazanımını sağlamak için enzim destekli ekstraksiyon yöntemini kullanan Grosh ve Bhattacharyya [53], ayçiçek yağı deodorizer distilatından tokoferolleri ve sterolleri saflaştırmışlardır. Bu amaçla, *Candida cylindracea* lipazı ile açılgliseroller yağ asitleri ve gliserollere hidrolize edilmiştir. *Mucor miehei* lipazı ile de deodorizer distilatındaki yağ asitleri kendi bütül esterlerine dönüştürülmüş ve bütül esterleri fraksiyonel distilasyon (180-230 °C'de 45 dk) kullanılarak deodorizer distilatından ayrılmıştır. Tokoferollerin toplam geri kazanım oranı yaklaşık %70.2 iken, fitosterollerin toplam geri kazanım oranı yaklaşık %41.9 olarak bulunmuştur. Benzer bir çalışma yapan Ramamurthi ve Curdy [14], kanola deodorizer distilatı (%1 tokoferol ve % 1.58 fitosterol içeren) ve soya yağı deodorizer distilatı (%12.74 tokoferol ve %11.39 fitosterol içeren) karışımından fitosterolleri ve tokoferolleri konsantre etmişlerdir. Serbest yağ asitleri spesifik olmayan SP 382 lipazı tarafından serbest yağ asiti metil esterine dönüştürülmüştür. Uçucu fraksiyonlar (serbest yağ asiti metil ester, bazı yağ asitleri ve diğer uçucular) vakum distilasyon aracılığı ile deodorizer distilatından ayrılmıştır. Sonuç olarak, fitosterollerin ve tokoferollerin toplam geri kazanımı sırasıyla %17.56 ve %21.48 oranında olarak gerçekleştirilmiştir.

Martins ve ark. [42], soya yağı deodorizer distilatından serbest yağ asitlerini farklı çalışma koşulları kullanarak moleküler distilasyon aracılığıyla ayrılmasını araştırmışlardır. Araştırmacılar, bu çalışmada minimum serbest yağ asiti içeriğine sahip bir materyal üretmek ve proses sırasında tokoferol kayıplarını en aza indirmek için en iyi çalışma koşullarını belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışmada; 100-180 °C evaporatör sıcaklığı ve besleme akış hızı 1.5-23.0 g/dk aralığında kullanılmıştır. Evaporatör sıcaklığı 160 °C ve besleme akış hızı 10.4 g/dk kullanılarak %57.8

serbest yağ asiti ve %8.97 tokoferol içeren bir hammaddeden %6.4 serbest yağ asiti ve %18.3 tokoferol içeren bir materyal elde edilmiştir. Sonuç olarak %96.16 serbest yağ asit eliminasyonu ve %81.23 tokoferol geri kazanımı sağlanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada Jiang ve ark. [54], kolza deodorizer distilatından tokoferoller ve serbest yağ asiti metil esterlerini geri kazanmak amacıyla, asit ile katalize edilmiş metil esterifikasyon ve sterollerin kristallenmesi işlemlerini uygulayarak moleküler distilasyonla ayırım işlemini gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen ilk fraksiyonda (50 °C ve 2.66 Pa) başlıca hidrokarbonlar, ketonlar ve aldehitler, ikinci fraksiyonda (100-110 °C ve 5.32 Pa) başlıca serbest yağ asitleri, üçüncü fraksiyonda (200-230 °C ve 2.66 Pa) tokoferoller (yaklaşık %35) elde edilmiştir. Tokoferollerin ve serbest yağ asiti metil esterlerinin sırasıyla yaklaşık olarak %50 ile %90 toplam geri kazanımı sağlanmıştır. Benzer bir çalışmada ise, Posada ve ark. [55], palm yağı deodorizer distilatından tokotrienoller ve diğer minör bileşenleri ekstrakte etmek için moleküler distilasyon prosedürünü geliştirmişlerdir. Bu çalışmada; 120 °C, 1 mTorr'un altındaki basınç ve 0.25 kg/sa besleme akış hızı ile üç ardışık moleküler distilasyon işlemi yapılmıştır. Sonuç olarak, tokotrienollerin %6.63'ü, α -tokoferolün %2.20'si, skualenin %3.94'ü ve sterollerin %4.77'sinin geri kazanımı sağlanmıştır.

Bondioli ve ark. [30], süperkritik karbondioksit ile zeytinyağı deodorizer distilatından skualenin geri kazanımı ile ilgili olarak bir proses tanımlamışlardır. Süreç esas olarak, deodorizer distilatında mevcut olan trigliseridleri serbest yağ asitlerine ve metil/etil esterlerine dönüştürülmesini kapsamaktadır. Daha sonra süperkritik CO₂ ile ekstrakte edilerek skualence zengin bir fraksiyon elde edilmiş ve skualen yüksek saflıkta (%90) geri kazanılabilmektedir.

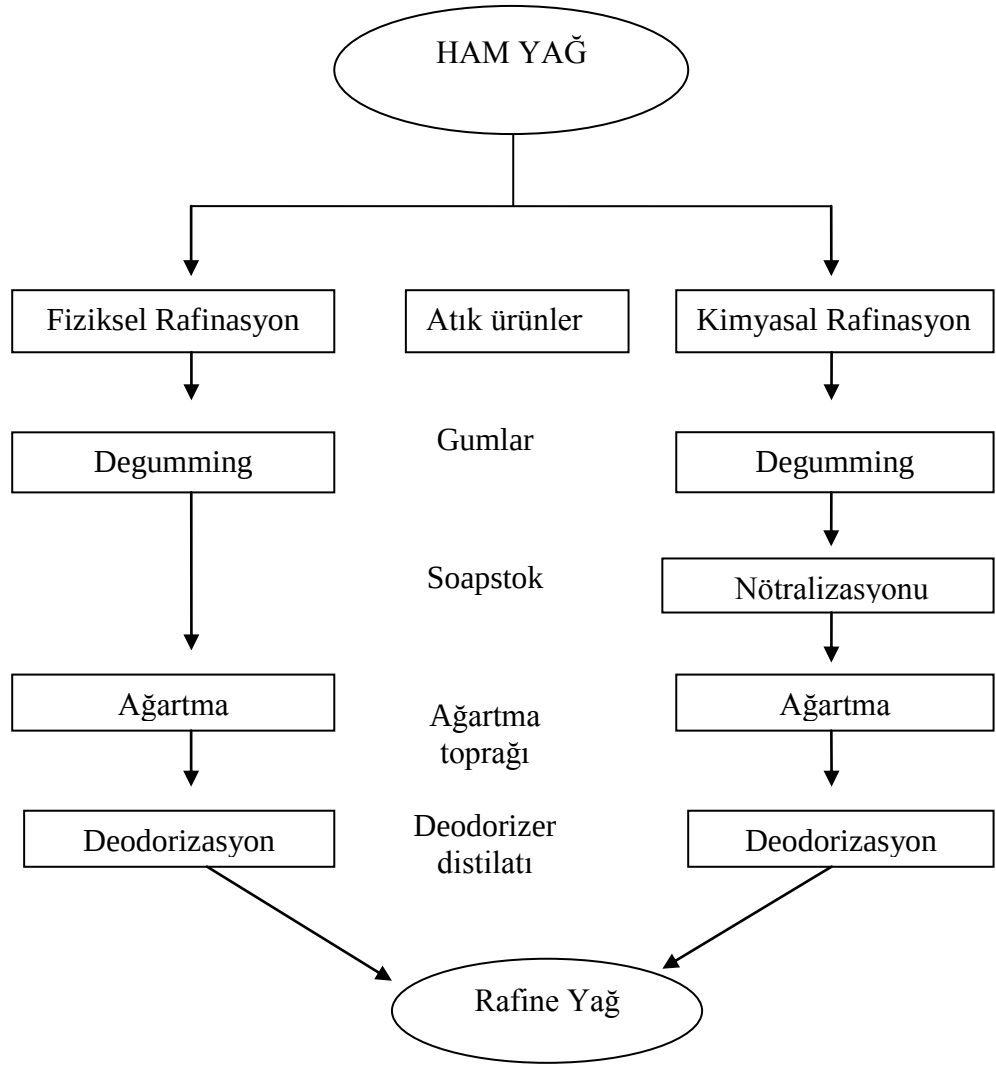
Ko ve ark. [56], pirinç kepeği yağı deodorizer distilatından tokoller solvent kullanarak düşük sıcaklıkta konsantre etmişlerdir. Pirinç kepeği yağı deodorizer distilatının başlangıç materyalinde tokoferoller ve tokotrienoller sırasıyla 14.9 ve 16.6 mg/g olarak bulunmuştur. Dokuz farklı solvent test edilmiş ve bu solventler içerisinde asetonitrilin (ASN), pirinç kepeği yağı deodorizer distilatından tokoller konsantre etmek için en uygun solvent olduğu belirlenmiştir. Pirinç kepeği yağı deodorizer distilatındaki tokollerin kazanımı sıcaklığa bağlı olup, ekstraktta -40 °C'de maksimum kazanım 89.9 mg/g olarak bulunmuştur. Benzer bir çalışma yapan Lin ve Köseoğlu [57], soya yağı deodorizer distilatından sterollerin, ön işleme

tabi tutulmadan kristalleştirme yoluyla ayrılmasını araştırmışlardır. Soya yağı deodorizer distilatı, farklı solventler içerisinde çözülmüş ve daha sonra solvent:deodorizer distilat oranı 3:1 (hacim/hacim) olacak şekilde, -10 veya -20 °C'de kristalleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Metanol, aseton ve bunların karışımları gibi birkaç solvent, sterollerin ayırma etkinliği açısından incelenmiştir. En iyi sonuçlar, aseton ve metanol karışımı ile -20 °C'de 24 saat süreyle kristalleştirme ve ardından santrifüjleme, süzme ve yıkama adımları ile elde edilmiştir. Deodorizer distilatındaki tokoferollerin ve skualenin %90'ından fazlası filtrat fraksiyonunda toplanırken, deodorizer distilatındaki toplam sterollerin %80'i filtre keki fraksiyonunda tutulmuştur.

2.1. Rafinasyon

Yağlı tohumlardan elde edilen ham yağ ya da yarı işlenmiş yağlar genel olarak serbest yağ asitleri, mono-, di-, trigliseridler, fosfatitler, renk maddeleri, steroller, tokoferoller, gliseroller, hidrokarbonlar, vitaminler, protein fragmentleri iz miktarda metal, pestisit, reçine gibi maddeleri içerirler [12]. Bu maddelerin cinsi ve miktarı yağın çeşidine ve elde ediliş şekline göre değişir. Bunlardan bazılarının yemeklik yağlarda olması istenirken bazılarının belirli bir düzeyin üzerinde bulunması istenmemektedir. Bu istenmeyen maddeler; çoğu karbohidrat olan zamksı maddeler, pigmentler, serbest yağ asitleri, aldehitler, ketonlar, hidrokarbonlar ve uçucu yağlar gibi koku ve tat veren maddeler, zehirleyici etkisi olabilen gossipol, yüksek erime noktalı gliseridler ve bazen mikroorganizmaların meydana getirdiği mikotoksinlerdir. Bu maddelerin bir kısmı yağda emülsiyon halinde bir kısmı da çözülmüş halde bulunmaktadır ve bu yağ dışı safsızlıkların yağın trigliserid yapısına ve yağda bulunması istenen maddelere (tokol, sterol gibi biyoaktif bileşenler grubu) mümkün olduğunca en az zarar verecek şekilde yağdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Yapılan uzaklaştırma işlemlerinin tümüne rafinasyon denir. Süzme, asit giderme, yıkama, kurutma, ağartma, koku giderme vb. aşamaları içeren rafinasyon işlemi; kimyasal veya fiziksel olarak yapılmakta ancak her yağa aynı şekilde uygulanması da gerekmemektedir [13]. Yağ ekstraksiyonu için seçilen yöntem; yağın yapısına, ekstraksiyon sürecinin ekonomik fizibilitesine, piyasa talebine bağlı olmaktadır [12].

Şekil 2.1’de fiziksel ve kimyasal rafinasyonun akım şemaları verilmiştir. Görüldüğü gibi fiziksel rafinasyon genel olarak degumming, ağartma ve buharla distilasyon (deodorizasyon) safhalarını kapsarken, kimyasal rafinasyon degumming, nötralizasyon, ağartma ve deodorizasyon işlemlerini kapsamaktadır. Kimyasal rafinasyonda serbest yağ asitleri bir alkali ile giderildiği halde fiziksel rafinasyonda bu işlem damıtma (buhar distilasyonu) ile yapılmaktadır, bu durum iki yöntem arasındaki en önemli farktır [14].



Şekil 2.1. Fiziksel ve kimyasal rafinasyon aşamalarının şematik gösterimi

2.1.1. Kimyasal rafinasyon

Yapışkan maddelerin alınması (Degumming): Ham yağda bulunan fosfatitlerin, şeker ve protein içeren lipidlerin, yağ hammaddesinden kaynaklı koloidal büyüklükteki pulp maddelerinin ve yağda bulanıklığa sebebiyet veren tüm yapışkan maddelerin ham yağdan uzaklaştırılması olarak tanımlanmaktadır [15]. Yapışkan maddelerin rafinasyonun ilk aşamasında uzaklaştırılmasının üç sebebi bulunmaktadır. İlk olarak, yapışkan maddeler emülsifiyer olduklarından yüksek yağ kayıplarına yol açmaktadır, ikinci olarak sıcaklığa duyarlı olduklarından dolayı parçalanırlar ve yağda koyu rengin oluşmasına neden olmaktadır. Son olarak da yapışkan maddeler arasında yer alan iz metaller prooksidan yapıda olduklarından oksidatif reaksiyonları hızlandırmaktadırlar [16].

Fosfolipitler, proteinler ve gımlar, susuz halleriyle ham yağda çözünürler fakat hidratlandıkları zaman çözünürlükleri kaybolur ve dibe çökerler. Hidratlanabilen fosfolipitler bu şekilde yağdan uzaklaştırılırken, hidratlanamayan fosfolipitler ise asitle muamele edilerek yağdan uzaklaştırılırlar [13].

Ham yağlardan yapışkan maddelerin uzaklaştırılmasında, yüksek sıcaklık (250 °C) derecelerine kadar ısıtılıp soğutma, HCl ve H₂SO₄ gibi mineral asitlerle ya da çözeltiler ile beraber su ya da su buharı ile hidrate edilerek çöktürme ve ağartma topraklarından yararlanma şeklinde oldukça değişik yöntemler kullanılmaktadır. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan yöntem ise (%50-75) fosforik asit çözeltisi ile muamele edilmesidir [15].

Asitliğin giderilmesi (Nötralizasyon): Nötralizasyon; serbest yağ asitlerinin uzaklaştırıldığı aşamadır [17]. Yağdaki serbest asitlik; yağlı bitkinin olgunlaşma evresinde, depolama, yağa sıkım veya rafinasyon aşamasında çeşitli etkenlere bağlı olarak yağın zarar görmesi sonucu yükselir [13]. Yağlarda bulunabilecek yüksek oranda serbest yağ asitleri, yağın tat, koku ve dayanıklılığı üzerinde olumsuz yönde etkide bulunur. Bu nedenle yemeklik bitkisel yağlarda yüksek yağ asiti bulunması kaliteyi düşüren bir unsur olarak kabul edilmektedir. Asitlik giderme işleminin amacı yağın stabilitesinin dolayısı ile kalitesinin yükseltilmesidir [18, 19].

Bu işlem, yağlardaki serbest asitliğin bazik çözeltilerle nötrleştirilip uzaklaştırılması ile sağlanmaktadır. İşlem esnasında genellikle kostik (NaOH veya

KOH) çözeltisi ve bazen de buhar kullanılmaktadır. Serbest yağ asitleri kostik çözeltisi ile sabunlaşır ve oluşan sabun da yağdan uzaklaştırılmaktadır. Bu aşamada bir taraftan serbest yağ asitleri uzaklaşırken, diğer taraftan sabun kütlesi beraberinde okside olmuş bileşikler, metalleri, renkli maddeleri, toksinleri ve pestiteleri de sürüklemektedir [13, 20].

Kullanılan baz miktarı oldukça önemlidir. Bu nedenle baz miktarı ön deneme ile saptanmaktadır. Bazın bir kısmı nötr yağ ile reaksiyona girebileceğinden hesaplanan baz miktarının %10 fazlası kullanılmaktadır. Yağdaki serbest asitlerle birlikte asılı durumdaki katı partiküllerin de uzaklaştırılmasını sağlamak için ayrıca fosforik asit de kullanılmaktadır. Bu aşamanın başarısı sonraki adımların başarısını da etkilemektedir [13].

Renk açma (Ağartma): Ham yağlarda farklı tip ve konsantrasyonlarda bulunan renk maddelerinin yağdan uzaklaştırıldığı aşamadır [21]. Bitkisel ve hayvansal hammaddelerden elde edilen yağların renkleri, içerdikleri ve kendilerine özgü renk veren lipokromlardan kaynaklanmaktadır. Bitkisel yağlarda β -karoten, ksantofil ve klorofil en yaygın bulunan doğal renk maddeleridir [18]. Bunlara ilaveten uygun olmayan koşullarda depolamaktan, işlemeden kaynaklanan oksidatif tepkimeler ve ayrıca yağın yapışkan maddelerinden karbonhidrat-azotlu bileşikler arasındaki tepkimeler sonucu oluşan renk maddeleri de giderilmektedir. Renk maddeleri haricinde kalıntı musilaj maddeleri, ağır metaller, yükseltgenme ürünleri ve diğer küçük miktardaki bileşenler de bu aşamada giderilmektedir [13, 18, 19].

Renk açma işleminde temel ilke; yağda bulunan pigmentlerin adsorbantlar yardımıyla tutulup, devamında adsorbantın filtrasyon yoluyla yağdan uzaklaştırılmasıdır. Bunun için de tonsil, bentonit vb. ticari adlarla satılan ve sektörde daha çok *ağartma toprağı* olarak bilinen adsorban maddeler kullanılmaktadır [21].

Bu işlemde ağartma toprağının polaritesi oldukça önemlidir. Bu yüzden, oksidasyon ürünleri polar olduğu için, polaritesi yüksek topraklar tarafından daha etkin şekilde uzaklaştırılmaktadır [22, 23]. Son zamanlarda bu amaçla, sülfürik veya hidroklorik asit ile muamele edilerek aktifleştirilmiş topraklar da kullanılmaktadır ayrıca aktif karbonunda bu amaç için kullanımı mevcuttur. Aktif karbon, özellikle

kırmızı, mavi ve yeşil renklerin adsorbe edilmesinde etkili olmaktadır ancak pahalı olması ve fazla yağ emmesinden dolayı yalnız başına kullanılmaz. Kullanılacak ağartma toprağının miktarı; yağın rengine, toprağın aktivitesine ve uygulanacak işleme bağlı olarak değişmektedir [13, 24].

Koku giderme (deodorizasyon): Rafinasyonun son aşamasıdır. Ham yağda hem doğal olarak bulunabilen hem de işlemler esnasında oluşan ve yağın tat ve kokusunu olumsuz yönde etkileyen değişik tepkime ürünlerinin uzaklaştırıldığı aşamadır. Böylelikle rafine yağda nötr tat ve koku sağlanmaktadır [15, 18]. Bitkisel yağlarda kötü tat ve koku oluşumuna keton, aldehit, alkol, hidrokarbonlar, yağ asitleri ve ısı etkisiyle peroksit ve renk maddelerinin parçalanması sonucu ortaya çıkan bileşikler sebebiyet vermektedir [13, 15, 23]. Bu işlemdeki temel ilke; kaynama noktaları yağdan daha düşük olan maddelerin, yüksek sıcaklık (170-230 °C) ve düşük basınç altında (5-20 torr) kızgın su buharının sürükleyici etkisiyle yağdan uzaklaştırılmasına dayanmaktadır [25]. Deodorizasyon aşamasında arzu edilmeyen koku ve aroma veren bileşiklerin arınmasının yanında bir takım kimyasal reaksiyonlar da gerçekleşir ki bunlar deodorizasyon işlemi uygulanmış yağın stabilite ve kalitesi için gereklidir [26].

Bu işlemde, kaynama noktaları yağdan daha düşük olan maddelerin buharlaştırılarak su buharı ile vakum altında uzaklaştırılması esasına dayanırken, deodorizasyon sırasında uygulanan yüksek sıcaklık nedeni ile yağdaki sabunlaşmayan maddelerin (tokoferoller, steroller, hidrokarbonlar vb.) önemli bir kısmı alınmaktadır [13, 20].

2.1.2. Fiziksel rafinasyon

Fiziksel rafinasyonda, kimyasal nötralizasyon yerine serbest yağ asitleri deodorizasyon aşamasında uzaklaştırılır [12]. Fiziksel rafinasyon genel olarak degumming, ağartma ve buharla distilasyon olmak üzere üç aşamayı içermektedir. Fiziksel rafinasyonda degumming aşaması ise kimyasal rafinasyona göre daha kritik şekilde yapılmaktadır.

Fiziksel rafinasyonda asıl önemli nokta, asitlik giderme ve deodorizasyon işlemlerinin aynı kademede, su buharı distilasyonu kullanılarak gerçekleştirilmesidir. Yağdan uzaklaştırılan tat ve koku maddeleri ile serbest yağ asitlerinin buhar

basınçlarının birbirine yakın olmasından dolayı bu iki işlem aynı anda gerçekleştirilir. Böylece yüksek asitli yağların serbest asitliği %0.2-0.5 değerine kadar düşürülmektedir. Fiziksel rafinasyonda; genellikle 1 mbar basınçta, 250 °C sıcaklıkta, 40-50 kg buhar/ton yağ oranında su buharı kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yaşanan en büyük güçlük; fosfolipidlerin ve kullanılan fosforik asit fazlasının yağdan tümüyle uzaklaştırılamaması, yüksek sıcak nedeniyle yağda istenmeyen tat ve koku oluşumunun olmasıdır. Ayrıca, ağartma işlemi, yapışkan maddelerin giderilmesinden sonra uygulandığı için gerekli ağartma toprağı miktarı daha fazla olmaktadır. Fiziksel rafinasyon işlemi, yüksek asitli yağlar için daha ekonomiktir. [13, 20].

2.1.3. Ham yağ rafinasyonunda uzaklaştırılan maddeler

Rafinasyon sonucunda, uygulanan yönteme bağlı olarak yağdan çeşitli maddeler uzaklaştırılmaktadır. Çizelge 2.1’de ham yağ rafinasyonu esnasında yağdan tamamen veya kısmen ayrılan maddeler gösterilmiştir.

Kimyasal rafinasyon için miktarca en fazla ortaya çıkan yan ürün soapstoktur. Soapstoklar çoğunlukla ıslak lipidik karışımlardır. Soapstokların fizikokimyasal özellikleri bitkisel kaynağın tipine, tohumun işleme, ambalajlama ve depolama koşullarına bağlı olarak değişmektedir [12]. Soapstoklar %66’ya varan oranlarda su içerir, rengi koyu kahvedir ve sabun sektöründe kullanılabilmesi için temizlenmesi gerekir. Asitlendirilerek, asit yağ olarak da kullanım alanı mevcuttur. [13, 7]. Hem fiziksel hem de kimyasal rafinasyonda elde edilen yan ürünlerden biri, bileşimi ve özelliği yağın cinsine, rafinasyonun çeşidine ve rafinasyonun şartlarına (deodorizer kolonu, deodorizer zamanı, kullanılan basınç, sıcaklık, buhar vs.) bağlı olarak değişen deodorizer distilatlarıdır [11, 16].

Çizelge 2.1. Ham yağ işlemede uygulanan rafinasyon aşamaları ve bu aşamalarda yağdan tamamen veya kısmen ayrılan maddeler

İşlem Basamakları	Uzaklaştırılan Maddeler
Ham yağ depolama	Yağda çözünmeyen maddeler
Degumming	Fosfolipidler, şekerler, reçineler, proteinli bileşikler, iz maddeler vd.
Nötralizasyon	Yağ asitleri, pigmentler, fosfolipidler, kükürtlü bileşikler, sabun tortusu (soapstok)
Ağartma	Renk maddeleri, oksidasyon ürünleri, iz maddeler, iz sabunlar, kullanılmış ağartma toprağı
Deodorizasyon	Yağ asitleri, mono, di-gliseridler, aldehitler, ketonlar, alkoller, hidrokarbonlar, kükürtlü bileşikler, pigment parçalanma ürünleri, biyoaktif bileşenler

Deodorizer distilatlarında bulunan bileşenlerinden biri; serbest yağ asitleridir. Kimyasal rafinasyon sonucu elde edilen deodorizer distilatlarındaki serbest yağ asitleri miktarı %30-50 civarında iken, fiziksel rafinasyonda bu içerik %80-90'lara ulaşmaktadır. Çizelge 2.2'de rafinasyon şekilleri farklı olan yağların deodorizer distilatlarının bileşimi belirtilmiştir. Farklı miktarlarda serbest yağ asiti içerdiklerinden dolayı kimyasal rafinasyonla elde edilen deodorizer distilatlarındaki sabunlaşmayan madde miktarının fiziksel rafinasyon sonucu elde edilen deodorizer distilatlarından daha fazla olduğu bildirilmiştir [27].

Çizelge 2.2. Farklı yağların fiziksel ve kimyasal rafinasyonu sonucu elde edilen deodorizer distilatlarının bileşimi (%) [16].

Bileşenler	Ayçiçek yağı DD*		Kanola yağı DD*	
	Kimyasal	Fiziksel	Kimyasal	Fiziksel
Toplam tokoferol	5.1	1.5-3.4	3.5-4.4	1.3
Toplam sterol	14.2	3.3-6.1	10.0-18.7	4.4
Mono-açılgliserol	0.9	0.1	1.4-2.1	-
Tri-açılgliserol	2.6	0.1-0.8	3.0-7.5	2.7
Skualen	0.7	0.2-1.0	0.1-0.4	1.0

*Deodorizer distilatı

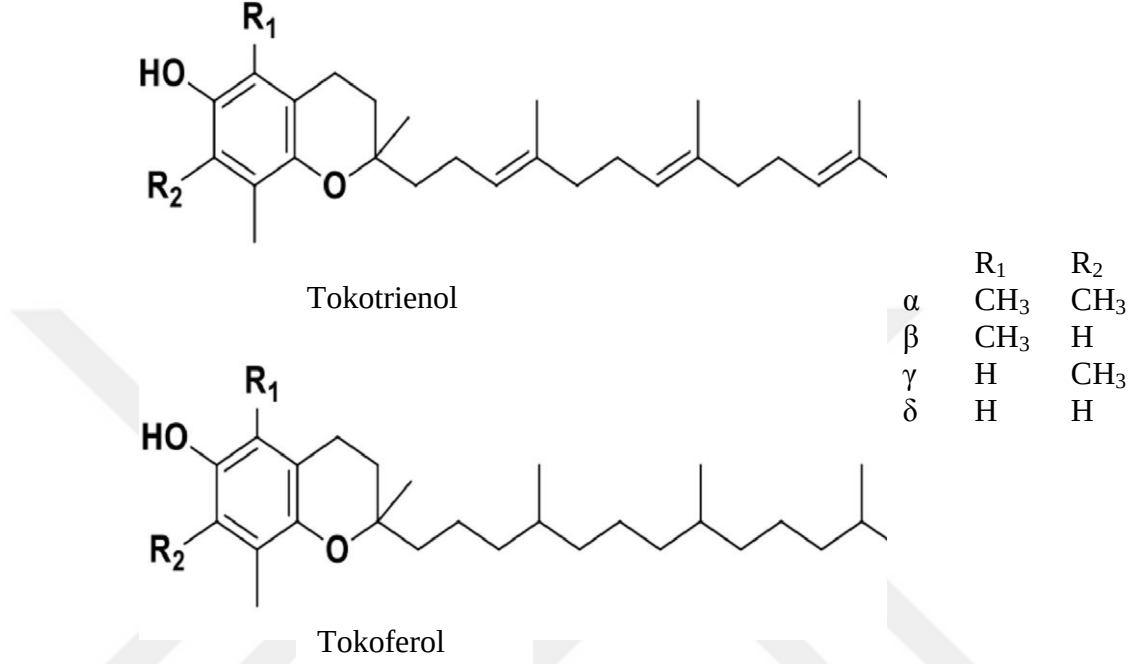
1.1.3.1. Deodorizer distilatlarında biyoaktif bileşenlerin kompozisyonu

Deodorizer distilatlarında biyoaktif bileşenlerin kompozisyonu; ham maddeye, rafinasyon tipi ve şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Deodorizer distilatlarının sterol ve tokoferoller gibi biyoaktif maddeler bakımından bileşimsel özelliklerinin belirlendiği bir çok çalışma bulunmaktadır [11]. Palm yağı deodorizer distilatında; serbest yağ asitlerinin (%81.7), gliseridlerin (%14.4), skualen (%0.8), tokoferol (%0.5) ve diğer maddelerin (%2.2) bulunduğu rapor edilmiştir [28]. Kanola ve palm yağı deodorizer distilatı örneklerinde sabunlaşmayan madde kısmında fitosterollerin bol bulunduğu (%21.27-25.53), skualenin ve tokoferolün oranlarının sırasıyla %2.89-13.21 ve %1.29-5.81 olduğu bildirilmiştir [29]. Sabunlaşmayan maddelerin, tokoferollerin ve sterollerin ortalama yüzdeleri, ayçiçek deodorizer distilatında sırasıyla %39.0, 9.30, 18.0, pamuk yağı deodorizer distilatında sırasıyla %42.0, 11.4, 20.0, soya yağı deodorizer distilatında sırasıyla %33.0, 11.10, 18.0 olduğu bildirilmiştir [31].

2.2. Tokoller (Tokoferoller & Tokotrienoller)

Tokoller, bitkisel dokularda yaygın olarak bulunan monofenolik ve lipofilik bileşiklerdir [27]. Şekil 2.2’de bitkisel yağlarda yaygın olarak bulunan tokoferoller

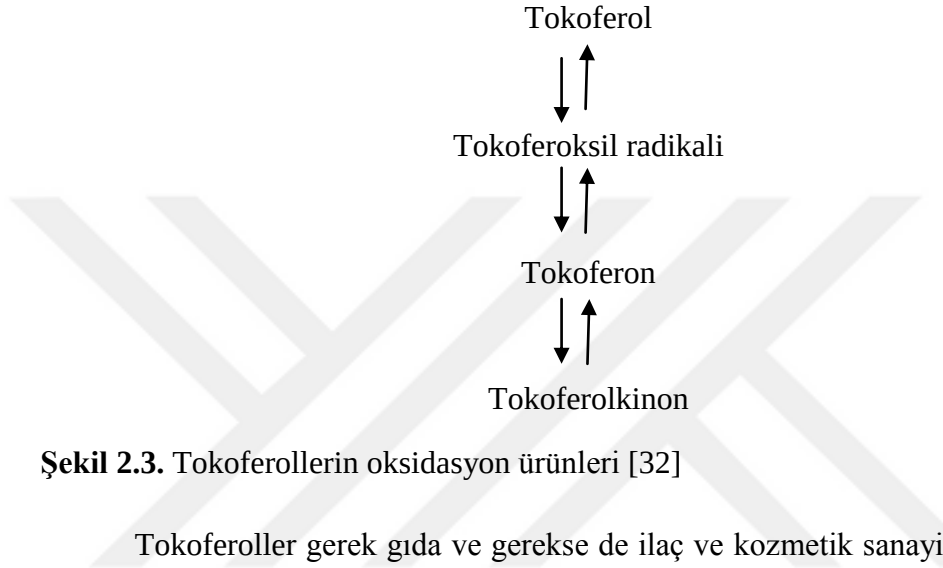
ve tokotrienoller gösterilmektedir. Bu bileşiklerde, bir kromanol baş ve fitil kuyruk mevcuttur. Tokoferoller ile tokotrienoller arasındaki temel fark, tokotrienollerin fitil kuyrukta 3 adet çift bağ içermesidir. Her iki grup da yapılarındaki kromanol halkasındaki 5, 7 veya 8 pozisyonlarına bağlanan grupların hidrojen veya metil olmasına göre α , β , γ , δ olarak adlandırılırlar [32-34].



Şekil 2.2. Tokollerin kimyasal yapısı [85]

Tokoferoller çok iyi serbest radikal süpürücü özelliğe sahiptirler ve bitkisel yağlarda bulunan başlıca antioksidanlar içerisinde yer almaktadır. Tokoferoller lipit peroksidasyonunu inhibe etme özelliğine sahiptir. Şekil 2.3'te tokoferollerin oksidasyon basamakları gösterilmektedir. Tokoferoller antioksidan etki gösterirken kromanol halkasındaki bir hidrojenini lipit peroksil radikaline vermektedir. Lipit radikali stabil olurken kendisi tokoferoksil radikaline dönüşmektedir. Ancak oluşan bu yeni radikal, lipit radikaline göre oldukça kararlı olduğu için toplam radikal aktivitesi azalmaktadır. Tokoferoksil radikali de bir elektronunu vererek tokoferona, tokoferon da tokoferol kinona dönüşmektedir. Tokoferoksil radikali ve tokoferon, biyolojik sistemlerde ubikinon ve askorbik asit tarafından tekrardan tokoferole dönüştürülebilmektedir. Ancak tokoferolkinon kararlı bir son üründür [35-37].

Tokoferoller, aynı zamanda fizyolojik yönden antisterilite etkisine sahiptirler. Bu yüzden E grubu vitaminleri olarak da bilinmektedir. Fizyolojik etkileri, α -tokoferolden δ -tokoferole doğru azalırken, antioksidan etkileri tersi yönde azalma göstermektedir [39]. Yani α -tokoferol beslenme açısından E vitamini aktivitesi yüksek olup *in vivo* antioksidan etkinliği diğer izomerlerinden daha yüksektir. γ -tokoferolün ise *in vitro* antioksidan etkinliğinin diğer izomerlerden daha yüksek olduğu bildirilmektedir [27, 40, 41].



Şekil 2.3. Tokoferollerin oksidasyon ürünleri [32]

Tokoferoller gerek gıda ve gerekse de ilaç ve kozmetik sanayiinde kullanılan önemli katkı maddeleridir [10]. Gıda muhafazası ve hastalık önlemede önemli roller oynamaktadır. Tokoferoller, karaciğerdeki kolesterol üretimini azaltmakta, bazı kanserlere karşı koruma sağlamakta, vücudun bağışıklık sistemini güçlendirmekte ve hücrel yaşlanmayı azaltmaktadır. Buna ek olarak, tokoferoller kalp hastalığını, alzheimer hastalığını ve eklem iltihabını önleyebilmektedir [42].

2.3. Deodorizer Distilatlarından Tokoferollerin Ekstraksiyon Yöntemleri

2.3.1. Solvent ekstraksiyonu

Endüstrinin birçok dalında değişik şekillerde ekstraksiyon işlemleri kullanılmaktadır. Genel olarak katı ya da sıvı halde bulunan bir bileşenin uygun bir solvent kullanılarak karışmış olduğu diğer bileşenlerden ayrılması işlemini kapsamaktadır. Ekstraksiyonda fazlardan biri katı diğeri sıvı olabildiği gibi fazların her ikisi sıvı da olabilir. Duruma göre sırasıyla, katı-sıvı ve sıvı-sıvı ekstraksiyonlarından bahsedilmektedir.

Bir sıvı çözelti içinde bulunan bir ya da daha çok bileşeni, bu çözeltiye uygun bir solvent ile temas ettirerek çözeltiden uzaklaştırma yöntemine sıvı-sıvı ekstraksiyonu denir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunun en basit şekli karışmayan iki çözücü arasında bir çözünenin dağılması da denilmektedir [43].

Homojen sıvı karışımlarındaki bileşenleri sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile ayırma, diğer sıvı faz içinde çözünürlük farkı temeline dayanmaktadır. Çözünürlük farkı, polarite gibi tamamen fiziksel farklardan olabileceği gibi çözücü ve çözünen arasındaki kimyasal etkileşimler sonucunda da olmaktadır [44].

Ekstrakte edilmesi gereken sıvı çözelti içerisindeki solvent, bir ya da daha fazla bileşeni ekstrakte edebilen, deodorizer distilatı ile kısmen karışabilen ya da karışmayan özellikte olması gerekir. Böylelikle bileşenler iki sıvı fazın bağlı çözünürlük farkı ile ayrılmaktadır [44]. Çözücü bakımından zengin faz ekstrat, çözüneni uzaklaştırılmış artık sıvı faz rafinat olarak adlandırılmaktadır [45].

Kademeli tipteki düzeneklerde ekstraksiyon, sistemin türüne ve istenen ayırmanın miktarına bağlı olarak çeşitli şekillerde gerçekleştirilmektedir [45].

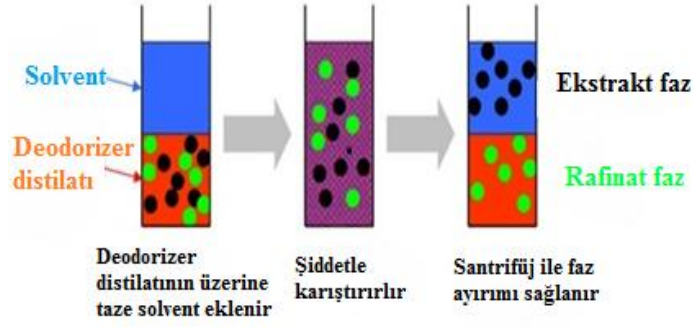
2.3.1.1. Sıvı-sıvı ekstraksiyon sistemleri

Tek kademeli ekstraksiyon: Tek kademeli ekstraksiyonda ekstraksiyona tabi tutulacak karışım ve çözücü çok iyi bir şekilde karıştırılmakta ve daha sonra ekstrakt ve rafinat fazları ayrılmaktadır. Tek kademeli ekstraksiyon kesikli veya sürekli bir işlem olabilir [46]. Tek kademeli ekstraksiyon akım şeması Şekil 2.4'te verilmiştir.

Çok Kademeli Ekstraksiyon: Tek kademeli ekstraksiyonun tekrarlı halidir. Her kademedede taze çözücü kullanılır ve her kademedede bir önceki kademededen gelen rafinat taze çözücü ile işleme tabi tutulmaktadır. İşlem kesikli ya da sürekli olarak gerçekleştirilmektedir. Ekstraksiyon işlemi sonunda tek bir son rafinat ve her bir kademededen alınan ekstraktların birleşmesi ile toplam ekstrakt elde edilmektedir [45].

2.3.1.2. Çözücü seçimi

Ekstraksiyon işleminde kullanılacak çözücünün seçimi oldukça önemlidir. Ayrıca ekstraksiyon işleminin ekonomik olabilmesi için kullanılan çözücü ekstraksiyon işlemi sonunda geri kazanılabilir olmalıdır [45].



Şekil 2.4. Tek kademeli ekstraksiyon akım şeması

Seçicilik: İyi bir çözücünün en önemli özelliklerinden bir tanesi istenilen bileşeni diğer bileşenlerden yüksek verimle ekstrakte edebilme yeteneğine sahip olmasıdır. Dengedeki ekstrakt fazdaki çözünenin seyreltene oranının, rafinat fazdaki çözünenin seyreltene oranına bölümü "ayırma faktörü" ya da "seçicilik" denilmektedir. Uygulanan bütün ekstraksiyon işlemleri için seçicilik 1'den büyük olması gerekmektedir. Seçicilik ne kadar büyük olursa ayırım da o kadar iyi olmaktadır. Zayıf seçicilik büyük 'çözücü/ besleme hızı' oranı anlamına gelmektedir [45].

Dağılım Katsayısı: Dengedeki ekstrakt faz içinde çözünen madde derişiminin, rafinat faz içinde çözünen madde derişimine oranına "dağılım katsayısı" denmektedir. Ekstrakte edilen bileşiğin dağılım katsayısının büyük olması istenmektedir. Çünkü belirli bir çözücü miktarı ve çözücü/besleme oranı için yüksek dağılım katsayısına sahip olduğunda ekstraksiyon kademelerinin sayısı azaltmaktadır [45].

Çözücünün çözünebilirliği: Ekstraksiyon sistemlerinde seyreltenin ve çözücünün birbirinde fazla çözünmemesi gerekmektedir. Kullanılan solvent ne kadar büyük bir çözünmezlik alanı oluşturursa, o kadar kullanışlı olduğu anlamına gelmektedir. Bu durum solventin, ekstrakte edilecek çözeltideki çözünürlüğünün küçük olmasıyla mümkün olmaktadır. Bu da çözücünün geri kazanımını da kolaylaştırmaktadır [45].

Yoğunluk: Dengedeki sıvı fazların yoğunluklarının kesikli veya sürekli işlemlerin her ikisi için de farklı olması gerekmektedir [45].

Ara yüzey gerilim: Büyük ara yüzey gerilimlerinde emülsiyonların birleşmesi kolay olmaktadır. Fakat bir sıvının diğer sıvı içinde dağılması oldukça zor olmaktadır. Bu yüzden çözücü kararlı emülsiyonlar oluşturmaması gerekir [45].

Yeniden kullanılabilirlik: Çözücü ekstrakt fazdan ve rafinattan elde edilmektedir. Çözücüyü geri kazanmak amacıyla en çok uygulanan yöntem damıtmadır [45].

Çözücüde aranan diğer özellikler ise şunlardır; viskozitesi ve donma noktası düşük olmalı, kimyasal olarak sistemin diğer bileşenlerine karşı inert olmalı, tersinmez reaksiyonlar vermemeli, zehirli ve koroziv olmamalı, çabuk tutuşmamalı, maliyeti düşük olmalıdır.

Bazı durumlarda bir çözücü karışımı, saf çözücülerle elde edilemeyen özellikler sağlamak için kullanılması mümkündür [45].

2.3.1.3. Solvent ekstraksiyonunun avantaj ve dezavantajları

Kolay okside olabilen bileşenler için oksidasyonuna neden olmama ve yüksek basınç kullanılmaması açısından avantajlıdır. Ancak, gerekli solvent miktarının oldukça yüksek olması ve çevresel problemlere yol açması nedeniyle de dezavantaja sahiptir [12].

2.3.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Saf bir maddenin sıcaklığının (T) ve basıncının (P), kendi kritik sıcaklığından (T_c) ve kritik basıncından (P_c) büyük veya eşit olması durumunda o madde “süperkritik akışkan” olarak tanımlanmaktadır. Şekil 2.5’de görüldüğü gibi süperkritik akışkan, sahip olduğu yoğunluk, viskozite ve difüzyon katsayısı gibi fiziksel özellikler açısından gaz ve sıvı özellikleri arasında yer almakta, fakat ne tam bir gaz gibi ne de bir sıvı gibi davranmaktadır [47]. Süperkritik bir akışkanın sıvıya göre difüzyon katsayısı daha yüksek, viskozite ve yüzey gerilimi daha düşük olması daha iyi bir kütle transferi sağlamaktadır. Süperkritik akışkanların ekstraksiyonu ve ayrımı için akışkanın yoğunluğu, çözücünün gücü ve kütle transferi özellikleri arasındaki ilişkinin uygun olması gerekmektedir [48].



Şekil 2.5. Süperkritik akışkan faz diyagramı

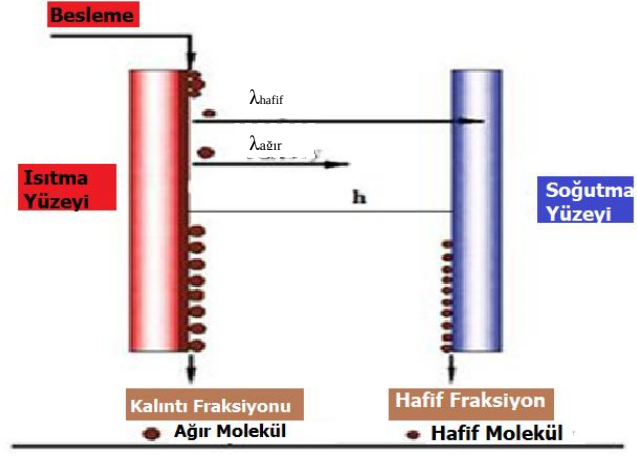
2.3.3. Enzim destekli ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon, deodorizer distilatlarındaki bileşiklerin kimyasal ya da fiziksel özelliklerini değiştirerek bir sınıf bileşeni farklı bir sınıfa dönüştürmesi için enzim kullanılması prensibine dayanmaktadır. Enzimlerin kullanımı steroller, sterol esterlerine, açilgliserollere, serbest yağ asitlerine, serbest yağ asitlerini yağ asiti metil esterlerine dönüştürerek distilattaki tokoferol konsantrasyonuna izin vermektedir. Böylelikle aynı molekül ağırlığına sahip bileşiklerin distilasyon aracılığı ile ayrılması daha kolay olmaktadır. Bu ekstraksiyonun esas dezavantajı ise nem içeriği, enzim konsantrasyonu, zaman, sıcaklık ve reaktantlar oranı gibi pek çok parametre içermesidir [12].

2.3.4. Moleküler distilasyon yöntemi

Moleküler distilasyon yöntemi genel olarak termal duyarlı ve yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerin ayrılması ve saflaştırılması için kullanılan en uygun damıtma yöntemi olarak kabul edilmektedir [42]. Şekil 2.6'da görüldüğü gibi moleküler distilasyon ile bir karışımdaki bileşenler, belirli sıcaklık ve düşük basınçta birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Ayrılan bu bileşenler, molekül büyüklükleri arasındaki farklılık nedeniyle de birbirlerinden ayrılırlar. Moleküllerin birbirleri ile temas etmeden kat ettikleri en uzun mesafe o molekülün 'Ortalama Serbest Yol' u olarak adlandırılır. Bileşenlerden düşük molekül ağırlığında olanlar büyük molekül ağırlığında olanlara göre daha yüksek ortalama serbest yola sahiptir. Molekül ağırlığı düşük olan bileşenlerin moleküler düzeyde kinetik enerjilerinin artırılarak soğuk bir

yüzey üzerinde toplanması moleküler distilasyon yönteminin temelini oluşturmaktadır [27].



Şekil 2.6. Moleküler distilasyonun şematik gösterimi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada, kimyasal rafinasyon sonucunda elde edilen mısırozü yağı deodorizer distilatı (MYDD) Kahramanmaraş'da faaliyet gösteren DOK yağ firmasından temin edilmiştir. MYDD kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan kimyasalların çoğu “Sigma” firmasından temin edilmiştir. Farklı firmalardan temin edilen kimyasalların satın alındığı firma parantez içerisinde ifade edilmiştir. Bu tez çalışmasında; fenolftalein, potasyum hidroksit, EtOH, hidroklorik asit, sodyum tiyosülfat, potasyum dikromat (Merck), potasyum iyodür, kloroform, asetik asit, karbon tetra klorür, wijs çözeltisi, metanol, hekzan, susuz sodyum sülfat, ASN, izopropil alkol (İPA), tokoferol seti (α , β , γ , δ) kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Alet, Ekipman ve Cihazlar

Bu çalışma kapsamında geri soğutucu, santrifüj (Heraeus Sepatech, Almanya), etüv (Nüve, Almanya), vorteks (Heidolph, İtalya), ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Velp, Almanya), pH metre (Hanna pH211, USA) ve hassas terazi (Ohaus PA214C, USA) kullanılmıştır.

Kromatografik analizler ise Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (Shimadzu HPLC, Japonya) ve Gaz Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektör (Shimadzu GC-FID, Japonya) cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. GC-FID analizinde kapiler kolon (Teknokroma, 60 m $\times$ 6 – 0.2 μ m $\times$ 0.25 mm, Türkiye) kullanılırken; HPLC analizlerinde C18 kolon (inertsil RP18 bağlı 5.5 μ m partikül çapı, 250 $\times$ 4.60 mm, USA) ve amin kolon (inertsil, NH₂ bağlı 3 μ m partikül çapı, 4.6 $\times$ 250 mm, Japonya) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Karakterizasyon analizleri

3.2.1.1. Serbest yağ asitliği tayini

American Oil Chemists' Society (AOCS International)'nin standart metoduna göre [79] yapılmıştır. Metoda göre; yaklaşık 5 g MYDD tartılmış ve 100 ml EtOH:dietileter (1:1) karışımında çözülmüştür. Üzerine 3-4 damla fenolftaleyn indikatörü damlatılmış ve EtOH ile hazırlanan 0.5 N KOH ile titre edilmiştir. Kalıcı pembe renk elde edilince sarfiyat not edilmiştir. Aşağıda verilen formüle göre hesaplama yapılmıştır.

$$\% \text{ Serbest asitlik} = \frac{V \times M \times N}{10 \times P} \quad (3.1)$$

V = Harcanan EtOH'lu KOH (ml)

N = KOH'un normalitesi

M = İfade edilecek asit cinsinden molekül ağırlığı (g)

P = Alınan örnek ağırlığı (g)

3.2.1.2. Sabunlaşma sayısı

AOCS'ın standart metoduna [80] göre yapılmıştır. Bir balonun (250 ml) içerisine 2.06 g MYDD tartılmış ve 25 ml etanollü 0.5 N KOH çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Balon geri soğutucuya bağlanmış, karıştırma ile birlikte 60 dk süre ile kaynatılmış ve süre sonunda geri soğutucu üstünden pipet yardımıyla az miktarda saf su ile yıkanmıştır. Geri soğutucudan çıkarılan balonun üzerine 4-5 damla fenolftaleyn damlatılmış ve 0.5 N HCl ile titre edilmiştir. Kalıcı pembe renk elde edilinceye kadar titrasyona devam edilmiştir. Aynı işlemler örnek olmadan yapılan şahit deney için de yapılmıştır. Sarfiyat not edilmiş ve sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sabunlaşma Sayısı} = \left(\frac{V_2 - V_1}{P} \right) \times 28.05 \left(\frac{\text{mg KOH}}{\text{g yağ}} \right) \quad (3.2)$$

V_1 = Örnek ile yapılan analizde harcanan 0.5 N HCl çözeltisi (ml)

V_2 = Şahit için harcanan 0.5 N HCl (ml)

P = Örnek ağırlığı (g)

3.2.1.3. Peroksit sayısı

Analiz AOCS'ın standart metodundan [81] faydalanılarak yapılmıştır.

0.1 N Sodyum tiyosülfat çözeltisinin ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) standardizasyonu: 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ stabil olmadığı için 0.1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için 25 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1 l saf suda çözülmüş ve 2 hafta bekletilmiştir. 0.16 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (2 saat 100 °C'de kurutulmuş) 50 ml saf suda çözülmüş ve çözeltiye 2 g KI ilave edilmiş, yeşilimsi koyu bir renk oluşmuştur. 20 ml 1N HCl ilave edilerek karıştırılan çözelti hemen karanlık bir ortama alınmış ve 10 dk bekletilmiştir. Renk kahverengiden sarımsı yeşile dönünceye kadar ayarlanan 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ çözeltisi ile titre edilmiştir. 1 ml nişasta çözeltisi indikatör olarak eklendikten sonra titrasyona devam edilmiş ve renk maviden yeşile dönünce titrasyona son verilmiştir. Sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Normalite} = \frac{\text{g}(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) \times 1000}{\text{ml}(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \times 49.037} \quad (3.3)$$

MYDD'den 1.55 g tartılmış, 10 ml kloroformda çözülmüş, sırası ile 15 ml asetik asit, 1 ml doymuş KI çözeltisi eklenmiş ve 1 dk boyunca çalkalanmıştır. Karanlık bir yerde 5 dk bekletilmiş, süre sonunda 75 ml saf su konulmuş, indikatör olarak 1 ml nişasta çözeltisi eklenmiş ve 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ile titre edilmiştir. Aynı işlemler örnek olmadan yapılan şahit deney için de yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Peroksit sayısı} = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 8000}{P}$$

(3.4)

V₁ = Titrasyonda örnek için harcanan tiyosülfat miktarı, ml

V₂ = Titrasyonda şahit için harcanan tiyosülfat miktarı, ml

N = Na₂S₂O₃ normalitesi (N)

P = Alınan örnek miktarı (g)

3.2.1.4. İyot sayısı (Wijs yöntemi)

Analiz AOCS'ın standart [82] göre yapılmıştır. Tahmini iyot değerine karşılık verilen örnek miktarı Çizelge 3.1'de gösterilmektedir. Çizelgedeki değerler baz alınarak yapılan ön denemeler sonucunda, 0.30 g MYDD tartılmış ve 15 ml karbon tetraklorürde çözülmüştür. Sonrasında 25 ml wijs çözeltisi ilave edilip yavaşça çalkalanmış ve 2 saat karanlık bir yerde bekletilmiştir. Bekleme sonunda 20 ml %10'luk potasyum iyodur çözeltisi ve 150 ml saf su eklenmiştir. 1 ml nişasta çözeltisi indikatör olarak eklenmiş ve 0.1 N sodyum tiyosülfat ile titre edilmiştir. Titrasyon esnasında renk açıldıktan sonra erlenmayerin kapağı kapatılıp şiddetli bir şekilde çalkalanmış, kapağı da saf su ile erlenin içine yıkanmış ve çözelti renksiz hale gelinceye kadar titrasyona devam edilmiştir. Aynı işlemler örnek olmadan yapılan şahit deney için de yapılmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki verilen formüle göre yapılmıştır.

$$\text{İyot sayısı} = \frac{(V_2 - V_1) \times 1.269}{P}$$

(3.5)

V₁ = Örneğe harcanan 0.1 N sodyum tiyosülfat miktarı (ml)

V₂ = Şahit için harcanan 0.1 N sodyum tiyosülfat miktarı (ml)

P = Örnek ağırlığı (g)

Çizelge 3.1. Tahmini iyot değerlerine karşılık alınan örnek tartım miktarları

Tahmini iyot değeri	Alınacak örnek miktarı (g)
5'den küçük	3.00
5-20	1.00
21-50	0.60
51-100	0.30
101-150	0.20
151-200	0.15

3.2.1.5. Yağ Asiti kompozisyonun belirlenmesi

Metil esteri eldesi

Yağ asiti metil esterleri AOCS'ın standart methoduna [83] göre hazırlanmıştır. Yaklaşık 40 mg MYDD, amber renkli viallerde tartılmış ve üzerine 3 ml %6'lık HCl içeren metanol eklenmiştir. Vialler vortekslenmiş ve 75 °C'ye ayarlanmış bir etüvde 2 saat bekletilmiştir. Etüvden çıkarılan vialler buz içerisinde bekletilerek soğutulmuş, her bir vial 2 ml hekzan eklenerek 20 sn vortekslenmiş ve 2000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiştir. Hekzan fazı susuz sodyum sülfat bulunan bir tüpe aktarılmış, 0.45 µm PTFE filtre ile süzölmüş ve GC cihazına verilmek üzere GC viallerine alınmıştır.

Gaz kromatografisi

MYDD'nin yağ asiti bileşimi GC-FID sistemi ile belirlenmiştir [58]. Yağ asitlerinin ayrılmasında DB23 kapiler kolon (60 m × 0.25 mm i.d., 0.25 µm film kalınlığı; J&W Scientific, Folsom, ABD) kolon kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak yüksek saflıkta helyum gazı (1 ml/dk akış hızında) kullanılmıştır. Enjeksiyon bloğu ve alev iyonlaştırma dedektörü sıcaklığı 250 °C olarak ayarlanmıştır. Kolona 1 µm enjekte edilmiş ve split oranı 1:50 oranında uygulanmıştır. Fırın sıcaklığı programı; 140 °C'de 5 dk, 4°C/dk artışla 240 °C ve bu sıcaklıkta 10 dk bekleyecek şekilde belirlenmiştir. Piklerin tanımlanmasında yağ asiti metil ester standart çözeltisi (Supelco grain fatty acid methyl ester mix) kullanılmıştır. Yağ asitlerinin miktarı pik alanlarından yararlanılarak % oranları şeklinde verilmiştir.

3.2.2. Tokoferol analizleri

Tokoferol ekstraktlarının analizi başlangıç materyali olan MYDD'de ve saflaştırma işlemlerinin her basamağında yapılmıştır. Tokoferol ekstraktlarının analizi HPLC-DAD sistemi ile yapılmış ve analitik ayrımı için C18 (250 × 4.6 id.) kolon kullanılmıştır [59]. Mobil faz olarak %1 su içeren metanol izokratik olarak yürütülmüştür. Örnekler mobil faz içerisinde uygun oranda seyreltilerek 0.45 µm'lik filtreden süzölmüştür. Enjeksiyon hacmi 10 µl, kolon sıcaklığı 40 °C, akış hızı 1 ml/dk, DAD dedektörün dalga boyu 290 nm olarak ayarlanarak analizler yapılmıştır.

Ters faz HPLC'de tokoferollerin β ve γ izomerleri tam olarak birbirinden ayrılmamakta ancak normal faz HPLC ile bu ayırım sağlanmaktadır. Bundan dolayı, alternatif olarak tokoferol vitamerlerinin analizi amin (NH₂) (250 × 4.6 id.) kolon kullanılarak da yapılmıştır [60]. Mobil faz olarak %4 İPA içeren hekzan izokratik olarak yürütölmüştür. Örnekler mobil faz içerisinde uygun oranda seyreltilerek 0.45 µm'lik filtreden süzölmüştür. Enjeksiyon hacmi 10 µl, kolon sıcaklığı 30 °C, akış hızı 1 ml/dk, DAD dedektörün dalga boyu 290 nm olarak ayarlanarak analizler yapılmıştır.

3.2.3. Tokoferollerin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile kazanımı

MYDD'den sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile yüksek saflıkta tokoferol kazanımının hedeflendiği çalışmada; solvent/MYDD oranı, ko-solvent varlığı, hekzanla seyreltme, ekstraksiyon süresi, kademe sayısı ve sıcaklık parametrelerinin etkileri incelenmiştir.

Metanol, ASN ve bunların solvent karışımları, tokoferollerin ayırma etkinliği açısından incelenmiştir. Yapılan ön denemeler ışığında ASN'nin ana solvent olarak kullanılmasına karar verilmiştir.

3.2.3.1. Farklı solvent/MYDD oranlarının tokoferol kazanımına etkisi

Farklı solvent/MYDD oranlarının tokoferol kazanımına olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, solvent/MYDD oranları 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 50 (v/v) olacak şekilde belirlenmiştir. Sırasıyla belirlenen oranlara uygun olarak MYDD tartılmış, ASN eklenmiş, 2 dk vortekslenmiş, 3000 rpm'de 20 dk

santrifüjlenmiş, polar faz alınmış ve istenilen son hacme tamamlanmıştır. 0.45 µm PTFE filtreden süzölmüş ve 0.5 ml viallere alınarak HPLC ile analizlenmiştir.

3.2.3.2. Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisi

Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisinin belirlendiğı çalışmada; polarlığı azaltmak için ko-solvent olarak EtOH ve İPA kullanılmıştır. MYDD, ASN içerisindeki ko-solvent oranı %30'un üzerindeki değerlerde çözöndüğü için %0-30 arasında farklı oranlar kullanılmıştır.

Yaklaşık 1 g MYDD tartılmış, farklı oranlarda (%5, %10, %15, %20, %25, %30) İPA içeren ASN'den 5 ml eklenmiş, 2 dk vortekslenmiş, 3000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiş, polar fazlar alınmış ve son hacmi 5 ml'ye tamamlanmıştır. 0.45 µm PTFE filtre ile süzölmüş, 0.5 ml viallere alınmış ve HPLC ile analizlenmiştir.

Aynı işlemler ko-solvent olarak kullanılan EtOH için de gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.3. Hekzanla seyreltmenin tokoferol kazanımına etkisi

MYDD farklı miktarlarda hekzan ile seyreltilerek tokoferol kazanımının etkisinin araştırıldığı çalışmada, 1.6 hekzan/DD (v/v)'den fazla miktarda hekzan kullanıldığında, solvent karışımı MYDD'yi tamamıyla çözödüğü gözlemlenmiştir. Bundan dolayı hekzan miktarları 0-1.6 hekzan/DD (v/v) aralığında belirlenmiştir.

Yaklaşık 1 g MYDD tartılmıştır. Belirlenen oranlarda (0, 0.5, 0.9, 1.4, 1.5, 1.6 hekzan/DD (v/v)) hekzan ve 5 ml ASN eklenmiş, 2 dk vortekslenmiş, 3000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiş, polar faz 0.45 µm PTFE filtreden geçirilmiş ve 0.5 ml viallere alınmıştır. HPLC'de analizlenmiştir.

3.2.3.4. Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımına etkisi

Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımına etkisini araştırmak amacıyla; yaklaşık 1 g MYDD tartılmış ve 5 ml ASN eklenmiştir. Farklı sürelerde (2, 4, 6, 8, 10 dk) vortekslenmiş, 20 dk santrifüjlenmiş, polar faz alınarak 0.45 µm PTFE filtreden geçirilmiş, 0.5 ml viallere alınmış ve HPLC analizlenmiştir.

3.2.3.5. Ekstraksiyon kademe sayısının tokoferol kazanımına etkisi

Kademe sayısının tokoferol kazanımına etkisini araştırmak için; 3 farklı solvent ile (ASN, ASN içinde %20'lik İPA ve % 20'lik EtOH) çalışılmıştır. Yapılan ön denemeler sonucunda, ASN içerisinde %20'lik ko-solvent kullanımı ile elde edilen ekstraktlarda yüksek tokoferol kazanımları elde edildiği için solvent grupları arasında ko-solventin %20 oranı tercih edilmiştir. Sırasıyla yaklaşık 1 g MYDD tartılmış, 5 ml solvent eklenmiş, 2 dk vortekslenmiş, 3000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiş, polar faz alınmış, 0.45 µm PTFE filtreden geçirilmiş, 0.5 ml viallere alınmış ve HPLC ile analizlenmiştir. Altta kalan fazın üzerine tekrar 5 ml taze solvent eklenmiş, yukarıda belirtilen işlemler tekrarlanmış ve bu işlem 5 defa tekrar edilmiştir.

Her bir kademedede elde edilen ekstraktların analizleri ayrı ayrı yapıldığı gibi, birleştirilen ekstraktların 50 ml'ye tamamlanmasıyla da tokoferol analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.6. Sıcaklığın tokoferol kazanımına etkisi

Sıcaklığın tokoferol kazanımına etkisinin araştırıldığı çalışmada; 4, 8, 16, 20, 30, 40, 50, 60 °C sıcaklık değerlerinde çalışılmıştır. Yaklaşık 1 g MYDD tartılmıştır. ASN, MYDD ve kullanılacak pipet uçları belirtilen sıcaklıklarda yaklaşık 20 dk bekletilmiştir. Tartılan MYDD'nin üzerine 5 ml ASN eklenmiştir. Etüvden veya buzdolabından çıkarılan örnekler belirtilen sıcaklık değerlerini muhafaza edebilmek ve solventin uçuculuğunu minimize etmek için deney tüpü tıpası takılıp hızlı bir şekilde 2 dk vortekslenmiş ve sonrasında 3000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiştir. Polar faz alınmış, 0.45 µm PTFE filtre ile süzölmüş, 0.5 ml viallere alınmış ve HPLC'de analizlenmiştir.

3.3. İstatistiksel Analizler

Tüm analizler en az iki tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. İstatistiksel analizde 'SPSS 21.0 for Windows' paket programı kullanılmıştır. Sonuçlar arasındaki farkların önem düzeyi One-Way ANOVA testi ve Duncan çoklu karşılaştırma testiyle belirlenmiştir. Farklı grupların istatistiksel olarak önem düzeyleri a, b, c...

şeklinde sınıflandırılarak gösterilmiştir. Bu harfler Duncan testinde oluşan grup sayısına göre, en düşük değerden en yüksek değere doğru belirlenmiştir. Eğer herhangi bir sonuç aynı anda iki grupta yer almışsa, bu sonuç “ab” “bc” gibi bir indisle belirtilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Mısırözü Yağı Deodorizer Distilatının Bileşimsel Özellikleri

Kimyasal rafinasyon uygulanan mısırözü yağının deodorizasyon aşamasından alınan distilat örneğinin bileşimsel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çizelge 4.1’de bileşimsel özelliklerinden; serbest yağ asiti, sabunlaşma sayısı, peroksit sayısı, iyot sayısı ve fiziksel görünüm değerleri gösterilmiştir. Şekil 4.1’de de mısırözü yağı deodorizer distilatının fiziksel görünümü verilmiştir. MYDD koyu kahve renginde ve normal şartlarda yarı vizkoz bir yapıya sahiptir.

Çizelge 4.1. Mısırözü yağı deodorizer distilatının bileşimsel özellikleri

Parametreler	MYDD*
Serbest Asitlik (%)	51.90 ± 1.7
Sabunlaşma Sayısı (mg KOH/g yağ)	52.00 ± 7.5
Peroksit Sayısı (MeO_2 / kg yağ)	7.23 ± 1.9
İyot Sayısı	64.80 ± 0.9
Fiziksel Görünüm	Koyu kahve/ yarı viskoz

*Mısırözü yağı deodorizer distilatı



Şekil 4.1. Mısırözü yağı deodorizer distilatının fiziksel görünümü

Çizelge 4.2. Farklı Deodorizer distilatlarının serbest yağ asitlik oranları [16]

Deodorizer Distilatları	Serbest Yağ Asitliği (%)	
	Kimyasal Rafinasyon	Fiziksel Rafinasyon
Mısırözü yağı	51.9	73.8
Ayçiçek yağı	9.2	77-81
Kolza yağı	39-42	70.8

Çizelge 4.2’de farklı deodorizer distilatlarının serbest yağ asitlik oranları verilmiştir. Kimyasal rafinasyonla elde edilen deodorizer distilatlarında serbest yağ asiti oranları fiziksel rafinasyon sonucu elde edilen deodorizer distilatlarından daha az olduğu bildirilmiştir [27]. Mevcut çalışmada kullanılan MYDD, kimyasal rafinasyon sonucu elde edilmiş olup serbest asitliği yaklaşık %51 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3’de farklı deodorizer distilatlarının bileşimsel özellikleri verilmiştir. Çizelgeye göre, MYDD’nin sabunlaşma sayısının diğer deodorizer distilatlarına göre daha düşük olduğu belirlenmiş ve bu da MYDD’nin düşük trigliserid içeriğine sahip olması ile ilişkilendirilmiştir [84]. Peroksit sayısı, yağlarda aktif oksijenin bir ölçüsü olarak bilinmektedir ve bu sayının tüm deodorizer distilatlarında yaklaşık olarak aynı olduğu görülmektedir. MYDD’nin iyot sayısı ise diğer deodorizer distilatlarına göre oldukça düşük olduğu belirlenmiştir. İyot sayısı, yağlarda doymamışlığın bir ölçüsü olduğundan dolayı MYDD’nin doymamış yağ asiti içeriği diğer distilatlardan daha düşük olması ile ilişkilendirilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı deodorizer distilatlarının bileşimsel özellikleri [84]

Parametreler	Kanola yağı DD*	Ayçiçek yağı DD*	Mısırözü yağı DD*
Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g yağ)	175.61±0.53	140.19±0.09	52.00 ± 7.5
Peroksit sayısı (MeO ₂ / kg yağ)	6.97±0.11	7.08±0.06	7.23 ± 1.9
İyot sayısı	107.55±0.14	127±0.04	64.80 ± 0.9

*Deodorizer distilatı

4.2. Yağ Asiti Bileşimi

Çizelge 4.2’de MYDD’nin yağ asiti bileşimi verilmiştir. MYDD’de toplam 10 çeşit yağ asiti tespit edilmiştir. Bu verilere göre MYDD’de en yüksek oranda bulunan yağ asitinin linoleik asit (C18:2, %49) olduğu belirlenmiştir. Tekli doymamış yağ asiti olan oleik asit (C18:1) ise yaklaşık %28 olarak bulunmuştur. Doymuş yağ asiti olan palmitik asit (C16:0) yaklaşık %17, stearik asit (C18:0) ise %2 civarında bulunmuştur. %1’in altında olan yağ asitleri ise sırasıyla linolenik asit (C18:3), palmitoleik asit (C16:1), araşidik asit (C20:0), gadoleik asit (C20:1), heptadekanoik asit (C17:0) ve miristik asit (C14:0)’dir.

Bu çalışmada kullanılan MYDD’nin yağ asidi bileşiminin, mısırözü yağının yağ asidi bileşimine benzer olduğu görülmüştür. Aksoy [4], kimyasal rafinasyonun mısır yağının bazı element içerikleri ile bazı kalite özelliklerine etkilerini araştırdığı çalışmada, mısırözü yağının yağ asiti bileşiminde yüksek oranlarda linoleik asit (%54) ve oleik asit (%30) bulunduğunu bildirmiştir.

Çizelge 4.4. MYDD’nin % yağ asiti bileşimi

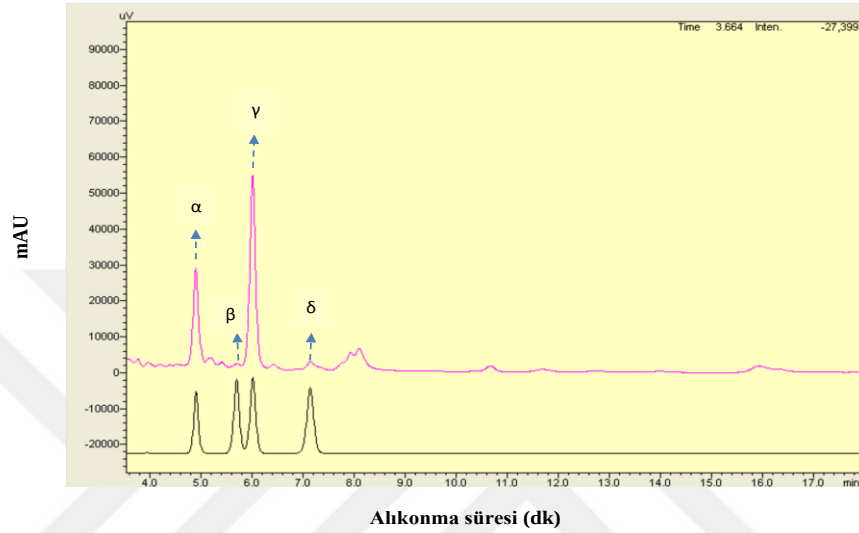
Yağ Asiti		% oran
Miristik asit	(C14:0)	0.11 ± 0.06
Palmitik asit	(C16:0)	17.72 ± 0.01
Palmitoleik asit	(C16:1)	0.49 ± 0.12
Heptadekanoik asit	(C17:0)	0.12 ± 0.06
Stearik asit	(C18:0)	2.00 ± 0.03
Oleik asit	(C18:1)	28.60 ± 0.04
Linoleik asit	(C18:2)	49.41 ± 0.30
Linolenik asit	(C18:3)	0.90 ± 0.02
Araşidik asit	(C20:0)	0.41 ± 0.11
Gadoleik asit	(C20:1)	0.26 ± 0.01

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar iki tekrerrür ortalamasıdır (n=2)

4.3. Tokoferol Analizleri

Başlangıç materyali olan MYDD ters faz HPLC'nin mobil fazlarında çözünmediği için tokoferol analizde normal faz HPLC kullanılmıştır.

MYDD örneklerinde normal faz HPLC ile yapılan analizlerde tokoferol standartları ve örneklere ait kromatogram Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



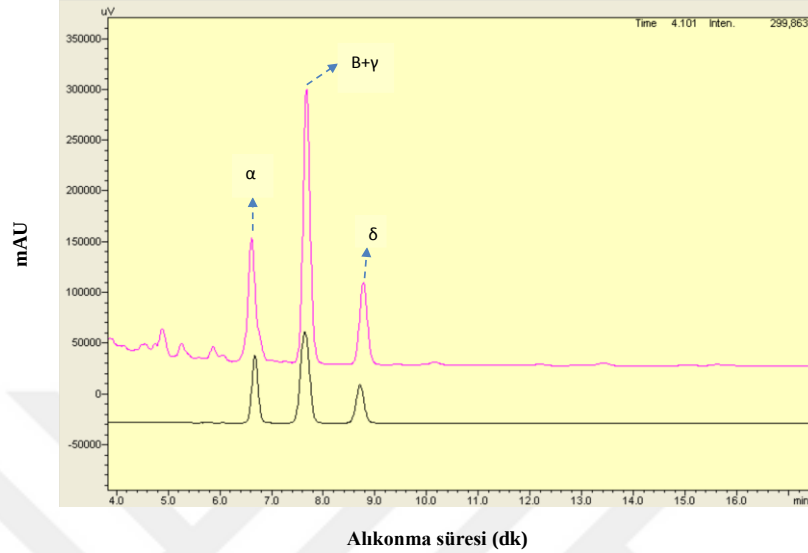
Şekil 4.2. Mısırozü yağı deodorizer distilatının (üstte) ve tokoferol standartlarının (altta) normal faz HPLC ile elde edilen kromatogramları

Yapılan analizler sonucunda MYDD'de en fazla γ -tokoferolün (13.50 ± 0.75 mg/g) bulunduğu, α -tokoferolün (9.50 ± 0.77 mg/g) düşük miktarda, β -(0.29 ± 0.04 mg/g) ve δ -tokoferollerin (0.86 ± 0.02 mg/g) ise iz miktarda olduğu belirlenmiştir. Bu yüzden δ izomeri sonuçlarda verilmemiştir. MYDD'nin yüksek oranda γ -tokoferol içerdiği, diğer tokoferol vitamerleri için de araştırmacıların bu tez kapsamında elde edilen sonuçlara benzer sonuçlar bildirdiği görülmüştür [7, 16, 62, 65].

MYDD'den elde edilen ekstraktlar metanolde çözünebilir özellikte oldukları için ters faz kromatografisiyle analizleri gerçekleştirilmiştir. Ters faz HPLC kullanılarak yapılan tokoferol analizlerinde, standartlar ve MYDD ekstraktları için elde edilen örnek kromatogramlar Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

β ve γ -tokoferollerin ayrımı sadece normal faz HPLC ile yapılabilmektedir. Ancak birçok bitkisel yağda olduğu gibi mısırozü yağı ve MYDD'de de β -tokoferol

önemli düzeyde bulunmadığı için, bu ayrımın gerçekleşmiyor olması önemli bir problem olarak görülmemiştir [7, 65].



Şekil 4.3. Mısırözü yağı deodorizer distilatının (üstte) ve tokoferol standartlarının (altta) ters faz HPLC ile elde edilen kromatogramları

4.4. Farklı Parametrelerin Tokoferol Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Verimine Etkisi

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile MYDD'den tokoferollerin ekstraksiyonunda; solvent/MYDD oranı, ko-solvent varlığı, hekzanla seyreltme, ekstraksiyon süresi, kademe sayısı ve sıcaklık parametrelerinin tokoferollerin kazanımının üzerine etkisi incelenmiştir.

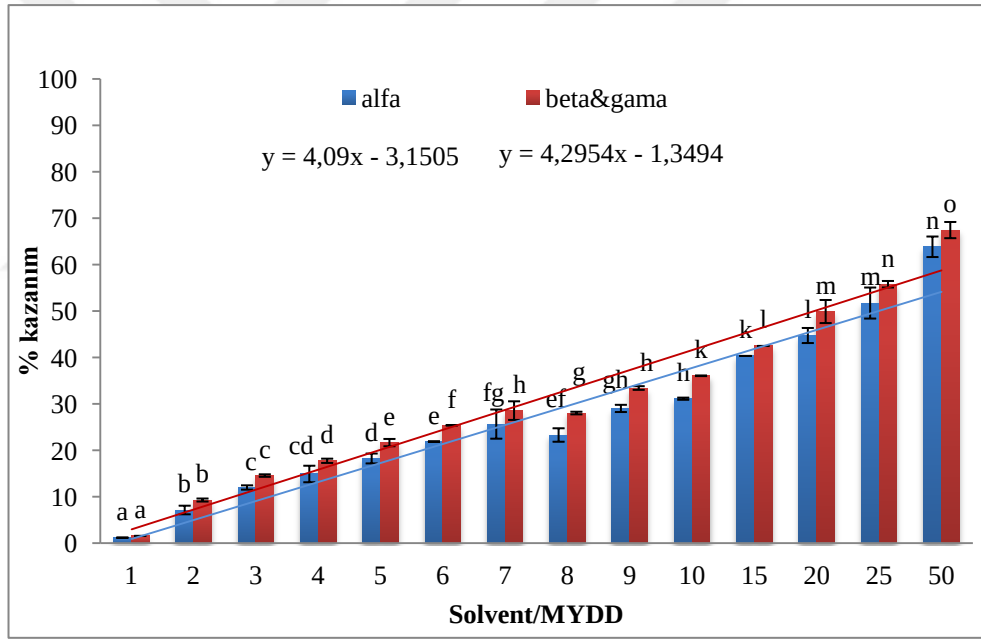
4.4.1. Solvent tipi ve solvent/mydd oranının tokoferol kazanımına etkisi

Deodorizer distilatında mevcut olan tokoferolleri çözen ancak MYDD'yi çözemeyen polar bir solvent ile temas ettirilerek tokoferollerin geri kazanıldığı bilinmektedir [66]. Materyal ve yöntem kısmında değinilen ön denemeler ışığında MYDD ile hiçbir oranda karışmayan asetonitril, ekstraksiyon solventi olarak belirlenmiştir.

Tokoferollerin kroman halkalarındaki hidroksil grupları nedeniyle kısmi polar solventlerle daha iyi ekstrakte edildiği bilinmektedir [67, 68]. Pirinç kepeği yağı

deodorizer distilatından (yarı katı) tokolleri ekstrakte edildiği bir çalışmada [56], 9 farklı solvent (ASN, aseton, kloroform, dietil eter, EtOH, etil asetat, hekzan, metanol, metil etil keton) kullanılmıştır. Bu solventler içerisinde tokolleri ekstrakte etmede en etkin solventin ASN (%85 kazanımla) olduğu bildirilmiştir.

MYDD'den tokoferollerin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile geri kazanımında solvent/MYDD oranının etkisi Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi artan solvent oranına bağlı olarak α -tokoferol kazanımının arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Elde edilen sonuçlara göre, en düşük α - tokoferol kazanımının (%1.2) solvent/MYDD oranının 1.0 olduğu durumda gerçekleştiği, en yüksek kazanımın (%63.9) ise bu oranın 50 olduğu durumda gerçekleştiği belirlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda artan solvent/MYDD oranına bağlı olarak α -tokoferol kazanımında lineer bir ($R^2=0.94$) artış olduğu saptanmıştır ($P<0.05$).



Şekil 4.4. Solvent/MYDD oranının tokoferol kazanımın oranları

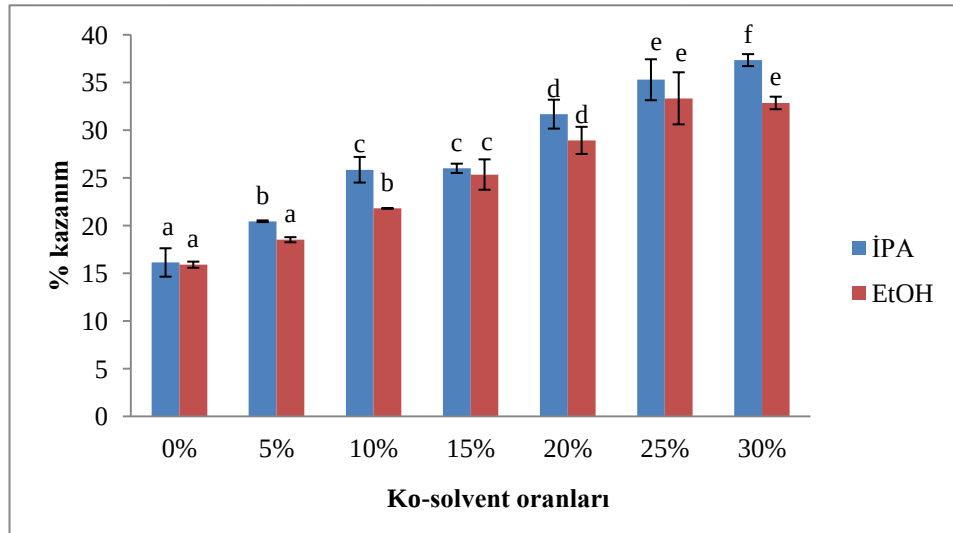
Solvent/MYDD oranının $\beta+\gamma$ -tokoferol kazanımına etkisinde de α -tokoferol kazanımına benzer sonuçlar elde edilmiş olup, en düşük α -tokoferol kazanımının (%1.6) solvent/MYDD oranının 1.0 olduğu durumda gerçekleştiği, en yüksek kazanımın (%67.5) ise bu oranın 50 olduğu durumda gerçekleştiği belirlenmiştir. Artan solvent/MYDD oranına bağlı olarak $\beta+\gamma$ -tokoferol kazanımının lineer ($R^2=0.96$) şekilde arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Deodorizer distilatından fitosterollerin geri kazanımının araştırıldığı bazı çalışmalarda [38, 69] “solvent/deodorizer distilatı” oranının fitosterollerin geri kazanımını önemli düzeyde etkilediği belirlenmiştir. Pirinç kepeği yağından tokoferolün ve γ -oryzanolün İPA ve hekzan ile ekstrakte edildiği diğer bir çalışmada [70], solvent/kepek oranı arttıkça tokoferollerin ve γ -oryzanolün kazanımının arttığı bildirilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında ise solvent miktarı arttıkça tokoferol kazanım oranlarının artması, tokoferollerin artan solvent oranına bağlı olarak ASN içerisinde daha fazla çözünüp MYDD’den ayrılmasıyla ilişkilendirilmiştir.

4.4.2. Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisi

Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisinin araştırıldığı çalışmada, ASN içerisinde ko-solvent oranının %30’dan fazla bulunması durumunda, solvent karışımının MYDD’yi çözmesinden dolayı sıvı-sıvı ekstraksiyonu gerçekleştirilememiştir ve bunda ötürü %30’un altındaki oranlar kullanılmıştır.

ASN’nin tek başına veya ko-solvent olarak farklı oranlarda EtOH ve İPA içeren karışımlarının solvent olarak kullanılması durumunda ölçülen α -tokoferol kazanım oranları Şekil 4.5’te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Ko-solvent olarak İPA ve EtOH kullanılması durumunda elde edilen α -tokoferol kazanım oranları

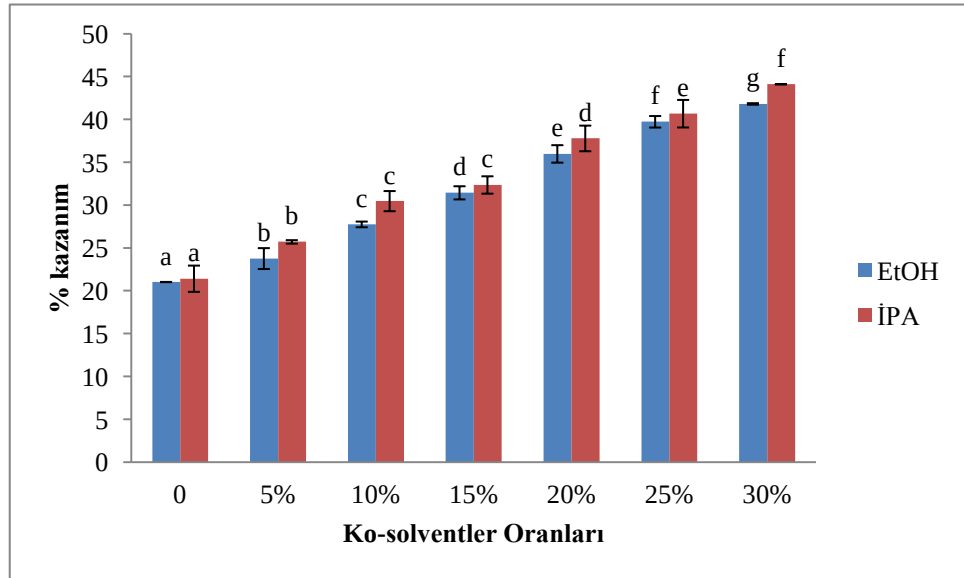
Ko-solvent olarak EtOH kullanımının α -tokoferol kazanımına etkisinin araştırıldığı çalışmanın sonuçlarına göre, %5 EtOH (%18.50) kullanımının saf

ASN'ye (%15.89) kıyasla α -tokoferol kazanımında istatistiksel olarak önemli bir değişime yol açmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Ancak, artan ko-solvent oranına bağlı olarak α -tokoferol kazanımının kademeli olarak arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). En yüksek α -tokoferol kazanımı %25 (%33.32) ve %30 (%32.84) oranında ko-solvent kullanılan örneklerde gözlemlenmiş, fakat bu iki örnek arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Ko-solvent olarak İPA kullanımının α -tokoferol kazanımına etkisinde de artan ko-solvent oranına bağlı olarak kazanımda kademeli bir artış olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ancak, ko-solvent olarak %10 (%24.89) ve %15 (%26.34) İPA içeren solvent karışımı kullanılarak elde edilen örneklerin tokoferol miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

α -tokoferol kazanımında ko-solvent olarak İPA'nın tüm oranlarının EtOH'a göre daha etkin olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

ASN'nin tek başına veya ko-solvent olarak farklı oranlarda EtOH ve İPA içeren karışımlarının solvent olarak kullanılması durumunda ölçülen β + γ -tokoferol kazanım oranları Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Ko-solvent olarak İPA ve EtOH kullanılması durumunda elde edilen β + γ -tokoferol kazanım oranları

Ko-solvent olarak EtOH'un kullanılması durumunda artan ko-solvent oranına bağılı olarak β + γ -tokoferol kazanımının kademeli olarak arttığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Ko-solvent olarak İPA'nın kullanılması durumunda da aynı etki gözlemlenmiştir. Fakat, ko-solvent olarak %10 (%30.5) ve %15 (%32.4) İPA içeren solvent karışımı kullanılarak elde edilen örneklerin tokoferol oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

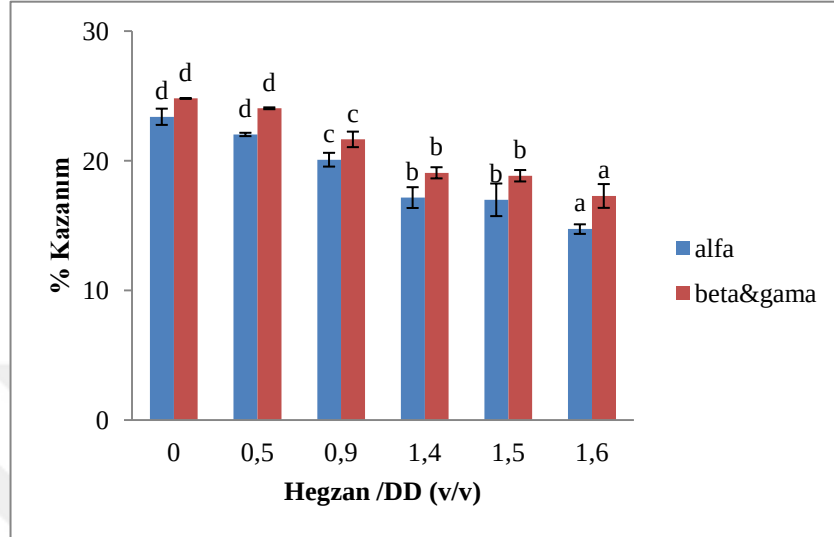
β + γ -tokoferol kazanımında ko-solvent kullanımının etkisinin incelendiği çalışmada, ko-solvent olarak İPA ve EtOH'un tüm oranları kıyaslandığında İPA'nın daha etkin olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Bu durumun, İPA'nın polaritesinin EtOH'a göre daha düşük olmasından dolayı, lipofilik karaktere sahip olan tokoferollerin İPA ile daha iyi ekstrakte edilebilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. İlaveten kısa zincirli alkoller, özellikle EtOH ve İPA alternatif ekstraksiyon çözücülerini olarak önerilmiştir [71]

Deodorizer distilatlarından fitosterollerin geri kazanımının yapıldığı çalışmalarda, kosolvent miktarı arttıkça fitosterollerin geri kazanımının arttığı gözlemlenmiştir [38, 69]. Soya yağı deodorizer distilatından fitosterollerin geri kazanımının optimizasyonunun yapıldığı çalışmada [38], ana solventlere (Petrol eteri, metanol, etil asetat) artan oranlarda ko-solvent olarak su eklenmesiyle fitosterollerin kazanımının arttığı gözlemlenmiştir. Bu solventler içerisinde en yüksek fitosterol kazanımı petrol eteri ile sağlanmış olup, en düşük kazanımı %3.35 (0 v/v) ve en yüksek kazanımı %6.55 (0.16 v/v) olarak belirlenmiştir. Kolza tohumu deodorizer distilatından süperkritik karbondioksit ile tokoferollerin konsantre edildiği başka bir çalışmada [64], metanol, etanol ve etanol karışımları ko-solvent olarak kullanılmış ve en yüksek tokoferol kazanımı ko-solvent olarak %4'lük etanolün (%9.8) kullanılmasıyla sağlanmıştır. Bu tez çalışması kapsamında, ana solvente farklı oranlarda ko-solvent eklenmesiyle elde edilen solvent karışımlarının polaritesi, ana solvente kıyasla daha düşük olduğundan dolayı MYDD'den daha fazla tokoferol ekstrakte edildiği düşünülmektedir.

4.4.3. Hekzan ile seyreltmenin tokoferol kazanımına etkisi

Hekzan/DD (v/v) oranının 1.6'dan daha fazla olması durumunda ASN ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılamamakta ve çözünme gerçekleşerek üçlü bir karışım

oluşmaktadır. Bu sebepten dolayı, hekzan ile seyreltmenin sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile tokoferol kazanımına etkisinin araştırıldığı çalışmalarda 1.6'dan daha düşük oranlar kullanılmıştır. MYDD'nin farklı oranlarda hekzan ile seyreltilmesi durumunda ölçülen tokoferol kazanım oranları Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. MYDD'nin hekzan ile seyreltilmesiyle elde edilen tokoferol kazanım oranları

Elde edilen verilere göre, MYDD'nin hekzanla seyreltmesinin α -tokoferol kazanımında saf ASN (%23.4) ve 0.5 oranında (hekzan/DD (v/v)) (%22.02) kullanılan örneğe kıyasla hafif bir artış göstermesine rağmen anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Artan hekzan miktarına bağlı olarak α -tokoferol kazanımının kademeli olarak azaldığı belirlenmiştir. MYDD'nin hekzan ile seyreltilmesinin β + γ -tokoferol kazanımına etkisinin, α -tokoferol'e benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada, mevcut durumda hekzan oranı arttıkça tokoferollerin ASN fazına geçişinin azaldığı görülmüştür. Buna göre, tokoferollerin hekzan fazında daha fazla lokalize oldukları söylenebilir. Fajardo ve ark. [72], lipidlerin hidroalkolik ve hekzan fazları arasındaki denge dağılımında hekzan fazını daha fazla tercih etmiş olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, ayçiçek deodorizer distilatından fitosterollerin geri kazanımında, hekzanla seyreltmenin önemli düzeyde etki etmediği bildirilmiştir [69]. Diğer bir çalışmada ise, deodorizer distilatından α -

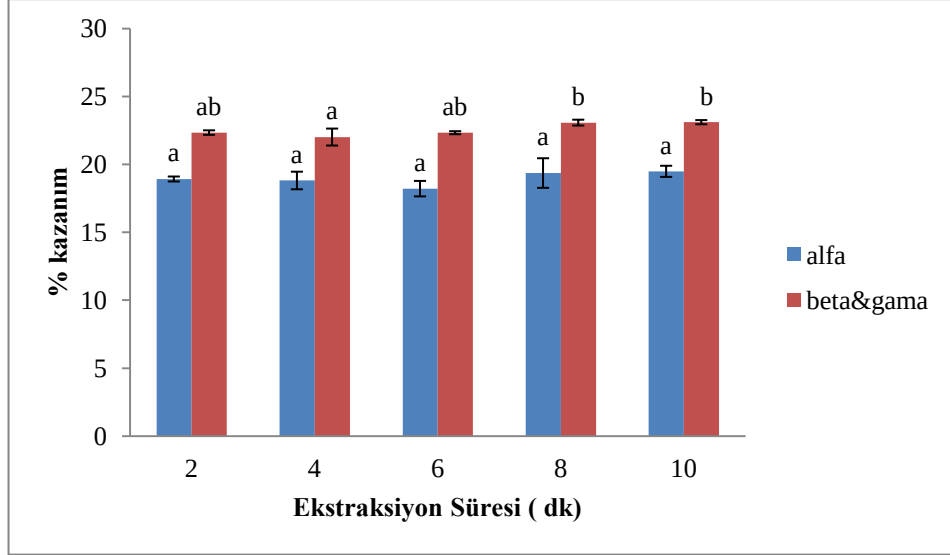
tokoferolkinonları ekstrakte edilmesinde, ASN-hekzan karışımının solvent olarak kullanılması durumunda yüksek bir geri kazanımın sağlanamadığı belirlenmiştir [73]. Bu literatür bilgileri bizim çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir.

4.4.4. Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımına etkisi

MYDD'den tokoferollerin saf ASN ile ekstrakte edildiği çalışmada, farklı ekstraksiyon sürelerinin uygulanması durumunda ölçülen tokoferol kazanım oranları Şekil 4.8'de gösterilmiştir.

Elde edilen veriler ışığında, artan ekstraksiyon süresinin hem α - hem de β + γ - tokoferollerinin kazanımında istatistiksel olarak anlamlı farklara sebep olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Bu durumun, MYDD'nin sıvı yapısından dolayı, solvent ile temas etkinliğinin iyi düzeyde olması ve herhangi bir katı matriks bulunmadığı için artan süreye bağlı olarak gerçekleşecek bir difüzyon olayının olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim sıvı-sıvı ekstraksiyonunda fazlar arasında denge oluştuktan sonra artan ekstraksiyon süresinin önemi kalmamaktadır [63].

Ekstraksiyon parametrelerinin domates atıklarından karotenoidlerin geri kazanımı üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada [75], ekstraksiyon süresi arttıkça karotenoidlerin kazanımının arttığını, bunun sebebinin artan ekstraksiyon süresiyle birlikte yapının bozulması ve solventin yapıya daha kolay nüfuz etmesinden kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Ancak, pirinç kepeğinden tokoferol, tokotrienol ve γ -oryzanolü ekstrakte edildiği çalışmada [67], artan ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımında etkili bir parametre olmadığını ve bu durumun pirinç kepeğinin yeterince ince partikül boyutuna sahip olmasından dolayı fazla homojenizasyona gerek kalmaması ile açıklamıştır. Hu ve ark.[70] tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise pirinç kepeğinden tokoferol ve oryzanolün hekzan ve İPA ile ekstrakte edildiği çalışmada ekstraksiyon süresinin etkili bir parametre olmadığı bildirilmiştir.



Şekil 4.8. Ekstraksiyon süresinin tokoferol kazanımın oranlarına etkisi

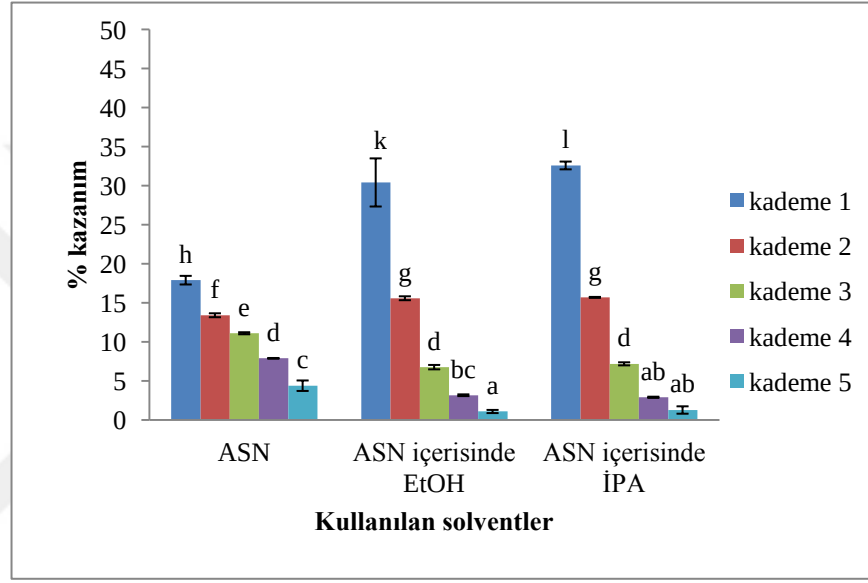
4.4.5. Ekstraksiyon kademe sayısının tokoferol kazanımına etkisi

MYDD'den sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile tokoferollerin ekstrakte edilebilmesi için 3 farklı solventle (ASN, ASN içinde %20'lik İPA ve % 20'lik EtOH) çalışılmış ve ekstraksiyon kademelerinin etkisi ayrı ayrı incelenmiştir. Ekstraksiyon kademe sayısının α -tokoferol kazanımına etkisi Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Elde edilen verilere göre, α -tokoferol kazanımında ekstraksiyon kademe sayısının etkili olduğu gözlemlenmiş olup, kazanımın kademe sayısı arttıkça aşamalı olarak azaldığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Kademe 1'deki α -tokoferol kazanımının diğer 4 kademeye kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiş ($P < 0.05$) ve kademe 1'de kullanılan 3 farklı solvent grubu arasında da anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$). En yüksek α -tokoferol kazanımı ko-solvent İPA (%32.6) ile elde edilirken, en düşük α -tokoferol kazanımı saf ASN ile (%17.9) elde edilmiştir. Kademe 2'de, ikinci yüksek α -tokoferol kazanımı sağlanmıştır. Bu kademede kullanılan 3 farklı solvent grubu arasında istatistiksel olarak farklılar belirlenmiş olup ($P < 0.05$) kademe 1 ile benzer bir trend gözlemlenmiştir. Kademe 3'de saf ASN (%11.1), ko-solvent İPA'ya (%7.2) ve EtOH'a (%6.7) göre daha yüksek α -tokoferol kazanımı sağlarken ($P < 0.05$); ko-solvent İPA ve EtOH arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı

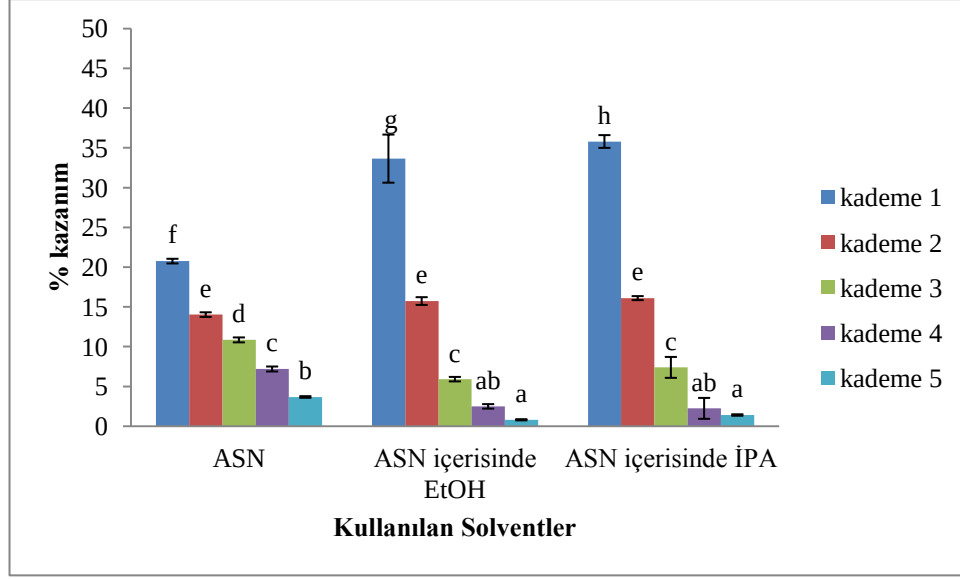
belirlenmiştir. Bunun sebebinin, ko-solvent İPA ve EtOH ilk 2 kademe toplamda sırasıyla %48 ve %46 oranlarında α -tokoferol kazanımı sağlarken, saf ASN %30 oranında bir kazanım sağlamasıdır. Yani, ko-solvent olarak kullanılan İPA ve EtOH, MYDD’de bulunan toplam α -tokoferollerin neredeyse yarısını ilk iki kademe aldıkları belirlenmiştir. Saf ASN ise MYDD’de bulunan toplam α -tokoferollerin az bir kısmını ilk iki kademe elde etmiş olup, kalan kademelerde diğer solvent gruplarına göre daha fazla kazanım sağladığı belirlenmiştir. Kademe 4 ve 5’te α -tokoferol kazanımı kademe 3 ile benzer olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.9. Kademe sayısının α -tokoferol kazanım oranları

Yukarıda incelenmiş olan ekstaksiyon kademe sayısının α -tokoferol kazanımına benzer şekilde β + γ -tokoferol kazanımı Şekil 4.10’da gösterilmiştir.

Elde edilen verilere göre, ekstraksiyon kademe sayısının β + γ -tokoferol kazanımında etkili olduğu gözlemlenmiş olup, kazanımın kademe sayısı arttıkça aşamalı olarak azaldığı gözlemlenmiştir ($P<0.05$).

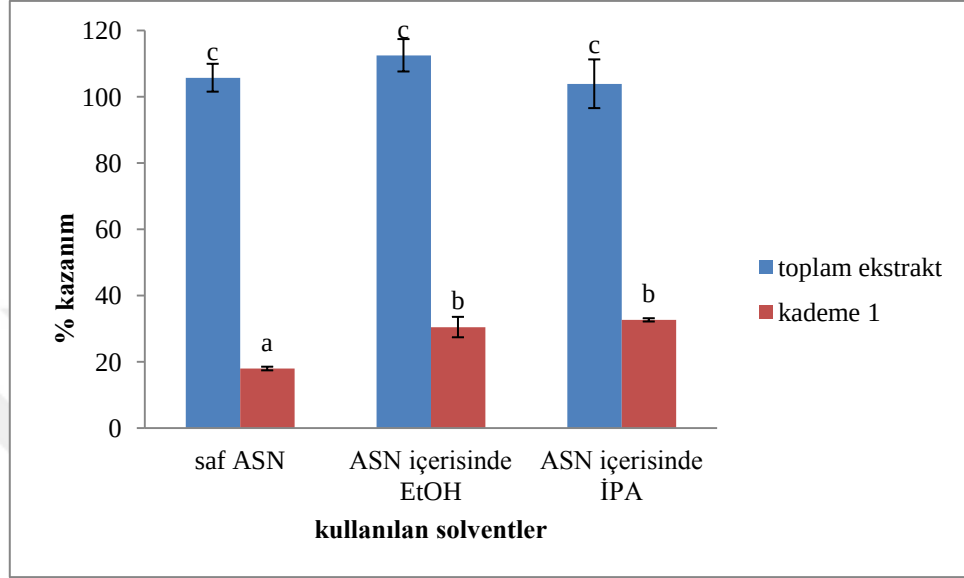


Şekil 4.10. Kademe sayısının β + γ -tokoferol kazanımının oranlarına etkisi

Tüm solvent gruplarının kademe 1’inde β + γ -tokoferol kazanım oranları diğer kademelere göre en yüksek kazanımı sağlamıştır ($P<0.05$). Solvent grupları arasında β + γ -tokoferol kazanımı ise en yüksek ko-solvent İPA’da (%35.8) gözlenirken, en düşük kazanım saf ASN’de (%20.7) gözlemlenmiştir. Kademe 2’de ikinci yüksek β + γ -tokoferol kazanımı sağlanmış ve solvent grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($P>0.05$). Kademe 3’de saf ASN (%10.8), ko-solvent İPA’ya (%7.4) ve EtOH’a (%5.9) göre daha yüksek β + γ -tokoferol kazanımı sağlarken ($P<0.05$); ko-solvent İPA ve EtOH arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Bunun sebebinin, ko-solvent İPA ve EtOH ilk 2 kademedede toplamda sırasıyla %51.9 ve %49.4 β + γ -tokoferol kazanımı sağlarken, saf ASN’nin %34.8 oranında bir kazanım sağlamasıdır. Yani, ko-solvent olarak kullanılan İPA ve EtOH, MYDD’de bulunan toplam β + γ -tokoferollerin neredeyse yarısını ilk iki kademedede aldığı belirlenmiştir. Saf ASN ise MYDD’de bulunan toplam β + γ -tokoferollerin az bir kısmını ilk iki kademedede elde etmiş olup, kalan kademelerde diğer solvent gruplarına göre daha fazla kazanım sağladığı belirlenmiştir. Kademe 4 ve 5’te β + γ -tokoferol kazanımı kademe 3 ile benzer olduğu gözlemlenmiştir.

Tüm solvent gruplarının (ASN, ASN içinde %20’lik İPA ve % 20’lik EtOH) 5 ayrı ekstraksiyon kademesinden elde edilen ekstraktların birleştirilmesi ile elde edilen toplam ekstraktta α -tokoferolün kazanım oranları Şekil 4.11’de gösterilmektedir.

Çoğu solvent gruplarının toplam ekstraktlarında elde edilen tokoferol kazanım oranları %100'ü geçmektedir. Bunun sebebinin, MYDD'de bulunan toplam tokoferollerin normal faz hplc ile ölçülmesi, ekstraktlarda bulunan tokoferollerin ise ters faz hplc ile ölçülmesinden kaynaklı kalibrasyon farkından olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.11. Toplam ekstrakta ve kademe 1'de elde edilen ekstrakta α -tokoferol kazanım oranları

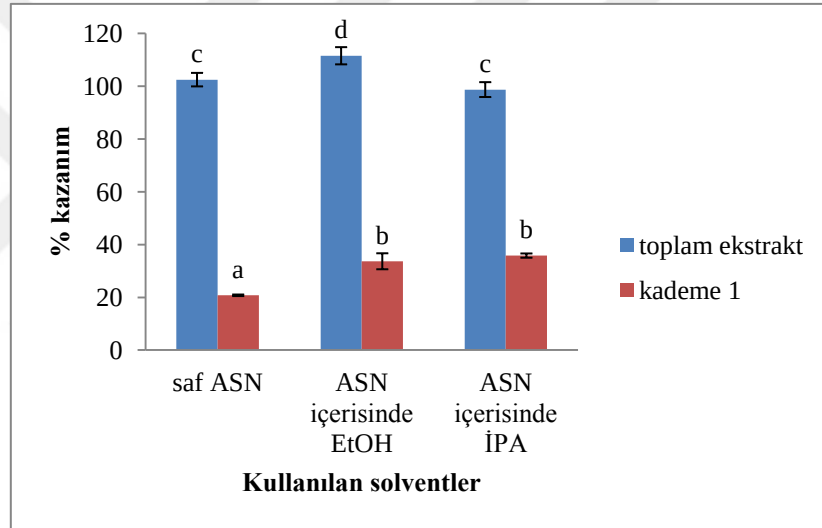
Toplam ekstraktın α -tokoferol kazanımında kullanılan solvent grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($P>0.05$). Kademeler arasında en yüksek kazanımın sağlandığı kademe 1'in α -tokoferol kazanımlarının toplam ekstrakttaki α -tokoferol kazanımlarıyla kıyaslandığında, ASN kullanımı ile elde edilen kazanımın yaklaşık %17'si kadar, ko-solvent olarak EtOH kullanımı ile elde edilen kazanımın yaklaşık %27'si kadar, ko-solvent olarak İPA kullanımında ise elde edilen kazanımın yaklaşık %21'i kadardır.

Elde edilen ekstraktların birleştirilmesi ile elde edilen toplam ekstrakta β + γ -tokoferolün kazanım oranları Şekil 4.12'de gösterilmektedir.

Toplam ekstraktın β + γ -tokoferol kazanımında ko-solvent olarak EtOH kullanılması durumunda daha yüksek bir kazanım sağlanırken ($P<0.05$), ASN ve ko-solvent İPA arasında istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir ($P>0.05$). Kademeler arasında en yüksek kazanımın sağlandığı kademe 1'in tokoferol kazanımları toplam

ekstrakttaki β + γ -tokoferolün kazanım oranlarıyla kıyaslandığında, ASN'nin kullanımı ile elde edilen kazanımın yaklaşık %20'si kadar, ko-solvent olarak EtOH kullanımı ile elde edilen kazanımın yaklaşık %30'u kadar, ko-solvent olarak İPA kullanımında ise elde edilen kazanımın yaklaşık %36'sı kadardır.

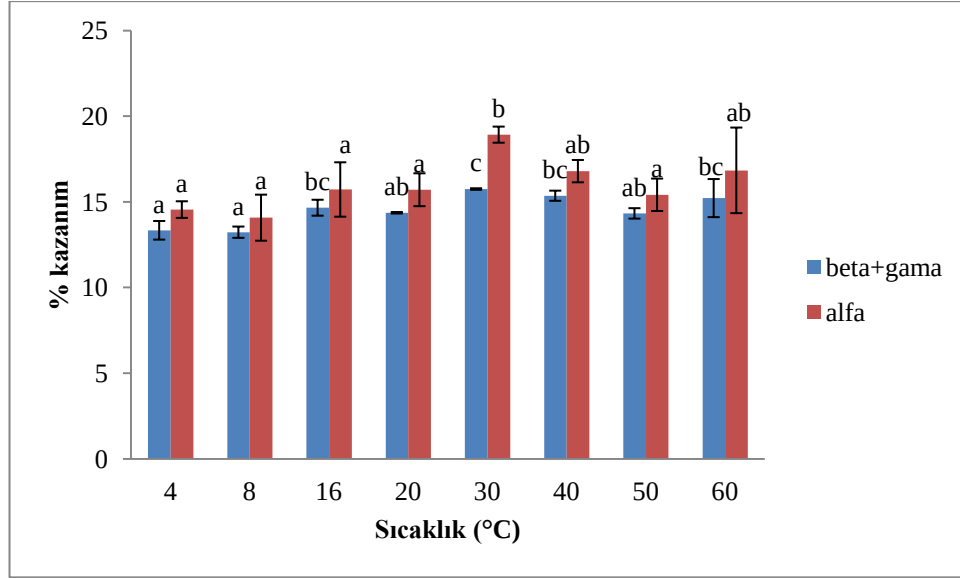
Buğday tohumu yağını basınçlı solvent ile ekstrakte edildiği çalışmada [74], tek kademede yağın geri kazanımının yetersiz olduğu belirlenmiştir.. Ekstraksiyon parametrelerinin domates atıklarından karotenoidlerin geri kazanımı üzerine etkisinin incelendiği çalışmada [75] ve soya yağı deodorizer distilatından tokoferoller molekül distilasyon ile ekstrakte edildiği çalışmada [42] kademe sayısının etkili bir parametre olduğu bildirilmiştir. Elde edilen veriler literatür bilgileri ile uyumlu bulunmuştur.



Şekil 4.12. Toplam ekstrakta ve kademe 1’de elde edilen ekstrakta β + γ -tokoferolün kazanım oranları

4.4.6. Sıcaklığın tokoferol kazanımı üzerine etkisi

MYDD’den tokoferollerin ekstrakte edildiği çalışmada farklı sıcaklıklarda işlem görmesi durumunda ölçülen tokoferollerin kazanım oranları Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Sıcaklığın tokoferollerin kazanım oranlarına etkisi

Elde edilen verilere göre, hem α - hem de β + γ -tokoferollerinin en yüksek kazanımı 30 °C’de elde edilmiş ($P<0.05$) ancak bir trend gözlemlenmemiştir ($P>0.05$).

Strati ve Oreopoulou [75], ekstraksiyon parametrelerinin domates atıklarından karotenoidlerin geri kazanımına etkisinin incelendiği çalışmada, artan sıcaklık ile karotenoidleri daha yüksek kazanımla elde edildiği bildirmiştir. Bunun sebebinin, hüresel yapının tahrip edilmesi ve böylece domates matriksinden salınan daha yüksek karotenoid içeriği ile ilişkilendirilmiştir. Yüksek sıcaklıklarda hafif bir artışın gözlenmesinin nedeni viskozitenin azalması ve solventin yapıya daha kolay nüfuz etmesinden kaynaklı olduğunu [76] ve böylece tokoferollerin çözünürlüğünü arttırdığı bildirilmiştir [70, 77]. Mevcut çalışmada ise kullanılan MYDD’de herhangi bir katı matriks bulunmadığından ve normal koşullarda viskozitesi düşük olduğundan dolayı tokoferollerin ekstraksiyonu yüksek verimle elde edilmiştir. Bu yüzden sıcaklık uygulaması tokoferollerin ekstraksiyonunu arttıran bir parametre olmadığı gözlemlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mısırözü yağı ülkemizde en çok üretilen yemeklik yağlardan biridir. Bu yağların rafinasyonu esnasında pek çok yan ürün elde edilmektedir. Elde edilen yan ürünlerden biri de deodorizer distilatlarıdır. Bu ürünü değerli yapan en önemli nokta içerdiği tokoferollerin varlığı ve miktarıdır. Çünkü, tokoferoller deodorizer distilatının fiyatını belirlemektedir. Tokoferollerin içeriği verimin ve üretim maliyetinin izlenmesinde de önemlidir. Bu bakımdan, çalışmamızda mısırözü yağı deodorizer distilatından tokoferol vitamerlerini yüksek saflıkta elde edebilmek için sıvı-sıvı ekstraksiyon tekniğinin kullanım olanakları araştırılmıştır.

MYDD'den tokoferollerin izolasyonunda daha etkin bir sıvı-sıvı ekstraksiyonu için; solvent/MYDD oranı, ko-solvent varlığı, hekzanla seyreltme, ekstraksiyon süresi, kademe sayısı ve sıcaklık parametrelerin optimizasyonu sağlanmıştır.

Bu tez kapsamında aşağıda belirtilen genel sonuçlar çıkarılmıştır.

- Solvent/MYDD oranı arttıkça tokoferol izomerlerinin ekstraksiyonunun arttığı belirlenmiştir.
- Ko-solvent varlığının tokoferol kazanımına etkisini saptamak için; ko-solvent olarak EtOH ve İPA kullanılmıştır. ASN içerisinde ko-solvent miktarı arttıkça tokoferol kazanımı artmıştır. Kullanılan tüm oranlarda İPA, EtOH'a göre daha yüksek sonuçlar vermiştir.
- Hekzanla seyreltmede, artan hekzan miktarına bağlı olarak tokoferol kazanımında azalma olduğu belirlenmiştir.
- Kademe sayısının tokoferol kazanımına etkisinde, 3 farklı solvent grubu ile çalışılmıştır (ASN, ASN içerisinde %20'lik EtOH ve %20'lik İPA). Kademelerin etkisinin ayrı ayrı incelendiği çalışmada, kademeler arasında en yüksek tokoferol kazanımı ilk kademede, solvent grupları içerisinde ise ko-solvent İPA ile sağlanmıştır. Tokoferollerin kazanımı her kademede aşamalı olarak azaldığı tespit edilmiştir. İlk kademede elde edilen tokoferollerin kazanımları, tüm kademelerden elde edilen ekstraktların birleştirilmesi ile elde edilen toplam ekstraktın tokoferollerinin kazanımının ortalama %25'i kadar olduğu belirlenmiştir.

- Sıcaklığın tokoferol kazanımına etkisinde, her iki tokoferol izomeri için 30°C'de yüksek kazanım sağlansada tokoferol kazanımında anlamlı bir artış ya da azalış olmadığından etkili bir parametre olmadığı belirlenmiştir.
- Artan ekstraksiyon süresine rağmen tokoferol kazanımında belirli bir trend gözlemlenmemiştir.

İnsan nüfusunun artması ve dolayısıyla bitkisel yağların tüketiminin artmasıyla birlikte, bitkisel yağların rafinasyonunun sonucu elde edilen rafinasyon yan ürünlerinin artışına neden olmaktadır. Bunların olumsuz çevresel etkilerini azaltmak, ilaveten bu yan ürünlerin değer kazanmaları için üzerinde çalışılması ve araştırılması gereken bir konudur. Yağın rafinasyonu sürecinde elde edilen atıkları değerli bir materyale dönüştürmek için ekonomik olarak uygulanabilir tanımlama ve ayırma tekniklerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Yağ sanayiinin değerli bir yan ürünü olan deodorizer distilatları, yüksek oranlarda birçok biyoaktif bileşeni içermektedir. Deodorizer distilatlardaki her bir biyoaktif bileşenin geri kazanımları sağlanarak deodorizer distilatlarının değerleri artırılabilir.

Biyoaktif bileşenlerin geri kazanımlarının sağlanması için çeşitli metotlar geliştirilebilir ya da mevcut metotlar optimize edilerek daha yüksek saflıkta biyoaktif bileşenlerin geri kazanımları sağlanabilir.

Deodorizer distilatlarındaki en değerli biyoaktif bileşen olan tokoferollerin kazanımı ile laboratuvarlarda standart madde olarak, gıda, ilaç ve kozmetik sanayiinde kullanılabilir.

Tokoferollerin ekstraksiyonu ile ilgili pek çok yöntem vardır. Ancak bu yöntemler maliyet açısından oldukça yüksektir. Solvent ekstraksiyonu bu açıdan bir imkan sağlamaktadır. Bundan dolayı, solvent ekstraksiyonu ile tokoferollerin kazanımı için farklı solventler denenebilir. Bu yöntem için önemli olan parametreler optimize edilerek geliştirilmeye değer bir ekstraksiyon yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- [1] N. İzli ve E. Işık, *Türkiye de mısır üretimi ve mısır üretiminde kullanılan mekanizasyon uygulamaları*, Tarımsal Mekanizasyon 23. Ulusal Kongresi, Çanakkale, 2006.
- [2] A. Uçak, S. Aykanat, A. Akyol, *Bazı iklim parametrelerinin çukurova'da yetiştirilen mısır bitkisi veri ve kalitesine etkileri*, **Zirrat Fakültesi Dergisi**, 1 (2010) 9-19.
- [3] F.W. Quackenbush, J. G. Firch, W. J. Rabourn, M. McQuistan, W. N. Petzold, T. E. Kargl, *Composition of corn, analysis of carotenoids in corn grain*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 9:2 (1961) 132-135.
- [4] Semra Aksoy. *Kimyasal rafinasyonun mısır yağının bazı element içerikleri ile bazı kalite özelliklerine etkileri*, Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi Türkiye, 2015.
- [5] M. Tosun, *Bitkisel Sıvı Yağlar Sektör Araştırması*, Türkiye Kalkınma Bankası A.Ş., Ankara, 2003.
- [6] A. Öz, H. Kapar, (2007). *Mısırın yağ içeriği ve yağ sanayi açısından önemi*. 1. *Ulusal Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Biyodizel Sempozyumu*, 2007, 28-31.
- [7] T. Verleyen, R. Verhe, L. E. A. Garcia, *Gas Chromatographic Characterization of Vegetable Oil Deodorization Distillate*, **Journal of Chromatography A**, 921:22 (2001) 277-285.
- [8] Funda Filiz. *Genotoxic and antigenotoxic effects of retinol and alfa tokoferol*, Yüksek Lisans, Gazi Üniversitesi Türkiye, 2011.
- [9] J. C. Evans, D. R. Kodali, P. B. Addis, *Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 79:1 (2002) 47-51.
- [10] W. W. Zhou, D. H. Qin, J. Q. Qian, *Optimisation of enzymatic pretreatment of soybean oil deodoriser distillate for concentration of tocopherols*. **International Journal of Food Science & Technology**, 44:7 (2009) 1429-1437.
- [11] S. Naz, S. T. H. Sherazi, F. N. Talpur, *Changes of total tocopherol and tocopherol species during sunflower oil processing*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 88:1 (2011) 127-132.
- [12] M. J.Dumont, S. S. Narine, *Soapstock and deodorizer distillates from North American vegetable oils: Review on their characterization, extraction and utilization*. **Food Research International**, 40:8 (2007) 957-974.
- [13] Cansu Candemir. *Deodorizer destilattan Squalenin Süperktik CO₂ Ortamında Zenginleştirilmesi*, Yüksek Lisans, Yıldız Teknik Üniversitesi Türkiye, 2009.

- [14] Şeref Tepe. *Marmara bölgesi rafine ayçiçek yağlarında tokoferol miktar ve kompozisyonlarının tespiti üzerine bir araştırma*. Yüksek lisans tezi, Trakya Üniversitesi Türkiye, 1998.
- [15] M. Kayahan, *Yağ Kimyası*, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve iletişim A.Ş yayınları, 2003, p. 123.
- [16] S. T. H. Sherazi, S. A. Mahesar, *Vegetable Oil Deodorizer Distillate: A Rich Source of the Natural Bioactive Components*. **Journal of Oleo Science**, 65:12 (2016) 957-966.
- [17] D. Moustafa, *Production of top quality soybean oil*, **Grasas y Aceites**, 46:6 (1995) 376-382.
- [18] A. Gümüşkesen, *Bitkisel Yağ Teknolojisi*, Bitkisel Yağ Sanayicileri Derneği Yayınları, 1999.
- [19] Murat Taşan. *Farklı rafinasyon yöntemlerinin ayçiçek yağı bileşimine ve oksidatif stabilitesi üzerine etkileri*, Doktora tezi, Trakya Üniversitesi Türkiye, 1999.
- [20] A. E. Abdalla, *Antioxidative effect of olive oil deodorizer distillate on frying oil and quality of potato chips*. **Journal of Lipid/Fett** , 101:2 (1999) 57-63.
- [21] F. Yemişoğlu, A. S. Gümüşkesen, *Yağların renk açma işleminde asitle aktifleştirilmiş ağartma toprakları ve sentetik silikanın kullanımı*, **Gıda/The Journal of Food**, 29:1 (2004) 27-32.
- [22] A. Tekin, *Margarinler ve Bitkisel Yağların Kalite Kriterleri*, Dünya Ticaretinde Palm Yağının Yeri ve Önemi, Ankara, 2005.
- [23] Taliha Çalışkan. *Rafinasyon işlemlerinin bitkisel yağlarda izomeri oluşumu ve oksidatif stabilite üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2008.
- [24] M. Kesim, *Gıda Teknolojisi*, Anadolu Üniversitesi Yayınları, 1996.
- [25] W. De Greyt, M. Kellens, *Deodorization*. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. (2005).
- [26] S. Nas, H. Gökalp, M. Ünsal, *Bitkisel Yağ Teknolojisi*, Pamukkale Üniversitesi Müh. Fak. Matbaası, 2001.
- [27] F. Yemişcioğlu, O. Özdikicierler, A. S. Gümüşkesen, Bitkisel yağ rafinasyonunda yeni bir yaklaşım: minimal rafinasyon. **Academic Food Journal/Akademik GIDA**, 14:2 (2016) 172-179.
- [28] A. G. M. Top, *Production and utilization of palm fatty acid distillate (PFAD)*. **Lipid Technology**, 22:1 (2010) 11-13.
- [29] S. Naz, T. Sherazi, F. Talpur, M. Talpur , H. Kara, *Determination of unsaponifiable constituents of deodorizer distillates by gc–ms*, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 89: 6 (2012) 973-977.

- [30] P. Bondioli, C. Mariani, A. Lanzani, E. Fedeli, A. Muller, *Squalene recovery from olive oil deodorizer distillates*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 70:8 (1993) 763-766.
- [31] D. R. Erickson, *Edible fats and oils processing: basic principles and modern practices: World Conference Proceedings*, The American Oil Chemists Society, 1990.
- [32] Gökhan Durmaz, *Kayıt Çekirdeği Yağının Oksidatif Stabilitesi ve Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması*, İnönü Üniversitesi Türkiye, 2008.
- [33] F.J. Ruperez, D. Martín, E. Herrera, C. Barbas, *Chromatographic analysis of α -tocopherol and related compounds in various matrices*. **Journal of Chromatography A**, 935:1-2 (2001) 45-69.
- [34] Aziz Tekin, *İnteresterifikasyon Tepkimelerinin Yağlardaki Tokoferoller ve Steroller Üzerine Etkisinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 1994.
- [35] Sibel Uluata. *Bazı Bitkisel Yağların Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Türkiye, 2010.
- [36] D.B. Min, J.M. Boff, *Lipid oxidation of edible oil*. **Food Science and Technology**, (2002) 335-364.
- [37] S. M.Ghazani, A. G. Marangoni, *Minor components in canola oil and effects of refining on these constituents: A review*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 90:7 (2013) 923-932.
- [38] F. Yan, H. Yang, J. Li, H. Wang, *Optimization of phytosterols recovery from soybean oil deodorizer distillate*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 89:7 (2012) 1363-1370.
- [39] İ. Saldamlı, *Gıda Kimyası*, Hacettepe üniversitesi , 2014.
- [40] F.C. FineBrochet, M. Gaud, P.Carre, N.F.SimonRamli, F.Joffre, *Micronutrients in vegetable oils: the impact of crushing and refining processes on vitamins and antioxidants in sunflower, rapeseed, and soybean oils*. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 118:5 (2016) 680-697.
- [41] E. Gimeno, A. I. Castellote, R. M. Lamuela-Raventos, M. C. De La Torre, M. C. Lopez-Sabater, *Rapid determination of vitamin E in vegetable oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography*. **Journal of Chromatography A**, 881:1-2 (2000) 251-254.
- [42] P. F.Martins, C. B. Batistella, R. Maciel-Filho, M. R. Wolf-Maciel, *Comparison of two different strategies for tocopherols enrichment using a molecular distillation process*. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 45:2 (2006) 753-758.
- [43] J. Banchero, W. Badger, *Kimya Mühendisliğine Giriş*, İnkılap kitapevi, 1986.

- [44] Ayşegül Nalan Öztürk. *Sıvı Sıvı ekstraksiyon ile Maya Atıksuyu Membran Çıkışından Uçucu Yağ Asiti Geri Kazanımı*, Yüksek Lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Türkiye, 2014.
- [45] R. Treybal, *Mass-Transfer Operations*, New York: McGraw-Hill Book Company, 1980.
- [46] M. Larian, *Fundamentals of Chemical Engineering Operations*, Prentice-Hall, 1958.
- [47] M. McHugh, V. Krukonis, *Supercritical fluid extraction: principles and practice*, Elsevier, 2013.
- [48] M. Sihvonen, E. Järvenpää, V.Hietaniemi, R. Huopalahti, *Advances in supercritical carbon dioxide technologies. Trends in Food Science & Technology*, 10:6-7 (1999) 217-222.
- [49] J. E. Hunter, *Nutritional consequences of processing soybean oil. Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58:3 (1981) 283-287.
- [50] S. Volotovskaya, L. Zalevskaya ve F. Martynenko, *Reduction of Washing Water Requirement During Refining, Maslozhirovaya Promyshlennost*, (1981) 27-29.
- [51] P. Ergönül, O. Köseoğlu, *Changes in α -, β -, γ - and δ -tocopherol contents of mostly consumed vegetable oils during refining process, CyTA-journal of Food* , 12:21 (2014) 99-202.
- [52] J. Wan, W. Zang, B. Jiang, Y. Guo, C. Hu, *Separation of Individual Tocopherols from Soybean Distillate by Low Pressure Column Chromatography, Journal of the American Oil Chemists Society*, 85:4 (2008) 331-338.
- [53] S. Ghosh, D. K. Bhattacharyya, *Isolation of tocopherol and sterol concentrate from sunflower oil deodorizer distillate. Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73:10 (1996) 1271-1274.
- [54] S.T. Jiang, P. Shao, L.J. Pan, Y. Y. Zhao, *Molecular distillation for recovering tocopherol and fatty acid methyl esters from rapeseed oil deodoriser distillate. Biosystems Engineering*, 93:4 (2006) 383-391.
- [55] L. R. Posada, J.Y. Shi, Y. Kakuda, S. J. Xue. *Extraction of tocotrienols from palm fatty acid distillates using molecular distillation. Separation and Purification Technology*, 57:2 (2007) 220-229.
- [56] S. N. Ko, S. M. Lee, I. H. Kim, *The concentration of tocopherols from rice bran oil deodorizer distillate using solvent, European Journal of Lipid Science and Technology*, 110:10 (2008) 914-919.
- [57] K. M. Lin, S. S Koseoglu, *Separation of sterols from deodorizer distillate by crystallization, Journal of Food Lipids*, 10:2 (2003) 107-127.
- [58] S.Turan, A. Topcu, I. Karabulut, H.Vural, A. A. Hayaloglu, *Fatty acid, triacylglycerol, phytosterol, and tocopherol variations in kernel oil of Malatya*

apricots from Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55:26 (2007) 10787-10794.

[59] S. L. Richheimer, M. C. Kent, M. W. Bernart, *Reversed-phase high-performance liquid chromatographic method using a pentafluorophenyl bonded phase for analysis of tocopherols*. **Journal of Chromatography A**, 677:1 (1994) 75-80.

[60] M. A. Yılmaz, G. Durmaz, *Mulberry Seed Oil: A Rich Source of δ -Tocopherol*, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 92:4 (2015) 553-559.

[61] K. Ahmadi, S. Kumalaningsih, S. Wijana, I. Santoso, *Optimizing vitamin E purification from unsaponifiable matter of palm fatty acids distillate by low temperature solvent crystallization*. **Journal of Food Science and Engineering**, 2:10 (2012) 557.

[62] W. F. De Greyt, V. Petrauskaite, M. J. Kellens, A. D. Huyghebaert, *Analysis of tocopherols by gas-liquid and high-performance liquid chromatography: A comparative study*. **Fett-Lipid**, 100 (1998) 503-507.

[63] A. E. Handlos, T. Baron, *Mass and heat transfer from drops in liquid-liquid extraction*. **AIChE Journal**, 3:1 (1957) 127-136.

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

[65] S. L. Abidi, *Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants*. **Journal of Chromatography A**, 881:1-2 (2000) 197-216.

[66] T. J. J. Hunt, *Recovery of Tocopherols*, U.S. Patent 5,646,311, 23 sept.,1997.

[67] M. H. Chen, C. J. Bergman, *A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents*. **Journal of Food Composition and Analysis**, 18:2-3 (2005) 139-151.

[68] A. A. Qureshi, H. Mo, L. Packer, D. M. Peterson, *Isolation and identification of novel tocotrienols from rice bran with hypocholesterolemic, antioxidant, and antitumor properties*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48:8 (2000) 3130-3140.

[69] E. A. Moreira, M. A. Baltanás, *Recovery of phytosterols from sunflower oil deodorizer distillates*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 81:2 (2004) 161-167.

[70] W. Hu, J. H. Wells, T. S. Shin, J. S. Godber, *Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 73:12 (1996) 1653-1656.

[71] R. Tir, P. C. Dutta, A. Y. Badjah-Hadj-Ahmed, *Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition*. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 114:12 (2012) 1427-1438.

- [72] A. R. Fajardo, L. E. Cerdan, A. R. Medina, F. G. A. Fernandez, P. A. G. Moreno, E. M. Grima, *Lipid extraction from the microalga Phaeodactylum tricornutum*. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 109:2 (2007) 120-126.
- [73] B. Isso, D. Ryan, *Extraction of α -tocopherolquinone from vegetable oil deodorizer distillate waste*. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 114:8 (2012) 927-932.
- [74] N. T. Dunford, M. Zhang, *Pressurized solvent extraction of wheat germ oil*. **Food Research International**, 36:9-10 (2003) 905-909.
- [75] I. F. Strati, V. Oreopoulou, *Effect of extraction parameters on the carotenoid recovery from tomato waste*. **International Journal of Food Science & Technology**, 46:1 (2011) 23-29.
- [76] S. K. Lo, B. S. Baharin, C. P. Tan, O. M. Lai, *Enzyme-catalyzed production and chemical composition of diacylglycerols from corn oil deodorizer distillate*. **Food Biotechnology**, 18:3 (2004) 265-278.
- [77] W. Yu, M. Simmons-Menchaca, A. Gapor, B. G. Sanders, K. Kline, *Induction of apoptosis in human breast cancer cells by tocopherols and tocotrienols*. **Journal Nutrition and Cancer**, (1999) 26-32.
- [78] G. Panfili, A. Fratianni, M. Irano, *Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51:14 (2003) 3940-3944.
- [79] AOCS, Official methods and recommended practices of the american oil chemists' society, Champaign: **AOCS Pres**, Method Ti 3d-63.
- [80] AOCS, Official methods and recommended practices of the american oilchemists' society, Champaign: **AOCS Pres**, Method Ti Cd 1-25
- [81] AOCS, Official methods and recommended practices of the american oilchemists' society, Champaign: **AOCS Pres**, Method Ti Cd 8-53
- [82] AOCS, Official methods and recommended practices of the american oilchemists' society, Champaign: **AOCS Pres**, Method Ti Cd 1-25
- [83] AOCS, Official methods and recommended practices of the american oil chemists' society, Champaign: **AOCS Pres**, Method Ti Ce 2-66
- [84] S. Naz, S. T. H. Sherazi, F. N. Talpur, H. Kara, S. Uddin, R. Khaskheli, *Chemical characterization of canola and sunflower oil deodorizer distillates*. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, 64(2) (2014) 115-120.
- [85] E. Idehen, Y. Tang, S. Sang, *Bioactive phytochemicals in barley*. **Journal of food and drug analysis**, 25(1) (2017) 148-161.

ÖZGEÇMİŞ

ADI VE SOYADI : Sümeyye ATALAN

DOĞUM TARİHİ : 01.01.1989

DOĞUM YERİ : Malatya

E-posta: sumeyyeatalan90@hotmail.com

EĞİTİM DURUMU

2009-2014 : Lisans, Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.

2015-2018 : Yüksek Lisans

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

S. Atalan, İ. Karabulut, G. Durmaz Liquid-liquid extraction of tocopherols from corn oil deodorizer distillate, *15th Euro Fed Lipid Congress*, Uppsala, Sweden, August 27-30, (2017).