



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KİMYASAL YÖNTEMLE KONJÜGE LİNOLEİK ASİT ÜRETİMİ VE  
SAFLAŞTIRILMASI

İBRAHİM HAKKI İŞLER

Temmuz 2018



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KİMYASAL YÖNTEMLE KONJÜGE LİNOLEİK ASİT ÜRETİMİ VE  
SAFLAŞTIRILMASI

İBRAHİM HAKKI İŞLER

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi. Hakan ERİNÇ

Temmuz 2018

İbrahim Hakkı İŞLER tarafından Dr. Öğr. Üyesi Hakan ERİNÇ danışmanlığında hazırlanan “KİMYASAL YÖNTEMLE KONJÜGE LİNOLEİK ASİT ÜRETİMİ VE SAFLAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ÖZBEY  
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Cem Okan ÖZER  
Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi

İmza

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hakan ERİNÇ  
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

İmza

**ONAY:**

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından ....../...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ....../...../20.... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT  
MÜDÜR V.

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İbrahim Hakkı İŞLER

## ÖZET

### KİMYASAL YÖNTEMLE KONJÜGE LİNOLEİK ASİT ÜRETİMİ VE SAFLAŞTIRILMASI

İŞLER, İbrahim Hakkı  
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Hakan ERİNÇ  
Temmuz 2018, 40 sayfa

Konjüge linoleik asit (KLA), kimyasal olarak linoleik asitin alkali izomerizasyonu ile üretilir. Bu ticari sentez, toplam KLA içeriğini maksimize etmeye odaklanmıştır; ancak tüm KLA izomerleri sağlık açısından faydalı olmayıp sadece bazı KLA izomerleri sağlığın korunması açısından yararlıdır. Bu çalışmanın ilk amacı aspir yağından KLA izomerlerinin üretiminde sıcaklık ve zamanın etkisini ortaya koymaktır. Bu amaçla KLA üretimi farklı sıcaklıklarda (80-240°C) ve farklı zaman aralıklarında (1-10 saat) gerçekleştirilmiştir. Alkali izomerizasyon ile optimum koşullar (faydalı izomerler için) altında (8 saat-240°C) %87,8'lik bir dönüşüm sağlandı ve %40,96 *10trans-12cis*, %40,37 *9cis-11trans* ve %6,35 istenmeyen KLA izomerleri elde edildi. Bu çalışmanın ikinci amacı sıcaklık ve farklı çözücülerin KLA izomerlerinin saflaştırılması üzerindeki etkisini belirlemek olup bu amaçla farklı çözücüler (aseton, hekzan, metanol ve petrol eter) içeren KLA çözeltileri çeşitli sıcaklıklarda (0 ila -85°C) kristalize edilmiş ve en yüksek KLA konsantrasyonlarının (%94), %38,1'lik bir verimle çözücü olarak aseton kullanılarak -55°C'de elde edilmesine karşın, en yüksek verimin (%89,6) %88,1'lik bir saflıkla -85°C'de petrol eteri kullanılarak elde edildiği belirlenmiştir.

*Anahtar Sözcükler:* Konjüge linoleik asit, üretim, alkali izomerizasyon, fraksiyonel kristalleşme, saflaştırma

## SUMMARY

### CONJUGATED LINOLEIC ACID PRODUCTION WITH CHEMICAL METHODS AND PURIFICATION

ISLER, Ibrahim Hakkı

Nigde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineer

Supervisor : Assistant Professor Dr. Hakan ERİNÇ

July 2018, 40 pages

Conjugated linoleic acid (CLA) is chemically produced from linoleic acid by alkali isomerization. This commercial synthesis has focused on maximizing the total CLA content; however, not all CLA isomers are useful for maintaining health since only some CLA isomers are natural and functional components. The first objective of this study was to reveal the effect of temperature and time on the production of CLA isomers from safflower oil. For this purpose, CLA production was conducted at different temperatures (80-240°C) and over different time durations (1-10 h). Alkali isomerization gave a total conversion of 87.8% in the optimum conditions of 240°C for 8 h (for maximum beneficial isomers), and produced 40.96% *10trans-12cis*, 40.37% *9cis-11trans*, and 6.35% undesirable CLA isomers. The second aim of this study was to determine the effect of temperature and solvents on the purification of CLA isomers. To achieve this, CLA solutions containing different solvents (acetone, hexane, methanol and petroleum ether) were crystallized at several temperatures (0 to -85 °C). It was determined that although the highest CLA concentrates (94%) were obtained at -55°C using acetone as the solvent with a yield of 38.1%, the highest yield (89.6%) was determined using petroleum ether at -85°C with a purity of 88.1%.

*Keywords:* Conjugated linoleic acid, production, alkali isomerization, fractional crystallization, purification

## ÖNSÖZ

Çalışmamın, tez konusunun belirlenmesinden sonuçlanmasına kadar her aşamasında desteğiyle bana yardımcı olan, bilimsel gelişimime tecrübe ve önerileriyle katkıda bulunan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hakan ERİNÇ'e en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Cihan DÜŞGÜN, Soner KAYA ve Özgül DEMİRASLAN AYDIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte manevi desteklerini esirgemeyen ve bu günlere gelmemde her zaman ve her konuda beni destekleyen sevgili ailem ve iş yeri çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına 213O129 nolu TÜBİTAK-TOVAG projesi tarafından finansal destek sağlanmıştır.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
SUMMARY .....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	x
SİMGE VE KISALTMALAR .....	xi
BÖLÜM I GİRİŞ .....	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Aspir Bitkisi .....	3
2.2 Konjüğe Linoleik Asit .....	3
2.3 Konjüğe Linoleik Asit Biyosentezi ve Kaynakları .....	4
2.4 Konjüğe Linoleik Asitin Biyolojik Etkileri ve Etki Mekanizması .....	6
2.5 Kimyasal Yolla KLA Üretimi Konulu Araştırmalar .....	8
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT .....	10
3.1 Aspir Yağının Hidrolizi .....	10
3.2 Düşük Sıcaklık Kristalizasyon Yöntemi ile Linoleik Asidin Saflaştırılması .....	11
3.3 Kimyasal Yolla Konjüğe Linoleik Asit Üretimi .....	11
3.4 Düşük Sıcaklıkta Kristalizasyon Yoluyla Konjüğe Linoleik Asitin Saflaştırılması .....	11
3.5 Yağ Asitlerinin Transesterifikasyonu ile Metil Esteri Eldesi .....	12
3.6 Aspir Yağının ve Saflaştırılmış LA Karışımlarının Yağ Asitleri Kompozisyonu Analizi .....	12
3.7 HPLC ile Yağ Asitlerinin Miktar ve İzomer Analizi .....	12
3.8 Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler .....	13
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA .....	14
4.1 Aspir Yağının ve Saflaştırılmış LA'nın Yağ Asitleri Analizi .....	14
4.2 Kimyasal Yolla KLA Üretimi .....	16
4.2.1 Kimyasal yolla gerçekleştirilen izomerizasyon sonuçları .....	16
4.3 Düşük Sıcaklıkta Kristalizasyon Yoluyla KLA'nın Saflaştırılması .....	22
BÖLÜM V SONUÇLAR .....	25

KAYNAKLAR .....	26
EKLER.....	37
ÖZ GEÇMİŞ .....	39
TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER .....	40



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Çözücüsü aseton olan yağ asitleri.....	14
Çizelge 4.2. Çözücüsü hekzan olan yağ asitleri.....	15
Çizelge 4.3. Çözücüsü petrol eter olan yağ asitleri.....	15
Çizelge 4.4. Çözücüsü kloroform olan yağ asitleri.....	16
Çizelge 4.5. Kimyasal yolla LA'dan % KLA dönüşüm oranları.....	17
Çizelge 4.6. Kimyasal yolla yüksek oranda <i>10trans</i> - <i>12cis</i> + <i>9cis</i> - <i>11trans</i> KLA izomerlerinin üretiminin gerçekleştirilebilmesi için en uygun koşullar.....	21
Çizelge 4.7. Kimyasal yolla yüksek oranda <i>10trans</i> - <i>12cis</i> + <i>9cis</i> - <i>11trans</i> KLA izomerlerinin üretiminin gerçekleştirilebilmesi için en uygun koşulların doğrulaması .....	21
Çizelge 4.8. Kimyasal yolla üretilen KLA'nın saflaştırılmasında aseton kullanımı ile elde edilen fraksiyonların yağ asidi bileşimleri.....	23
Çizelge 4.9. Kimyasal yolla üretilen KLA'nın saflaştırılmasında metanol kullanımı ile elde edilen fraksiyonların yağ asidi bileşimleri.....	24
Çizelge 4.10. Kimyasal yolla üretilen KLA'nın saflaştırılmasında petrol eter kullanımı ile elde edilen fraksiyonların yağ asidi bileşimleri.....	24

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Linoleik asit ve konjüge izomerleri .....	4
Şekil 2.2. LA'nın rumendeki biyohidrojenasyonu ve dokularda vaksenik asitten KLA oluşum mekanizması .....	5
Şekil 2.3. Risinoleik asit yapısı.....	8
Şekil 3.1 Çalışmanın aşamaları.....	10
Şekil 3.2. <i>9trans-11trans</i> KLA kullanılarak oluşturulan standart kurve .....	13
Şekil 4.1. Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin bilinmeyen KLA izomerlerinin oluşumundaki etkisi.....	18
Şekil 4.2 Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin <i>10trans - 12cis</i> KLA oluşumundaki etkisi.....	19
Şekil 4.3. Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin <i>9cis - 11trans</i> KLA izomeri oluşumundaki etkisi.....	19
Şekil 4.4. Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin toplam KLA izomerleri oluşumundaki etkisi.....	20

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
L	Litre
mg	Miligram
g	Gram
nm	Nanometre
µm	Mikrometre
mm	Milimetre
m	Metre
M	Molar
N	Normal
°C	Celsius derece
pH	Asitlik faktörü
%	Yüzde

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
HCL	Hidroklorik Asit
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfürik Asit
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
KLA	Konjüge Linoleik Asit
KOH	Potasyum Hidroksit
LA	Linoleik Asit
NaCl	Sodyum Klorür

## BÖLÜM I

### GİRİŞ

Günümüzde kanser hastalıkları ve obezite ile mücadele fonksiyonel gıda tüketiminde artışlara neden olmuştur. Bu kapsamda konjüğe yağ asitleri biyolojik faydalı fonksiyonel lipitler olarak dikkat çekmiş olup konjüğe linoleik asitin (KLA) farelerde deri (Ha vd., 1987; Pariza ve Hargraves, 1985), mide (Ha vd., 1990) ve meme tümörlerinin (Ip vd., 1991) gelişimini engellediği ortaya konmuştur. Ayrıca bağışıklık sistemini geliştirdiği (Cook vd., 1993; Miller vd., 1994), LDL/HDL oranını olumlu yönde değiştirdiği (Lee vd., 1994) ve obezite üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu saptanmıştır (DeLany vd., 1999; Keim, 2003; West vd., 1998). Ek olarak 2017 yılında yapılan bir çalışma sonucunda obezite ilişkili astım hastalığına sahip domuzlarda KLA'nın rahatlatıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Wendell vd., 2017).

KLA'nın insanlar üzerindeki biyolojik etkilerini gösterilebilmesi için günlük tüketilmesi gereken miktarı hakkında farklı veriler bulunmasına karşın birçok araştırmacı tarafından önerilen miktar en az 3 g/gündür (Blankson vd., 2000; Chamruspollert ve Sell, 1999; Cherian vd., 2002; Ha vd., 1989; Hah vd., 2006; Ip vd., 1995).

KLA doğal olarak en çok süt ürünlerinde, daha sonra ise ette bulunmaktadır. Ancak bu ürünlerdeki KLA düzeylerinin çok düşük olması nedeniyle faydalı olabilecek KLA miktarı doğal yollarla karşılanamamaktadır. Hayvanların tükettikleri yemlerin bileşimi değiştirilerek hayvansal gıdalardaki KLA miktarının artırılmasına yönelik birçok çalışma yapılmış olup bu çalışmalar sonucunda hayvansal ürünlerdeki KLA oranının sınırlı bir düzeyde artırılacağı görülmüştür. Bu nedenle ihtiyaç duyulan miktarda KLA'nın (3 g/gün) dışarıdan alınması zorunludur.

Tüketicinin bilinçlenmesine, karın doyurmadan ziyade sağlığın korunması bilincinin artmasına, obezite ile mücadelenin önem kazanmasına, kanser ve kalp-damar hastalıklarının artmasına bağlı olarak KLA'ya olan ilginin artacağı düşünülmektedir.

Gıda firmalarının da bu talebi karşılamak için yeni ürünler geliştireceği düşünüldüğünde günlük alınması önerilen KLA miktarını (3 g) karşılamak üzere insan tüketimine uygun

KLA kaynaklarına ihtiyaç duyulacaktır. Ancak lkemizde KLA retimi yapan herhangi bir kuruluŖ bulunmamaktadır.

KLA retiminde aspir, soya ve ayçiçeği yağı gibi linoleik asit (LA) içeriği yüksek bitkisel yağlar kullanılabilir. Bu tez alıŖmasında, KLA retiminde baŖlangı maddesi olarak LA içeriğinin yüksek olması nedeniyle aspir yağı kullanılmıŖtır. alıŖmalar kapsamında aspir yağından kimyasal yolla KLA üretiminin optimizasyon alıŖmaları gerekleŖtirilmiŖ ve son üründen KLA'nın saflaŖtırılması alıŖmaları yapılmıŖtır.



## BÖLÜM II

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 Aspir Bitkisi

Compositae (Asteraceae) familyasından tek yıllık bir bitki olan aspir (*Carthamus tinctorius* L.), 80-100 cm boyunda, dikenli ve dikensiz formları olan, kuraklığa dayanıklı, yazlık karakterde, 110-140 gün arasında yetişebilen tek yıllık bir yağ bitkisidir (Babaoğlu, 2007; Eryılmaz vd., 2014). Tohumlarında % 30-50 arasında yağ bulunan bu bitkinin, LA ve oleik asit içeriği bakımından zengin olmak üzere 2 ayrı tipi vardır (Babaoğlu, 2007). Bu bitki aynı zamanda yalancı safran, amerikan safranı ve boyacı safranı olarak da bilinir. Yabani türlerinin birkaçı ülkemizde de görülebilen (örneğin, *Carthamus lanatus* ve *Carthamus dentatus*) aspirin dünyada 25 adet yabani türü bulunmaktadır (Babaoğlu, 2014).

Aspir bitkisi Çin'de bitkisel çay olarak tüketilmektedir. Bunun yanı sıra pek çok hastalığın tedavisinde kullanıldığı için sadece çiçekleri için yetiştirilmiş olup çiçeklerinde amino asitler, mineral maddeler ve bazı vitaminlerin (B1, B2, B12, C ve E) bulunması bu bitkinin çay olarak tüketilmesinin temel nedenidir (Çelenk, 2015).

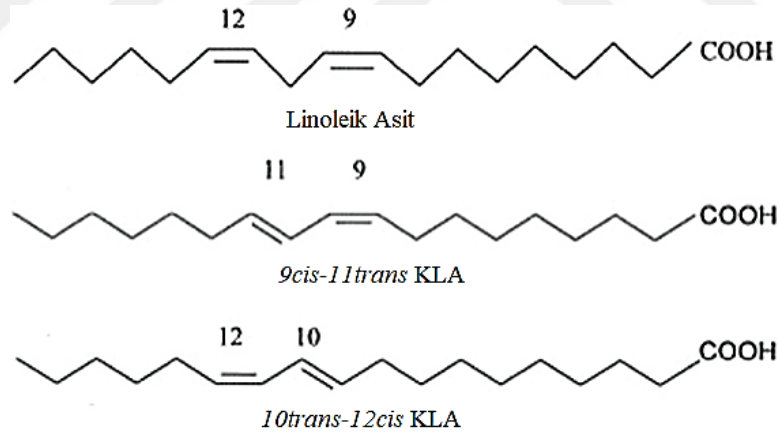
İnternet üzerinden satış yapan firmaların bazıları aspir yağını KLA kaynağıymış gibi göstermiş olmalarına karşın yapılan çalışmaların tamamında aspir yağının önemli düzeyde KLA içermediği saptanmıştır. Ayrıca Herbel vd. (1998) tarafından yapılan bir araştırmada, artan oranda aspir yağı tüketiminin plazmadaki KLA miktarını arttırmadığı da belirlenmiştir. Aspir yağı doğrudan KLA'nın kaynağı olmasa da KLA üretimi için gerekli olan LA'nın önemli bir kaynağı durumundadır.

#### 2.2 Konjüge Linoleik Asit

Bilindiği üzere fonksiyonel gıdalar, besleyici özellikleri dışında vücudumuza fizyolojik yararlar sağlayan ve hastalık riskini azaltabilen besinlerdir. Bazı besinlerin doğal yollardan hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkinliğinin bilimsel olarak ortaya konulması besin desteğinin önemini artırmıştır. Ayrıca yazılı ve görsel medyada fonksiyonel gıdalar ile ilgili birçok haber yapılması ve tüketicilerin bilinçlenmesine bağlı

olarak fonksiyonel gıdaların tüketimine yönelik eğilim de giderek artmaktadır. Son yıllarda KLA'nın insan sağlığına faydalı etkilerine yönelik yapılan çalışmalar büyük ilgi uyandırmış olup KLA'nın vücut yağ oranını azaltmasına, bağışıklık sistemini güçlendirmesine ve antikanserojen etkilerine dair bulgular oldukça önemli kabul edilmiştir (Bhattacharya vd., 2006; Kurban ve Mehmetoğlu, 2006; Suzuki vd., 2001; Tricon vd., 2005; Tsuzuki ve Kawakami, 2008; Wahle vd., 2004).

KLA, omega 6 yağ asidi olan *9cis-12cis* oktadekadienoik asitin (LA) konjüge formundaki pozisyonel ve geometrik izomerleri için kullanılan genel bir terimdir. Konjüge çift bağlar, karbon zincirinde 7, 9; 8, 10; 9, 11; 10, 12; 11, 13 ya da 12, 14 pozisyonlarında ve farklı *cis-trans* konfigürasyonlarında (*cis/cis*; *trans/trans*; *cis/trans* ya da *trans/cis*) bulunurlar (Bauman vd., 2000; Fritsche ve Steinhart, 1998; Hah vd., 2006; Hur vd., 2007; Mulvihill, 2001; Pariza vd., 2001; Schmid vd., 2006). Tespit edilen 28 izomerden, *9cis-11trans* oktadekadienoik asit gıdalarda toplam KLA içinde %80 ile en yüksek miktarda bulunmaktadır (Aydın, 2005; Schmid vd., 2006). Miktar olarak bu izomeri *10trans-12cis* oktadekadienoik asit izomeri takip etmektedir (Huang vd., 2008) (Şekil 2.1).

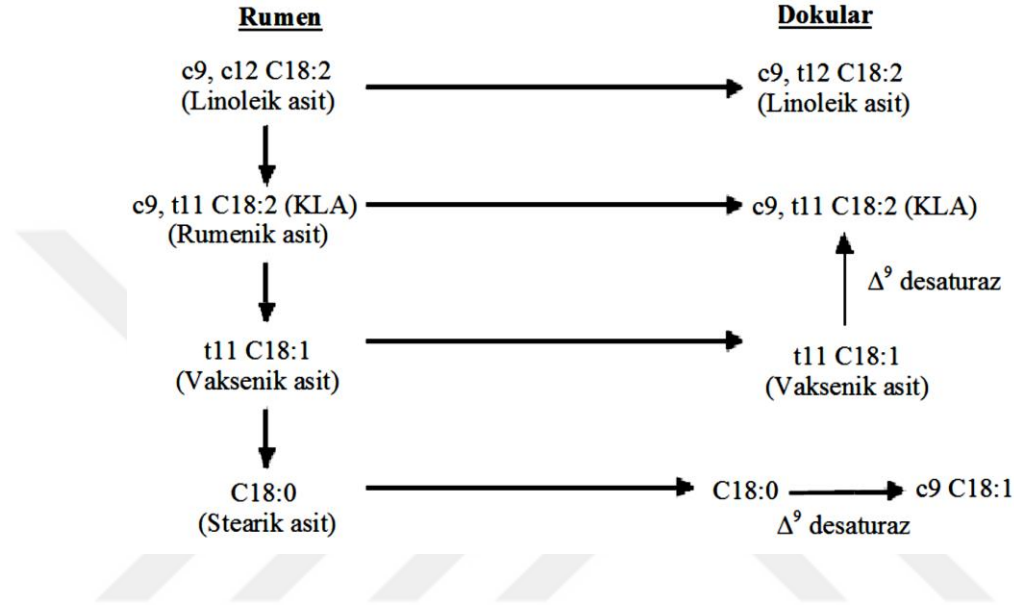


Şekil 2.1. Linoleik asit ve konjüge izomerleri

### 2.3 Konjüge Linoleik Asit Biyosentezi ve Kaynakları

KLA, *Butyrivibrio* türleri gibi belli rumen bakterileri tarafından, rasyonla alınan çoklu doymamış yağ asitlerinden üretilmektedir (Grinari ve Bauman, 1999). Şekil 2.2'de LA'nın rumendeki biyohidrojenasyonu ve dokularda vaksenik asitten KLA oluşum mekanizması verilmiş olup KLA'nın *9cis-11trans* izomerinin, anaerobik rumen bakterisi olan *Butyrivibrio fibrisolvens* tarafından LA'nın stearik asite biyohidrojenasyonu

sırasında oluşabildiği bildirilmiştir (Kepler vd., 1966). Biyohidrojenasyon sırasında LA'dan izomerizasyon yoluyla *9cis-11trans* oktadekadienoik asit, devamında ise 9.C'daki çift bağın hidrojene edilmesi ile *trans*-vaksenik asit ve son aşamada ise stearik asit olduğu düşünülmektedir. Ayrıca memeli hücrelerde *trans*-vaksenik asitin  $\Delta^9$  desaturasyonu ile *9cis-11trans* KLA olduğu da bildirilmiştir (Adlof vd., 2000; Griinari ve Bauman, 1999; Khanal, 2004).



**Şekil 2.2.** LA'nın rumendeki biyohidrojenasyonu ve dokularda vaksenik asitten KLA oluşum mekanizması (Turhaner ve Özdoğan, 2007)

KLA'nın en önemli kaynağı biyosentezinden de anlaşıldığı üzere geniş getiren hayvanların vücut dokuları ve özellikle yağ dokusu ile süt ve süt ürünleridir (Kelly, 2001; Wahle vd., 2004; Wang ve Jones, 2004). Süt yağı, 55-912 mg/100 g yağ düzeyindeki KLA içeriği ile en önemli kaynak olup (Van Nieuwenhove vd., 2012) et ve et ürünleri de ikinci sırada yer almaktadır. Kuzu eti 560 mg/100 g yağ ve somon balığı 30 mg/100 g yağ KLA içerir (Kurban ve Mehmetoğlu, 2006). Bunların yanında safran çiçeği yağı 70 mg/100 g, kanola yağı 50 mg/100 g, ayçiçeği yağı 40 mg/100 g ve mısırozü yağı 20 mg/100 g KLA içermektedir (Kurban ve Mehmetoğlu, 2006). Yumurta sarısında KLA varlığına rastlanılmadığı bildirilmiştir (Gultemirina vd., 2009; Raes vd., 2002).

İsviçre'de doğal yollarla et ve süt ürünlerinden alınan *9cis-11trans* KLA miktarı 0,016 g/gün iken (Mulvihill, 2001) Almanya'da bu değer bayanlar için 0,036 g/gün, erkekler için 0,044 g/gün'dür (Fritsche ve Steinhart, 1998). Görüldüğü üzere doğal kaynaklarla

alınan KLA miktarı, biyolojik etkilerinden faydalanmak için gerekli olan miktardan (3 g) çok daha düşük seviyelerdedir.

#### **2.4 Konjüge Linoleik Asitin Biyolojik Etkileri ve Etki Mekanizması**

Izgara sığır etinden elde edilen ekstraktın antikanserojen etkiye sahip olduğunun belirlenmesinin ardından ilk kez 1987 yılında Ha ve diğerleri tarafından bu maddenin KLA olduğu bildirilmiştir (Ha vd., 1987). KLA izomerlerinin (özellikle *9cis-11trans* izomeri), bütillenmiş hidroksi toluen ile aynı düzeyde,  $\alpha$ -tokoferole göre daha güçlü ve  $\beta$ -karotenden ise iki kat daha yüksek antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir (Bauman vd., 2000; Hur vd., 2007; Muller ve Delahoy, 2008).

KLA izomerlerinin karsinojenik etkili serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek antikarsinojenik özellik gösterdiği belirtilmektedir (Bolukbaşı, 2006; Du ve Ahn, 2002; Huang vd., 2008; Mir vd., 1999). KLA'nın obezite üzerine olumlu etkisi birçok araştırma ile kanıtlanmış olup, bu etkiyi vücutta yağ doku birikimini azaltarak ortaya koyduğu (Du ve Ahn, 2002; Lee vd., 2006) ve bu etkinin KLA'nın tüketim süresine ve dozuna bağlı olduğu tespit edilmiştir (Huang vd., 2008). Deney hayvanlarında KLA tüketimi ile yağ doku oluşumunu sağlayan lipoprotein lipaz aktivitesinin azaldığı, değişik dokularda ise yağ asitlerinin mitokondriye girişini ve oksidasyonunu sağlayan karnitin açil transferaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (Bessa vd., 2000; Ha vd., 1987; Mulvihill, 2001; Pariza vd., 2001; Park vd., 1997; Park vd., 1999; Risérus vd., 2002; Wang ve Jones, 2004). Ayrıca *9cis-11trans* ve *10trans-12cis* KLA izomerlerinin birlikte alınması durumunda sinerjistik etki göstererek antiobezitik etkiyi arttırdıkları bildirilmiştir (Pariza vd., 2001).

KLA'nın kandaki toplam kolesterol, LDL ve trigliserit miktarını düşürme, HDL konsantrasyonunu artırma ve karaciğerdeki kolesterol düzeyini azaltma özelliği sayesinde kalp damar sağlığı üzerinde pozitif etkili olduğu bildirilmiştir. KLA'nın hipertansiyon üzerine de pozitif etkisi olduğu belirlenmiş ve bu etkinin, KLA izomerlerin tüketim süresine ve dozuna bağlı olduğu çalışmalar sonucunda ortaya konulmuştur (De Deckere vd., 1999; Huang vd., 2008; Lee vd., 1994; Nicolosi vd., 1997).

Diyabet hastalarında özellikle *10trans-12cis* KLA izomerinin kan şekeri ve kan trigliserit konsantrasyonunu azaltarak glukozun kullanılabilirliğini arttırdığı gözlenmiştir (Ryder

vd., 2001). KLA'nın iskelet sistemi üzerine olan pozitif etkisi yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Huang vd., 2008). KLA'nın serbest radikallerin ve inflamatuvar sitokin oluşumunu engelleyerek bağışıklık sistemini kuvvetlendirdiği (Çelik, 2007; Hwangbo vd., 2006; İnanç, 2006; Lee vd., 2006) ve menopoz sonrası bayanlarda da kemik mineral düzeyini iyileştirdiği ortaya konulmuştur (Rahman vd., 2003).

KLA'nın bir diğer izomeri olan *9trans-11trans* KLA'nın kolon kanseri hücrelerinde etkileri ile ilgili birçok çalışma rapor edilmiştir (Beppu vd., 2006; Lai vd., 2005; Yasui vd., 2007). Beppu vd. (2006) *9trans-11trans* KLA'nın kolon kanseri hücrelerine karşı diğer KLA izomerleri kadar etkin olduğunu bildirmiştir.

Ayrıca, Yasui vd. (2007), 4 hafta süreyle %0,1 veya %1 oranında *9trans-11trans* KLA ile beslenen sıçanlarda kemopreventif etkide bulunduğunu bildirmiştir. Diğer bir çalışmada ise *9trans-11trans* KLA'nın zayıflatığı tespit edilmiştir (Lai vd., 2005).

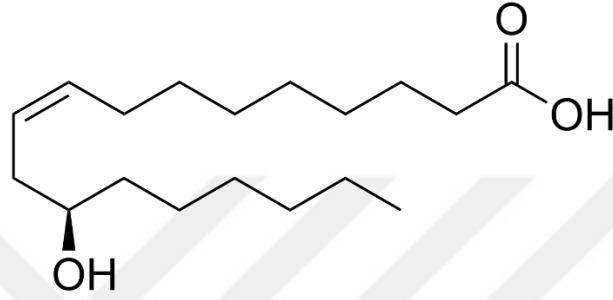
KLA'nın *10trans-12cis* izomerinin *9cis-11trans* izomerinden daha etkin olduğu ve kanser hücrelerinin çoğalmasını önlediği (Cho vd., 2005) ve aynı zamanda hayvanlarda (Park vd., 1997; Yamasaki vd., 2003) vücut yağını azalttığı bildirilmiştir. Ancak yapılan çalışmalar, yüksek oranda *10trans-12cis* KLA izomeri bulunan gıda destekleyicilerin oksidatif stresi arttırdığını göstermektedir (Risérus vd., 2002). Ayrıca yüksek miktarda *10trans-12cis* KLA izomeri tüketiminin safradaki kolesterol konsantrasyonunu %32 oranında arttırdığı ve safra taşı oluşumu riskini arttırdığı belirtilmektedir (Benito vd., 2001).

Literatürde bulunan araştırma sonuçlarından, özellikle *9cis-11trans* ve *10trans-12cis* izomerlerinin faydalı olduğu anlaşılmaktadır (Albers vd., 2003; Belury vd., 2003; Beppu vd., 2006; Lai vd., 2005; Noone vd., 2002; Smedman ve Vessby, 2001; Von Loeffelholz vd., 2003; Voorrips vd., 2002; Yasui vd., 2007).

Ticari olarak KLA, kimyasal izomerizasyon yoluyla LA'dan üretilmekte ve bu işlem beklenmedik izomerlerin oluşumuna yol açmaktadır. KLA'dan beklenen yararlı etkilerin görülebilmesi için uygun izomerlerin kullanılması gerektiği bildirilmiştir (Van Nieuwenhove vd., 2012).

## 2.5 Kimyasal Yolla KLA Üretimi Konulu Araştırmalar

KLA ticari olarak çoğunlukla LA'nın alkali izomerizasyonu ile üretilmektedir. LA'nın alkali izomerizasyonunda güçlü bir alkali (KOH) kullanılmakta (Chin vd., 1992) olup bu işlemde verim %90-93 aralığındadır. Bunun yanında risinoleik asidin dehidrasyonu ile KLA üretimi mümkün olsa da bu yöntem çok aşamalı olduğu için fazla tercih edilmemektedir (Body ve Shorland, 1965).



Şekil 2.3. Risinoleik asit yapısı

Ma vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada hidrolize edilmiş ayçiçeği yağının kimyasal izomerizasyonu ile %93 verim elde edilmiştir. Bir diğer çalışmada ise LA içeriği %80 olan aspir yağından kimyasal izomerizasyon yoluyla %78 KLA içeren bir ürün elde edilmiş ve sonrasında uygulanan üre kristalizasyonu ile saflaştırma işlemi neticesinde KLA oranı %95 düzeyine çıkartılmıştır (Kim vd., 2003). Goli vd. (2008) yine aspir yağından alkali izomerizasyon yoluyla %73 KLA içeren bir ürün elde ettikten sonra üre kristalizasyonu yoluyla KLA düzeyini %85,6 değerine çıkartmışlardır. LA'nın kimyasal izomerizasyonu ve risinoleik asidin kimyasal dehidrasyonu sonucunda risinoleik asitten 80°C sıcaklıkta %77-88 verim ile, LA'dan ise 160°C sıcaklıkta %90 verim ile KLA üretilebildiği bildirilmiştir (Yang vd., 2002).

Gangidi ve Proctor (2004) KLA üretiminde fotokimyasal bir yöntem izlemişlerdir. Çalışmada, iyot kristalleri ve civa lambası (100 W) kullanarak, soya yağından 90-91 saatte %0,61 *9cis-11trans* ve %0,59 *10trans-12cis* izomerlerini içeren bir yağ üretilebilmiştir. Pilot ölçekte yapılan başka bir araştırmada ise fotokimyasal işlemler ile soya yağının KLA içeriği 22 g/100 g oranına kadar yükseltilebilmiştir. Ancak toplam KLA'nın sadece 0,85 g'ının *9cis-11trans*, 1,11 g'ının *9cis-11trans* + *10cis-12trans* ve 0,85 g'ının *10cis-12trans* izomerlerinden oluştuğu, geriye kalan 19,19 g'lık kısmın ise

biyolojik olarak etkisi kanıtlanmayan *trans-trans* izomerlerinden oluştuğu bildirilmiştir (Jain vd., 2008). Sonuç olarak fotokimyasal yolla KLA üretiminde istenmeyen (biyolojik etkisi bilinmeyen) izomerlerin yüksek düzeylerde oluştuğu görölmektedir.

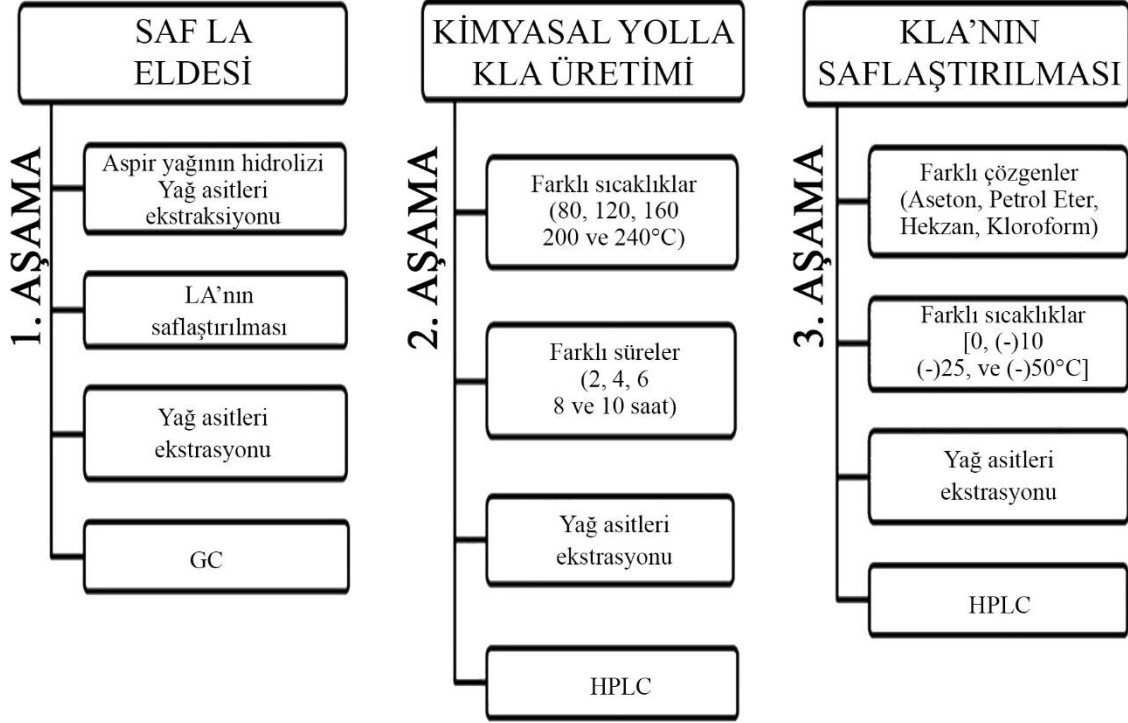
KLA üretiminde Demir ve Talpur (2010) ise kemoenzimatik bir yöntem uygulamıştır. Araştırmada LA, *Lactobacillus plantarum* ile önce hidroksi yağ asidine dönüştürölmüş ve sonrasında hidroksi yağ asidi de mikrodalga tekniği ile KLA'ya dönüştürölmüştür. Ancak bu çalışmada KLA veriminin çok düşük olduğu (yaklaşık %15-20) görölmüştür.

Liu vd. (2017) ise yapmış oldukları Ru destekli kimyasal izomerizasyon işlemi sonucunda, hidrolize edilmemiş pamuk yağında bulunan LA'nın %51,3 oranında izomerizasyona uğrayarak KLA'ya dönüştüğünü belirlemişlerdir. Ancak burada gerçekleşen izomerizasyonun %83,7 oranında LA'ya spesifik olduğu, diğer yağ asitlerinin de izomerizasyona uğradığı tespit edilmiştir.

## BÖLÜM III

### MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada yürütülen işlemler 3 ana başlık altında toplanıp Şekil 3.1’de şematik olarak gösterildikten sonra detayları açıklanmıştır.



Şekil 3.1 Çalışmanın aşamaları

#### 3.1 Aspir Yağının Hidrolizi

Yapılmış çalışmalara göre bir yağdan KLA üretimi gerçekleştirilecekse öncelikle yağın hidrolize edilip yağ asitlerinin elde edilmesi gerektiği anlaşılmaktadır. Bu amaçla 500 g aspir yağı 115 g KOH (400 mL etanolde) ve 125 mL saf su ile karıştırılmış ve 1 saat geri soğutucu altında ceketli ısıtıcıda (MTops MS-E104, Japonya) kaynatılarak sabunlaştırılmıştır. 1 saat sonunda soğutma işlemi için içerisine 0,5 L buz eklenmiş, daha sonra üzerine 600 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (4M) eklenerek pH 2-3 arasına düşürülmüş ve ayırma hunisine alınıp faz ayrımı sağlanmıştır. Faz ayrımından sonra eter (2x100 mL) kullanılarak ekstraksiyon yapılmış olup, ekstraksiyon işleminden sonra eter vakum

altında rotary evaporatörde (Heidolph Hei-vap, Almanya) uçurulup vakum altında (50°C’de) 5 saat daha kalıntı eterin uçması sağlanmıştır (Gunstone vd., 1976).

### **3.2 Düşük Sıcaklık Kristalizasyon Yöntemi ile Linoleik Asidin Saflaştırılması**

Bu amaçla Frankel vd. (1943) tarafından belirtilen metot modifiye edilerek hidrolize edilmiş yağ asitleri karışımı farklı çözügenler (aseton, petrol eter, kloroform ve *n*-hekzan) içinde çözüldürüldükten (50 g/L) sonra -25°C’deki derin dondurucuda çok yavaş şekilde karıştırılarak (24 saat) doymuş yağ asitlerinin kristalleşmesi sağlanmıştır. Daha sonra kaba filtreden süzülerek (soğuk çözügen ile yıkama) faz ayırımı sağlanmış olup buradan elde edilen sıvı faz -40°C’deki derin dondurucuda bekletildikten (24 saat) sonra filtre edilerek kristaller uzaklaştırılmıştır. Buradan elde edilen sıvı faz -55°C’deki derin dondurucuda bekletildikten (24 saat) sonra kaba filtreden süzülüş ve soğutma işlemine devam edilerek -70°C’de (24 saat) kristallerin oluşumu sağlanmıştır. Böylece -25, -40, -55 ve -70°C’de kristalleşen ve -70°C’de kristalleşmeyen yağ asitleri olmak üzere toplam 5 adet ürün elde edilmiştir.

### **3.3 Kimyasal Yolla Konjüge Linoleik Asit Üretimi**

Bu aşamada bir önceki aşamada saflaştırılmış olan LA’dan kimyasal yolla KLA üretimi yapılmıştır. Bu amaçla literatür bilgilerinden ((Yang ve Liu, 2004) yararlanarak 10 g saf LA (aspir yağından elde edilen) 5,2 g KOH (10 mL etilen glikolde) ile geri soğutucu altında ceketli ısıtıcıda (MTops MS-E104, Japonya) farklı sıcaklıklarda (80, 120, 160, 200 ve 240°C) ve farklı sürelerde (1, 4, 6, 8 ve 10 saat) izomerize edildikten sonra üzerine 20 mL etanol ve 6,5 mL 6 N HCl ilave edilerek pH <2’ye ayarlanmıştır. Elde edilen ürün, önce saf su (40 mL), sonra hekzan (40 mL) ve son aşamada da %30’luk metanolle (40 mL) yıkandıktan sonra susuz sodyum sülfat ile kurutulup rotary evaporatörde hekzan uçurularak KLA eldesi sağlanmıştır. Elde edilen KLA -20°C’de depolanarak sonraki aşamalar için saklanmıştır.

### **3.4 Düşük Sıcaklıkta Kristalizasyon Yoluyla Konjüge Linoleik Asitin Saflaştırılması**

Optimum koşullarda üretilen KLA ortamdan ekstrakte edildikten sonra Frankel vd. (1943) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilmiş ve KLA’nın saflaştırılmasında

kullanılmıştır. Bu amaçla KLA içeren karışım farklı çözümler (aseton, petrol eter, heksan, kloroform) içerisinde (5 g/100 mL) çözündürülmüş ve sonra sırasıyla 0, -10, -25, -50, -70 ve -85°C'lik sıcaklıklarda 24 saat bekletilmiş ve oluşan kristaller her sıcaklıkta filtre edilerek ayrılmıştır.

### **3.5 Yağ Asitlerinin Transesterifikasyonu ile Metil Esteri Eldesi**

Bu aşamada, Christie (1989) tarafından bildirilen ve Kim ve Liu (1999) tarafından değiştirilen yağ asitlerinin asidik ortamda transesterifikasyon metodu modifiye edilerek serbest yağ asitlerinin metil esterleri oluşturmuştur. Bu amaçla 2 mg örnek üzerine 0,125 mL %1'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (metanolde hazırlanmış) ilave edilmiş ve 50°C'de 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra üzerine %5'lik NaCl çözeltisinden 0,150 mL ilave edilmiş ve 50°C'de 10 dk bekletildikten sonra ayırma hunisinde 15 mL heksan ile 2 kez ekstraksiyon yapılmıştır. Heksan fazı üzerine %4'lük 0,125 mL potasyum bikarbonat ilave edilip sodyum sülfat varlığında vakum altında filtre edilerek yağ asitlerinin metil esterleri elde edilmiştir.

### **3.6 Aspir Yağının ve Saflaştırılmış LA Karışımlarının Yağ Asitleri Kompozisyonu Analizi**

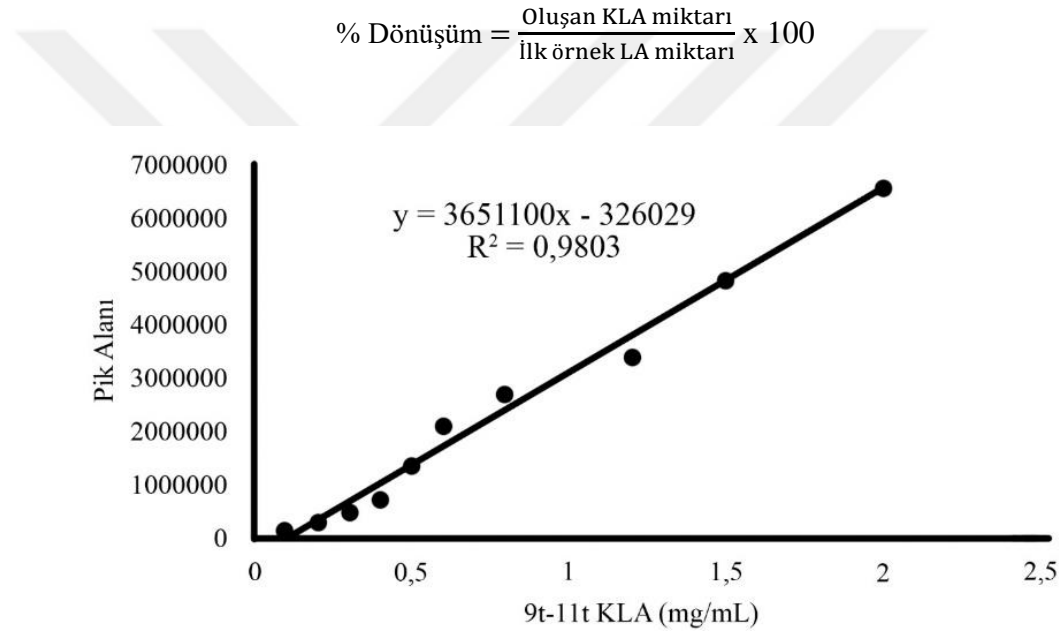
Hidrolize aspir yağının ve düşük sıcaklık kristalizasyonu ile elde edilen LA karışımlarının metil esterleri elde edildikten sonra gaz kromatografi (Shimadzu GC-2010, Japonya) cihazında DB-23 kapiler kolon (60 m uzunluk x 0,25 mm iç çap, 0,25 µm film kalınlığı) kullanılarak yağ asidi bileşimleri belirlenmiştir. Kolon fırını, enjeksiyon bloğu ve dedektör (Alev iyonlaştırılmalı dedektör) sıcaklıkları sırasıyla 190, 230 ve 240 °C olarak belirlenmiştir. Split oranı 80:1 olup taşıyıcı gaz olarak 1,0 mL/dk He akış hızında helyum kullanılmıştır.

### **3.7 HPLC ile Yağ Asitlerinin Miktar ve İzomer Analizi**

KLA içeren karışımların yağ asitlerinin dağılımı, Sehat vd. (1999) tarafından önerilen metot kullanılarak belirlenmiştir. HPLC (Shimadzu LC-20A/Prominence, Japonya) cihazına transesterifikasyon yoluyla oluşturulan yağ asidi metil esterlerini içeren örnekten 10 µL enjekte edilmiştir. Örneklerin bileşenlerine ayrıştırılmasında 2 adet seri bağlı "Chromspher 5 lipit" analitik kolonu (4,6 mm ID, 250 mm, 5 µm partikül boyutu) ve

belirlenmesinde ise UV-VIS detektör (Shimadzu SPD-20A, Japonya) (233 nm) kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir.

Hareketli faz olarak %0,1 asetonitril içeren hekzan kullanılmıştır (akış hızı 1 mL/dk). İzomerlerin tam olarak tespiti için aynı şartlarda standartların enjeksiyonu yapılmıştır. Ayrıca miktar belirlemek için 0,1-2,0 mg/mL *9trans-11trans* KLA transesterifikasyon yoluyla metil esterleri oluşturulduktan standart kurve çiziminde kullanılmıştır. KLA'nın *9trans-11trans* KLA izomeri kullanılarak oluşturulmuş olan standart kurve Şekil 3.2.'de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü üzere pik alanı ile KLA arasındaki korelasyon oldukça yüksek bulunmuştur. KLA'nın dönüşümünün hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.



Şekil 3.2. *9trans-11trans* KLA kullanılarak oluşturulan standart kurve

### 3.8 Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler

Deneme deseninin oluşturulması, deney sonuçlarının varyans analizi, cevap yüzey grafiklerinin oluşturulması ve optimum noktaların belirlenmesi için Design Expert 8.0.7.1 paket programında (Stat-Ease Inc., Minneapolis, Amerika) D-optimal Cubic Model kullanılmıştır. Bütün analizler paralelli olarak yapılmış olup ortalamalar Design Expert 8.0.7.1 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir.

## BÖLÜM IV

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 4.1 Aspir Yağının ve Saflaştırılmış LA'nın Yağ Asitleri Analizi

Hidrolize aspir yağının ve düşük sıcaklık kristalizasyonunda elde edilen LA karışımlarının yağ asitleri dağılımı Çizelge 4.1-4.5'de verilmiştir.

Aspir yağının aseton çözücüsü içerisinde elde edilen yağ asitleri Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. -25°C'de palmitik asit en fazla oranda (%41,15±1,25) elde edilmiştir. Eksi 40°C'de yine palmitik asit (%49,53±1,22) elde edilmiştir. Eksi 55°C'de ise oleik asit (%90,52±1,85), -70°C'de (%97,42±1,89) oleik asit elde edilmiştir. Eksi 70°C'de katılaşmayan sıvı kısımdan ise LA en fazla oranda (%98,46±2,00) elde edilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Çözücüsü aseton olan yağ asitleri

Aseton % Yağ asitleri	Kristalizasyon Durumu					
	Aspir yağı	-25 °C'de katı	-40 °C'de katı	-55 °C'de katı	-70 °C'de katı	-70 °C'de Sıvı
Miristik asit	0,12±0,01	0,13±0,01	0,38±0,01	TE	TE	TE
Palmitik asit	6,30±0,15	41,15±1,25	49,53±1,22	0,56±0,01	0,35±0,01	0,28±0,012
Stearik asit	2,41±0,22	40,99±1,52	16,76±0,98	0,32±0,01	0,32±0,01	TE
Oleik asit	33,54±1,12	1,28±0,13	21,73±0,88	90,52±1,85	97,42±1,89	1,24±0,02
Linoleik asit	57,30±1,25	1,83±0,12	9,33±0,25	8,61±0,08	1,91±0,01	98,46±2,00
Araşidik asit	0,33±0,01	14,62±0,86	2,28±0,13	TE	TE	TE

TE: Tespit edilemedi

Aspir yağının hekzan çözücüsü içerisinde elde edilen yağ asitleri Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Eksi 25°C'de palmitik asit en fazla oranda (%67,02±1,25) elde edilmiştir. Eksi 40°C'de yine palmitik asit (%59,02±1,25) elde edilmiştir. Eksi 55°C'de ise oleik asit (%79,66±1,59), -70°C'de (%57,41±1,11) oleik asit elde edilmiştir. Eksi 70°C'de katılaşmayan sıvı kısımdan ise LA en fazla oranda (%73,12±1,28) elde edilmiştir.

**Çizelge 4.2. Çözücüsü hekzan olan yağ asitleri**

Hekzan	Kristalizasyon Durumu					
	Aspir yağı	-25 °C'de katı	-40 °C'de katı	-55 °C'de katı	-70 °C'de katı	-70 °C'de Sıvı
Miristik asit	0,12±0,01	0,35±0,01	0,65±0,01	TE	TE	TE
Palmitik asit	6,30±0,15	67,02±1,25	59,02±1,25	1,83±0,02	0,70±0,02	0,88±0,012
Stearik asit	2,41±0,22	26,51±0,98	25,84±1,01	1,56±0,01	0,92±0,02	TE
Oleik asit	33,54±1,12	0,98±0,02	3,94±0,09	79,66±1,59	57,41±1,11	26,00±0,74
Linoleik asit	57,30±1,25	1,15±0,13	6,05±0,12	16,95±0,99	40,97±1,24	73,12±1,28
Araşidik asit	0,33±0,01	4,00±0,25	4,51±0,10	TE	TE	TE

TE: Tespit edilemedi

Aspir yağının petrol eter çözücüsü içerisinde elde edilen yağ asitleri Çizelge 4.3.'de gösterilmiş olup -25°C'de palmitik asit en fazla oranda (%62,96±1,52) elde edilmiştir. Eksi 40°C'de yine palmitik asit (%66,55±1,54) elde edilmiş, -55°C'de oleik asit (%83,06±1,85), -70°C'de ise (%91,44±1,95) oleik asit elde edilmiştir. Eksi 70°C'de katılaşmayan sıvı kısımdan ise LA en fazla oranda (%85,12±1,87) elde edilmiştir.

**Çizelge 4.3. Çözücüsü petrol eter olan yağ asitleri**

Petrol eter	Kristalizasyon Durumu					
	Aspir yağı	-25 °C'de katı	-40 °C'de katı	-55 °C'de katı	-70 °C'de katı	-70 °C'de Sıvı
Miristik asit	0,12±0,01	0,37±0,01	0,71±0,01	TE	TE	TE
Palmitik asit	6,30±0,15	62,96±1,52	66,55±1,54	10,25±0,27	1,62±0,03	0,80±0,012
Stearik asit	2,41±0,22	28,79±0,88	26,20±0,99	3,14±0,12	0,59±0,01	TE
Oleik asit	33,54±1,12	0,97±0,03	1,10±0,011	83,06±1,85	91,44±1,95	14,09±0,68
Linoleik asit	57,30±1,25	1,11±0,04	0,85±0,01	3,54±0,45	6,35±0,01	85,12±1,87
Araşidik asit	0,33±0,01	5,79±0,22	4,59±0,25	TE	TE	TE

TE: Tespit edilemedi

Aspir yağının kloroform çözücüsü içerisinde elde edilen yağ asitleri Çizelge 4.4.'de gösterilmiş olup -25°C ve -40°C'de kristalleşme gözlenmemiştir. Eksi 55°C'de palmitik asit (%53,68±1,11), -70°C'de ise (%64,96±1,25) palmitik asit elde edilmiştir. Eksi 70°C'de katılaşmayan sıvı kısımdan ise LA en fazla oranda (%61,63±1,00) elde edilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Çözücüsü kloroform olan yağ asitleri

Kloroform	Kristalizasyon Durumu					
	Aspir yağı	-25 °C'de katı	-40 °C'de katı	-55 °C'de katı	-70 °C'de katı	-70 °C'de Sıvı
Miristik asit	0,12±0,01			0,21±0,01	0,51±0,011	0,09±0,01
Palmitik asit	6,30±0,15			53,68±1,11	64,96±1,25	2,80±0,24
Stearik asit	2,41±0,22			27,67±1,00	19,94±0,99	0,73±0,01
Oleik asit	33,54±1,12	<i>Kristalleşme gözlenmedi</i>		4,86±0,13	4,48±0,45	34,75±0,89
Linoleik asit	57,30±1,25			8,04±0,25	7,47±0,36	61,63±1,00
Araşidik asit	0,33±0,01			5,55±0,12	2,65±0,21	TE

TE: Tespit edilemedi

Sonuçlardan görüldüğü üzere -25 ve -40°C'de elde edilen yağ asitleri kristalleri büyük oranda palmitik asit ve stearik asit (%60-40) içerirken, -55 ve -70°C'de elde edilen kristallerin yüksek oranda oleik asit (%83-97) içerdiği belirlenmiştir. Eksi 70°C'de kristal oluşturmayan yağ asitlerinin ise büyük oranda LA (%85-98) içerdiği belirlenmiştir.

Kullanılan farklı çözücüler içerisinde aseton ve petrol eterin oleik ve LA'nın saflaştırılmasında etkin olduğu, öncelikle -55°C'de doymuş yağ asitlerinin ayrılması sağlandıktan sonra soğutma işlemine (-70°C) devam edilmesi sonucunda elde edilen katı fazın önemli oranda oleik asit (>%90) içerdiği belirlenmiştir. Eksi 70°C'de kristal oluşturmayan yağ asitlerinin ise yüksek oranda LA (asetonda %98 - petrol eterde %85) içerdiği belirlenmiş olup kloroform kullanılan denemede -25 ve -40°C'de faz ayrımının olmadığı -55°C'de faz ayrımının büyük oranda palmitik ve stearik asit karışımı şeklinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Literatürde bulunan bir araştırma sonucunda üre kristalizasyon yöntemi ile ayçiçek yağından %87,80 oranında LA içeren ürün elde edilebileceği belirlenmiştir (Wu vd., 2008). Sunulan bu çalışma sonucu olarak oleik ve LA saflaştırılmasında aseton (50 g/L) ve -70°C kullanımının uygun olduğu tespit edilmiş ve daha yüksek miktarlarda üretim yapılarak -70°C'de 2 gün bekletildikten sonra kristal oluşturan faz uzaklaştırılarak %98,46±0,01 saflıkta LA fazı elde edilmiştir.

## 4.2 Kimyasal Yolla KLA Üretimi

### 4.2.1 Kimyasal yolla gerçekleştirilen izomerizasyon sonuçları

KLA üretiminin optimizasyonu çalışmaları kapsamında kimyasal yolla üretilen KLA karışımlarının KLA içerikleri Çizelge 4.5'de, sıcaklık ve sürenin etkisi ise Şekil 4.1-Şekil

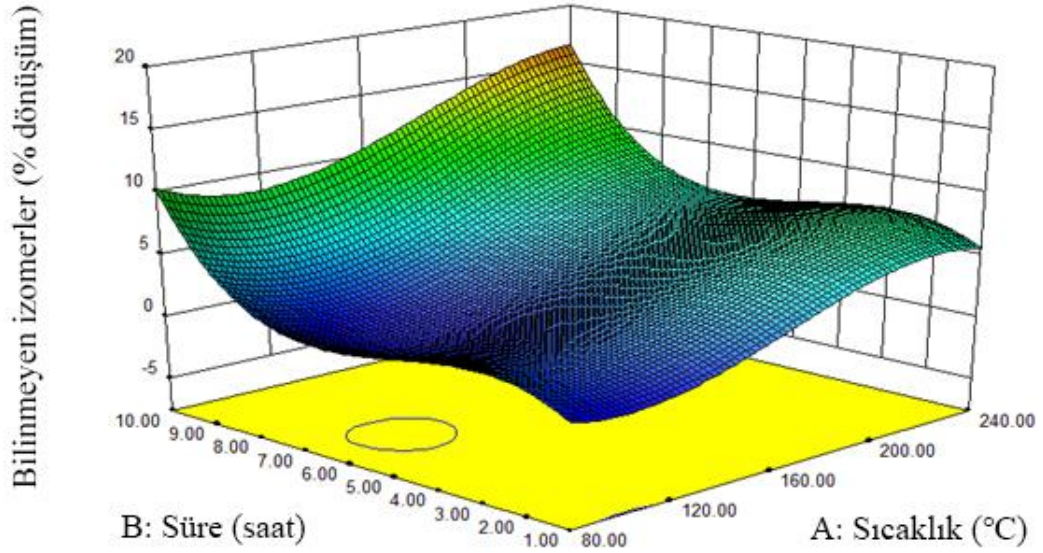
4.4’de verilmiştir. Şekillerden görüldüğü üzere sıcaklık ve sürenin artışı ile tüm KLA izomerlerinin oluşum miktarları artmaktadır.

Ek-A’da verilen ANOVA analizlerinden görüldüğü üzere tüm sonuçlar için “P değeri” 0,0001’den daha küçük çıkmıştır. Dolayısıyla kullanılan D-Optimal Cubic model bu çalışma için uygun bulunmuştur.

**Çizelge 4.5.** Kimyasal yolla LA’dan % KLA dönüşüm oranları (D-Optimal Cubic model)

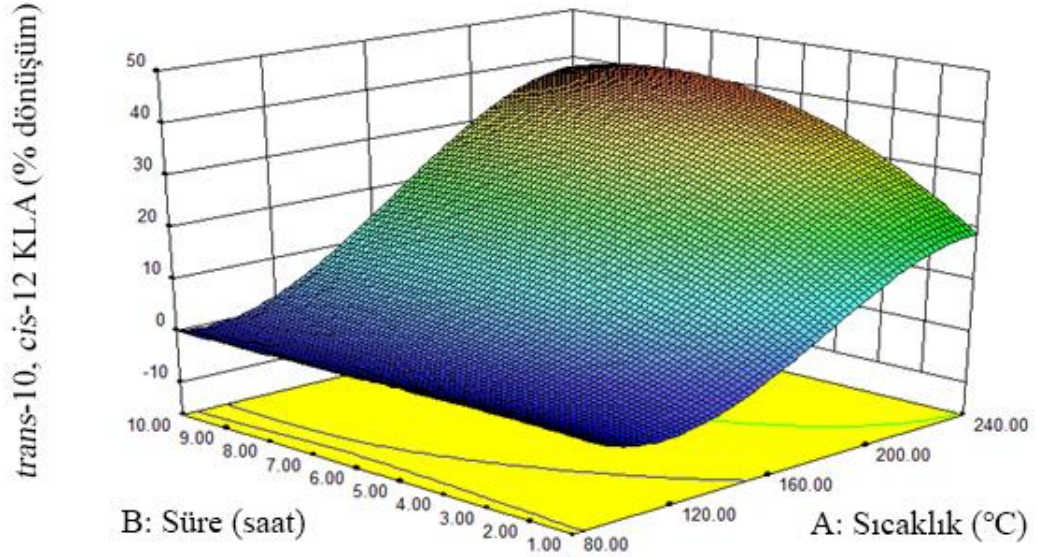
Sıra	Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Toplam KLA Dönüşümü (%)	10 <i>trans</i> -12 <i>cis</i> KLA (%)	9 <i>cis</i> -11 <i>trans</i> KLA (%)	Diğer izomerler (%)
1	80	1	0,802	0,087	0,097	0,618
2	120	1	1,190	0,268	0,085	0,838
3	160	1	5,197	2,021	1,905	1,270
4	200	1	24,384	9,491	8,989	5,904
5	240	1	48,437	21,384	20,363	6,690
6	80	4	2,626	0,291	0,354	1,981
7	120	4	4,412	1,349	1,236	1,826
8	120	4	4,294	1,303	1,194	1,798
9	160	4	21,965	10,424	9,893	1,649
10	200	4	66,790	28,943	29,952	7,895
11	200	4	66,518	28,961	29,652	7,904
12	240	4	72,598	35,021	34,594	2,982
13	80	6	1,293	0,249	0,269	0,775
14	80	6	1,317	0,257	0,277	0,783
15	120	6	4,337	1,907	1,521	0,908
16	160	6	28,154	14,736	12,172	1,246
17	200	6	72,648	33,791	34,922	3,935
18	240	6	85,846	37,791	39,062	8,993
19	240	6	85,451	37,956	38,536	8,959
20	80	8	4,550	2,010	1,610	0,930
21	120	8	16,837	10,268	6,181	0,388
22	160	8	31,843	13,915	13,247	4,681
23	160	8	31,666	13,767	13,277	4,621
24	200	8	76,617	33,504	33,896	9,217
25	240	8	87,973	42,540	43,150	2,283
26	80	10	11,597	0,321	0,315	10,961
27	120	10	15,240	1,681	1,590	11,970
28	160	10	36,617	15,611	14,934	6,071
29	200	10	86,340	35,588	36,212	14,540
30	240	10	93,437	36,866	37,469	19,102

Süre ve sıcaklık arttıkça kimyasal yolla üretilen bilinmeyen KLA izomerleri Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde süre ve sıcaklık artışında bilinmeyen KLA izomerlerinin de artış gösterdiği belirlenmiştir. Artış doğrusal bir artış değildir. 1-6 saatlik periyotta çok az bilinmeyen KLA izomeri artışı gözlenirken 6 saatten sonra hızlı bir şekilde doğrusal artış gözlenmiştir.



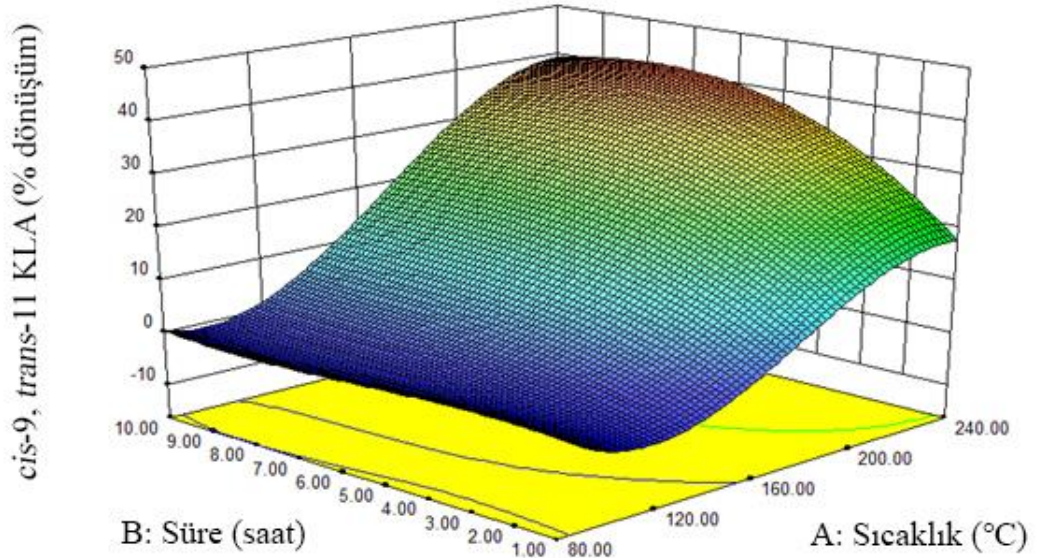
**Şekil 4.1.** Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin bilinmeyen KLA izomerlerinin oluşumundaki etkisi

Süre ve sıcaklık arttıkça kimyasal yolla üretilen *10trans-12cis* KLA izomerleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde süre ve sıcaklık artışında *10trans-12cis* KLA izomerlerinin de artış gösterdiği belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda süre ile *10trans-12cis* KLA izomerlerinde artış gözlenmez iken, yüksek sıcaklıklarda doğrusal bir artış gözlenmiştir.



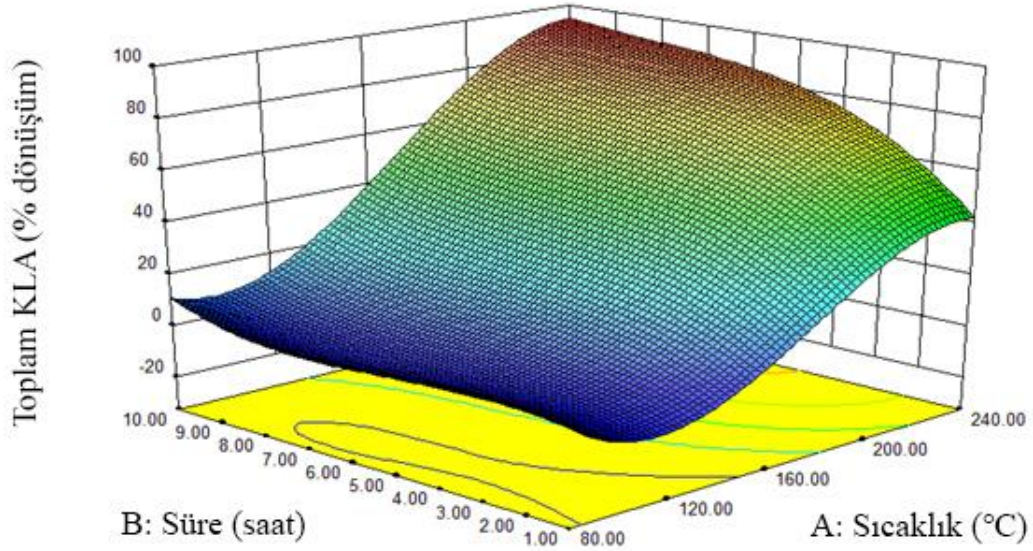
**Şekil 4.2** Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin *10trans-12cis* KLA oluşumundaki etkisi

Süre ve sıcaklık arttıkça kimyasal yolla üretilen *9cis-11trans* KLA izomerleri Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde süre ve sıcaklık artışında *9cis-11trans* KLA izomerlerinin de artış gösterdiği belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda süre ile *9cis-11trans* KLA izomerlerinde artış gözlenmez iken, yüksek sıcaklıklarda doğrusal bir artış gözlenmiştir.



**Şekil 4.3.** Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin *9cis-11trans* KLA izomeri oluşumundaki etkisi

Süre ve sıcaklık arttıkça kimyasal yolla toplam KLA izomerleri Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde süre ve sıcaklık artışında toplam KLA izomerlerinin de artış gösterdiği belirlenmiştir. Düşük sıcaklıklarda süre toplam KLA izomerlerinde artış gözlenmez iken, yüksek sıcaklıklarda doğrusal bir artış gözlenmiştir.



**Şekil 4.4.** Kimyasal yolla KLA üretiminde sıcaklık ve sürenin toplam KLA izomerleri oluşumundaki etkisi

Optimizasyon çalışmalarında en yüksek KLA üretiminin yanı sıra en yüksek oranda sağlığa faydası kanıtlanmış olan KLA izomerlerinin (*10trans-12cis+9cis-11trans* KLA) üretimi, bilinmeyen izomerlerin ise en az düzeyde kalması amaçlanmıştır. Bu nedenle Design Expert programı ile yüksek oranda *10trans-12cis+9cis-11trans* KLA üretimi hedeflenmiş ve Çizelge 4.6.’da Design Expert programı ile belirlenmiş kimyasal yolla en yüksek *10trans-12cis+9cis-11trans* KLA izomerlerinin üretiminin gerçekleştirilebilmesi için en uygun koşullar hesaplanmıştır.

Design Expert programı ile hesaplanan sonuçların doğrulamasının yapılması amacıyla Çizelge 4.6’da hesaplanan sıcaklık ve süreler kullanılarak kimyasal yolla üretimler yapılmış ve sonuçları Çizelge 4.7.’de sunulmuştur.

**Çizelge 4.6.** Kimyasal yolla yüksek oranda *10trans-12cis+9cis-11trans* KLA izomerlerinin üretiminin gerçekleştirilebilmesi için en uygun koşullar

Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Toplam KLA Dönüşümü (%)	Diğer izomerler (%)	<i>10trans-12cis+9cis-11trans</i> KLA oranı (%)
240	6	86,605	6,222	80,382
240	8	88,773	6,143	82,630
240	4	77,335	7,168	70,166
200	6	67,650	5,091	62,558
200	8	71,915	6,543	65,372

**Çizelge 4.7.** Kimyasal yolla yüksek oranda *10trans-12cis+9cis-11trans* KLA izomerlerinin üretiminin gerçekleştirilebilmesi için en uygun koşulların doğrulaması

Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Toplam KLA Dönüşümü (%)	Diğer izomerler (%)	<i>10trans-12cis+9cis-11trans</i> KLA oranı (%)
240	6	87,23	6,482	80,749
240	8	88,89	6,21	82,68
240	4	78,43	7,368	71,066
200	6	66,85	5,691	61,158
200	8	71,82	6,943	64,872

Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere program ile hesaplanan ve bulunan sonuçlar birbirine oldukça yakındır ve hem yüksek oranda KLA hem de yüksek oranda yararlı izomerler üretmek için 240°C sıcaklıkta 8 saat kimyasal izomerizasyon işlemi yapılması gereklidir. Bir sonraki aşamada kitle üretimi için bu değerler kullanılmıştır.

KLA ticari olarak çoğunlukla LA'nın alkali izomerizasyonu ile üretilmekte olup bu işlemde verim %90-93 aralığındadır. Ma vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada hidrolize edilmiş ayçiçeği yağının kimyasal izomerizasyonu ile %93, Kim vd. (2003) tarafından yapılan bir araştırmada ise LA içeriği %80 olan aspir yağından kimyasal izomerizasyon yoluyla %78, Goli vd. (2008) yine aspir yağından alkali izomerizasyon yoluyla %73, (Yang vd., 2002) LA'nın kimyasal izomerizasyonu ve risinoleik asitin kimyasal dehidrasyonu sonucunda risinoleik asitten %77-88, LA'dan ise %90 KLA dönüşümü gerçekleştirmişlerdir.

KLA üretiminde fotokimyasal bir yöntem izlemiş olan Gangidi ve Proctor (2004), soya yağından 90-91 saatte %0,61 *9cis-11trans* ve %0,59 *10trans-12cis* izomerlerini içeren bir

yağ üretilmiştir. Jain vd. (2008) tarafından pilot ölçekte yapılan başka bir araştırmada ise fotokimyasal işlemler ile soya yağının KLA içeriği 22 g/100 g oranına kadar yükseltilebilmiştir. Ancak toplam KLA'nın sadece 0,85 g'ının *9cis-11trans*, 1,11 g'ının *9trans-11cis + 10cis-12trans* ve 0,85 g'ının *10trans-12cis* KLA izomerlerinden oluştuğu, geriye kalan 19,19 g'lık kısmın biyolojik olarak etkisi kanıtlanmayan izomerlerden oluştuğu bildirilmiştir.

Son yıllarda yapılan bir araştırmada ise Liu vd. (2017) Ru destekli kimyasal izomerizasyon işlemi uyguladıkları hidrolize edilmemiş pamuk yağında bulunan LA'nın %51,3 oranında izomerizasyona uğrayarak KLA'ya dönüştüğünü belirlemiştir.

Sunulan bu çalışmada da kimyasal yolla KLA üretiminde ortamdaki LA'nın yüksek oranda izomerizasyona uğrayarak KLA izomerlerine dönüştüğü belirlenmiştir. Sıcaklığın ve sürenin yüksek olması ile literatürdekine benzer şekilde daha fazla (>%90) KLA oluşumu gözlenmiştir. Diğer taraftan sağlığa faydalı olduğu kanıtlanmış KLA izomerlerinden *10trans-12cis* ve *9cis-11trans* KLA izomerlerinin oluştuğu ancak sağlığa faydalı bir diğer izomer olan *trans-9,trans-11* KLA'nın oluşmadığı (iz miktarda) belirlenmiştir. Aynı zamanda sıcaklık ve sürenin artması ile tanımlanamayan ve sağlığa faydası kanıtlanmayan izomerlerin daha fazla miktarlarda oluşum gösterdiği belirlenmiştir.

#### **4.3 Düşük Sıcaklıkta Kristalizasyon Yoluyla KLA'nın Saflaştırılması**

Bu aşamada KLA içeren karışım farklı çözümler (aseton, petrol, eter, kloroform) içerisinde çözüldürüldükten (5 g/100mL) sonra sırasıyla 0, -10, -25, -50, -70 ve -85°C'lik sıcaklıklarda 24 saat bekletilmiş ve kristalleşme gözlenen örnekler filtre edilerek oluşan kristaller ayrılmıştır.

Kimyasal yolla üretilen örneklerin çözümler içerisinde 0, -10 ve -25°C sıcaklıklarda kristalizasyonu gerçekleşmemiştir. Bunun nedeni üretilen örneklerde erime noktası düşük olan KLA izomerlerinin bulunmaması olabilir. Ancak Çizelge 4.8'de görüldüğü üzere çözümler olarak aseton (5 g/100mL) kullanıldığında -55 °C'de örneğin %38,06'sının katıldığı ve %90,96 sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %3,08 oranında bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği tespit edilmiştir. Eksi 55 °C'de oluşan kristaller

ayrıldıktan sonra soğutma işlemine devam edilmiş olup -70 °C’de %33,66 verimle %85,42 oranında sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %4,69 oranında bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği, -85°C’de ise çok düşük bir verimle (%2,46) %71,75 sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %5,51 bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği, -85 °C’de katılaşmayan son ürünün ise %43,52 sağlığa yararlı izomerleri, %4,52 bilinmeyen izomerleri ve %51,96 LA (KLA’ya dönüştürülemeyen) içerdiği tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.8.** Kimyasal yolla üretilen KLA’nın saflaştırılmasında aseton kullanımı ile elde edilen fraksiyonların yağ asidi bileşimleri

% Yağ Asitleri	İlk Örnek	-55°C Katı	-70°C Katı	-85°C Katı	-85°C Sıvı
<b>Linoleik asit</b>	12,25±0,028	5,96±0,052	9,89±0,278	22,74±0,105	51,96±0,178
<b>Bilinmeyen KLA</b>	6,39±0,063	3,08±0,042	4,69±0,169	5,51±0,007	4,52±0,005
<b>10trans-12cis KLA</b>	40,92±0,002	63,58±0,024	28,78±0,183	27,62±0,010	14,27±0,015
<b>9cis-11trans KLA</b>	40,45±0,031	27,38±0,013	56,64±0,293	44,12±0,101	29,25±0,159
<b>Toplam KLA</b>	87,75±0,028	94,04±0,052	90,11±0,278	77,26±0,105	48,04±0,178
<b>10trans-12cis+ 9cis-11trans KLA</b>	81,37±0,036	90,96±0,010	85,42±0,110	71,75±0,112	43,52±0,173
	% Verim	38,06±0,009	33,66±0,007	2,46±0,030	25,87±0,029

Çözücü olarak metanol (5 g/100mL) kullanıldığında ise -55 °C’de örneğin %36,87’sinin katılaştığı ve %89,47 sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %3,19 oranında bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği tespit edilmiştir. Eksi 55°C’de katılaşan kısım ayrıldıktan sonra gerçekleştirilen soğutma işleminde -70 °C’de daha az bir verimle (%22,66) %79,79 oranında sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %6,19 oranında bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği, -85 °C’de ise düşük bir verimle (%11,15) %77,41 sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %5,59 bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği, -85 °C’de katılaşmayan son ürünün ise %57,35 sağlığa yararlı izomerleri, %4,49 bilinmeyen izomerleri ve %38,16 LA (KLA’ya dönüştürülemeyen) içerdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.9.).

**Çizelge 4.9.** Kimyasal yolla üretilen KLA'nın saflaştırılmasında metanol kullanımı ile elde edilen fraksiyonların yağ asidi bileşimleri

% Yağ Asitleri	İlk Örnek	-55°C Katı	-70°C Katı	-85°C Katı	-85°C Sıvı
<b>Linoleik asit</b>	12,25±0,028	7,35±0,000	14,02±0,000	17,00±0,000	38,16±0,000
<b>Bilinmeyen KLA</b>	6,39±0,063	3,19±0,148	6,19±0,174	5,59±0,074	4,49±0,031
<b>10trans-12cis KLA</b>	40,92±0,000	47,34±0,098	37,21±0,082	35,67±0,050	25,79±0,011
<b>9cis-11trans KLA</b>	40,44±0,036	42,12±0,050	42,58±0,092	41,73±0,024	31,56±0,020
<b>Toplam KLA</b>	87,75±0,028	92,65±0,000	85,98±0,000	83,01±0,000	61,84±0,000
<b>10trans-12cis+ 9cis-11trans KLA</b>	81,37±0,036	89,47±0,148	79,79±0,174	77,41±0,074	57,35±0,031
	% Verim	36,87±0,003	22,26±0,022	11,15±0,022	29,72±0,040

Çözücü olarak petrol eter (5 g/100mL) kullanılarak gerçekleştirilen fraksiyonlama işlemi sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiş olup -55 °C'de örneğin %73,45'inin kristal oluşturduğu ve %86,24 sağlığa yararlı olduğu bilinen KLA izomerleri ve %4,15 oranında bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği tespit edilmiştir. Eksi 55 °C'de katılaştıran yağ asitleri uzaklaştırıldıktan sonra yapılan soğutma işleminde -70 °C'de ise çok az bir verimle (%8,75) %78,19 oranında sağlığa yararlı KLA izomerleri ve %6,73 oranında bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği, devamında yapılan -85 °C'ye soğutma sonucunda daha düşük bir verimle (%7,43) %63,97 sağlığa yararlı KLA izomerleri ve %5,38 bilinmeyen KLA izomerleri içerdiği, -85 °C'de katılaşmayan son ürünün ise %20,74 sağlığa yararlı izomerleri, %4,46 bilinmeyen izomerleri ve %74,80 LA (KLA'ya dönüştürülemeyen) içerdiği tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.10.** Kimyasal yolla üretilen KLA'nın saflaştırılmasında petrol eter kullanımı ile elde edilen fraksiyonların yağ asidi bileşimleri

% Yağ Asitleri	İlk Örnek	-55°C Katı	-70°C Katı	-85°C Katı	-85°C Sıvı
<b>Linoleik asit</b>	12,25±0,028	9,61±0,139	15,08±0,066	30,64±0,164	74,80±0,196
<b>Bilinmeyen KLA</b>	6,39±0,063	4,15±0,150	6,73±0,088	5,38±0,139	4,46±0,060
<b>10trans-12cis KLA</b>	40,92±0,000	44,97±0,024	28,62±0,002	20,45±0,050	6,48±0,155
<b>9cis-11trans KLA</b>	40,44±0,036	41,26±0,013	49,57±0,020	43,53±0,025	14,27±0,019
<b>Toplam KLA</b>	87,75±0,028	90,39±0,139	84,92±0,066	69,36±0,164	25,20±0,196
<b>10trans-12cis+ 9cis-11trans KLA</b>	81,37±0,036	86,24±0,011	78,19±0,022	63,97±0,025	20,74±0,136
	% Verim	73,45±0,041	8,75±0,025	7,43±0,008	10,41±0,008

## BÖLÜM V

### SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında kimyasal yolla KLA üretiminde optimum koşullar belirlenmiş, kimyasal yolla üretilen KLA izomerleri arasındaki farklılık saptanmış ve düşük sıcaklıkta kristalizasyon uygulaması ile KLA saflaştırılmıştır.

Bu çalışma kapsamında KLA üretiminde gerekli olan LA kaynağı olarak aspir yağı kullanılmış olup hidrolize edilen aspir yağı aseton (50 g/L) içinde çözülmesi ve sırasıyla -25, -40, -55 ve -70°C'de 24'er saat bekletilerek her sıcaklıkta kristal oluşturan fazlar uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen kristal oluşturmeyen fazın çözgeninden ayrılması sonucunda KLA üretimi için substrat olan LA içeriği yüksek ürün (>%98) elde edilmiş ve kimyasal yolla KLA üretiminin optimizasyonu çalışmalarında bu ürün kullanılmıştır.

Farklı sıcaklık ve sürelerde yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda aspir yağından kimyasal yolla KLA üretiminde sağlığa faydalı olduğu kabul edilen izomerlerin en yüksek düzeyde üretimi için 240°C sıcaklıkta 8 saat kimyasal izomerizasyon işlemi yapılması gerekli olduğu belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise kimyasal yolla üretilen KLA içeriği yüksek son ürünler saflaştırılmak amacıyla farklı çözgenler ile çözülmüş ve düşük sıcaklık kristalizasyon yöntemi kullanılarak %90'ın üzerinde saflık değerine sahip son ürün eldesi sağlanmıştır.

Sonuç olarak, kimyasal yolla KLA üretimi, fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi için yeni fırsatlar sağlamaktadır. Dolayısıyla fonksiyonel özellikleri daha üstün ve sağlık açısından daha faydalı izomerler üreteceğinden, kimyasal yolla KLA üretiminin aktif olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir. Ancak fonksiyonel özelliklerinden dolayı tüketimi tavsiye edilen KLA'nın kimyasal yolla üretimi sonucunda oluşan izomerler sağlık üzerine etkisi tam olarak bilinmeyen KLA izomerlerini de içermektedir. Bu nedenle kimyasal üretim sonrasında saflaştırma işleminin etkin bir şekilde uygulanması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

Adlof, R. O., Duval, S. and Emken, E. A., "Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans", *Lipids* 35(2), 131-135, 2000.

Albers, R., Van der Wielen, R. P. J., Brink, E. J., Hendriks, H. F. J., Dorovska-Taran, V. N. and Mohede, I. C. M., "Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) isomers on immune function in healthy men", *European Journal of Clinical Nutrition* 57(4), 595-603, 2003.

Aydın, R., "Conjugated linoleic acid: chemical structure, sources and biological properties", *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 29(2), 189-195, 2005.

Babaoğlu, M., Aspir ve Tarımı, *Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü*, Edirne, 2007.

Babaoğlu, M., Dünya’da ve Türkiye’de Aspir Bitkisinin Tarihi, Kullanım Alanları ve Önemi, *Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, Edirne, 2014.

Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A. and Griinari, J. M., "Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants", *Journal of Animal Science* 77(1), 1-15, 2000.

Belury, M. A., Mahon, A. and Banni, S., "The conjugated linoleic acid (CLA) isomer, t10c12-CLA, is inversely associated with changes in body weight and serum leptin in subjects with type 2 diabetes mellitus", *The Journal of Nutrition* 133(1), 257-260, 2003.

Benito, P., Nelson, G. J., Kelley, D. S., Bartolini, G., Schmidt, P. C. and Simon, V., "The effect of conjugated linoleic acid on plasma lipoproteins and tissue fatty acid composition in humans", *Lipids* 36(3), 229-236, 2001.

Beppu, F., Hosokawa, M., Tanaka, L., Kohno, H., Tanaka, T. and Miyashita, K., "Potent inhibitory effect of trans-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid on the growth of human colon cancer cells", *The Journal of Nutritional Biochemistry* 17(12), 830-836, 2006.

Bessa, R. J. B., Santos-Silva, J., Ribeiro, J. M. R. and Portugal, A. V., "Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers", *Livestock Production Science* 63(3), 201-211, 2000.

Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J. and Fernandes, G., "Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease", *The Journal of Nutritional Biochemistry* 17(12), 789-810, 2006.

Blankson, H., Stakkestad, J. A., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J. and Gudmundsen, O., "Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans", *The Journal of Nutrition* 130(12), 2943-2948, 2000.

Body, D. R. and Shorland, F. B., "The geometric isomers of conjugated octadecadienoates from dehydrated methyl ricinoleate", *Journal of the American Oil Chemists Society* 42(1), 5-8, 1965.

Bolukbaşı, S. C., "Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on broiler performance, serum lipoprotein content, muscle fatty acid composition and meat quality during refrigerated storage", *British Poultry Science* 47(4), 470-476, 2006.

Chamruspollert, M. and Sell, J. L., "Transfer of dietary conjugated linoleic acid to egg yolks of chickens", *Poultry Science* 78(8), 1138-1150, 1999.

Cherian, G., Goeger, M. P. and Ahn, D. U., "Dietary conjugated linoleic acid with fish oil alters yolk n-3 and trans fatty acid content and volatile compounds in raw, cooked, and irradiated eggs", *Poultry science* 81(10), 1571-1577, 2002.

Chin, S. F., Liu, W., Storkson, J. M., Ha, Y. L. and Pariza, M. W., "Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens", *Journal of Food Composition And Analysis* 5(3), 185-197, 1992.

Cho, H. J., Kim, W. K., Jung, J. I., Kim, E. J., Lim, S. S., Kwon, D. Y. and Park, J. H. Y., "Trans-10, cis-12, not cis-9, trans-11, conjugated linoleic acid decreases ErbB3 expression in HT-29 human colon cancer cells", *World Journal of Gastroenterology: WJG* 11(33), 5142-5150, 2005.

Christie, W. W., The analysis of fatty acids, In: Gas Chromatography and Lipids A Practical Guide, *The American Oil Chemists Society*, Scotland, 1989.

Cook, M. E., Miller, C. C., Park, Y. and Pariza, M., "Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression", *Poultry Science* 72(7), 1301-1305, 1993.

Çelenk, V. U., Konjuge linoleik asit ve L-karnitin içeren sıvı dozaj formunun geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 33, 2015.

Çelik, L., "Kanatlı hayvanların beslenmesinde verim artışı sağlayıcı ve ürün kalitesini iyileştirici doğal-organik etkilil maddeler", *Yem Magazin* 47, 51-55, 2007.

De Deckere, E. A. M., Van Amelsvoort, J. M. M., McNeill, G. P. and Jones, P., "Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster", *British Journal of Nutrition* 82(4), 309-317, 1999.

DeLany, J. P., Blohm, F., Truett, A. A., Scimeca, J. A. and West, D. B., "Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake", *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 276(4), 1172-1179, 1999.

Demir, A. S. and Talpur, F. N., "Chemoenzymatic conversion of linoleic acid into conjugated linoleic acid", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(3), 1646-1652, 2010.

Du, M. and Ahn, D. U., "Effect of dietary conjugated linoleic acid on the growth rate of live birds and on the abdominal fat content and quality of broiler meat", *Poultry Science* 81(3), 428-433, 2002.

Eryılmaz, T., Cesur, C., Yeşilyurt, M. K. ve Aydın, E., "Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), Remzibey-05 tohum yağı metil esteri: potansiyel dizel motor uygulamaları için yakıt özellikleri", *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 1(1), 85-90, 2014.

Frankel, J. S., Stoneburner, W. and Brown, J. B., "Studies on the chemistry of the fatty acids. XI. the isolation of linoleic acid from vegetable oils by low temperature crystallization", *Journal of the American Chemical Society* 65(2), 259-262, 1943.

Fritsche, J. and Steinhart, H., "Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake", *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A* 206(2), 77-82, 1998.

Gangidi, R. R. and Proctor, A., "Photochemical production of conjugated linoleic acid from soybean oil", *Lipids* 39(6), 577-582, 2004.

Goli, S. A. H., Kadivar, M., Keramat, J. and Fazilati, M., "Conjugated linoleic acid (CLA) production and lipase-catalyzed interesterification of purified CLA with canola oil", *European Journal of Lipid Science and Technology* 110(5), 400-404, 2008.

Griinari, J. M. and Bauman, D. E., "Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants", *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research* 1(1), 180-200, 1999.

Gultemirina, M. L., Nieuwenhove, C. V., Chaia, A. P. and Apelia, M. C., "Physical and chemical characterization of eggs from Araucana hens of free ranged in Argentina", *The Journal of Organic Chemistry* 97, 19-30, 2009.

Gunstone, F. D., McLaughlan, J., Scrimgeour, C. M. and Watson, A. P., "Improved procedures for the isolation of pure oleic, linoleic, and linolenic acids or their methyl esters from natural sources", *Journal of the Science of Food and Agriculture* 27(7), 675-680, 1976.

Ha, Y. L., Grimm, N. K. and Pariza, M. W., "Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid", *Carcinogenesis* 8(12), 1881-1887, 1987.

Ha, Y. L., Grimm, N. K. and Pariza, M. W., "Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(1), 75-81, 1989.

Ha, Y. L., Storkson, J. and Pariza, M. W., "Inhibition of benzo (a) pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid", *Cancer Research* 50(4), 1097-1101, 1990.

Hah, K. H., Yang, H. S., Hur, S. J., Moon, S. S., Ha, Y. L., Park, G. B. and Joo, S.-T., "Effect of substituted conjugated linoleic acid for fat on meat qualities, lipid oxidation and residual nitrite content in emulsion-type sausage", *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 19(5), 744-750, 2006.

Herbel, B. K., McGuire, M. K., McGuire, M. A. and Shultz, T. D., "Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans", *The American Journal of Clinical Nutrition* 67(2), 332-337, 1998.

Huang, Y., Yanagita, T., Nagao, K. and Koba, K., Biological effects of conjugated linoleic acid, In: Fatty Acids in Foods and Their Health Implications, *CRC Press*, Boca Raton, Florida, USA, 2008.

Hur, S. J., Park, G. B. and Joo, S. T., "Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products", *Livestock Science* 110(3), 221-229, 2007.

Hwangbo, J., Kim, J. H., Lee, B. S., Kang, S. W., Chang, J., Bae, H., Lee, M. S., Kim, Y. J. and Choi, N., "Increasing content of healthy fatty acids in egg yolk of laying hens by cheese byproduct", *Asian Australasian Journal Of Animal Sciences* 19(3), 444-449, 2006.

İnanç, N., "Konjuge linoleik asit: obezitede etkileri", *Sağlık Bilimleri Dergisi* 5(2), 37-41, 2006.

Ip, C., Chin, S. F., Scimeca, J. A. and Pariza, M. W., "Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid", *Cancer Research* 51(22), 6118-6124, 1991.

Ip, C., Scimeca, J. A. and Thompson, H., "Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention", *Nutrition and Cancer* 24(3), 241-247, 1995.

Jain, V. P., Proctor, A. and Lall, R., "Pilot-scale production of conjugated linoleic acid-rich soy oil by photoirradiation", *Journal of Food Science* 73(4), 183-192, 2008.

Keim, N. L., Conjugated linoleic acid and body composition, In: Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, *American Oil Chemists Society Press*, Champaign, Illinois, USA, 2003.

Kelly, G. S., "Conjugated linoleic acid: a review", *Alternative Medicine Review* 6(4), 367-367, 2001.

Kepler, C. R., Hirons, K. P., McNeill, J. J. and Tove, S. B., "Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by butyrvibrio fibrisolvens", *Journal of Biological Chemistry* 241(6), 1350-1354, 1966.

Khanal, R. C., "Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA): A review", *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 17(9), 1315-1328, 2004.

Kim, Y. J., Lee, K. W., Lee, S., Kim, H. and Lee, H. J., "The production of high-purity conjugated linoleic acid (CLA) using two-step urea-inclusion crystallization I and hydrophilic arginine-cla complex", *Journal of food science* 68(6), 1948-1951, 2003.

Kim, Y. J. and Liu, R. H., "Selective increase in conjugated linoleic acid in milk fat by crystallization", *Journal of Food Science* 64(5), 792-795, 1999.

Kurban, S. ve Mehmetoğlu, İ., "Konjuge linoleik asit metabolizması ve fizyolojik etkileri", *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 4(2), 89-100, 2006.

Lai, K. L., Torres-Duarte, A. P. and Vanderhoek, J. Y., "9-trans, 11-trans-CLA: Antiproliferative and proapoptotic effects on bovine endothelial cells", *Lipids* 40(11), 1107-1116, 2005.

Lee, H. Y., Park, J. H., Seok, S. H., Baek, M. W., Kim, D. J., Lee, K. E., Paek, K. S., Lee, Y. and Park, J. H., "Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice", *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1761(7), 736-744, 2006.

Lee, K. N., Kritchevsky, D. and Pariza, M. W., "Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits", *Atherosclerosis* 108(1), 19-25, 1994.

Liu, S., Wang, Z., Xu, X., Ding, Y. and Guo, Z., "Production of conjugated linoleic acid-rich cottonseed oil by supported Ru catalyzed isomerization", *Industrial Crops and Products* 97, 10-20, 2017.

Ma, D. W. L., Wierzbicki, A. A., Field, C. J. and Clandinin, M. T., "Preparation of conjugated linoleic acid from safflower oil", *Journal of the American Oil Chemists Society* 76(6), 729-730, 1999.

Miller, C. C., Park, Y. M. W. P., Pariza, M. W. and Cook, M. E., "Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection", *Biochemical and Biophysical Research Communications* 198(3), 1107-1112, 1994.

Mir, Z., Goonewardene, L. A., Okine, E., Jaegar, S. and Scheer, H. D., "Effect of feeding canola oil on constituents, conjugated linoleic acid (CLA) and long chain fatty acids in goats milk", *Small Ruminant Research* 33(2), 137-143, 1999.

Muller, L. D. and Delahoy, J. E., Conjugated Linoleic Acid (CLA) Implications for Animal Production and Human Health, *Department of Dairy and Animal Science The Pennsylvania State University*, Pennsylvania, USA, 2008.

Mulvihill, B., "Ruminant meat as a source of conjugated linoleic acid (CLA)", *Nutrition Bulletin* 26(4), 295-299, 2001.

Nicolosi, R. J., Rogers, E. J., Kritchevsky, D., Scimeca, J. A. and Huth, P. J., "Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters", *Artery* 22(5), 266-277, 1997.

Noone, E. J., Roche, H. M., Nugent, A. P. and Gibney, M. J., "The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects", *British Journal of Nutrition* 88(3), 243-251, 2002.

Pariza, M. W. and Hargraves, W. A., "A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz [a] anthracene", *Carcinogenesis* 6(4), 591-593, 1985.

Pariza, M. W., Park, Y. and Cook, M. E., "The biologically active isomers of conjugated linoleic acid", *Progress in Lipid Research* 40(4), 283-298, 2001.

Park, Y., Albright, K. J., Liu, W., Storkson, J. M., Cook, M. E. and Pariza, M. W., "Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice", *Lipids* 32(8), 853-858, 1997.

Park, Y., Storkson, J. M., Albright, K. J., Liu, W. and Pariza, M. W., "Evidence that the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice", *Lipids* 34(3), 235-241, 1999.

Raes, K., Balcaen, A., Claeys, E., De Smet, S. and Demeyer, D., "Effect of duration of feeding diets rich in n-3 PUFA to Belgian blue double-muscled young bulls, on the incorporation of long-chain n-3 and n-6 PUFA in the phospholipids and triglycerides of the longissimus thoracis", *The 48<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*, Rome, Italy, 25-30 August, 2002.

Rahman, M. M., Kukita, A., Kukita, T., Shobuike, T., Nakamura, T. and Kohashi, O., "Two histone deacetylase inhibitors, trichostatin A and sodium butyrate, suppress differentiation into osteoclasts but not into macrophages", *Blood* 101(9), 3451-3459, 2003.

Risérus, U., Basu, S., Jovinge, S., Fredrikson, G. N., Ärnlov, J. and Vessby, B., "Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress

and elevated C-reactive protein: a potential link to fatty acid-induced insulin resistance", *Circulation* 106(15), 1925-1929, 2002.

Ryder, J., Portocarrero, C., Song, X., Cui, L., Yu, M., Combatsiaris, T., Galuska, D., Bauman, D., Barbano, D. and Charron, M., "Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid: improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression", *Diabetes* 50(5), 1149-1157, 2001.

Schmid, A., Collomb, M., Sieber, R. and Bee, G., "Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review", *Meat Science* 73(1), 29-41, 2006.

Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M. M., Kramer, J. K., Yurawecz, M. P., Roach, J. A., Adlof, R. O., Morehouse, K. M., Fritsche, J. and Eulitz, K. D., "Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography", *Lipids* 34(4), 407-413, 1999.

Smedman, A. and Vessby, B., "Conjugated linoleic acid supplementation in humans—metabolic effects", *Lipids* 36(8), 773-781, 2001.

Suzuki, R., Noguchi, R., Ota, T., Abe, M., Miyashita, K. and Kawada, T., "Cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells", *Lipids* 36(5), 477-482, 2001.

Tricon, S., Burdge, G. C., Williams, C. M., Calder, P. C. and Yaqoob, P., "The effects of conjugated linoleic acid on human health-related outcomes", *Proceedings of the Nutrition Society* 64(2), 171-182, 2005.

Tsuzuki, T. and Kawakami, Y., "Tumor angiogenesis suppression by  $\alpha$ -eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, via peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ", *Carcinogenesis* 29(4), 797-806, 2008.

Turhaner, K. ve Özdoğan, Ö., "Konjuge linoleik asitlerin hayvan beslemedeki yeri", *Hasad Hayvancılık Dergisi* 22(263), 46-51, 2007.

Van Nieuwenhove, C. P., Teran, V. and Gonzalez, S. N., Conjugated linoleic and linolenic acid production by bacteria: development of functional foods, In: Probiotics, *InTech Press*, London, United Kingdom, 2012.

Von Loeffelholz, C., Kratzsch, J. and Jahreis, G., "Influence of conjugated linoleic acids on body composition and selected serum and endocrine parameters in resistance-trained athletes", *European Journal of Lipid Science and Technology* 105(6), 251-259, 2003.

Voorrips, L. E., Brants, H. A., Kardinaal, A. F., Hiddink, G. J., van den Brandt, P. A. and Goldbohm, R. A., "Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer", *The American journal of clinical nutrition* 76(4), 873-882, 2002.

Wahle, K. W., Heys, S. D. and Rotondo, D., "Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health?", *Progress in lipid research* 43(6), 553-587, 2004.

Wang, Y. and Jones, P. J., "Dietary conjugated linoleic acid and body composition", *The American journal of clinical nutrition* 79(6), 1153S-1158S, 2004.

Wendell, S. L., Buchan, G., Singh, B., Deshpande, R., Holguin, F., Wenzel, S. and Freeman, B. A., "Targeting obesity-driven asthma with nitrate, nitrite and conjugated linoleic acid therapy", *Free Radical Biology and Medicine*, Baltimore, Maryland, USA, 29 November-2 December, 2017.

West, D. B., Delany, J. P., Camet, P. M., Blohm, F., Truett, A. A. and Scimeca, J., "Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse", *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 275(3), R667-R672, 1998.

Wu, M., Ding, H., Wang, S. and Xu, S., "Optimizing conditions for the purification of linoleic acid from sunflower oil by urea complex fractionation", *Journal of the American Oil Chemists Society* 85(7), 677-684, 2008.

Yamasaki, M., Ikeda, A., Oji, M., Tanaka, Y., Hirao, A., Kasai, M., Iwata, T., Tachibana, H. and Yamada, K., "Modulation of body fat and serum leptin levels by dietary

conjugated linoleic acid in Sprague-Dawley rats fed various fat-level diets", *Nutrition* 19(1), 30-35, 2003.

Yang, L., Huang, Y., Wang, H. Q. and Chen, Z.-Y., "Production of conjugated linoleic acids through KOH-catalyzed dehydration of ricinoleic acid", *Chemistry and Physics of lipids* 119(1), 23-31, 2002.

Yang, T.-S. and Liu, T.-T., "Optimization of production of conjugated linoleic acid from soybean oil", *Journal of agricultural and food chemistry* 52(16), 5079-5084, 2004.

Yasui, Y., Suzuki, R., Kohno, H., Miyamoto, S., Beppu, F., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T., "*trans*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid inhibits the development of azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats", *Nutrition and cancer* 59(1), 82-91, 2007.

**Ek-A Kimyasal yolla LA'dan % KLA dönüşüm oranlarının ANOVA analizi**

<b>Response Toplam KLA</b>					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	31833,683	9,000	3537,076	96,648	< 0,0001
A-Sıcaklık (°C)	7168,988	1	7168,988	195,8894	< 0,0001
B-Süre (saat)	102,1726	1	102,1726	2,791821	0,1103
AB	708,442	1	708,442	19,35786	0,0003
A <sup>2</sup>	697,6099	1	697,6099	19,06188	0,0003
B <sup>2</sup>	168,8293	1	168,8293	4,613186	0,0442
A <sup>2</sup> B	18,27259	1	18,27259	0,49929	0,4880
AB <sup>2</sup>	291,6344	1	291,6344	7,96878	0,0105
A <sup>3</sup>	1073,022	1	1073,022	29,31984	< 0,0001
B <sup>3</sup>	103,4128	1	103,4128	2,825709	0,1083
Residual	731,9423	20	36,59712		
Pure Error	0,137919	5	0,027584		
Cor Total	32565,72	29			

<b>Response 10trans-12cis KLA</b>					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	6483,936	9,000	720,437	81,942	< 0,0001
A-Sıcaklık (°C)	1398,078	1	1398,078	159,0182	< 0,0001
B-Süre (saat)	59,42679	1	59,42679	6,759239	0,0171
AB	150,4584	1	150,4584	17,11323	0,0005
A <sup>2</sup>	120,997	1	120,997	13,76227	0,0014
B <sup>2</sup>	138,2546	1	138,2546	15,72516	0,0008
A <sup>2</sup> B	12,29357	1	12,29357	1,398278	0,2509
AB <sup>2</sup>	68,02485	1	68,02485	7,737188	0,0115
A <sup>3</sup>	180,0492	1	180,0492	20,4789	0,0002
B <sup>3</sup>	0,138886	1	0,138886	0,015797	0,9012
Residual	175,8387	20	8,791935		
Pure Error	0,025817	5	0,005163		
Cor Total	6659,682	29			

**Ek-A (Devam) Kimyasal yolla LA'dan % KLA dönüşüm oranlarının ANOVA analizi**

<b>Response 9cis-11trans KLA</b>					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	6863,5811	9,000	762,620	91,519	< 0,0001
A-Sıcaklık (°C)	1593,616	1	1593,616	191,2365	< 0,0001
B-Süre (saat)	35,24652	1	35,24652	4,229638	0,0530
AB	192,0018	1	192,0018	23,04052	0,0001
A^2	155,0926	1	155,0926	18,61136	0,0003
B^2	140,3142	1	140,3142	16,83792	0,0006
A^2B	6,140978	1	6,140978	0,736927	0,4008
AB^2	85,46582	1	85,46582	10,25604	0,0045
A^3	237,3251	1	237,3251	28,47939	< 0,0001
B^3	3,609987	1	3,609987	0,433204	0,5179
Residual	166,6644	20	8,333222		
Pure Error	0,184702	5	0,03694		
Cor Total	7030,292	29			

<b>Response Bilinmeyen İzomerler</b>					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	515,84178	9,000	57,316	8,347	< 0,0001
A-Sıcaklık (°C)	54,14653	1	54,14653	7,885265	0,0109
B-Süre (saat)	12,51678	1	12,51678	1,822797	0,1921
AB	0,244241	1	0,244241	0,035568	0,8523
A^2	8,755742	1	8,755742	1,275083	0,2722
B^2	112,5837	1	112,5837	16,39537	0,0006
A^2B	2,924167	1	2,924167	0,425841	0,5215
AB^2	0,172215	1	0,172215	0,025079	0,8758
A^3	15,46878	1	15,46878	2,252692	0,1490
B^3	62,3562	1	62,3562	9,080825	0,0069
Residual	137,336	20	6,866799		
Pure Error	0,002843	5	0,000569		
Cor Total	653,1773	29			

## ÖZ GEÇMİŞ

İbrahim Hakkı İŞLER 15.02.1985 tarihinde Konya ilinde dünyaya geldi. İlk ve ortaöğrenimini Konya’da tamamladı. 2005 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2010 yılında tamamladı. 2013 yılından beri Tarım ve Orman Bakanlığı’nda Gıda Mühendisi olarak çalışmaktadır. 2015 yılında Niğde Üniversitesi (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi) Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.



## TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER

Bu tez çalışmasından, 1 (bir) adet uluslararası makale ile 2 (iki) adet ulusal bildiri üretilmiştir. Bu üretilen çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

### Uluslararası makale (Kabul edildi)

Optimization of Conjugated Linoleic Acid Production from Safflower Oil and Purification by Low Temperature Crystallization, *Acta Alimentaria-An International Journal of Food Science*, 2018

### Bildiriler

Aspir Yağından Konjüğe Linoleik Asit Üretiminin Optimizasyonu, YABİTED III. Bitkisel Yağ Kongresi, 12-15 Nisan 2017, İzmir

Düşük Sıcaklık Kristalizasyon Yöntemi ile Konjüğe Linoleik Asitin Saflaştırılması, YABİTED III. Bitkisel Yağ Kongresi, 12-15 Nisan 2017, İzmir

