

Sulu Enzimatik Ekstraksiyon ile Fındık Yağında Verim ve Kalitenin Geliştirilmesi

Özge Ermiş , Caner Kazma , Duygu Kıbcı , Derya Kahveci 

Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 34755 İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 20.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 29.06.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): derya.kahveci@yeditepe.edu.tr (D.Kahveci)

☎ 0 216 578 04 18 📠 0 216 578 04 00

ÖZ

Son on yılda, endüstriyel yemeklik yağ üretiminde yaygın olarak kullanılan çözgen ekstraksiyon yöntemi yerine daha sağlıklı ve yağda kalite kaybını en aza indirebilecek yöntemlerin arayışı hız kazanmıştır. Sulu enzimatik ekstraksiyon, çözgen ekstraksiyon yöntemine alternatif olarak öne çıkan yöntemlerdendir. Bu çalışmada, ham fındıktan 50°C'de fındığın kütlesine göre %2 Pectinex® ya da %2 Viscozyme® enzimleri ile bu iki enzimin eşit oranda karışımı eklenerek ham yağ elde edilmiştir. Sulu enzimatik ekstraksiyon yönteminin yağ verimi ve elde edilen yağın kalite özellikleri çözgen ekstraksiyon (kloroform:metanol) yöntemi kullanılarak elde edilen yağ ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla yağların serbest asitlik ve peroksit değeri belirlenmiştir. Ham yağ ekstraksiyonu için kullanılan farklı yöntemlerin ham yağ verimi ile elde edilen yağların serbest asitlik ve peroksit değerleri üzerinde önemli bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Bu denemeler sonucunda en yüksek verim 70.74 ± 2.68 ile Pectinex® ve Viscozyme® enzimlerinin ikili karışımı ile yapılan ekstraksiyonda sağlanmıştır. En düşük serbest asitlik ve peroksit sayısı değerleri ise Viscozyme® enzimi tek başına kullanılarak elde edilen yağlarda belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yağ ekstraksiyonu, Sulu enzimatik ekstraksiyon, Selüloz, Pektinaz

Improvement of Crude Hazelnut Oil Yield and Quality by Aqueous Enzymatic Extraction

ABSTRACT

In the last decade, search for healthier methods that can minimize the loss of oil quality has increased instead of a solvent extraction method, which is commonly used in the production of edible oils in food industry. Aqueous enzymatic extraction is a potential alternative to solvent extraction. In this study, hazelnut oil was extracted from raw hazelnuts at 50°C by using 2% Pectinex®, 2% Viscozyme® or their equal mixture (2% based on hazelnut weight). The oil yield and the quality characteristics of extracted oils were compared with oils obtained by solvent extraction (chloroform:methanol). For this purpose, free acidity and peroxide values of extracted oils were determined. Results indicated that methods used for crude oil extraction had a significant effect on crude oil yield and the free acidity and peroxide values of extracted oils ($p<0.05$). The highest yield ($70.74\pm 2.68\%$) was obtained in the extraction containing equal mixtures of Pectinex® and Viscozyme®. The lowest free acidity and peroxide values were determined in oils obtained by Viscozyme® enzyme alone.

Keywords: Oil extraction, Aqueous enzymatic extraction, Cellulase, Pectinase

GİRİŞ

Fındık, *Corylus avellana* L. ailesine ait, sert kabuklu bir meyve olarak tanımlanabileceği gibi, ağaçların çekirdeğinin içerisindeki yenilebilir kısım olarak da tanımlanabilir. Fındık yetiştiriciliği, dünyada yaygınlık açısından bademden sonra ikinci sırada gelmektedir. Fındık, en yaygın olarak, Türkiye, İtalya, İspanya, Amerika Birleşik Devletleri, Çin, İran, Yunanistan, Fransa, Azerbaycan, Rusya, Kırgızistan, Portekiz, Beyaz Rusya, Moldova, Tacikistan, Gürcistan, Ukrayna, Tunus, Macaristan, Kıbrıs ve Kamerun'da yetiştirilmektedir. Son 5 yıllık süreçte dünya fındık üretimi ortalama 778 kabuklu/bin tona çıkmıştır. Türkiye, bu üretimin %68'ini (530 kabuklu/bin ton) gerçekleştirmektedir [1]. Gıda endüstrisinde iç fındığın %80'i bisküvi, şekerleme, dondurma, pasta ve tatlı yapımında kullanılmaktadır. Üretilen fındığın iç piyasada ve ihracatta değerlendirilmeyen kısmı ise yağlık fındık olarak değerlendirilmektedir [2].

Fındık yağı tekli doymamış yağ asitlerince zengin olması nedeniyle fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir. Türkiye'de üretilmiş yedi fındık çeşidi üzerinde yürütülmüş olan bir analizde, fındığın yağ asidi miktarının yetiştiği yere, kullanılan gübreye, toplanma zamanına, mevsime ve sıcaklığa göre değiştiği belirtilmiştir [3,4]. Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı verilerine göre, 100 gram fındık yağında 66.04 g toplam tekli doymamış yağ asidi, 21.7 8g çoklu doymamış yağ asidi, 7.65 g toplam doymuş yağ asidi bulunmaktadır. Ayrıca fındık yağının içeriğinde palmitik asit, stearik asit, araşidik asit, behenik asit, lignoserik asit, palmitoleik asit, oleik asit ve birçok yağ asidi bulunmaktadır. Bunların yanında 100 gram fındığın içeriğinde, insan sağlığına olumlu yönde etkisi bulunan 55.25 IU E vitamini ve 37.08 mg alfa tokoferol bulunmaktadır [5,6].

Endüstride bitkisel kaynaklardan yağ eldesi için çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin zaman alıcı olmaları (Soxhlet, ultra ses), pahalı olmaları (süperkritik ekstraksiyon), düşük verime sahip olmaları (presleme), yüksek enerji gereksinimleri, çevreye zararlı olmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır [4,7]. Devazantajları bulunmasına rağmen, çözgen ekstraksiyonu, ekspeller baskı ve hidrolik presleme endüstride en çok kullanılan yöntemlerdir. Çözgen ekstraksiyonu, hızlı olması ve yağda kalıntı bırakmaması nedeniyle tercih edilmektedir [4].

Enzimler, reaksiyonların gerçekleşebilmesi için alternatif bir metabolik yolda ilerleyip reaksiyonu gerçekleştirdikten sonra herhangi bir bozulmaya uğramadan çıkmaktadırlar. Bozulmaya uğramadıkları için, birden fazla reaksiyonda tekrar tekrar kullanılabilen ve böylelikle proses maliyetlerini düşürmektedirler. Ayrıca substrata has olmaları sayesinde yalnızca hedef reaksiyonu gerçekleştirmektedirler. Proses sonrası atık su ile doğaya karışan verimi azalmış enzimler, çevre dostu şekilde amino asitlerine ayrılıp doğaya karışmaktadırlar. Bu gibi avantajları sayesinde enzimler endüstriyel reaksiyonlarda kullanılmaktadırlar [8].

Yağlı tohumlardan yağ eldesinde sulu enzimatik ekstraksiyon teknolojisi, diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre doğaya dost olmasından dolayı tercih edilebilmektedir. Ayrıca substrata özel olmaları, yağ eldesinde verimi yükseltebilmektedir [9, 10]. Enzimatik proses, yağlı tohum hücrelerinin hücre çeperlerini veya proteinleri metabolize eder [9]. Böylelikle sulu enzim ve yağlı tohumların hidroliz edilmiş kısımları reaksiyon ortamında çöktürüldüğünde, tohumların yağ kısmı elde edilmiş olur. Fakat yağlı tohumların kompleks karbonhidrat olması ve su fazının yağ ile oluşturmuş olduğu emülsiyon sistemi sebebiyle, yağın tamamını ilk seferde ve tek enzim çeşidi ile almak mümkün olmayabilir.

Bu çalışmada, sulu enzimatik ekstraksiyonu gerçekleştirmek amacıyla ticari olarak kullanılan iki enzim çeşidi (Viscozyme® ve Pectinex®) ve bunların kombinasyonu kullanılmış olup, çözgen ekstraksiyonu ile sulu enzimatik ekstraksiyonun yağ verimleri ve elde edilen yağların kalitesi karşılaştırılmıştır. Elde edilen yağların kalite özelliklerini belirlemek amacıyla serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı değerleri ölçülmüştür.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Deneylerde Türkiye'de yetiştirilmiş, içinde taş ve toz gibi yabancı madde bulunmayan kabuksuz fındık (*Corylus avellana*) kullanılmıştır. Fındık yağı ekstraksiyonunda Novozymes (Bagscaerd, Danimarka) firmasından bağışlanan Pectinex® Ultra SP-L (ksilanaz, pektinaz ve selüloz içerir) ve Viscozyme® -L (arabinaz, selüloz, beta glukonaz, hemiselüloz ve ksilanaz içerir) enzimlerinden yararlanılmıştır. Kullanılan diğer bütün kimyasallar Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Metot

Sulu Enzimatik Yöntem İle Fındık Yağı Ekstraksiyonu

Öğütücüde (IKA A11 Basic, Almanya) öğütülen fındıktan 90 g tartılmış ve 500 mL amber şişelerde üzerine 200 mL saf su eklenerek, 1.8 g (fındık ağırlığının %2 si olacak şekilde) Viscozyme, Pectinex ve bu iki enzimin eşit oranda karışımı eşliğinde 50°C sıcaklıkta 4 saat boyunca 450 rpm hız ile karıştırma yapılarak ekstraksiyona bırakılmıştır. Belirlenen enzim konsantrasyonu, benzer çalışmalarda kullanılan aralıklar göz önüne alınarak, verimli yağ eldesini mümkün kılacak ve ekonomik üretim sağlayacak en düşük değer olarak seçilmiştir. Reaksiyon sıcaklığı, her iki enzimin optimum sıcaklık aralıkları göz önüne alınarak belirlenmiştir. Tüm ekstraksiyonlar 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Ekstraksiyon Karışımından Fındık Yağının Ayrıştırılması

Ekstraksiyon sonrasında santrifüj tüplerine alınan karışım, 20°C sıcaklıkta 8000 rpm dönüş hızında 10 dakika boyunca santrifüj işlemine (Sigma 3-30K,

Almanya) tabii tutulduktan sonra, üst fazda bulunan yağ pastör pipeti yardımıyla alınmıştır. Fındığın yapısında bulunan ve emülgatör özelliğine sahip fosfolipitler tarafından tutulan yağların alınması amacıyla karışım -20°C'de dondurulmuş ve 16 saat sonrasında çözündürme yapılarak tekrar 20°C sıcaklıkta 8000 rpm dönüş hızında 10 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve üst

fazda bulunan yağlar alınmıştır. Dondurma-çözündürme işlemleri bir kez daha tekrar edilmiş ve elde edilen bütün yağlar oksidasyonu engellemek amacıyla karanlık ortamda ve -20°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Elde edilen yağ verimini hesaplamak için 1 numaralı denklem kullanılmıştır:

$$\% \text{ Yağ verimi} = \frac{\text{Ekstraksiyon sonucu elde edilen yağ miktarı}}{\text{Ekstraksiyona giren fındık miktarı}} \times 100 \quad (1)$$

Çözgen ile Fındık Yağı Ekstraksiyonu ve Fındık Yağının Karışımından Ayırılması

Çözgen ile yağ ekstraksiyonu için Bligh & Dyer yönteminden faydalanılmıştır [11]. 90 g öğütülmüş fındık, 500 mL amber şişelerde 200 mL kloroform:metanol (2:1) karışımı eşliğinde oda sıcaklığında 450 rpm karıştırma hızı ile 2 saat boyunca karıştırılmış ve karışım pompa yardımı ve buchner hunisine filtre kağıdı yerleştirilerek süzülmüştür. Bu işlem sonrasında elde edilen karışımdaki çözgen, 45°C sıcaklıkta dönerli buharlaştırıcıda (BUCHI, Almanya) 250 mbar basınçta uzaklaştırılmış ve elde edilen fındık yağı -20°C sıcaklıkta karanlık ortamda muhafaza edilmeden önce 0.2 g sodyum sülfat eklenmiştir. Tüm ekstraksiyonlar 3 tekrarlı olacak şekilde

gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yağ verimini hesaplamak için 1 numaralı denklem kullanılmıştır.

Fındık Yağında Serbest Yağ Asidi Miktarının Belirlenmesi

Çözgen ve enzimatik ekstraksiyon sonucunda elde edilen fındık yağından 2.5 g, 50 mL hacmindeki erlene tartılmış, 50 mL etil alkol kullanılarak yağın çözünmesi sağlanmış, daha sonra 1 mL %1'lik fenoltalein indikatörü eşliğinde 0.05 N NaOH ile titrasyon yapılmıştır [12]. Serbest yağ asitliği sonucu % oleik asit cinsinden ifade edilmiş ve sonuçlar hesaplanırken 2 numaralı denklemden faydalanılmıştır. Tüm analizler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

$$\% \text{ oleik asit cinsinden serbest yağ asitliği} = \frac{V \times N \times 282}{m} \times 100 \quad (2)$$

V: Sarf edilen NaOH miktarı (mL)

N: NaOH çözeltisinin normalitesi (mol/L)

282: Oleik asitin molekül ağırlığı (g/mol)

m: Analiz edilen yağın miktarı (g)

Fındık Yağında Peroksit Miktarının Belirlenmesi

Fındık yağındaki peroksit değerinin belirlenmesinde IDF (74A:1991) metodu kullanılmıştır [13]. Öncelikle FeCl₂ çözeltisi hazırlamak için 0.2 g baryum klorür dihidrat 25 mL saf suda çözülmüştür, daha sonra bu çözelti yavaş bir şekilde ve karıştırma eşliğinde 0.25 g FeSO₄.7H₂O ve 25 mL su ile hazırlanan demir(II) sülfat çözeltisine eklenmiştir. Bu işlemin devamında, bu çözeltiye 2 mL 10 N HCl eklenmesi sonucu çöken baryum sülfat filtre kağıdıyla 3 kez süzülmüş, böylece berrak bir demir (II) çözeltisi elde edilmiştir. Elde edilen bu demir (II) çözeltisi amber şişe ve karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir. Diğer taraftan analizde kullanılan başka bir çözelti olan amonyum tiyosiyanat çözeltisini hazırlamak için 1.5 g amonyum tiyosiyanat saf suda çözülmüş ve hacmi 5 mililitreye tamamlanmıştır. Fındık yağının peroksit sayısını belirlemek için cam bir tüpe 0.3 g fındık yağı tartılmış, üzerine 9.8 mL kloroform:metanol (7:3, v/v) çözeltisi eklendikten sonra 2-4 saniye vortekle karıştırılmıştır. Daha sonra bu çözeltiye 50 µL amonyum tiyosiyanat çözeltisi eklenerek tekrar 2-4 saniye vortekste karıştırıldıktan sonra üzerine 50 µL demir (II) çözeltisi eklenerek bir kez daha vortekste 2-4 saniye karıştırma işlemi yapılmıştır. Son olarak, bu karışım 5 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiş ve 500 nm dalga boyunda yağ hariç bütün kimyasalları içeren kör çözeltiye karşı spektrofotometrede (Thermo Evolution

220, Almanya) analiz edilmiş ve absorpsiyon değerleri belirlenmiştir. Bütün bu işlemler loş ışıkta, 10 dakika içinde ve 3 paralelli olarak yapılmıştır. Peroksit sayısının hesaplanmasında 3 numaralı denklemden faydalanılmıştır:

$$\text{Peroksit Sayısı} = \frac{(A_s - A_b) \times m}{55.84 \times m_o \times 2} \quad (3)$$

A_s: Yağ örneğinin absorpsiyon değeri

A_b: Kör çözeltinin absorpsiyon değeri

m: Kalibrasyon eğrisinin eğimi (Bu IDF metoduna göre 41.52 olarak belirlenmiştir.)

55.84: Demir elementinin molekül ağırlığı (g/mol)

m_o: Yağ örneğinin miktarı (g)

İstatistiksel analiz

Tüm deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmış ve sonuçlar ortalamaya±standart sapma olarak verilmiştir. Farklı yöntemlerle elde edilen verim, serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı değerleri, SPSS programında ANOVA testine tabii tutulmuş ve p<0.05 düzeyinde farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu kabul edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Yağ verimlerinin karşılaştırılması

Yöntem seçiminde en önemli parametre olarak görülen yağ veriminin kullanılan çözgen ve sulu enzimatik ekstraksiyon yöntemleri ile değişimi, Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Farklı yöntemlerle elde edilen fındık yağı verimleri¹

Ekstraksiyon Yöntemi	Yağ Verimi (%)
Çözgen	36.27±2.09 ^{ab}
Pectinex®	25.61±6.82 ^b
Viscozyme®	35.73±4.80 ^{ab}
Pectinex® & Viscozyme®	42.45±1.60 ^a

¹Her ekstraksiyon 3 tekrarlı yapılmış ve veriler ortalamaya±standart sapma şeklinde verilmiştir. Sütündeki farklı harfler, ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkları ifade etmektedir ($p<0.05$).

En yüksek verim Pectinex® ve Viscozyme® enzimlerinin birlikte kullanılmasıyla yapılan ekstraksiyonda, en düşük verim ise yalnızca Pectinex® enzimiyle yapılan ekstraksiyonda elde edilmiştir. Bu iki ekstraksiyon koşuluyla elde edilen verimler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Hücre çeperine etki eden enzimlerden Viscozyme® içerisindeki arabinaz, selülaz, beta glukana, hemiselülaz ve ksilanaz enzimlerinin, Pectinex® içerisindeki silanaz, pektinaz ve selülaz enzim karışımından daha yüksek yağ verimi sağladığı görülmektedir. Bu durum, endüstriyel üretimde stok kısıtı durumunda, Viscozyme® kullanımına öncelik sağlanması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca iki enzim karışımı farklı yüzdelerde kullanılarak, en yüksek yağ eldesinin sağlandığı yüzde belirlenerek verim yüzdesi ileriki çalışmalarda konu edilecektir.

En yüksek verimin iki farklı enzimin birlikte kullanılmasıyla elde edilmiş olması, beklenen bir sonuçtur. Viscozyme® enzimi selülaz, hemiselülaz, arabinaz gibi enzimleri içerdiğinden fındık hücre duvarlarını parçalayarak hücre içinde hapsolmuş yağ partiküllerinin sulu ortama geçişini kolaylamıştır [14]. Diğer yandan, Pectinex® enziminin hücre duvarında bol miktarda bulunan ve fındık yağının ortama geçişini engelleyici özelliğe sahip olan pektin bileşenini

parçalama yeteneğinden faydalanılmıştır. Böylece en yüksek verim elde edilmiştir. Pectinex® ya da Viscozyme® enzimleri tek başına kullanıldığında çözgen (kloroform:metanol) ile elde edilen verime ulaşamamıştır. Bunun en büyük sebeplerinden biri, kullanılan çözgenlerin yağı çözebilme gücünün suya göre daha fazla yüksek olmasıdır. Bir diğer deyişle, fındık hücreleri ve çözgen arasındaki yağın kütle transfer hızı suya göre oldukça yüksektir. Bu nedenle hücre duvarı ya da pektin parçalama özelliği olmadan da yüksek miktarda yağ elde etmek mümkündür. Yapılan bir çalışmada da, susamdan hekzan kullanılarak Soxhlet ekstraksiyon ile elde edilen yağ verimi, Vizcozyme ile elde edilen verimden yüksek bulunmuştur [15].

Sudan arındırılmış ayçiçeği küspesinin sulu enzimatik ekstraksiyonunu etkileyen parametrelerin incelendiği bir çalışmada, proteaz (Protex® 7L) ve selülaz (Multifect CX 13L) enzimleri değişik miktarlarda kullanılmış, her iki enzimin 0.02 oranında kullanıldığı ekstraksiyonda verimin %40 ile en yüksek değerine ulaştığı belirtilmiştir [16]. Bu çalışmada, fındık yağı ekstraksiyonu için yukarıda verilen sonuçları destekleyici şekilde, iki farklı enzimin karışımı kullanılarak, enzimlerin tek başına kullanıldığı duruma göre daha yüksek verim sağlanmıştır. Benzer bir çalışmada Jatropha (Hint fıstığı) tohumu yağı üretimi amacıyla, proteaz (Protizyme®), pullulanaz (Promozyme®) ve pektinaz (Pectinex® Ultra SP-L) ile fermentasyon ile elde edilmiş ve saflaştırılmamış selülaz enzimleri ve bu enzimlerin karışımı ile yapılan sulu enzimatik ekstraksiyon sonucunda elde edilen yağ verimini incelenmiştir. En yüksek verim, %49 ile bu dört enzimin birlikte kullanıldığı ekstraksiyonda elde edilmiştir [17]. Bu çalışmada da mevcut çalışmadaki sonuçları destekler nitelikte bulgular elde edilmiştir. Yağın hücrelerden transferine direnç gösteren farklı yapılar ne kadar çok parçalanırsa yağ verimi de o denli artış göstermektedir.

Fındık yağının kalite özelliklerinin karşılaştırılması

Serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı değerleri, yağlarda kalitenin belirlenmesinde en önemli karakteristik özelliklerdir. Çözgen ve sulu enzimatik ekstraksiyon sonucunda elde edilen yağların kalitesinin karşılaştırılması amacıyla serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı analiz edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı yöntemlerle elde edilen fındık yağında kalite özellikleri¹

Parametre	Ekstraksiyon yöntemi			
	Çözgen	Pectinex®	Viscozyme®	Pectinex® & Viscozyme®
Serbest yağ asidi içeriği (% oleik asit)	0.53 ± 0.1 ^a	0.43 ± 0.09 ^b	0.26 ± 0.04 ^b	0.33 ± 0.02 ^c
Peroksit sayısı (mEq/kg)	0.958 ± 0.248 ^a	0.148 ± 0.059 ^b	0.093 ± 0.023 ^b	0.084 ± 0.018 ^b

¹Her ekstraksiyon 3 tekrarlı yapılmış ve veriler ortalamaya±standart sapma şeklinde verilmiştir. Satırdaki farklı harfler, ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkları ifade etmektedir ($p<0.05$).

Çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen fındık yağının en yüksek asitliğe sahip olduğu ve onu sırasıyla Pectinex®, Pectinex® & Viscozyme® ve Viscozyme® enzimleriyle yapılan ekstraksiyonların izlediği tespit edilmiştir. Ayrıca

enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen yağların serbest asitlik değerlerinin, çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen yağın değerlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Bu da enzimatik

ekstraksiyonun elde edilen yağın kalitesini büyük oranda koruduğunu gözler önüne sermiştir. Soğuk çözgenle yağ eldesinde kullanılan metanol-kloroform karışımı, farklı polarlıktaki (kloroform: 4,1 ; metanol: 5,1) solventlerin çözme yeteneğinin yüksek oluşundan dolayı çift fazlı olarak kullanılmıştır [18]. Metanolla fındık içerisinde su fazında çözünebilen biyoyararlı kısım elde edilirken, yağ fazında çözünen kısım ise kloroform ile elde edilmektedir. Çift fazlı solvent ekstraksiyonu, elde edilen yağ kalitesini ölçmek için daha sonraki çalışmalar için altyapı oluşturmaktadır [18,19]. Literatürde benzer çalışmalarda farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Örneğin kamelya çekirdek yağı üretiminde hekzan kullanılarak Soxhlet ekstraksiyon ile elde edilen yağın serbest yağ asidi miktarı, sulu enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen yağa kıyasla daha düşük çıkmıştır [20]. *Pinus pumila* çekirdek yağının eldesinde sulu enzimatik ekstraksiyon ile Soxhlet ekstraksiyon karşılaştırıldığında, serbest yağ asidi miktarları oldukça yakındır (sırasıyla 2.88 ve 2.72 mg KOH/g) [21]. Diğer yandan, çözgen ekstraksiyonuna kıyasla daha düşük serbest yağ asidi içeren yağ eldesine olanak sağlayan sulu enzimatik ekstraksiyon prosedürleri de rapor edilmiştir [15,22-25]. Bu çalışmalarda enzimatik yöntem, yüksek sıcaklıkta hekzan ile yapılan çözgen ekstraksiyonu ile karşılaştırılmış olduğundan, serbest yağ asidi miktarının düşük olması, ılımlı reaksiyon koşullarına bağlanmıştır. Mevcut çalışmada çözgen ekstraksiyonu oda sıcaklığında yapılmışsa da, yağ ve çözgen fazlarının birbirinden ayrılması amacıyla yapılan distilasyon işleminde asitliğin bir miktar atmış olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 2'de verilen peroksit sayısı sonuçlarına göre, çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen yağın peroksit sayısı, farklı enzimlerle elde edilen yağa kıyasla 9 ila 10 kat daha yüksektir. En düşük peroksit sayısının, aynı zamanda en fazla yağ veriminin elde edildiği Pectinex & Viscozyme enzimlerinin karışımı ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen fındık yağında olduğu görülmüştür. Ayrıca peroksit sayısı bakımından çözgen ekstraksiyonu ile enzimatik ekstraksiyon arasında istatistiksel olarak önemli derecede bir fark olduğu görülmektedir. Literatürde hekzan kullanılarak Soxhlet ekstraksiyon ile elde edilen yağ, sulu enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen yağ ile kıyaslandığında, mevcut sonuçlara benzer şekilde peroksit sayısının enzimatik üretim ile düşürülebildiği belirtilmiştir [15,20-23,26]. Ayrıca soğuk pres ile sulu enzimatik ekstraksiyonun karşılaştırıldığı çalışmalarda da enzimatik yöntem ile daha düşük peroksit sayısına sahip yağ elde edilebilmiştir [22,23,26]. Burada etken olan özelliğin, peroksit sayısı tayininde miktarı ölçülen hidroperoksit bileşiklerin suda çözünür olmaları ve buna bağlı olarak yağda ölçülen değer düşmesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Türkiye'de yetiştirilen fındık çeşitlerinde antioksidan karaktere sahip olan alfa tokoferol miktarının, yetiştirildiği coğrafyaya göre değişkenlik gösterse de, yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir [27]. Bu bakımdan fındık yağı ekstraksiyonunda kullanılan, pektin ve hücre duvarını parçalayıcı özelliğe sahip olan enzimlerin, yağda çözünen alfa tokoferol ve diğer antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin yağa geçişini artırarak yağda

oksidasyonu azalttığı bilinmektedir [26]. Enzimatik ekstraksiyonun çözgen ekstraksiyonuna göre daha yüksek sıcaklıkta ve uzun süreli yapılması ve buna rağmen peroksit değerinin enzimatik ekstraksiyonda daha düşük çıkması, antioksidan özellikteki bileşenlerin yağı oksidasyondan korumasıyla ilişkilendirilebilir.

SONUÇ

Fındık yağı üretiminde çözgen ekstraksiyonuna alternatif olarak sulu enzimatik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak hem daha yüksek verimde yağ elde edilmiş, hem de elde edilen yağın kalitesi serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı değerleri bakımından iyileştirilmiştir. Enzimatik ekstraksiyonda az miktarda enzim kullanılması ve çözgen kullanılmaması, bu yöntemi daha çevre dostu bir uygulama yapmaktadır. Bu avantajlarının yanı sıra kullanılan enzimatik ekstraksiyonun büyük ölçekte kullanılmasını zorlaştıracak yönlerinden biri, emülsiyon oluşumu sebebiyle ekstraksiyon karışımından yağın ayrıştırılmasının güçlüğü olmakla beraber, mevcut çalışmada kullanılmış olan dondurma-çözündürme metodunun yanı sıra emülsiyonun tekrar enzimatik hidrolize tabi tutulması yoluna gidilebilir. Elde edilen yağın kalite kriterleri, enstrumental analizlerle yağ asidi kompozisyonu ve biyoyararlı maddeler belirlenerek çalışma geliştirilebilir. Tüm kalite kriterleri sağlandıktan sonra, metanol:kloroform karışımı ve enzim ile muamele edilmiş fındık örnekleri duyuşsal olarak değerlendirilerek raf ömrü çalışmalarına katkı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Anonim, (2015). Fındık sektör raporu, 2014, Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, Ankara.
- [2] Yavuz G.G., Polat, K. (2012). Durum ve Tahmin Fındık 2011/2012, *TEPGE* Yayın No: 1918 ISBN: 978-975-407-338-6 ISSN: 1306-0260, T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Ankara.
- [3] Taş, N.G., Gökmen V. (2015). Profiling triacylglycerols, fatty acids and tocopherols in hazelnut varieties grown in Turkey, *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 115-121.
- [4] Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., Karacabey, E. (2014). Mikroalga destekli Soxhlet cihazı ile fındık yağı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. *Akademik Gıda Dergisi*, 12(1), 20-28.
- [5] Fındık yağı (Türkomp Gıda Kodu: 05.02.0004), Sıvı ve Katı Yağlar, Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı verisi (Son erişim: 15.11.2016).
- [6] Kavrulmuş Fındık, İç (Türkomp Gıda Kodu: 09.02.0057), Meyve ve Meyve Türleri, Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı Verisi (Son erişim: 15.11.2016).
- [7] Kwaku, T., Ohta, Y. (1997). Aqueous extraction of coconut oil by an enzyme-assisted. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 497-502.
- [8] Holum, J. (1968). Elements of General and Biological Chemistry, 2nd edition, Wiley, New York, 377p.
- [9] Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjan, K. (1996). Aqueous and enzymatic processes for edible oil

- extraction. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 402-420.
- [10] Singh, R.K., Sarker, B.C., Kumbhar, B.K., Agrawal, Y.C., Kulshreshtha, M.K. (1999). Response surface analysis of enzyme assisted oil extraction factors for sesame, groundnut and sunflower seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 36(6), 511-514.
- [11] Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- [12] Leitgeb, M., Knez, Ž. (1990). The influence of water on the synthesis of n-butyl oleate by immobilized *Mucor miehei* lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(11), 775-778.
- [13] Shantha, N.C., Decker, E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421-424.
- [14] Concha, J., Soto, C., Chamy, R., Zuniga, M.E. (2004). Enzymatic pretreatment on rose-hip oil extraction: hydrolysis and pressing conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(6), 549-552.
- [15] Latif, S., Anwar, F. (2011). Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. *Food Chemistry*, 125, 679-684.
- [16] Campbell, K.A., Vaca-Medina, G., Glatz, C.E., Pontalier, P.Y. (2016). Parameters affecting enzyme-assisted aqueous extraction of extruded sunflower meal. *Food Chemistry*, 208, 245-251.
- [17] Shah, S., Sharma, A., Gupta, M.N. (2005). Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction. *Bioresource Technology*, 96(1), 121-123.
- [18] Anonim, (2017). Polarity Index, Louisiana State University, USA. <http://macro.lsu.edu/HowTo/solvents/Polarity%20index.htm> (Erişim Tarihi: 01.11.2016).
- [19] E.Choek., Min D.B. (2009). Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of the Food, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 345, 358.
- [20] Fang, X., Fei, X., Sun, H., Jin, Y. (2016). Aqueous enzymatic extraction and demulsification of camellia seed oil (*Camellia oleifera* Abel.) and the oil's physicochemical properties. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118, 244-251.
- [21] Chen, F., Zhang, Q., Gu, H., Yang, L. (2016). An approach for extraction of kernel oil from *Pinus pumila* using homogenate-circulating ultrasound in combination with an aqueous enzymatic process and evaluation of its antioxidant activity. *Journal of Chromatography A*, 1471, 68-79.
- [22] Mehanni, A.E.S., El-Reffaei, W.H.M., Melo, A., Casal, S., Ferreira, I.M.P.L.V.O. (2017). Enzymatic extraction of oil from *Balanites aegyptiaca* (desert date) kernel and comparison with solvent extracted oil. *Journal of Food Biochemistry*, 41, e12270-e12275.
- [23] Tan, Z.J., Yang, Z.Z., Yi, Y.J., Wang, H.Y., Zhou, W.L., Li, F.F., Wang, C.Y. (2016). Extraction of oil from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) using enzyme-assisted three-phase partitioning. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179, 1325-1335.
- [24] Latif, S., Diosady, L.L., Anwar, F. (2008). Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from canola (*Brassica napus* L.) seeds. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(10), 887-892.
- [25] Li, X.J., Li, Z.G., Wang, X., Han, J.Y., Zhang, B., Fu, Y. J., Zhao, C. J. (2016). Application of cavitation system to accelerate aqueous enzymatic extraction of seed oil from *Cucurbita pepo* L. and evaluation of hypoglycemic effect. *Food Chemistry*, 212, 403-410.
- [26] Ezech, O., Niranjana, K., Gordon, M.H. (2016). Effect of enzyme pre-treatments on bioactive compounds in extracted tiger nut oil and sugars in residual meals. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93, 1541-1549.
- [27] Ozdemir, M., Ackurt, F., Kaplan, M., Yildiz, M., Loker, M., Gurcan, T., Seyhan, F.G. (2001). Evaluation of new Turkish hybrid hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties: fatty acid composition, α -tocopherol content, mineral composition and stability. *Food Chemistry*, 73(4), 411-415.