

Trioleinin Enzimatik Asidolizi ile Düşük Kalorili Yapılandırılmış Yağ Üretimi

Füsun Demirci, Sevil Yücel, Güldem Üstün, H. Ayşe Aksoy*

İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Maslak, İstanbul

* aksoyha@itu.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, 1,3-spesifik *Mucor miehei* orijinli Lipozyme IM lipazı kullanılarak, trioleinden laurik asitce (C12) zenginleştirilmiş TAG'lerin üretimine reaksiyon parametrelerinin (reaktanların mol oranı, enzim miktarı ve sürenin) etkisi incelenmiştir. Asidoliz reaksiyonları, 0.7 g substrat, lipaz ve 5 mL n-hekzan kullanılarak 50 °C ve 200 rpm karıştırma hızında orbital karıştırıcıda yürütülmüştür. Farklı enzim ve substrat oranlarında belirli zaman aralıklarında gerçekleştirilen reaksiyonlarda, TAG ve serbest yağ asitleri (YA) içeren reaksiyon ürünlerinden TAG'lar YA'nın 0.02 M NaOH vasıtasıyla sabun halinde dönüştürülüp ortamdaki uzaklaştırılmasıyla saf olarak elde edilmiştir. Bu TAG'lerin yağ asitleri bileşimleri incelenerek trioleine katılan laurik asit miktarları belirlenmiştir. En yüksek laurik asit içerikli (%48) TAG ürünü, 1:5 triolein/laurik asit mol oranı ve substratın %9'u kadar enzim kullanımı ile 6 saatte elde edilebilmiştir. Elde edilen bu ürün düşük kalorili yağ ikame maddesi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Enzimatik asidoliz, *Mucor miehei*, yapılandırılmış yağ, triolein.

Giriş

Düşük kalorili yağlar lipidlerin yapılandırılmalarıyla üretilen, 1,3-pozisyonlarında orta zincirli (C8-C12), 2-pozisyonlarında uzun zincirli (C16-C22) yağ asitleri bulunan triaçilgliserollerdir (TAG) (1-4). Orta zincirli yağ asitleri, bu tür yağların bağırsaklarda 1,3-pozisyon seçici olan pankreatik lipaz enzimi ile hidrolizlenmesi sonucu açığa çıkarlar ve kan yolu ile karaciğere taşınıp oksidasyona uğrayarak enerji sağlarlar. Uzun zincirli yağ asitlerine göre daha az kalori veren bu asitler yağ hücrelerinde de depolanmazlar (3,4). Obezite bilincinin gelişmesi, doğada bulunmayan ve kimyasal sentezle üretimleri zor olan düşük kalorili lipid bazlı yağ ikame maddelerinin önemini artırmıştır. Günümüzde, yapılandırılmış triaçilgliserollerin üretiminde enzimatik interesterleşme ve transesterleşme reaksiyonları kullanılmaktadır ve son yıllarda bu konularda yapılan çalışmalarda önemli bir artış olmuştur. Bu çalışmada, triolein/ laurik asit enzimatik asidolizi ile yapılandırılmış yağ

üretiminin de 1,3-spesifik *Mucormiehei* lipazının etkisi ve optimum reaksiyon koşullarının belirlenmiştir.

Materiyal ve Yöntem

Kullanılan Kimyasal Maddeler: Çalışmada kullanılan triolein (TO, %65 teknik saflıkta) ve laurik asit (LA, %99-100 saflıkta) Sigma-Aldrich (Buchs, İsviçre) firmasından temin edilmiştir. Lipozyme IM ticari lipazı Novo-Nordisk A/S (Copenhagen, Danimarka) firmasından temin edilen, *Mocormiehei* orijinli ve 1,3- pozisyon seçiciliği olan bir lipazdır. Çalışmada kullanılan tüm çözücüler ve diğer kimyasallar Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilen saf ürünlerdir.

Hammaddelerin Karakterizasyonu: Triolein, laurik asit ve ürünlerin yağ asidi bileşimlerini belirleyebilmek için bu kimyasallar BF_3 – metanol kompleksi ile metil esterlerine dönüştürülmüş ve hazırlanan metil esterlerinin bileşimleri Hewlett-Packard 5890 Seri II (Hewlett-Packard, Waldron, almanya) gaz kromatografi cihazında Ultra 2 kapiler kolonu ile incelenmiştir. Analiz koşulları; taşıyıcı gaz (N_2): 1,6 mL/dak, H_2 : 33 mL/dak, hava: 460 mL/dak, dağıtma oranı: 88:1, sıcaklık programı: 150 °C (5 dak), 150- 275 °C (5 °C/dak), 275 °C (10 dak) dır. Kromatogramlarda yer alan pikler, standart yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları kullanılarak tanımlanmıştır.

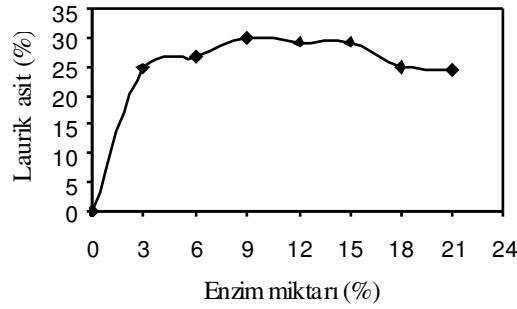
Trioleinin Laurik Asit ile Asidolizi ve Asidoliz Ürünlerinin Analizi: Asidoliz reaksiyonları, kahverengi renkli, kapaklı cam reaksiyon kaplarında (25 mL) 0,7 g substrat (TO ve LA karışımı), lipaz ve 5 mL n-hekzan ile 50 °C ve 200 rpm' de, orbital çalkalayıcıda yürütülmüştür. Reaksiyonun yürüyüşünün kontrolü için, belirli süreler sonunda reaksiyon karışımından 2 mL' lik numuneler alınıp 90-100 °C deki su banyosunda 15 dakika ısıtılarak enzimin inaktive edilmesiyle reaksiyon durdurulmuştur. Asidoliz reaksiyonu ürünü yeni bir yağ asidi profiline sahip olan (TAG)' ler, reaksiyona girmemiş LA ve TO' den açığa çıkan yağ asitleri (YA) içeren bir karışımdır. Ana ürün olan yeni oluşmuş TAG' lerin yağ asidi bileşimini belirleyebilmek için, karışıma 5 mL hekzan ve 5 mL etil alkol ilave edilmiş ve daha sonra fenolftalein eşliğinde 0,02 M NaOH ile titrasyon yapılarak ortamda bulunan YA sabunlaştırılmış, TAG' ler hekzan fazına alınmıştır. Hekzanın döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılması ile elde edilen saf TAG ürünlerinin yağ asidi bileşimlerinin gaz kromatografik analizi yapılarak TO' ne katılan LA miktarı saptanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

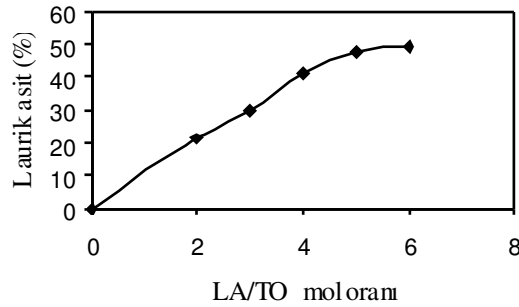
Kapiler gaz kromatografisi ile yapılan analizlere göre çalışmalarda kullanılan TO' nin %77.4 OA (18:0), %0,2 LA içerdiği, LA' in ise %99.5 saflıkta olduğu

belirlenmiştir. Asidoliz reaksiyonu 1/3 TO/ LA mol oranında ve 50 °C de %3-%21 enzim miktarları ile yürütülerek en uygun enzim miktarı belirlenmiş daha sonra bu miktarda enzim kullanılarak en uygun substrat mol oranı ve reaksiyon süresi belirlenmiştir. Reaksiyon koşullarının TO' ne LA katılmasına etkileri Şekil 1-3 de görülmektedir.

Maksimum LA (%30) katılımı %9 enzim kullanımında gözlenmiştir (Şekil 1). %9 enzim ile yürütülen reaksiyonlarda, Şekil 2. de görüldüğü gibi 1/4-1/6 değerleri arasında TO/LA mol oranı kullanımı ile %40-%50 LA içerikli TAG elde edilmiştir. 1/6 mol TO/LA mol oranında 1/5 mol oranına göre önemli bir artış olmadığı için en uygun mol oranı 1/5 olarak seçilmiştir.



Şekil 1. Trioleine katılan laurik asit yüzdesinin enzim miktarı ile değişimi (Triolein:laurik asit mol oranı:1:3; 50 °C; 6 saat)

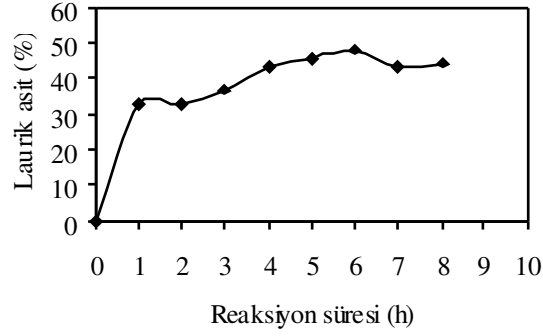


Şekil 2. Trioleine katılan laurik asit yüzdesinin substratların mol oranı ile değişimi (%9 enzim; 50 °C; 6 saat).

1/5 mol oranında %9 enzim varlığında yürütülen reaksiyonlarda, reaksiyon süresinin ürün bileşimine etkisini incelemek amacı ile 1-8 saat sürdürülen

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

reaksiyonlar sonucunda en yüksek LA (%48) katılımı 6 saat sonunda gerçekleşmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Triolein katılan laurik asit yüzdesinin zamanla değişimi (%9 enzim; 50 °C; triolein:laurik asit mol oranı 1:5)

Sonuç

Trioleinin laurik asit ile enzimatik alkolizinde en uygun reaksiyon koşulları; %9 enzim miktarı, 1/5 TO/LA mol oranı ve 6 saat reaksiyon süresi olup bu koşullarda % 48 LA içeren, düşük kalorili yağ ikame maddesi olarak kullanılabilir, yapılandırılmış yağ üretilmiştir.

Kaynaklar

1. Akoh CC, Yee LN. 1997. Enzymatic synthesis of position-specific Low-calorie structured lipids. *J. Am. Oil Chem Soc.* 74: 1409-1413.
2. Mangos TJ, Jones KC, Foglia TA. 1999. Lipase-catalyzed Synthesis of structured low calorie Triacylglycerols. *J. Am. Oil Chem Soc.* 77: 1127-1132.
3. Xu X, Fomuso LB, Akoh CC. 2000. Modification of Menhaden oil by enzymatic acidolysis to produce structured lipids: Optimization by response surface design in a packed bed reaktor. *J. Am. Oil Chem Soc.* 77: 171-176.
4. Zhou D, Xu X, Mu H, Hoy C-E, Adler-Nissen J. 2001. Synthesis of structured triacylglycerols containing caproic acid by lipase-catalyzed acidolysis: Optimization by response surface methodology. *J. Agric. Food Chem.* 49:5771-5777.