

Tripalmitinin Enzimatik Asidolizi ile Simetrik Yapılandırılmış Triaçilgliserollerin Üretimi

Sevil Yücel, Bahar Aydın, Emre Orhon, Güldem Üstün *

İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Maslak, İstanbul

* ustung@itu.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, çocuk mamalarında bulunması gereken besi değeri yüksek 1,3-Oleil-2-Palmitoilgliserol (18:1-16:0-18:1) (OPO) yapısında yapılandırılmış triaçilgliserollerin (TAG) üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla tripalmitin ile yüksek oleik asit içerikli fındık yağı yağ asitlerinin enzimatik asidolizi sistematik olarak incelenmiştir. Asidoliz reaksiyonlarında 1,3-spesifik *Mucor miehei* orijinli Lipozyme IM lipazı kullanılmış ve reaksiyonlar hekzan ortamında 50 °C da yürütülmüştür. Farklı enzim, su ve substrat oranlarında belirli süre gerçekleştirilmiş reaksiyonlarda, reaksiyon ürünlerinden TAG'lar saf olarak elde edilmiş ve bu TAG bileşiklerinin yağ asitleri bileşimleri incelenerek tripalmitine katılan oleik asit miktarları belirlenmiştir. Yağ asitleri bileşiminde % 52 oleik ve % 38 palmitik bulunan OPO yapısına çok yakın TAG ürünü, 1:5 tripalmitin:fındık yağ asitleri mol oranı ve substratın % 15 ı kadar enzim kullanımı ile 3 saat sonunda elde edilebilmiştir. OPO bileşiği anne sütü yağında en yüksek oranda bulunan trigliserid olduğundan, elde edilen bu asidoliz ürünü çocuk mamalarının formülasyonunda kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Anne sütü yağı, tripalmitin, fındık yağı, asidoliz, lipozyme IM, lipaz, yapılandırılmış yağlar

Giriş

Anne sütü bebekler için gerekli yapısal komponentleri ve enerjiyi sağlayan tek doğal besin kaynağıdır. Anne sütünün yağ asitleri bileşimi kendine özgüdür ve genel olarak palmitik (% 20-25), oleik (%25-30) ve linoleik asitce (% 15-20) zengin triaçilgliseroller (TAG) karışımıdır. Palmitik asidin % 60-70 inin TAG moleküllerinin 2. pozisyonunda esterleşmiş şekilde bulunması bu yağın en önemli özelliklerinden biridir (1-3). Anne sütü yağında ayrıca TAG moleküllerinin % 50'sini 18:1-16:0-18:1 (OPO), 18:1-16:0-18:2 (OPL) ve 18:1-16:0-16:0 (OPP) yapısındaki TAG'lar oluşturmaktadır. Özellikle OPO yağın ana komponentidir ve doğada başka hiçbir yağda bulunmamaktadır (4). Simetrik yapıya sahip bu tip TAG larım kimyasal olarak üretimi mümkün olamamaktadır. Literatürde OPO bileşiğinin enzimatik olarak üretimi üzerinde tek bir çalışmaya rastlanmıştır. Schmid ve arkadaşları (5) iki kademeli

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

reaksiyon sonucu OPO üretmişlerdir. Araştırmacılar önce tripalmitinin kısmi hidrolizi ile 2-monopalmitin üretmişler, daha sonra bu 2-monopalmitin saf oleik asit ile esterleştirilmesi sonucunda % 78 'i OPO olan TAG ürünleri elde etmişlerdir.

Bu çalışmada ise, tripalmitinin saf oleik asit yerine oleik asitce zengin fındık yağ asitleri ile direkt asidolizi sonucu OPO bileşimince zengin yapılandırılmış triaçilgliserollerin enzimatik üretimi incelenmiş ve optimum reaksiyon koşulları belirlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Kullanılan Kimyasal Maddeler: Çalışmada kullanılan Tripalmitin Sigma-Aldrich (Buchs, İsviçre) firmasından temin edilmiştir. Fındık yağı lokal marketten satın alınmıştır. Lipozyme IM ticari lipazı Novo-Nordisk A/S (Copenhagen, Danimarka) firmasından temin edilen 1,3-spesifik *Mucormiehei* orijinli bir lipazdır.

Asidoliz Reaksiyonu ve Ürünlerin Analizi: Tripalmitin (TP) ile fındık yağından Seneyake ve Shahidi'nin uyguladığı yöntem (6) göre elde edilmiş fındık yağ asitleri (FYA) arasındaki asidoliz reaksiyonları 10 OmL'lik cam balonlarda gerçekleştirilmiştir. Balona 6 gram belirli mol oranında TP ve FYA karışımı, 40 mL hekzan konulduktan sonra, balon sıcaklığı 50 °C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilmiştir. Karışımın sıcaklığı 50 °C'ye erişince balona substratların ağırlıkça % 10-15i kadar enzim ilave edilmiş ve karışım 600 rpm sabit hızla karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımından belirli zamanlarda alınan numunelerin analizleri yapılarak reaksiyonun yürüyüşü takip edilmiştir. Asidoliz reaksiyonunun ana ürünü tripalmitin moleküllerinden türemiş yeni bir yağ asiti profiline sahip TAG lardır. Bu TAG ların saf olarak eldesi için, ortama 5 mL hekzan ve 5 ml etil alkol ilave edilmiş ve karışım 0,02 M NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Böylece YA sabun halinde sulu faza geçmiş ve hekzan fazında sadece TAG lar kalmıştır. Hekzanın uçurulması ile ele geçen TAG ürünlerinin metil esterleri hazırlanmış ve bu esterlerin yağ asitleri bileşimleri Hewlett-Packard 5890 Seri II (Waldron, Almanya) gaz kromatografi cihazında belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Anne sütü yağı bileşiminde bulunan OPO yapısında TAG lar üretmek amacıyla, tripalmitin ve fındık yağ asitlerinin asidolizinde, substrat oranı, enzim miktarı ile zamanın ürün bileşimine olan etkilerinin araştırılmış ve optimum koşullar saptanmıştır. Deneylerimizin ilk bölümünde, tripalmitin (TP) fındık yağ asitleri (FYA) ile asidolizi TP: FYA 1:1,5 mol oranında % 10

Lipozyme IM ilavesiyle 50 °C da 6 saat sürdürülmüştür. Asidoliz ürünü TAG ların yağ asitleri bileşimlerinin zamanla değişimi Çizelge 1 de görülmektedir..

Çizelge 1. Tripalmitinin fındık yağ asitleri ile asidolizinde, ürün bileşiminin zamanla değişimi. (Tripalmitin:Fındık yağ asitleri mol oranı, 1:1,5; enzim:%10, 50 °C)

Yağ asitleri	Yağ asitleri bileşimi (%)				
	Tripalmitin	Fındık YA	TAG (1 saat)	TAG (3 saat)	TAG (6 saat)
14:0	0,4	-	0,4	0,3	0,3
16:0	96,7	5,3	60,7	56,7	55,7
18:2	-	8,5	4,4	3,8	3,9
18:1	-	83,5	31,7	36,5	37,4
18:0	2,9	2,7	2,8	2,7	2,7

Çizelge 1. den, tripalmitine katılan oleik asit miktarının 3. saat sonunda % 36,5 değerine ulaştığı görülmektedir. Reaksiyon süresinin 3 saatten 6 saate çıkarılmasıyla oleik katılımının pratik olarak değişmediği gözlenmektedir.

Çalışmamızın ikinci bölümünde, substratların mol oranlarının ürün bileşimlerine olan etkileri incelenmiştir. Önce % 10 enzim kullanımı ile TP:FYA mol oranları 1:2-1:6 arasında değiştirilerek 3 saatlik zaman periodunda bir seri asidoliz reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyonlar sonucunda, 1:5 TP:FYA mol oranına kadar ortamda bulunan FYA miktarının artışıyla tripalmitine katılan oleik asit miktarının da yükseldiği, en yüksek oleik asit içerikli (%49,5) TAG ürününün 1:5 TP:FYA mol oranında elde edilebildiği ve mol oranının daha da yükseltilmesiyle oleik asit katılımının pratik olarak değişmediği ve optimum mol oranının 1:5 TP:FYA olduğu ortaya çıkmıştır. Deneylerimizin son bölümünde ise, enzim miktarının ürün bileşimine olan etkisini incelenmiştir. Optimum mol oranında (1:5 TP:FYA) enzim miktarı % 15'e yükseltilerek bir asidoliz reaksiyonu daha yürütülmüştür. Çizelge 2 den, enzim miktarının % 10'dan % 15'e çıkarılmasının ürün bileşiminde etkili bir değişme yaratmadığı, tripalmitine katılan oleik asit miktarında ancak %3 lük yükselme sağladığı belirlenmiştir. Dolayısıyla daha yüksek enzim miktarları denenmemiş ve % 15 enzim miktarı optimum olarak kabul edilmiştir.

Çizelge 2. Tripalmitinin fındık yağ asitleri ile asidolizinde, ürün bileşiminin enzim miktarı ile değişimi (TP:FYA mol oranı, 1:5; , 3 saat, 50 °C)

Yağ asitleri	Yağ asitleri bileşimi (%)			
	Tripalmitin	Fındık YA	TAG (% 10 enzim)	TAG (% 15 enzim)
14:0	0,4	-	0,3	0,2
16:0	96,7	5,3	42,0	38,5
18:2	-	8,5	4,7	5,4
18:1	-	83,5	49,5	52,6
18:0	2,9	2,7	3,5	3,3

Sonuç

Tripalmitinin ve fındık yağ asitlerinin asidolizi ile bileşiminde % 52 oleik ve % 38 palmitik bulunan OPO yapısına çok yakın TAG ürünü, 1:5 tripalmitin:fındık yağ asitleri mol oranı ve substratın % 15 i kadar enzim kullanımı ile 3 saat sonunda elde edilebilmiştir. Elde edilen bu ürün bile çocuk mamalarının formülasyonunda kullanılabilir. Çalışmanın devamında OPO bileşiğinin linoleik ve stearik asit içeren diğer TAG bileşiklerinden ayrılması üzerinde çalışmalar sürdürülebilir.

Kaynaklar

1. Christie WW. 1995. Composition and structure of milk lipids. In *Advanced dairy chemistry*, Vol. 2. *Lipids*, P. F. Fox, Ed., pp. 1-36, Chapman & Hall, London:
2. Xu X. 2000. Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: A review. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102: 287-303.
3. Jensen RG.1998.Human milk lipids as a model for infant formula. *Lipid Technol*, 3: 34-38
4. Kurvinen JP, Sjoval O, Kallio H. 2002. Molecular weight distribution and regioisomeric structure of triacylglycerols in some common human milk substitutes, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 79: 13-22 .
5. Schmid U, Bornscheuer UT, Soumanou MM, McNeill GP. 1999. Highly selective synthesis of 1,3-oleyl-2-palmitoylglycerol by lipase catalysis, *Biotechnol Bioeng*, 64: 678-684.
6. Senanayaka SPJ, Shahidi F. 1999. Enzymatic incorporation of docosahexaenoic acid into borage oil, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 76: 1009-1015 .