

**KİSMİ GLİSERİD KARIŞIMINDAN
MONOGLİSERİDLERİN EKSTRAKSİYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Duygu ALTAY
506981014**

Ars. Görü. Harun Mindio

Tez Formatı Uygundur

23.08.2000

101131

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 5 Haziran 2000
Tezin Savunulduğu Tarih : 23 Haziran 2000**

101131

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Ülker BEKER

Vekil: Prof.Dr. A. Tunçer ERCİYES

Diğer Jüri Üyeleri: Prof.Dr. Ayşe AKSOY (İ.T.Ü.)

Doç. Dr. Oya GALİOĞLU (İ.T.Ü.)

HAZİRAN 2000

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocam Doç. Dr. Ülker BEKER' e, çalışmalarımın her aşamasında fikir ve önerileriyle bana yol gösteren Prof. Dr. A. Tunçer ERCİYES' e ve Doç. Dr. F. Seniha GÜNER' e, verdiği destek ve yardımları için Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY' a ve Doç. Dr. Melek TÜTER' e, sonsuz destek ve sevgileri için annem Şadiye ALTAY' a ve babam Kemal ALTAY' a teşekkürlerimi sunarım.

Duygu ALTAY

Haziran 2000



İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK ÇALIŞMA	3
2.1. Yağların Yapısı ve Özellikleri	3
2.2. Gliseroliz Reaksiyonu ve Kısmi Gliseridlerin Üretimi	8
2.3. Esterleşme Reaksiyonu ve Kısmi Gliseridlerin Üretimi	11
2.4. Enzimatik Gliseroliz Hakkında Literatürde Yapılan Çalışmalar	15
2.5. Monogliseridlerin Kullanım Alanları	17
2.6. Yağların Segregasyonu ve Yağlardan Asit Giderme	19
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	23
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
3.2. Deneysel Çalışma Kademeleri	23
3.3. Kısmi Esterlerin Elde Edilmesi İçin Deney Düzenekği	24
3.4. Ester Ürünlerinin Elde Edilmesi	25
3.5. Ester Ürününün Özelliklerinin Belirlenmesi	25
3.6. Ester Ürünlerinden Monogliserid Zenginleştirilmesi	26
3.7. Ester Ürünlerinin Bileşiminin Saptanması	26
4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRMELER	29
KAYNAKLAR	38
EK1	41
ÖZGEÇMİŞ	42

KISALTMALAR

HD	:Hidroksil Değeri
SD	:Sabunlaşma Değeri
AD	:Asit Değeri
TLC	:İnce Tabaka Kromatografisi
FID/TLC	:Alev İyonizasyon Dedektörü/ İnce Tabaka Kromatografisi



TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Bazı yağların yağ asidi yüzde bileşimleri	5
Tablo 2.2. Yağlarda en çok rastlanan doymuş yağ asitleri	6
Tablo 2.3. Yağlarda en çok rastlanan doymamış yağ asitleri	6
Tablo 2.4. Mono-digliseridlerin ve distillenmiş ^a monogliseridlerin gliserid bileşimi	9
Tablo 2.5. Etilen glükolün oleik asit ile esterleşmesi	13
Tablo 2.6. Gliserinin yağ asidiyle esterleşmesi	14
Tablo 4.1. Ester ürünlerinin bileşimleri	29
Tablo 4.2. 1 no' lu numunenin asetik asit/borik asit çözücü sistemi ile ekstraksiyonunda ekstrakt faz bileşimleri (% Ağırlık)	30
Tablo 4.3. 1 no' lu numunenin etil alkol ile ekstraksiyonun da ekstrakt faz yüzde bileşimleri (% Ağırlık)	30
Tablo 4.4. 2, 3, 4 ve 5 no' lu numunelerin asetik asit/borik asit çözücü sistemi ile ekstraksiyonunda ekstrakt faz bileşimleri (% Ağırlık)	31

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Bir monoglisericidin kimyasal yapısında hidroforik ve hidrofilik grupların gösterimi	18
Şekil 3.1. Deney düzeneği	24
Şekil 4.1. Ester ürünlerinin ekstrakt fazlarında monoglisericid miktarının asetik asit içerisindeki borik asit miktarına göre değışimi	32
Şekil 4.2. Ester ürünlerinin ekstrakt fazlarında serbest yağ asidi miktarının asetik asit içerisindeki borik asit miktarına göre değışimi	33
Şekil 4.3. Ester ürünlerinin ekstrakt fazlarında triglisericid miktarının asetik asit içerisindeki borik asit miktarına göre değışimi	34
Şekil 4.4. 1 no'lu numunenin etil alkollü ekstrakt fazında monoglisericid miktarı	35
Şekil 4.5. 1 no'lu numunenin etil alkollü ekstrakt fazda serbest yağ asidi miktarı	35
Şekil 4.6. 1 no'lu numunenin etil alkollü ekstrakt fazda triglisericid miktarı	36

KİSMİ GLİSERİD KARIŞIMINDAN MONOGLİSERİDLERİN EKSTRAKSİYONU

ÖZET

Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahip emülgatörlerden birisi olan ve ayrıca yüzey kaplama, yüzey aktif madde üretiminde de kullanılan monogliseridlerin endüstriyel üretimi genellikle esterleşme reaksiyonu ile yapılmaktadır. Esterleşme reaksiyonu, yağ asidinin gliserin ile reaksiyona sokulması ile gerçekleştirilen bir reaksiyondur. Bu reaksiyon yüksek sıcaklıkta, azot atmosferi altında, inorganik katalizör varlığında gerçekleşmektedir. Bu reaksiyon sonucunda elde edilen ürün, monogliserid, digliserid, trigliserid ve serbest yağ asitlerinin karışımıdır.

Bu çalışmada, yüksek ve düşük konsantrasyonda monogliserid içeren örnekler kullanılarak elde edilen sonuçlar saf monogliserid eldesi ve yağ rafinasyonunda monogliserid uzaklaştırma yönlerinden değerlendirilmiştir.

Çalışmada ekstraksiyon için % 90'lık asetik asit ve % 90'lık asetik asit içerisine değişik oranlarda borik asit eklenerek elde edilen çözücü sistemleri kullanılmış, sonuçlar birbirleri ile ve sulu etil alkol çözücü sistemi kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Ester ürünlerinin bileşimi öncelikle kalitatif olarak TLC yöntemiyle ve daha sonra kantitatif olarak FID/TLC cihazı kullanarak belirlenmiştir.

THE EXTRACTION OF MONOGLYCERIDES FROM PARTIAL GLYCERIDES MIXTURE

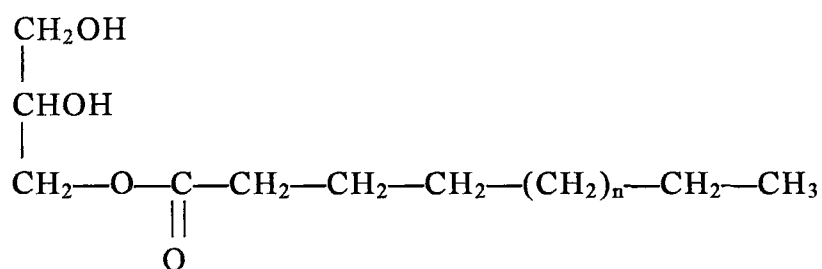
SUMMARY

Fats and oils are water-insoluble substances of plant or animal origin which consist predominantly of glyceryl esters of fatty acids, or triglycerides.

Structurally a triglyceride is the condensation product of one molecule of glycerol with fatty acids to yield three molecules water and one molecule of triglyceride. A mixed triglyceride contains three different fatty acids whereas a simple triglyceride contains same fatty acids.

Mono- and diglycerides contain in their molecules only one and two fatty acids, respectively, and consequently have two and one free hydroxyl groups.

Monoglycerides can be readily separated from di- and triglycerides by molecular distillation, and commercial products containing over 90 % monoglyceride are now available. The structure of α -monoglycerides are shown below. α -Monoglycerides are more stable than β -isomers; the latter are readily converted to the former. Hence commercial products consist predominantly of α -monoglycerides.

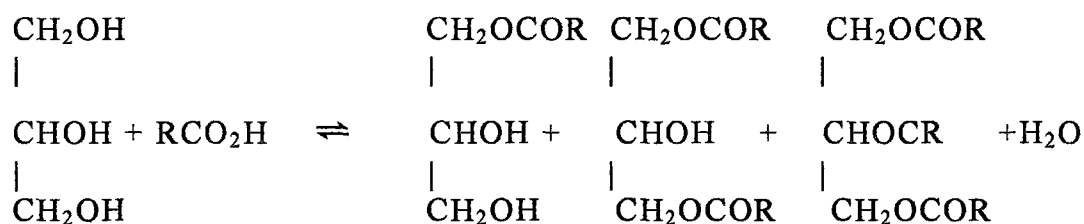


The structure of α -monoglycerides

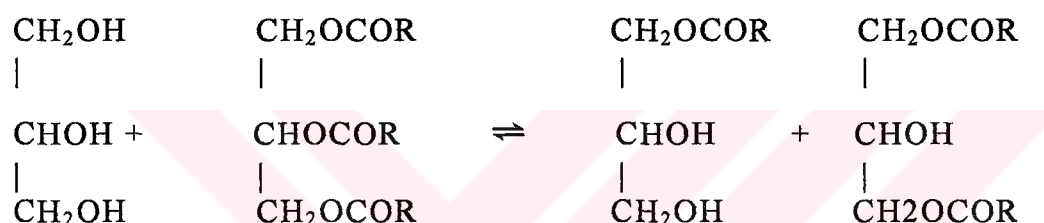
In this study the enrichment of monoglycerides present in the partial glycerides mixture was carried out by the extraction method using a special solvent. This solvent is % 90 acetic acid including boric acid. The boric acid amount differs from zero to saturated level. Partial glyceride mixture to be used in the study was prepared in the laboratory according to the direct esterification method. For this purpose glycerol and oleic acid have been subjected to esterification

reaction in the presence of NaOH as catalyst. The reaction is conducted at high temperature partly to hasten the reaction and partly to increase the miscibility of the reaction mixture with glycerol.

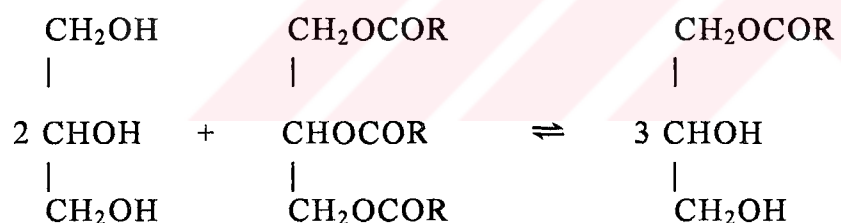
Current process for monoglyceride production is based on direct esterification of glycerol with fatty acids or on the interesterification of triglycerides with glycerol (glycerolysis). These reactions are stated below:



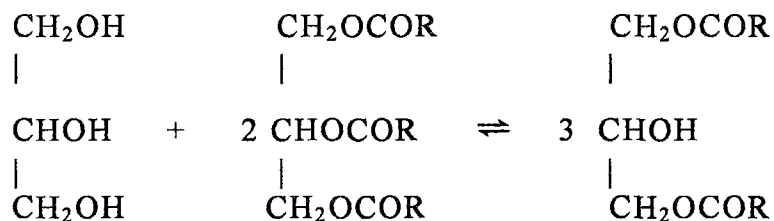
Glycerol Fatty Acid Monoglyceride Diglyceride Triglyceride



Glycerol Triglyceride Monoglyceride Diglyceride



Glycerol Triglyceride Monoglyceride



Glycerol Triglyceride Diglyceride

The glycerolysis reaction cannot be performed in a way that a high quality and a high yield of monoglyceride is obtained. Excess amount of glycerol is used in the reaction and because the reaction temperature is higher than 170°C, dark colored by products with an

undesirable flavor are formed. To obtain a product of higher quality and higher yield several studies were done.

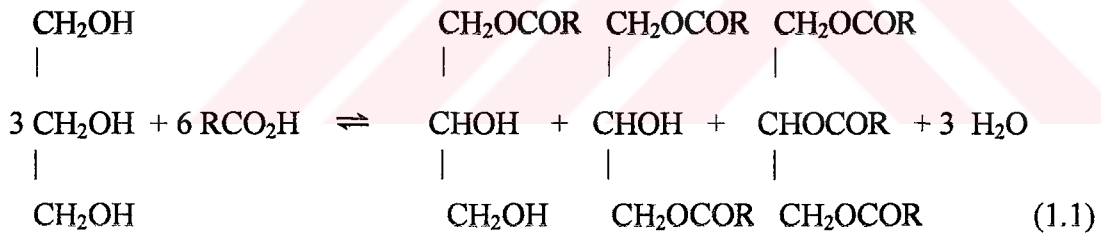
In the last two decades, several chromatographic and spectrophotometric methods have been developed for the estimation of monoglycerides. One of these methods has been done by Halvarson and Qvist. They intended to determine monoglycerides in crude oils and to follow their changes during the refining of edible oils. The method denoted by its authors as simple, consists in an enrichment of monoglycerides by extraction with acetonitrile, silylation of the residue obtained after the evaporation of the solvent, and gas chromatographic (GC) analysis of the silylation products using silylated cholesterol as an internal standard. In the case of coconut and palmkernel oils, the extraction with acetonitrile is followed by a thin layer chromatography to separate the monoglycerides from short chain diglycerides which could interfere with the GC analysis, whereupon the monoglyceride zone is cut out, subjected to the silylation, and gas chromatographed.

The proposed method in this study is based on the enrichment of monoglycerides by repeated extraction of the oil dissolved in hexane with 90 % acetic acid including different amount of boric acid as mentioned before. The experiments are tested with TLC and FID/TLC method. To test and compare the efficiency of this method, the conventional method with 80, 96 % ethyl alcohol extraction is applied and the results are compared to each other. Finally the obtained results were evaluated from the stand point of oil refining and the method for pure monoglyceride preparation.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahip emülgatörlerden birisi olan ve ayrıca yüzey kaplama, yüzey aktif madde üretiminde de kullanılan monoglisericlerin endüstriyel üretimi genellikle gliseroliz reaksiyonu ile yapılmaktadır. Gliseroliz reaksiyonu, yağın gliserin ile reaksiyona sokulması ile gerçekleştirilen bir reaksiyondur. Genellikle yağ fazında gliserinin çözünürlüğünü (oda sıcaklığında % 4) artırmak için yüksek sıcaklıklarda (180-220°C) gerçekleştirilen gliseroliz reaksiyonunun hızını arttırmak için NaOH, KOH, Ca(OH)₂ gibi katalizörler kullanılır. Reaksiyon sonunda (yaklaşık 4 saat) katalizör nötralize edilir ve karışım hızla soğutulur.

Yağ asitlerinin gliserin ile direkt esterleşmesi yöntemi ise katalitik ve tersinir bir reaksiyondur ve aşağıdaki gibi gerçekleşir [1,2];



Gliserin Yağ asidi Monogliseric Digliseric Trigliseric

Esterleşme sonucunda elde edilen ürün, monogliseric, digliseric, trigliseric ve serbest yağ asitlerinin karışımıdır. Böyle bir karışımında monogliseric yüzdesi % 30 – 60 gibi düşük bir seviyededir.

Esterleşme reaksiyonu sonucunda elde edilen kısmi gliserid karışımından, monogliseric fraksiyonunun zenginleştirilmesi için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Bunlardan en çok bilineni esterleşme ürününün, asetonitril ve piridin ile ekstraksiyonudur. Hartman ve çalışma arkadaşları ham yağları borik asitçe

doygun % 90' lık asetik asit ile ekstrakte ederek yağlardan monogliseridi uzaklaştırmışlardır.

Bu çalışmada ekstraksiyon için % 90' lık asetik asit ve % 90' lık asetik asit içerisine değişik oranlarda borik asit eklenerek elde edilen çözücü sistemleri kullanılmıştır. Çalışmada, yüksek ve düşük konsantrasyonda monogliserid içeren örnekler kullanılarak elde edilen sonuçlar saf monogliserid eldesi ve yağ rafinasyonunda monogliserid uzaklaştırılması yönlerinden değerlendirilmiştir.

Ekstraksiyon sonrası elde edilen numunelerin kompozisyonlarının kalitatif değerlendirilmesi ince tabaka kromatografisi ile yapılmıştır. Kantitatif belirlemelerde ise TLC/FID (İnce Tabaka Kromatografisi-Alev İyonizasyon Detektörü) kullanılmıştır.

Sonuçlar birbirleri ile ve etil alkol-su karışımı kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

2. TEORİK ÇALIŞMALAR

2.1. Yağların Yapısı Ve Özellikleri

Yağlar bitkiler veya hayvanlardan elde edilen, suda çözünmeyen ve ana komponenti trigliserid olan maddelerdir [3]. Doğal yağlar uzun zincirli karboksilli asit içerirler. Bu asitlerden doğal yağlarda en çok rastlananlar; laurik, miristik, palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik asitlerdir.

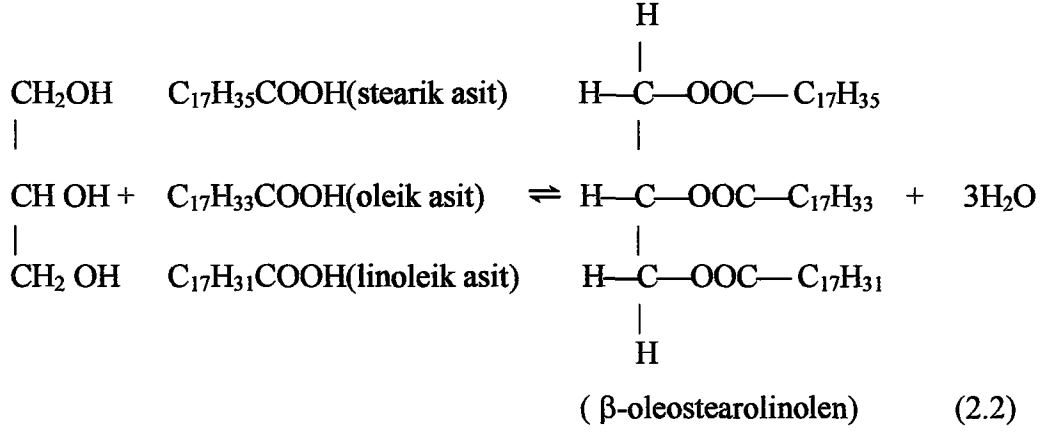
Doğal yağların erime noktaları 55°C ile -27°C arasında değişir. Bu değer yağın yapısındaki kısa zincirli yağ asitleri ve doymamışlık içerikleri artıkça düşer. Bitkisel yağların en önemlileri; ayçiçek yağı, zeytin yağı, pamuk tohumu yağı, kolza yağıdır [1].

Bir trigliserid molekülünün yapısı aşağıda gösterilmiştir. Bir trigliserid molekülünde gliseril (C_3H_5) kısmının molekül ağırlığı 41'dir. Yağ asidi radikallerinin ($\text{R}-\text{COO}$) toplam molekül ağırlığı ise 650 ile 970 arasında değişir. Böylece yağ asitleri, bir trigliserid molekülünün ağırlıkça % 94-96'sını teşkil eder. Sonuç olarak, yağ asitleri trigliserid molekülünün en büyük kısmını oluşturdıklarından, bir yağın kimyasal ve fiziksel özellikleri, büyük ölçüde bünyesinde içerdiği yağ asitlerinin özelliklerine bağlıdır.



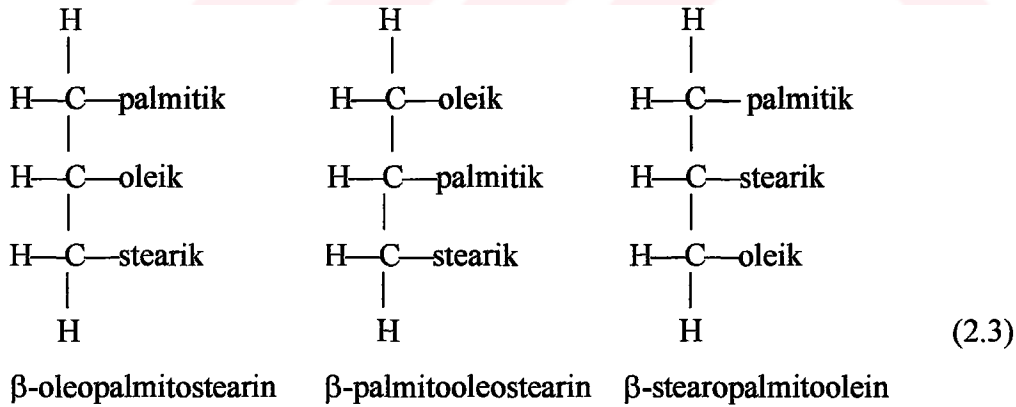
Bir Trigliserid Molekülü [3]

Trigliseridler sentetik olarak 1 molekül gliserinin, 3 molekül yağ asidiyle reaksiyonu sonucu 3 molekül suyun açığa çıkması ile elde edilirler. Aşağıda oleik asit, stearik asit ve linoleik asidin gliserinle esterleşme reaksiyonu örnek olarak verilmiştir.

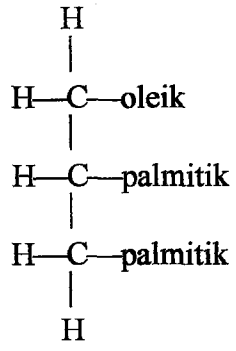


3 yağ asidi de aynı olduğu zaman ürün basit bir trigliseriddir. Eğer farklıysa, ürün karışık trigliseriddir. Basit trigliseridler, gliserin ve yağ asidinden kolaylıkla hazırlanabilirler fakat karışık trigliseridler özel metotlarla elde edilebilirler.

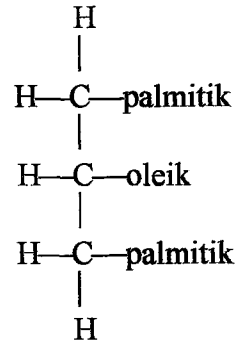
3 değişik yağ asidi içeren karışık trigliseridin yağ asitlerinin ortada (β veya 2) ya da uçlarda (α veya 1 ve α' veya 1') bulunmasına göre aşağıda gösterildiği üzere 3 izomeri vardır.



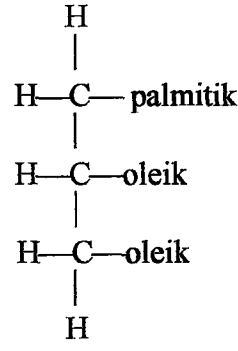
2 farklı yağ asidi içeren trigliseridin ise 4 izomeri vardır.



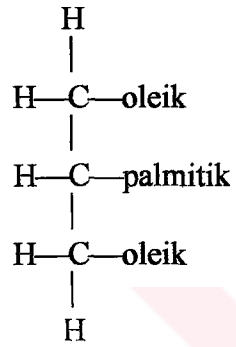
α -oleodipalmitin



β -oleodipalmitin



α -palmitodiolein



(2.4)

β -palmitodiolein [4]

Farklı yağlar, çeşitli yağ asitlerini değişik miktarlarda içerirler. Örnek olarak zeytinyağı, ayçiçek yağı ve keten yağının yağ asitleri bileşimi aşağıda verilmiştir [5].

Tablo 2.1. Bazı yağların yağ asidi bileşimleri (% Ağırlık) [3]

	Zeytin Yağı	Ayçiçek Yağı	Keten Yağı
Miristik Asit	0.1-1.2	-	-
Palmitik Asit	7-16	3-6	4-7
Stearik Asit	1-3	1-3	2-5
Oleik Asit	65-85	14-43	12-34
Linoleik Asit	4-15	41-75	17-24
Linolenik Asit	-	1-2	35-60

Doğal olarak bulunan yağ asitleri genellikle, içerdiği tek karbonil grubunun düz hidrokarbon zincirinin sonuna bağlı olduğu alifatik maddelerdir. Bazı istisnalar dışında bunların hepsi çift sayıda karbon atomu içerirler. Bir asidin diğerinden farkı, zincirdeki karbon atomu sayısı ve eğer mevcut ise karbon atomları arasındaki çift

bağlarının yeri ve sayısıdır. Çift bağ içermeyen yağ asitleri doymuş yağ asitleridir. Yağlarda en çok rastlanan doymuş yağ asitleri Tablo 2.1.' de verilmiştir [3].

Tablo 2.2. Yağlarda en çok rastlanan doymuş yağ asitleri [3]

Adı	Formül	Erime Noktası ($^{\circ}\text{C}$)
Kaprilik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	16.7
Kaprik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	31.6
Laurik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$	44.2
Miristik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	54.4
Palmitik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	62.9
Stearik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	69.6
Arasidik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{19}\text{COOH}$	75.4

Bir ve daha fazla sayıda çift bağ içeren yağ asitleri doymamış yağ asitleridir. Yağlarda en çok rastlanan doymamış yağ asitleri Tablo 2.2.' de verilmiştir.

Tablo 2.3. Yağlarda en çok rastlanan doymamış yağ asitleri [3]

Adı	Formül	Erime Noktası ($^{\circ}\text{C}$)
Oleik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	14.16
Linoleik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-5
Linolenik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-11
Erusik Asit	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_9\text{COOH}$	33.4

Saf yağ asitlerinin kaynama noktası, erime noktası, yoğunluk, kırılma indisleri gibi fiziksel özellikleri; molekül ağırlığına, doymamışlık derecesine, içerdiği fonksiyonel gruba bağlı olarak değişmektedir [4,6].

Yağ asitlerinin kaynama noktaları molekül ağırlığının artmasıyla artmaktadır. 300°C ' nin üstündeki sıcaklıklarda yağ asitleri bozulduğundan molekül ağırlığı laurik asitten daha büyük asitleri atmosfer basıncında distile etmek mümkün olmamaktadır. Metil esterlerinin kaynama noktası ise, tekabül ettikleri yağ asitlerinininkinden yaklaşık 30°C daha düşüktür [4,6].

Doymuş yağ asitlerinin erime noktaları karbon sayısının artmasıyla artmaktadır. Doymamış yağ asitlerinde ise durum daha farklıdır. Doymamışlık derecesinin erime noktasını önemli ölçüde düşüren bir etkisi vardır. Örneğin tek çift bağ içeren doymamış yağ asidinin erime noktası, aynı karbon sayılı doymuş yağ asidinden daha düşüktür. Aynı şekilde birden fazla çift bağ içeren doymamış yağ asidinin erime noktası aynı karbon sayılı ve bir tane çift bağ içeren doymamış yağ asidinin erime noktasından daha düşüktür [6].

Genel olarak yağ asitlerinin viskozitesi molekül ağırlığının artmasıyla artmaktadır. Metil esterleri tekabül ettikleri yağ asitlerinden daha düşük viskoziteye sahiptirler. Doymamış yağ asitlerinin viskoziteleri, ise aynı karbon sayılı doymuş yağ asitlerine göre biraz daha düşüktür [6].

Yağ asitlerinin saflığının bir ölçüsü olarak kullanılan kırılma indisi de, yağ asitlerinde molekül ağırlığının artmasıyla artmaktadır. Doymamış yağ asitlerinde, doymamışlık derecesinin artışı da kırılma indisinde artışa neden olmaktadır. Özellikle konjuge doymamışlığının, kırılma indisinin artmasında önemli bir rolü vardır [6].

Yağları karakterize etmek için asit, hidroksil, sabunlaşma ve iyot değerleri gibi bazı özellikler tanımlanmıştır. Asit değeri, 1 gram yağı nötralize etmek için kullanılan potasyum hidroksitin miligram cinsinden değeridir.

Sabunlaşma değeri, 1 gram yağı sabunlaştırmak için gerekli potasyum hidroksitin miligram cinsinden değeridir.

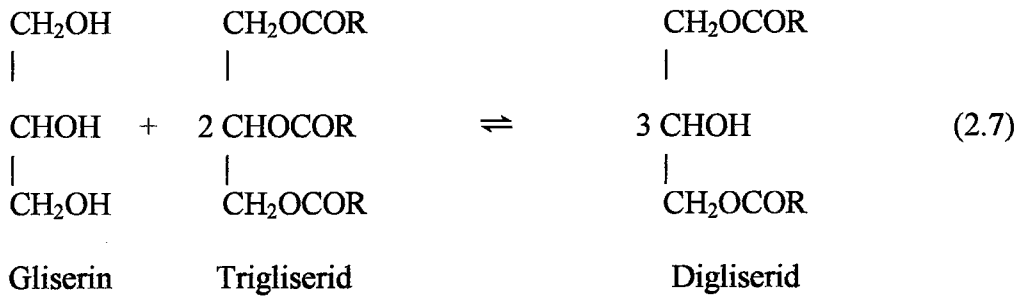
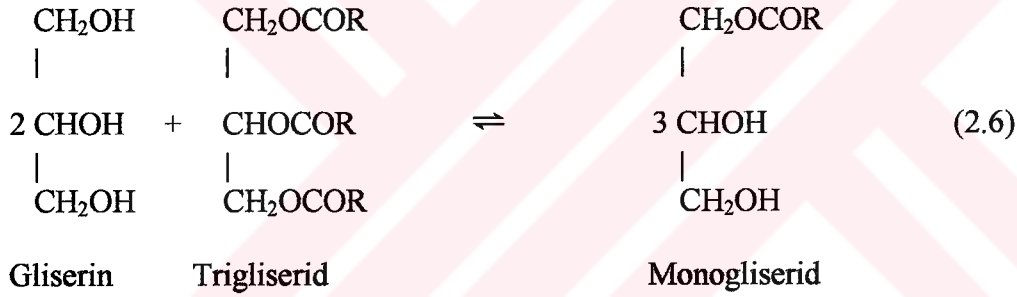
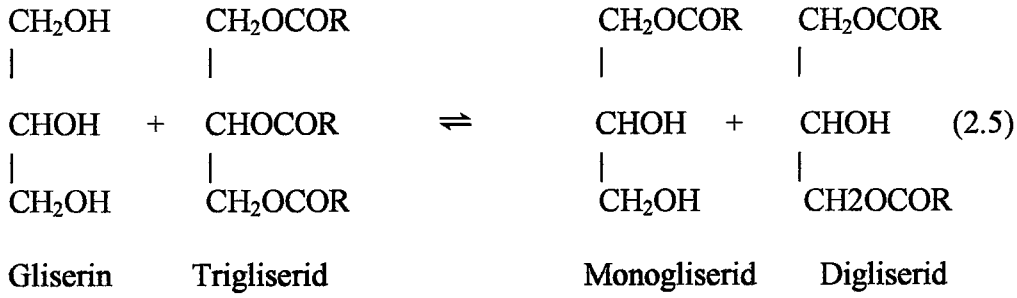
İyot değeri ise, standart deney koşullarında 100 gram yağın absorbladığı halojene eşdeğer iyodun miligram cinsinden değeridir ve yağın doymamışlığının bir ölçüsüdür [4].

Yağın yapısında çift bağların, sayısı ve konumu, yağın kuruma özelliğini belirler. Kuruma özelliklerine göre yağlar sınıflandırıldıklarında, iyot değeri 90' dan küçük olan yağlar; kurumayan yağlar; örneğin zeytin yağı (İ.D.= 80-88), iyot değeri 90-130 arasında olan yağlar; yarı kuruyan yağlar; örneğin ayçiçek yağı (İ.D.= 125-136), ve iyot değeri 130' dan büyük olan yağlar kuruyan yağlar; örneğin keten yağı (İ.D.= 165-200 arası) olarak ayrılabilirler [7].

2.2. Gliseroliz Reaksiyonu ve Kısmi Gliseridlerin Üretimi

Gliseroliz reaksiyonu, yağın (trigliserid) gliserin ile reaksiyona girmesi ile gerçekleştirilen, katalitik bir reaksiyondur. Alkoliz reaksiyonunun özel bir türüdür. Genellikle yüksek sıcaklıklarda (180-220⁰C) gerçekleştirilir.

Gliseroliz reaksiyonu, yağ ile gliserin arasında aşağıda gösterilen temsili reaksiyonlara göre gerçekleşir:



Gliseroliz reaksiyonunda bir alkali katalizör kullanılır. Bu katalizör genellikle NaOH'tır. Sulu kireç, Ca(OH)₂ gibi katalizörlerin % 0.06-0.10 oranında kullanımları daha iyi renkte bir ürünün eldesini sağlar. Katalizör, yağ ile yağ fazındaki gliserinin çözünürlüğünü arttırarak reaksiyonu hızlandırır.

Çözünen havayı uzaklaştırmak için reaksiyon düşük basınçta gerçekleştirilir. Ayrıca azot gibi inert bir gaz geçirilerek ürün oksidasyondan korunur. Reaksiyon sıcaklığı maksimum 180-220°C civarında tutularak reaksiyon süresi 1-4 saat olarak uygulanır. Bu süre sonunda serbest gliserin ile reaksiyon ürünleri arasındaki denge sağlanır. Reaksiyon sıcaklığı reaksiyonun hızını arttırmak ve reaksiyonun gerçekleşebilmesini sağlayabilmek için yüksek tutulur [8].

Elde edilen ürünler böylece mono- ve digliseridlerin ve reaksiyona girmemiş veya tekrar esterleşme ile oluşan trigliseridlerin karışımıdır. Bu karışım monogliseridlerin yanında önemli miktarda digliserid de içerdiği için, saflaştırılmamış ürüne mono-digliseridler denir ve bileşimi de Tablo 2.4.' de gösterilmiştir [9].

Tablo 2.4.Mono-digliseridlerin ve distillenmiş^a monogliseridlerin gliserid bileşimi[9]

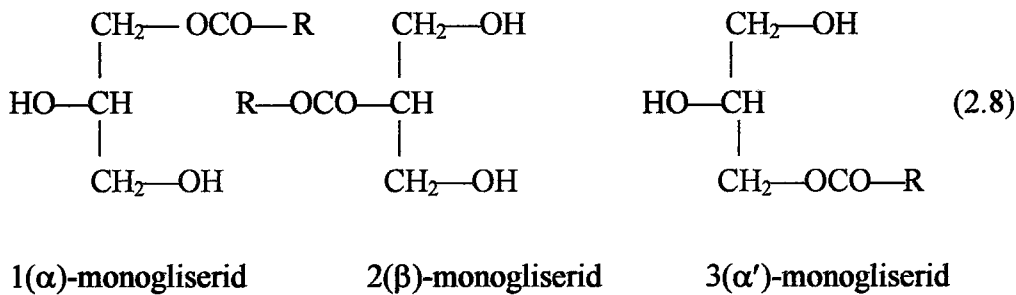
Gliserid	Mono-digliserid	Distillenmiş Monogliserid
1(3)-Monogliserid	30-37	80.4-90.0
2-Monogliserid	2-8	4.7-17.0
Digliserid	42	3.6
Trigliserid	12	0.7
Serbest yağ asidi	n/a ^b	0.5

^a [10];

^b mevcut değil [9]

Moleküler distilasyon, monogliseridlerin saf halde (> % 95) ayrılması için kullanılır. Monogliseridler, yüksek vakum altında buharlaştırılarak, saf halde kazanılırken, geri kalan di- ve trigliseridler, tekrardan gliseroliz için kullanılırlar. Moleküler distilasyonla kazanılan ürüne distillenmiş monogliserid denir.

Yağ asidi zincirinin, gliserin molekülünün, primer veya sekonder alkol grubu ile esterleşmesine bağlı olarak, monogliserid izomerleri oluşur. Bir primer alkol grup üzerindeki esterler 2 optik izomer şeklinde bulunabilirler; yağ asidi 1'de 1-monogliserid veya yağ asidi 3' te 3-monogliserid [11].



Gliseroliz ile üretilen monogliseridlerin % 82-95' ini, 1(3)-monogliseridler oluşturur. Yüksek reaksiyon sıcaklıklarında, 2-monogliseridlerin miktarı % 5-18'e kadar ulaşabilir. Böylece, 1(3)-monogliserid ve 2-monogliserid arasında ki reaksiyonda ve ürün depolama sıcaklığında bir kimyasal içdönüşüm (interconversion) olduğu görülür [9].

1960' da Choudhury yağların gliseroliziyle monogliseridlerin eldesi ve saflaştırılması üzerine bir makale yayınlamıştır. Gliseroliz reaksiyonu hindistancevizi, yerfıstığı ve sardalya yağı kullanılarak denenmiştir. Choudhury monogliserid eldesinin yağın bileşimine bağlı olmadığını söylemiştir. Choudhury' e göre monogliserid eldesi, gliserinin yağda çözünmesine bağlıdır. Monogliserid verimi sıcaklığın artmasıyla artar. Aynı zamanda Choudhury, gliserin fazlasının, reaksiyon ürününün bileşimini değiştirmediğini ve 180⁰C' de % 45 monogliseridden fazlasının oluşturulamayacağını söylemiştir. Ancak daha sonra yapılan araştırmalarda Choudhury'nin gliserin üzerine yaptığı deneylerin ve türettiği verilerin yanlış olduğu saptanmıştır [10].

Hartman, gliserinin 180-200⁰C arasındaki çözünürlük verilerini yayınlayarak Choudhury' nin çözünürlük datalarının yanlış olduğunu göstermiştir. Bu makalede gliserinin çözünürlüğünün, 1-monogliseridlerin varlığıyla arttığı hakkında herhangi bir şey belirtmemiştir. Ayrıca Hartman, toplam monogliseridi tayininde birçok kromatografik yöntemin kullanıldığından da bahsetmiştir. Ancak Hartman' ın yağların gliseroliziyle ilgili diğer çözünürlük datalarında hata olduğu saptanmıştır [12].

Mori ve Nagata kısmen hidrojenlendirilmiş balina yağının gliserolizi ve daha sonra moleküler distilasyonu ile aynı zamanda balina yağından yağ asitlerinin esterleşmesi ile yüksek saflıkta monogliserid elde etmişlerdir.

Franze ve Kretzshmann doğal yağlardan yüksek verimde monogliserid elde etmek için bir metot geliştirmişlerdir. Bu metotla, 3 saat boyunca, 100⁰C' de ve yağ: gliserin: sodyum bikarbonat oranlarının 1: 2.5: 0.025-0.05 olduğunda fıstık, ayçiçek, üzüm, ve hindistancevizi yağında sırasıyla % 90, 88, 87.6 ve 82.8 monogliserid elde etmişlerdir.

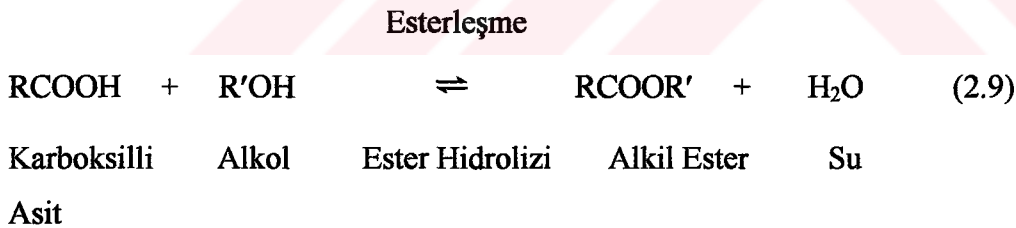
De Man, çedar peynirlerinin, mono- ve digliserid içerdiğini söylemiştir. Yumuşak ve orta sert peynirler için fark etmese de, eski peynirlerin büyük oranda mono- ve digliserid içerdiğinden bahsetmiştir [13].

Tersinir ve katalitik olan gliseroliz reaksiyonları, endüstride geniş bir şekilde, alkid reçinelerinin hazırlanmasında, yemeklik yağ (margarin) üretiminde, yüzey aktif madde ve sülfatlandırılmış monogliserid tipi deterjan üretimi gibi kısmi olarak esterleştirilmiş ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır.

Bu reaksiyonlar sonucu elde edilen mono- ve digliseridler gıda, kozmetik ve ilaç sanayiinde emülsifiyan ve stabilizör olarak kullanılırlar. Amerika Birleşik Devletleri'nde, monogliseridler, gıda ürünlerinin toplam emülsifiyan miktarının % 70' ini oluşturmaktadırlar ki bu da yaklaşık 85 milyon kg/yıl seviyesindedir. Monogliserid emülsifiyanları GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilebilir) statüsündedirler [14].

2.3. Esterleşme Reaksiyonu ve Kısmi Gliseridlerin Üretimi

Genel anlamda esterleşme reaksiyonları; bir karboksilli asit ile alkolün ürün olarak ester ve su verecek şekilde yaptıkları tersinir bir reaksiyondur. Hidroliz reaksiyonunun tersi olarak da tanımlanabilir.



Yağ asitleriyle gliserinin reaksiyonu sonucunda mono-, di- ve trigliseridlerden oluşan bir ürün meydana gelir.

Gliserolün primer ve sekonder gruplarının, göreceli (rölatif) olarak esterleşmesi, önce Demarq ve Crossley et al. daha sonra ise Brander ve Birkmeir [15] tarafından değerlendirilmiştir. Monogliseridlerin, yüksek ısıda, alkali katalizör varlığında hazırlanabilmelerinden dolayı, Feuge ve Bailey [16] esterleşme için uygun şartların var olduğunu teşhis etmişlerdir. Gliserin, mono-, di- ve trigliserid oranlarının

aşağıdaki iki madde uygulandığı takdirde istatistiksel olarak hesaplanabileceğini göstermişlerdir. Bunlar;

- a) alkil gruplarının hidroksil grupları üzerinde rasgele bir dağılımı olması ve
- b) primer ve sekonder hidroksil grupların esterlenebilmesi için eşit olasılık olduğu şeklindedir.

Brander ve Birkmeir [15], Feuge ve Bailey [16] tarafından sunulan hesaplama metodunun, ticari amaçlı monogliserid bileşimleri için doğru olsa da, deneysel ve matematiksel bileşimlerinin karşılaştırılmasında belirsizlik oluştuğunu belirtmişlerdir.

Demarq' ın yorumlarına göre, Feuge ve Bailey [16] birbirleriyle çelişen 2 fikri kabul etmişlerdir. Bunlar; hidroksil grubunun eşit olasılıkta esterleşmesi ve β -monogliseridlerin oluşmadığıdır.

Birinci varsayım, herhangi bir polyol' ün karışık kısmi esterlerinin denge bileşimlerinin ispatlanması için gereklidir.

Bu varsayım eşit orandaki oleik asit ve etilen glikolün ($\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OH}$) 175°C ' de azot altında ve katalizör olarak ağırlıkça % 0.1 NaOH eklendiğinde gerçekleştirilen reaksiyon ile test edilmiştir. Belirlenen sürelerde (1.75, 5.25 ve 12.25 saat sonunda) asit değeri ve sabunlaşma değeri AOCS metodu ile, hidroksil değeri West Hoagland ve Curtis metodu ile hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 2.5.' de gösterilmektedir [13].

Choudhury, 1962 yılında, yağ asitlerinin gliserin ile direkt esterleşmesi ile ilgili başka çalışmalar da yapmıştır. Reaksiyonlar laurik, mistirik, palmitik, stearik, oleik ve linoleik asit ile katalizörsüz ve ayrıca ağırlıkça % 0.1 NaOH'i katalizör olarak kullanarak 180°C ' de denenmiştir. Her durumda yağ asitlerinin gliserine mol oranı 1:3' tür. Choudhury bu durumda maksimum monogliserid konsantrasyonun % 55-60 olduğunu belirtmiştir. Yine aynı deneylerde alkali katalizör varlığının, monogliseridin denge konsantrasyonuna erişmesi için geçen zamanı hızlandırdığı görülmüştür. Ayrıca katalizörün digliserid oluşumunu azalttığını da belirtmiştir [17].

C_{16} - C_{18} yağ asitlerinin rasgele interesterleşme ile maksimum digliserid yüzdesi (toplam gliserin miktarına göre hesaplanınca) 49' dur. Yüksek saflıktaki

monogliserid ürünleri, çözücü kristalizasyonu ile fraksiyonlanabilmektedir. Gliseridler ve gliserin için hazırlanmış çözücüler kullanılarak yüksek saflıktaki monogliseridler, interesterleşme ile elde edilebilirler. Mattil ve Sims interesterleşme ile bir piridin çözeltisinden (hidrojenlendirilmiş soya yağından ağırlıkça 1 kısım ile gliserinden 1 kısım) % 78 monogliserid sağlamışlardır. Franze ve Kretschmann piridin çözeltisi içerisindeki doğal yağların katalitik gliserolizinden % 90 monogliserid elde etmişlerdir.

Tablo 2.5. Etilen glikolün oleik asit ile esterleşmesi

	Zaman, saat					
	1.75		5.25		12.25	
Asit değeri	42.1		5.3		2.4	
Sabunlaşma değeri	177.5		178.0		178.5	
Hidroksil değeri	181.0		155.0		142.5	
% Serbest glikol-ağırlık	5.9		3.8		3.6	
	Deneysel Sonuçlar	Hesaplanan	Deneysel Sonuçlar	Hesaplanan	Deneysel Sonuçlar	Hesaplanan
Etilen glikol	0.338	0.328	0.210	0.224	0.204	0.200
Etilen glikol monoester	0.470	0.489	0.526	0.499	0.486	0.494
Etilen glikol diester	0.192	0.182	0.264	0.277	0.310	0.306
Asit/glikol mol oranı, R	0.854	-	1.053	-	1.106	-

Gros ve Feuge mono- ve digliseridlerin eldesinde direkt esterleşmenin tercih edilemeyeceğini çünkü direkt esterleşmenin genelde interesterleşme veya intraesterleşme ile sonuçlanacağını söylemişlerdir.

Gros ve Feuge' nin monogliserid eldesi ile ilgili çalışmalarının sonuçları Tablo 2.6.' da verilmiştir. Esterleşme reaksiyonunda gliserin:yağ asit oranlarının, sıcaklığın ve reaksiyon sürelerinin farklı olmasına rağmen, 1-monogliseridlerin % 50.3- 67.7 arasında değişmekte olduğu görülmüştür.

Tablo 2.6. Gliserinin yağ asidiyle esterleşmesi [13]

Girenler (Reaktanlar) Gliserin + Asit ^a	Mol Oranı, Gliserin: Asit	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)	Esterlenmiş Asit, % Ağırlık-	1-Mono- gliserid, %-Ağırlık	Gliserid Bileşimi, %-Ağırlık		
						Mono	Di	Tri
Stearik	1:1	80	2	-	51.2	-	-	-
Stearik	1.5:1	80	2	61.5	50.3	-	-	-
Stearik	1.5:1	100	2	-	63.0	70.1	27.9	2.0
Stearik	1.5:1	80	4	66.6	54.6	-	-	-
Stearik	1.5:1	100	6	82.2	60.0	64.9	33.8	1.3
Oleik	1.5:1	100	6	33.6	57.2	65.6	33.2	1.1
Laurik	1.5:1	100	6	81.4	67.7	70.8	29.0	0.2

^a %0.4 *p*-toluensülfonik asit katalizörün konsantrasyonu

Hartman ve çalışma arkadaşları düşük oranda monogliserid içeren karışımları borik asitle doyurulmuş % 90' lık asetik asit solüsyonu ile ekstrakte ederek, periyodat oksidasyon yöntemi ile monogliserid miktarını belirlemişlerdir. Borik asitle doyurulmuş % 90' lık asetik asit çözeltisinin işlevi, periyodat ile reaksiyon öncesinde, reaksiyonu etkileyebilecek maddeleri elimine etmektir. Malaprade metodu, 1945 yılında periyodat ve komşu hidroksil grupları arasındaki reaksiyonları kullanarak α -monogliseridlere uygulanmıştır. Bu metot AOCS tarafından, yağların bileşimlerinin belirlenmesinde, Cd 11-57 analiz yöntemi olarak temel oluşturmaktadır. AOCS metodu monogliserid yüzdesi 3 ve daha az olan durumlarda uygulanabilmektedir. Mehlenbacher' in iyi bilinen monografisi ile periyodat kullanarak ham soya, pamuk ve yer fıstığı yağlarının monogliserid içeriklerinin % 0.5' in altında olduğu bulunmuştur. 1950' lerde Kummerow ve Daubert periyodat metodun, küçük miktarda, mevcut monogliseridlere uygulandığında sınırlı şekilde kullanılabileceğini belirlemişlerdir. Bharuca ve Gunstone bu sınırlamaların beklenilenden daha çok olduğunu belirlemişlerdir. Saf oleik asit ve metil linoleatın % 3.8-3.9 oranında dihidroksil asit içerdiğini göstermişlerdir. Böylece periyodat metodunun, ticari monogliserid preparatlarının analizi için uygun olduğu ve doğal yağlar içindeki monogliseridlerin belirlenmesinde kullanılamayacağı tespit edilmiştir [18].

Geçtiğimiz yüzyılın yarısında birçok kromatografik ve spektrofotometrik metotlar monogliseridlerin belirlenmesinde uygulanmıştır. Bunlardan bir tanesi Halvarson ve Qvist tarafından geliştirilen ham yağlarda, monogliserid miktarının belirlenmesi ve

yenilebilir yağların rafinasyonu sırasında, bu miktardaki değişimin belirlenmesi metodudur. Bu metot monogliseridlerin asetonitril ile ekstraksiyonu ile zenginleştirilmesi ve elde edilen kalıntının çözücü uçurulduktan sonra sililasyonu şeklindedir. Daha sonra sililasyon ürününün, silile edilmiş kolesterolü, iç standart olarak kullanarak, gaz kromatografisinde analiz edilir. Hindistan cevizi ve palm yağının asetonitril ile ekstraksiyonu ile kısa zincirli digliseridlerden monogliseridlerin ayrılması yapılmıştır. Sonuçlar ince tabaka kromatografisinde gözlenmiştir. Düşük miktarda monogliseridlerin zenginleştirilmesi, zehirli asetonitril çözücü kullanımı nedeniyle kolay olarak nitelendirilmemektedir. Piridinin çözücü olarak kullanıldığı durumlarda gaz kromatografisine verilmeden önce piridini giderilmiş ve iyi sonuçlar alınmıştır. Geliştirilmiş olan analitik metot ile ham yağlarda mevcut olan monogliserid, hekzanda çözünmüş yağdan, borik asitçe doymuş % 90' lık asetik asit çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. % 90' lık asetik asit, hekzan fazında nonpolar gliseridleri bırakarak, monogliseridleri çözmektedir. Borik asit kullanımı ise serbest yağ asitleri ve digliseridlerin sulu asetik asit içerisindeki çözünürlüklerini düşürmektedir. Kullanılan çözücü asetonitril kadar etkilidir ama zehirli değildir [18].

2.4. Enzimatik Gliseroliz Hakkında Literatürde Yapılan Çalışmalar

Kimyasal kataliz yöntemi ile 220⁰C üzerindeki sıcaklıklarda gerçekleştirilen gliseroliz reaksiyonunun dezavantajlarını kaldırmak amacıyla son yıllarda bazı araştırmacılar, biyoteknolojik çalışmaların yüksek kalite ve yüksek verimde monogliserid üretimi için bir potansiyel oluşturabileceğini düşünmüşler ve bu konu hakkında çalışmalara hız vermişlerdir. Bu yüzden bu çalışmada, enzimatik gliseroliz hakkında literatürde yapılan çalışmalar özet bilgi halinde sunulmuştur.

Son on yılda, lipaz katalizörlü gliseroliz reaksiyonu kullanılarak bilinen gliseroliz yöntemiyle elde edilmiş ürünlerde görülen ve daha önce bahsedilen koku, tat ve renk problemlerinin giderilmesinde önemli aşamalar kaydedilmiştir. Örneğin monogliseridler, bitkisel yağ ve don yağından immobilize lipazlar ile düşük sıcaklıkta üretilmişlerdir. Feral Temelli ve arkadaşları, palm yağı, sığır don yağı ve domuz yağından 30-46⁰C sıcaklıklarda, lipaz katalizörlü gliserolizi gerçekleştirerek, doymuş yağ asitlerinin monogliserid fraksiyonunda zenginleşmesini sağlamışlardır. % 90' lara varan monogliserid verimi yaklaşık 4 günlük bir bekleme süresi ile

sağlanmıştır. Zeytinyağının gliserolizi için biyoreaktör membran kullanılmış ancak düşük verimde monogliserid elde edilmiştir. Bir iç bağlantılı adsorbsiyon kolonunun membran biyoreaktöre bağlanması ile monogliserid eldesi sağlanmıştır. 2 monogliserid eldesi için trigliserid hidrolizleyen bir mikroemülsiyon sistemi de geliştirilmiştir. Verim % 80' lere çıkmıştır, ancak yüzey aktifleyici ile ürünün kirlenmesi problemi ortaya çıkmıştır [19].

Feral Temelli ve arkadaşları, gliserin ve soya yağının gliserolizini, süperkritik karbondioksit atmosferinde (SC-CO₂), 150-250°C' de karıştırmalı bir otoklavda, 20.7-62.1 MPa basınç altında incelemişlerdir. 15-25, gliserin/yağ mol oranları ve gliserinin % 0-8'i kadar su kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonlarda ürünlerin monogliserid, digliserid, trigliserid ve serbest yağ asidi bileşimlerini süperkritik akışkan kromatografisi ile zamanın fonksiyonu olarak belirlemişlerdir. Reaksiyon 150°C' de, 4 saatlik süre sonunda gerçekleşmemiş, 200°C' de sınırlı olarak gerçekleşmiş, 250°C' de hızla gerçekleşmiştir. 250°C' de monogliserid oluşumu basınçla düşerken, gliserin/yağ oranı ve su konsantrasyonu ile arttığı belirlenmiştir. 250°C' de, 20,7 MPa basınçta, 25 değerindeki gliserin/yağ oranında ve % 4 su konsantrasyonunda, 4 saat süre sonunda monogliserid içeriği % 49,2 olarak bulunmuştur. Bu şartlarda % 14 oranında serbest yağ asidi oluşumu sağlamıştır. Bu deney koşulları yerfistiği, mısır, kanola ve pamuk yağları için de gerçekleştirilmiştir. En yüksek monogliserid dönüşümü ise pamuk yağında saptanmıştır. Bu yöntemin katalizörlü gliseroliz reaksiyonuna göre avantajları; katalizörün ortamda olmaması, daha açık renkte ve daha az kokulu bir ürün eldesidir [19].

Gerald P. Mc Neill ve arkadaşları, sığır donyağının lipaz enzim katalizörlüğünde gliseroliz reaksiyonunu gerçekleştirmişler ve sonuç üründeki monogliserid miktarını etkileyen en önemli faktörün sıcaklık olduğunu saptamışlardır. 40-50°C arası sıcaklıkta çalışarak 46°C' yi kritik sıcaklık olarak belirlemişlerdir. Kritik sıcaklığın altında monogliserid verimini % 70, üstünde ise % 30 olarak saptamışlardır. Ayrıca enzim aktivitesini arttırmak için kullanılan suyun, serbest yağ asidi miktarında artışa yol açarak, monogliserid verimini etkilediğini belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca enzim miktarının monogliserid verimine etkisi incelenmiş ve bunun monogliserid verimini etkilemediğini ancak reaksiyon hızını etkilediğini belirlemişlerdir [1].

Gerald P. Mc Neill ve Tsuneo Yamane başka bir çalışmada donyağı, palm yağı ve palm stearinin, gliseroliz reaksiyonlarında katalizör olarak *Pseudomonas* sp., *Mucor miehei* lipazları ve *Mucor miehei* ve G lipazı karışımı kullanarak monogliserid verimini incelemişlerdir. Reaksiyonlar 42°C' de gerçekleştirilmiş ve 8-16 saat sonunda elde edilen ürün 5°C' deki su banyosuna konularak 4 gün bekletilmiştir. *Pseudomonas* sp. lipazı kullanıldığında her üç yağ için de elde edilen ürünlerdeki monogliserid yüzdesinin yaklaşık olarak 90' a ulaştığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarla, çeşitli lipaz karışımlarının ve sıcaklık programlama sistemlerinin, monogliserid verimine etkisini incelemişlerdir [20].

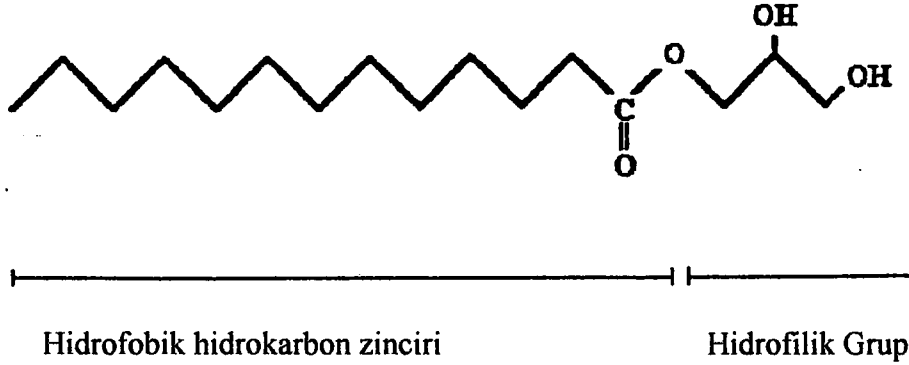
Oleik asit ve gliserin arasında üç farklı lipaz kullanılarak yapılan esterleşme reaksiyonlarında, lipaz seçiciliğinin su ile olan ilişkisini inceleyen Ergun ve André; lipozyme, Lipozyme IM-20 ve immobilize *Candida* sp lipazlarının kullanılmasında reaksiyonda oluşan suyun ortamdan uzaklaştırılmasının triolein üretimi açısından çok önemli olduğunu vurgulamışlardır. Her durumda ortam bileşimi ve ortam şartları, yüksek substrat konsantrasyonlarında çalışmak ve ara ürünlerin oluşumunu en aza indirmek amacıyla optimize edilmiştir. Suyun uzaklaştırılması ile, stokiometrik oranlarda ki substrat miktarında ve az miktarda gliserin fazlalığında yürütülen reaksiyonlarda, 48 saat sonunda, oleik asidin % 95' inin triolein oluşumu yönünde kullanıldığını ortaya koymuşlardır. Substrat miktarlarının, stokiometrik oranlarda olmasının, en iyi mono- ve digliserid dönüşümünü sağladığı saptanmıştır. Çok az miktarda gliserin fazlasının, reaksiyona, iyi bir inhibitör olduğu görülmüştür. Aynı zamanda, triolein sentezinin 1,2-digliseridlerin oleik asit ile reaksiyona girmesine de bağlı olduğunu açıklamışlardır [21].

2.5. Monogliseridlerin Kullanım Alanları

Monogliseridlerin elde edilmeleri kolaylaştıkça birçok kullanım alanı doğmuştur. Kullanım alanları yeni olmalarına rağmen, monogliseridin GRAS (genellikle güvenli kabul edilebilir) statüsünde olması gıda sistemleri için çok önemlidir.

Monogliseridin serbest hidroksil grubu hidrofilik karaktere sahipken, alkil grubu lipofilik karakterdedir. Yağ alkil zinciri, gliserin molekülü üzerindeki 3 hidroksil grubundan birine bağlanır. Diğer biyokimyasal ve fiziksel reaksiyonlar kadar, monogliseridlerin absorpsiyon reaksiyonu yağ asitlerinin hidroksil grubuna

bağlanmasından kaynaklanır. Monoglisericidler kimyasal olarak sentezlendiği gibi, yağların sindiriminde de doğal halde bulunabilirler.



Şekil 2.1. Bir Monoglisericidin Kimyasal Yapısında Hidrofobik ve Hidrofilik Grupların Gösterimi [22]

Monoglisericidler, noniyonik olmaları ve asit-baz durumlarına duyarlı olmamalarından dolayı gıda ürünlerinde tercih edilirler. Yardımcı emülsiyonlaştırıcılarla birlikte kullanıldıklarında emülsiyet etme kabiliyetleri artar. Böylece monoglisericidler, margarinlerde ve keklerde emülsiyonlaşma dengesini sağlarlar.

Gıda endüstrisinde monoglisericidler özellikle yüzey aktifleyici ve emülsiyonlaştırıcı olarak kullanılmalarına rağmen, aynı zamanda da bayatlamayı engelleyici (anti-staling) olarak da kullanılırlar. Monoglisericidlerin yüzey aktif özellik göstermeleri moleküler yapılarının hidrofilik ve lipofilik özelliklerini aynı anda içermesinden dolayıdır. Bu su-sevme ve yağ-sevme denge durumları, yağ ve su fazlarını iç bölgelerde, birlikte ve karışık halde tutar. Monoglisericid ve diğer yüzey aktifleyiciler, iç bölgelerde, iki faz arasındaki yüzey gerilimini azaltırlar ve böylece ürünü, fazların ayrılmasından kurtarırlar. Aynı zamanda amfipatik yapıları su içerisinde tek faz halinde davranmalarını sağlar [9].

Mono- ve diglisericidler, keklerde 1930' ların başlarından beri ve günümüzde de halen kullanılmaktadır. Ayrıca şehriyede, hububatta, pudingde, kahve beyazlatıcılarda, yapay kremada monoglisericidler yüzey aktifleyici veya emülsiyonlaştırıcı olarak kullanılırlar. Karamellerde bulunan % 0.5-1 oranında mono- ve diglisericidler çiğnenme kalitelerini artırır ve karamellerin yapışkanlıklarını azaltır [23].

Benzer olarak yumuşak, nemli hayvan yemlerinde % 1-2.5 oranında bulunan monogliserid, hem dayanıklılığı sağlar, hem de yağların ayrılmasını engeller [23].

Ayrıca makroskobik “jel benzeri” monogliserid mezofazların ilginç bir kullanım alanı da, monoolein kübik fazların dış macunu şeklinde kullanımıdır. Bu kullanım şekli ilaç alım amaçlıdır ve aynı zamanda damak iltihaplarında da kullanılır [9].

Monogliserid sistemleri aynı zamanda nem önleyicisi olarak da görev yaparlar. Monogliseridler etler, meyveler ve fındıklar için yenilebilir kaplama olarak da kullanılırlar [9].

Kozmetik endüstrisinde de monogliserid ve türevleri, saç ve el ürünlerinde kullanılırlar [9].

2.6. Yağların Segregasyonu ve Yağlardan Asit Giderme

Bir karışımın ayrılması veya segregasyonu, seçici bir çözücünün karışım içerisindeki tek bir komponenti çözmesiyle gerçekleşmektedir. Segregasyon işlemi aynı zamanda, çözücünün karışımındaki tek bir komponenti çözmayip diğer komponentlerin tamamını çözmesiyle de gerçekleşmektedir. Segregasyon ile ilgili çalışmalar genellikle sıcaklığın değişmesinden kaynaklanan çözünürlük farkına dayanır [24].

Daha önceden de belirtildiği gibi doğal yağlar saf maddeler değildir. Doğal yağlar serbest yağ asitleri, steroller ve renkli maddeler içerirler. Yağlar ısıtıldıktan sonra durum daha da karmaşıklaşır. Yağın içerisindeki komponentlerin çözünürlüğü aseton, metil-etil keton, alkoller ve furfural gibi çeşitli çözücülerde farklıdır. Hilditch düşük sıcaklık kristalizasyonu ile keten tohumu yağı gliseridlerini eter-aseton kullanarak fraksiyonlamıştır. Segregasyon ile ilgili ilk çalışmalarda Behr balık yağıyla çalışmıştır. Öncelikle %10 yağ, % 90 çözücü olan kesikli bir proses kullanmış, daha sonra sürekli bir proses geliştirmiş, böylece maliyeti düşürmüştür [24].

Pittsburg Plate Glass Co. yeni bir seçici çözücü-distilasyon prosesi yayınlamıştır. Buna göre yağları 2 fraksiyona ayırmıştır. Fraksiyonlardan biri diğerine göre daha hızlı kuruyandır. Bu proses için kullanılan en pratik çözücü furfuraldır. 6-14 kısım furfurale karşılık 1 kısım yağ kullanmışlardır. 40 °C veya daha yüksek sıcaklıklarda

yağ çözünmüştür fakat daha düşük sıcaklıklarda yağ 2 faza ayrılmıştır. Fazlardan biri daha hızlı kuruyan kısımdır. Prosesin birçok modifikasyonundan bahsedilmiştir. Furfural genellikle seçici çözücü olarak kullanılır. Renkli kısımların çam reçinesinden ayrılması da furfuralle yapılabilir.[24].

Çözücü segregasyonu ile ilgili araştırmalarda M. W. Kellogg Co., Solexol prosesinde propanı kullanmıştır. Propan oda sıcaklığında gaz fazdadır fakat proses basınç altında çalıştırılarak propanın sıvı fazda olması sağlanmıştır. 96.7 °C her komponentin çöktüğü kritik sıcaklık olduğundan, prosesin çalışması esnasında 93 °C' nin üzerine çıkılmamıştır. Yağın bütün komponentleri sıvı propan ile düşük sıcaklıkta çözünmüş fakat sıcaklık arttırıldığında segregasyon gerçekleştirilmiştir. Yağ ve çözücü bir kolona ters akımda beslenmiştir. Sıcaklık kolonun tepesinde ve altında farklıdır. Böylece kolonun altından ve üstünden alınan ürünler farklı olmuştur [25].

Goss çalışmasında soya yağını trikloroetilen ile ekstrakte etmiştir. Böylece serbest asitler nötrale edilerek uzaklaştırılmış ve ardından istitle distilasyon ile istenmeyen kokular ve renkler giderilmiştir [26].

Yağlarının rafinasyonunda serbest asitlerin giderilmesi işlemini, daha önceden de belirtildiği gibi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirmek mümkündür. Uzun zamandan beri ve halen de en çok uygulanan yöntem, sudkostikle yapılan nötralizasyon işlemidir. Sudkostik ham yağda bulunan serbest yağ asitleri ile birleşerek sodyum sabunlarını oluşturur ve böylece serbest yağ asitleri yağdan ayrılır. Ancak bu yöntemin en büyük sakıncası, sudkostik bir miktar yağı da sabunlaştırması ile ve yine bir miktar nötr yağın oluşan sabunlar tarafından tutulması ile sistemde bir nötr yağ kaybının meydana gelmesidir. Literatürde, klasik sudkostik nötralizasyonunun, en fazla % 8-10 değerine kadar serbest asit içeren yağlara, yani nispeten düşük serbest içerikli yağlara ekonomik olarak uygulanabileceği belirtilmiştir [28, 29, 30]. Daha yüksek oranda serbest asit içeren yağlarla çalışıldığında, oluşan fazla miktardaki sabun ya çok fazla miktarda nötr yağı beraberinde sürüklemektedir veya oluşan emülsiyonun bozulması mümkün olmamaktadır.

Özellikle yüksek asitli yağlardan asit giderilmesi için geliştirilen yöntemlerden birisi 'misellada nötralizasyon' yöntemidir. Bu yöntemin prensibi, nötralizasyon reaksiyonunu yağın ve yağ asitlerinin çözündüğü fakat oluşan sabunların çözünmediği bir çözücü ortamında yürütmektir. Amerika' da çözücü olarak daha çok

benzin veya hekzan kullanarak pamuk yağına uygulanan bu proseste, oluşan sabunlar santrifüjlenerek miselladan kurtarılır. Aynı prensibe dayanan, fakat farklı çözücülerin kullanıldığı birkaç çalışma yöntemi, halen pirina yağı içinde endüstriyel olarak uygulanmaktadır [27, 28, 29].

Yüksek asitli yağlara uygulanan ve halen pirina yağının rafinasyonunda kullanılan diğer bir yöntem, istim rafinasyonu veya fiziksel rafinasyon olarak da adlandırılan, distilasyonla serbest asitlerin giderilmesidir. Serbest yağ asitleri trigliseridlerden daha uçucu olduğundan, vakumda ve yüksek sıcaklıkta, su buharı distilasyonu ile serbest yağ asitleri nötr yağdan ayrılır. Bu yöntemde de bir miktar nötr yağ kaybı söz konusudur. Ancak bu kaybın miktarı, ham yağın serbest içeriğiyle orantılı olarak artmadığından, bu yöntem özellikle yüksek asitli yağlar için daha ekonomiktir [30].

Yağlardan çözücü ekstraksiyonu ile asit giderme üzerinde ilk çalışma, 1924 yılında Fachini ve Sommazi tarafından yayınlanmıştır [31]. Bu çalışmada araştırmacılar, zeytin yağının çeşitli sıcaklıklarda % 94' lük etil alkoldeki çözünürlüğünü incelemişler ve serbest yağ asitlerinin ekstraksiyonu için, sıcaklığın 50°C'nin altında olması gerektiğini saptamışlardır [31].

Taylor ve arkadaşları, 15 farklı yağ çeşidi için, 25 °C'de % 90' lık ve mutlak alkolde çözünen yağ miktarını ve yağda çözünen alkol miktarını tayin ettikleri çalışmalarında, 1/2 kısım oleik asit ve 1/2 kısım nötr yağdan oluşan karışımın % 90'lık etil alkolde; yine 1/3 kısım oleik asit ve 2/3 kısım nötr yağdan oluşan bir karışımın ise mutlak alkolde tamamen çözüldüğünü saptamışlardır [32].

Loew, zeytin yağından % 96' lık etil alkol ile asit gidermek için, pilot ölçüde dolgulu bir kolonda yaptığı çalışmada, uygulama ilkesinin iyi olmasına rağmen, sonuçların ekonomik yönden olumlu olmadığını açıklamıştır [33].

Selma Türkay çalışmada, öncelikle pirina yağı ve hekzan karışımının sulu etil alkol çözeltileri ile sıvı-sıvı ekstraksiyonunu incelemiştir. Bu amaçla, piyasadan elde edilen 1.5 asitli naturel zeytin yağı etiketli yağ örneğine, Merck marka saf oleik asit katılarak, % 5, 10, 20, 30, 40, 50 oranlarında serbest yağ asidi içerecek şekilde yapay karışımlar hazırlamıştır. Bu yağ örneklerini ağırlıkça 1:1 oranında hekzanla (Merck) karıştırarak misellalar oluşturmuştur. Elde edilen misella örneklerini, 19-22°C ortam sıcaklığında ve çözücü:misella oranı hacmen 1:1 olacak şekilde, % 96, 90, 85, 80,

76.8, ve 70' lik etil alkol çözeltileri ile ekstrakte etmiştir. Selma Türkay bu çalışma pirina yağı gibi yüksek asitli bir yağın hekzandaki çözeltilisini, sulu etil alkol çözeltileri ile ekstrakte ederek ve düşük bir trigliserid kaybı ile, serbest yağ asitlerini gidermenin mümkün olduğunu deneysel olarak ortaya koymuştur. Alkolün su içeriğinin artmasıyla nötr yağ kaybının azaldığını, dolayısıyla asitliği düşürülmüş bir yağın yanısıra, serbest yağ asitlerince zengin bir yan ürünün elde edileceğini söylemiştir. Bu nedenle çalışmalarını % 70 ve 80' lik etil alkol çözeltileri üzerine yoğunlaştırmıştır. Yine deneylerin başka bir sonucuna göre, kullanılacak % 70 ve 80' lik etil alkol çözeltilerinin önce hekzanla doyurulması gerektiğinden de bahsetmiştir.

Selma Türkay aynı çalışmada pirina yağı gibi yüksek asitli bir yağdan serbest yağ asitlerinin giderilmesi için, yağın doğrudan doğruya % 90' lık metanol çözeltisi ile ekstraksiyonunu incelemiş ve düşük bir trigliserid kaybı ile bu işlemin gerçekleştirilebileceğini deneysel olarak kanıtlamıştır [28].

Gulha ve çalışma arkadaşları, serbest yağ asit içeriği yüksek (> % 10) pirinç kepeği yağın fraksiyonlamışlardır ve prosesin parametrelerini optimize etmişlerdir. Bu çalışma esnasında, etanol (kn. 78-80°C) ve izo-propanol (kn. 81-83°C) deneysel yağları ekstrakte etmekte kullanılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde her bir numune için sulu alkol yüzdesinin düşmesiyle yağ fraksiyonundaki ürünün yağ verimi arttığı, her 2 fraksiyonda asit değerinin artmasıyla alkol fraksiyonundaki yağ verimi azaldığı görülmüştür. Bu sonuç sulu alkolün çözünürlüğünden ve polaritesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca sulu alkol/yağ oranının artmasıyla yağ fazındaki yağ veriminin düştüğü, her 2 fazdaki asit değerinin artmasıyla alkol fazındaki yağ veriminin arttığı görülmüştür. Sonuçlar olarak % 85-90' lık (hacim/hacim) sulu etanol ve % 75'lik (hacim/hacim) sulu izo-propanolün fraksiyonlanma için uygun ve kullanışlı olduğu saptanmıştır [34].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Gliserin (Merck): %98-100.5 etiketli gliserin herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

Oleik Asit (Merck): Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

Zeytinyağı: Bu çalışmada ticari olarak temin edilen zeytinyağı kullanılmıştır.

Benzen (Merck): Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

Hekzan (Teknik): Distillenerek kullanılmıştır.

Asetik Asit (Merck): Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

Sodyum Sülfat (Merck): 120⁰C’ de ısıtılarak suyu giderilmiş ve desikatörde muhafaza edilmiştir.

Dietil Eter (Merck): Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

Petrol Eteri (40⁰C-60⁰C) (Merck): Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır.

3.2. Deneysel Çalışma Kademeleri

Deneysel çalışmalar 3 kademede gerçekleştirilmiştir;

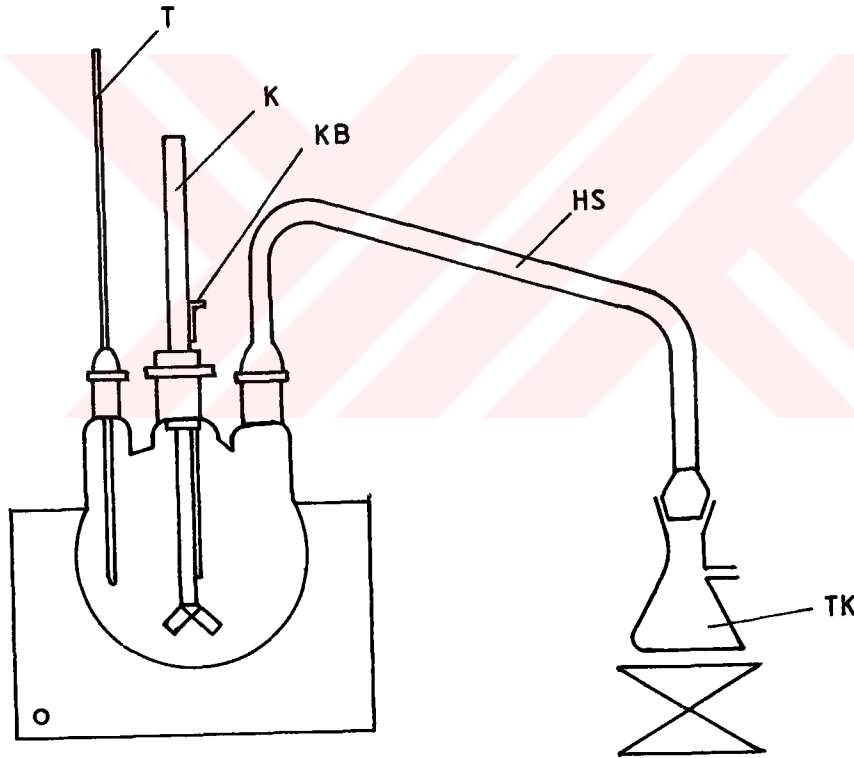
1. Ester ürünlerinin hazırlanması ve bileşimlerinin saptanması,
 2. Yüksek ve düşük konsantrasyonda monogliseric içeren numunelerden monogliseric ekstraksiyonunun çeşitli çözücü sistemleri ile gerçekleştirilmesi,
 3. Ekstrakte edilmiş ester ürünlerinin bileşimlerinin saptanması
- şeklindedir.

Monoglisericid ekstraksiyonu, farklı çözücü sistemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla aşağıdaki çözücü sistemleri kullanılmıştır.

- a) % 90' lık asetik asit,
- b) %90'lık asetik asit içerisine % 0.1, 0.4, 0.8 oranlarında ve doygun olacak şekilde borik asit eklenerek elde edilen çözeltiler,
- c) % 80 ve % 96 sulu etil alkol çözeltisi

hazırlanmıştır.

3.3. Kısmi Esterlerin Elde Edilmesi İçin Deney Düzeneği



K : Karıştırıcı
HS : Hava soğutucu
TK : Toplama kabı
T : Termometre
KB : Kapilar boru

Şekil 3.1. Deney Düzeneği

Kısmi esterler, esterleşme reaksiyonuyla elde edilmiştir. Reaksiyon 4 boyunlu 250 ml hacimli balonda gerçekleştirilmiştir. Balonun boyunlarından birine azot girişini ve termometreyi yerleştirmeyi sağlayan bir adaptör, diğerine ise hava soğutucusu yerleştirilmiştir. Hava soğutucusunun diğer ucuna reaksiyon sırasında çıkan suyu toplamak için bir kap konulmuştur. Deney düzeneği Şekil 3.1.' de görülmektedir.

3.4. Ester Ürünlerinin Elde Edilmesi

Farklı bileşimlerdeki kısmi ester ürünlerini hazırlamak için öncelikle, oleik asit ile gliserinin esterleşme reaksiyonu yapılmıştır. Bu amaçla oleik asit / gliserin mol oranı 1:2 olacak şekilde reaksiyon kabına konulmuş, 200°C' ye kadar ısıtılmış ve bu sıcaklıkta sabit tutulmuştur. Reaksiyon 3 saat süre ile devam ettirilmiştir. Reaksiyonda katalizör olarak NaOH (ağırlıkça oleik aside göre %0.1 oranında) kullanılmıştır. Katalizör ilavesi sıcaklık 100°C'a ulaştığında yapılmıştır.

Asit + Alkol → Ester + Su reaksiyonunun ester yönünde ilerleyebilmesi için ortamda oluşan su, sürekli olarak azot beslenerek uzaklaştırılmıştır.

Azot gazının debisi 200 ml/dakika olacak şekilde ayarlanmıştır.

Reaksiyon sonunda ortamdaki serbest gliserini ve katalizörü gidermek amacıyla elde edilen ester ürünü dietil eterle çözülmüş, 0.2N H₂SO₄ çözeltisi ile ve ardından tuzlu suyla yıkanmıştır. Yıkama işlemine pH kontrolü yapılarak nötr olana kadar devam edilmiştir. Numuneler, susuz Na₂SO₄ ile kurutulduktan sonra çözücülerini uzaklaştırılmıştır. Ester ürünü, zeytin yağı ve oleik asit belli oranlarda karıştırılarak, farklı bileşimlerdeki numuneler elde edilmiştir. Tüm ester ürünleri üzerlerinden azot gazı geçirilerek muhafaza edilmiştir.

3.5. Ester Ürünün Özelliklerinin Belirlenmesi

Esterleşme reaksiyonu sonucunda elde edilen ürünün hidroksil değeri, sabunlaşma değeri ve asit değeri belirlenmiştir. Bu değerler sırası ile HD = 192.7, SD= 195.7 ve AD= 11.9 olarak bulunmuştur.

3.6. Ester Ürünlerinden Monoglisericid Zenginleştirilmesi

Farklı bileşimlerdeki ester ürünlerinden monoglisericid zenginleştirilmesi için uygulanan ekstraksiyon işleminde, çözücü sistemi olarak % 90' lık asetik asit, % 90' lık asetik asit içerisinde % 0.1, 0.4, 0.8 oranlarında ve doymuş olacak şekilde borik asit içeren çözeltiler kullanılmıştır. Diğer bir çözücü sistemi olarak da % 96 ve % 80 sulu etil alkol çözeltileri kullanılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi, 10 gram ester ürününe, 20 ml çözücü ilavesiyle, ayırma hunisinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla karışım önce çalkalanmış, daha sonra bekletilerek 2 ayrı faz oluşumu sağlanmıştır. Asetik asit/borik asit çözücü sistemi kullanılarak yapılan ekstraksiyonda, monoglisericidce zengin asetik asit/borik asit fazı ekstrakt faz olarak isimlendirilmiştir. Bu fazlar balonlara alınarak asetik asidin giderilmesi için 50°C'de, 30 dakika süre ile vakuma bağlı olarak rotary-evaporatörde tutulmuştur.

Ekstrakt fazlar, içerisindeki borik asit ve eser miktardaki asetik asidin giderilmesi amacıyla, hezanda çözülüp pH kontrolü yapılarak tuzlu suyla nötr olana kadar yıkanmıştır. Distile su ile de yıkandıktan sonra Na₂SO₄ ile kurutulmuştur. Bu kademe, sulu etil alkol çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonda yapılmamıştır.

Ekstrakt fazlar, içerisindeki hezanın giderilmesi için rotary-evaporatörde 50°C'de sabit tartıma gelene kadar vakum altında tutulmuştur.

3.7. Ester Ürünlerinin Bileşimlerinin Saptanması

Ester ürünlerinin bileşimini saptamak için; İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ve Alev İyonizasyonu Dedektörü/İnce Tabaka Kromatografisi kombine sistemi (FID/TLC) analiz yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Elde edilen numunelerin bileşimlerinin nitel olarak saptanması için öncelikle İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) yöntemi kullanılmıştır. Yürütücü (eluent) olarak kullanılan çözücü karışımı; petrol eteri 80ml, dietil eter 20 ml ve asetik asit 1 ml' dir.

Çözücü, tankın içine konduktan sonra, uygun büyüklükte süzgeç kağıdı tank içine yerleştirilmiş ve çözücü tankı, 2 saat boyunca sabit bekletilmiştir.

Bileşimleri incelenecek olan ester ürünleri, 0.1 g/10 ml benzen oranlarında hazırlanmıştır. Numuneler 15 µl'lik endurp pipetleri ile, silika jel ile kaplı tabakalara şırınga edildikten sonra, tabakalar tanka yerleştirilmiştir. Tankın içerisindeki çözücü, tabakada 10 cm ilerleyince, tabaka tanktan alınmış ve 30 dakika, açıkta, yatay olarak, bekletilerek çözücüsünün uçması sağlanmıştır. Daha sonra tabaka iyot tankına yerleştirilmiş ve oluşan renkli lekelerle ürün bileşimi kalitatif olarak görülmüştür.

Ester ürünlerinin bileşimlerinin, % ağırlıkça belirlenebilmesi için, alev iyonizasyonu dedektörü/ince yüzey kromatografisi kombine sistemi (FID/TLC) olan Iatroscan TH-10 MK. IV cihazı kullanılmıştır. Kromatografik çalışma koşulları en iyi ayrımın yapıldığı kaynak tarama verileri ve standart karışımla yapılan deney sonuçlarına göre seçilmiştir [35, 36, 37]. Çalışma koşulları aşağıda gösterilmiştir.

Örnek Hacmi

1.0 µl

Örnek Bileşimi

0.1 g örnek/ 10 ml Benzen

Çözücü Karışımı

Petrol eteri: 35 ml

Dietileter: 15 ml

Asetik asit: 1 ml

Tankta yürütme süresi

20 dakika

Kurutma sistemi

İlk 10 dakika ortam sıcaklığında

İkinci 10 dakika 110°C' de ki etüvde

Alev İyonizasyonu Dedektörü

Hava Debisi: 160 ml/dakika

Hidrojen Debisi: 2000 ml/dakika

Tarama Debisi: 30 saniye

Yazıcı

Iatroorder TC-11

Hesaplama Yöntemleri

Mutlak hesaplama yöntemi

Bu koşullar altında çalışarak ester ürünlerinin içerdği monoglisericid, diglisericid, triglisericid ve serbest yağ asidi miktarları belirlenmiştir.



4. SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRMELER

Bu çalışmada, ekstraksiyon için % 90' lık asetik asit ve % 90' lık asetik asit içerisine değişik oranlarda borik asit eklenerek elde edilen çözücü sistemleri kullanılmış, sonuçlar birbirleri ile ve sulu etil alkol çözücü sistemi ile yapılan ekstraksiyon sonuçları ile karşılaştırılmıştır. % 90' lık asetik asit bundan sonraki açıklamalarda sadece asetik asit olarak ifade edilmiştir.

Borik asitçe doymuş asetik asitli çözücü sistemi ile monogliserid tayini yöntemi Hartman ve çalışma arkadaşları tarafından analitik bir metot olarak geliştirilmiştir [17]. Bununla beraber sözü edilen çalışma dışında, asetik asit/borik asit sisteminin, kısmi gliseridleri zenginleştirilmesi konusunda etraflı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada farklı bileşimlere sahip 5 değişik ester ürünü, çeşitli çözücü sistemleriyle fraksiyonlanmıştır. Çalışmada kullanılan kısmi ester örneklerinin bileşimleri Tablo 4.1.' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Ester ürünlerinin bileşimleri

Numune No	Monogliserid (%)	Digliserid (%)	Serbest Yağ Asidi (%)	Trigliserid (%)
1	0.9	0.3	9.3	89.5
2	1.0	0.4	0.8	97.8
3	4.5	1.7	10.2	83.6
4	5.0	1.9	0.5	92.5
5	55.1	21.4	6.0	17.5

Ester ürünlerinin bileşimlerinin değiştirilmesinin sebebi; farklı bileşimlerde, belirlenen çözücü sistemlerinin davranışını incelemektir. Hartman ve çalışma arkadaşları, borik asitçe doymuş asetik asitli çözücü sistemi ile monogliseridin kantitatif tayininde, % 3 ve daha az monogliserid içerikli numuneler kullanmışlardır [17]. Buradan yola çıkarak, preparatif ölçekteki çalışmalarımız için başlangıç numunesi olarak % 1 monogliserid içeren kısmi ester ürünü seçilmiştir.

Bunun dışında Tablo 4.1.'den görüldüğü gibi bozulmuş yağı temsil etmesi açısından monogliseric ve serbest yağ asidince zengin örnekler de çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmada öncelikle, borik asit konsantrasyonunun, kısmi ester numunesine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla bileşimi Tablo 4.1.'de verilen 1 no' lu numunenin, asetik asit, borik asitçe doymuş asetik asit ve % 0.1, % 0.4, % 0.8 oranlarında borik asit içeren asetik asit sistemleri ile ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Deney sonuçları Tablo 4.2.' de verilmiştir. Bu tabloda verilen değerler, monoglisericlerin zenginleştiği, ekstrakt faz olan, asetik asit/borik asit fazıdır. Sonuçları karşılaştırmak amacı ile literatürde çokça kullanılmış olan sulu etil alkol çözeltisi ile de paralel deneyler yapılmıştır. Bilindiği gibi bu çözücü sistemi, yağ asitlerini seçimli olarak ekstrakte etmektedir. Deney sonuçları Tablo 4.3.' de verilmiştir.

Tablo 4.2. 1 No' lu numunenin asetik asit/borik asit çözücü sistemi ile ekstraksiyonunda ekstrakt faz bileşimleri (% Ağırlık)

Ekstraksiyon Çözücüsünde ki Borik Asit Yüzdesi	Monogliseric (%)	Digliseric (%)	Serbest Yağ Asidi (%)	Trigliseric (%)
0	52.9	3.6	12.7	30.8
0,1	60.6	10.9	12.8	15.7
0,4	68.2	1.9	13.6	16.3
0,8	71.5	0.0	14.0	14.5
Doymuş	74.3	1.0	13.9	10.8

Tablo 4.3. 1 No' lu numunenin etil alkol ile ekstraksiyonun da ekstrakt faz bileşimleri (% Ağırlık)

Kullanılan Çözücüde ki Etil Alkol Yüzdesi	Monogliseric (%)	Digliseric (%)	Serbest Yağ Asidi (%)	Trigliseric (%)
80	30.4	3.3	59.7	6.6
96	4.9	10.7	34.8	49.6

Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi monoglisericde en zengin ekstrakt, borik asitçe doymuş %90'lık asetik asit çözücü sistemiyle kazanılmıştır. Bu nedenle daha sonraki çalışmalarda, kısmi esterlerin ekstraksiyonunda, borik asidin etkisini görebilmek için, bileşimleri Tablo 4.1.'de verilen 2, 3, 4 ve 5 no' lu örnekler asetik asit ve borik asitçe

doymun asetik asit ile aynı koşullarda ekstraksiyona tabii tutulmuşlardır. Sonuçlar Tablo 4.4.' de verilmiştir.

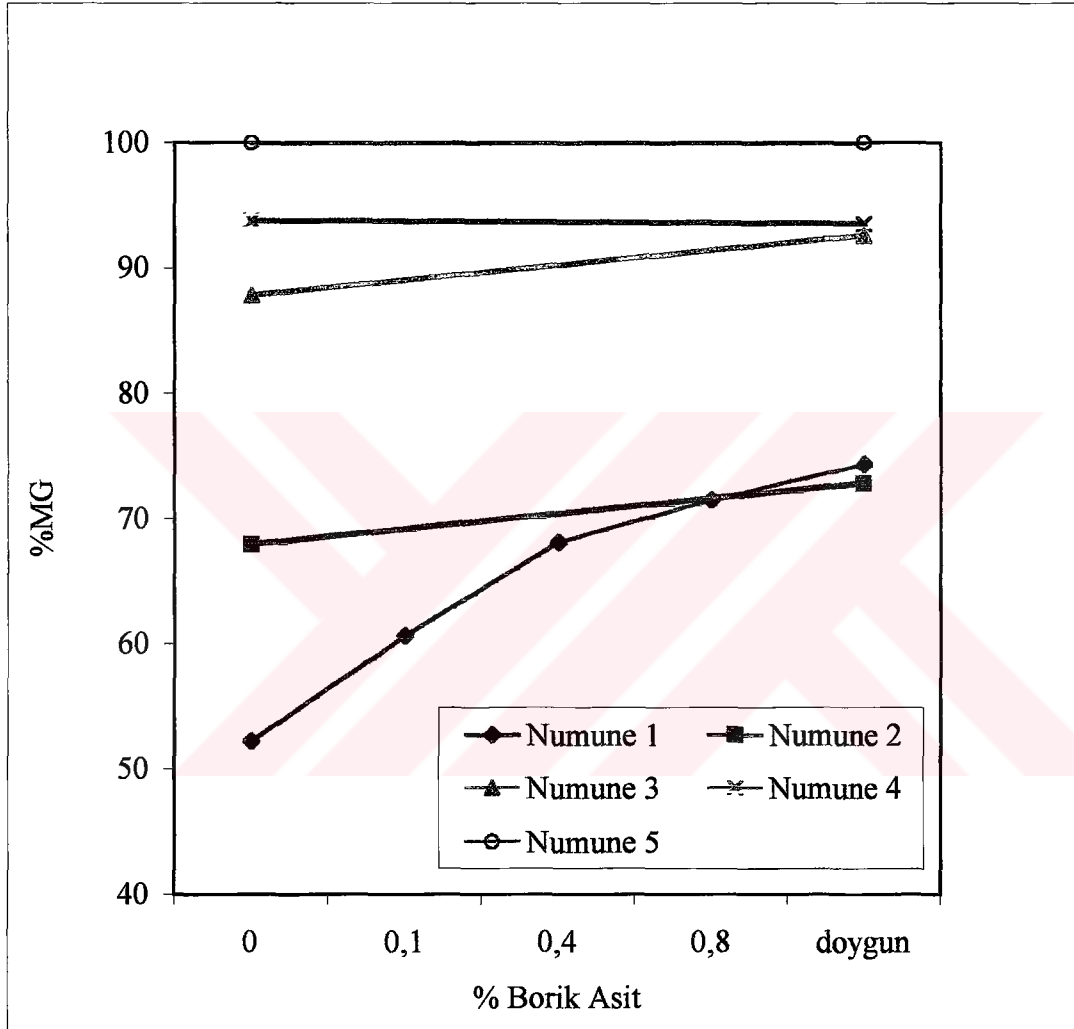
Tablo 4.4. 2, 3, 4 ve 5 No' lu numunelerin asetik asit/borik asit  sistemi ile ekstraksiyonunda ekstrakt faz bileşimleri (% Ağırlık)

Numune no	Kullanılan de ki Borik Asit Yüzdesi	Monoglisericid (%)	Diglisericid (%)	Serbest Yağ Asidi (%)	Triglisericid (%)
2	0	67.9	0.8	0.7	30.6
	Doygun	72.8	1.1	0.7	25.4
3	0	87.9	0	4.6	7.5
	Doygun	92.6	0	4.0	3.4
4	0	93.8	0	0	6.2
	Doygun	93.5	0	0	6.5
5	0	100	0	0	0
	Doygun	100	0	0	0

Bileşimleri Tablo 4.1.'de verilen ester rnlerinin, Tablo 4.2. ve 4.4.' de gösterilen, farklı lerle elde edilen ekstraksiyonundaki, monoglisericid miktarları şekil 4.1.' de gösterilmiştir. 1 no' lu numunenin, ekstrakt fazında ki monoglisericid miktarı, asetik asit kullanıldığında % 52.9 iken, asetik asit içerisine borik asit eklenince % 74.3' e ulaşılmıştır. 2 no' lu numune için ekstrakt fazdaki monoglisericid miktarı ise asetik asit kullanıldığında % 67.9 iken borik asitçe doymun asetik asit de % 72.8' e çıkmıştır. % 4.5 monoglisericid içeren 3 no' lu numunenin ekstrakt fazlarda elde edilen monoglisericid miktarı ise % 87.9' dan % 92.6' ya çıkmaktadır. 4 no' lu numunede ekstrakt fazda monoglisericid miktarı % 93' tür. % 55.1 monoglisericid içerikli 5 no' lu numunenin bu yöntemle ekstraksiyonu sonucunda ekstrakt fazda monoglisericid miktarı % 100 olmuştur.

Buna göre başlangıç numunesindeki monoglisericid miktarının artmasıyla, ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrakt fazlardaki monoglisericid miktarı da artmaktadır. Hatta % 55.1 monoglisericid içerikli 5 no' lu numunede görüldüğü gibi saf monoglisericid eldesi de mümkün olabilmektedir. Diğer taraftan, düşük monoglisericid içerikli numuneler durumunda, diğer komponentler de (diglisericid, serbest yağ asidi, triglisericid) ekstrakt faza geçmektedir.

Kullanılan başlangıç numunesi/çözücü oranına göre, monogliserid içeriği az olan başlangıç numunelerinde, mevcut monogliseridin tümü ekstraksiyon sonrasında, ekstrakt faza geçmektedir. Ancak yine bu oran söz konusuysen, monogliserid içeriği yüksek olan başlangıç numunelerinde, ekstraksiyon sonrasında ekstrakt fazlarda monogliserid saf olarak elde edilmesine rağmen, monogliseridin tümü ekstrakt faza geçmemektedir, bir kısmı rafinant fazda kalmaktadır.

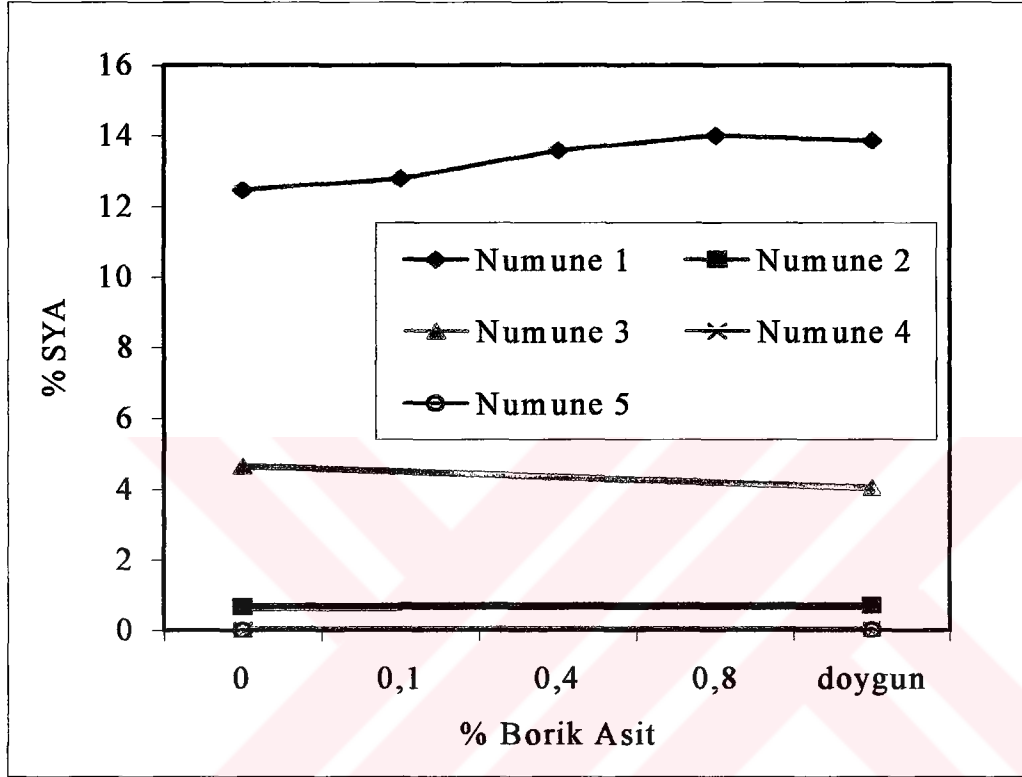


MG = Monogliserid

Şekil 4.1. Ester ürünlerinin ekstrakt fazlarında monogliserid miktarının asetik asit içerisindeki borik asit miktarına göre değişimi

Aynı numuneler için benzer değerlendirmeler serbest yağ asidi açısından da yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 4.2., Tablo 4.4. ve Şekil 4.2.' de görülmektedir. Numunelerin, ekstrakt fazda ki, monogliserid yüzdesi arttıkça serbest yağ asidi yüzdesi düşmektedir.

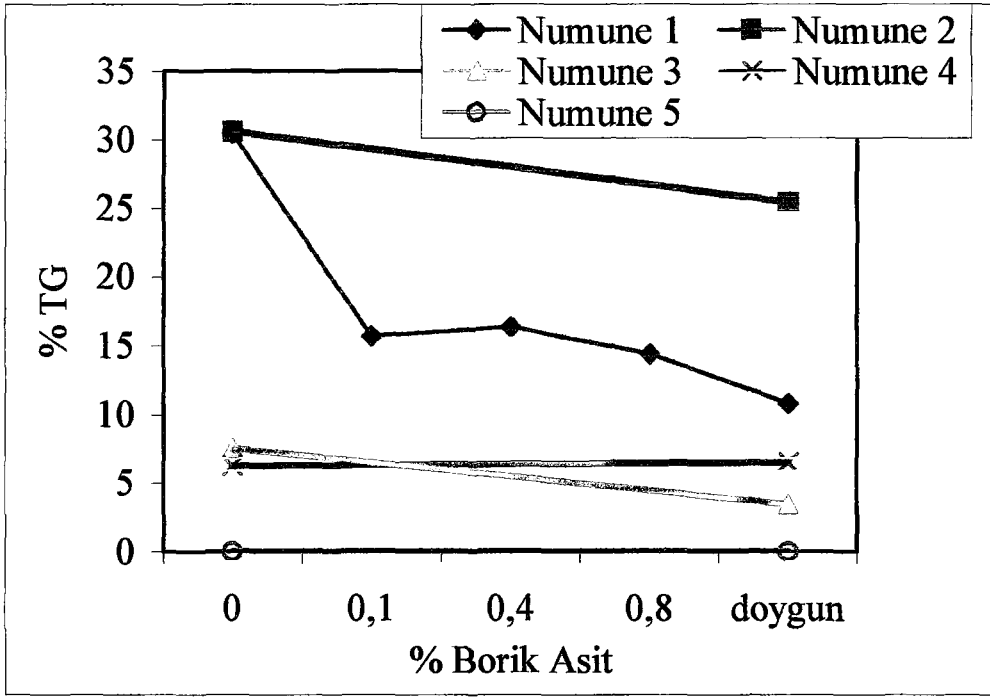
Bu numunelerde, borik asit miktarının değişmesine rağmen ekstrakte olan serbest yağ asitleri sabit kalmıştır. Bununla birlikte, başlangıç numunesindeki serbest yağ asit içeriği arttıķça ekstrakt fazdaki asit içeriği de artmaktadır Bu sonuç, asetik asit/borik asit sisteminin, monogliseridi, serbest yağ asidine göre, monogliserid seçimli olarak ekstrakte ettiğini göstermektedir.



SYA = Serbest Yağ Asidi

şekil 4.2. Ester rnlerinin ekstrakt fazlarında serbest yağ asidi miktarının asetik asit içerisindeki borik asit miktarına göre değişimi

Her bir numunenin ekstrakt fazları trigliserid bakımından da değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 4.2., Tablo 4.4. ve şekil 4.3.' de verilmiştir. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında asetik asit/borik asit sisteminin, trigliserid seçimli olmadığı görülmektedir. Monogliserid içeriği düşük olan başlangıç numunelerinde, ekstraksiyon sonrası, ekstrakt fazda % 30 trigliseride rastlanırken, başlangıç numunesinin monogliserid içeriği arttıķça, ekstrakt fazda trigliserid miktarı azalmaktadır. Bu da ekstrakt faza geçen ntrl yağ miktarının azaldığını, ya da başka bir deyişle yağ kaybının azaldığını göstermektedir.

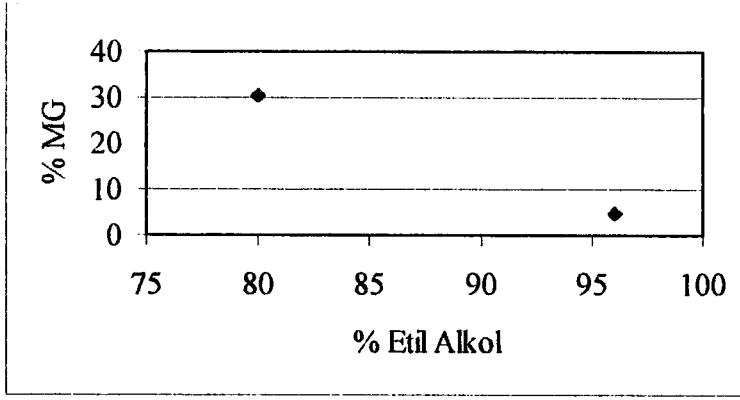


TG = Trigliserid

Şekil 4.3. Ester ürünlerinin ekstrakt fazlarında trigliserid miktarının asetik asit içerisindeki borik asit miktarına göre değişimi

Asetik asit ve farklı oranlarda borik asit içeren asetik asitli çözücü sistemleri ile yapılan ekstraksiyon işlemlerinin sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla 1 no' lu numune, % 80 ve % 96' lık sulu etil alkol çözücü sistemleriyle ekstrakte edilmiştir. Bu sulu etil alkol çözücüleri, Selma Türkay' ın seçicilik diyagramından alınmıştır [28]. Sonuçlar Tablo 4.3.' de verilmiştir. Sulu etil alkol çözücü sistemleri kullanarak yapılan ekstraksiyonlarda, etil alkollü faz, ekstrakt faz olarak isimlendirilmiştir.

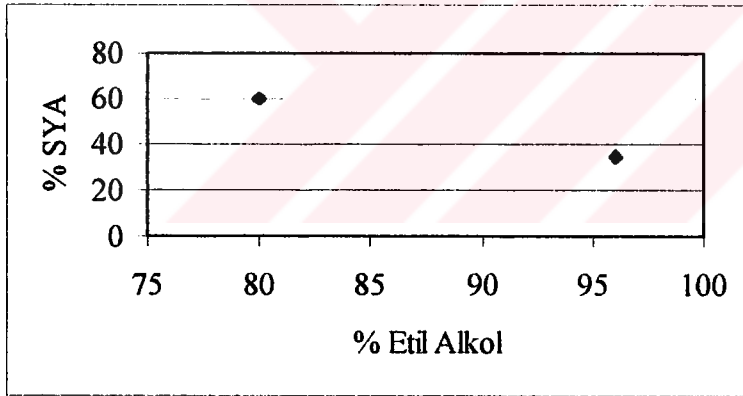
% 80 ve % 96' lık sulu etil alkol çözücü sistemleri için, ekstrakt fazdaki monogliserid miktarları sırasıyla % 30 ve % 5' dir. Bu sonuçlar Şekil 4.4.' de görülmektedir. Etil alkollü çözücü sistemleri, asetik asit/borik asit çözücü sistemi ile karşılaştırıldığında, monogliserid zenginleştirme kabiliyeti açısından oldukça düşük olduğu görülmektedir.



MG = Monogliserid

Şekil 4.4. 1 no'lu numunenin etil alkollü ekstrakt fazında monogliserid miktarı

Sulu etil alkol sistemi ile, % 9.24 serbest yağ asidi içeren başlangıç numunesinden elde edilen ekstrakt faz % 59 serbest yağ asidi miktarına yükselmiştir. Bu sonuçlar Tablo 4.3.' de ve Şekil 4.5.' de gösterilmiştir. Etil alkollü çözücü sistemleri ile yapılan ekstraksiyonun, kısmi ester numunesi içerisindeki yağ asitlerini uzaklaştırmak için etkin bir yöntem olduğu literatürde de belirtilmiştir [28].

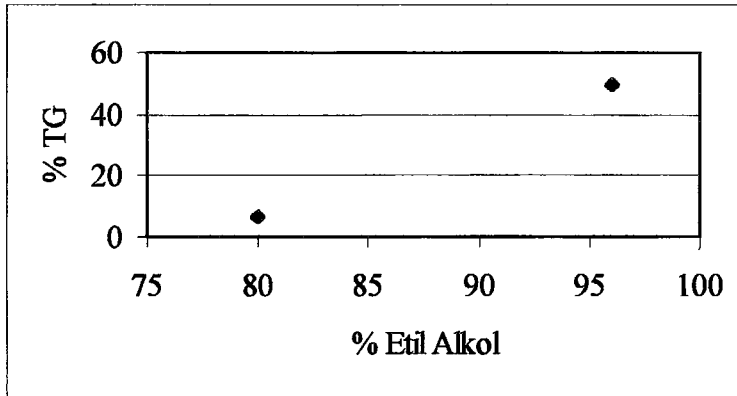


SYA = Serbest Yağ Asidi

Şekil 4.5. 1 no'lu numunenin etil alkollü ekstrakt fazda serbest yağ asidi miktarı

Etil alkollü ekstrakt fazın trigliserid miktarları Tablo 4.3. ve Şekil 4.6.' da verilmiştir. % 96' lık sulu etil alkol ile ekstrakte edilen 1 no' lu numunede, ekstrakt fazda önemli ölçüde trigliseride rastlandığı halde, % 80' lik sulu etil alkol ile ekstraksiyonda,

ekstrakte olan trigliserid miktarı azalmıştır. Bu işlem rafinasyon amaçlı düşünüldüğünde trigliserid kaybının azalacağını gösterir. Literatürdeki çalışmaların sonucuna göre, % 80 ve daha seyreltik sulu etil alkollü çözücü sistemleriyle çalışıldığında, ekstrakte edilen nötr yağ yüzdesi, ya da başka bir deyişle yağ kaybı daha düşüktür [28].



TG = Trigliserid

Şekil 4.6. 1 no'lu numunenin etil alkollü ekstrakt fazda trigliserid miktarı

Yukarıdaki çalışmalar genel olarak aşağıdaki gibi değerlendirilebilir. Farklı oranlarda monogliserid ve serbest yağ asidi içeren ester ürünlerinin, farklı çözücü sistemleri kullanılarak yapılan ekstraksiyonunda, asetik asit/borik asit çözücü sistemlerinin monogliserid açısından seçicilik gösterdiği tespit edilmiştir. Daha önce literatürde de çalışıldığı gibi, sulu alkol çözücülerini ise serbest yağ asitlerinin, ekstraksiyonu için seçicilik göstermektedir.

Başlangıç numunesindeki monogliserid miktarının artmasıyla, ekstraksiyon sonrasında elde edilen ekstrakt fazlardaki monogliserid miktarı da artmıştır. Kullanılan başlangıç numunesi/çözücü oranına göre, başlangıç numunesi içerisindeki monogliserid miktarı arttığında, numune içerisindeki monogliseridin tümü ekstrakt faza geçmemektedir. Prosesin ekonomisi göz önünde bulundurularak çözücü miktarı artırılabilir.

Tüm numunelerin ekstrakt fazları, digliserid, trigliserid ve serbest yağ asidi bakımından da değerlendirilmiştir. Ancak asetik asit/borik asit sisteminin digliserid, trigliserid ve serbest yağ asidi üzerinde herhangi bir seçiciliği olmadığı görülmüştür.

Bu çalışmada asetik asit/borik asit sisteminin hangi komponentlere seçicilik gösterdiği üzerine çalışılmıştır. Daha sonra ki çalışmalarda bu komponentlerin denge diyagramları verilmelidir.



KAYNAKLAR

- [1] McNEILL, G.P., SHIMIZU, S., YAMANE, T., "Solid Phase Enzymatic Glycerolysis of Beef Tallow Resulting in a High Yield of Monoglyceride", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.67, No.11, p.673-682 (1990)
- [2] YAMAGUCHI, S., MASE, T., "High Yield Synthesis of Monoglyceride by Mono- and Diacylglycerol Lipase from *Penicillium Camembertii* U-150", Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol.72, No.3, p.162-167, (1991)
- [3] SWERN, D., "Bailey's Industrial Oil and Fat Products", Fourth Edition, Vol. 1, p. 687-696, Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., New York, (1979)
- [4] COCKS, L.V., VAN REDE, C., Laboratuary Hand Book For Oil and Fat Analysts, Academic Press, London, (1990)
- [5] MERT, Ş., "Gliserinin Yağ Asitleri ile Çörekotu Tohum Varlığında Enzimatik Esterleşme Reaksiyonunun İncelenmesi", Yüksek Lisans Tez, (1996)
- [6] Ref. 3 p.13-16
- [7] CİVELEKOĞLU, H., TOLUN, R., AKSOY, A., RECEPOĞLU, O., Sınai Kimya Öğrenci Çalışma Yönergeleri, 2.baskı, İTÜ Kimya Metalurji Fak., Ofset Atölyesi, İstanbul, (1990)
- [8] SWERN, D., "Bailey's Industrial Oil and Fat Products", Fourth Edition, Vol. 2, p. 134-143, Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., New York, (1979)
- [9] BOYLE, E., "Monoglycerides in Food Systems: Current and Future Uses" Food Technology Vol.51, No.8, p.52-59, (1997)
- [10] CHOUDHURY, R.B.R., "The Preparation and Purification of Monoglycerides: I. Glycerolsis of Oils", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.37, p.483-486, (1960)
- [11] KARLESKİND, A., "Oils and Fats Manual" sub-ed. Jean-Pierre Wolff, Vol 1, p.67, Paris, (1996)
- [12] HARTMAN, L., "Esterification Rates of Some Saturated and Unsaturated Fatty Acids with Glycerol", J. Am. Oil Chem. Soc. p.536-538, (1966)
- [13] MARKLEY, K.S., "Fatty Acids Their Chemistry, Properties, Production and Uses" Second Completely Revised and Augmented Edition, In 5 Parts p.3479-3551, Robert E. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida, (1983)

- [14] ARCOS, J.A., OTERO, C., "Enzyme, Medium, and Reaction Engineering to Design a Low-Cost, Selective Production Method for Mono- and Dioleoylglycerols", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.73, No.6, p.673-682, (1996)
- [15] BRANDER, J.D., BIRKMEIR, R.L., "Relative Esterifiability of the Primary and Secondary Hydroxyl Groups of Glycerol", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.37, p.390-396, (1960)
- [16] FEUGE, R.O., BAILEY, A.E., "Modification of Vegetable Oils VI. The Practical Preparation of Mono- and Diglycerides", Oil & Soap p.259-264, (1946)
- [17] CHOUDHURY, R.B.R., The Preparation and Purification of Monoglycerides: II. Direct Esterification of Fatty Acids With Glycerol", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.39, p.345-347, (1962)
- [18] HARTMAN, L., ESTEVES, W., "Determination of Monoglycerides in Crude Oils and Fats", J. Am. Oil Chem. Soc., p.584-585, (1976)
- [19] TEMELLI, F., KING, J.W., LIST, G.R., "Conversion of Oils to Monoglycerides by Glycerolysis in Supercritical Carbon Dioxide Media", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.73, No.6, p.699-706, (1996)
- [20] McNEILL, G.P., YAMANE, T., "Further Improvements in the Yield of Monoglycerides During Enzymatic Glycerolysis of Fats", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.68, No.1, p.6-10, (1991)
- [21] ERGAN, F., TRANI, M., ANDRE, G., "Use of Lipases in Multiphasic Systems Sollely Composed of Substrates", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.68, No.6, p.412-417, (1991)
- [22] GENÇ, M., "Trigliserid-gliserin sisteminde lipaz enzimi ile monogliserid oluşum koşullarının incelenmesi", Ege Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, (1993)
- [23] FURIA, T.E., "Handbook of Food Additives" Second Edition, New York
- [24] PAYNE, H.F., "Organic Coating Technology" Vol.1, "Oils, Resins, Varnishes and Polymers", John Wiley&Sons, Inc., (1965)
- [25] PASSINO, H.J., "Solexol Process" Industrial and Engineering Chemistry, Vol. 41, 280 (1949)
- [26] GOSS, W.H., "Processing Edible Fats", Industrial and Engineering Chemistry, Vol. 40, No. 12, p. 2247-2251 (1948)
- [27] FEDELI, E., "Lipids of Olives", Prog. Chem. Fats Other Lipids, Vol.15, p.57-74, Pergamon Press, London (1977)
- [28] TÜRKAY, S., "Türkiye Kökenli Pirina Yağından Sıvı-sıvı Ekstraksiyonu ile Serbest Yağ Asitlerinin Giderilmesi Üzerine Bir İnceleme" İstanbul Teknik Üniversitesi Doktora Tezi, (1985)

- [29] CAROLA, C., "Gli impianti di raffinazione degli oli di oliva e di sansa di oliva. 1. La demucillaginazione e la deacidificazione con alcali" Riv.Ital. Sostanze Grasse, 46, 242-268 (1969)
- [30] ANDERSEN, A.J.C., "Refining of Oils and Fats For Edible Purposes", 2nd Ed., Pergamon Press, Leipzig (1962)
- [31] FACHINI, S., SOMMAZI, S., "Behaviour of Alcohol In Presence of Olive Oil Which is Acid", Industr. Olii Grassi, 4, 31 (1924); C.A. 19: 1503
- [32] TAYLOR, T.I., LARSON, L., JOHNSON, W., "Miscibility of Alcohol and Oils", Ind. Eng. Chem. 28, 616 (1936); C.A.30: 4345
- [33] LOEW, G., "Continuous Deacidification of Olive Oil By Means Of Alcohol" Olii Minerali, Grassi Saponi, Colori Vernici, 25, 5 (1948); C.A. 43:5208f
- [34] GUHA, L., SINGH, R.P., MAHESHWARI, P.N., "Fractionation of High-FFA Rice Bran Oils" World Conference Proceedings, Edible Fats and Oils Processing: Basic Principles and Modern Practices, American Oil Chemist Society, p.366-373, (1990)
- [35] FREEDMAN, B., PRYDE, E.H., MOUNTS, T.L., "Variables Affecting the Yields of Fatty Esters from Transesterified Vegetable Oils", J. Am. Oil Chem. Soc., Vol.61, No.10, p.1638-1643, (1984)
- [36] DANDIK, L., ARIÖGLU, G., AKSOY, H.A., "The Enzymatic Hydrolysis of Used Frying Oil by Native Lipase" Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol.42, p.119-126, (1993)
- [37] RANNY, M., Thin Layer Chromatography with Flame Ionization Detection, D. Reidel Pub. Comp., Prague, p.74-77 (1987)
- [38] T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Gıda Katkı Maddeleri Ulusal Spesifikasyonları, Ankara, (1994)

EK 1

Mono ve Digliseridler

Kimyasal isimleri ve sinonimleri:

EEC No. E 471	
INS No. 471	
Glyceryl monostearate	Glyceryl distearate
Glyceryl monopalmitate	Glyceryl dipalmitate
Glyceryl monooleate	Glyceryl dioleate
Monostearin	Distearin
Monopalmitin	Dipalmitin
Monoolein	Diolein
GMS	

Molekül ağırlığı: 358,6 (monostearat)
625,0 (distearat)

Çözünürlük: Suda çözünmez.
Etanol, kloroform ve benzende çözünür.

Su: max. % 2
Asit değeri: max. %6
Serbest gliserol: max. % 7
Sabun: max. % 6 (sodyum oleat cinsinden)
Kül: max. 0,5 monogliserid/kg
Ağır metaller: max. 10 monogliserid/kg [38]

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında İstanbul’ da doğdu. İlkokulu Mehmet Karamancı İlkokulu’ nda, ortaokul ve lise öğrenimini Özel Moda Lisesi’ nde tamamladı. 1998 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü’ nden mezun oldu ve aynı yıl İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Programı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

