

# Katı ve Sıvı Yağların Enzimatik İnteresterifikasyonu

Aytaç Saygın GÜMÜŞKESEN\*  
Fahri YEMİŞÇİOĞLU\*

İnteresterifikasyon, yağların modifikasyonunda kullanılan önemli bir tekniktir. Bu tekniğin amacı, trigliserid karışımlarının özelliklerini istenen yönde değiştirmektir. Bu derlemede, enzimatik interesterifikasyonunun mekanizması; geçmişte, günümüzde ve gelecekteki uygulama alanları ele alınmıştır.

## Enzymatic Interesterification of Oils And Fats

Intesterification is the most important modification process of oils and fats. The aim of this process is to modify the properties of triglyceride mixtures. In this review, the mechanisms and uses of enzymatic interesterification and several past, present and future applications of this technique are described.

## 1. GİRİŞ

İnteresterifikasyon, yağ modifikasyon teknikleri arasında yer alan ve gliseridlerde asit köklerinin yer değişimi ile istenen fiziksel özellikte ve değişik kristalizasyon davranışlarında margarin hammaddesi katı yağ üretimini mümkün kılan bir tepkimedir. Bu tepkime sırasında gliserin ve yağ asitlerinden oluşan gliseridlerde kimyasal bir değişim meydana gelmektedir. Ortamda tek değerli alkollerin bulunması halinde bu tepkime sadece aynı trigliserid molekülündeki asit köklerinin yer değişimi (intraesterifikasyon) düzeyinde kalmamakta, moleküller arası yer değişimi (interesterifikasyon) de söz konusu olmaktadır (1, 2).

İki çeşit yağ asidinden oluşan bir trigliseritte interesterifikasyon tepkimesinin oluşumu aşağıda gösterilmektedir (3);

S = doymuş yağ asidi U = doymamış yağ asidi

SSS → SUS → SSU → SUU → USU → UUU

İnteresterifikasyon; **kimyasal** ve **enzimatik interesterifikasyon** olmak üzere iki grup altında incelenmektedir. Kimyasal interesterifikasyon işleminde genellikle katalizör olarak *metal alkolatlar*; enzimatik interesterifikasyonda ise *bio-katalizörler* kullanılmaktadır (4).

Açığa çıkardığı ürünler ve yan tepkimeler açısından birbirinden belirli noktalarda farklılık gösteren kimyasal ve enzimatik interesterifikasyon tepkimeleeri aşağıda olumlu ve olumsuz yönleriyle karşılaştırılmışlardır (3, 4, 5, 6);

- Kimyasal interesterifikasyon işleminde kullanılan katalizörler, enzimatik interesterifikasyon işleminde kullanılan biokatalizörlerden daha ucuzdur ve endüstriyel işlemlerde daha kolay kullanım olanağı sağlamaktadır.
- Her iki yöntemle elde edilen ürünler kompozisyonları açısından benzerlik göstermekle beraber, enzimatik interesterifikasyon işlemi ile elde edilen ürünlerin üçlü doymuş trigliserid içerikleri biraz daha yüksektir.
- Daha yüksek sıcaklıkta ve alkali ortamda uygulanan kimyasal interesterifikasyon tepkimesinde yağın temel yapı taşlarından gliserin ve yağ asitlerinde herhangi bir yan tepkime meydana gelmemektedir. Ancak trigliserid ve türevleri dışındaki bileşenler interesterifikasyon sırasında tepkimeye girebilmektedir. Örneğin serbest tokofollerin fenolik hidroksil grupları normal hidroksil grubu gibi esterleşmektedir. Esterleşme sonucu hareketli hidrojen atomunun kaldırılması ve stabil formdaki serbest radikallerin oluşumunun

\* Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü 35100, İzmir.

engellenmesi, yağların oksidasyona dayanıklılığının azalmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak ürünün tat, koku gibi duyuşsal özelliklerinde istenmeyen değışiklikler meydana gelebilmektedir. Diğler yandan yağdaki serbest steroller yağ asidi esterlerine dönüşmekte, fakat bu yapı değışikliği serbest sterollerde oluşan oksitadif tepkimeleri önlediğı için bir sakınca olarak değlerlendirilmemektedir.

- Enzimatik interesterifikasyon tepkimesi daha düşük sıcaklıkta gerçekleştirildiğı ve seçici enzimler kullanılarak tepkimeleri yönlendirebilmek mümkün olduğı için istenen özelliklere sahip ürünler elde edebilmek mümkün olmaktadır.
- Yukarıda belirtilen olumlu yönleri nedeniyle enzimatik interesterifikasyon araştırmaları özellikle immobilizasyon tekniklerindeki gelişmelere paralel olarak son yıllarda önemli bir artış göstermektedir. Dolayısıyla bu derlemede, henüz laboratuvar ve pilot tesis çapında uygulama bulmasına karşın enzimatik interesterifikasyon teknikleri ve bu tekniklerdeki gelişmeler özetlenmiştir.

## 2. ENZİMATİK İNTERESTERİFİKASYON

Enzimatik interesterifikasyon tepkimeleri hidrolaz grubu enzimlerinden lipazlar tarafından katalizlenmektedir(7). Bilindiğı gibi lipazlar ortam koşullarına ve substratlara bağılı olarak trigliserit sentezi ya da hidrolizi yönünde reaksiyonu katalizlemektedir. Lipazlar bu özellikleri nedeniyle mono- ve di-gliserit üretimi yanısıra interesterifiye ürünlerin elde edilmesinde de kullanılmaktadır. Ancak söz konusu katalizlemenin yeni trigliserit yapılarının eldesi yönünde olmasının arzu edildiğı durumda mono, di-gliserit ve serbest yağ asidi gibi trigliserit ürünlerinin minimum düzeyde olması gerekmektedir. Tepkimeler sırasında ortamdaki su miktarının azaltılması, yağların hidrolizlenme tepkimesini en az düzeye indirirken, lipaz tarafından katalizlenen interesterifikasyon tepkimesinin baskın hale gelmesine neden olmaktadır (8).

Enzimatik interesterifikasyon reaksiyonunda biokatalizör olarak kullanılan ve elde edildikleri mikrobiyal kaynağı göre farklı seçicilik özellikleri gösteren lipazlar, üç grup altında incelenmektedir (4, 8);

- *Seçici olmayan lipazlar:* Bu tip lipazlar trigliserit molekülündeki yağ asidi köklerini herhangi bir

ayrıma tabi tutmadan koparırlar. Örneğın *Candida rugosa*, *Geotrichum candidum*, *Staphylococcus aureus* kaynaklı lipazlar, seçici olmayan lipazlardır.

- *1,3-seçiciliğı gösteren lipazlar:* Bu tip lipazlar, trigliseritteki 1- ve 3- pozisyonundaki yağ asitleri üzerinde etkili olan enzimlerdir. Bu tepkimenin sonucu olarak 1,2 (2, 3)-digliseritler ya da 2-monogliseridler ürün olarak meydana gelmektedir. Ancak bu ürünler stabil ürünler olmadığı için açıl grubunda oluşan göç sonucu, 1,3-digliseridler ve 1(3)-monogliseridler açığı çıkmaktadır. Reaksiyonun uzaması ise bazı trigliseridlerin parçalanarak serbest yağ asitlerinin ve gliserolün oluşmasına neden olmaktadır. *Mucor miehei*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Rhizopus arrhizus* kaynaklı lipazlar, 1,3- seçiciliğı gösteren lipazlara örnek olarak verilebilir.
- *Yağ asidi seçiciliğı gösteren lipazlar:* Bu tip lipazlar, gliserid molekülündeki bazı yağ asitleri üzerinde parçalayıcı etki göstermektedir. *Geotrichum candidum* dan üretilen lipazın, cis-9 doymamış yağ asitleri üzerinde seçici etki gösterdiği belirlenmiştir.

İnteresterifikasyon tepkimeleri seçici olmayan lipazlar tarafından katalizlendiğinde, elde edilen trigliseridler kimyasal interesterifikasyon sonucu elde edilen trigliseridlere yapısal olarak benzerlik göstermektedir. Ancak 1,3- seçici lipaz tarafından katalizlenen tepkimelerde açıl göçü 1- ve 3- pozisyonuna doğru yöneldiğı için elde edilen ürünün trigliserid yapısı, kimyasal interesterifikasyon ile elde edilen ürünlerden farklı olmaktadır. Serbest yağ asitlerini de içeren trigliserid karışımında uygulanan enzimatik interesterifikasyon tepkimeleri sonucunda ise, trigliseridlerdeki açıl grupları ile yer değıştiren serbest yağ asitleri, bu yağ asitlerince zengin yeni trigliseridlerin meydana gelmesine neden olmaktadır. Aşağıda 1,3-dipalmitoy 1-2-monoolein (POP) ile stearik asit ve tristearinin, 1,3-seçici lipaz ile interesterifiye edilmesi sonucu elde edilen ürünler görülmektedir (8,9):

### (I) POP + stearik asit

POP + S Æ PPP + POS + SOS + P + S

### (II) POP + tristearin

POP + SSS Æ POP + POS + SOS + PSP + PSS + SSS

Kimyasal açıdan enzimatik interesterifikasyon tepkimeleri, kimyasal interesterifikasyon tepkimeleri ile benzerlik göstermektedir (10). Enzimatik interesterifikasyon işleminde lipaz, yağ-su ara yüzeyinde çalışmaktadır. Substrat, Asp/Glu-His-Ser amino asitlerini içeren aktif noktalar doğru difüze olmadan önce, lipaz şekilsel değişikliğe uğramaktadır. Tepkimenin birinci kademesinde aktif noktada yer alan serin, trigliseridin karbonil grubuna etki ederek, yağ asitlerinin veya yağ asidi alkil esterlerinin tetrahedral yapı oluşturmalarına neden olmaktadır. Histidin ve aspartik asidin işlevi ise, kuvvetli bazik ortama gereksinim duymaksızın serinin hidroksil grubunun, kuvvetli nükleofil özellik göstermesini sağlamaktır. Lipaz oluşan tetrahedral amid gruplarına bağlanarak stabil bir yapıya kavuşmaktadır. Daha sonra esterlerin karbon-oksijen bağı kırılmakta, substratın trigliserid, yağ asidi metil esterleri veya yağ asidi oluşlarına bağlı olarak alkol ya da su oluşmaktadır. Son aşamada açıl-encim ile tepkimeye girmesiyle oluşan tetrahedral yapı, yeni bir trigliserid ve yeni bir aktif serin oluşturacak şekilde etki göstermektedir (4).

Enzimatik interesterifikasyon işleminde substratlar yani trigliseritler ve uzun zincirli yağ asitleri hidrofobik karakterde olduğundan organik çözücülerde çözünürler. Bir bio-katalizör olan lipazlar ise genellikle ticari olarak toz halde olup sadece sulu ortamlarda çözünmektedirler. Dolayısıyla su aktivitesi enzimatik interesterifikasyon için oldukça önemli bir parametredir. Ancak daha önce de değinildiği gibi, ortamda suyun fazla miktarda bulunması reaksiyonun hidroliz yönüne kaymasına neden olmaktadır. Bu nedenle toz enzim preparatlarının kullanılması durumunda %1-4 oranında su içeren organik çözücülü ya da iki fazlı emülsiyon sistemlerinde çalışılması önerilmektedir (10, 11, 12).

Enzim çalışmalarındaki gelişmeler sonucunda yukarıda açıklanan problemin çözülebilmesi immobilizasyon tekniklerinin kullanılmasıyla mümkün olmaktadır. Hazırlanan preparatlar genellikle sabit yataklı reaktörlerde, kolonlarda mikroporöz matrisler tarafından adsorbe edilerek tutulurlar. Bu durum enzimin tekrar kullanımı açısından da oldukça elverişlidir (13; 14).

Bir diğer yöntem ise enzim molekülündeki serbest amino gruplarına hidrofobik gruplar bağlanması ya da polietilen glikol (PEG) benzeri materyallerle

kovalent bağlı lipaz-PEG kompleksleri oluşturulmasıdır (12, 13). Ayrıca organik çözücülü ortamlarda enzim yapısını, ters misel sistemlerde bir su katmanı koruyuculuğunda tutmak da mümkündür (9). İmmobilize enzim materyalleri ile organik çözücü olarak süper kritik karbondioksitin kullanıldığı çalışmalar da deneme aşamasındadır (15, 16).

Yukarıda açıklanan yöntemlerden daha etkin olarak uygulanan surfaktant-enzim kompleksi oluşturulmasıyla interesterifikasyon aktivitesi ve verimliliği artırılmaktadır. Sorbitan esterleri gibi iyonik olmayan surfaktantlarla enzim materyalinin kaplanması sonucunda açığa çıkan kompleks suda çözünmeyip; hekzan, benzen, toluen, izooktan gibi organik çözücülerde çözünmektedir. Bu durumda, substratlar ve bio-katalizör aynı fazda çözünmüş olarak çalışmaktadır (11, 12).

### 3. İNTERESTERİFİKASYON YÖNTEMİNİN YAĞ SANAYİNDE KULLANIM ALANLARI

Trigliseridlerin özelliklerini istenen yönde değiştirmek amacıyla uygulanan interesterifikasyon tepkimeleri, özellikle trans yağ asidi içermeyen margarin üretiminde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bitkisel kaynaklı sıvı yağların, palm stearin ve doymuş trigliseridler gibi katı yağ kaynağı ile karıştırılarak kimyasal yöntemlerle interesterifiye edilmesi, trans yağ asidi içermeyen margarin üretimi için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Örneğin; soya yağı doymuş trigliserit karışımının %0.2 oranında sodyum metoksit katalizörü varlığında, 75-80°C sıcaklıkta, 30 dakika süreyle interesterifiye edilmesi, b kristal yapısında, istenilen duyuşal özellikte ve trans yağ asidi içermeyen margarin üretimini mümkün kılmaktadır (17).

Enzimatik interesterifikasyon tepkimeleri ise, ekonomik değeri olan kakao benzeri yağların üretiminde daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Palm fraksiyone kristalizasyonu ile üretilen ve POP trigliseridini önemli miktarda içeren fazın, stearik asit ya da etil stearat ile karıştırılması sonucunda elde edilen karışımın 1,3-seçici lipaz ile interesterifikasyonu, POS, SOS gibi simetrik doymuş-doymamış-doymuş trigliseridlerin sentezlenmesini sağlamakta ve erime noktası dar sınırlar içinde değişen (25-35°C) kakao yağı benzeri yağların daha ucuz olarak üretimini mümkün kılmaktadır (18, 19).

Enzimatik interesterifikasyon işlemi, kardiyovasküler ve bağışıklık fonksiyonlarının iyileştirilmesi üzerindeki etkileri bilinen w-3 yağ asitlerini yüksek oranda içeren bitkisel sıvı yağlarla balık yağlarına da uygulanmaktadır. *Mucor miehei* ve *Candida antarctica* dan elde edilen immobilize lipazın katalizörlüğünde eikosapentaenoik asit (EPA) [C20:5(w-3)], dokosaheksaenoik asit (DHA) [C22:6(w-3)] ve etil esterlerinin kolza, yer fıstığı veya hidrojene soya yağı ile karıştırılmasından elde edilen karışımın interesterifiye edilmesi sonucunda w-3 yağ asitlerini yüksek oranda içeren trigliseridlerin sentezlenmesi mümkün olmaktadır(4).

Sonuç olarak; interesterifikasyon son yıllarda yaygın kullanım bulan bir yağ modifikasyonu işlemidir. Özellikle enzimatik interesterifikasyon fiziksel özellikleri ve yağ asidi bileşimi açısından farklılık gösteren ve ekonomik değeri olan ürünlerin eldesini mümkün kılmaktadır. İnteresterifikasyon ve hidrojenasyon teknikleriyle sertleştirilmiş yağlar kıyaslandığında, bu yöntemin margarin hammaddesi katı yağ üretiminde önemli bir seçenek oluşturduğu görülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Going, L.H., 1967. İnteresterification Products and Processes J. Am. Oil Chemist' Soc., Vol: 44, 414A-423A.
2. Sreenivasan, B., 1978. İnteresterification of Fats. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol: 55, 796-805.
3. Hoffmann, G. 1989. The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and Their High Fat Products. Academic Press, Great Britain, 264-278.
4. Marangoni, A.G., Rousseau, D. 1995. Engineering Triacylglycerols: The role of Interesterification. Trends in Food Science and Technology. Vol: 6, 329-335.
5. Park, D.K., Terao, J., Matsushita, S., 1983. Influence of Interesterification on the Autoxidative Stability of Vegetable Oils. Agric. Biol. Chem., Vol: 47, 121-123.
6. Roy, S.S., Bhattacharyya, D.K. 1993. Distinction Between Enzymically and Chemically Catalyzed Interesterification. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:70, 1293-1294.
7. Palmer, T., 1985. Understanding Enzymes. Ellis Horwood Limited, Second Edition, 318-367.
8. Macrae, A.R., 1983. Lipase-Catalyzed Interesterification of Oils and Fats. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:60, 291-294.
9. Marangoni, A.G., McCurdy, R., Brown, E.D., 1993. Enzymatic Interesterification of Triolein with Tripalmitin in Canola Lecithin-Hexane Reverse Micelles. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:70, 737-744.
10. Mohamed, H.M.A., Bloomer, S., Hammadi, K., 1993. Modification of Fats by Lipase Interesterification I: Changes in Glyceride Structure. Fat Sci. Technol. Vol:11, 428-431.
11. Goto, M., Goto, M., Kamiya, N., Nakashio, F., 1995. Enzymatic Interesterification of Triglyceride with Surfactant-Coated Lipase in Organic Media. Biotechnology and Bioengineering. Vol:45, 27-32.
12. Basheer, S., Mogi, K., Nakajima, M., 1995. Surfactant-Modified Lipase for the Catalysis of the Interesterification of Triglycerides and Fatty Acids. Biotechnology and Bioengineering. Vol:45, 187-195.
13. Sridhar, R., Lakshminarayana, G., Kaimal, T.N.B., 1991. Modification of Selected Edible Vegetable Oils to High Oleic Oils by Lipase-Catalyzed Ester Interchange. J. Agric. Food Chem., Vol:39, 2069-2071.
14. Cho, S.W., Rhee, J.S., 1993. Immobilization of Lipase for Effective Interesterification of Fats and Oils in Organic Solvent. Biotechnology and Bioengineering. Vol:41, 204-210.
15. Dumont, T., Barth, D., Corbier, C., Branlent, G., Perrut, M., 1992. Enzymatic Reaction Kinetic : Comparison in an Organic Solvent and in Supercritical Carbon Dioxide. Biotechnology and Bioengineering. Vol:39, 329-333.
16. Jackson, M.A., King, J.W., List, G.R., Neff, W.E., 1997. Lipase-Catalyzed Randomization of Fats and Oils in Flowing Supercritical Carbon Dioxide. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:74, 635-639.
17. List, G.R., Emken, E.A., Kwolek, W.F., Simpson, T.D., Dotton, H.J., 1977. Zero Trans Margarines : Preparation, Structure, and Properties of Interesterified Soybean Oil-Soy Trisaturate Blends. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:54, 408-413.
18. Bloomer, S., Adlercreutz, P., Mattiasson, B., 1990. Triglyceride Interesterification by Lipases. I. Cocoa Butter Equivalents From a Fraction of Palm Oil. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:67, 519-524.
19. Chong, C.N., Hoh, Y.M., Wang, C.W. 1992. Fractionation Procedures for Obtaining Cocoa Butter-Like Fat from Enzymatically Interesterified Palm Olein. J. Am. Oil Chemists' Soc., Vol:69, 137-140.