

FUZEL YAĞINDAN İZOAMİL ASETAT ÜRETİMİ

Afife GÜVENÇ, Özlem AYDOĞAN, Nurcan KAPUCU* ve Ülku MEHMETOĞLU

Kimya Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Ankara Üniversitesi, Tandoğan, 06100, Ankara

*Kimya Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Kocaeli Üniversitesi, İzmit, 41040, Kocaeli

guvenc@eng.ankara.edu.tr, aydogan@eng.ankara.edu.tr, mehmet@eng.ankara.edu.tr,
nurcan.kapucu@kou.edu.tr

(Geliş/Received: 10.11.2006 ; Kabul/Accepted: 06.08.2007)

ÖZET

Fermentasyonla üretilen etanolün damıtma ile ayrılması sonucunda yan ürün olarak elde edilen fuzel yağı, bazı değerli alkollerini içermektedir. Bu düşük molekül ağırlıklı alkoller ve bunların asetat esterleri endüstride kullanılan önemli bileşenlerdir. Özellikle, izoamil asetat tat ve koku bileşeni olarak, gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde katkı maddesi olarak ekonomik değere sahiptir. Bu çalışmada, ülkemizde etkin olarak değerlendirilemeyen bir yan ürün olan fuzel yağı kullanılarak kuvvetli muz kokusuna sahip olan izoamil asetatın üretimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada önce, fuzel yağının damıtılmasıyla i-amil alkol elde edilmiş; sonra bu alkolün asetik asitle lipaz katalizörlüğünde çözücüsüz ortamda esterleşmesiyle izoamil asetat üretilmiştir. Alkol ve ester derişimleri Gaz Kromatografisi (GC) ile analizlenmiştir. Fuzel yağının iki kez damıtılmasıyla elde edilen i-amil alkolün kullanıldığı bu çalışmada, literatürdeki bulgularla karşılaştırıldığında, yaklaşık aynı dönüşüm (% 82) ile 2.5 kat daha yüksek (380 g/L) ester derişimine ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fuzel yağı, damıtma, i-amil alkol, izoamil asetat, novozym 435.

PRODUCTION OF ISOAMYL ACETATE FROM FUSEL OIL

ABSTRACT

Fusel oil, which is obtained as a by-product of ethanol fermentation is separated by distillation, contains some valuable alcohols. These low molecular weight alcohols and their acetate esters are important compounds used in industry. Especially, isoamyl acetate has economical value as a flavour and fragrance compound in food, pharmaceutical and cosmetic industries as an additive. In this study, the production of isoamyl acetate which has strong banana flavour was carried out using fusel oil which is a by-product that is not able to recycle efficiently in our country. Firstly, i-amyl alcohol was obtained by distillation of fusel oil. Then, isoamyl acetate was produced by lipase-catalyzed esterification of this alcohol with acetic acid in solvent free system. Concentrations of ester and alcohols were analyzed by Gas Chromatography (GC). In this study, i-amyl alcohol was obtained by twice distillation of fusel oil and resulted in same conversion (82 %) but 2.5 times higher ester concentration (380 g/L) than those stated in the literature.

Keywords: Fusel oil, distillation, i-amyl alcohol, isoamyl acetate, novozym 435.

1.GİRİŞ (INTRODUCTION)

Fuzel yağı, fermentasyonla etil alkol üretim endüstrisinin damıtma basamağı yan ürünüdür ve amil alkollerin doğal kaynağıdır [1]. Bu yan ürün, rengi sarıdan koyu kahverengiye değişebilen, çok keskin, hoş olmayan ve öksürten kokuya sahip bir sıvı olup birçok ülkede genellikle fabrikanın enerji gereksinimini karşılamak için yakılmakta ya da atılmaktadır [2]. Türkiye’de ise, şeker üretiminde köpük söndürücü olarak ya da ispirto

yapımında kullanılmaktadır; bununla birlikte önemli bir kısmı atılmaktadır [3]. Fuzel yağının bileşimi ve miktarı, fermentasyonla alkol üretim sürecinde kullanılan karbon kaynağının türü ve hazırlanma metodu ile fuzel yağının fermentasyon karışımından ayırma yöntemine bağlı olarak değişmektedir. Şeker endüstrisinde, genel olarak, 1000 litre etil alkol üretilirken 1-11 litre fuzel yağı yan ürün olarak elde edilmektedir. Fuzel yağı, başlıca düşük molekül ağırlıklı alkoller (i-amil alkol başta olmak üzere

i-bütül alkol, n-propil alkol, n-bütül alkol, etil alkol ve n-amil alkol), az miktarda su ve eser miktarda aldehitler, serbest asitler ve onların esterleri, yüksek alkoller, terpenlerden oluşmaktadır [4].

Fuzel yağı içindeki düşük molekül ağırlıklı alkoller ve bunların esterleri endüstriyel öneme sahip bileşenlerdir. Özellikle, bu alkollerin asetat ve bütirat esterleri tat ve koku bileşenleri olarak, gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde katkı maddesi olarak ekonomik değere sahiptirler [1]. Örneğin etil bütirat ve izomil asetat/bütirat sırasıyla çilek ve muzda bulunan aromalardır [5].

Literatürde fuzel yağı ile ilgili ilk çalışma, Wetherill tarafından 1853 yılında gerçekleştirilmiştir [6]. Bu tarihten sonra, bu alanda ancak 18 çalışma yapıldığı görülmüştür [7]. Bunlardan bazıları; fuzel yağının zararlı etkileri [8], fuzel yağının anaerobik bozundurulması [9], alkollü içeceklerdeki fuzel yağı azaltma yöntemi [10], alkollü içeceklerdeki fuzel yağı ve etanolün HPLC ile analizi [11], dehidrasyonu [12, 13, 14], fuzel yağından enzimatik yöntemle yağlayıcı üretimi [15], biyodizel üretimi [16], alkollü içeceklerdeki fuzel yağının katı faz dinamik ekstraksiyonu (SPDE) ile belirlenmesi [17], üzerinedir. Bununla birlikte, literatürde fuzel yağının değerlendirildiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu konudaki ilk araştırma, 1989 yılında Welsh ve Williams tarafından gerçekleştirilmiştir [2]. Bu çalışmada, fuzel yağında bulunan alkollerin (%3.2 propanol, %20.3 i-bütanol ve %76.4 i-amil alkol) asetik asit ve bütirik asit ile tat esterlerine dönüştürülmeleri, serbest *Candida cylindrace* lipazı katalizöründe incelenmiştir. Çözücü olarak n-hekzan'ın kullanıldığı çalışmada fuzel yağı fraksiyonlarına ayrılmamıştır. Bütirik asit ester karışımı, 48 saat tepkime süresi sonunda, toplam % 65.8 (0.62 mol/L karışım) dönüşümle elde edilmiştir. Asetik asit ester karışımı ile, aynı tekime süresinde, toplam % 46.4 (0.052 mol/L karışım) dönüşümüne ulaşılmıştır. De Castro vd. [18], fuzel yağından elde edilen C₄ ve C₅ alifatik alkol karışımı kullanarak lipaz (Lipozyme IM²⁰) katalizöründe laurat esterlerinin üretimini n-heptan ortamında incelemişlerdir. Fuzel yağının bileşimi %6 etanol, %1.7 n-propanol, %1.5 i-bütanol, %10 n-bütanol ve %52 i-amil alkoldür. Fuzel yağının su içeriği, esterleşme tepkimelerinden önce, Na₂SO₄ ve moleküler elek kullanılarak düşürülmüştür. Düşük fuzel yağı derişimlerinde (% 20-30) 12 saatten daha kısa süreli deneylerde % 85 dönüşümüne ulaşılmış; yüksek derişimlerde ise, (% 50-100) dönüşüm azalmıştır (< %75). Küçük ve Ceylan [19], asetik, bütirik ve propiyonik asit ile damıtılan fuzel yağının hekzan ortamında esterleşme tepkimesini gerçekleştirmişlerdir. Tepkimeden önce fuzel yağının su içeriği Na₂SO₄ ile azaltılmıştır. Asetik asitle gerçekleştirilen tepkimelerde 5 saat sonunda ulaşılan maksimum dönüşümler, i-amil alkol için % 20.2, i-bütül alkol için % 17.5, propil alkol için % 15.6 ve etil

alkol için ise % 13.5 bulunmuştur. Bu dönüşümlerin enzim katalizli esterleşme tepkimeleri ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu belirtilmiştir. Vandamme [20], tat ve koku bileşenlerinin üretimini, farklı mantar, maya ve onların enzimlerini biyokatalizör olarak kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, fuzel yağı ucuz alkol kaynağı olarak tercih edilmiştir. Köşali vd. [21], fuzel yağı alkollerinden asetat esterlerinin üretimini çözücüsüz ortamda lipaz (Novozym 435) katalizöründe gerçekleştirmişlerdir. Fuzel yağının su içeriğini düşürmek için dört farklı türde kurutucu madde kullanmışlardır. En uygun kurutucu maddenin moleküler elek olduğu ve % 35.7 (kütlece) oranının yeterli olduğu bulunmuştur. Toplam asetat esterleri için maksimum dönüşümüne (% 70.6), 30 °C da, 1/2 asit/fuzel yağı mol oranında ve % 5 (kütlece) enzim/(substrat karışımı) oranında ulaşılmıştır. Fuzel yağının değerlendirildiği son çalışmada, fuzel yağının damıtılmasıyla elde edilen i-amil alkolden, kuvvetli muz kokusu veren izomil asetat, lipaz katalizöründe (Novozym 435) çözücüsüz ortamda elde edilmiştir [22]. Bu çalışmada, üretimin optimizasyonu Cevap Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology, RSM) ile gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar, 0.8 asit/alkol mol oranı, % 12 (kütlece) enzim/(substrat karışımı) oranı, 30 °C ve 8 saat tepkime süresi olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda ulaşılan maksimum ester derişimi 4.4 mmol ester/ g reaksiyon karışımı'dır. En etkili parametrenin asit/alkol mol oranı olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmada, bir yan ürün olan fuzel yağının bir yeşil kimya prosesiyle değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu proses, damıtma ile ayırma ve enzimatik yöntemle değerli bir tat ve koku esteri olan izomil asetatın üretimi aşamalarından oluşmaktadır. Damıtma öncesinde farklı miktarlarda moleküler elek ve sodyum sülfat kullanılarak fuzel yağının su içeriği azaltıldıktan sonra kesikli sistemde fraksiyonlarına ayrılmıştır. i-amil alkolce zengin (yüksek kaynama noktalı) iki fraksiyon birleştirilerek ikinci kez damıtılmıştır. Yeniden elde edilen ve i-amil alkolce zengin bu iki fraksiyon ayrı ayrı asetat esterlerinin lipaz katalizli üretiminde kullanılmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

2.1. Kimyasallar (Chemicals)

Bu çalışmada kullanılan fuzel yağı, Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş.'nin Ankara Şeker Fabrikası aracılığıyla Eskişehir Şeker Fabrikası (Alkol Ünitesi)'nden sağlanmıştır. Fuzel yağının su içeriğini düşürme işleminde kullanılan Na₂SO₄ (M-106643), i-amil alkol (M-100979) ve asetik asit (%100, M-100056) Merck (Darmstadt, Germany)'den moleküler elek (S-20.857-4), Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)'den satın

alınmıştır. *Candida antarctica* kaynaklı lipaz, Novozym 435 (spesifik aktivite, 10000 propil laurat ünitesi (PLU)/g; su içeriği %1-2 (kütlece)), NOVO Nordisc A/S (Bagsvaerd, Denmark)' den temin edilmiştir. Novozym 435 makro gözenekli akrilik reçineye tutulanmıştır.

2.2. Fuzel Yağının Su İçeriğinin Azaltılması (Reduction of Water Content of Fusel Oil)

Fuzel yağı içindeki suyun ve alkollerin damıtma sırasında azeotrop oluşturduğu literatürden bilindiği gibi deneysel olarak da tespit edildiğinden, fuzel yağını damıtmadan önce, moleküler elek ve sodyum sülfat ile su içeriği azaltılmıştır. Bu maddelerin su tutma (adsorplama) kapasiteleri sırasıyla, 0.22-0.26 kg su/kg kuru katı [23] ve 0.34 kg su/kg kuru katıdır (deneysel olarak belirlenmiştir). Su içeriğini azaltma işlemi, 500 mL fuzel yağına sırasıyla 150 g moleküler elek (K₁), 150 g sodyum sülfat (K₂) ve 300 g moleküler elek (K₃) katılarak, 25 °C sıcaklık, 100 rpm karıştırma hızında 16 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Suyu azaltılmış fuzel yağı kurutucu maddelerden ayrılarak ayrı ayrı şişelerde depolanmıştır.

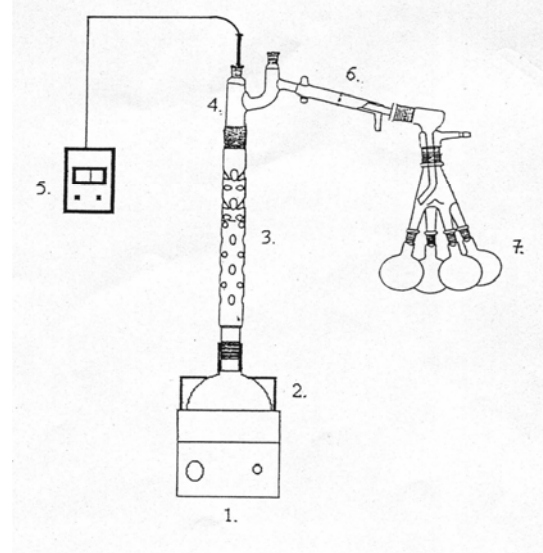
2.3. Su İçeriği Azaltılmış Fuzel Yağının Damıtılması (Distillation of Fusel Oil Having Reduced Water Content)

Fuzel yağını oluşturan ana bileşenler su, etanol, n-propil alkol, n-bütül alkol, i-bütül alkol ve i-amil alkol'dür. Fuzel yağı alkollerinin fiziksel özellikleri Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Fuzel yağı alkollerinin fiziksel özellikleri (Physical properties of fusel oil's alcohols) [23]

Bileşen	Kimyasal Formülü	Molekül Ağırlığı	Kaynama Noktası (°C)	Bağıl Yoğunluğu
i-amil alkol	C ₅ H ₁₂ O	88.15	130	0.809
n-bütül alkol	C ₄ H ₁₀ O	74.12	117	0.810
i-bütül alkol	C ₄ H ₁₀ O	74.12	107-108	0.805
n-propil alkol	C ₃ H ₈ O	60.09	97.8	0.804
etanol	C ₂ H ₆ O	46.07	78.4	0.789

Suyu azaltılmış fuzel yağı, çok bileşenli karışımların ayrılmasında etkili bir kolon olan Vigreux kolonunda fraksiyonlarına ayrılmıştır. Damıtma işleminin gerçekleştirildiği deney sisteminin şematik diyagramı Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Fuzel yağının damıtıldığı deney sistemi (1. Magnetik karıştırıcı, 2. 1 l'lik balon, 3. Vigreux kolonu, 4. Termoçift, 5. Sıcaklık göstergesi, 6. Geri soğutucu, 7. Ürün toplama kapları) (Experimental system of distillation of fusel oil)

Damıtma işlemi sırasında ürünler, alkollerin kaynama noktalarına göre aşağıda belirtilen 6 fraksiyon halinde alınmıştır. Bu fraksiyonlar Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Fraksiyonların kaynama aralıkları (Boiling ranges of fractions)

Fraksiyon No	Kaynama Aralığı
1 nolu fraksiyon	78-97 °C
2 nolu fraksiyon	97-100 °C
3 nolu fraksiyon	100-107 °C
4 nolu fraksiyon	107-117 °C
5 nolu fraksiyon	117-128 °C
6 nolu fraksiyon	128 °C

Bu fraksiyonlar ayrı ayrı depolanmış ve i-amil alkolce zengin iki fraksiyon (5 ve 6 nolu fraksiyonlar) birleştirilerek tekrar damıtılmıştır. Her bir fraksiyon ayrı ayrı depolanmıştır. Su içeriği belirlenen örneklerin suyu, sodyum sülfat ile tamamen uzaklaştırılarak, GC analizleri yapılmış ve % alkol içerikleri belirlenmiştir. i-amil alkolce zengin 5 ve 6 nolu fraksiyonları kullanarak, fuzel yağından i-amil alkol ayırma verimleri de hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Ayırma verimi} = \frac{(Y_6 \times V_6) + (Y_5 \times V_5)}{V_T \times Y_F} \times 100$$

Burada;

Y₆: 6 nolu fraksiyonun i-amil alkol yüzdesi (hacimce),

V₆: 6 nolu fraksiyonun hacmi,

Y₅: 5 nolu fraksiyonun i-amil alkol yüzdesi (hacimce),

V₅: 5 nolu fraksiyonun hacmi,

V_T: damıtılan fuzel yağının hacmi

Y_F: fuzel yağının i-amil alkol yüzdesi (hacimce) dir.

Ayrırma verimini artırmak amacıyla, 5 ve 6 nolu fraksiyonlar birleştirilerek ikinci kez damıtılmıştır. İkinci kez damıtma sonucunda yeniden elde edilen bu iki fraksiyon (5 ve 6 nolu fraksiyonlar) ayrı ayrı ester üretiminde kullanılmıştır.

2.4. İzoamil Asetat Üretimi (Production of Isoamyl Acetate)

İzoamil asetat üretiminde, fuzel yağının iki kez damıtılması ile elde edilen 5 ve 6 nolu alkol fraksiyonları kullanılmıştır. Tablo 2.2'den de görüldüğü gibi, 5 ve 6 nolu fraksiyonların kaynama aralığı izoamil alkolün kaynama noktasına (bkz. Tablo 2.1) yakın olduğu için bu fraksiyonlar i-amil alkolce zengindir.

Bu fraksiyonların asetik asit ile lipaz katalizörülüğünde gerçekleştirilen esterleşme tepkimesi aşağıda görülmektedir:



Tepkimeler, 150 mL hacimli erlenlerde 30 mL çalışma hacminde çözücüsüz ortamda, 1/2 asit/alkol mol oranında, % 5 (kütlece) enzim/(substrat karışımı) (E/S) miktarında Novozym 435 enzimi kullanılarak, 30°C (T) sıcaklıkta, 150 rpm (N) karıştırma hızında orbital çalkalayıcıda, 24 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. 5 ve 6 nolu fraksiyonların alkol analizleri GC ile yapılarak tepkimelerde ayrı ayrı kullanılmıştır. 0.167 (10 dak.), 2, 4, 6 ve 24. saat tepkime sürelerinde (t) alınan örnekler de GC ile analizlenerek ester derişimleri hesaplanmıştır.

2.5. Analiz (Analysis)

Fuzel yağı ve damıtma ile elde edilen fraksiyonların alkol içerikleri ile tepkime sonucu oluşan izoamil asetat derişimi GC analizi ile belirlenmiştir. Örnekler analizlenmeden önce suyunu tamamen uzaklaştırmak amacıyla aşırı Na₂SO₄ ile muamele edilerek filtreden geçirilmiştir. 0.5 mL örnek 1.5 mL metanolde çözülerek hacimce 1/ 10 oranında hekzanol (iç standart) eklenmiştir. 0.2 µl hacminde hazırlanan örnekler GC ile analizlenmiştir. Analizler Tablo 2.3.'de verilen koşullarda gerçekleştirilmiştir. Fuzel yağı ve fraksiyonlarındaki su miktarı Karl Fisher titrasyon yöntemi ile belirlenmiştir.

3. SONUÇLAR (RESULTS)

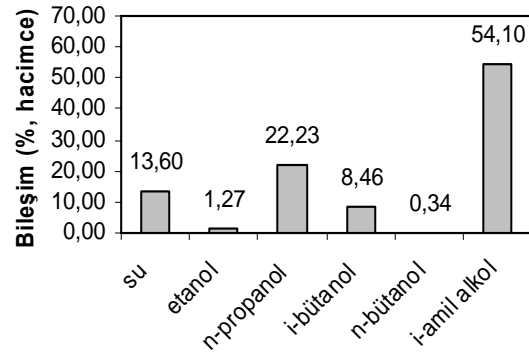
3.1. Fuzel Yağının Bileşiminin Belirlenmesi (Determination of Fusel Oil Composition)

Patil vd. fuzel yağı ile ilgili yaptıkları araştırmada, fuzel yağının bileşimi ve miktarının, fermentasyonla alkol üretiminde kullanılan karbon kaynağının türü ve üretim koşullarına bağlı olarak farklılık gösterdiğini ve fuzel yağının ana bileşeni olan i-amil alkolün hacimce % 41-85 aralığında değiştiğini belirtmişlerdir

[4]. Bu çalışmada kullanılan ve Eskişehir Alkol Fabrikası'ndan temin edilen fuzel yağının GC analizi ile belirlenen yüzde bileşimi Şekil 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.3. GC Analiz Koşulları (Gas Chromatography Analysis Conditions)

Cihaz	CE INSTRUMENTS GC 8000 Top
Dedektör	Alev İyonlaşma Dedektörü
Kolon	Rix-1 1701 Kapiler Kolon (60 m, 0.25 mm ID, 1.0 µm)
Kolon sıcaklığı	50°C
Tutma süresi	2 dak. →
Program 1	25°C/dak → 100°C
Tutma süresi	2 dak.
Program 2	25°C/dak → 175°C
Tutma süresi	2 dak.
Enjeksiyon sıcaklığı	200 °C
Dedektör sıcaklığı	260 °C
Kuru hava akış hızı	300 mL/dak
Hidrojen akış hızı	30 mL /dak
Azot akış hızı	4 mL /dak (sabit basınç, 100 kPa)



Şekil 3.1. Fuzel yağı bileşimi (Composition of fusel oil)

3.2. Su İçeriği Azaltılmış Fuzel Yağının Damıtılması (Distillation of Fusel Oil Having Reduced Water Content)

Hacimce % 13.6 su içeren fuzel yağının su içeriği, 500 mL fuzel yağına sırasıyla 150 g moleküler elek, 300 g moleküler elek ve 150 g sodyum sülfat katılarak, sırasıyla hacimce % 8, % 2.3 ve % 7.3'e düşürülmüştür. Sonuçlar Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Bölüm 2.2.' de belirtildiği gibi sodyum sülfatın su tutma kapasitesi moleküler eleğe göre biraz daha yüksektir. Tablo 3.1' den de görüldüğü gibi, kurutucu miktarları aynı olmakla birlikte sodyum sülfatla su

biraz daha fazla uzaklaştırılmıştır. Ancak, K_1 ve K_2 'nin su içeriklerinin yakın olması ve moleküler eleğin rejenera edilerek tekrar tekrar kullanılabilmesi nedeniyle bu kurutucu ile çalışmalara devam edilmiştir. K_1 ve K_2 işlemleri 1 l'lik erlenlerde gerçekleştirilmiştir. K_3 'de moleküler elek miktarı iki katına çıkarılmış, aynı zamanda daha etkin bir karıştırma için küçük hacimli erlenlerde (250 mL) çalışılmıştır. Bu işlemle, su içeriği yaklaşık 4 kat daha azaltılmıştır. Görüldüğü gibi, karıştırma işleminin küçük hacimlerde yapılması kütle aktarımını artırmış, kurutucu miktarının artırılması da su içeriğinin azaltılmasında etkili olmuştur.

Tablo 3.1. Fuzel yağının su içeriğinin azaltılmasına kurutucu miktarı ve türünün etkisi (The effect of type and amount of drying agent on decreasing water content of fusel oil)

Kod u	Kurutucu miktarı ve türü	Su içeriği (% hacimce)	Damıtılacak fuzel yağının hacmi (mL)
K_1	150 g moleküler elek ile su içeriği düşürülen fuzel yağı	8.0	740
K_2	150 g sodyum sülfat ile su içeriği düşürülen fuzel yağı	7.3	710
K_3	300 g moleküler elek ile su içeriği düşürülen fuzel yağı	2.3	400

Tablo 3.1'de verilen K_1 , K_2 ve K_3 damıtılarak Tablo 2.2' de belirtilen sıcaklık aralıklarındaki 6 fraksiyona ayrılmıştır. Fraksiyonlar ayrı ayrı analizlenerek hacimce % alkol bileşimleri Tablo 3.2, Tablo 3.3 ve Tablo 3.4' de verilmiştir.

Tablo 3.2'den görüldüğü gibi, 5 nolu fraksiyon % 85.13, 6 nolu fraksiyon % 99.97 i-amil alkol içermektedir. Damıtma işlemi sonucunda, 5 nolu fraksiyondan 160 mL, 6 nolu fraksiyondan da 100 mL elde edilmiştir. Bu iki fraksiyona ait ayırma verimi % 59 bulunmuştur.

Tablo 3.3'de görüldüğü gibi, 5 nolu fraksiyon % 81.08, 6 nolu fraksiyon % 99.55 i-amil alkol içermektedir. Damıtma işlemi sonucunda, 5 nolu fraksiyondan 115 mL, 6 nolu fraksiyondan da 180 mL elde edilmiştir. Bu iki fraksiyona ait ayırma verimi % 71 bulunmuştur.

Tablo 3.4'den de görüldüğü gibi, 5 nolu fraksiyon % 89.32, 6 nolu fraksiyon %98.27 i-amil alkol içermektedir. Damıtma işlemi sonucunda, 5 nolu fraksiyondan 80 mL, 6 nolu fraksiyondan da 70 mL elde edilmiştir. Bu iki fraksiyona ait ayırma verimi % 65 bulunmuştur.

Tablo 3.2. Hacimce % 8 su içeren fuzel yağının (K_1) fraksiyonlarının % alkol bileşimleri (kuru temel) (Percentage compositions of alcohols in fusel oil (K_1) fractions containing 8 % (v/v) water, dry basis)

Fraksiyon No:	etanol %	n-propanol %	i-bütanol %	n-bütanol %	i-amil alkol %
1	6.31	52.29	12.73	0.31	28.36
2	1.11	43.10	15.86	0.41	39.52
3	*	39.84	15.61	0.43	44.12
4	*	29.73	15.49	0.50	54.28
5	*	6.60	7.77	0.50	85.13
6	*	*	0.03	eser	99.97

(*) : Analizle belirlenemedi.

Tablo 3.3. Hacimce % 7.3 su içeren fuzel yağının (K_2) fraksiyonlarının % alkol bileşimleri (kuru temel) (Percentage compositions of alcohols in fusel oil (K_2) fractions containing 7.3 % (v/v) water, dry basis)

Fraksiyon No:	etanol %	n-propanol %	i-bütanol %	n-bütanol %	i-amil alkol %
1	5.83	52.27	13.11	0.31	28.48
2	1.03	43.50	15.91	0.41	39.15
3	0.68	39.29	15.67	0.42	43.94
4	0.09	28.73	15.23	0.80	55.15
5	*	8.54	9.89	0.49	81.08
6	*	0.05	0.25	0.15	99.55

(*) : Analizle belirlenemedi.

Tablo 3.4. Hacimce % 2.3 su içeren fuzel yağının (K_3) raksiyonlarının % alkol bileşimleri (kuru hacim) (Percentage compositions of alcohols in fusel oil (K_3) fractions containing 2.3 % (v/v) water, dry basis)

Fraksiyon No:	etanol %	n-propanol %	i-bütanol %	n-bütanol %	i-amil alkol %
1	*	64.55	17.84	0.33	17.28
2	*	60.79	14.86	0.30	24.05
3	*	61.04	15.27	0.31	23.38
4	*	20.64	16.29	0.55	62.52
5	*	3.55	6.68	0.45	89.32
6	*	1.17	0.33	0.23	98.27

(*) : Analizle belirlenemedi.

Ayırma verimini artırmak amacıyla, K_1 , K_2 ve K_3 'ün 5 ve 6 nolu fraksiyonları karıştırılmış ve 820 mL' lik bu karışım tekrar damıtılarak fraksiyonlarına ayrılmıştır. Damıtma işlemi uygulanacak olan alkol karışımı ile ikinci kez damıtma sonucu elde edilen 5 ve 6 nolu fraksiyonların alkol bileşimleri Tablo 3.5' de verilmiştir.

Görüldüğü gibi, 5 nolu fraksiyon % 91.97, 6 nolu fraksiyon % 99.74 i-amil alkol içermektedir (Tablo 3.). Damıtma işlemi sonucunda, 5 nolu fraksiyondan 320 mL, 6 nolu fraksiyondan da 315 mL elde edilmiştir. Bu iki fraksiyona ait ayırma verimi % 80 bulunmuştur.

Tablo 3.5. Alkol karışımı ve 5, 6 nolu fraksiyonlarının alkol bileşimleri (% , hacimce, kuru temel) (Alcohol compositions of 5, 6 fractions and alcohol mixture (v/v, %), dry basis)

Bileşen	etanol %	n-propanol %	i-bütanol %	n-bütanol %	i-amil alkol %
Alkol karışımı	*	3.28	4.11	0.38	92.23
5 nolu fraksiyon	*	2.38	5.13	0.52	91.97
6 nolu fraksiyon	*	0.09	*	0.17	99.74

(*) : Analizle belirlenemedi.

3.3. Fuzel yağının damıtılmasıyla elde edilen 5 ve 6 nolu fraksiyonlardan izomil asetat üretimi (Isoamyl Acetate Production using number 5 and 6 Fractions Obtained by Distillation of Fusel Oil)

İzomil asetat üretiminde, fuzel yağının iki kez damıtılması sonucu yüksek saflıkta elde edilen i-amil alkolce zengin fraksiyonları (5 ve 6 nolu) ve saf i-amil alkol kullanılmıştır.

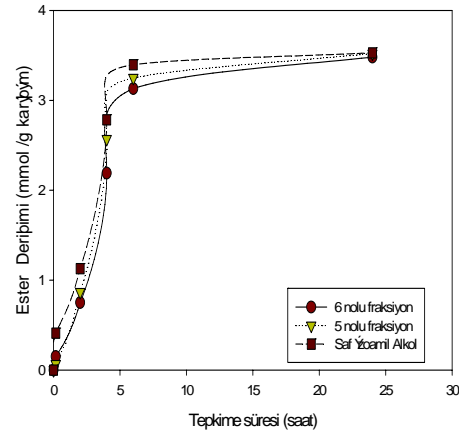
Tepkimeler, bölüm 2.4’de verilen koşullarda gerçekleştirilmiş; belli aralıklarla alınan örnekler analizlenerek bulunan ester derişim ve dönüşümleri Tablo 3.6 ve Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.5’den görüldüğü gibi 5 nolu fraksiyon % 91.97 ve 6 nolu fraksiyon % 99.74 i-amil alkol içermektedir. Tablo 3.6 ve 3.7’den görüldüğü gibi 5 ve 6 nolu fraksiyonlarla elde edilen i-amil asetat derişim ve dönüşümü saf i-amil alkol ile elde edilen değerlere çok yakındır. 24. saat sonunda 5 ve 6 nolu fraksiyonlar ile saf alkolden elde edilen ester derişimleri sırasıyla, 3.52 mmol/g karışım, 3.48 mmol/g karışım ve 3.53 mmol/g karışım, dönüşümler ise % 81.98, % 82.25 ve % 82.49 bulunmuştur.

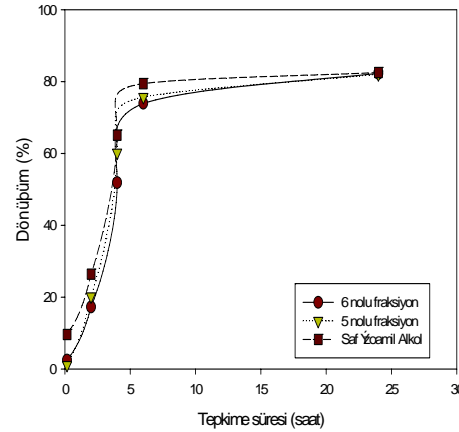
Zamana karşı elde edilen izomil asetat derişim ve dönüşümleri Şekil 3.2 ve Şekil 3.3’de görülmektedir. Her üç üretimde de dengeye 6 saatte ulaşıldığı görülmektedir.

Tablo 3.6. İki kez damıtma sonucu elde edilen 5 ve 6 nolu fraksiyonlar ile saf i-amil alkolden üretilen ester derişiminin tepkime süresi ile değişimi (The change of concentration of ester produced from pure isoamylalcohol and 5 and 6 fractions obtained by twice distillationwiththereaction time)

t (saat)	Ester Derişimi (mmol/g karışım) (6 nolu fraksiyondan)	Ester Derişimi (mmol/g karışım) (5 nolu fraksiyondan)	Ester Derişimi (mmol/g karışım) (Saf i-amil alkol ile)
0.167	0.15	0.07	0.41
2	0.75	0.87	1.13
4	2.19	2.57	2.78
6	3.13	3.25	3.40
24	3.48	3.52	3.53



Şekil 3.2. 5 ve 6 nolu fraksiyonlar ile saf i-amil alkolden üretilen ester derişiminin tepkime süresi ile değişimi (T = 30 °C, E/S = %5 (kütlece), N =150 rpm, t=24 saat, Asit/Alkol mol oranı=1/2) (The change of concentration of ester produced from pure isoamyl alcohol and 5 and 6 fractions with the reaction time)



Şekil 3.3. 5 ve 6 nolu fraksiyonlar ile saf i-amil alkolden ester üretiminde dönüşümün tepkime süresi ile değişimi (T = 30 °C, E/S = %5 (kütlece), N =150 rpm, t=24 saat, Asit/Alkol mol oranı=1/2) (The change of conversion with the reaction time for ester production from pure isoamyl alcohol and 5 and 6 fractions)

Şekil 3.2 ve 3.3’den de görüldüğü gibi, saf i-amil alkolle elde edilen ester derişim ve dönüşümleri, suyu uzaklaştırılmış fuzel yağının 2 kez damıtılmasıyla elde edilen i-amil alkolce zengin iki fraksiyonu kullanılarak elde edilen sonuçlarla oldukça uyumludur.

Tablo 3.7. 5 ve 6 nolu fraksiyonlar ile saf i-amil alkolden ester üretiminde dönüşümün tepkime süresi ile değişimi (The change of conversion with the reaction time for ester production from pure isoamyl alcohol and 5 and 6 fractions)

t (saat)	% Dönüşüm (6 nolu fraksiyondan)	% Dönüşüm (5 nolu fraksiyondan)	% Dönüşüm (Saf i-amil alkol ile)
0.167	2.46	1.12	9.61
2	17.25	20.22	26.39
4	51.85	60.19	65.08
6	73.93	75.70	79.42
24	82.25	81.98	82.49

4. TARTIŞMA (DISCUSSION)

Fuzel yağı, alkol fabrikalarında yan ürün olarak elde edilmektedir. Ülkemizde, her 100 litre alkole karşılık 0.4–0.7 litre fuzel yağı açığa çıkmaktadır. 2006 yılı içinde üretilecek saf alkol miktarı 7 200 000 litre, 2007 yılı için ise taleplere göre değişmek üzere 8 000 000 litre olarak planlanmıştır [24]. Sadece 2006 yılı için 28 800–50 400 litre fuzel yağı elde edildiği ve bu atığın ülkemizde etkin olarak değerlendirilemediği dikkate alınırsa ortaya çıkacak kirliliğin boyutları önemli olmaktadır.

Bu çalışmada, Eskişehir Şeker Fabrikası (Alkol Ünitesi)'nden temin edilen fuzel yağının değerlendirilmesi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, çok keskin, hoş olmayan ve öksürten kokuya sahip olan fuzel yağı damıtılarak, başta i-amil alkol olmak üzere farklı bileşimlerde i-bütül alkol, n-propil alkol, n-bütül alkol ve etil alkol gibi düşük molekül ağırlıklı alkol karışımları elde edilmiştir. Damıtma sonucu elde edilen bu alkol karışımları içinde 5 ve 6 nolu fraksiyonlar i-amil alkolce zengin olduğundan bu iki fraksiyon birleştirilerek tekrar damıtılmıştır. İki kez damıtma sonucu ayırma verimi artarken, 5 ve 6 nolu fraksiyonların hacimce i-amil alkol içerikleri sırasıyla % 91.97 ve % 99.74 olarak belirlenmiştir. Fuzel yağı özellikle yüksek miktarda (% 54.1) i-amil alkol içerdiğinden izoamil asetat üretiminde hammadde olarak önem taşımaktadır.

İkinci aşamada, ikinci kez damıtılan i-amil alkolce zengin 5 nolu fraksiyon (% 91.97 i-amil alkol) ve 6 nolu fraksiyon (% 99.74 i-amil alkol), ayrı ayrı değerli bir tat ve koku esteri olan izoamil asetatın enzimatik yöntemle üretiminde kullanılmıştır. İzoamil asetat, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kuvvetli muz kokusu nedeniyle ticari öneme sahiptir. Literatürde, izoamil asetat üretiminde, fuzel yağının ve/veya saf i-amil alkolün hammadde olarak kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Welsh ve Williams, fuzel yağı ve asetik asit ile serbest *Candida cylindrace* lipazı katalizörülüğünde yaptıkları çalışmada 48 saat sonunda toplam olarak asetat esterlerini % 46.4 verimle elde etmişlerdir [2]. Hari Krishna vd., saf i-amil alkol ve asetik asitten *Rhizomucor miehei* kaynaklı tutuklanmış lipaz (Lipozyme IM-20) ile n-heptan ortamında izoamil asetat üretimini incelemişlerdir. 72 saat sonunda % 80 dönüşümle 150 g/L izoamil asetat derişimine ulaşmışlardır [25]. İzoamil asetat üretiminde, saf i-amil alkolün kullanıldığı bir diğer çalışmada, açıl verici olarak asetik asit, biyokatalizör olarak *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM) ve *Candida antarctica* (Novozym 435) kaynaklı tutuklanmış lipazlar kullanılmıştır. Çözücüsüz ortamda gerçekleştirilen bu çalışmada 6 saat sonunda % 80 dönüşümle 380 g/L izoamil asetat derişimine ulaşılmıştır [26]. Görüldüğü gibi, önceki çalışma [25] ile kıyaslandığında, çözücüsüz ortamdaki izoamil asetat üretiminde [26] yaklaşık 2.5 kat artış elde edilebilmektedir.

Bu çalışmada ise bir atığın değerlendirilmesi ile yüksek saflıkta elde edilen i-amil alkol kullanılarak *Candida antarctica* kaynaklı tutuklanmış lipaz (Novozym 435) ile çözücüsüz ortamda 24 saat sonunda yaklaşık % 82 dönüşümle 380 g/L izoamil asetat derişimine ulaşılmıştır. Yukarıda sözü edildiği gibi, bu çalışmada da literatürdekenden [25] 2.5 kat fazla ester derişimi elde edilmiştir. Sonuç olarak, ülkemizde etkin olarak değerlendirilemeyen bir atığın, endüstriyel açıdan önemli olan bir ester üretiminde kullanılabileceği bu çalışma sonunda görülmüştür.

TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGEMENTS)

Bu çalışmayı mali yönden destekleyen TÜBİTAK' a (MİSAG -174 nolu proje), kullanılan fuzel yağını sağlayan Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş.'ye ve çalışmada kullanılan enzimi (Novozym 435) sağlayan NOVO Nordisc A/S (Denmark)'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Kirk, R.E. ve Othmer, D.F., **Encyclopedia of Chemical Technology**, New York:Wiley, Cilt 2, 709-728, 1992.
2. Welsh, F.W. ve Williams, R.E., "Lipase Mediated Production of Flavor and Fragrance Esters from Fusel Oil", **Journal of Food Science**, Cilt 54, No 6, 1565-1568, 1989.
3. Erdem, F. ve Durukan, E., "Fuzel Yağının Fraksiyonlarına Ayrılması ve Değerlendirilmesi", **Şeker Enstitüsü Raporu**, Nisan, 1991.
4. Patil, A.G., Koolwal, S.M. ve Butala, H.D., "Fusel oil: composition, removal, and potential utilization", **Int. Sugar J**, Cilt 104, No 1238, 51–58, 2002.
5. Langrand, G., Triantaphylides, C. ve Baratti, J., "Lipase catalyzed formation of flavour esters", **Biotechnology Letters**, Cilt 18, No 8, 549-554, 1988.
6. Wetherill, C.M., "Examination of fusel oil from indian corn and rye", **Journal of the Franklin Institute**, Cilt 55, No 6, 385-391, 1853.
7. <http://www.sciencedirect.com> (Erişim tarihi: 18.10.2006)
8. "The Symptoms of Poisoning by Fusel Oil", **The Lancet**, Cilt 158, No 4070, 606, 1901.
9. Lettinga, G., Zeeuw, W. ve Ouborg, E., "Anaerobic treatment of wastes containing methanol and higher alcohols", **Water Research**, Cilt 15, No 2, 171-182, 1981.
10. Kunkee, R., Snow, S.R. ve Rous, C., "4374859 Method for reducing fusel oil in alcoholic beverages and yeast strain useful in that method", **Biotechnology Advances**, Cilt 1, No 1, 148, 1983.
11. Neale, M.E., "Rapid high-performance liquid chromatography method for determination of ethanol and fusel oil in the alcoholic beverage

- industry”, **Journal of Chromatography**, Cilt 447, 443-450, 1988.
12. Kraetz, L., “Dehydration of alcohol fuels by pervaporation”, **Desalination**, Cilt 70, No 1-3, 481-485, 1988.
 13. Vaclair, C., Tarjus, H. ve Schaetzel, P., “Permselctive properties of PVA-PAA blended membrane used for dehydration of fusel oil by pervaporation”, **Journal of Membrane Science**, Cilt 125, No 2, 293-301, 1997.
 14. Ferreira, L., Kaminski, M., Mawson, A.J., Cleland, D.J. ve White, S.D., “Development of a new tool for the selection of pervaporation membranes for the separation of fusel oils from ethanol/water mixtures”, **Journal of Membrane Science**, Cilt 182, No 1-2, 215-226, 2001.
 15. Dörmö, N., Bélafi-Bakó, K., Bartha, L., Ehrenstein, U. ve Gubicza L., “Manufacture of an environmental-safe biolubricant from fusel oil by enzymatic esterification in solvent-free system”, **Biochemical Engineering Journal**, Cilt 21, No 3, 229-234, 2004.
 16. Salis, A., Pinna, M., Monduzzi, M, ve Solinas, V., “Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis”, **Journal of Biotechnology**, Cilt 119, No 3, 291-299, 2005.
 17. Jochmann, M.A., Kmiecik, M.P. ve Schmidt, T.C., “Solid-phase dynamic extraction for the enrichment of polar volatile organic compounds from water”, **Journal of Chromatography A**, Cilt 1115, No 1-2, 208-216, 2006.
 18. De Castro, H.F., Moriya, R.Y., Oliveira, P.C. ve Soares, C.M., “Fusel oil as precursor for aroma generation by biotransformation using lipase”, **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Cilt 77-79, 817-826, 1999.
 19. Küçük, Z. ve Ceylan, K., “Potential utilization of fusel oil: A kinetic approach for production of fusel oil esters through chemical reaction”, **Turkish Journal of Chemistry**, Cilt 22, 289-300, 1998.
 20. Vandamme, E.J., “Bioflavours and fragrances via fungi and their enzymes”, **Fungal Diversity**, Cilt 13, 153-166, 2003.
 21. Kösalı, Y.K., Güvenç, A., Kapucu, N. ve Mehmetoğlu, Ü., “Fuzel Yağı ile Asetat Esterlerinin Enzimatik Üretimi”, **5. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi (UKMK-5)**, Ankara Üniversitesi, Ankara, Bildiri Özetleri Kitabı, ÖP03, 2-5 Eylül 2002.
 22. Güvenç, A., Kapucu, N., Kapucu, H., Aydoğan Ö. ve Mehmetoğlu, Ü., “Enzymatic esterification of isoamyl alcohol obtained from fusel oil: Optimization by response surface methodology”, **Enzyme and Microbial Technology**, Cilt 40, 778-785, 2007.
 23. Perry, R.H., Green, D.W. ve Maloney, J.O., **Perry’s Chemical Engineers Handbook**, McGraw-Hill, New York, 6th edition, 1997.
 24. <http://www.turkseker.gov.tr/> (Erişim tarihi: 25.08.2006)
 25. Hari Krishna, S., Divakar, S., Prapulla, S.G. ve Karanth N.G., “Enzymatic synthesis of isoamyl acetate using immobilized lipase from *Rhizomucor miehei*”, **Journal of Biotechnology**, Cilt 87, 193-201, 2001.
 26. Güvenç, A., Kapucu N. ve Mehmetoğlu, Ü., “The Production of Isoamyl Acetate Using Immobilized Lipases in Solvent-free System”, **Process Biochemistry**, Cilt 38, 379-386, 2002.