UZUN ZİNCİRLİ YAĞ ASİTLERİNİN KOLESTEROL ESTERLERİNİN SENTEZİ İÇİN $Ph_3P.SO_3$ KATALİZÖRLÜĞÜNDE DAHA ÇEVRECİ VE ETKİLİ BİR YAKLAŞIMIN GELİŞTİRİLMESİ

Cansu OGUR

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UZUN ZİNCİRLİ YAĞ ASİTLERİNİN KOLESTEROL ESTERLERİNİN SENTEZİ İÇİN $Ph_3P.SO_3$ KATALİZÖRLÜĞÜNDE DAHA ÇEVRECİ VE ETKİLİ BİR YAKLAŞIMIN GELİŞTİRİLMESİ

Cansu OGUR
0009-0005-7049-1065

Prof. Dr. Ayhan YILDIRIM
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

BURSA – 2024
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

UZUN ZİNCİRLİ YAĞ ASİTLERİNİN KOLESTEROL ESTERLERİNİN SENTEZİ İÇİN $Ph_3P.SO_3$ KATALİZÖRLÜĞÜNDE DAHA ÇEVRECİ VE ETKİLİ BİR YAKLAŞIMIN GELİŞTİRİLMESİ

Cansu OGUR

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayhan YILDIRIM

Kolesterol esterleri, trigliseritler ve steroller hücrede yağ damlacıkları içinde depo edilirler. Bu damlacıkların farklı fizyolojik özellikleri bulunmaktadır ve oldukça fazla çeşitte lipit molekülleri içerdikleri bilinmektedir. Sitoplazmik yapının merkezi hidrofobiktir ve çevresi fosfolipit bir tabaka ile sarılıdır. Kolesterol esterleri, kolesterolün uzun bir hidrokarbon zinciri içeren yağ asitleri ile konjugasyonu sonucu oluşan daha polar olmayan bileşiklerdir. Bu ester molekülleri hücre zarlarının bileşimine katılmazlar ve lipit damlacıklarında bulunurlar. Kolesterolün bu formu lipoproteinlerde daha fazla miktarda paketlenebildiğinden, kolesterolün taşınması daha etkilidir ve ayrıca bu esterler kolesterol metabolizmasında önemli bir rol oynar. Ayrıca hidroperoksit türevlerinin bazıları, minimal düzeyde değiştirilmiş düşük yoğunluklu lipoproteinin (mmLDL) biyolojik olarak aktif bileşenleridir. Son yıllarda bu esterler birçok endüstriyel ve tıbbi uygulamada dikkat çekmektedir.

Bu çalışmada, trifenilfosfin-kükürt trioksit katalizörü, tolüen içinde homolog uzun zincirli doymuş monokarboksilik veya dikarboksilik yağ asitleri ile kolesterol molekülü arasındaki esterleşme reaksiyonlarını etkin bir şekilde katalizlemiştir. Bu reaksiyonlarda, trifenilfosfin bazlı katalizör Lewis asidi özelliği olan sülfür trioksit kaynağı olarak işlev görmektedir. Reaksiyonlar 110 °C'de dikarboksilik asitler hariç diğer asitler ile kolesterol eşdeğer oranlarda reaksiyona alınmıştır ve karşılık gelen homolog kolesterol esterleri iyi veya mükemmel verimlerde elde edilmiştir. Geliştirilen bu yöntem, mevcut yöntemlere göre daha basit, pratik ve daha çevreci olmasının yanı sıra ilgili esterlerin daha yüksek verimle sentezlenmesine olanak sağlaması gibi avantajlara sahiptir.

Anahtar Sözcükler: Esterifikasyon, Kolesterol Esterler, Lipitler, Organokataliz, Trifenilfosfin-kükürt Trioksit

2024, xv + 59 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

DEVELOPMENT OF A MORE ENVIRONMENTAL AND EFFICIENT APPROACH FOR THE SYNTHESIS OF CHOLESTEROL ESTERS OF LONG-CHAIN FATTY ACIDS USING $PH_3P.SO_3$ CATALYST

Cansu OGUR

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Ayhan YILDIRIM

Cholesteryl esters, triglycerides, and sterols are stored in the cell in fat droplets. These droplets possess distinct physiological properties and are known to contain a diverse range of lipid molecules. The core of the cytoplasmic structure is hydrophobic and encircled by a phospholipid layer. Cholesteryl esters are more non-polar compounds, formed through the conjugation of cholesterol with fatty acids comprising a long hydrocarbon chain. These ester molecules do not participate in the composition of cell membranes and are found in lipid droplets. Since this form of cholesterol can be packaged in larger amounts in lipoproteins, the transport of cholesterol is more efficient, and these esters also play an important role in cholesterol metabolism. Moreover, some of the hydroperoxide derivatives are biologically active components of minimally modified low-density lipoprotein (mmLDL). In recent years, these esters have attracted attention in many industrial and medical applications.

In this study, the triphenylphosphine-sulfur trioxide catalyst was observed to catalyze esterification reactions between homologous long-chain saturated monocarboxylic or dicarboxylic fatty acids and a cholesterol molecule in toluene with high efficiency. In these reactions, the triphenylphosphine-based catalyst functions as a source of sulfur trioxide with Lewis acid properties. The reactions were conducted at 110 °C with cholesterol reacted with acids other than dicarboxylic acids in equivalent proportions, resulting in the formation of the corresponding homologous cholesteryl esters in good or excellent yields. The developed method offers several advantages over existing techniques, including simplicity, practicality, and environmental friendliness, as well as the ability to synthesize the corresponding esters in higher yields.

***Keywords*:** Esterification, Chlesteryl Esters, Lipids, Organocatalysis, Triphenylphospine-sulfur Trioxide

2024, xv + 59 pages.

TEŞEKKÜR

Lisans dönemimden itibaren, yüksek lisans dönemi ve tez çalışması sürecinde ilgi ve desteğini esirgemeyerek beni her konuda destekleyen ve yüreklendiren; tecrübe ve fikirlerini her dönem benimle paylaşan; ne olursa olsun bana her konuda anlayış ve hoşgörü gösteren kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Ayhan YILDIRIM' a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Çalışmam boyunca katkı ve destekleriyle beni yönlendiren, deneyimlerinden faydalandığım Bursa Uludağ Üniversitesi Kimya Bölümü değerli hocalarına teşekkürlerimi sunarım.

Her konuda beni destekleyen, moral veren, ilgi ve alakalarını hiç esirgemeyen değerli aileme ve kıymetli eşime her zaman yanımda oldukları için teşekkürlerimi sunarım.

Cansu OGUR
02/08/2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iii
ABSTRACT iv
TEŞEKKÜR v
SİMGELER DİZİNİ vii
KISALTMALAR DİZİNİ viii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
ÇİZELGELER DİZİNİ x
1. GİRİŞ 1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI 5
2.1. Yağ Asitleri ve Sınıflandırılması 5
2.2. Kolesterol ve Kolesterol Esterlerinin Kısa Tarihçesi 6
2.3. Kolesterol ve Kolesterol Esterlerinin Sınıflandırılması 6
2.4. Kolesterol Esterlerinin Sentez Yöntemleri 7
2.5. Yeşil Kimya 22
3. MATERYAL ve YÖNTEM 24
3.1. Reaktifler ve Kimyasallar 24
3.1.1 Kullanılan Reaktifler 24
3.2. Çalışmada Kullanılan Analiz Yöntemleri ve Cihazlar 24
3.2.1 İnce Tabaka Kromotografisi (TLC) 24
3.2.2 Erime Noktası Kayıt Cihazı 24
3.2.3 IR Spektrumları Ölçüm Cihazı 24
3.2.4 NMR Spektrumları Ölçüm Cihazı 24
3.2.5 Elementel Analiz 25
3.2.6 Evaporatör 25
3.2.7 Manyetik Karıştırıcılı Isıtıcı 25
3.3. Sentez Yöntemi 26
3.3.1. Monoesterlerin (kolesterol stearat) sentezi için prosedür 26
3.3.2. Diesterlerin (dikolesterol sebasat) sentezi için prosedür 27
3.3.3. Sentezlenen Kolesterol Esterleri 28
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 34
4.1. Bulgular 34
5. SONUÇ 41

SİMGELER DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat Derece
DCC	N,N’-disikloheksil karbodiimit
DMC	Dimetilkarbonat
dak	Dakika
g	Gram
J	Joule
m	Kütle
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
mmol	Milimol
ppm	Milyonda bir birim
δ	Kimyasal Kayma
ν_{max}	Kızılötesi gerilme frekansı

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
CA	Kaliforniya
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spekroskopisi
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IR	Kızılötesi Spektroskopisi
IDL	Orta Yoğunluklu Lipoprotein
LA	Levulinik Asit
LD	Lipit Damlacığı
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LMLCS	Lipit Haritaları Lipit Sınıflandırma Sistemi
mmLDL	Lipoprotein
ML	Metil Levulinat
MO	Missouri
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
SFA	Doymuş Yağ Asidi
S-PPR	Katı Faz Peptit Reaktifi
THF	Tetrahidrofuran
TLC	İnce Tabaka Kramotografisi
TMS	Tetrametilsilan
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 2.1.	Yağ damlacığının yapısı.....	6
Şekil 2.2.	$SOCl_2$ üzerinden iki aşamalı sentez yöntemi.....	7
Şekil 2.3.	DCC iki aşamalı sentez yöntemi.....	8
Şekil 2.4.	Yağ asidi anhidritlerinin kullanımı ile yapılan sentez yöntemi.....	8
Şekil 2.5.	Geçiş metalleri içeren inorganik katalizörler.....	9
Şekil 2.6	Enzimatik yöntemler ile sentez.....	9
Şekil 2.7.	S-PPR ile karboksilik asitlerin sentez mekanizması.....	10
Şekil 2.8.	Alifatik alkollerin altın nanopartikülleri ile kendi kendine sentezi.....	11
Şekil 2.9.	Mentol ve yağ asitleri çözücülerinden oluşan esterlerin sentezi.....	12
Şekil 2.10.	Metil levulinatın transesterifikasyonu ve levulinik asidin esterifikasyonu.....	13
Şekil 2.11.	Adipik asit esterlerinin paladyum katalizli doğrudan sentezi.....	14
Şekil 2.12.	Balmumu esteri vermek üzere bir trigliseritin transesterifikasyonu.....	15
Şekil 2.13.	Su kullanılmadan polimerik asit katalizörü ile oleik asitten esterlerin üretimi.....	15
Şekil 2.14.	Homojen Katalizör ile Oleik asit sentezi.....	18
Şekil 2.15.	Passiflora tohum yağı transesterifikasyon reaksiyonu.....	19
Şekil 2.16.	Rosin ester sentez yöntemi.....	21
Şekil 3.1.	Kolesterol stearat sentezi.....	26
Şekil 3.2.	Dikolesterol sebasat sentezi.....	27
Şekil 4.1.	Monoesterlerin sentezi.....	35
Şekil 4.2.	Diesterlerin sentezi.....	35
Şekil 4.3.	Esterleşme reaksiyonun olası mekanizması.....	38
Şekil 4.4.	Esterifikasyonun başlaması için katalitik yollar.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa
Çizelge 4.1.	Monoester Sentez Reaksiyon Koşulları.....	35
Çizelge 4.2.	Diester Sentez Reaksiyon Koşulları.....	36
Çizelge 4.3.	Kolesterol Ester Yapıları….....	37

1. GİRİŞ

Lipitler, suda çözünmeyen, inorganik çözücülerde çözünen biyomoleküllere verilen ortak isimdir. Bu tanımlamanın bir sonucu olarak moleküler yapı ve fonksiyon açısından en geniş çeşitliliğe sahip bileşiklerdir. Temel yapılarını C, H, O atomları oluşturmaktadır. Yapılarında karbohidrat ve proteinlere kıyasla düşük sayıda oksijen atomuna karşılık yüksek sayıda karbon atomu içerirler. Genel olarak yapı ve görevlerine göre üç çeşit altında incelenmektedirler. Lipitler suda çözünmediklerinden dolayı, kanda taşınma işlemi lipoproteinler sayesinde yapılmaktadır (Lv vd., 2018).

LMLCS'e göre lipit molekülleri; yağ asitleri, gliserolipitler, gliserofosfolipitler, sfingolipitler, sterol lipitler, prenol lipitler, sakkaroliptler ve poliketitlerden oluşan sekiz sınıfa ayrılmıştır (Lv vd., 2018).

Nötral yağlar (trigliseritler), depo edilerek gerektiğinde enerji verici olarak kullanılan lipit molekülleridir. Canlılarda farklı amaçlarla kullanılmaktadırlar. Bir gliserol molekülü ve üç yağ asidinin dehidrasyon sentezi ile oluşmuş lipitlerdir. Yağ asitleriyse, uzun karbon zincirlerinden oluşan lipit monomerleridir. İkili bağ içeriklerine göre doymuş ve doymamış yağ asitleri olarak iki sınıfta bilinmektedirler. Esansiyel yağ asitleri ise hayvansal canlılar tarafından üretilemeyen ve dışarıdan alınmak zorunda kalınan yağ asitleridir (Labrude & Becq, 2003).

Fosfolipitler ise bir gliserol, iki yağ asidi ve bir fosfat grubundan oluşmuş olan lipitlerdir. Hücrede yapıcı ve onarıcı olarak kullanılmaktadırlar ve temel yapıda bulunurlar. Hücreye akıcılık özelliğinin kazandırılmasını sağlarlar (Labrude & Becq, 2003).

Steroidler ise halkalı yapıda olan lipit bileşikleridir. Steroidlerin bilinen en önemli çeşitlerinden biri kolesterollerdir. Hücre zarı yapısında görev alarak dayanaklılığın arttırılmasında önemli bir rol oynarlar. Sinir hücresi içinde bulunan miyelinde bulunmaktadırlar. Bitki hücrelerinin zarlarında kolesterol bulunmaz. Vücutta kolesterol, gıdalar yolu ile alınan ve vücutta sentezlenen olarak iki kaynaktan sağlanmaktadır. Karaciğer kolesterol sentezlenmesinde aktif rol oynar ve aynı zamanda metabolizmanın

denetlenmesini sağlar. Kolesteroller karbonhidrat, yağ ve protein üretimi sırasında oluşan asetil CoA'ların birleşmesi ile sentezlenir. Kolesterol kanda lipoproteinler sayesinde taşınır ve birkaç çeşidi bulunmaktadır. LDL kandaki kolesterolün büyük bir bölümünü taşımaktadır ve kötü kolesterol olarak bilinmektedir. Kandaki miktarı yüksek olduğunda damar duvarlarında birikmeye başlar ve tıkanıklığa neden olmaktadır (Labrude & Becq, 2003).

HDL kolesterol kandaki miktarın yaklaşık çeyreğini taşımaktadır. Kolesterolü kandan karaciğere taşıyarak birikme oluşmasını engellemektedir. HDL kolesterol düzeyi arttıkça risk azaldığından dolayı HDL kolesterol iyi kolesterol olarak bilinmektedir (Grimme vd., 2010).

Lipitlerle ilgili olarak modern kimya çalışmaları 17. Yüzyılda başlamıştır. İlk olarak lipitlerin organizmada nasıl bulunduğunun anlaşılması ve daha da önemlisi hangi türlerinin olduğunun gösterilmesi gerekmiştir. Örneğin, 1665'te hayvanlardan alınan kan örneklerinin süt gibi olduğu gözlenmiş, ancak bunun beslenmeye bağlı artmış yağlanmadan kaynaklandığı 1774 yılında anlaşılmıştır. Benzer şekilde, safra taşlarının bileşiminde yağ benzeri bir madde görülmüş ancak bu maddenin kolesterol olduğu sonradan anlaşılmıştır. Lipitler ile ilgili sınıflandırmalar gittikçe geliştirilmiştir. 1885 yılında kloroformlu sülfürik ve asetik asit kullanılarak kolesterol düzeyleri ölçülmüştür (Grimme vd., 2010).

Hücrelerde, kolesterol esterleri, steroller ve trigliseritler gibi nötr lipitler, organizmalarda önemli rolleri olan lipit damlacıkları (LD'ler) adı verilen membrana bağlı benzersiz dinamik organellerde birlikte depolanır (Khor vd., 2014; Vallochi vd., 2018; Olzmann & Carvalho, 2019). LD'ler önemli fizyolojik özelliklere sahiptir ve 100'den fazla farklı nötr lipit molekülü içerdikleri bildirilmiştir (Welte & Gould, 2017). Şekil 1'de gösterildiği gibi, bu sitoplazmik yapının merkezi, paketlenmiş lipit molekülleri nedeniyle oldukça hidrofobiktir ve dış kısmı, çeşitli proteinleri de içeren bir fosfolipit tek tabaka ile çevrilidir. Bu lipitler arasında özellikle uzun zincirli yağ asitlerinin kolesterol esterleri, enerji depolanmasından sorumlu olan, ihtiyaç halinde hücreler için kolesterol molekülleri sağlayan ve aynı zamanda esansiyel yağ asitlerinin taşınması ve metabolizmasında

önemli rol oynayan önemli moleküllerdir. Kolesterol esterleri, esterleştirilmemiş olan kolesterolden daha hidrofobiktir ve kolesterolün plazmada taşınması için tercih edilen maddelerdir. Yağ asidi kolesterol esterlerinin hidroperoksit türevleri, minimal düzeyde değiştirilmiş düşük yoğunluklu lipoproteinin (mmLDL) biyolojik olarak aktif bileşenleridir. Bunların endojen hidroperoksitleri, kolesterol seviyelerini modüle eder ve hepatositlerde ve makrofajlarda kolesterol alımını kısıtlar (Harkewicz vd., 2008; Guo vd., 2019). Bu çalışmalara göre, mmLDL'nin birçok biyolojik aktivitesi bu kolesterol ester hidroperoksitlerle yakından ilişkilidir. Ayrıca bu bileşiklerin, aterosklerotik lezyonlardaki makrofajların proinflamatuar aktivasyonu ile ilgili olabilecek mmLDL'nin biyolojik olarak aktif bileşenleri olduğunu öne sürmektedirler (Harkewicz vd., 2008).

Son zamanlarda, kolesterol molekülünün bu çok yönlü esterleri büyük ilgi görmüştür. Transdermal lipit bazlı ilaç dağıtım sistemleri (Kravchenko vd., 2009; Rambharose vd., 2017; Ruwizhi & Aderibigbe, 2020), antimikrobiyal bileşenler (Banday vd., 2010; Zhang vd., 2020); antibiyotikler (Lam vd., 2016), spesifik moleküllerin çözülmesi için kromatografide bağlı faz (Catabay vd., 1997; Catabay vd., 1998), sıvı kristal iyonomerler (Zhao vd., 2016), yağ içinde su emülsifiye edici bileşenler (Cataline vd., 1944) olarak kullanılmaktadırlar, smektik mezofazlar ve kolesterik sıvı kristaller (Cada vd., 1997; Ma, 2011), kozmetik, nutrasötik ve farmasötik formüllerin bileşenleri (Weber vd., 2001), dar boyutlu tek tip nanopartiküller (Singh & Ansari, 2010), organojelatör olarak sıvı kristaller (Kubo vd., 2006), tümör tedavi bileşenleri (Eugster vd., 1993), kolestozom veziküller (Schentag vd., 2016), ve sıvı kristal elastomerler (Zhang vd., 2003) olarak kullanılmaktadırlar. Sentetik ve endüstriyel organik kimya perspektifinden bakıldığında, karboksilik asitlerin estere dönüştürülmesi hala önemli bir konudur (Tanemura & Suzuki 2013). Genellikle, sterollerin/stanollerin yağ asidi esterleri kimyasal veya enzimatik esterifikasyon ve/veya transesterifikasyon prosedürleri ile hazırlanır (Banday vd., 2010; Ma & Huang, 2011; Weber vd., 2001; Kritchevsky & Anderson, 1952, Yang vd., 2012). Bununla birlikte, bu reaksiyonlar genellikle yüksek sıcaklıklar, aşırı pH koşulları, oldukça zehirli reaktifler (Weber vd., 2001; Kritchevsky & Anderson, 1952, Yang vd., 2012, Girard & Tranchant, 2000) veya geçiş metalleri içeren zehirli inorganik katalizörler (Ieda vd., 2008) gerektirmekte, böylece dehidre veya oksisteroller gibi yan ürünlerin oluşumunu desteklemekte ve istenen esterlerin düşük verimine yol açmaktadır. Öte

yandan mevcut yöntemlerin birçoğu çok zahmetli saflaştırma teknikleri gerektirecek şekilde geliştirilmiştir. Son zamanlarda, bazı simetrik kiral sıvı kristal dimerler daha önce uygun α,ω-alkandioik asit, kolesterol ve N,N'-disikloheksil karbodiimitten (DCC) hem kolon kromatografisi hem de kristalizasyon adımları gerektirerek hazırlanmıştır (Donaldson vd., 2010). Belirtilen seçilmiş yöntemlerde görülebileceği gibi, bunların çoğu ürün izolasyonu veya saflaştırılması için kromatografik ayırma uygulamaktadır. Öte yandan, anhidritler birçok reaktiften daha hafif olmasına rağmen esterleşme reaksiyonlarında, hidrokarbon zinciri uzadıkça reaktiviteleri azalır. Aslında, palmitik anhidrit ve stearik anhidrit reaksiyon ortamında neredeyse inert davranır (Mahadevan & Lundberg, 1960).

Uzun zincirli yağ asitlerinin esterlerinin hazırlanmasıyla ilgili önceki çalışmalarda, laboratuvarda sentezlenen ve karakterize edilen bazı sülfonatlı iyonik sıvı bileşiklerin esterleşme ve transesterleşme reaksiyonlarında oldukça etkili organokatalizörler olabilecekleri görülmüştür (Yıldırım vd., 2019; Yıldırım vd., 2020). Aslında, sülfür içeren Lewis veya Brønsted asitleri birçok organik sentezde yararlı katalizörlerdir. Son zamanlarda, ilk kez, genellikle peptit sentezinde bir bağlama reaktifi olarak kullanılan trifenilfosfin-kükürt trioksit katalizörünün, belirli esterleşme reaksiyonlarında bir katalizör olarak da etkili olabileceği bulunmuştur (Yıldırım & Kıraylar 2020). Trifenilfosfin-kükürt trioksit katalizörünün genelliğini göstermek için, bu çalışmada, bazı uzun zincirli doymuş yağ asitleri ve kolesterol moleküllü uzun zincirli dikarboksilik asitler ((3β)- cholest-5-en-3-ol) iyi veya mükemmel verimlerde karşılık gelen monoesterlere ve diesterlere basitçe dönüştürülmüştür.

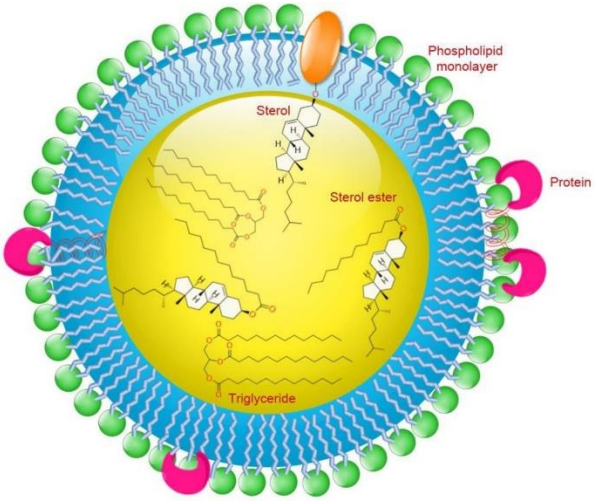
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Yağ Asitleri ve Sınıflandırılması

Yağ asitleri, uzun bir hidrokarbon zincirine sahip monokarboksilik asitlerdir. Genel formülleri $C_nH_{2n+1}COOH$ olarak tanımlanmıştır. Doğal olarak oluşan yağ asitlerinin çoğu 4 ila 29 arasında çift sayıda karbon atom zincirine sahiptir. Yağ asitleri genellikle trigliseritlerden veya fosfolipitlerden elde edilmektedir. Diğer moleküllere bağlı olmadıklarında serbest yağ asitleri olarak bilinirler. Yağ asitleri doymamış (yani bir veya daha fazla karbon-karbon çift bağı içeren yağ asitleri) ve doymuş (yani herhangi bir karbon-karbon ikili bağı içermeyen yağ asitleri olarak ikiye ayrılmaktadır (Yıldırım & Avcı, 2022).

Doymuş yağ asitleri (SFA, saturated fatty acids), tek bağlı bir karbon zincirinden oluşur. Doymuş yağ asitleri temel gıdalardan alınmamaktadır. Stearik, palmitik, miristik, laurik, kaprilik ve bütirik asit bilinen doymuş yağ asidi örneklerindendir. C_4-C_{14} grubu yağ asitleri kısa ve orta zincirli doymuş yağ asitleri olarak adlandırılırlar. Palmitik asit en yaygın olanıdır. Palm yağında yüksek oranda bulunmaktadır. C_{19}-C_{24} grubu uzun zincirli doymuş yağ asitleri olarak tanımlanırlar (Yu & Zhang, 2020).

Doymamış yağ asitleri alken ve alkin olarak 2 grupta incelenmektedir. Alkinler üç bağ içeren yağ asitleridir ve günlük hayatta tüketilen içeriklerde bulunmamaktadırlar. Alken yağ asitlerinin formülü $C_nH_{2n-2x}O_2$ şeklindedir ve ikili bağ bulundururlar (Yu & Zhang, 2020).



Şekil 2.1 Yağ damlacığının yapısı (Yıldırım & Avcı, 2022).

Yağ asitleri gibi lipitler hücrenin temel sinyalleşme araçlarıdır. Aynı zamanda enerji depolama için de büyük önem arz ederler. Hücre içinde zehirli maddelerin birikimini engellerler. Ancak fazla olmaları durumunda hücrelerin zarar görmesine neden olabilirler (Yu & Zhang, 2020).

2.2. Kolesterol ve Kolesterol Esterlerinin Kısa Tarihçesi

Hayvansal dokularda kolesterol (kolest-5-en-3β-ol), en çok bulunan üyedir. Kolesterol ilk olarak 1769 yılında safra kesesi taşlarının içinde bulunan bir üye olarak kabul edilmiştir. Fransız kimyager Michel-Eugene Chevreul, 19. yüzyıl başlarında kolesterolü hayvansal yağlardan ayırmıştır. Kolesterolün tam olarak tanımlanma süreci Alman kimya bilimci Heinrich Wieland tarafından 20. yüzyıl başlarında tamamlanmıştır. Metabolizma ve kolesterol üzerine yaptığı araştırmalar üzerine Heinrich Wieland, Nobel Kimya Ödülü ile onurlandırılmıştır. Kendisi bu konuda Nobel ödülü ile onurlandırılan 13 kişiden ilki olmuştur (Almeida vd., 2015).

2.3. Kolesterol ve Kolesterol Esterlerinin Sınıflandırılması

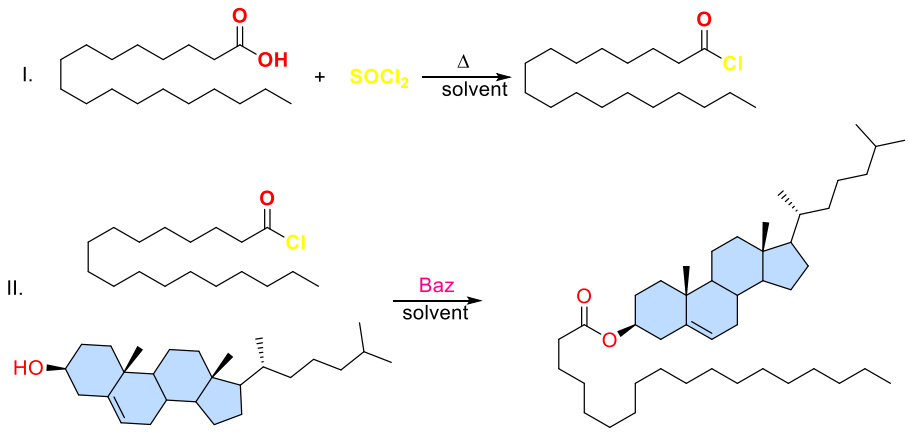
Kolesterol, hücre tarafından üretilen bir sterol lipittir. İnsan ve hayvanlar için önemli bir rol oynamaktadır. Kolesterolün büyük bir kısmı karaciğer ve bezler tarafından üretilmekte olup kalan kısmı da ek gıdalar ile birlikte vücuda alınmaktadır. Hücre için

önemli bir ögedir. Yağların ayrılması konusunda safra asitlerine destek olur ve D vitamini üretimi konusunda da destek verir. Ayrıca kolesterol, kan gibi hidrofilik ortamlarda hidrofobik molekülleri (yağlar gibi) taşımak için kullanılan lipoproteinlerin de önemli bir bileşenidir. Çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) olarak sınıflandırılan lipoproteinler, esterleşmiş ve serbest kolesterol, proteinler, fosfolipitler ve trigliseritlerden oluşmaktadır. Kolesterol esterleri, kolesterolün yağ asitleri ile oluşan etkileşimi sonucunda ortaya çıkan bileşiklerdir. Bu moleküller yağ asitlerinde bulunurlar ve hücre yapısına katılmazlar. Transdermal lipit temelli ilaç salınım sistemleri olarak kullanılırlar. Kozmetik ve ilaç formülasyonlarında kullanılırlar. Antimikrobiyal, antibiyotik ve antitümör özellikleri olan bileşiklerdir. Ayrıca spesifik bileşiklerin ayrılmasında bağlı faz olarak da kullanılmaktadırlar (Yıldırım & Avcı, 2022).

2.4. Kolesterol Esterlerinin Sentez Yöntemleri

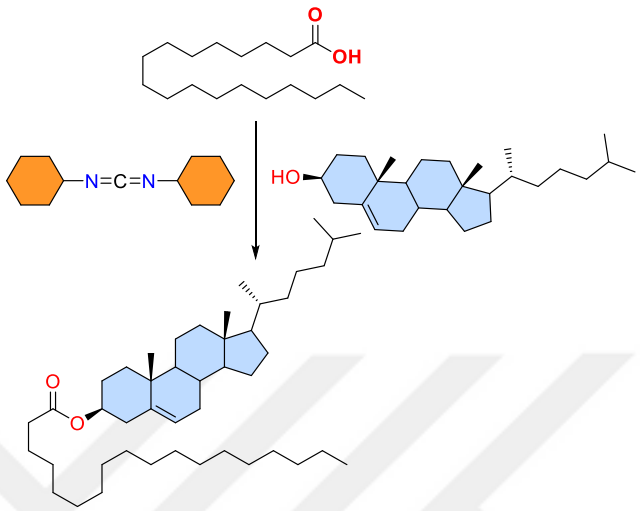
Kolesterol esterleri için literatürde yer alan bazı sentez yöntemleri bulunmaktadır. Genellikle bu yöntemler katalizör içeren ve katalizör içermeyen yöntemler olarak ikiye ayrılmaktadır (Yıldırım & Avcı, 2022).

Katalizör içermeyen yöntemler genellikle çok yüksek sıcaklıklar, ekstrem pH koşulları ve toksik bileşenler gerektirirler (Yıldırım & Avcı, 2022).



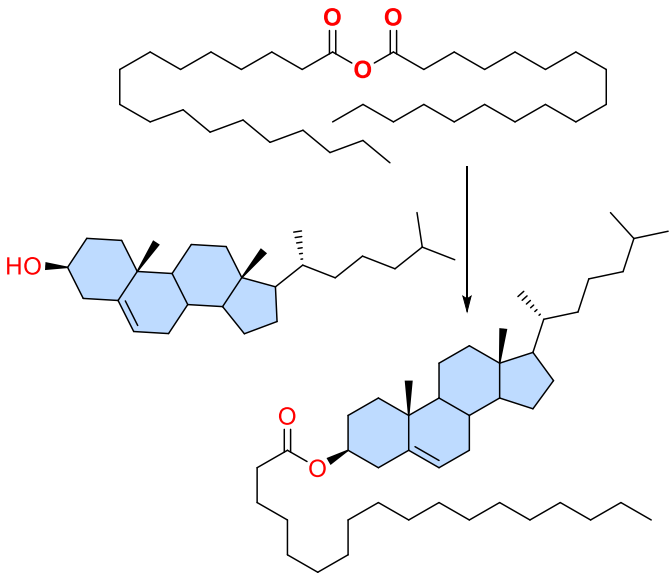
Şekil 2.2 $SOCl_2$ üzerinden iki aşamalı sentez yöntemi (Welte & Gould, 2017)

$SOCl_2$ üzerinden yapılan sentez yöntemi toksik ve pahalı reaktiflerin kullanımını gerektirmektedir. Kolon kromatografisi gibi zahmetli izolasyon aşamaları bulunmaktadır (Yıldırım & Avcı, 2022).



Şekil 2.3 DCC iki aşamalı sentez yöntemi (Welte & Gould, 2017)

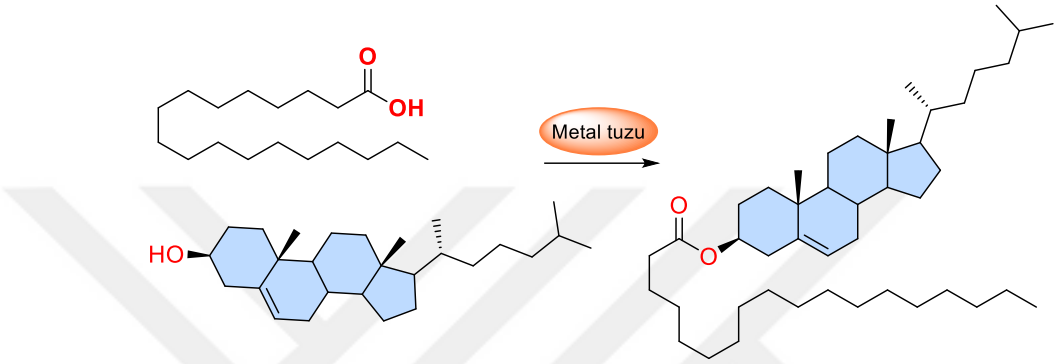
DCC ile yapılan sentez yöntemi kolon kromatografisi gibi zahmetli izolasyon aşamaları ve kristallendirme gerektirmektedir. Bu nedenle zahmetli bir sentez yöntemidir (Yıldırım & Avcı, 2022).



Şekil 2.4 Yağ asidi anhidritlerinin kullanımı ile yapılan sentez yöntemi (Welte & Gould, 2017)

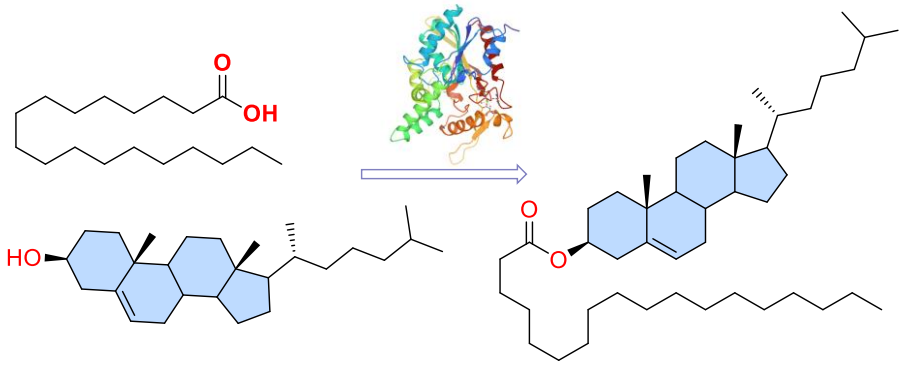
Yağ asidi anhidritlerinin kullanımı ile yapılan sentezlerde, genelde palmitik ve stearik anhidritler reaksiyon ortamında inert davranmaktadırlar (Yıldırım & Avcı, 2022).

Katalizör içeren sentezler, reaksiyonların hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi için kullanılırlar. Kullanılan katalizör, reaksiyon hızının arttırılmasına yardımcı olurken reaksiyon şartlarının da uygun seviyede ayarlanmasını sağlar (Yıldırım & Avcı, 2022).



Şekil 2.5 Geçiş metalleri içeren inorganik katalizörler (Welte & Gould, 2017)

Geçiş metalleri, inorganik katalizörlerde genellikle kullanılan ürün grubudur. Ester izolasyonu için kolon kromatografisi kullanılması gerekmektedir. Endüstriyel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Kullanılan her metalin özelliği reaksiyon için farklı bir etki göstermektedir. Kullanılan geçiş metalleri için; rutenyum, palladyum, nikel, kobalt, demir ve vanadyum gibi metaller örnek verilebilir (Yıldırım & Avcı, 2022).



Şekil 2.6 Enzimatik yöntemler ile sentez (Welte & Gould, 2017)

Enzimatik yöntemlerin kullanılması hassas reaksiyon koşulları gerektirmektedir. Enzimatik katalizörler biyolojik kaynaklıdır. Genellikle düşük koşullarda gerçekleşen reaksiyonlarda kullanılırlar (Yıldırım & Avcı, 2022)

Heterojen katalizörler ile gerçekleştirilen sentezler, gaz veya sıvı fazlı reaksiyonlarda kullanılmaktadır. Kullanılan katalizörlere örnek olarak platinyum, paladyum gibi maddeler verilebilir. Bu tarz reaksiyonlarda kullanılan katalizörler katı yüzeyle aktif olarak etkileşime geçen metallerden oluşmaktadır (Yıldırım & Avcı, 2022).



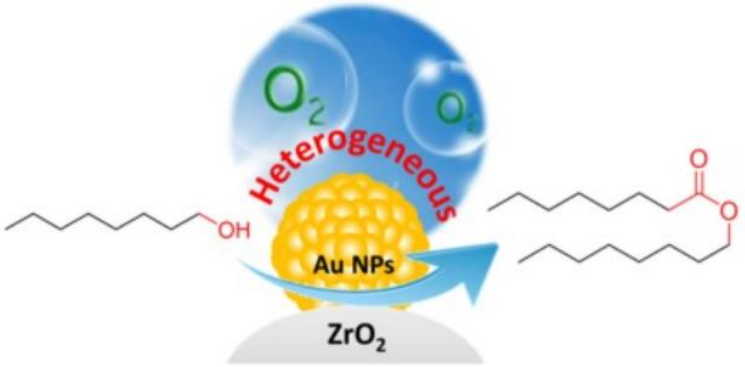
Şekil 2.7 S-PPR ile karboksilik asitlerin sentez mekanizması (Tenemura & Suzuki, 2013)

Karboksilik asitlerin alkollerle sentezi en bilinen reaksiyonlardan biridir. S-PPR sentez için sıklıkla kullanılmaktadır. Karboksilik asitlerin sentezi genellikle elektroliz, Grignard reaksiyonu, Kolbe reaksiyonu ve hidrojenasyon gibi yöntemlerden biri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. S-PPR genelde katı zincirlerin desteklenerek sentezinde kullanılmaktadır. Bu nedenle karboksilik asitlerin sentezinde S-PPR kullanımı yaygın ve doğrudan uygun bir yöntem değildir. S-PPR bilimsel araştırmalar ve ilaç sanayin de kullanılan önemli bir tekniktir (Tenemura & Suzuki, 2013).

Trichoderma sp. AS59'dan üretilen esteraz, kolesterol sentezinde kullanılmıştır. Trichodermadan üretilen esteraz, hassas bir enzim olması nedeniyle dezavantaj oluşturmaktadır ve yüksek enerji gereksinimi duyulmaktadır. Bu enzimin kullanılması gıda sektöründe uygunluk sağlayabilmektedir. Ayrıca biyokimyasal araştırmalarda kullanılabilecek potansiyel barındırmaktadır (Tenemura & Suzuki, 2013).

Biyodizel üretimi için serbest yağ asitlerinin sentezi işlemi çalışması yapılmıştır. Biyodizel üretimi için, triglisteritlerin reaksiyon ile sentezi yapılarak estere çevrilmesi gereklidir. Ancak serbest yağ asitleri alkollerle reaksiyon yapmazlar ve katalitik ile sentezlenmeleri gereklidir. Bu sentez iki işlem halinde uygulanmaktadır. Öncelikle serbest yağ asitleri alkol ile esterifikasyonu gerçekleştirilir. Katalizör olarak asit kullanılır. Sonrasında asit serbest yağ asidini alkol ile reaksiyona girecek hale getirir ve ester haline gelir. İkinci aşama olarak trigliseritler ester hale getirilir. Genelde katalizör olarak sodyum veya potasyum kullanılır. Bu süreçler biyodizel üretiminde serbest yağ asitlerinin kullanılmasını daha fazla hale getirebilir (Tenemura & Suzuki, 2013).

Lewis asidik iyonik sıvı kullanılarak esterlerin sentezi, fitosterollerin iyonik sıvılar kullanılarak yağ asitleri ile esterleştirilmesiyle yapılmaktadır. Bu sıvılar sentezlerde klasik çözücülerin yerine kullanılan ve sentezin etkinliğini arttıran özel sıvılardır. İyonik sıvı kullanılan reaksiyonlarda koşullar ve işlem dikkatli yapılmalıdır. Sıvıların yeniden kullanılabilirliğine dikkat edilirse, düşük maliyet ve yeniden kullanılabilirlik çevre dostu bir katalizör olarak değerlendirilebilir (Yang vd., 2012)

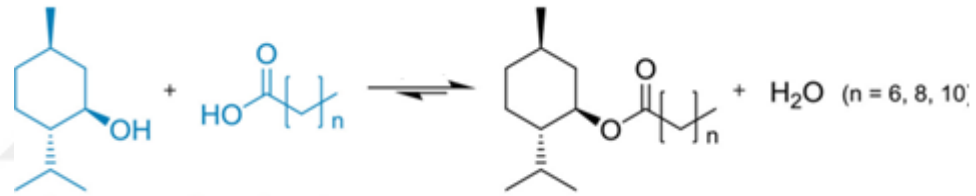


Şekil 2.8 Alifatik alkollerin altın nanopartikülleri ile kendi kendine sentezi (Wang vd., 2016)

Alifatik alkollerin altın nanopartikülleri ile kendi kendine sentezi, çeşitli alifatik alkollerin yüksek etkinlik ile katalizör olarak kullanılmasında uygulanabilmektedir. Altın nanopartikülleri yüksek yüzey alan özelliğine sahiptir. Bu özelliği sayesinde reaksiyona girerek katalizör görevi görebilmektedir. Alifatik alkoller genelde asit kullanılarak esterleşme reaksiyonlarına girmektedirler. Alifatik alkol, asit ve altın nanopartiküllerinin

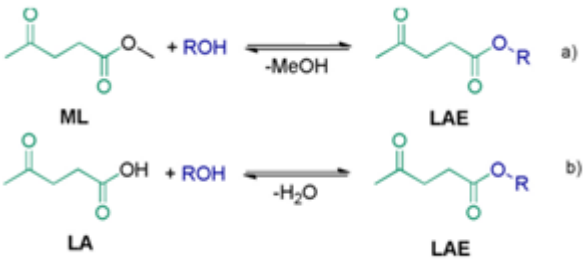
bulunduğu bir ortamda reaksiyonun kendi kendine başlaması sağlanabilir. Süreç katalizörün yeniden kullanılabilirliği nedeniyle uygun olsa da maliyet ve çevre dostu çalışma konusunda kuşkular bulunmaktadır (Wang vd., 2016)

Bitkisel yağlardan üretilen alifatik esterler, mum üretimi için kullanılabilmektedir. Alifatik esterler alkil esterlerdir. Bu nedenle mum üretimi için uygunluk sağlayabilmektedirler. Bitkisel yağlar alkol ve baz katalizörü ile reaksiyona sokularak alkil esterlerine dönüştürülürler. Böylece trigliseritler metil veya etil esteri olarak elde edilmiş olur. Sonrasında esterler ayrılır ve saf hale getirilir. Bu esterler mum sentezi için kullanılır. Eritme ve sonrasında dondurma ile birlikte mum şeklini alabilmektedirler. Biyolojik temelli olarak uygun bir kullanım olabilmektedir. Biyoyakıt alanında da çalışmalar yapılabilmektedir. Çevresel etkilerin azaltılması konusunda çalışmalar yapılmalıdır (Anzenberger vd., 2016).



Şekil 2.9 Mentol ve yağ asitlerinden oluşan esterlerin sentezi (Anzenberger vd., 2016)

Mentol ve yağ asitleri içindeki çözücülerden oluşan yağ asidi esterlerinin sentezi, özellikle kozmetik ve ilaç sektörlerinde kullanılabilmektedir. Mentol, nane yağından elde edilen bir terpenoid alkoldür. Sentez için öncelikle mentol ve buna uygun yağ asidi seçilmelidir. Kullanılacak yağ asidi metil veya etil ester olarak seçilebilir. Metanol veya aseton gibi uygun bir çözücü madde içerisinde reaksiyon başlatılır. Asit veya baz katalizörü eşliğinde reaksiyon gerçekleştirilmektedir. Bu süreçte mentol ve yağ asitleri arasında bulunan karboksilik asit ile mentol arasında bağ oluşur. Oluşan mentil ester, çözücü ve katalizörler birbirinden ayırılır. Sonrasında yapılacak analizler ile son kontrol yapılır. Çözücü içermeyen bir yaklaşım olarak değerlendirilebilmektedir (Anzenberger vd., 2016).



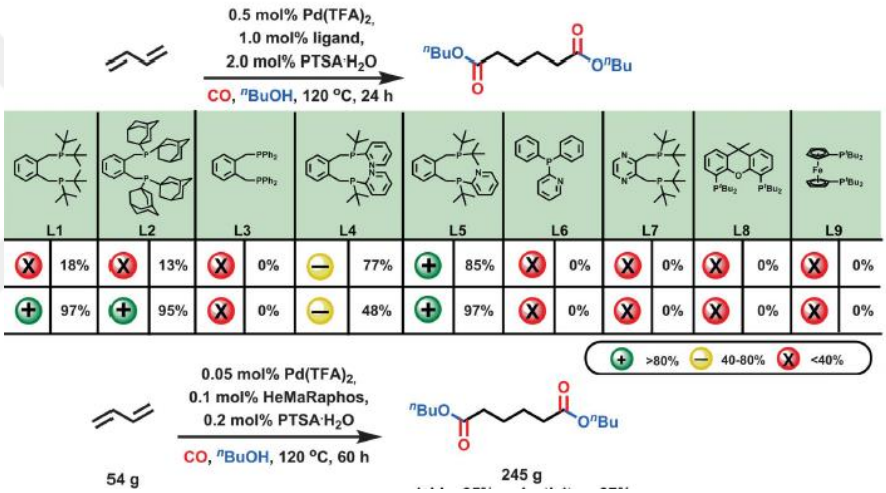
Şekil 2.10 Metil levulinatın transesterifikasyonu ve levulinik asidin esterifikasyonu (Hümmer vd., 2018)

Metil levulinat, levulinik asidin metil esteridir. Transesterifikasyon süreci genellikle ML'nin bir alkole dönüşümü ile gerçekleşir. Reaksiyon katalizör eşliğinde gerçekleştirilir. Transesterifikasyon işlemi için reaksiyon koşulları belirlenir. Genellikle bu işlem, sodyum metoksit veya potasyum hidroksit gibi bir katalizör varlığında gerçekleştirilir. Metil levulinat ve alkol reaksiyona sokulur. Alkollü çözelti içinde, katalizörün varlığında, esterleşme reaksiyonu başlar. Transesterifikasyon sonucunda, levulinik asidin metil esteri (ML) ve alkil ester oluşur. Bu süreçte, alkil grubu levulinik asidin karboksil grubu ile yer değiştirir (Hümmer vd., 2018).

LA endüstriyel kimya ve biyoyakıt üretimi için önemli bir ham maddedir. Süreç levulinik asidin bir alkol ile reaksiyona sokularak esterlerinin oluşturulması ile oluşur. Levulinik asidin esterifikasyonu için uygun şartlar oluşturulur. Asidik katalizör kullanımı gerekebilir. Levulinik asit ve seçilen alkol birlikte reaksiyona sokulur. Asidik ortamda, esterleşme reaksiyonu başlar ve levulinik asidin karboksil grubu ile alkolün hidroksil grubu arasında ester bağı oluşur. Reaksiyon sonucunda, levulinik asidin esterleri oluşur. Bu süreç, termal veya katalitik olarak gerçekleştirilebilir. Bu asitler yeşil kimya açısından öneme sahiptir (Hümmer vd., 2018).

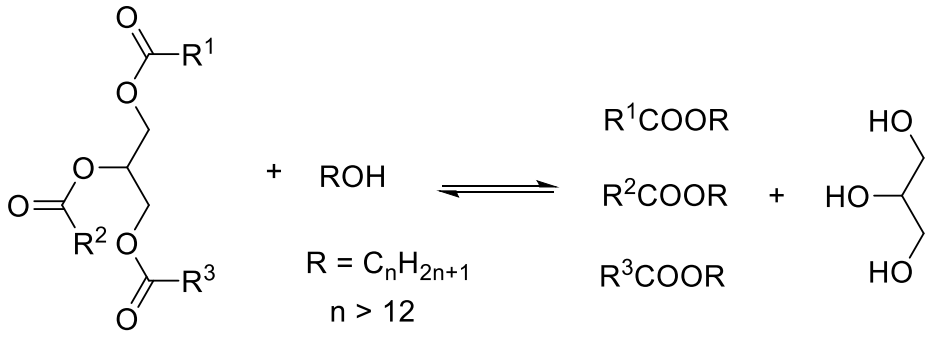
Biyoyağlayıcıların sentezinde potansiyel olarak kullanılabilecek katalizörlerden biri sülfonlanmış aktif karbonlardır. Sülfonlanmış aktif karbonlar, yüzeylerinde sülfonik asit grupları ($–SO_3H$) içeren malzemelerdir. Sülfonik asit grupları asit katalizörü olarak işlev görür ve biyoyağlayıcıların sentezinde önemli reaksiyonları katalize edebilirler. Sülfonlanmış aktif karbonlar, yüzeylerindeki sülfonik asit grupları sayesinde asit katalizörü olarak görev yaparlar. Bu özellikleri, esterifikasyon, transesterifikasyon ve

diğer organik sentez reaksiyonları için uygundur. Biyoyağlayıcı sentezinde en yaygın kullanım alanı, yağ asitlerinin alkollerle esterleşme reaksiyonlarıdır. Sülfonlanmış aktif karbonlar, bu reaksiyonları hızlandırabilir ve ester verimliliğini artırabilir. Sülfonlanmış aktif karbonlar, reaksiyonların verimliliğini yükseltir ve istenilen ürünlerin daha yüksek kalitede elde edilmesini sağlar. Aktif karbon malzemeleri genellikle yeniden kullanılabilir özelliktedir. Sülfonlanmış aktif karbonlar da bu özelliği taşıyabilir, bu da maliyet etkinliği açısından önemli bir avantaj sağlar. Biyoyağlayıcı sentezi için sülfonlanmış aktif karbonların kullanımı, yeşil kimya prensipleriyle uyumludur ve çevresel etkileri minimize etme potansiyeline sahiptir. Uygulama yapmadan önce sülfonlanmış aktif karbonun değerlendirilmesi gerekmektedir (Ferreira vd., 2020).



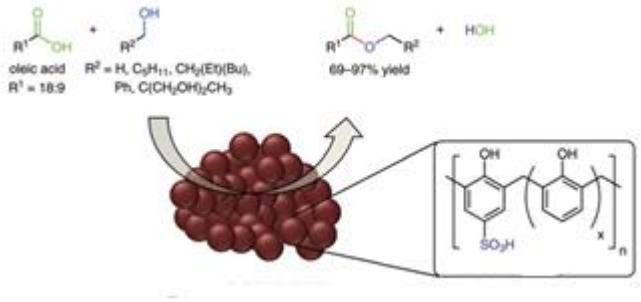
Şekil 2.11 Adipik asit esterlerinin paladyum katalizli doğrudan sentezi (Ferreira vd., 2020)

Adipik asit esterinin paladyum katalizörü kullanılarak sentezi, sentezlerin katalizör ile gerçekleştirilmesi ile ilgilidir. Adipik asit, doğal olarak bulunan bir dikarboksilik asittir. Öncelikle adipik asidin alkol ile esterleşmesi gerçekleştirilir. Bu reaksiyon genellikle bir asit veya baz katalizörü altında gerçekleştirilir. Paladyum katalizli reaksiyonlarda genellikle paladyum tuzları kullanılır. Paladyum katalizli gerçekleşen reaksiyonda, adipik asit ve alkol reaksiyona sokulur. Paladyum katalizörü, adipik asidin karboksilik asit grubu ile alkolün hidroksil grubu arasında bir ester bağı oluşturulmasını sağlar. Oluşan adipik asit esterleri, karışımdan ayrılmalıdır. Paladyum kullanılan sentez reaksiyonları, hızlı bir şekilde gerçekleşmedir (Ferreira vd., 2020).



Şekil 2.12 Balmumu esteri vermek üzere bir trigliseritin transesterifikasyonu (Yang vd., 2019)

Balmumu esterlerinin kaynağı olan bitkisel yağlar, özellikle biyoyakıt üretiminde önemli bir rol oynar. Bu reaksiyon öncesinde yağların ekstraksiyonu ve sonrasında da transesterifikasyon aşamaları ile gerçekleşmektedir. Bitkisel yağlar, genellikle soğuk pres veya sıcak sıkma gibi fiziksel yöntemlerle çıkarılır. Bu yöntemlerde, bitkisel materyalin mekanik işlemiyle yağlar çıkarılır. Bazı durumlarda, çözücüler kullanılarak bitkisel yağlar çıkartılabilmektedir. Bu yöntem, bazı yağları daha verimli bir şekilde çıkartmaya yarar, ancak kalan çözücüler risk yaratmaktadır. Transesterifikasyon, bitkisel yağların metil veya etil esterlerine dönüştürülmesi işlemidir. Bu işlem genellikle alkol ile asit veya baz kullanılarak yapılmaktadır. Bitkisel yağların balmumu esterleri olarak kullanımı, biyoyakıt endüstrisinde yenilenebilir enerji kaynaklarının teşvik edilmesine ve karbon ayak izinin azaltılmasına katkıda bulunur (Yang vd., 2019).



Şekil 2.13 Su kullanılmadan polimerik asit katalizörü ile oleik asitten esterlerin üretimi (Yang vd., 2019)

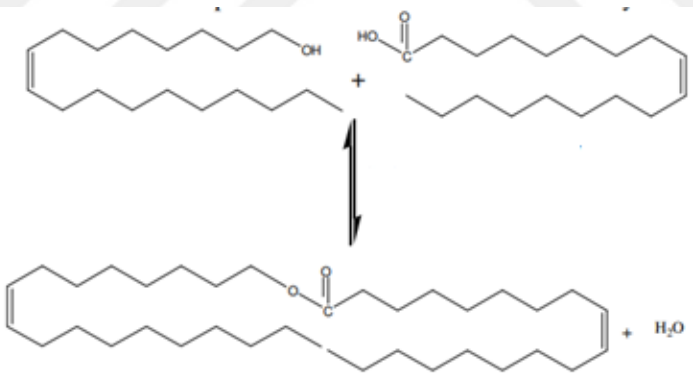
Gözenekli polimerik asitler, oleik asit gibi yağ asitlerinin esterifikasyonunda kullanılmaktadır. Sülfonat veya asidik yapıda olacak şekilde belirtilmektedirler. Oleik asit biyoyakıt, gıda, kozmetik gibi gruplarda kullanılmaktadır. Polimerik asitler oleik asidin ester ve transester işlemlerinde kullanılmaktadır. Asidik özellikleri ile reaksiyonları hızlandırırlar. Oleik asidin esterifikasyonu alkol ile reaksiyona girmesiyle oluşmaktadır. Transesterifikasyon ise oleik asidin başka bir yağ veya trigliserit ile reaksiyona girmesiyle oluşmaktadır. Reaksiyon için sıcaklık ve basıncın belirlenerek reaksiyonun bu şartlar altında gerçekleşmesi gerekmektedir. Polimerik asit reaksiyonun hızlandırılması için kullanılabilmektedir. Gözenekli polimerik asitler, efektiflik artışında etkilidir ve çevreci bir yaklaşım için değerlendirilebilir (Yang vd., 2019).

Organik çözücüde lipaz ile kolesterol esterinin sentezi ve geri kazanılan enzimin tekrarlı kullanım imkanı konusunda çalışmalar yapılmıştır. Çeşitli substratların enzimler ile esterifikasyonu ve transesterifikasyonu için birçok yöntem kullanılmaktadır. Genellikle enzimlerin bu sentezlerde çözülmesi için su kullanılmaktadır bunun nedeni suyun enzimleri aktif olarak bekletmesidir. Subsratın suda çözünür olması durumunda ise organik bir çözücü kullanılır ancak bu çözücünün enzimin performansını etkilememesine dikkat edilmelidir. Bu konuda genellikle enzim üzerine kimyasal işlem veya hareketsizleştirme uygulanmaktadır. Kolesterol esteri sentezinde kullanılan lipazın stabil olması önem arz eder. Lipazların organik çözücülerle çözünen türleri tercih edilmektedir. Kolesterol ve bir alkol çözücüde lipaz katalizörlüğünde esterleştirilir. Bu reaksiyon genellikle belirli bir sıcaklık ve pH aralığında gerçekleştirilir ve optimum aktivite sağlamaktadır. Esterifikasyon reaksiyonu sonucunda oluşan kolesterol esteri ve organik çözücü, genellikle ayrı birer faz halinde bulunurlar bu nedenle ayırma gerçekleştirilmektedir. Lipazın organik çözücüden geri kazanımı ve yeniden kullanımı sürecin ekonomik ve çevresel sürdürülebilirliği için önemlidir. Bu adım, genellikle enzimin stabilitesini koruyacak şekilde tasarlanmalıdır. Lipazın organik çözücüden geri kazanılması ve yeniden kullanımı, uygun yöntemlerle yapılmalıdır. Bunlar arasında organik çözücüyü buharlaştırma, membran teknolojileri veya adsorpsiyon gibi yöntemler bulunabilir. Enzimin tekrar kullanımı, üretim maliyetlerini düşürür ve süreç verimliliğini artırır (Tenemura & Suzuki, 2013).

Jatropha yağı biyodizel üretiminde kullanılan malzemedir ve içerdiği yüksek serbest yağ asit (SYA) seviyeleri, direkt olarak yapılacak olan transesterifikasyon için uygun değildir. Bu nedenle, serbest bulunan yağ asitlerinin değiştirilmesi gerekmektedir. Jatropha yağı içindeki serbest yağ asitlerinin esterifikasyonu için alkol ve türevleri kullanılır. Bu alkol, serbest yağ asitlerinin estarifikasyonunu gerçekleştirerek daha düşük miktarda serbest yağ asidi içeren bir ortam elde edilmesini sağlamaktadır. Katalitik olmayan esterifikasyonda genellikle asit katalizörler kullanılmaz. Bunun yerine, yüksek sıcaklık ve belirli reaksiyon koşulları kullanılarak esterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirilir. Yağ içindeki serbest yağ asitlerinin alkol ile reaksiyonu, reaksiyonun gerçekleşmesi için belirli bir süre boyunca devam eder. Bu süreçte, serbest yağ asitlerinin alkol ile reaksiyona girmesiyle esterler oluşur. Reaksiyon tamamlandığında esterler ve alkolün birbirlerinden ayrılması gerekmektedir. Elde edilen esterler biyodizel üretiminde kullanılmaktadır. Katalitik olmayan esterifikasyon yöntemi, katalitik esterifikasyon yöntemlerine göre daha basit bir süreçtir ancak genellikle daha yüksek sıcaklık ve daha uzun reaksiyon süreleri gerektirebilir. Bu yöntem, bu nedenle daha verimsiz olabilmektedir (Ziegler & Berger, 1979).

Biyodizel üretiminin öne çıkan kaynaklarından biri olarak yüksek düzeyde serbest yağ asitleri içeren atık kızartma yağları sentezi, atık kızartma yağlarının çevresel sürdürülebilirliği açısından değerlendirilmektedir. Atık kızartma yağları yüksek düzeyde serbest yağ asitleri (SFA) içermektedir. Yüksek SFA içeriği, geleneksel alkali katalizli transesterifikasyon işlemi sırasında sabunlaşmaya neden olabilir. Bu nedenle, biyodizel üretiminde atık yağların kullanılması süreci karmaşık bir yapıdadır. Serbest yağ asitleri (SFA) esterifikasyon reaksiyonu ile metil esterlere dönüştürülür. Sülfürik asit gibi güçlü asitler katalizör olarak kullanılır. Oluşan kimyasal reaksiyon SFA + metanol ile metil ester ve su elde edilmesi ile tamamlanır. Esterifikasyon ile SFA miktarı düşürüldükten sonra, kalan trigliseritler metil esterlere dönüştürülür. Bu aşamada, sodyum hidroksit veya potasyum hidroksit gibi katalizörler kullanılır. Bu reaksiyon atık yağların dönüşümü ve kirliliğin azaltılması için kullanışlıdır. Ancak reaksiyon karmaşık bir yapıda olduğundan dolayı verimliliğe dikkat edilmelidir (Ziegler & Berger, 1979).

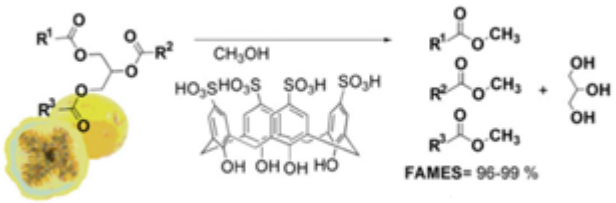
Palm yağı fraksiyonlarının alkolizi ile mum esterleri sentezi kozmetik, ilaç ve endüstriyel sektörlerde kullanılan değerli ürünlerin kazanılmasını sağlamaktadır. Bu işlem, palm yağındaki trigliseritlerin uzun zincirli yağ alkolleri ile reaksiyona sokulmasıyla gerçekleşir ve sonuç olarak mum esterleri oluşur. Palm yağı, farklı trigliserit kompozisyonlarına sahip olan palm olein ve palm stearin gibi fraksiyonlara ayrılabilir. Uzun zincirli yağ alkolleri, mum esterlerinin sentezinde kullanılır. Palm yağı, fraksiyonlama işlemi ile palm olein ve palm stearin gibi bileşenlerine ayrılır ve bunlarla birlikte cetil alkol, stearil alkol gibi uzun zincirli yağ alkolleri kullanılır. Sonrasında yağ asitlerinin trigliseritlerden alkol esterlerine dönüştürülmesi için alkoliz reaksiyonu gerçekleştirilir. Bu işlem genellikle bir katalizör eşliğinde gerçekleştirilir. alkoliz reaksiyonunu hızlandırmak için asit veya baz katalizörler kullanılır. Reaktantların homojen bir karışım elde etmek için sürekli karıştırılması gerekmektedir. Reaksiyon sonrasında oluşan gliserol ve mum esterleri faz ayrımı ile ayrılır. Mum esterlerinin saflaştırılması, vakum destilasyonu veya yıkama gibi yöntemlerle gerçekleştirilir. Yan ürün olarak oluşan gliserol saflaştırılarak çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılabilir (Saroja & Kaimal, 1986).



Şekil 2.14 Homojen Katalizör ile Oleik asit sentezi (Wang vd., 2016)

Oleik asit temelli balmumu esterlerinin üretimi, özellikle asidik homojen katalizörlerin kullanımıyla verimli bir şekilde gerçekleştirilebilir. Bu yöntem, oleik asidin uzun zincirli yağ alkolleri ile esterleştirilmesiyle balmumu esterlerinin elde edilmesini sağlamaktadır. Oleik asit, zeytinyağı ve diğer bitkisel yağlarda bol miktarda bulunan bir yağ asididir. Yağ alkolleri olarak cetil alkol (1-heksadekanol) veya stearil alkol (1-oktadekanol) gibi uzun zincirli yağ alkolleri kullanılır. Sülfürik asit gibi güçlü asidik homojen katalizörler

kullanılır. Oleik asit saflaştırılır ve reaksiyon için uygun hale getirilir. Aynı zamanda cetil alkol veya stearil alkol gibi yağ alkolleri saflaştırılır ve kullanıma hazır hale getirilir. Yağ asitlerinin yağ alkolleri ile reaksiyona girmesi ile balmumu gibi esterler ve su oluşmaktadır. Bu reaksiyona esterifikasyon denilmektedir. Reaktantların homojen bir karışım elde etmek için sürekli karıştırılması sağlanır. Reaksiyon süresi genellikle birkaç saat ile sınırlıdır ve optimum verim için izlenir. Reaksiyon sonucunda oluşan su, ayrılması gereken bir yan üründür. Su, azeotropik destilasyon veya vakum altında buharlaştırma yoluyla uzaklaştırılabilir. Oleik asit gibi yenilenebilir biyolojik kaynakların kullanımı, fosil yakıt bağımlılığını azaltır. Yan ürünlerin geri kazanımı ve kullanımı, atık miktarını azaltır (Catabay vd., 1997).



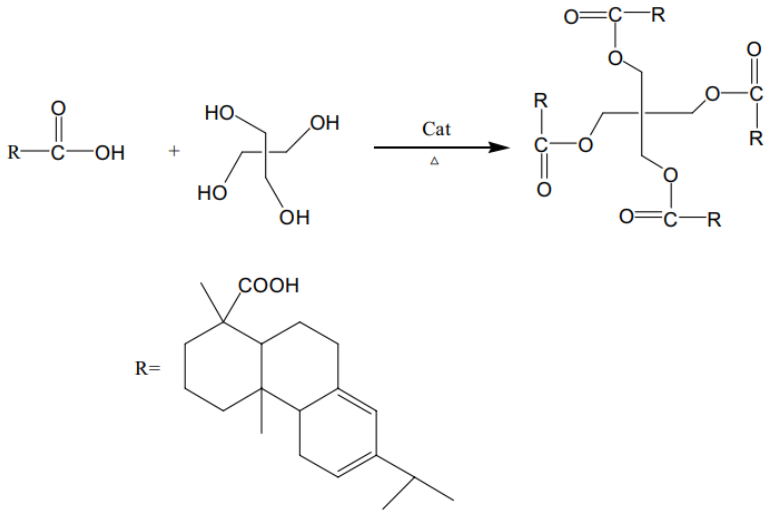
Şekil 2.15 Passiflora tohum yağı transesterifikasyon reaksiyonu (Almeida vd., 2015)

Passiflora tohum yağının transesterifikasyon reaksiyonu ile biyodizel üretimi, çevre dostu ve sürdürülebilir bir yakıt elde etmenin yenilikçi bir yoludur. Bu süreçte organokatalizör olarak p-sülfonik asit kaliks[n]arenlerin kullanılması, katalizör verimliliğini ve seçiciliğini arttırmaktadır. Passiflora tohum yağı, passiflora bitkisinin tohumlarından elde edilmektedir. Transesterifikasyon reaksiyonu için metanol kullanılmaktadır. p-sülfonik asit kaliks[n]arenler, organokatalizör olarak kullanılır. Bu bileşikler, kaliks[n]arenlerin sülfatlama yoluyla üretilmiş olan alt çeşitleridir ve güçlü asidik özellikler sergilemektedirler. Tohum yağı ekstraksiyon işlemi ile elde edilir ve saflaştırılır. Katalizörün saf ve aktif bir durumda olması gerekmektedir. Transesterifikasyon, yağ asitlerinin trigliserit yapısından alkol esterlerine dönüşümünü sağlayan bir kimyasal reaksiyondur. Bu reaksiyon, organokatalizör yardımıyla gerçekleştirilir. Kimyasal reaksiyonda p-sülfonik asit kaliks[n]arenler düşük konsantrasyonlarda bile yüksek etkinlik göstermektedirler. Reaksiyon süresi genellikle 2-4 saat arasında sürer. Reaksiyon sonrasında oluşan gliserol ve biyodizel fazları ayrılır. Passiflora tohum yağı gibi yenilenebilir biyolojik kaynakların kullanımı, fosil yakıt bağımlılığını azaltır. p-Sülfonik

asit kaliks[n]arenler, düşük toksisite ve çevre dostu özelliklere sahiptir (Almeida vd., 2015).

Candida rugosa lipazı tarafından katalize edilen balmumu esterlerinin yüksek verimli sentezi biyodizel üretimi, gıda ve ilaç sektörleri için kullanılmaktadır. Candida rugosa lipazı, balmumu esterlerinin biyokatalitik sentezinde etkili bir enzimdir. Balmumu esterlerinin sentezi Candida rugosa lipazi kullanılarak yüksek verimle gerçekleştirilebilir. Oleik asit gibi yağ asitleri kullanılır. Yağ alkolleri olarak cetil alkol gibi uzun zincirli yağ alkolleri kullanılmaktadır. Yağ asitleri ve yağ alkolleri saflaştırılır ve reaksiyon için uygun hale getirilir. Candida rugosa lipazının aktivitesi kontrol edilir ve reaksiyon için gerekli miktarda enzim hazırlanır. Kimyasal reaksiyon sonucunda balmumu esterleri ve su açığa çıkmaktadır. Reaksiyon verimliliğini optimize etmek için uygun miktarda Candida rugosa lipazı kullanılır. Reaksiyon ortamının pH'ı, enzim aktivitesi için optimal aralıkta (genellikle pH 6-8) tutulur. Reaktantların homojen bir karışım elde etmek için sürekli karıştırılması sağlanır. Reaksiyon süresi genelde 24-48 saat arasında sürmektedir. Reaksiyon sonucunda oluşan su, azeotropik distilasyon veya vakum altında buharlaştırma yoluyla uzaklaştırılır. Enzimler, kimyasal katalizörlere göre daha çevre dostudur ve daha düşük toksisiteye sahiptir. Yağ asitleri ve yağ alkolleri gibi biyolojik kaynakların kullanımı, fosil yakıt bağımlılığını azaltır. an ürünlerin (su gibi) geri kazanımı ve kullanımı, atık miktarını azaltır (Ghunceva & Zhiryakova, 2007).

1-Heksadekanolün (cetil alkol) yüksek zincirli yağ asidi esterleri sentezi, yağ asitlerinin cetil alkol ile esterleşmesiyle gerçekleştirilir. Bu süreç, biyodizel üretimi, gıda ve ilaç sektörleri için kullanılmaktadır. Yüksek zincirli yağ asitleri olarak stearik asit veya oleik asit kullanılmaktadır. Katalizör olarak asit veya baz katalizörler kullanılmaktadır. Cetil alkol saflaştırılır ve reaksiyon için uygun hale getirilir. Stearik asit veya oleik asit gibi yağ asitleri saflaştırılır ve kullanıma hazır hale getirilir. Cetil alkol ile örnek reaksiyon olarak $C_{17}H_{35}COOH+C_{16}H_{34}OH = C_{17}H_{35}COO-C_{16}H_{33}+H_2O$ verilebilir. Reaksiyon genel olarak 2-4 saat aralığında sürmektedir. Reaksiyon sonucunda oluşan su, ayrılması gereken bir yan üründür. Su, azeotropik distilasyon veya vakum altında buharlaştırma yoluyla uzaklaştırılabilir. Cetil alkol ve yağ asitleri gibi biyolojik kaynakların kullanımı, fosil yakıt bağımlılığını azaltır (Aydın & Aydın, 2012).



Şekil 2.16 Rosin ester sentez yöntemi (Yu & Zhang, 2020)

Fe_3O_4 destekli ZnO katalizörü üzerinde rosin pentaeritritol esterinin sentezi, yeşil ve etkili bir yöntem olarak dikkat çeker. Rosin, ağaç reçinesinden elde edilen ve genellikle asitliği yüksek olan bir karışımdır. Pentaeritritol ise, poliollerden biridir ve çoklu hidroksil gruplarına sahiptir, bu da esterifikasyon reaksiyonlarında çoklu esterlerin oluşmasına izin verir. Katalizör öncelikle hazırlanır ve aktif hale getirilir. ZnO'in Fe_3O_4 destek üzerine yüklenmesi genellikle yüksek yüzey alanı ve katalitik aktivite sağlar. Esterifikasyon, rosinin pentaeritritol ile reaksiyona girerek esterler ve su oluşturduğu bir kimyasal reaksiyondur. Fe_3O_4 destekli ZnO katalizörü, katalitik etkinlik sağlar ve reaksiyonun hızını artırır. Reaksiyon 4-8 arasında sürmektedir. Reaksiyon sonucunda oluşan su, azeotropik distilasyon veya vakum altında buharlaştırma yoluyla uzaklaştırılabilir. Rosin pentaeritritol esteri, vakum destilasyonu veya yıkama gibi yöntemlerle saflaştırılabilir. Fe_3O_4 destekli ZnO katalizörü, çevre dostu ve geri dönüşümlü bir malzemedir. Reaksiyon yan ürünlerin geri kazanımı ve kullanımı, atık miktarını azaltır (Yu & Zhang, 2020).

Organokatalitik yöntemler, biyolojik sistemlerde bulunan doğal bileşiklerin sentezinde çevre dostu ve etkili bir alternatif sunar. Kolesterol esterleri sentezi için organokatalitik yaklaşımlar, genellikle lipazlar gibi enzimlere veya organik moleküllere dayalıdır. Organik moleküller genellikle organokatalizör olarak kullanılır. Bu katalizörler, esterleşme reaksiyonları gibi kimyasal dönüşümleri kolaylaştırabilir. Daha az zehirli ve çevre dostu reaksiyon koşulları sağlar. Çevre dostu olup, çözücü kullanımını ve buna

bağlı atıkları azaltır. Organokatalitik yöntemlerle kolesterol esterleri sentezi, modern organik kimya ve yeşil kimya prensipleriyle uyumlu olarak, etkili ve çevre dostu bir şekilde gerçekleştirilebilir.

2.5. Yeşil Kimya

Kimya çalışmalarının başlangıcı antik çağlara kadar dayanmaktadır. Yeşil kimya kavramı ise sürdürülebilirlik ve çevre duyarlılığı alanında yaşanan gelişmeler sonrasında 1900'ler sonrasında ortaya çıkmıştır. Özellikle 1970 yılı ve sonrasında çevre kirliliği ve sağlık üzerine kimya çalışmalarının ve kimyasalların etkileri konusunda endişe ve tehlike işaretleri artmaya başlamıştır. Yeşil kimya terimi ise 1990'lar döneminde tanımlanmıştır. Paul Anastas ve John Warner öncülüğünde belirli temel ilkeler belirlenerek teşvik edilmiştir. 2000'ler sonrasında yeşil kimya endüstriyel dünyada daha fazla teşvik edilmeye ve benimsenmeye başlamıştır. Kimyasal ürünlerin kullanıldığı sektörlere yeşil kimya altında tanımlanan prensip ve detaylar entegre edilmeye başlanmıştır. Günümüzde yeşil kimya bir felsefe ve uygulama alanı olarak faaliyet göstermektedir. Yeşil kimya prensipleri, kimyasal ürünlerin ve süreçlerin tasarımı, sentezi ve kullanımı sırasında çevresel etkilerin azaltılmasını, enerji ve kaynak kullanımının optimize edilmesini ve insan sağlığına zarar veren kimyasalların kullanımının sınırlandırılmasını amaçlar. Çevresel yasalar doğrultusunda yeşil kimya artık bir şartname haline gelmektedir. Üniversiteler ve araştırma kuruluşları, yeşil kimyanın teorik ve pratik uygulamaları üzerine yoğunlaşmış durumdadır. Yeşil kataliz, atık yönetimi, yenilenebilir kaynak kullanımı gibi konular üzerine pek çok araştırma yapılmaktadır. Yeşil kimya çözümlerini teşvik etmek amacıyla uluslararası ödüller verilmeye başlanmıştır. Bu ödüller, çevreye duyarlı teknolojik çalışmaların yapılmasına katkı sağlamaktadır. Artık ülkeler ve uluslararası organizasyonlar, yeşil kimyanın küresel düzeyde benimsenmesi ve yaygınlaşması için çeşitli adımlar atmaktadır. Bu çabalar, çevre kirliliğinin azaltılması ve sürdürülebilir kalkınmanın teşvik edilmesi hedeflerine yöneliktir. Yeşil kimyanın devamlılığı için belirlenmiş olan on iki ilke ve detayları aşağıda bahsedilmiştir:

1. Atom Ekonomisi: Reaksiyonlarda kullanılan tüm atomların maksimum seviyede ürün tarafına katılması ve minimum atık miktarı.

2. Atık Azaltımı: Yan ürünlerin oluşumunu azaltmak için reaksiyon şartlarının en yüksek verim yakalanacak şekilde oluşturulması.
3. Enerji Verimliliği: Enerji sarfiyatını minimum seviyede tutmak ve yenilenebilir enerji kaynakları kullanımının arttırılması.
4. Güvenlik: İnsan ve çevre sağlığı adına önlemler alınması.
5. Toksikolojik Değerlendirme: Kullanılan yöntem ve kimyasalların insan ve çevre için yarattığı etkilerin ölçme ve değerlendirilmesi.
6. Kendi Kendini İyileştirme: Kullanılan kimyasalların doğada çözünebilir veya geri dönüştürülebilir olması.
7. Çözücü Seçimi: Kullanılan çözücü maddelerin az zehirli ve çözücüsüz olması.
8. Yöntem Entegrasyonu: Kullanılan süreç ve malzemelerin birbirine bütünleşmiş edilmesi ile enerji ve hammadde verimliliğinin arttırılması.
9. Sürdürülebilir Malzeme: Kullanılan hammaddelerin ve kaynaklarının yenilenebilir olması.
10. Moleküler Tasarım: Kimyasal ürünlerin tasarımında çevresel ve enerji etkinliğinin göz önünde bulundurulması.
11. Gerçek Zamanlı Analiz: Kimyasal süreçlerin anlık ve gerçek zamanlı olarak sürekli kontrol edilmesi ve kayıt altına alınması
12. Eğitim ve İnovasyon: Yeşil kimya prensiplerinin tüm yöntemler için benimsenmesi, yeşil kimya için eğitim ve araştırma faaliyetlerinin yapılması ve desteklenmesi.

Bu 12 ilke, yeşil kimyanın temelini oluşturur ve çözümler geliştirilmesine rehberlik eder (Anastas & Zimmerman, 2006).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Reaktifler ve Kimyasallar

3.1.1 Kullanılan Reaktifler

Tüm reaktifler ve çözücüler Merck veya Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO) satın alınmış ve daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır. İnce tabaka kromatografisi silika jel plakaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir (60 F_{254}, Merck, Darmstadt, Almanya). Trifenilfosfin-kükürt trioksit katılma ürünü literatürde verilen orijinal yönteme göre kolayca hazırlanmıştır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Analiz Yöntemleri ve Cihazlar

3.2.1 İnce Tabaka Kromotografisi (TLC)

Çalışmada yapılan sentezlerde reaksiyon takibi TLC plakaları ile yapılmıştır.

3.2.2 Erime Noktası Kayıt Cihazı

Reaksiyonda kullanılan maddelerin erime noktalarının kayıt altına alınması için BÜCHI erime noktası B-540 cihazı (BÜCHI Labortechnik AG, Flawil, İsviçre) kullanılmıştır.

3.2.3 IR Spektrumları Ölçüm Cihazı

IR spektrumları Nicolet FTIR 6700 spektrometre (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, ABD) ile ölçülmüştür.

3.2.4 NMR Spektrumları Ölçüm Cihazı

NMR spektrumları A600a Agilent DD2 600 MHz NMR spektrometresi (Santa Clara, CA, ABD), kloroform-d ($CDCl_3$) kullanılarak iç standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılarak ölçülmüştür. Kimyasal kaymalar (δ) ppm cinsinden ve J değerleri Hertz cinsinden raporlanmıştır.

3.2.5 Elementel Analiz

Elementel analizler bir LECO CHNS-932 elementel analizör (Saint Joseph, MI, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.6 Evaporatör

Reaksiyonda kullanılan çözücülerin reaksiyondan ayrılması için HEIDOLPH Laborota 4000-efficient (Schwabach, Germany) markalı ürün kullanılmıştır.

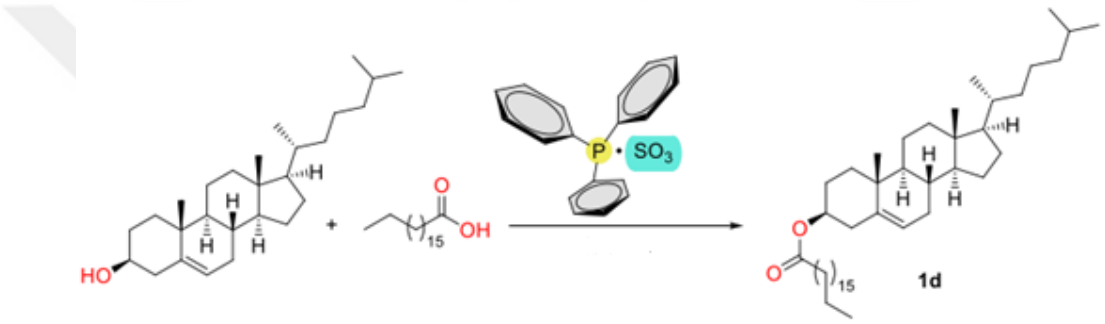
3.2.7 Manyetik Karıştırıcılı Isıtıcı

Reaksiyonda kullanılan ısıtma işlemleri için için HEIDOLPH MR Hei-Standart (Schwabach, Germany) markalı ürün kullanılmıştır.

3.3. Sentez Yöntemi

3.3.1. Monoesterlerin (kolesterol stearat) sentezi için prosedür

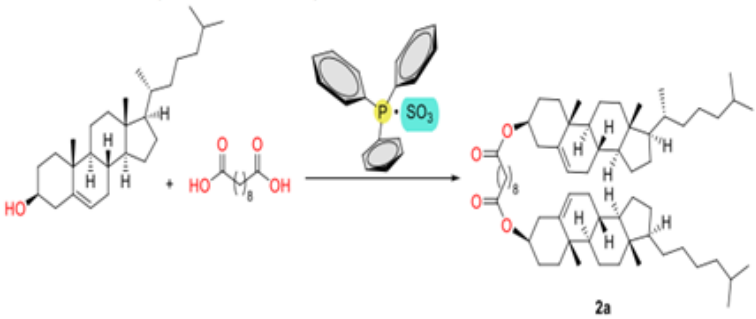
Kolesterol stearat esteri sentezlemek için 50 mL'lik tek boyunlu bir reaksiyon balonuna 0,20 g (0,52 mmol) kolesterol, 0,15 g (0,52 mmol) stearik asit ve 2 mL toluen ilave edildi. Katalizör (5 mmol) ilavesinden sonra karışım yağ banyosunda karıştırılarak 110 ˚C'de 4 saat ısıtılmıştır. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra çözücü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmış ve ardından elde edilen katı kalıntı THF/MeOH'den kristallendirilerek saf beyaz kristal ürün elde edilmiştir.



Şekil 3.1 Kolesterol stearat sentezi (Yıldırım & Avcı, 2022)

3.3.2. Diesterlerin (dikolesterol sebasat) sentezi için prosedür

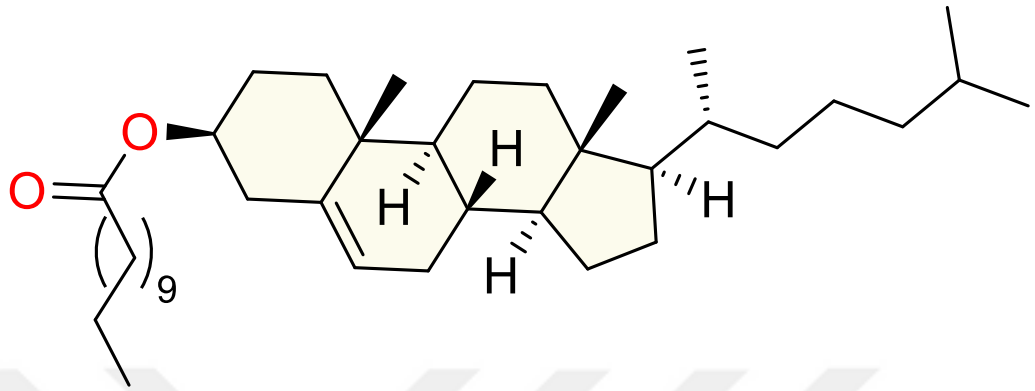
Dikolesterol sebasat diesterini sentezlemek için 50 mL'lik tek boyunlu bir reaksiyon balonuna 0,10 g (0,49 mmol) stebasik asit, iki kat fazla olacak şekilde 0,38 g (0,99 mmol) kolesterol ve 2 mL toluen ilave edildi. Katalizörün (5 mmol) eklenmesinden sonra karışım 12 saat boyunca 110 ˚C'de yağ banyosunda karıştırılarak ısıtıldı. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra çözücü döner buharlaştırıcıdan uzaklaştırıldı ve ardından elde edilen katı kalıntı THF/asetondan kristallendirilerek saf, beyaz kristal ürün elde edilmiştir.



Şekil 3.2 Dikolesterol sebasat sentezi (Yıldırım & Avcı, 2022)

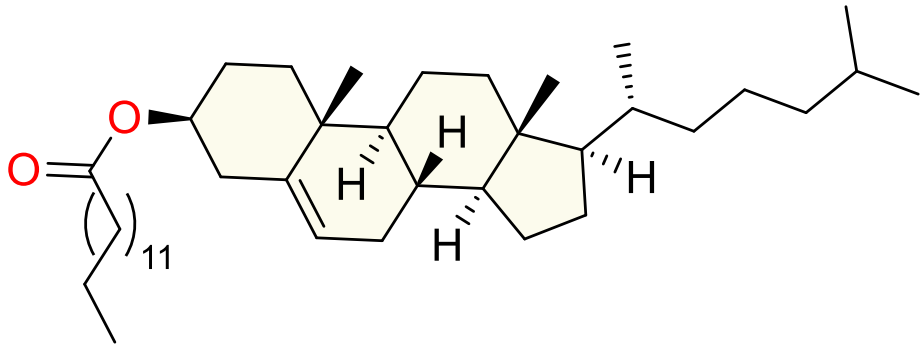
3.3.3. Sentezlenen Kolesterol Esterleri

Kolesterol Laurat



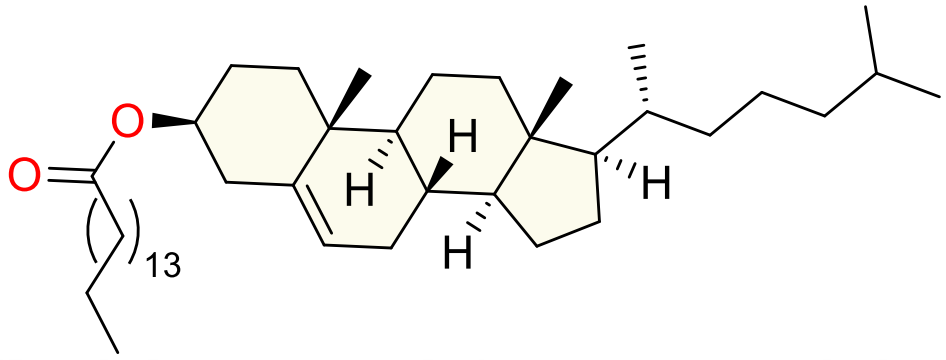
Beyaz kristal katı, erime noktası 88–90 °C (Ref.[1] 90.8–91.5 °C); **^{1}H NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ 5.37 (*br d*, 1H, HC=), 4.64-4.58 (*m*, 1H, kolesterol CHO), 2.31 (*d*, *J* = 7.3 Hz, 2H, kolesterol CH_2), 2.26 (*t*, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH_2CH_2COO), 2.01-1.98 (*m*, 2H, kolesterol -H), 1.86-1.81 (*m*, 3H, kolesterol -H), 1.60-1.44 (*m*, 10H, $CH_2CH_2CH_2COO$, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.39-1.32 (*m*, 5H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.28-1.25 (*m*, 14H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), (1.15-1.08 (*m*, 6H, kolesterol -H), 1.04 (*s*, 3H, CH_3-19), 1.01-0.99 (*m*, 4H, kolesterol -H), 0.91 (*d*, *J* = 6.6 Hz, 3H, $CHCH_3$-21), 0.87-0.85 (*m*, 9H, $CH(CH_3)_2$-26 ve 27, laurik asit-CH_3), 0.67 (*s*, 3H, CH_3-18) ; **^{13}C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ 173.35, 139.70, 122.58, 73.66, 56.67, 56.10, 49.99, 42.29, 39.71, 39.51, 38.14, 36.98, 36.58, 36.17, 35.79, 34.72, 31.92, 31.89, 31.84, 29.61, 29.47, 29.35, 29.27, 29.12, 28.24, 28.02, 27.80, 25.07, 24.28, 23.82, 22.83, 22.70, 22.57, 21.01, 19.32, 18.71, 14.14, 11.85; $C_{39}H_{68}O_2$ için hesaplanan (568.97): C 82.33, H 12.05. Bulunan: C 82.29, H 12.09.

Kolesterol Miristat



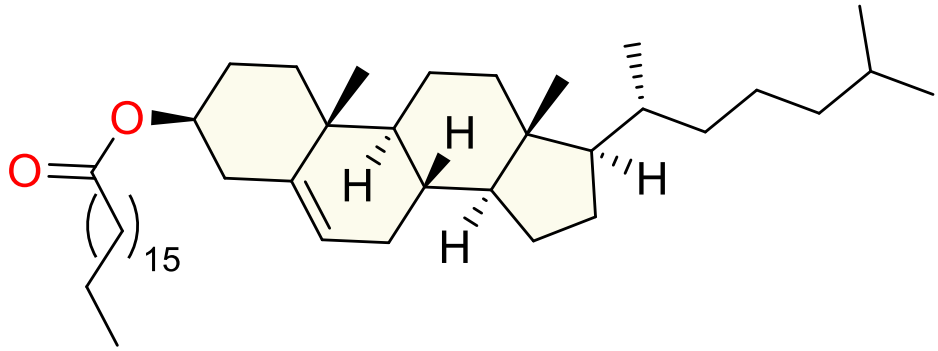
Beyaz kristal katı, erime noktası 69–70 °C (Ref.[1] 70–70.5 °C); **^{1}H NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ 5.37 (*br d*, 1H, HC=), 4.64-4.58 (*m*, 1H, kolesterol CHO), 2.31 (*d*, *J* = 7.4 Hz, 2H, kolesterol CH_2), 2.26 (*t*, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH_2CH_2COO), 2.01-1.98 (*m*, 2H, kolesterol -H), 1.86-1.81 (*m*, 3H, kolesterol -H), 1.61-1.44 (*m*, 12H, $CH_2CH_2CH_2COO$, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.39-1.32 (*m*, 5H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.28-1.25 (*m*, 16H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), (1.15-1.08 (*m*, 6H, kolesterol -H), 1.01 (*s*, 3H, CH_3-19), 0.99-0.96 (*m*, 4H, kolesterol -H), 0.91 (*d*, *J* = 6.6 Hz, 3H, $CHCH_3$-21), 0.88-0.85 (*m*, 9H, $CH(CH_3)_2$-26 ve 27, miristat asit-CH_3), 0.67 (*s*, 3H, CH_3-18) ; **^{13}C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ 173.36, 139.70, 122.58, 73.66, 56.67, 56.10, 49.99, 42.29, 39.71, 39.51, 38.14, 36.99, 36.58, 36.17, 35.79, 34.72, 31.93, 31.89, 31.84, 29.70, 29.66, 29.60, 29.47, 29.38, 29.27, 29.11, 28.24, 28.02, 27.80, 25.07, 24.28, 23.82, 22.83, 22.71, 22.57, 21.02, 19.32, 18.71, 14.14, 11.85; $C_{41}H_{72}O_2$ için hesaplanan (597.03): C 82.48, H 12.16. Bulunan: C 82.53, H 12.11.

Kolesterol Palmitat



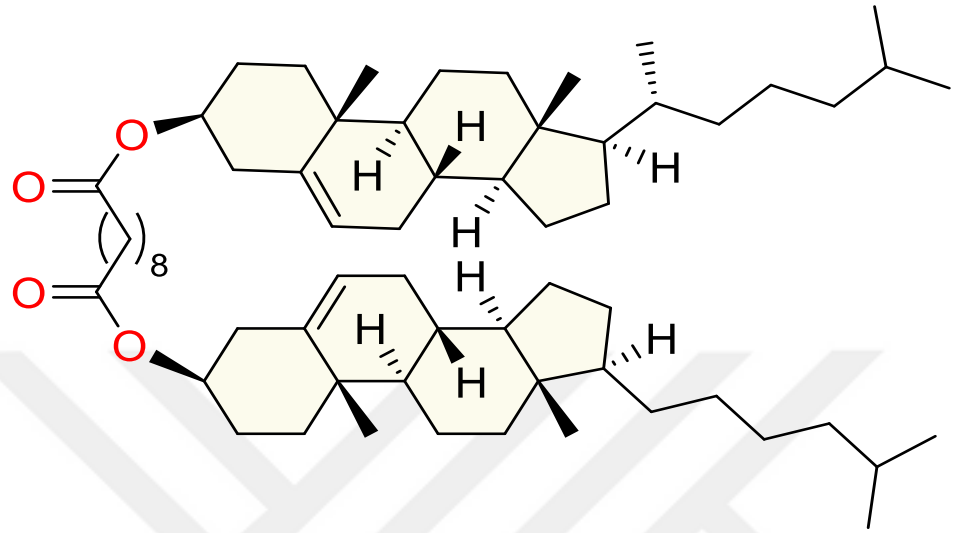
Beyaz kristal katı, erime noktası 75–76 °C (Ref.[1] 75–75.5 °C); **^{1}H NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ 5.37 (*br d*, 1H, HC=), 4.64-4.59 (*m*, 1H, kolesterol CHO), 2.31 (*d*, *J* = 7.4 Hz, 2H, kolesterol CH_2), 2.26 (*t*, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_2CH_2COO), 2.01-1.98 (*m*, 2H, kolesterol -H), 1.86-1.81 (*m*, 3H, kolesterol -H), 1.61-1.43 (*m*, 14H, $CH_2CH_2CH_2COO$, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.38-1.32 (*m*, 5H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.28-1.25 (*m*, 18H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), (1.15-1.08 (*m*, 6H, kolesterol -H), 1.01 (*s*, 3H, CH_3-19), 0.99-0.96 (*m*, 4H, kolesterol -H), 0.91 (*d*, *J* = 6.4 Hz, 3H, $CHCH_3$-21), 0.89-0.86 (*m*, 9H, $CH(CH_3)_2$-26 ve 27, palmitik asit-CH_3), 0.67 (*s*, 3H, CH_3-18) ; **^{13}C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ 173.36, 139.70, 122.58, 73.66, 56.67, 56.10, 49.99, 42.29, 39.71, 39.51, 38.14, 36.98, 36.58, 36.17, 35.79, 34.72, 31.94, 31.89, 31.84, 29.72, 29.70, 29.68, 29.66, 29.60, 29.47, 29.38, 29.27, 29.11, 28.24, 28.02, 27.80, 25.07, 24.28, 23.82, 22.83, 22.71, 22.57, 21.02, 19.33, 18.71, 14.14, 11.85; $C_{43}H_{76}O_2$ için hesaplanan (625.08): C 82.63, H 12.26. Bulunan: C 82.59, H 12.31.

Kolesterol Stearat



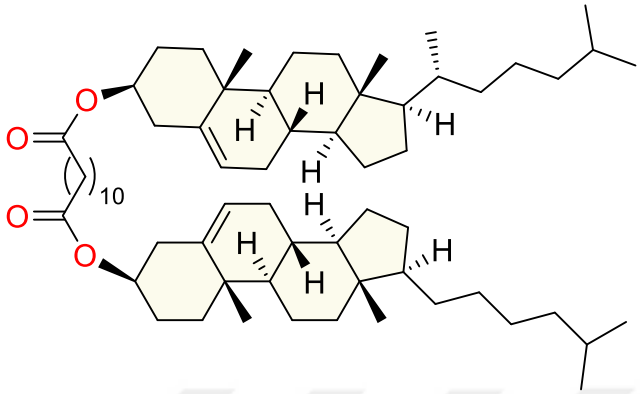
Beyaz kristal katı, erime noktası 78–80 °C (Ref.[1] 80–80.5 °C); **^{1}H NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ 5.37 (*br d*, 1H, H<u>C</u>=), 4.64-4.58 (*m*, 1H, kolesterol C<u>H</u>O), 2.31 (*d*, *J* = 7.4 Hz, 2H, kolesterol C<u>H</u>$_2$), 2.26 (*t*, *J* = 7.4 Hz, 2H, $CH_2C\underline{H}_2COO$), 2.01-1.98 (*m*, 2H, kolesterol -H), 1.86-1.81 (*m*, 3H, kolesterol -H), 1.61-1.43 (*m*, 16H, $CH_2C\underline{H}_2CH_2COO$, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.38-1.32 (*m*, 5H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.28-1.25 (*m*, 20H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), (*m*, 6H, kolesterol -H), 1.01 (*s*, 3H, C<u>H</u>$_3$-19), 0.99-0.96 (*m*, 4H, kolesterol -H), 0.91 (*d*, *J* = 6.6 Hz, 3H, CHC<u>H</u>$_3$-21), 0.89-0.86 (*m*, 9H, $CH(CH_3)_2$-26 ve 27, sterik asit-CH_3), 0.67 (*s*, 3H, CH_3-18) ; **^{13}C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ 173.36, 139.70, 122.58, 73.66, 56.67, 56.10, 49.99, 42.29, 39.71, 39.51, 38.14, 36.98, 36.58, 36.17, 35.79, 34.72, 31.94, 31.89, 31.84, 29.72, 29.70, 29.68, 29.66, 29.60, 29.47, 29.38, 29.27, 29.11, 28.24, 28.02, 27.80, 25.07, 24.28, 23.82, 22.83, 22.71, 22.57, 21.02, 19.33, 18.71, 14.14, 11.85; $C_{45}H_{80}O_2$ (653.13) için hesaplanan: C 82.75, H 12.35. Bulunan: C 82.80, H 12.31.

Dikolesterol Sebasat



Beyaz kristal katı, erime noktası 161–162 °C (Ref.[2] 160–162 °C); **IR (ATR):** ν_{max} 2936, 2903, 2868, 1733, 1466, 1418, 1376, 1366, 1325, 1297, 1256, 1230, 1168, 1135, 1102, 1062, 1030, 1016, 999, 959, 924, 885, 843, 800, 734, 724 cm^{-1}; **^{1}H NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ 5.39 (*t*, *J* = 4.8 Hz, 2H, 2x<u>H</u>C=), 4.66-4.60 (*m*, 2H, 2xkolesterol C<u>H</u>O), 2.33 (*d*, *J* = 7.1 Hz, 4H, kolesterol C<u>H</u>$_2$), 2.28 (*t*, *J* = 7.5 Hz, 4H, 2xCH_2C<u>H</u>$_2$$CH_2$COO), 2.04-1.96 (*m*, 4H, kolesterol -H), 1.89-1.82 (*m*, 6H, CH_2C<u>H</u>$_2CH_2$COO ve kolesterol -H), 1.65-1.43 (*m*, 22H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.41-1.27 (*m*, 18H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.21-1.06 (*m*, 14H, kolesterol -H), 1.04 (*s*, 6H, 2xC<u>H</u>$_3$-19), 1.02-0.96 (*m*, 4H, kolesterol -H), 0.94 (*d*, *J* = 6.5 Hz, 6H, 2xCHC<u>H</u>$_3$-21), 0.89 (*dd*, J_1 = 6.6 Hz ve J_2 = 2.8 Hz, 12H, 2xCH(CH_3)$_2$-26 ve 27), 0.70 (*s*, 6H, 2xCH_3-18) ; **^{13}C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ 173.30, 139.73, 122.61, 73.70, 56.70, 56.14, 50.03, 42.32, 39.74, 39.53, 38.17, 37.01, 36.61, 36.19, 35.81, 34.70, 31.92, 31.87, 29.07, 29.03, 28.25, 28.03, 27.83, 25.02, 24.30, 23.84, 22.84, 22.58, 21.04, 19.35, 18.73, 11.87; $C_{64}H_{106}O_4$ için hesaplanan (939.55): C 81.82, H 11.37. Bulunan: C 81.76, H 11.34.

Dikolesterol Dodekanedioat



Beyaz kristal katı, erime noktası 146–148 °C (Ref.[1] 145–148 °C); **IR** (ATR): νmax 2931, 2902, 2867, 2853, 1733, 1467, 1418, 1375, 1365, 1331, 1255, 1168, 1136, 1085, 1068, 1029, 1008, 959, 922, 883, 841, 800, 771, 735, 723 cm^{-1}; **^{1}H NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ 5.39 (t, J = 4.8 Hz, 2H, 2xHC=), 4.66-4.60 (m, 2H, 2 x kolesterol CHO), 2.33 (d, J = 7.1 Hz, 4H, kolesterol CH_2), 2.28 (t, J = 7.4 Hz, 4H, 2xCH_2CH_2COO), 2.04-1.96 (m, 4H, kolesterol -H), 1.89-1.82 (m, 6H, $CH_2CH_2CH_2COO$ ve kolesterol -H), 1.63-1.43 (m, 20H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.41-1.24 (m, 20H, alkil CH_2 ve kolesterol -H), 1.21-1.06 (m, 14H, kolesterol -H), 1.04 (s, 6H, 2xCH_3-19), 1.02-0.96 (m, 4H, kolesterol -H), 0.94 (d, J = 6.5 Hz, 6H, 2xCHCH_3-21), 0.89 (dd, J1 = 6.6 Hz ve J2 = 2.8 Hz, 12H, 2xCH$(CH_3)_2$-26 ve 27), 0.70 (s, 6H, 2xCH_3-18) ; **^{13}C NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ 173.34, 139.73, 122.60, 73.69, 56.70, 56.14, 50.03, 42.32, 39.74, 39.53, 38.17, 37.01, 36.61, 36.19, 35.81, 34.73, 31.92, 31.87, 29.38, 29.23, 29.11, 28.25, 28.03, 27.83, 25.07, 24.30, 23.84, 22.84, 22.58, 21.04, 19.35, 18.73, 11.87; $C_{66}H_{110}O_4$ için hesaplanan (967.60): C 81.93, H 11.46. Bulunan: C 81.89, H 11.49.

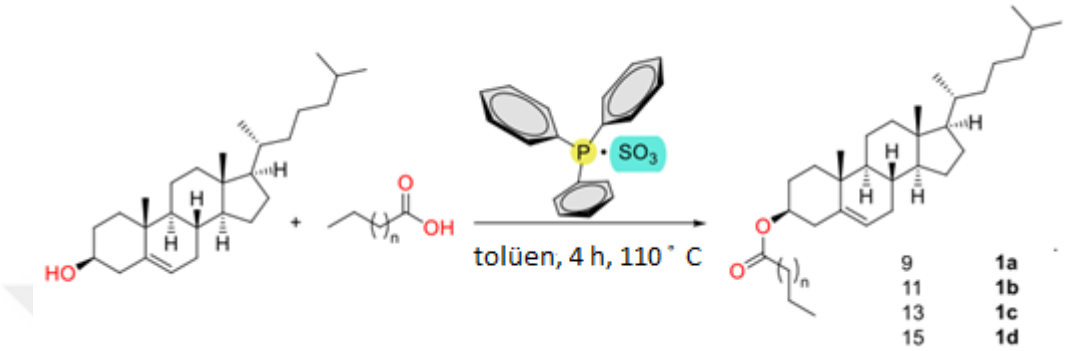
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

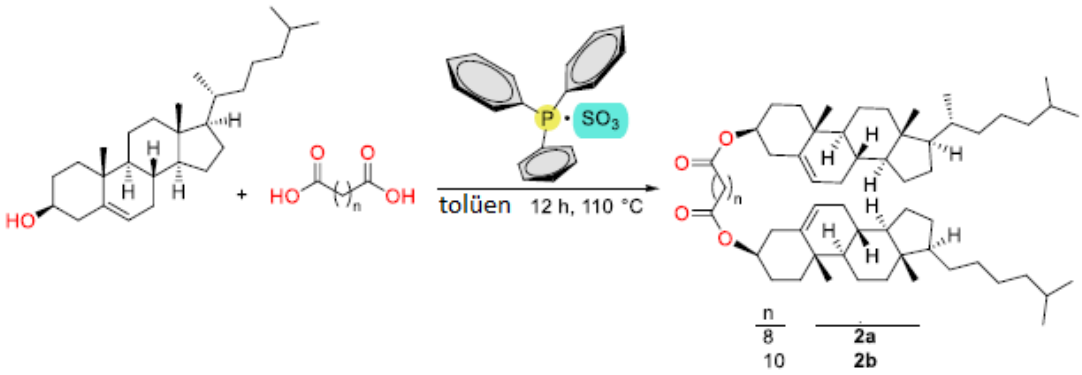
Organokatalitik sentez, çok çeşitli sentez reaksiyonlarında katalitik aktivasyon sağlamak için bazı spesifik organik molekülleri kullanan iyi bilinen bir yöntemdir (Yıldırım vd., 2019). Genel olarak, diğer geleneksel katalizörlerin aksine, organokatalizörler karmaşık bir moleküler yapıya sahip değildir. Bu bileşikler daha çevre dostu özelliklere sahiptir, aşırı susuz reaksiyon koşulları, inert atmosfer gerektirmez ve genellikle yaygın olarak kullanılan diğer geleneksel katalizörler gibi higroskopik değildir. Organik sentezlerde aktivite göstermek için zehirli bir geçiş metali bileşenine ihtiyaç duymamaları ve yüksek verimlilik ve seçicilikleri nedeniyle bu bileşikler, sürdürülebilir kimyanın ihtiyaç duyduğu maddeler arasında her zaman önemli ve en ucuz katalizör adaylarıdır. Ancak bu katalizörlerin önemli bir dezavantajı vardır çünkü enzim temelli katalizörler ve organometalik katalizörlerle kıyaslandığında genellikle daha düşük aktiviteye sahiptirler ve bu da reaksiyon ortamına daha fazla yüklenmelerine neden olur. Bu çalışmada organokatalizör olarak seçilen trifenilfosfin türevi, yeşil kimyacılar tarafından benimsenen gereksinimlerin çoğunu karşılamaktadır. Ayrıca, kolesterol ve doymuş yağ asitleri arasındaki esterleşme reaksiyonlarını çok düşük katalizör yüklemelerinde bile (%5 mmol) çok etkili bir şekilde katalizlemiştir.

Bu çalışmada yer alan ilgili kolesterol esterlerini sentezlemek için kullanılan reaksiyon koşulları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Kolesterol ve doymuş monokarboksilik yağ asitleri arasında gerçekleştirilen trifenilfosfin-kükürt trioksit katalizli esterleşme reaksiyonu için optimum koşullar Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelgede gösterildiği gibi, reaksiyon ortamında katalizör bulunmadığında ester oluşmamaktadır. Ancak, reaksiyon ortamına %2,5 mmol katalizör yüklendiğinde, 2 saatin sonunda, uygun çözücü karışımından kristallendirme sonrasında %32 verimle karşılık gelen ester elde edilmiştir. Bu sonuç aslında trifenilfosfin-kükürt trioksit eklentisinin bu kolesterol esterlerinin hazırlanması için uygun bir katalizör olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu bulgu bizi,

ilgili esterlerin sentez reaksiyonlarında bu eklentinin katalitik aktivitesini araştırmaya teşvik etti. Böylece, farklı koşullar altında gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarından elde edilen sonuçlara göre, en yüksek ester verimi Çizelge 4.1'de belirtilen giriş 5'te verilen reaksiyon koşulları altında elde edilmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1 Monoesterlerin sentezi (Yıldırım & Avcı, 2022)



Şekil 4.2 Diesterlerin sentezi (Yıldırım & Avcı, 2022)

Çizelge 4.1 Monoester sentez reaksiyon koşulları (Yıldırım & Avcı, 2022)

Giriş	Katalizör Yükleme (mmol%)	Süre (h)	Sıcaklık (◦C)	Verim (%)
1	Katalizör olmadan	2	110	Dönüşüm yok
2	2,5	2	110	32
3	5	2	110	82
4	2,5	4	110	88
5	5	4	110	94
6	10	2	110	65
7	10	4	110	79
8	5	5	110	73
9	5	2	110	88

Uçucu zehirli organik çözücülerin sentez reaksiyonlarından uzaklaştırılması sürdürülebilirlik için önemli bir görevdir. Burada esterleşme reaksiyonu da çözücüsüz ortamda gerçekleştirilmiş ve ilgili esterlerin bu daha çevre dostu koşullar altında yüksek verimle elde edilebileceği anlaşılmıştır. Esterleşme reaksiyonunun çözücüsüz ortamda ilerleyişi şu şekilde yorumlanabilir: iki reaksiyona giren madde, kolesterol ve stearik asit, saf halde oldukça farklı erime noktalarına sahiptir (sırasıyla 147-149 ˚C ve 68-70 ˚C) ve reaksiyon ortamında karıştırıldıklarında erime noktaları düşer. Bu nedenle, oluşan kolesterol-yağ asidi katı karışımının erime noktası saf bileşiklerden daha düşük olduğundan, reaksiyon muhtemelen bu mikro erimiş sıvı bölgelerde gerçekleşir. Dahası, kolesterol 110 ˚C reaksiyon sıcaklığında bir katıdır, ancak stearik asit daha düşük erime noktası nedeniyle iki molekülün karşılık gelen kolesterol esteri vermek için birbirleriyle etkileşime girdiği sıvı ara yüzler oluşturabilir (Yıldırım vd. 2020.)

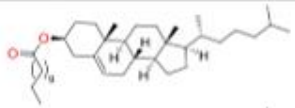
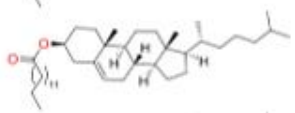
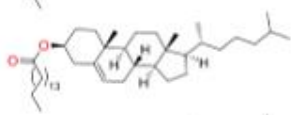
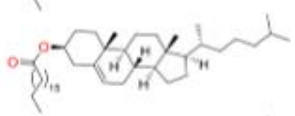
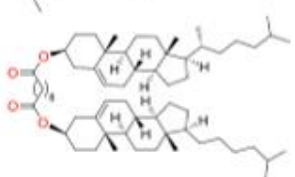
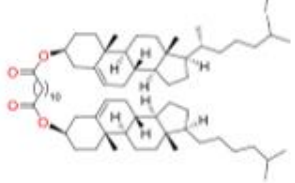
Bununla birlikte, reaksiyon çözücüsüz bir ortamda gerçekleştirildiğinde, renkli yan ürünlerin sayısı artar ve reaksiyon karışımı koyu renkli hale gelir. İlgili sonuçlar Çizelge 4.1'de yer almamaktadır. Dolayısıyla bu çalışma kapsamında esterleşme reaksiyonları çözücü olarak az miktarda toluen içerisinde gerçekleştirilmiştir. Benzer reaksiyon koşulları altında (Çizelge 1, giriş 5), dikarboksilik asitlerin kolesterol esterleri daha düşük verimlerde (%48) elde edilmiş ve karşılık gelen diesterlerin verimlerini artırmak için reaksiyon süresi uzatılmıştır. Katalizör miktarı sabit tutulduğunda ve reaksiyon süresi 12 saate uzatıldığında, dikolesterol sebasat esterinin verimi %72'ye kadar yükselmiştir (Çizelge 2, giriş 5). Bu diesterlerin sentezindeki ılımlı verimin nedeni muhtemelen ikinci kolesterol molekülünün başlangıçta oluşan dikarboksilik asit monokolesterol ester molekülüne bağlanması sırasında oluşan sterik engellemeden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.2 Diester sentez reaksiyon koşulları (Yıldırım & Avcı, 2022)

Giriş	Katalizör Yükleme (mmol%)	Süre (h)	Sıcaklık (˚C)	Verim (%)
1	2,5	4	110	32
2	2,5	8	110	42
3	5	4	110	48
4	5	8	110	66
5	5	12	110	72
6	7	8	110	68

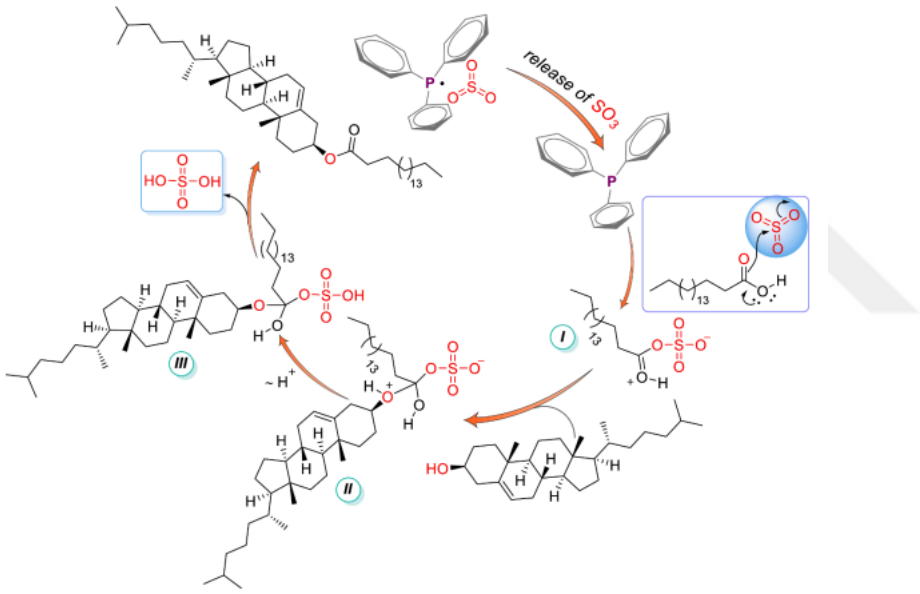
TLC yöntemi, kolesterol ve stearik asit arasındaki esterleşme reaksiyonunun tamamlanması için gereken süreyi tahmin etmek için kullanılmıştır. Başlangıç bileşiklerinin ve kolesterol stearatın lekelerini görselleştirmek için silika jel plaka iyot buharlarına maruz bırakılmıştır. Katalizörün yeniden kullanılabilirlik çalışmaları yapıldı, ancak iki kullanımdan sonra aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı gözlendi. Bu çalışma kapsamında sentezlenen kolesterol esterlerinin yapıları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Kolesterol esteri yapıları (Yıldırım & Avcı, 2022)

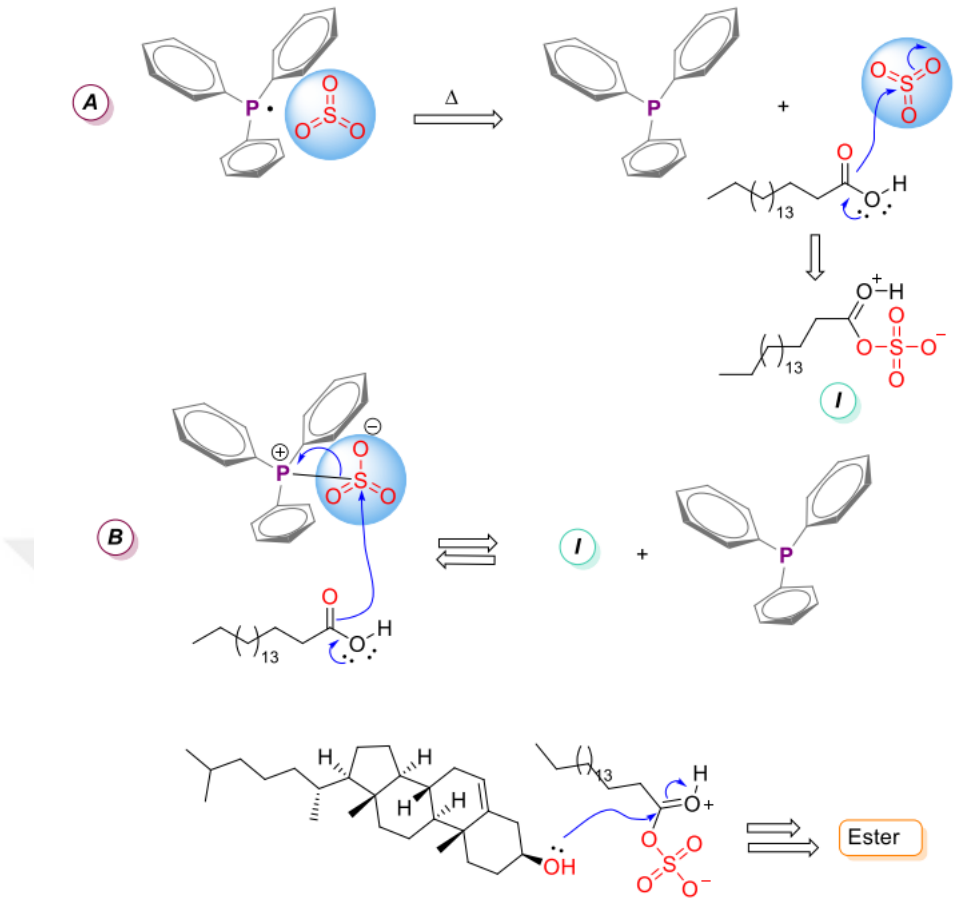
Giriş	Kolesteril Ester	Erime Noktası (°C)	Verim (%)
1		88-90 °C	89
2		69-70 °C	87
3		75-76 °C	84
4		78-80 °C	94
5		161-162 °C	72
6		146-148 °C	76

Önceki gözlemlere (Donaldson vd., 2019) dayanarak, kolesterolün stearik asit ile esterleşme reaksiyonu için makul bir mekanizma Şekil 3'te önerilmiştir. Reaksiyonda, termal koşullara bağlı olarak, organokatalizör esterleşmenin başlamasını büyük olasılıkla Şekil 4'te gösterildiği gibi iki farklı yoldan tetikler (yol A ve yol B). Buna göre, reaksiyon karışımı ısıtıldığında, organokatalizör esterleşme reaksiyonunu başlatmak üzere sülfür trioksit molekülünü serbest bırakmak için termal ayrışmaya uğrar (Şekil 4.4, yol A).

Böylece, serbest kalan kükürt trioksit molekülü bir Levis asidi gibi davranarak ilgili yağ asidi molekülünün karbonil grubunu aktive eder ve büyük olasılıkla ara ürün I'i oluşturur. Ara ürün I, Şekil 4.4 yol B'de gösterildiği gibi kükürt trioksit molekülü serbest kalmadan doğrudan bir denge reaksiyonu yoluyla da oluşturulabilir. Daha önce belirtildiği gibi, bu benzer dengenin konumu büyük ölçüde solda yer alır: ancak kolesterol molekülünün varlığı nedeniyle denge sağa doğru hareket eder (Yıldırım vd., 2019). Bunun nedeni, ortamdaki kolesterol molekülünün bu ara madde I ile reaksiyona girerek ara madde II'yi oluşturmasıdır. Molekül içi bir proton transfer adımından sonra nötr tetrahedral ara ürün III oluşur. Son olarak, bu nötral ara üründen bir sülfürik asit molekülünün uzaklaştırılmasıyla, istenen kolesterol ester oluşur.



Şekil 4.3 Esterleşme reaksiyonun olası mekanizması (Yıldırım & Avcı, 2022)



Şekil 4.4 Esterifikasyonun başlaması için katalitik yollar (Yıldırım & Avcı, 2022)

Yapılan ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR analizleri hedeflenen kolesterol esterlerinin tamamının başarılı ile sentezlendiğini ortaya koymuştur. Örneğin kolesterol lauratın ^{1}H NMR spektrumu, kolesterol halkasındaki ikili bağ ait olan bir protona karşılık gelen 5,35 ppm'de karakteristik geniş bir doublet sinyali göstermiştir. Kolesterolün A halkasındaki oksijen atomuna komşu olan karbondaki bir proton için 4,64-4,58 ppm'de bir multiplet pik gözlenmiştir. Yine A halkasındaki metilen karbonunda (4 no'lu karbon atomu) yer alan iki proton için 2,31 ppm'de bir doublet gözlenmiştir. Ester karbonil grubuna komşu karbon atomunda yer alan iki proton için 2,26 ppm'de bir triplet sinyal gözlenmiştir. Öte yandan bu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde ester grubundaki karakteristik karbonil C atomuna ait olan sinyal 173,35 ppm'de görülmüştür. Olefinik karbon atomlarına ait olan sinyaller ise 139,70 ve 122,58 ppm'de gözlenmiştir.

Yapılan FTIR ve NMR analizleri benzer şekilde dikarboksilik asitlerin esterlerinin de başarılı bir şekilde sentezlendiklerini ortaya koymuştur. Örneğin dikolesterol sebasatın FTIR spektrumu 1733 cm^{-1} ester grubu için karakteristik olan bir bant göstermiştir. Dikolesterol sebasatın ^{1}H NMR spektrumu, kolesterol halkasındaki ikili bağ ait olan bir protona karşılık gelen 5,39 ppm'de karakteristik bir triplet sinyal göstermiştir. Kolesterol laurat esterindekine benzer şekilde, kolesterolün A halkasındaki oksijen atomuna komşu olan karbondaki bir proton için 4,66-4,60 ppm'de bir multiplet pik gözlenmiştir. Yine A halkasındaki metilen karbonunda (4 no'lu karbon atomu) yer alan iki proton için 2,30 ppm'de bir doublet gözlenmiştir. Öte yandan bu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde ester grubundaki karakteristik karbonil C atomuna ait olan sinyal 173,30 ppm'de görülmüştür. İkili bağ karbon atomlarına ait olan sinyaller ise 139,73 ve 122,61 ppm'de gözlenmiştir.

5. SONUÇ

Sonuç olarak, kolesterol esterleri, trifenilfosfin-kükürt trioksit temelli organokatalizör varlığında homolog uzun zincirli doymuş monokarboksilik yağ asitleri ile kolesterolün esterleştirilmesiyle başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Uzun zincirli yağ asitlerinin kolesterol esterlerinin sentezi için mevcut yöntemin kullanışlılığı, sırasıyla 2:1 molar oranında kolesterol ve uzun zincirli doymuş dikarboksilik asitlerden dikolesterol esterlerinin hazırlanmasıyla da gösterilmiştir. Öte yandan, ilgili kolesterol esterlerinin çok saf olması istenmiyorsa, bu katalizör ile çözücüsüz bir ortamda tatmin edici verimle sentezlenebilirler. Bu çalışmada reaksiyon süresi, literatürde daha önce geliştirilen birçok esterifikasyon prosedürüne kıyasla çok kısadır. Kullanılan organokatalizör zehirli bir geçiş metali içermez ve reaksiyon sonunda bozunma ürünü üründen kolayca uzaklaştırılabilir.

Organokatalitik sentez, çevresel ve ekonomik avantajları nedeniyle kimya endüstrisinde giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Organokatalizörlerin geliştirilmesi ve yeni uygulama alanlarının keşfi, yeşil kimya prensiplerine uygun olarak sürdürülebilir kimyasal süreçlerin oluşturulmasına katkı sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

Almeida C., Souza I., Liberto N., Da Silva M., Fernandes S. & Le Hyaric M., (2015). Monatshefte für Chemie, *Chemical Monthly*, 146, 1927-1934. https://doi.org/10.1007/s00706-015-1546-0

Anastas, P. T. & Zimmerman, J. B. (2006). Chapter 2 The twelve principles of green engineering as a foundation for sustainability. *Sustainability Science and Engineering*, 1(C), 11–32. https://doi.org/10.1016/S1871-2711(06)80009-7

Anzenberger C., Li S., Bouzidi L. & Suresh S.N., (2016). Synthesis of waxes from vegetable oil derived self-metathesized aliphatic esters, *Industrial Crops and Products*, 89, 368-375. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.043

Aydın A. & Aydın A., (2012). High-chain fatty acid esters of 1-hexadecanol for low temperature thermal energy storage with phase change materials. *Solar Energy Materials & Solar Cells*, 96, 93-100. https://doi.org/10.1016/j.solmat.2011.09.013

Banday M.R., Farshori N.N., Ahmad A., Khan A.U. & Rauf A., (2010). Synthesis and characterization of novel fatty acid analogs of cholesterol: In vitro antimicrobial activity, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(4), 1459-1464. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.052

Cada L., Tamayo A., Domingo Z., Lug E. & Cruz A., (1997). Liquid-Crystalline Properties of Cholesteryl Esters Derived from Coconut Oil, *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 304, https://doi.org/10.1080/10587259708046988

Catabay A., Okumura C., Jinno, K. Pesek J.J., Williamsen E., Fetzer J.C. & Biggs W.R., (1998). Retention behavior of large polycyclic aromatic hydrocarbons on cholesteryl 10-undecenoate bonded phase in microcolumn liquid chromatography, *Chromatographia*, 47(1-2), 13-20. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0031985638&origin=inward

Catabay A., Saito Y., Okumura C., Jinno K., Pesek J.J. & Williamsen E., (1997). Retention Behavior of Small Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with Cholesteryl 10-Undecenoate Bonded Phase in Microcolumn Liquid Chromatography, *Journal of Microcolumn Separations*, 9(2), 81-85. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0347419664&origin=inward

Catabay A., Taniguchi M., Jinno, K. Pesek J.J., Williamsen E. & Chromatogr J., (1998). Separation of 1,4-Benzodiazepines and Analogues Using Cholesteryl-10-Undecenoate Bonded Phase in Microcolumn Liquid Chromatography, *Journal of Chromatographic Science*, 36(3), 111-118. https://doi.org/10.1093/chromsci/36.3.111

Cataline E.L., Worrell L., Jeffries S.F. & Aronson S.A., (1944). Water-in-oil emulsifying agents. II. Synthesis of some cholesteryl and cetyl esters, *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 33(4), 107-108. https://doi.org/10.1002/jps.3030330402

Cave G.W.V., Raston C.L. & Scotta J.L., (2001). Recent advances in solventless organic reactions: Towards benign synthesis with remarkable versatility, *Chemical Communications*, 21, 2159-2169. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0035823954&origin=inward

Donaldson T., Staesche H., Lu Z.B., Henderson P.A., Achard M.F. & Imrie C.T., (2010). Symmetric and non-symmetric chiral liquid crystal dimers, *Liquid Crystals*, 37(8), 1097-1110. https://doi.org/10.1080/02678292.2010.494412

Eugster C., Haldemann W. & Rivara G., (1993). Sterols, their fatty acid esters and glucosides; processes for their preparation; spontaneously dispersible agents containing these compounds, and their use for treatment of tumors, *US5270041*.

Ferreira A. R. O., Albero J. S., Maier M. E., Ricardo N., Cavalcante C. L. & Luna F. M .T., (2020). Sulfonated activated carbons as potential catalysts for biolubricant synthesis, *Molecular Catalysis*, 488, 110888. https://doi.org/10.1016/j.mcat.2020.110888

Galpin I.J., Kenner G.W. & Marston A., (1979). The triphenylphosphine-sulfur trioxide adduct as a coupling reagent in peptide synthesis, *Bioorganic Chemistry*, 8(3), 323-332. https://doi.org/10.1016/0045-2068(79)90059-2

Ghunceva M. & Zhiryakova D., (2007). High-yield synthesis of wax esters catalysed by modified Candida rugosa lipase. *Biotechnology Letters*, 30, 509-512. https://doi.org/10.1007/ s10529-007-9554-8

Girard C. & Tranchant I., (2000). A convenient method for the synthesis and one-pot reaction of acyl chlorides using a scavenging resin, *Laboratoire de Chimie Bioorganique*, 11. Scopus preview - Scopus - Document details - A convenient method for the synthesis and one-pot reaction of acyl chlorides using a scavenging resin

Grimme, S., Antony, J., Ehrlich, S., & Krieg, H. (2010). A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu., *Journal of Chemical Physics*, 132(15), 154104. https://doi.org/10.1063/1.3382344

Guo S., Lu J., Zhuo Y., Xiao M., Xue X., Zhong S., Shen X., Yin C., Li L., Chen Q., Zhu M., Chen B., Zhao M., Zheng L., Tao Y. & Yin H., (2019). Endogenous cholesterol ester hydroperoxides modulate cholesterol levels and inhibit cholesterol uptake in hepatocytes and macrophages, *Redox Biology*, 21, 101069. https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101069

Harkewicz R., Hartvigsen K., Almazan F., Dennis E.A., Witztum J.L. & Miller Y.I., (2008). Cholesteryl Ester Hydroperoxides Are Biologically Active Components of Minimally Oxidized Low Density Lipoprotein, *JBC*, 283(16), 10241–10251. https://doi.org/10.1074/jbc.M709006200

Hümmer M., Kara S., Liese A., Huth I., Schrader J. & Holtman D., (2018). Synthesis of (-)-menthol fatty acid esters in and from (-)-menthol and fatty acids – novel concept for lipase catalyzed esterification based on eutectic solvents, *Molecular Catalysis*, 458, 67-72. https://doi.org/10.1016/j.mcat.2018.08.003

Ieda N., Mantri K., Miyata Y., Ozaki A., Komura K. & Sugi Y., (2008). Esterification of Long-Chain Acids and Alcohols Catalyzed by Ferric Chloride Hexahydrate, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(22), 8631-8638. https://doi.org/10.1021/ie800957b

Jordan A., Whymark K.D., Sydenham J. & Sneddon H.F., (2021). A solvent-reagent selection guide for Steglich-type esterification of carboxylic acids, *Green chemistry*, 23, 6405-6413. https://doi.org/10.1039/D1GC02251B

Khor V.K., Ahrends R., Lin Y., Shen W.J., Adams C.M., Roseman A.N., Cortez Y., Teruel M.N., Azhar S. & Kraemer F.B. (2014). The Proteome of Cholesteryl-Ester-Enriched Versus Triacylglycerol-Enriched Lipid Droplets, *PLOS ONE*. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105047

Komura K., Ozaki A., Ieda N. & Sugi Y., (2008). FeCl3·6H2O as a versatile catalyst for the esterification of steroid alcohols with fatty acids, *Department of Materials Science and Technology*, 21(3), 3407-3410. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-56249087188&origin=inward

Kravchenko I.A., Novikova N.S., Larionov V.B. & Pavlovskaya E.S., (2009). Effects of cholesterol and its esters on transdermal penetration of phenazepam, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 43, 1-3. https://doi.org/10.1007/s11094-009-0222-2

Kritchevsky D. & Anderson M.E., (1952). Cholesteryl Laurate, *The Journal of Organic Chemistry*, 74, 1857-1858. https://doi.org/10.1021/ja01127a514

Kubo K., Takahashi H., Takechi H. & Oleo J., (2006). Liquid Crystals as Organogelators: Liquid Crystals Gelled Organic Liquids, *Journal of Oleo Science*, 55(10), 545-549. https://doi.org/10.5650/jos.55.545

Kuksis A., (1960). Preparation and Certain Physical Properties of Some Plant Steryl Esters, *The Journal of Organic Chemistry*, 25(7), 1209-1219. https://doi.org/10.1021/jo01077a035

Labrude P. & Becq C. (2003). Pharmacist and chemist Henri Braconnot, *Rev Hist Pharm (Paris)*, 51, 61-78. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105047

Lam A.H.C., Sandoval N., Wadhwa R., Gilkes R., Do T.Q, Ernst W., Chiang S.M., Kosina S., Xu H.H., Fujii G. & Porter E., (2016). Assessment of free fatty acids and cholesteryl esters delivered in liposomes as novel class of antibiotic, *BMC Research Notes, 9(1), 337.*

Lentz B.R., Barenholz Y. & Thompson T.E. (1975). A simple method for the synthesis of cholesterol esters in high yield, *Chemistry and Physics of Lipids*, 15(2), 216-221. https://doi.org/10.1016/0009-3084(75)90044-4

Lv J., Zhang L., Yan F. & Wang X. (2018). Clinical lipidomics: a new way to diagnose human diseases, *Clinical And Translational Medicine*, 51. https://doi.org/10.1186/s40169-018-0190-9

Mahadevan V. & Lundberg W.O., (1960). A note on the preparation of cholesteryl esters of long-chain fatty acids, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37, 685. https://doi.org/10.1007/BF02632101

Ma Q.L. & Huang Y.M., (2011). Synthesis and mesomorphic properties of a series of cholesteric liquid crystals, *Materials Science Forum,* 663-665, 759-762. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-78649974193&origin=inward

Meng X., Pan Q., Yang T. & Am J., (2011). Synthesis of Phytosteryl Esters by Using Alumina-Supported Zinc Oxide (ZnO/Al2O3) from Esterification Production of Phytosterol with Fatty Acid, *JAOCS*, 88, 143-149. https://doi.org/10.1007/s11746-010-1654-2

Morinaga N., Maeda A., Mizuno T., Bunya M., Sugihara S. & Sugihara A., (2011). Synthesis of fatty acid sterol esters using cholesterol esterase from Trichoderma sp. AS59, *Enzyme and Microbial Technology*, 48(6), 498-504. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.02.007

Oliveira V. da Gama, Do Carmo Cardoso M.F., Da Silva L. & Forezi M., (2018). Organocatalysis: A Brief Overview on Its Evolution and Applications, *Catalysts,* 8(12), 605. https://doi.org/10.3390/catal8120605

Olzmann J.A. & Carvalho P. (2019). Dynamics and functions of lipid droplets, Nature *Reviews Moleculer Cell Biology*, 20, 137-155. https://www.nature.com/articles/s41580-018-0085-z

Patel K.M., Sklar L.A., Currie R., Pownall H.J., Morrisett J.D. & Sparrow J.T., (1979). Synthesis of saturated, unsaturated, spin-labeled, and fluorescent cholesteryl esters: Acylation of cholesterol using fatty acid anhydride and 4-pyrrolidinopyridine, *The Department of Medicine*, 14(9), 816-818. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0018713650&origin=inward

Rambharose S., Kalhapure R.S., Jadhav M. & Govender T., (2017). Exploring unsaturated fatty acid cholesteryl esters as transdermal permeation enhancers, *Drug Delivery and Translational Research*, 7, 333-345. https://doi.org/10.1007/s13346-017-0360-0

Ruwizhi N. & Aderibigbe B.A., (2020). The Efficacy of Cholesterol-Based Carriers in Drug Delivery, *Natural Macromolecules for Medicine*, 25(18), 4330. https://doi.org/10.3390/molecules25184330

Saroja M. & Kaimal T.N.B., (1986). A Convenient Method of Esterification of Fatty Acids. Preparation of Alkyl Esters, Sterol Esters, Wax Esters and Triacylglycerols, *Synthetic Communications*, 16(11), 1423-1430. https://doi.org/10.1080/00397918608056391

Schentag J.J., McCourt M.P., Mielnicki L. & Hughes., (2016). Cholestosome Vesicles for Incorporation of Molecules into Chylomicrons, *US0030361*.

Singh A.K. & Ansari A.W.M.H., (2010). A cold-active heat-labile t-RNA modification GTPase from a psychrophilic bacterium Pseudomonas syringae (Lz4W), *Research in Microbiology*, 161, 46-50. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.11.002

Tanemura K. & Suzuki T., (2013). Sulfonated polypyrene (S-PPR) as efficient catalyst for esterification of carboxylic acids with equimolar amounts of alcohols without removing water, *Tetrahedron Letters*, 54(15), 1972-1975. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.01.126

Vallochi A.L., Teixeira L., Da Silva Oliveira K., Monteiro C.M.M. & Bozza P.T. (2018). Lipid droplet, a key player in host-parasite interactions, *Frontiers in Immunology*, 1022. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85047364821&origin=inward

Weber N., Weitkamp P. & Mukherjee K.D., (2001). Fatty acid steryl, stanyl, and steroid esters by esterification and transesterification in vacuo using Candida rugosa lipase as catalyst, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 67-71. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0035136046&origin=inward

Welte M.A. & Gould A.P., (2017). Lipid droplet functions beyond energy storage, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1862(10), 1260-1272. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2017.07.006

Yang J., Liu J., Neumann H., Franke R., Jackstell R. & Beller M., (2019). Direct synthesis of adipic acid esters via palladium-catalyzed carbonylation of 1,3-dienes, *Science*, 366, 1514. https://doi.org/10.1126/science.aaz1293

Yang Y., He W., Jia C., Ma Y., Zhang X. & Feng B., (2012). Efficient synthesis of phytosteryl esters using the Lewis acidic ionic liquid, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 357, 39-43. https://doi.org/10.1016/j.molcata.2012.01.015

Yıldırım A. & Avcı C., (2022). A simple and efficient approach for the synthesis of cholesterol esters of long-chain saturated fatty acids by using Ph3P·SO3 as a versatile organocatalyst, *Steroids,* 183, 109011. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2022.109011

Yıldırım A., Kıraylar K. & J Tur., (2019). Sustainable process for the production of symmetrical dibasic acid ester-based thermal energy storage materials from lipids, *Turkish Journal of Chemistry,* 43(3), 802-808. https://doi.org/10.3906/kim-1811-44

Yıldırım A., Kıraylar K. & Oztürk S., (2019). A convenient approach directly from triglycerides toward the producing of thia-wax esters as bio- and chemical raw materials, *Research on Chemical Intermediates,* 46, 215-230. https://doi.org/10.1007/s11164-019-03944-8

Yıldırım A. & Kıraylar K., (2020). Efficient greener methodology for the preparation of bio-based phase change materials from lipids, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements,* 196(4), 407-413. https://doi.org/10.1080/10426507.2020.1845681

Yıldırım A., Mudaber S. & Oztürk S., (2019). Improved Sustainable Ionic Liquid Catalyzed Production of Symmetrical and Non-Symmetrical Biological Wax Monoesters, *Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, Bursa Uludağ University, Bursa, 16059, Turkey,* 121(2). https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85058385479&origin=inward

Yu S. & Zhang H., (2020). Preparation of Rosin Pentaerythritol Ester Over an Fe3O4-Supported ZnO Catalyst. *Catalysis Letters,* 150, 3359-3367. https://doi.org/10.1007/s10562-020-03237-5

Zhang B. Y., Meng F. B., Zang B. L. & Hu J. S., (2003). Liquid-crystalline elastomers containing sulfonic acid groups, *Macromolecules,* 36(9), 3320-3326. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0037765050&origin=inward

Zhang Q., Wu W., Zhang J. & Xia X., (2020). Antimicrobial lipids in nano-carriers for antibacterial delivery, *Journal of Drug Targeting,* 28(3), 271-281. https://doi.org/10.1080/1061186X.2019.1681434

Zhao D., Zhang L., Bai L., Luo J., He X. & Meng F.B., (2016). Synthesis and characterization of liquid-crystalline ionomers with pendant cholesteryl pyridinium salt mesogens, *RSC Advances,* 6(3), 26791-26799. https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84961191208&origin=inward

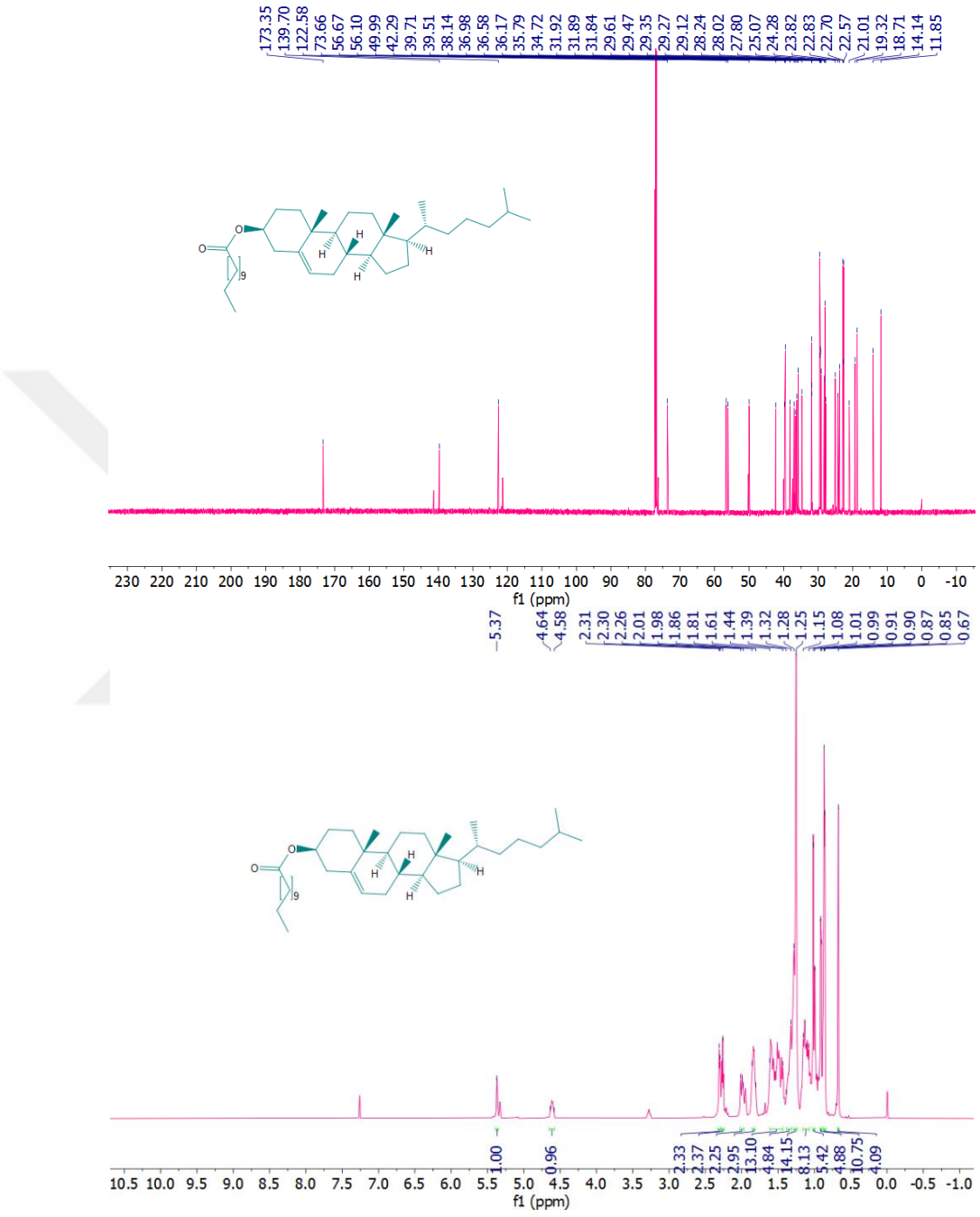
Ziegler F.E. & Berger G.D., (1979). A Mild Method for the Esterification of Fatty Acids, *Synthetic Communications,* 9(6), 539-543. https://doi.org/10.1080/00397917908060958

EKLER

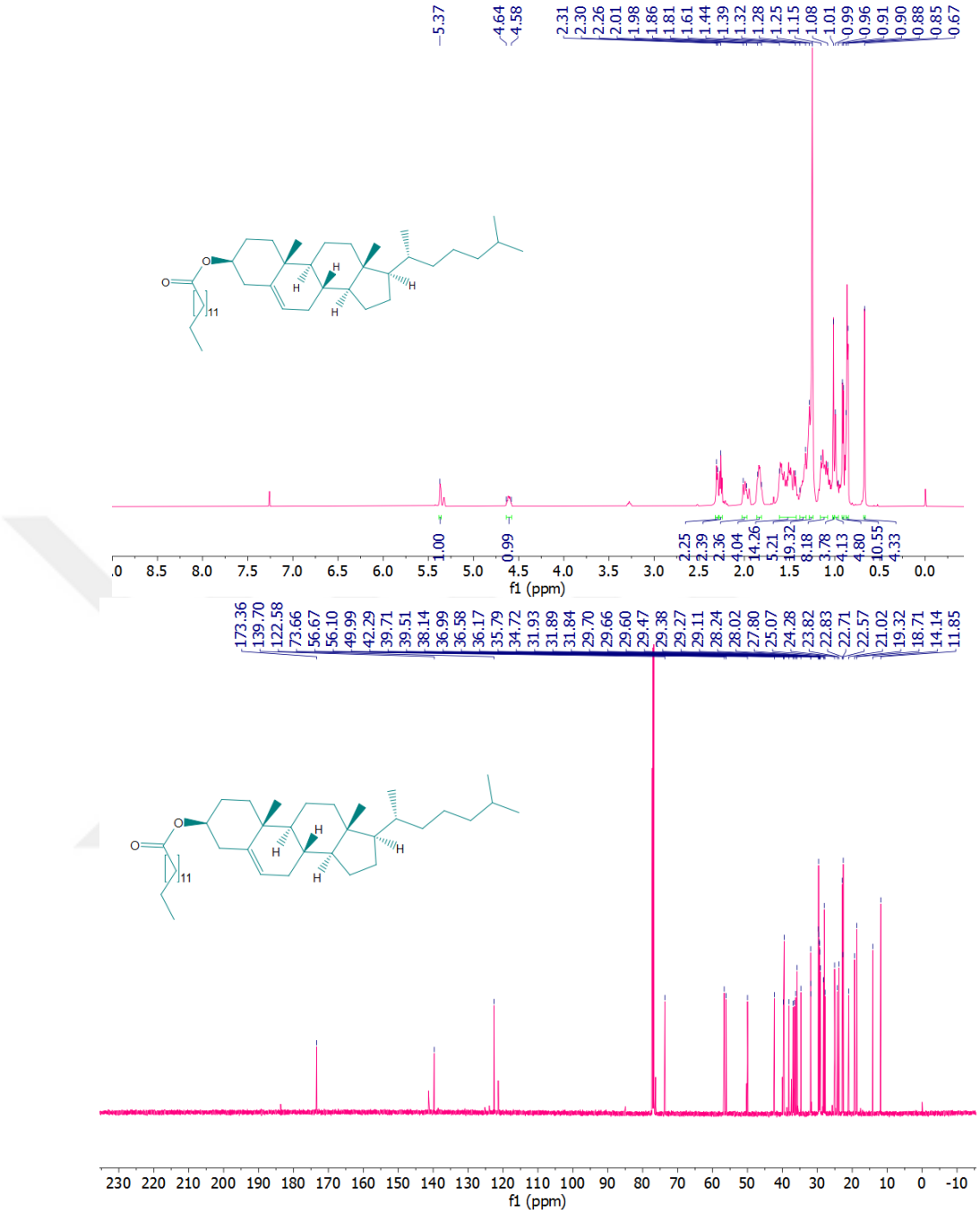
EK 1.1. Bu Tez Kapsamında Sentezlenen Kolesterol Esterlerinin Yapılarına Ait ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumları

EK 2.1. Bu Tez Kapsamında Sentezlenen Kolesterol Esterlerinin Bozunma Ürünlerinin 3D Yapıları ve Oluşum Isıları

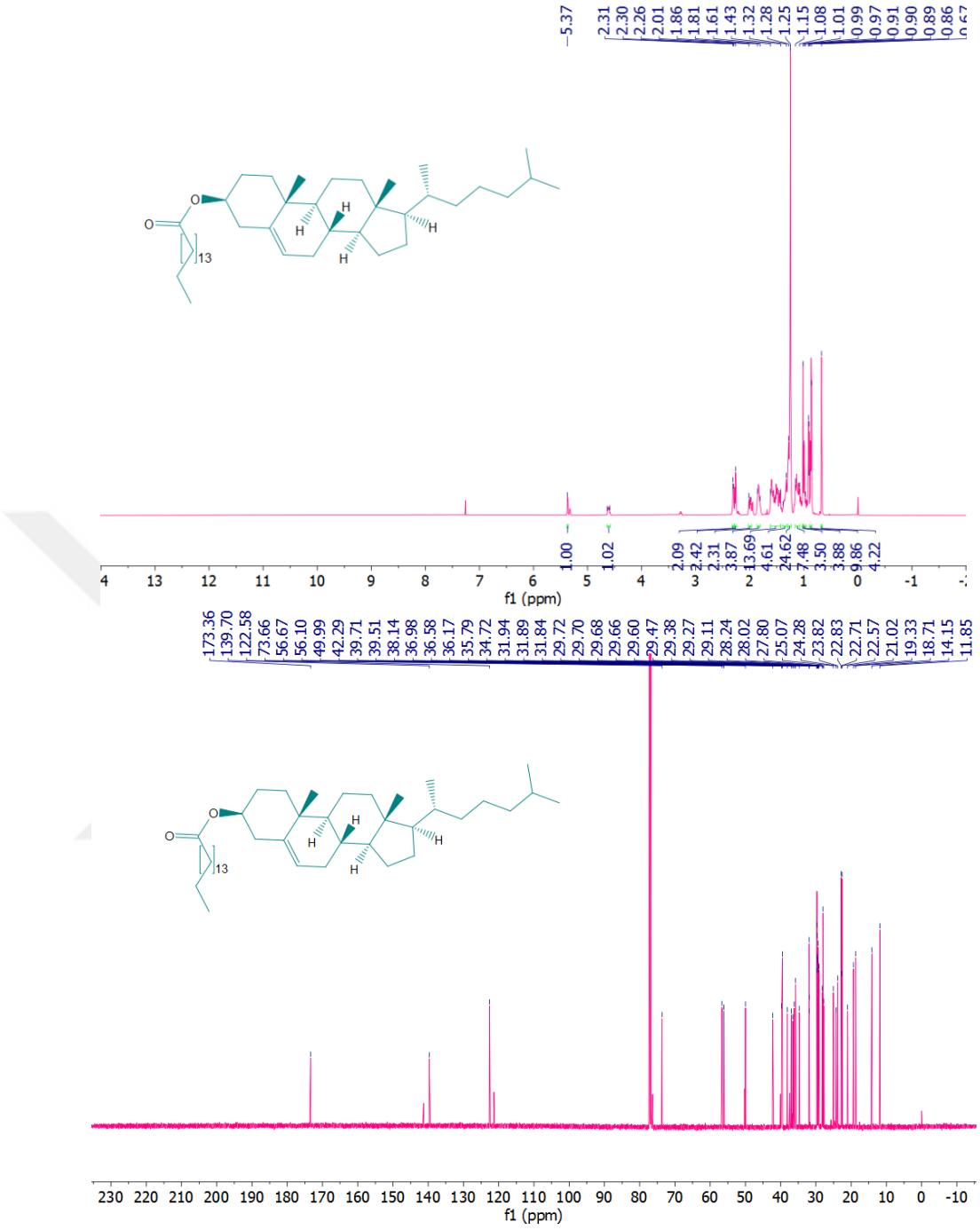
EK 1.1. Bu Tez Kapsamında Sentezlenen Kolesterol Esterlerinin Yapılarına Ait ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumları



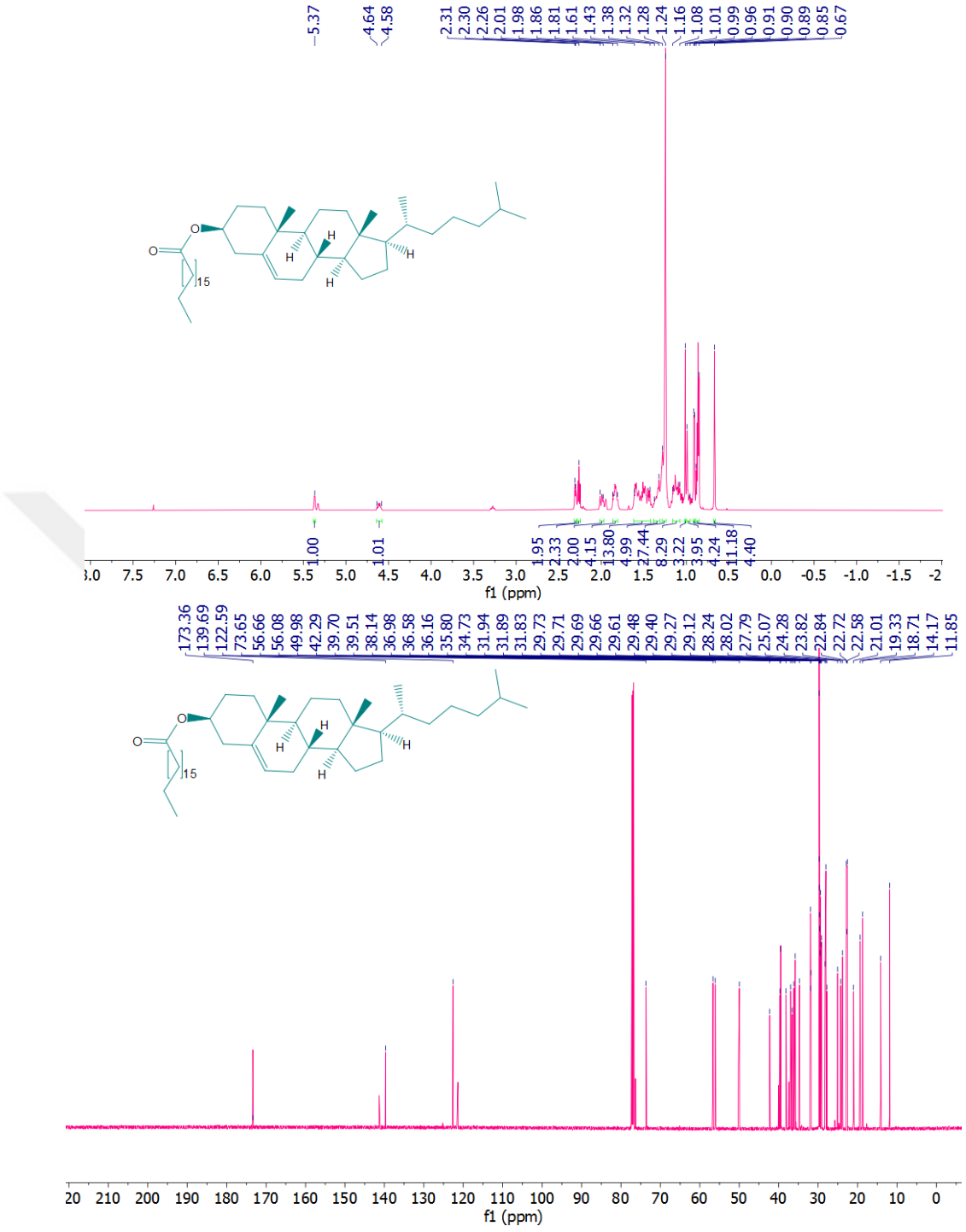
EK Şekil 1.1. Kolesterol Laurat ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektrumu



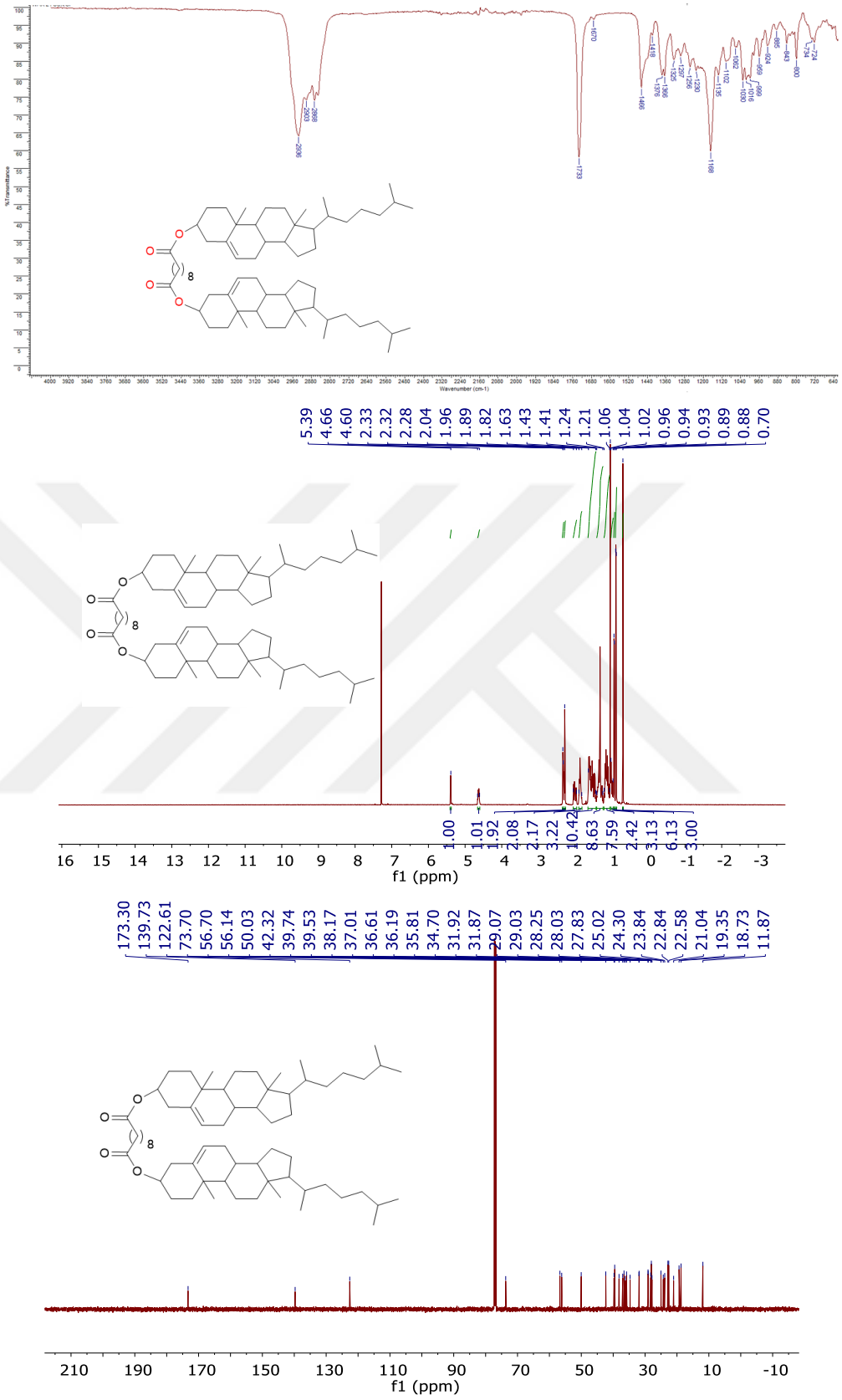
EK Şekil 1.2. Kolesterol Miristat ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektrumu



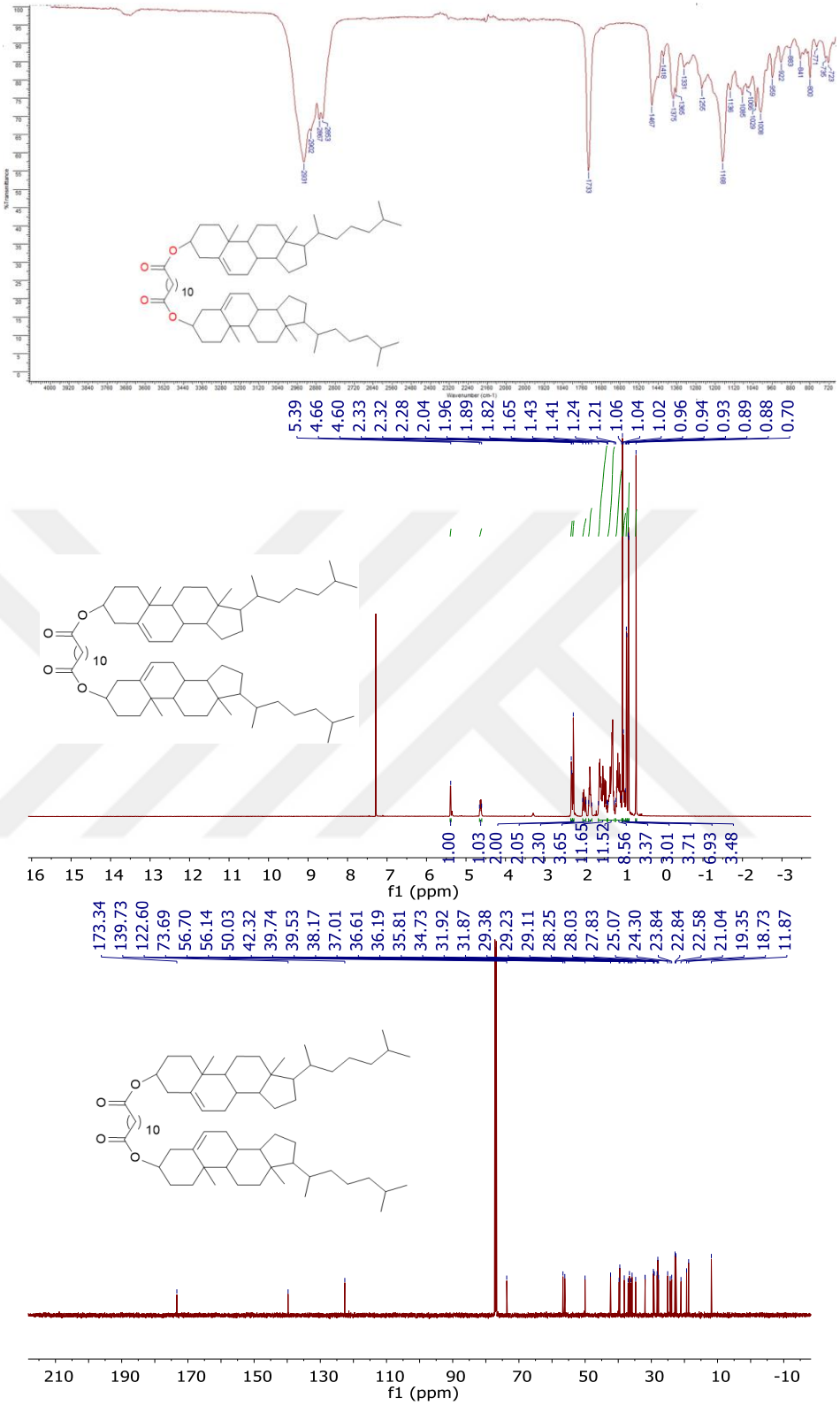
EK Şekil 1.3. Kolesterol Palmitat ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektrumu



EK Şekil 1.4. Kolesterol Stearat ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR spektrumu



EK Şekil 1.5. Dikolesterol sebasat IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR spektrumu

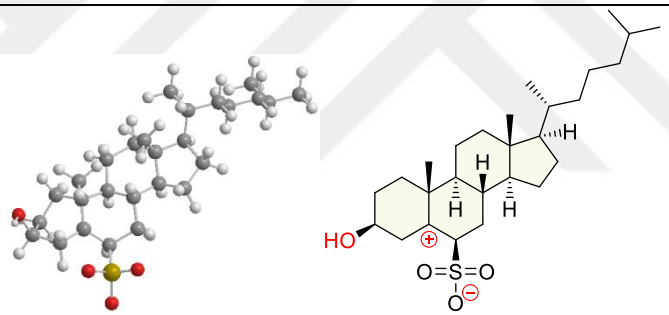
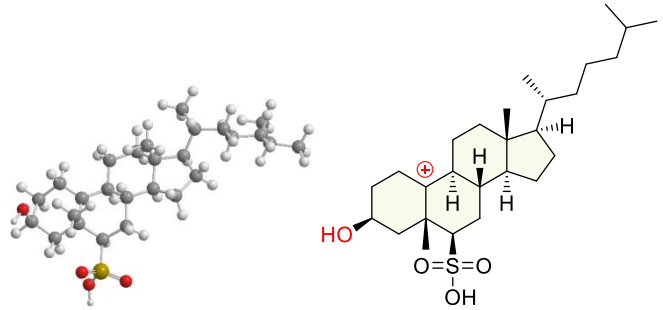
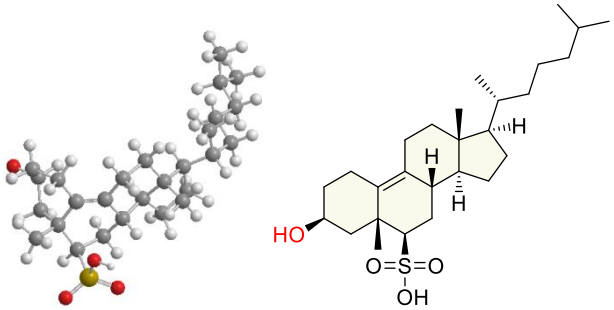


EK Şekil 1.6. Dikolesterol dodekanedioat IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR spektrumu

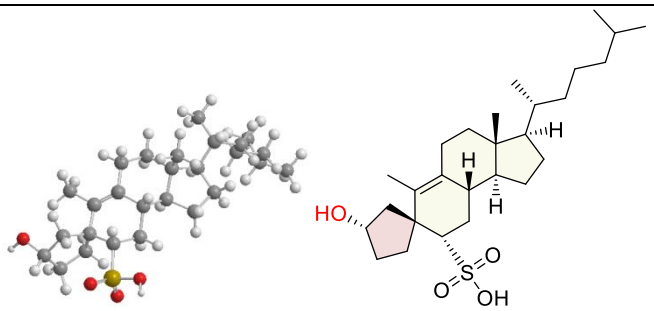
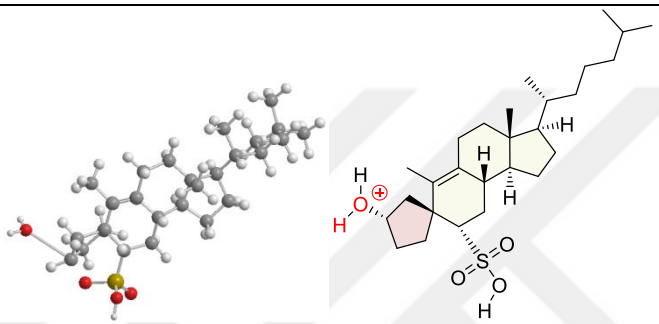
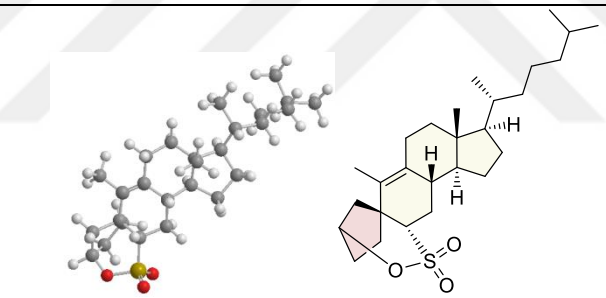
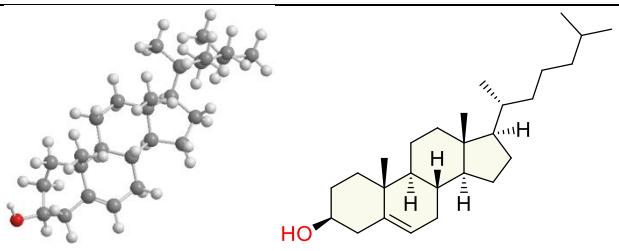
EK 2.1. Bu Tez Kapsamında Sentezlenen Kolesterol Esterlerinin Bozunma Ürünlerinin 3D Yapıları ve Oluşum Isıları

Kolesterolün yağ asitleri ile esterleşme reaksiyonu koşulları altında, reaksiyon ortamında sülfür trioksit molekülünün etkisi ile birlikte yan ürünler oluşmaktadır. Bu nedenle, Çizelge 1'de görüldüğü gibi, katalizör miktarı %10 mmol'e kadar artırılırsa, kolesterol ester verimi Ek Şekil 2.1 ve Ek Şekil 2.2'de verilen dönüşümlere göre azalmaktadır. Bu şekillerde kolesterol molekülü üzerinde gerçekleşebilecek moleküler dönüşümler gösterilmiştir, kolesterol esterleri de benzer dönüşümlere uğrayabilmektedir.

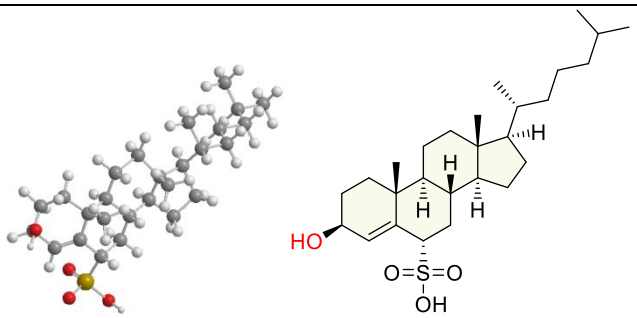
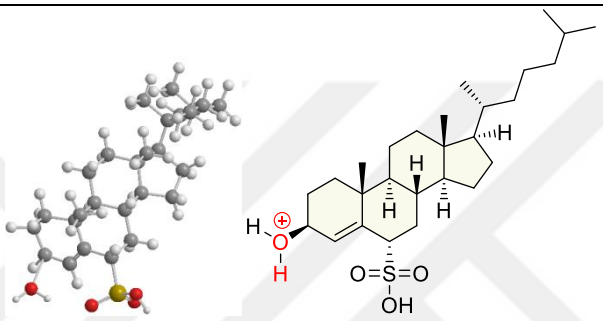
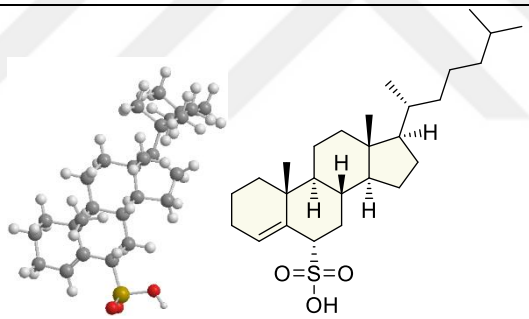
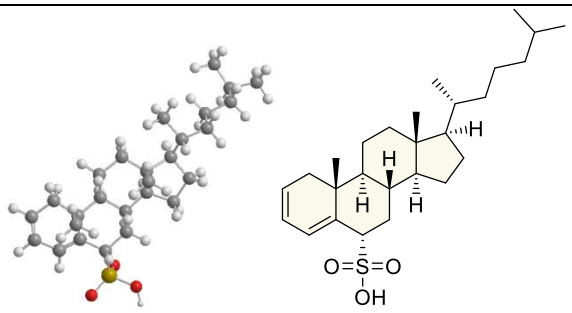
EK Çizelge 2.1. Kolesterol esterlerinin 3D Liebermann-Burchard yoluyla reaksiyonu ile oluşan bozunma ürünlerinin 3D yapıları ve oluşum ısıları

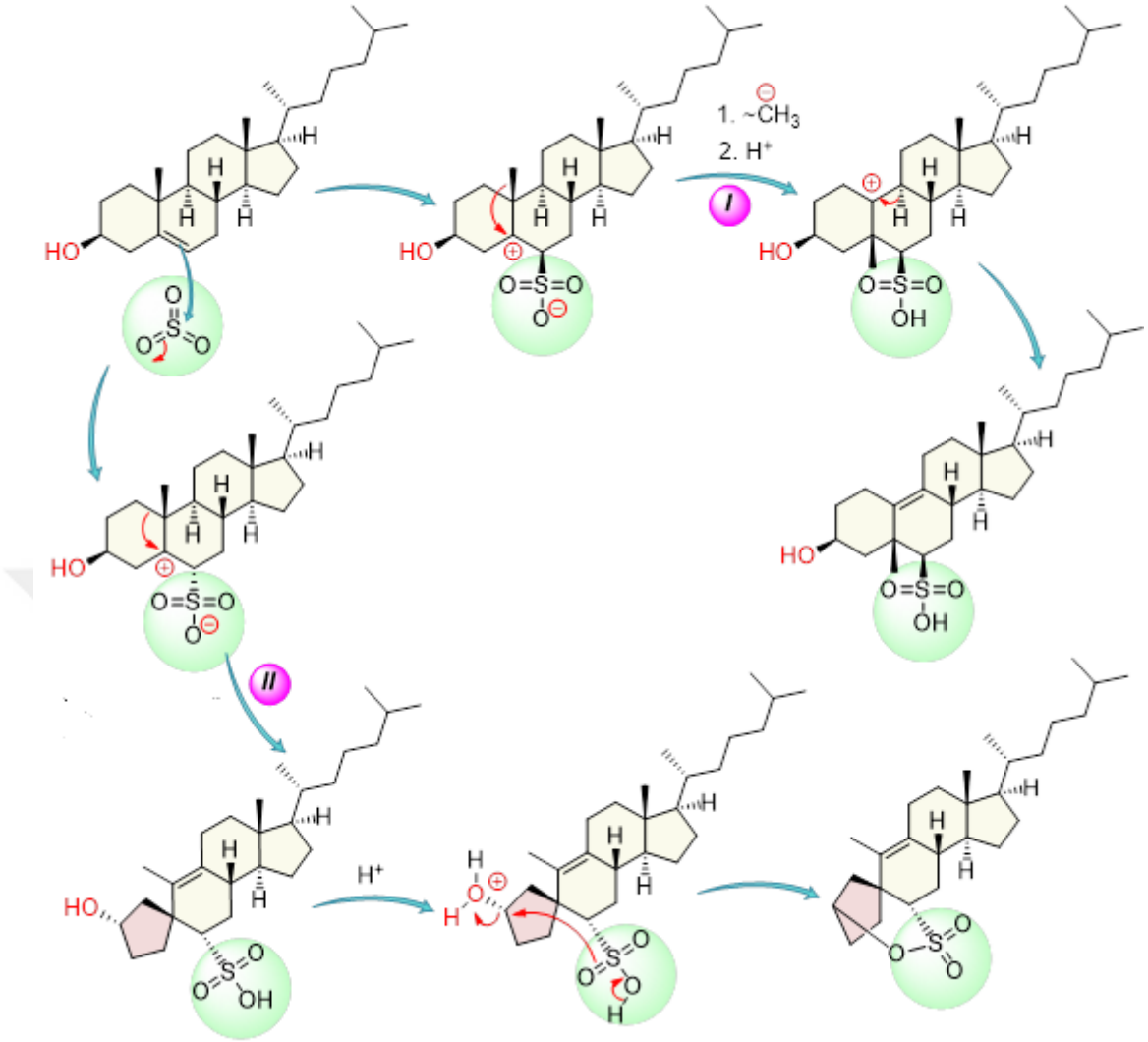
Giriş	3D Yapı	Oluşum Isıları
1		-231.64
2		-79.45
3		-245.57

EK Çizelge 2.1. Kolesterol esterlerinin 3D Liebermann-Burchard yoluyla reaksiyonu ile oluşan bozunma ürünlerinin 3D yapıları ve oluşum ısıları (Devam)

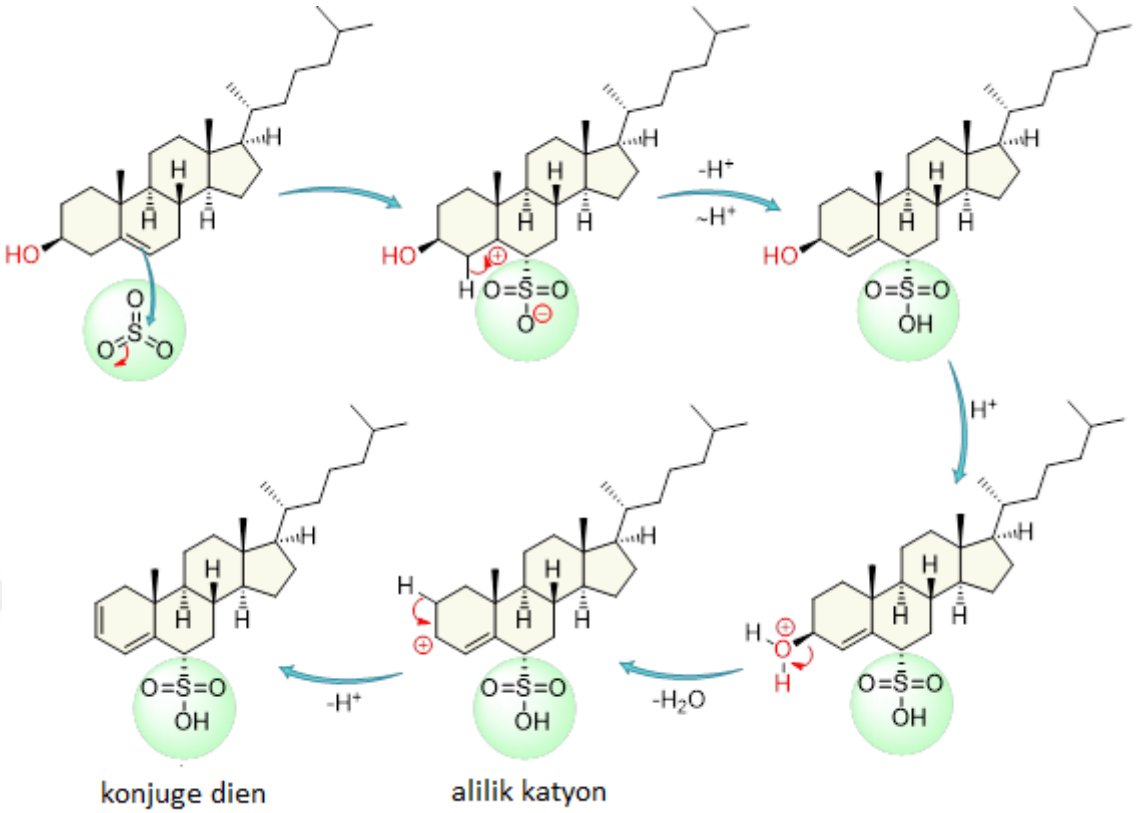
4		-249.82
5		-107.08
6		-189.02
7		-125.25

EK Çizelge 2.1. Kolesterol esterlerinin 3D Liebermann-Burchard yoluyla reaksiyonu ile oluşan bozunma ürünlerinin 3D yapıları ve oluşum ısıları (Devam)

8		-247.08
9		-88.58
10		-204.76
11		-181.27



EK Şekil 2.1. Liebermann-Burchard reaksiyon yöntemiyle kolesterol molekülünden ayrışma ürünlerinin oluşumu için mekanistik yollar



EK Şekil 2.2. Liebermann-Burchard reaksiyon yöntemiyle kolesterol molekülünden ayrışma ürünlerinin oluşumu için mekanistik yollar