

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FINDIK YAĞI-METANOL ENZİMATİK ALKOLİZ
REAKSİYONUNUN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Ayşegül ESEN**

Anabilim Dalı :KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

OCAK 2004

**FINDIK YAĞI-METANOL ENZİMATİK ALKOLİZ
REAKSİYONUNUN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Ayşegül ESEN
(506011001)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 22 Aralık 2003
Tezin Savunulduğu Tarih : 15 Ocak 2004**

**Tez Danışmanı : Prof.Dr. H.Ayşe AKSOY
Diğer Jüri Üyeleri Doç.Dr. Melek TÜTER (İ.T.Ü.)
Yard.Dç. Nevin Gül KARAGÜLER (İ.T.Ü.)**

OCAK 2004

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince, bilgi ve yardımlarını esirgemedi, bana her konuda yardımcı olan, her zaman manevi desteğini hissettiğim değerli hocam, Sayın Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY'a, bilgi ve yardımları için hocam, Sayın Doç. Dr. Melek TÜTER'e ve çalışmalarım boyunca benimle birlikte olan tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Değerli ablam Yük. Kimyager Nezihe ESEN'e ve eniştem Fizik Müh. Kaan ÇELİK'e verdikleri manevi destekten dolayı teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana olan desteklerini ve güvenlerini hissettiren ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

OCAK, 2004

Ayşegül ESEN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK ÇALIŞMA	3
2.1. Fındık Bitkisi	3
2.2. Fındık Yağı	5
2.3. Yağlara Uygulanan Kimyasal Dönüşümler	7
2.3.1. Hidroliz Reaksiyonu	7
2.3.2. Sentez Reaksiyonları	7
2.4. Yağ Asidi Esterlerinin Kullanımı ve Önemi	10
2.5. Metanol	11
2.6. Literatür Araştırması	12
3. DENEYSEL ÇALIŞMA	21
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.2. Deney Düzeneği	22
3.3. Fındık Yağının Enzimatik Metanoliz Reaksiyonu	22
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	24
4.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Farklı Enzim Kullanımının Etkisi	24
4.2. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Silika jel Etkisi	26
4.3. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi	29
4.4. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Sıcaklık Etkisi	32
4.5. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Yağ/Metanol Mol Oranının Etkisi	35
4.6. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Çözücü Etkisi	37

5. VARGILAR VE ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR	42
EKLER	46
ÖZGEÇMİŞ	55

KISALTMALAR

TLC	: İnce Yüzey Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü (Flame Ionization Detector)
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol
FFA	: Serbest Yağ Asidi Esterleri
FAE	: Yağ Asidi Esterleri

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Fındık Yağının Bazı Teknolojik Özellikleri	21
Tablo 3.2. Deneylerde Kullanılan Enzimlerin Orijin ve Özellikleri.....	22
Tablo 4.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Cinsinin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8)	24
Tablo 4.2. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda Silika jel Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).....	26
Tablo 4.3. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda Enzim Miktarının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	29
Tablo 4.4. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Sıcaklık Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	33
Tablo 4.5. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Yağ/Metanol Mol Oranının Etkisi (yağ: 5 g; enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	35
Tablo 4.6. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Çözücünün etkisi (yağ: 5 g; enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 40°C; çözücü: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	37
Tablo A.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Lipozym IM Enziminin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3 enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	45
Tablo A.2. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Novozym 435 Enziminin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3 enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	45
Tablo A.3. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun Adsorbansız Ortamda Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).....	46
Tablo A.4. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,2 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).....	46

Tablo A.5.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,4 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	47
Tablo A.6.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,6 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	47
Tablo A.7.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Reaksiyon Süresinin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	48
Tablo A.8.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,02 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	48
Tablo A.9.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,03 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	49
Tablo A.10.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,04 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	49
Tablo A.11.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,05 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	50
Tablo A.12.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,15 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	50
Tablo A.13.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 40 ⁰ C’de Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	51
Tablo A.14.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 60 ⁰ C’de Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	51
Tablo A.15.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/2 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	52

Tablo A.16.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/4 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	52
Tablo A.17.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Toluenin Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	53
Tablo A.18.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna İ-oktanın Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	53
Tablo A.19.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Sikloheksanın Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	54
Table A.20.	Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna n-Heptanın Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	54

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1 : 1998 Yılı Verilerine Göre Dünya Kuru Meyve Tüketim Oranı..	5
Şekil 4.1 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Novozym 435 Enziminin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3 enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	25
Şekil 4.2 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Lipozym IM Enziminin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3 enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8).....	25
Şekil 4.3 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun Adsorbansız Ortamda Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n- hekzan: 25 mL).....	27
Şekil 4.4 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,2 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	27
Şekil 4.5 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,4 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	28
Şekil 4.6 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,6 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	28
Şekil 4.7 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,02 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	30
Şekil 4.8 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,03 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	30
Şekil 4.9 : Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,04 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	31

Şekil 4.10	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,05 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	31
Şekil 4.11	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,15 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	32
Şekil 4.12	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 40 ⁰ C’de Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	34
Şekil 4.13	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 60 ⁰ C’de Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8).....	34
Şekil 4.14	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/2 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	36
Şekil 4.15	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/4 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; n-hekzan: 25 mL).....	36
Şekil 4.16	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Toluenin Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	38
Şekil 4.17	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna İ-oktanın Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	38
Şekil 4.18	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Siklohekzanın Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	39
Şekil 4.19	: Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna n-Heptanın Etkisi (yağ: 5 g; silika jel /yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 ⁰ C; çözücü: 25 mL).....	39

ÖZET

Yağ asidi esterleri, kimya sanayinde büyük bir öneme sahiptir. Bitkisel yağların alkoliz reaksiyonu sonucu elde edilen yağ asidi alkil esterleri yağ kimyasalları için değerli ara ham maddelerdir. Yağ asitlerinin metil ve etil esterleri ise dizel yakıtına alternatif oluşturmaktadırlar. Bu nedenle, günümüzde özellikle bitkisel yağların enzimatik alkolizi konusunda yapılan çalışmalar, sağladıkları birçok avantaj nedeniyle büyük bir önem taşımaktadırlar.

Bu çalışmada, Türkiye kökenli fındık yağının, metanol ile çözücü ortamındaki enzimatik alkoliz reaksiyonu incelenmiştir. Bu amaçla, öncelikle alkoliz reaksiyonunda en etkin olan ticari lipaz belirlenmiş, daha sonra da alkoliz reaksiyonuna etki eden silika jel/yağ ağırlık oranı, enzim/yağ ağırlık oranı, alkol/yağ mol oranı, sıcaklık gibi çeşitli parametreler ve çözücü etkisi incelenmiştir.

İncelenen ticari lipazlar arasında en uygun olanı *Mucor miehei* orijinli Lipozym IM lipazıdır. Fındık yağı ve metanolün Lipozym IM lipazı varlığında gerçekleştirilen enzimatik alkoliz reaksiyonu için optimum sıcaklık 40°C, enzim/yağ ağırlık oranı 0,1, silika jel/yağ ağırlık oranı 0,8, yağ/alkol mol oranı 1/3 olarak saptanmıştır. Bu koşullarda 2 saat sonunda yaklaşık %100 verime ulaşılmıştır.

Farklı çözücü ortamlarında yürütülen fındık yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu için n-hekzandan sonra en uygun çözücü ortamının n-heptan olduğu belirlenmiştir.

INVESTIGATION OF ENZYMATIC ALCOHOLYSIS OF HAZELNUT OIL WITH METHANOL

SUMMARY

Fatty acid esters have an enormous importance at chemical industry. At present, they are produced by esterification or transesterification reactions with chemical catalyzed at high temperature and pressure. Alcoholysis of vegetable oils is an important reaction that produces fatty acid alkyl esters, which are valuable intermediates in oleochemistry and fatty acid methyl and ethyl esters which are excellent substitutes for diesel fuel. Because of the high energy cost of the conventional chemical process, application of the enzymatic alcoholysis reactions of vegetable oils have become more effective.

In this study, enzymatic alcoholysis reaction of hazelnut oil, which is originated from Turkey, with methanol in the presence of solvent was investigated. The parameters that effect the alcoholysis reaction such as enzyme type, silica gel and enzyme amounts, oil/alcohol mol ratio and temperature were examined.

Lipozym IM orijinated from *Mucor miehei* lipase was found to be the most efficient catalyst for the alcoholysis of hazelnut oil with methanol. For the methanolysis of hazelnut oil with Lipozym IM the optimum temperature, enzyme/oil weight ratio, oil/methanol mol ratio and silica gel/oil weight ratio were determined as 40°C, 0,1, 1/3, 0,8 respectively. At the optimum conditions after 2h reaction, the reaction yielded approximately 100% ester.

Enzymatic alcoholysis reactions were also carried out with different organic solvents such as heptane, cyclohexane, toluene and i-octane. The best solvent beside n-hexane for enzymatic methanolysis reaction of hazelnut oil was n-heptane.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hidroelektrik ve nükleer enerji dışında dünyada kullanılan enerjinin büyük bir kısmı petrol, kömür ve doğal gazdan elde edilmektedir. Bununla beraber bu kaynaklar sınırlıdır ve gelecek yüzyıllarda tükenecektir. Bu da alternatif enerji araştırmalarına önem kazandırmaktadır [1].

Trigliseridlerin metanol ile transesterifikasyonu (alkoliz) sonucu elde edilen biyodizel (yağ asidi metil esteri), yenilenebilir olması ve toksik olmaması nedeniyle son yıllarda ilgi çekmektedir [2]. Bu konuda çeşitli ülkelerde yapılan uygulamalar mevcuttur. Avusturya, biyodizel uygulamasında önder ülkelerden biridir. Bu ülkede biyodizel kolza yağı ve kullanılmış kızartma atık yağlarından elde edilmektedir. Biyodizelin Fransa'da da kolza yağından üretimi yapılmakta ve toplu taşıma otobüslerinde kullanılmaktadır. İtalya'da ayçiçek ve kolza yağından; Amerika'da kolza, ayçiçek, soya yağları ve kullanılmış kızartma atık yağlarından üretilmekte olan biyodizel de toplu taşıma araçlarında kullanılmaktadır [3]. Ayrıca Japonya'da da evlerden kızartma yağları toplanarak, biyodizel yakıtı çevrilip toplu taşımalarda kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra yağ asidi esterleri; çözücü, plastikleştirici, reçine, yağlayıcı, parfüm, tatlandırıcı, sabun yapımında, ilaç ve kozmetik sektöründe de kullanılmaktadır [4].

Bitkisel yağların alkoliz reaksiyonlarında kullanılan katalizörler genellikle kimyasal katalizörlerdir. Kimyasal katalizörler varlığında gerçekleştirilen reaksiyonlarda kısa reaksiyon sürelerinde yüksek yağ asidi esteri içeriği elde edilse de enerji gerektiren bu proses gliserinin geri kazanılmasındaki zorluk, alkali katalizörlerin üründen uzaklaştırılması gereği ve alkali atık sularına yapılacak arıtma işlemleri gibi olumsuzluklara sahiptir. Enzimatik yöntemler kullanılarak bu problemlerin giderilebileceği düşünülmektedir [5].

Fındık, toplam dünya üretiminin yaklaşık 3/4'ünün gerçekleştirildiği ülkemizde, özellikle gıda sanayiinde önemli bir yer tutmaktadır. Buna rağmen, fındık yağının

retimi ve kullanımı diğer bitkisel yağlara oranla çok azdır. Ülkemizde de, fındık yağından endüstriyel alanda yeterince fayda sağlanamamaktadır [6].

Bu çalışmanın amacı; Türkiye kökenli fındık yağının metil alkol ile çözücü ortamındaki enzimatik alkoliz reaksiyonunun incelenmesidir. Çalışmada öncelikle enzimatik alkoliz reaksiyonuna etki eden çeşitli proses parametrelerinin belirlenmesi ve alkoliz reaksiyonuna çözücü etkisinin incelenmesi planlanmıştır.

2. TEORİK ÇALIŞMA

Bu çalışmada, öncelikle fındık bitkisi ve fındık yağı, daha sonra yağlara uygulanan kimyasal dönüşümler, yağ asidi esterlerinin kullanımı ve önemi ile metanol hakkında bilgi verilmiş, son olarak da kimyasal ve enzimatik transesterifikasyonla ilgili yapılmış çalışmaları içeren literatür araştırması özetlenerek sunulmuştur.

2.1. Fındık Bitkisi

Fındık, kış aylarında çiçeklenen ve döllen tek bitkidir. Yeryüzünde, 36°-41° kuzey enlemlerinde ve kendine özgü iklim koşullarında yetişen fındık ağacı, kıyılardan en çok 30 km içerde ve yüksekliği 750-1000 m'yi geçmeyen yerlerde ürün verir. Türkiye, İtalya, İspanya ve Amerika fındık yetiştirilen başlıca ülkelerdir. Dünyada ticari anlamda ilk fındık yetiştiriciliği ve ihracatı Anadolu'da başlamıştır.

Türkiye, fındık dikimine ve yetiştirilmesine en uygun koşullara sahip olan bir ülkedir. Türkiye'de en çok adi fındık ile lambert fındığının çaprazlamasıyla elde edilmiş melez çeşitler yetiştirilir. Bu çeşitler meyvelerinin yuvarlak, sivri ya da badem biçiminde oluşuna göre gruplandırılır. Yağ oranı en yüksek olan tombul Giresun fındığıdır. Türkiye, yıllık dünya fındık üretiminin yaklaşık %65-75'ini gerçekleştirmektedir [7]. Türkiye fındık rekoltesinin hemen hemen tamamına yakın bölümü, en uygun toprak ve iklim koşullarına sahip Karadeniz Bölgesi'nden elde edilir. Bugün ülkemizde başta doğu kesimleri olmak üzere tüm Karadeniz yöresinde 300 bine yakın aile yaklaşık 600 bin hektar alanda fındık yetiştiriciliği yapmakta ve yine yaklaşık 8 milyon kişi doğrudan veya dolaylı olarak geçimini fındık tarımından sağlamaktadır [6]. Ayrıca, büyük ölçüde erozyon tehlikesi bulunan bölgedeki fındık tarımı, verimli toprakların erozyona uğramasını engelleyip, çevreye çok olumlu katkılar sağlar [7].

Türk fındığı, kalite olarak Giresun ve Levant olmak üzere ikiye ayrılır:

Giresun kalite fındık, tadı ve içerdiği yağ oranı ile yeryüzünün en üstün özellikli fındığıdır. Giresun ile Trabzon'un Beşikdüzü, Vakfıkebir, Çarşıbaşı ve Akçaabat ilçelerinde yetişir.

Levant kalite fındık, daha az yağ içerir. Trabzon ve bir bölümü ile Ordu, Samsun, Bolu, Sakarya, Zonguldak, Bartın illerinde yetişir.

Fındık; % 55-66 yağ, %11-22 karbonhidrat, %14-16 protein, % 5 su içerir.

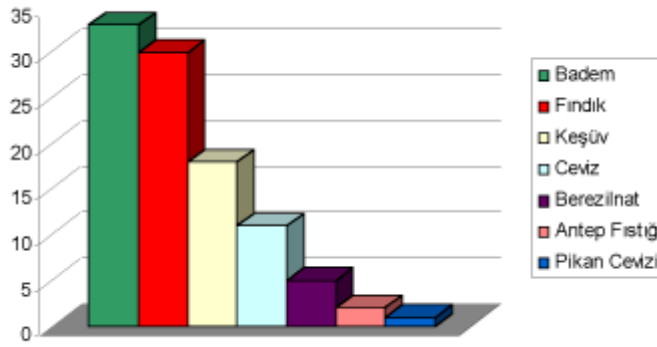
Fındık bileşiminde ayrıca aşağıda açıklanan miktarlarda mineral ve vitaminler de vardır.

Fındıktaki mineraller (mg/100g olarak); demir: 5,8; kalsiyum: 160,0; çinko: 2,2; potasyum: 655,3; sodyum: 2,1; magnezyum: 161,2; bakır: 1,3; mangenez: 5,1.

Fındıktaki vitaminler (mg/100g olarak); B1: 0,33; B2: 0,12; Niacin: 1,75; B6: 0,24; E: 31,4'dir.

Fındık insan vücuduna yararlı karbonhidrat, protein ve yağ ile metabolizmayı düzenleyen B grubu vitaminler yönünden zengin bir kaynaktır. Kan yapımı ve ruhsal sağlık için gerekli olan B2 ve B6 vitaminleri, gelişme çağındaki çocukların beslenmesinde büyük önem taşır. Kalp ve diğer kasların sağlığı için en iyi besinlerden biri, E vitamini açısından çok zengin olan fındıktır. Bu vitamin; kalp ve diğer kasların sağlığı ve üretim sisteminin normal çalışması için gereklidir. Alyuvarların parçalanmasını önleyerek kansızlığa karşı koruyucu etki yapmaktadır. E vitamini, kanser yapıcı etmenlerin oluşmasını önler ya da oluşuktan sonra onları etkisiz hale getirerek vücudu korur. Kemiklerin ve dişlerin yapımı için gerekli olan kalsiyum, kan yapımında görev alan demir, büyüme ve cinsiyet hormonlarının gelişmesinde rol oynayan çinko için, en iyi bitkisel kaynaklardan birisi fındıktır. Sinirlerin uyarımı ve kas dokusunun çalışması için gerekli olan potasyumca da zengindir. Potasyum, magnezyum ve kalsiyum içeriği yüksek, sodyum miktarı düşük olan fındığın, kemik gelişimi ve sağlığı ile kan basıncının düzenlenmesinde büyük önemi vardır. Bu açıdan da fındık, sağlıklı yaşam için önemlidir. Beslenme uzmanları genel olarak, günlük beslenmede fındık ve fındık ürünlerine daha fazla yer verilmesini önermekte, özellikle çocuklar, gençler, sporcular, askerler ve işçiler için büyük enerji kaynağı olduğunu belirtmektedirler [7].

Önceleri kuruyemiş olarak tüketilen fındığın, gıda sanayiinin gelişmesiyle birlikte kullanım alanı oldukça genişlemiştir. Fındık; çikolata, bisküvi, şekerleme, tatlı pasta, dondurma imalatında yardımcı malzeme olarak kullanılmaktadır. Çikolata ve bisküvi imalatında, dünyanın yıllık iç fındık tüketimi 300.000 ton'u aşmıştır. Fındık unu, çikolatalı ürünlerin temel unsurudur [7]. Şekil 2.1'de 1998 yılı verilerine göre fındık ve diğer kuru meyve tüketimleri görülmektedir.



Şekil 2.1. 1998 Yılı Verilerine Göre Dünya Kuru Meyve Tüketim Oranı

Fındık tarımında; biyolojik, fizyolojik, ve coğrafi faktörler doğrudan doğruya rekolteyi etkilemektedir. Bu nedenle gerek ülkemiz ve gerekse dünya fındık üretimi yıldan yıla değişiklikler gösterir. Türkiye, son 6 yıldır, yıllık yaklaşık 500 bin ton fındık üretimi ile günümüzde en büyük fındık üreticisi ülke konumundadır ve toplam dünya üretim ve ihracatının % 80'ini karşılamaktadır. Türkiye'yi sırasıyla 100×10^3 , $18,15 \times 10^3$, $16,5 \times 10^3$ ton/yıl toplam üretimiyle İtalya, A.B.D ve İspanya izlemektedir. Türkiye 2000 yılı rekoltesi stoğu 210×10^3 ton'dur [6].

2.2. Fındık Yağı

Fındık ham yağı, fındık meyvesinden fiziksel işlemler ve ekstraksiyonla elde edilen, kimyasal işlem görmemiş, oleik asit esaslı bitkisel bir yağdır. Fındıktaki yağ yüksek oranda doymamış yağ asitlerinden oluşmuştur. Fındık yağındaki yağ asitleri bileşiminin yaklaşık %84'ünü oleik asit, %9'unu linoleik asit oluşturmaktadır [8]. Linoleik ve oleik asitler kanda kolesterolün yükselmesini önler, kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etki yaparlar. Diğer bitkisel yağlara oranla oleik asit esaslı, yani tek çifte bağlı yağ asidi ester yapısında olması sebebi ile vücutta parçalanması ve sindirimi kolay, erime noktası düşük ve bilinen bütün sıvı yağlara göre oksitlenme ve acılaşma süreleri de daha uzundur.

Fındık yağı vücut ısısının korunmasından, yağda eriyen vitaminlerin taşınmasına kadar birçok görevi yerine getirir [7]. Esansiyel bir yağ asidi olan Linoleik asit vücut tarafından yapılamamakta, vücudumuz bu maddeyi dışardan yani gıdalarla almaktadır. Organizmanın büyümesi ve sağlıklı gelişmesi için son derece gerekli olan bu asit, fındık yağında bol miktarda bulunmaktadır. Dolayısıyla fındık yağı,

oleik asit ve linoleik asit gibi 2 önemli yağ asidini bileşiminde bulunduran ender besinlerden birisidir [8].

Tipik bir fındık ham yağının yağ asidi bileşimi [7];

Oleik asit: % 84

Linoleik asit: % 9

Palmitik asit: %6

Stearik asit: % 0,5

Palmitoleik asit: % 0,5'dir.

Fındık ham yağı:

- Rafine edilip yemeklik yağ olarak,
- Temizleyici, nemlendirici ve dağıtıcı olarak,
- Gres yağı üretiminde hammadde olarak,
- Koruyucu boya endüstrisinde kurutucu olarak,
- Kimyasal tepkimelerde katalizör olarak,
- İlaç ve kozmetik endüstrisinde yardımcı hammadde olarak,
- El ve lastik eldivenlerin dezenfeksiyonunda, tıbbi aparatların sterilizasyonunda, yaraların pansumanında, kadın-doğum hastalıkları, deri-ağız hastalıklarında antiseptik olarak ve
- Sanayide yüzey aktif maddesi, korozyon inhibitörü, yağlama, metal kesme yağları, metal temizleme ve asfalt plaka üretiminde hammadde olarak kullanılır [7].

Ayrıca, yağ çıkarılması ile arta kalan fındık küspesi, yüksek oranda protein içermekte olup (%38-45), hayvan yemi olarak yem sanayiinde kullanılmaktadır. Yıldız Teknik Üniversitesi ile TÜBİTAK'ın yaptığı ortak araştırmaya göre, sağlık açısından önemli özellikleri tespit edilen fındık yağının deneme üretimi Türkiye'de ilk kez Fiskobirlik'in de ortak olduğu Ordu Soya Fabrikası'nda gerçekleştirilmiştir. Deneme üretiminde başarı sağlanmasından sonra fındık yağı piyasaya verilmeye başlanmıştır [8].

2.3. Yağlara Uygulanan Kimyasal Dönüşümler

Yağlar hidroliz ve sentez reaksiyonları ile çeşitli yağ kimyasallarına dönüştürülebilir.

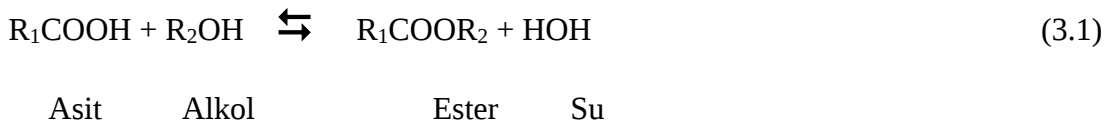
2.3.1. Hidroliz Reaksiyonu

Yağların hidrolizi, heterojen bir reaksiyondur. Hidroliz ürünleri; su ve gliserinden oluşan sulu faz, yağ asitleri ve gliseridden oluşan homojen yağ fazıdır. Gliseridlerin hidrolizi kademeli olarak (digliserid ve monogliserid olarak) yağ, su ara fazında gerçekleşir. Bu reaksiyon tipinde en etkili katalizör çeşidi asit katalizörlerdir [9].

2.3.2. Sentez Reaksiyonları

Esterleşme:

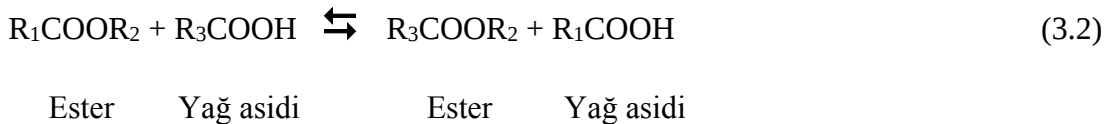
Bir alkol ile asidin katalizör varlığında reaksiyona girerek ester oluşturduğu reaksiyonlara esterleşme reaksiyonu denir. Bu reaksiyonun tersi hidroliz reaksiyonudur [6].



Sülfürik asit, fosforik asit, organik sülfonik asit, hidroklorik asit gibi kuvvetli asitler olmadığı zaman yavaş yürüyen bir reaksiyondur [9]. Yağ asitleri gliserin ile reaksiyona girdiğinde, triaçilgliserid ve su oluşturur. Esterleşme reaksiyonunun etkin bir şekilde olması için, oluşan suyun ortamdan çekilmesi gerekir [10].

Asidoliz:

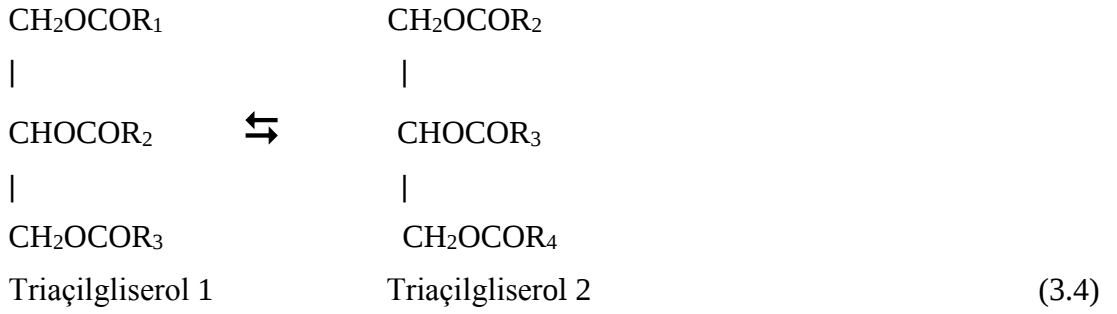
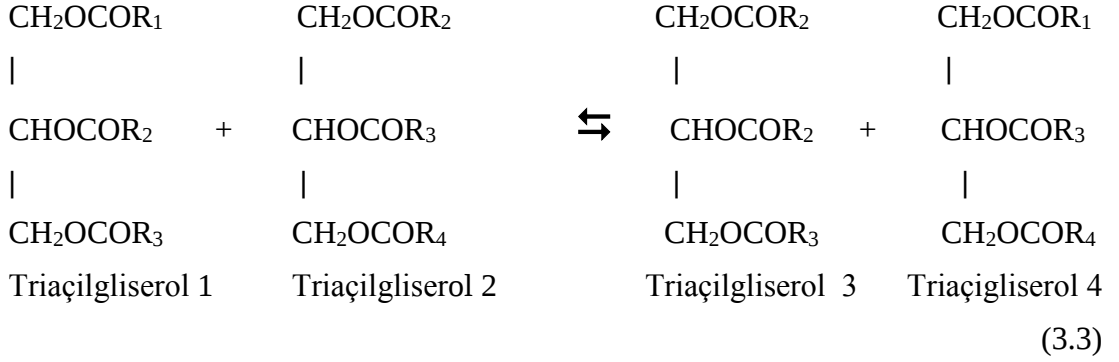
Bir asit ile esterin reaksiyona girmesiyle alkil gruplarının yer değiştirmesi sonucu yeni bir ester oluşmasına asidoliz denir.



Bu reaksiyonların gerçekleşmesi için, yüksek sıcaklık veya asit katalizör ya da her ikisi birden gereklidir. Alkoliz gibi bu reaksiyonlar da tersinirdir [4].

İç esterleşme:

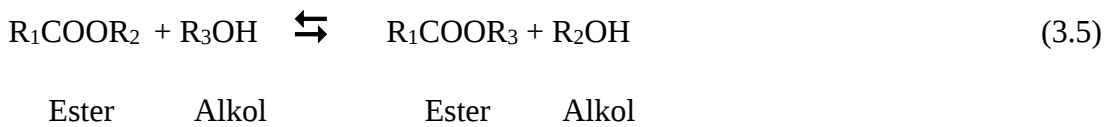
İç esterleşme reaksiyonları; iki ester arasında gerçekleşen ve farklı iki ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlardır. Genelde alkoliz reaksiyonlarından daha yavaştır [6].



Transesterifikasyon:

Bu reaksiyon, bazı bilim adamları tarafından direk alkoliz reaksiyonu olarak tanımlanmakta, bazıları tarafından ise iç esterleşme, alkoliz ve asidolizin tümüne verilen genel bir ad olarak tanımlanmaktadır. Transesterifikasyon, esterin bir başka estere alkoksi kısımların yer değişimi ile dönüşmesini içeren organik reaksiyonlara verilen bir ifadedir. Orijinal ester alkolle reaksiyona girerse buna alkoliz denir. Burada kullanılan tranesterifikasyon terimleri alkolizi ifade edecektir.

Transesterifikasyon bir denge reaksiyonudur. Buradaki katalizör varlığı dengenin düzenlenmesini hızlandırır.



Bu reaksiyon tersinirdir ve dengeyi sağa kaydırmak için alkol fazlası kullanılır [1]. Reaksiyon hızını arttırmak için asidik, bazik ya da enzim katalizörler kullanılır. Alkali katalizörler kullanıldığında, oda sıcaklığında veya altındaki sıcaklıklarda, asit katalizörler kullanıldığında, yaklaşık 100°C civarında, katalizör kullanılmadığında ise 250°C civarında veya daha yüksek sıcaklıklarda çalışılır. Sadece metanol, etanol, propanol, bütanol, amilalkol gibi basit alkoller transesterifikasyonda kullanılabilir [4, 9].

Kullanılan katalizör cinsine göre reaksiyon kimyasal katalizörlü ve enzimatik transesterifikasyon olarak ikiye ayrılır.

Kimyasal Katalizörlü Transesterifikasyon:

İlk adımda trigliseridler digliseridlere, digliseridler de monogliseridlere ve monogliseridler gliserine dönüşür. Her adımda bir gliseridden bir ester oluşur.

Asit Katalizörlü Transesterifikasyon:

Transesterifikasyonda kullanılan asitler sülfürik, fosforik, hidroklorik ve organik sulfonik asitlerdir. Alkali katalizörlü reaksiyonlara göre daha yavaş olmasına rağmen, su ve serbest yağ asidi içeren trigliseridlerin transesterifikasyonu için uygundur.

Alkali Katalizörlü Transesterifikasyon:

Transesterifikasyonda kullanılan alkaliler; NaOH, KOH, sodyum metoksit, sodyum etoksit, sodyum propoksit ve sodyum butoksittir. Alkali katalizörler transesterifikasyon reaksiyonunu aynı miktardaki asidik katalizörden 4000 kez daha hızlı gerçekleştirir. Ticari olarak da daha çok kullanılır. Alkali katalizörlü transesterifikasyonda, gliseridlerin ve alkollerin susuz olması gereklidir; çünkü su sabunlaşma reaksiyonuna sebep olur. Sabun oluşumu ester miktarını azaltır, ester ve gliserinin ayrılmasını zorlaştırır [9]. Ayrıca sabun katalizörü tüketir, katalitik etkiyi azaltır, viskozite ve jel oluşumunu artırır. Bu katalizörler daha az koroziftir.

Enzimatik Transesterifikasyon:

Trigliseridler ve kısmi gliseridler lipaz varlığında hidrolize olarak kısmi gliserid ve serbest yağ asidi verirler. Metil esterler de, metanol ve serbest yağ asidinin esterleşme reaksiyonu sonucu oluşur.

Alkali katalizör varlığında transesterifikasyon reaksiyonunda, kısa sürelerde yüksek verimde metil ester üretimi sağlansa da bu reaksiyonun birçok dezavantajı vardır. Bunlar; enerji yoğun olması, oluşan gliserinin geri kazanılmasının güçlüğü, alkali katalizörün üründen ayrılması, ürünlerin termal bozunması, alkali atık suların temizlenmesi ve serbest yağ asitleri ve suyun reaksiyona engel olmasıdır [2]. Bu sorunlar lipaz katalizörlü reaksiyonlarda giderilmektedir. Ayrıca enzimatik transesterifikasyonun diğer bir avantajı da kullanılan lipazın substrat seçiciliğine bağlı olarak, farklı bileşim ve özelliklere sahip pek çok ürünün elde edilmesidir [4].

2.4. Yağ Asidi Esterlerinin Kullanımı ve Önemi

Yağ asidi esterleri yağ alkolleri gibi birçok yararlı kimyasala ve başka sentezler için gerekli hammaddelelere dönüştürülebilir.

Dünyada üretilen metil esterlerin büyük bir kısmı alkanolamid üretimi için kullanılmaktadır. Alkanolamidler, iyonik olmayan yüzey aktif madde, emülgatör, inceltici, plastikleştirici ajanı olarak kullanılır. Yağ alkolleri ise karbon zincir uzunluklarına göre, ilaç ve kozmetik (C₁₆-C₁₈) katkı maddeleri, yağlayıcı madde ve plastikleştirici (C₆-C₁₈) ajan olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca karbonhidrat yağ asidi esterleri (sukroz poliester) üretiminde de kullanılmaktadır.

Üretilen gliserin de kozmetikte, dişmacunu yapımında, ilaç, gıda, plastik, vernik, alkid reçine, sigara, patlayıcı ve selüloz proseslerinde kullanılmaktadır [1].

Kısa zincirli yağ asidi esterleri, gıda endüstrisinde aroma ve tat verici olarak kullanılmaktadır [11]. Bazı esterler düşük uçuculuk, yüksek alevlenme noktası, termal kararlılık, düşük zehirlilik özellikleri nedeniyle yağlama yağı olarak kullanılabilir. Sentetik yağlama yağlarının önemli bir sınıfı, dikarboksilik asit ve adipik asit esterlerinden oluşur [12].

Hayvansal ve bitkisel yağlardan elde edilen yağ asidi metil esterleri, biyodizel yakıtı olarak da kullanılmaya başlanmıştır [5]. Ayçiçek yağı, kolza yağı, palm yağı ve don yağı gibi yağların çeşitli lipazlarla transesterifikasyon reaksiyonları birçok araştırmacı tarafından incelenmektedir [13]. Metanol saf olarak bulunabildiğinden birçok teknik uygulamada metilesterler üretilmesine rağmen, dizel yakıtı alternatifi olan etil esterler etanolün biyokütleden üretilir olması ve daha az zehirleyici olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir [14].

2.5. Metanol

Metanol kimyasal formülü CH_3OH olan bir kimyasal bileşiktir. En basit alkoldür ve uçucu, renksiz, yanıcı ve zehirli bir sıvıdır. Metanol odunun distilasyonundan, kömürden, doğal gaz ve petrolden elde edilebilmektedir. Birçok sentetik organik bileşiğin endüstriyel üretiminde kullanılmaktadır. Metanol doğal bir fermantasyon ürünüdür. İnsanlar için öldürücü dozu bilinmemektedir. Çoğu kaynaklarda minimum öldürücü doz oranı 100cc(1g/kg) olarak verilmektedir. Buharıyla ya da direk temasta zararlı olmaktadır. İnsan vücudunda kronik etkiden çok akut etki göstermektedir [15,16].

Metanol havada karbondioksit ve su oluşturarak yanar. Yağ asidi esteri ile reaksiyona girince metanol molekülü kırılır ve ester molekülüne bağlanır. Toksik özelliği bu durumda kalmaz.

Evimizde bulunan ve metanol içeren ürünler; silecek sıvısı, antifriz, cam temizleyici, boyalar, vernikler, boya inceltici ve temizleyicileridir. Türevleri, sentetik boya maddelerinin, ilaçların, reçinelerin ve parfümlerin yapımında kullanılır. Yüksek oktan sayılı, temiz yanma özelliğine sahip olması nedeniyle araba motorlarında, benzin yerine kullanılabilecek bir yakıt özelliği taşımaktadır.

Metanolün bazı özellikleri aşağıda verilmiştir [17,16]:

Erime Noktası : -97.7°C

Kaynama Noktası : 65°C

Yoğunluk : 0.79

Formül: CH_3OH

Moleküler ağırlığı: 32.042 kg/kmol

Oluşum Isısı: -201.3 MJ/kmol

Gibbs Serbest Enerjisi: -162.62 MJ/kmol

Çözünürlük: su, etanol, eter ve birçok organik çözücü de çözünür.

Buhar Basıncı: 20°C 'de 92 mmHg

2.6. Literatür Araştırması

Bu bölümde, enzimatik transesterifikasyon reaksiyonlarının daha iyi değerlendirilmesi açısından öncelikle kimyasal katalizörlü transesterifikasyon ile yapılan çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

Freedman ve arkadaşları pamuk tohumu, yerfıstığı, soya ve ayçiçek yağından transesterifikasyonla ester eldesini etkileyen sıcaklık, katalizör tipi (alkali, asidik..), alkol/yağ mol oranı gibi reaksiyon değişkenlerini incelemişlerdir [18]. Alkali katalizör varlığında (sodyum hidroksit ya da metoksitle), 60⁰C ya da daha yüksek sıcaklıkta, en az 6/1 mol oranında ve tamamiyle rafine edilmiş yağla yapılan çalışmalarda metil, etil ve bütil estere dönüşüm 1 saatte tamamlanmıştır. Ilımlı sıcaklıklarda (32⁰C), alkali katalizör varlığında, 4 saatte %99'luk ester dönüşümü sağlanmıştır. Asit katalizörler varlığında yürütülen transesterifikasyon daha yavaştır. Ham yağa da transesterifikasyon reaksiyonu uygulanabildiği, ancak ester dönüşümünün oluşan gum ve ham yağda yeralan bazı maddelerden dolayı azaldığı açıklanmıştır.

Işığigür yaptığı çalışmasında, Türkiye kökenli 19 aspir tohum yağı çeşidinin dizel yakıt alternatifi olarak değerlendirilebilirliğini incelemiştir [19]. Öncelikle aspir çeşitlerinin standart yöntemlerle tohum ve yağ karakterizasyonunu incelemiştir. Bu çeşitler arasında Yenice aspir tohumuna transesterifikasyon, Dinçer aspir tohum yağına ise seyretme tekniği uygulayarak yüksek viskozite problemlerini çözümlemiş ve dizel yakıt alternatif adaylarını hazırlamıştır. Metanol kullanılarak gerçekleştirilmiş olan transesterifikasyon reaksiyonu koşulları ve reaksiyon kinetiği çalışması ikinci ana bölümde verilmiştir. Transesterifikasyon ile elde edilen metil ester ile seyreltme tekniği ile elde edilmiş olan %20 Dinçer aspir tohum yağı + %80 dizel yakıt karışımının ASTM yöntemlerine göre yakıt özellikleri belirlemiş ve sonuçların No.2 dizel yakıtı ile uyum gösterdiği saptamıştır.

Noureddini, Harkey ve arkadaşları trigliseridlerden transesterifikasyon yolu ile metil ester elde etmek için sürekli proses ile pilot ölçekte bir çalışma yapmışlardır [20]. Deneysel çalışmalarında tüm dönüşüm üzerindeki karıştırma kuvvetinin, stokiyometrenin ve katalizör konsantrasyonunun etkisini incelemişlerdir. Geliştirilen prosesle bitkisel yağdan % 98 gibi yüksek dönüşümde metil ester elde edilmiştir; fakat bu yüksek dönüşüme ulaşılan yüksek katalizör derişimi, gliserin ortamındaki metil ester çözünürlüğünü de arttırmıştır.

Darnoko ve arkadaşı palm yağı ile metanolün KOH katalizörü varlığında transesterifikasyonu ile metil ester üretmişlerdir [21]. Kesikli reaktörlerdeki transesterifikasyon hızı 60°C'ye kadar artmıştır. Triglicerid (TG), monogliserid (MG) ve digliserid (DG) dönüşümü 30 dakika'ya kadar 2. derece olarak saptanmıştır. TG, DG ve MG hidroliz reaksiyonlarının reaksiyon sabitleri 0,018; 0,191 %ağırlık/dak'dır ve yüksek sıcaklıklarda yüksek TG, DG ve MG'nin aktivasyon enerjileri sırasıyla 14,7; 14,2 ve 6,4 kcal/mol'dür. Optimum katalizör konsantrasyonu %1 KOH'dır.

Mittelbach, susuz ortamlarda ayçiçek yağının lipaz katalizörlüğünde alkolizini incelemiştir [14]. *Pseudomonas fluorescens*, *Mucor miehei* ve *Candida sp.* lipazları varlığında, çözücü olarak petrol eterinin kullanıldığı etanoliz ve metanoliz reaksiyonlarında yüksek dönüşümler elde etmiştir. Reaksiyon ürününün tri-, di-, monogliserid ve alkil ester içeriği incelenmiştir. *Pseudomonas* lipazı ile esterifikasyon reaksiyonları daha iyi sonuç verdiği için bu lipazla çalışmaya karar verilmiştir. Enzim miktarının, susuz ve sulu ortamda 5 homolog alkolün reaksiyon hızına etkisi incelenmiştir. Uzun zincirli alkollerle reaksiyon hızının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Metanolle yapılan reaksiyon sonucunda susuz ortamda en yüksek hız elde edilmiştir; fakat % 96'lık etanolle saf etanole göre daha iyi sonuç alınmıştır.

Wang D. ve çalışma grubu, celite üzerine immobilize edilmiş *Pseudomonas* lipazı katalizörlüğünde uzun zincirli yağ asitli trigliseridlerin etanol ve izopropanolle oda sıcaklığında alkolizini incelemişlerdir [22]. Tripalmitinin, izopropanoldeki alkoliz başlangıç hızının etanoldekinden daha fazla olduğu, trolein için ise tam tersi durumun geçerli olduğu tespit edilmiştir. Tripalmitinin izopropanoliz reaksiyonundaki dönüşümünün etanoliz reaksiyonundan daha yüksek olduğu görülmüştür. 6 saat sonunda tripalmitinin izopropil estere dönüşümü %75 iken etanoliz reaksiyonu sonucunda dönüşüm bunun yarısı kadar elde edilmiştir.

Basheer ve arkadaşları, trigliseridlerin modifiye edilmiş lipaz katalizörlüğünde n-hekzan çözücü ortamında transesterifikasyonunu incelemek için kinetik model çalışması yapmışlardır [23]. Model için kullanılan enzimlerin 1,3 pozisyon seçiciliğine sahip olduğu ve yağ asidi seçiciliğinin olmadığı varsayılmıştır. Model 2. derece ardışık tersinir reaksiyonların kütle dengeleri üzerine kurulmuştur ve deneysel olarak kolayca belirlenebilen bir parametre gerektirmektedir. Bütün olası

trigliseridlerin konsantrasyonunu başlangıç durumlarına ve reaksiyon zamanlarına bağlayan belirli eşitlikleri elde etmek için diferansiyel hız eşitlikleri analitik olarak çözülmüştür. Aynı spesifik hız sabiti sağlanan farklı biyokatalizör konsantrasyonlarında gerçekleştirilen deneylerin sonuçları oluşturulan modelle uyum içindedir. Model aynı spesifik hız sabitinin değeri için trigliserid ve yağ asidi arasındaki asidoliz reaksiyonunun deneysel verileri ile uyum sağlamaktadır. Bu da modifiye edilmiş lipazın gliserolün 1 ve 3 pozisyonuna bağlanmış yağ asitleri ve serbest yağ asitler arasında ayırım yapmadığını göstermektedir.

Linko ve arkadaşları, 25 farklı lipazla yaptıkları deneyler sonucunda oleik asit ve 1-bütanolden en yüksek dönüşümle butil oleat oluşumunun *Candida rugosa*, *Chromobacteria viscosum*, *Rhizomucor miehei* ve *Pseudomonas fluorescens* enzimleri ile sağlandığı belirlenmiştir [24]. Genelde, ester dönüşümü su eklenmeden sağlanamamıştır. Sadece *Ch. viscosum* lipazı, 12 saat sonunda 1-butanol fazlası ile çalışıldığında, su eklemekten %98 oranında ester dönüşümü sağlamıştır. *C.rugosa* ve *R.miehei* enzimi oleik asit fazlasıyla ve % 0,3 enzim kullanıldığında başlangıç su içeriği %3,2 ve %14 olan karışımların reaksiyonundan sırası ile % 94 ve %100 dönüşüm sağlamışlardır. Ayrıca düşük erusik asit içeren kolza yağının 2-etil-1-hekzanol ile çözücüsüz ortamda transesterifikasyonunu da incelemişlerdir. Bu reaksiyonda en iyi dönüşümü *C. rugosa* lipazı 1/2,8 yağ/alkol mol oranında %1 su içeriği ve 37°C'de sağlamıştır. 55°C'ye kadar reaksiyon hızının arttığı; fakat sonuç ester dönüşümünün etkilenmediği saptanmıştır. Enzim 60°C'de inaktive olmuştur. Lipaz miktarı % 0,3 'ten % 14,6'ya çıkarıldığı zaman ester dönüşümü 1 saatte %88'lere ulaşmıştır.

Nelson, Foglia ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, trigliseridlerin kısa zincirli alkollerle, kısa zincirli alkil esterlere transesterifikasyonunda, lipaz katalizörlerinin etkisini incelemişlerdir [13]. *Mucor miehei* lipazı katalizörlüğünde trigliseridlerin alkil estere dönüşmesinde en etkili alkollerin birincil alkoller olduğu, *Candida antartica* lipazı için ise en uygun alkollerin ikincil alkoller olduğu görülmüştür. Donyağından kısa zincirli ester eldesinde % 90'dan yüksek dönüşüm sağlanmıştır

Decagny ve arkadaşları 8 farklı mikrobiyal ve bir hayvansal orijinli lipazı kullanarak, trioleinin stearil alkolle alkolizinden waks esteri üretimini incelemişlerdir [25]. *Alcaligenes sp.* ve *Chromobacterium viscosum* lipazı en iyi ester dönüşümü (yaklaşık %53) sağlamıştır; ancak *Alcaligenes sp.* lipazı (5saat) ile bu reaksiyonun

Chromobacterium viscosum'a (200 saat) göre daha kısa sürede katalizlendiği belirlenmiştir. *Mucor javanicus*, *Mucor miehei* ve *Pseudomonas fluorescens* enzimleri ile ester dönüşümü 150 saatte % 35 ulaşılabilmiştir. Diğer lipazlar ile % 20'den daha az dönüşüm sağlanmıştır. Reaksiyon mekanizması ise *Alcaligenes sp.* lipazı kullanılarak incelenmiştir.

Ghosh ve Bhattacharyya yaptıkları çalışmada, soya fosfolipidleri ve alkollerinin eşdeğer mol oranlarında, % 10 *Mucor miehei* (reaktan ağırlığınca) lipazı katalizörlüğünde, 55°C'de ve 24 saat boyunca karıştırılmasıyla lysofosfolipidlerin ve kendi alkollerinin yağ asidi esterlerinin oluşumunu incelemişlerdir [26]. Ürünler lipaz uzaklaştırıldıktan sonra kolon kromatografisi ile ayrılmıştır. % 69-78 oranında lysofosfolipidler teorik verime yakın miktarda esterler elde edilmiştir.

Ayçiçek yağının etanolizi, çözücüsüz ortamda Lipozyme immobilize lipazı katalizörlüğünde Selmi ve Thomas tarafından gerçekleştirilmiştir [27]. Yağ/etanol mol oranının, sıcaklığın, eklenen su ve enzim miktarının reaksiyona etkisi incelenmiştir. Optimum koşullar, 1/3 yağ/etanol mol oranı, 50°C, % 0 su içeriği ve 0,4 g enzim/5,7 mmol ayçiçeği yağı olarak belirlenmiştir. Enzimin immobilize lipaz olması, tekrar kullanılabilir olmasını sağlamıştır. Enzim ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilmiş, böylece enzim maliyetinin azalması sağlanmıştır.

Dossat, Combes, Marty yüksek oleik asit içerikli ayçiçek yağının immobilize Lipozyme^(R) katalizörlüğünde n-hekzan çözücü ortamında butanol ile transesterifikasyon reaksiyonunu sürekli dolgulu yataklı reaktörde gerçekleştirmişlerdir [28]. Ana ürünler olarak gliserin, butil ester ve oleik ester elde edilmiştir. Hekzanda çözünmeyen gliserinin, tankta enzim tabakası üzerine adsorblandığı ve enzim aktivitesini düşürdüğü görülmüştür. Enzim etrafındaki hidrofilik bir tabakanın, hidrofobik substratın organik fazdan enzime difüzyonunu engellediği tespit edilmiştir. Enzim aktivasyonunu iyileştirmek için birçok çözüm denenmiştir. Reaksiyonda oluşan gliserini adsorplaması için enzim yatağına eklenen silika jel de enzim aktivitesinin düşmesini engelleyememiştir. Gliserinin, oluşur oluşmaz, reaksiyon ortamındaki çözünürlüğünü arttırmak için hekzana aseton katılarak kullanılmış; fakat bu sefer de yüksek ester dönüşümü elde edilememiştir. Sonuçta, aralıklı olarak katalizör yatağı su ilave edilmiş tersiyer alkol ile çalkanarak, gliserin reaktörden uzaklaştırılmış ve yüksek dönüşüm sağlanmıştır.

Shimada ve çalışma grubu, bitkisel yağların enzim katalizörlüğünde sürekli metanoliz reaksiyonunu incelemişler ve *Candida antartica* lipazını metanoliz için en etkin katalizör olarak tespit etmişlerdir [29]. Tüm yağı metil estere dönüştürmek için en az 3 molar ekuvalent metanol gerektiği açıklanmıştır. Reaksiyon kademeli metanoliz olarak gerçekleştirilmiş ve ilk kademe 30°C’de, 1/1(mol/mol) yağ/metanol oranında, %4 immobilize enzim katalizörlüğünde, 10 saat sürdürülmüştür. İkinci kademede ikinci molar ekuvalent metanol eklenmiş ve bu reaksiyon da 14 saat sürmüştür. Üçüncü kademede üçüncü molar ekuvalent metanol eklenerek 24 saat sürdürülmüştür. Bu üç kademe sonucunda, yağın % 98,4’ü estere dönüşmüştür. Lipazın 50 kullanımı sonunda (100 gün) % 95’den fazla ester dönüşümü elde etmişlerdir.

Uosukainen ve çalışma grubu, istatistiksel deneysel dizaynlarla, temel komponent analizlerini birlikte kullanarak, enzimatik transesterifikasyon reaksiyonlarındaki proses değişkenleri arasındaki ilişkileri incelemişlerdir [30]. Çalışmada, kolza yağı metil esterlerinin trimetilolpropan ile alkoliz reaksiyonu incelenmiştir. Reaksiyon sonucunda trimetilolpropan esterleri oluşmuştur. Su aktivitesinin ve yan ürün olarak oluşan metanolün, ortamdan uzaklaştırılmasının ürün verimini etkileyen en önemli faktörler olduğu beirtilmiştir. Mono-, di-, trisubstituye esterler farklı optimum koşullarda oluşmuştur.

De ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında, lipaz katalizörlüğünde *Madhuca latifolia*, *Mangifera indica* ve *Shorea robusta* gibi ikincil öneme sahip bazı sıvı ve katı yağların düşük, orta ve yüksek molekül ağırlığına sahip alkol esterlerine dönüşümünü incelemişlerdir [11]. Çözücüsüz ortamlarda, bu yağların, ağırlıkça %10 *Mucor miehei* lipazı ile yüksek miktarda estere dönüştüğü gözlenmiştir. C₄, C₈, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈, ve C_{18:1} alkollerinin, kendi alkol esterlerine mol bazında dönüşüm oranlarının, % 86,8 ile % 99,2 arasında değiştiği; yağ bazında ise bu değişimlerin, % 108 ile %123,5 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Watanabe, Shimada ve arkadaşları, *Candida antartica* lipazı katalizörlüğünde, bitkisel yağlardan sürekli sistemde metil ester üretmişlerdir [5].*Candida antartica* lipazının, yağ asidine göre metanolün molar ekuvalantının 1/2’den fazla olduğu durumda inaktive olduğu bilinmektedir. Üç kademeli metanoliz yöntemi uygulayarak, enzimin inaktivasyonu önlenmiştir. Bu çalışmada ise 2/3 molar ekuvalent metanol ile açilgliserol (AG) ve %33 metil ester (ME) içeren karışımın

içerisinde, enzimin inaktive olmadığı görülmüştür. Bu nedenle iki kademeli metanoliz gerçekleştirilmiştir. İlk kademe 30°C’de, 1/3 molar ekuvalant miktarında, %4 enzim kullanılarak, 12 saatte gerçekleştirilmiştir; ikinci kademe ise 2/3 molar ekuvalant metanol eklenerek 24 saatte gerçekleştirilmiştir. İki kademeli metanoliz sonucunda % 95’lik ester dönüşümü elde edilmiştir. Kullanılan imobilize lipaz yeni substrata eklendiğinde aktivitesinde bir azalma olmadan 70 kere daha kullanılabilmiştir. Çalışma ayrıca *Candida antartica* lipazı ile dolu kolonda sürekli olarak da gerçekleştirilmiştir. Lipaz, AG, %33 ME ve 2/3 molar ekuvalant metanol içeren karışım, kolona beslendiğinde inaktive olduğu için üç kolon kullanılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Her bir kolon 3g immobilize enzimle doldurulmuştur. Reaksiyon sonucunda %93’lük dönüşüm elde edilebilmiş ve dönüşümde hiçbir azalma olmaksızın lipaz 100 gün süresince kullanılabilmiştir.

Samukawa ve arkadaşları *Candida antartica* (Novozym 435) lipazına ön işlem yapılmasının, biyodizel yakıtı üretimi için uygulanan metanoliz reaksiyonuna etkilerini incelemişlerdir [31]. Novozym 435’e 0,5 saat metil oleat içinde, ardından da 12 saat soya yağında ön inkübasyon uygulandığında metanoliz işlemi daha hızlı gerçekleşmiştir. Ortamın su içeriğinin artması ve hem işlem görmüş hem de görmemiş enzimle yapılan metanoliz reaksiyonlarında ilk reaksiyon hızları düşmüştür. Metanol içeriğinin artması ile ilk hızlar yükselmiş, bir maksimum verdikten sonra da artan metanol miktarı ile azalma görülmüştür. İlk hızların metanol miktarıyla değişmesi nedeniyle substrat inhibasyonu Michaelis-Menten eşitliği ile incelenmiştir. Bu eşitlikten yola çıkarak kademeli olarak eklenmesi gereken metanol miktarı belirlenebilmiştir. Ön işlem görmüş Novozym 435 kullanıldığında metil ester içeriği ortama 0,25-0,4 saat aralıklarla, 0,33 molar metanol eşdeğeri miktarında metanol kademeli olarak ilave edildiğinde, 3,5 saat sonunda %97’nin üzerine yükselmiştir.

Vacek ve çalışma arkadaşları, siyah kuş üzümü yağının *Pseudomonas fluorescens* lipazı katalizörlüğünde, 30°C’de etanol (%96 v/v) ile enzimatik alkolizini gerçekleştirmişlerdir [32]. 16 saat sonunda yağda %95 oranında bulunan triağılglicerolün; yağ asidi etil esterleri, serbest yağ asitleri, monoağılglicerol ve diağılglicerolden oluşan karışıma dönüştüğü belirlenmiştir. En yüksek yağ asidi etil ester miktarı 8 saat sonunda % 52 olarak gözlenmiştir.

Bitkisel yağların, *Cryptococcus* S-2 lipazı katalizörlüğünde sulu ortamda gerçekleştirilen metanoliz reaksiyonuna etkiyen faktörler Kamini ve Iefuji tarafından incelenmiştir [33]. Mayadan elde edilen ham lipaz ile bitkisel yağın 1/1 yağ/metanol mol oranında, %40 su ortamında metanolizi etkin bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Pirinç kepeği yağının 30°C’de ve 96 saat sonunda elde edilen metil ester içeriği yüksektir. Sonraki optimizasyon çalışmaları farklı enzim, su ve metanol miktarlarında gerçekleştirilmiştir. Enzim, 1/4 yağ/alkol mol oranında, substratın ağırlıkça %100 su içeriği koşullarındaki karışımda inaktive olmamıştır ve yağ/alkol mol miktarı arttıkça, su içeriği de %60’dan %100 çıktıkça metilester içeriği artmıştır. Optimum metanoliz koşulları, yağ/alkol mol oranının 1/4, su içeriğinin substratın ağırlıkça %80’i, sıcaklığın 30°C’de olduğu reaksiyon koşullarıdır. Metanoliz tek kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. 120 saat sonundaki metil ester içeriği ağırlıkça %80,2’dir. Aynı koşullar, pirinç kepeği yağının ve birincil alkollerin dizel yakıtı alternetifi olan alkil ester türevlerine alkolizi için de uygulanmıştır.

Köse, Türkiye kökenli rafine pamuk tohumu yağının metanol ile Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığında, çözücüsüz ortamda transesterifikasyon reaksiyonunu gerçekleştirmiştir [34]. Optimum koşulları, yağın % 30’u kadar enzim, yağ/alkol mol oranı 1/4, sıcaklık 50°C ve reaksiyon süresini 7 saat olarak, maksimum ester içeriğini de % 91,5 olarak belirlemişlerdir. Aynı koşullarda kısa zincirli birincil ve ikincil alkollerle yapılan alkoliz reaksiyonları sonucunda ester dönüşümü % 72 ve % 94 arasında olduğu belirlenmiştir.

Atık yemeklik yağdan lipaz katalizörlüğünde metanoliz reaksiyonu ile biyodizel yakıtı üretimi, Shimada ve arkadaşları tarafından incelenmiştir [35]. Lipazın geri dönüşümsüz olarak inaktive olmasının nedeninin, ortamda çözünmeyen metanolle temasından kaynaklandığı ve bu sorunun kademeli metanoliz ile giderileceği açıklanmıştır. *Candida antartica* lipazı katalizörlüğünde 2 kademeli kesikli sistemde metanoliz reaksiyonu ile atık yağlardan biyodizel elde edilmiştir. Karıştırmadan dolayı immobilize lipazda bir bozulma olduğunda, bu durum için de reaksiyon 3 kademeli akışkan sistemde gerçekleştirilmiştir. Her iki reaksiyon sisteminde, atık yağların biyodizel yakıtı dönüşümünün % 90’ların üzerinde gerçekleştiği, enzimin de 100 günden fazla kullanılabileceği açıklanmıştır Ayrıca kademeli alkolizin tonbalığı yağının etanolizinde de başarılı bir şekilde uygulanabileceği belirtilmiştir.

Watanabe ve çalışma grubunun yaptıkları çalışmada, *Candida antartica* lipazının ham soya yağının metanolizini katalizlemediği; ancak gamı giderilmiş soya yağının metanolizi katalizlediği tespit edilmiştir [36]. Reçinenin giderildiği kademede ayrılan maddelerin metanolizi inhibe ettiği düşünülmüştür. Soya yağı reçinesinin ana bileşenleri, metanolizi inhibe ettiği düşünülen fosfolipidlerdir. İnhibisyonun, lipaz molekülleri ile substratdaki fosfolipid bağlarının etkileşiminden kaynaklandığı açıklanmıştır. Bu nedenle reçinesi giderilmiş soya yağının metanolizde kullanılması gerektiğine karar verilmiştir. Üç kademeli metanoliz reaksiyonu ile % 93,8 oranında metil ester dönüşümü elde edilmiştir ve lipaz 25 kere aktivitesinde bir azalma olmadan kullanılabilmektedir.

Yüksek oleik asit içerikli ayçiçeği yağının, bütanol ile immobilize Lipozym^(R) lipazı katalizörlüğünde hekzan ve çözücüsüz ortamda enzimatik transesterifikasyon reaksiyonu Dossat ve arkadaşları tarafından incelenmiştir [37]. Çözücüsüz ortamlarda daha yüksek ilk hızlar elde edilmiş olsa da, termodinamik dengede oleik asidin sadece % 60 oranında estere dönüştüğü görülmüştür. Hekzan ortamında ise bu dönüşümün % 95 olduğu gözlenmiştir.

Metil esterlerin ayçiçek yağından lipaz katalizörlüğünde eldesi Soumanou ve Bornscheuer tarafından incelenmiştir [38]. Bu çalışmada, çözücünün alkoliz hızı üzerindeki etkisi incelenmiş ve en yüksek dönüşüm (%80), çözücü olarak n-hekzan ve petrol eteri kullanıldığında elde edilmiştir. Farklı mikrobiyal enzimler ile, çözücüsüz ortamda yapılan deneyler sonucunda ise en yüksek dönüşüm (>%90) *Pseudomonas fluorescens* (Amona AK) enzimi katalizörlüğünde, 1/4,5 yağ/alkol oranında elde edilmiştir. Enzimlerin inaktivasyonunu engellemek için metanoliz reaksiyonu üç kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca immobilize *Rhizomucor miehei* lipazı (Lipozym IM, RM) ile % 80'in üzerinde dönüşüm elde etmişlerdir.

Akdere, çalışmasında Türkiye kökenli fındık yağının, füzal yağı fraksiyonu ile Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığında, çözücü ortamındaki alkoliz reaksiyonu gerçekleştirmiştir [6]. Bu çalışmada öncelikle fındık yağının karakterizasyonu ve enzimatik alkoliz reaksiyonunda etkin olan farklı adsorban kullanımı ve miktarı, enzim/yağ ağırlık oranı, yağ/alkol mol oranı, sıcaklık gibi çeşitli parametreler incelemiştir. Optimum koşullar, silika jel/yağ ağırlık oranı 0,8, enzim/yağ ağırlık oranı 0,1, yağ/alkol mol oranı 1/3, sıcaklık 70°C olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda 2 saat sonunda elde edilen ester miktarı %100 olarak bulunmuştur. Fındık yağı

enzimatik reaksiyonları, füzöl yağ ve n-hekzan çözücü ortamı için belirlenmiş olan optimum koşullarda farklı alkoller (metanol, 1-propanol, n-bütöl alkol, izo-bütöl alkol, n-amil alkol, izo-amil alkol, n-oktanol) ile gerçekleştirilmiş ve en yüksek ester verimi, dallanmış yapıdaki alkollerde elde edilmiştir. Farklı çözücü ortamlarında yapılan deneylerde ise n-hekzandan sonra en uygun çözücü izo-oktan olarak belirlenmiştir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışmada; Türkiye kökenli fındık yağının metil alkol ile enzimatik alkoliz reaksiyonu incelenmiş ve reaksiyon üzerinde etkili olabilecek parametreler üzerinde çalışılmıştır.

Deneysel çalışma aşağıda açıklanan üç aşamada yürütülmüştür.

- 1) Fındık yağı-metil alkol enzimatik alkoliz reaksiyonu için uygun mikrobiyal enzimin belirlenmesi,
- 2) Fındık yağı-metil alkol enzimatik alkoliz reaksiyonu için optimum koşulların belirlenmesi,
- 3) Fındık yağı-metil alkol enzimatik alkoliz reaksiyonuna çözücü ortamının etkisinin incelenmesi.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan fındık yağı Oruçoğlu Yağ Fabrikası'ndan (Afyon) temin edilmiştir. Fındık yağının bazı özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Deneylerde kullanılan Lipase AK, Amona Enzyme Inc., Nagoya, Japan; Lipase PS, Lipolase 100T, Novozym 435 ve Lipozyme IM ise Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Denmark firmaları tarafından hediye edilmiştir. Bu enzimlerin orijinleri ve firma bilgileri ile literatürden temin edilen bazı özellikler Tablo 3.2'de görülmektedir. Kullanılan diğer kimyasal maddeler analitik saflıktadır.

Tablo 3.1. Fındık Yağının Bazı Teknolojik Özellikleri [6].

Özellikler	Fındık yağı
Asit değeri, mg KOH/g yağ	0,395
Sabunlaşma değeri, mg KOH/g yağ	185,1
Yağ asidi bileşimi, ağırlık %'si	
C _{16:0}	5,5
C _{18:0}	10
C _{18:1}	75
C _{18:2}	2,5
Diğer	7
Yağın ortalama molekül ağırlığı kg/mol kg	909,34

Tablo 3.2. Deneylerde Kullanılan Enzimlerin Orijin ve Özellikleri [39,40,41]

Özellikler	Enzim Cinsi				
	Lipase AK	Lipase PS	Lipolase 100T	Novozym 435	Lipozyme IM
Orijin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Candida antarctica</i>	<i>Mucor miehei</i>
Tip	Bakteriyel	Bakteriyel	Mantar	Mantar	Mantar
Pozisyon seçiciliği	Yok	Yok	1,3-pozisyon seçici	Yok(Bazı reaktanlara karşı 1,3-seçici)	1,3-pozisyon seçici
Formu	Toz	Toz	Granül	İmobilize	İmobilize
Optimum pH	9-11	7		7	
Optimum sıcaklık °C	45-55	60	40	70-80°C	30-70°C
Su, %			1,8	1-2	2-3

3.2. Deney Düzenegi

Enzimatik alkoliz reaksiyonu, su banyosu içine yerleştirilmiş, 50 mL hacimli, dibi yuvarlak cam bir balonda gerçekleştirilmiştir. Su banyosunun sıcaklığı özel bir ısıtıcıli manyetik karıştırıcı (Framo-Geratechnik M22/1 5655 Franz Morad Eisenbach, Almanya) ile ± 2 °C hassasiyetle kontrol edilmiştir. Karıştırma hızı tüm deneylerde 800 devir/dak olarak sabit tutulmuştur.

3.3. Fındık Yağının Enzimatik Metanoliz Reaksiyonu

Enzimatik alkoliz reaksiyonu için 5 g yağ, belirli mol oranlarında metil alkol ve çözücü olarak n-hekzan (veya farklı çözücüler) reaksiyon balonuna alınarak ısıtılmış ve karışım istenilen sıcaklığa ulaşınca sırasıyla enzim ve silikajel ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. İncelenen her koşulda deneyler iki kez tekrarlanmış ve iki deneyde elde edilen sonuçlar ortalama değer $\pm$ sapma olarak verilmiştir. Reaksiyon yürüyüşü belirli zaman aralıklarında alınan (yaklaşık 1 mL) numunelerin bileşimlerinin belirlenmesi ile takip edilmiştir. Bu amaçla alınan numuneler yaklaşık 100 °C'deki su banyosunda 15 dakika bekletilerek enzimin inaktif hale getirilmesi sağlanmıştır. Bu işlemden sonra üzerlerine 5 mL n-hekzan ve 2 mL'de destile su ilave edilen numuneler 5 dakika santrifüjlenerek yağ ve su fazına ayrılmıştır. Yağ

fazı, içerisinde susuz Na₂SO₄ bulunan şişelere alınarak kurutulmuştur. Daha sonra bu numunelere 3 mL daha n-hekzan eklendikten sonra bileşimleri, ince yüzey kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü (TLC-FID) kombine sistemi ile belirlenmiştir. Analiz işleminde yürütücü sistem olarak benzen:kloroform:asetik asit (hacmen 50:20:0.7) ve benzen:n-hekzan (hacmen 35:35) ikili sistemi kullanılmıştır. Ürün bileşiminin belirlenmesi için, üzerlerine 0,1 µl numune enjekte edilen SIII rodları (silikajelle kaplanmış kuartz çubuklar) 23 dakika birinci sistemde bekletildikten sonra 60⁰ C'lik etüve (Rod Dryer TK 5 Istron Lab. Inc., Tokyo, Japonya) konulmuştur. Çözücülerin uçması için 6 dakika etüvde bekletilen rodlar daha sonra, ikinci sisteme alınarak bu sistemde de 30 dakika bekletilmiştir. Tekrar 60° C'lik etüvde 6 dakika tutulup çözücülerin uçması sağlanmıştır. Analiz için TLC-FID sistemindeki hidrojen gazı debisi 160 mL/dak, hava debisi 2200 mL/dak ve tarama hızı 30 s/tarama olarak ayarlanmıştır. Reaksiyon ürünlerinin içerdiği yağ asidi metil esteri (ME), triaçilgliserol (TAG), diaçilgliserol (DAG), monoaçilgliserol (MAG) ve serbest yağ asidi (FFA) niktarları ağırlık yüzdesi olarak belirlenmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

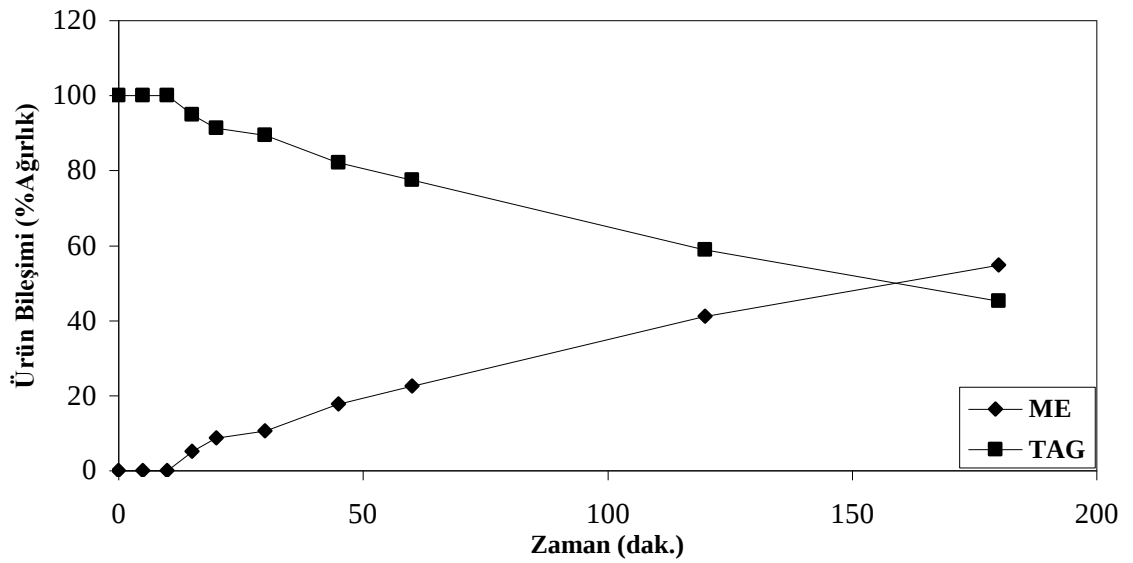
4.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Farklı Enzim Kullanımının Etkisi

Fındık yağının metanol ile enzimatik alkoliz reaksiyonu 50 °C’de, 1/3 yağ/metanol mol oranı, 0,1 enzim/yağ ağırlık oranı ve 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranında, 25 mL n-hekzan ortamında farklı enzim türleri ile gerçekleştirilmiştir. Enzim olarak *Mucor miehei* orijinli Lipozym IM, *Candida antartica* orijinli Novozym 435, *Pseudomonas fluorescens* orijinli Lipase AK, *Pseudomonas cepacia* orijinli Lipase PS ve *Aspergillus oryzae* orijinli Lipolase 100T kullanılmıştır. Oluşan ürünlerin yağ asidi metil ester (ME) içerikleri Tablo 4.1’de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi Şekil 4.1 ve 4.2’de ve ekler bölümünde verilen Tablo A.1-A.2’de sunulmuştur.

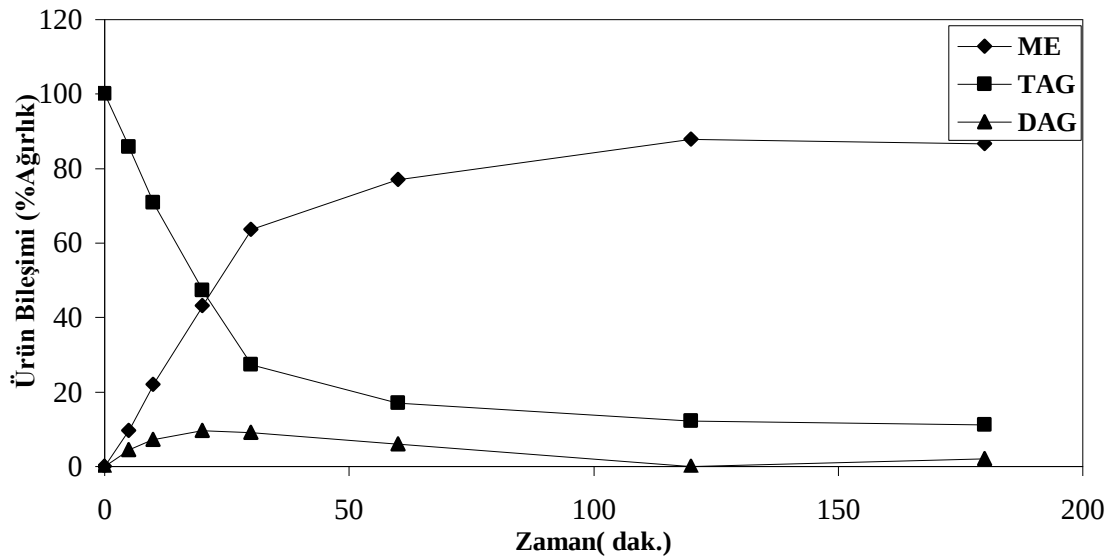
Tablo 4.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Cinsinin Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (%Ağırlık)				
	Lipase AK	Lipolase 100T	Lipase PS	Novozym 435	Lipozyme IM*
0	--	--	--	--	--
5	--	--	--	--	9,7± 0,6
10	--	--	--	--	21,98± 2,2
15	--	--	--	5,07	
20	--	--	--	8,3	43,12± 0,4
30	--	--	--	10,57	63,65± 6,1
45	--	--	--	17,83	
60	--	--	--	22,54	76,96± 3,8
120	--	--	12,9	41,08	87,82± 2,7
180	--	4,13	21,28	54,72	86,64± 2,1

* Lipozym IM kullanılan reaksiyonlar paralel olarak yürütülmüş ve tabloda elde edilen değerlerin ortalamaları verilmiştir.



Şekil 4.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Novozym 435 Enziminin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.2. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Lipozym IM Enziminin Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Tablo 4.1 ve Şekil 4.1 ve 4.2'den de görüldüğü gibi *Mucor miehei* orijinli Lipozym IM enzimi ile yapılan reaksiyonda 2 saatlik kısa bir süre içerisinde yağ asidi metil ester içeriği yaklaşık % 87'ye yükselmiştir. Enzimlerin yapı, spesifiklik ve katalitik özellikleri farklı olması nedeniyle her bir enzimle farklı yağ asidi metil ester oluşumları elde edilmiştir.

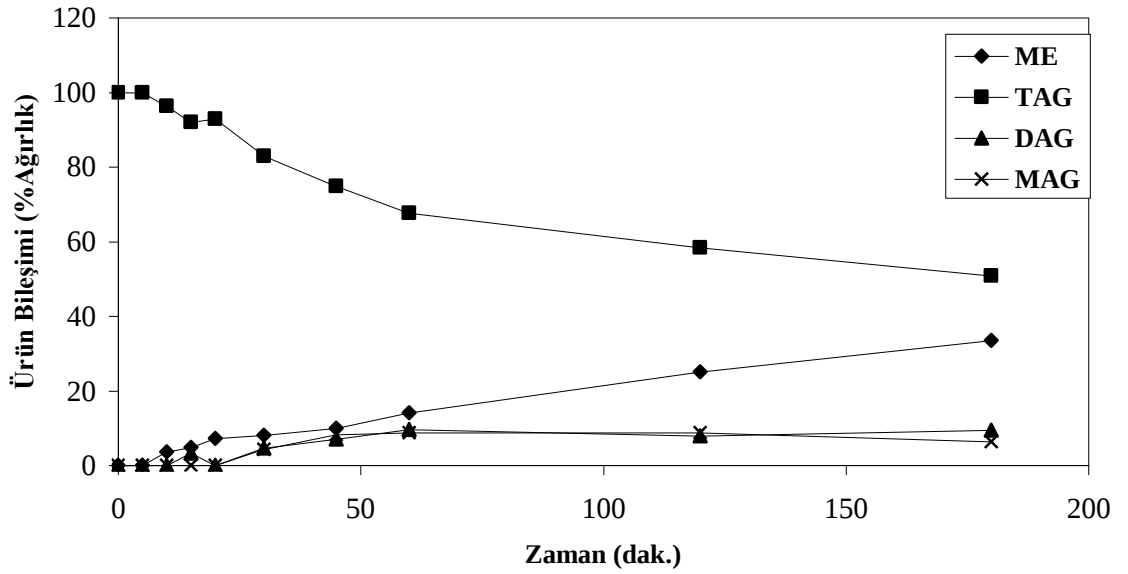
4.2. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Silika jel Etkisi

Literatürde, alkoliz reaksiyonu sonucu oluşan gliserinin enzim üzerine adsorbe olması ile enzim etrafında hidrofilik bir tabaka oluştuğu, bu tabakanın da hidrofobik substratın enzime difüzyonunu engellediği, ayrıca gliserinin lipazın optimum termodinamik su aktivitesinin düşmesine de neden olduğu açıklanarak gliserinin lipaz üzerine adsorbe olmasını engellemek için benzer yapıda olan silika jelin reaksiyon ortamına ilave edilebileceği açıklanmaktadır. Ortama ilave edilen silika jel, gliserin toplayıcı olarak davranıp üretilen gliserinin enzim üzerine adsorbe olmasını engelleyerek enzim koruyucu olarak görev yapmaktadır [27,28]. Bu nedenle fındık yağının alkoliz reaksiyonu, oluşan suyu ortamdan çekmek için reaksiyon ortamına katılan silika jelin miktarının yağın dönüşümüne etkisini belirlemek amacı ile silika jel kullanılmadan ve farklı miktarda silika jel kullanılarak, 50°C’de, 1/3 yağ/metanol mol oranında metanol ve 0,1 enzim/yağ ağırlık oranında da enzim kullanılarak, 25 mL n-hekzan ortamında yürütülmüştür. Silikajelsiz ve 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranında silikajel katılarak yürütülen reaksiyonlarda yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri Tablo 4.2 ‘de, Şekil 4.2- 4.6’da ve ekler bölümünde Tablo A.1 ve A.3-A.6’da verilmiştir.

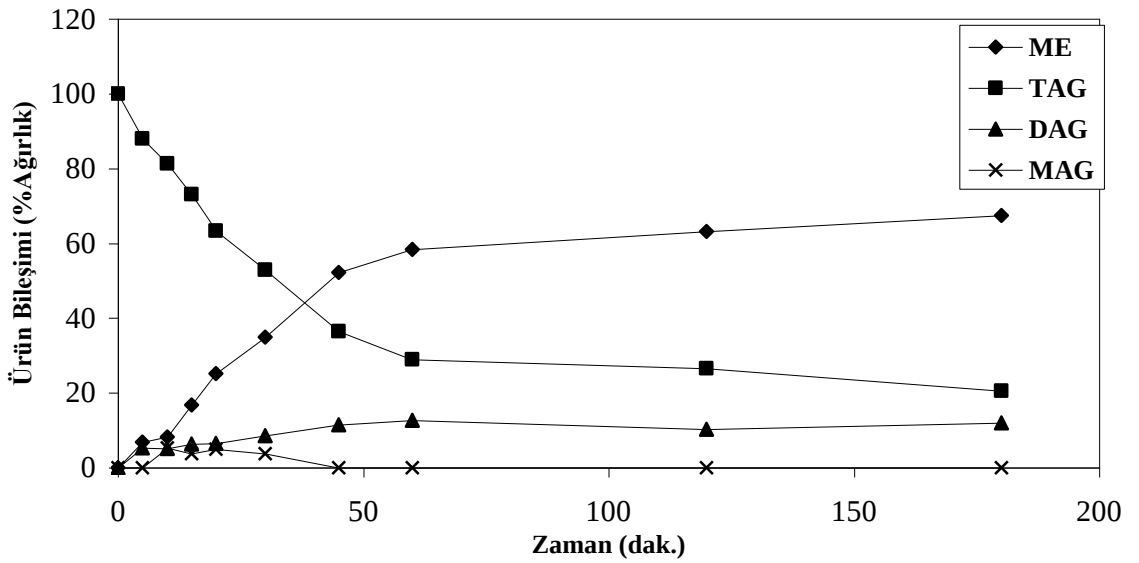
Tablo 4.2. Fındık Yağ-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda Silika jel Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (%Ağırlık)				
	Silika./Yağ 0	Silika./Yağ 0,2	Silika./Yağ 0,4	Silika./Yağ 0,6	Silika./Yağ 0,8*
0	-	-	-	--	-
5	-	6,82	8,08	11,94	9,7 ± 0,6
10	3,65	8,27	20,03	23,16	21,98 ± 2,2
15	4,88	16,8	31,06	32,8	
20	7,17	25,16	40,22	49,01	43,12 ± 0,4
30	8,12	34,83	56,32	64,15	63,65 ± 6,1
45	9,9	52,13	68,75	69,07	
60	13,4	58,43	74,72	84,07	76,96 ± 3,8
120	25,05	63,12	78,65	85,28	87,82 ± 2,7
180	33,43	67,47	81,99	82,02	86,64 ± 2,1

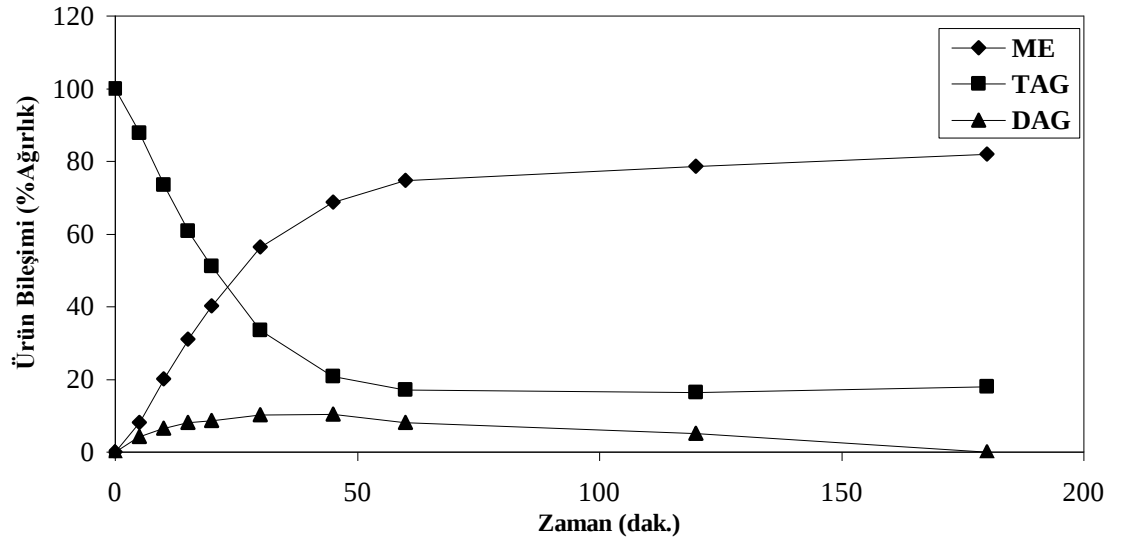
* 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranı için verilen değerler paralel yürütülen iki çalışmanın ortalama değerleridir.



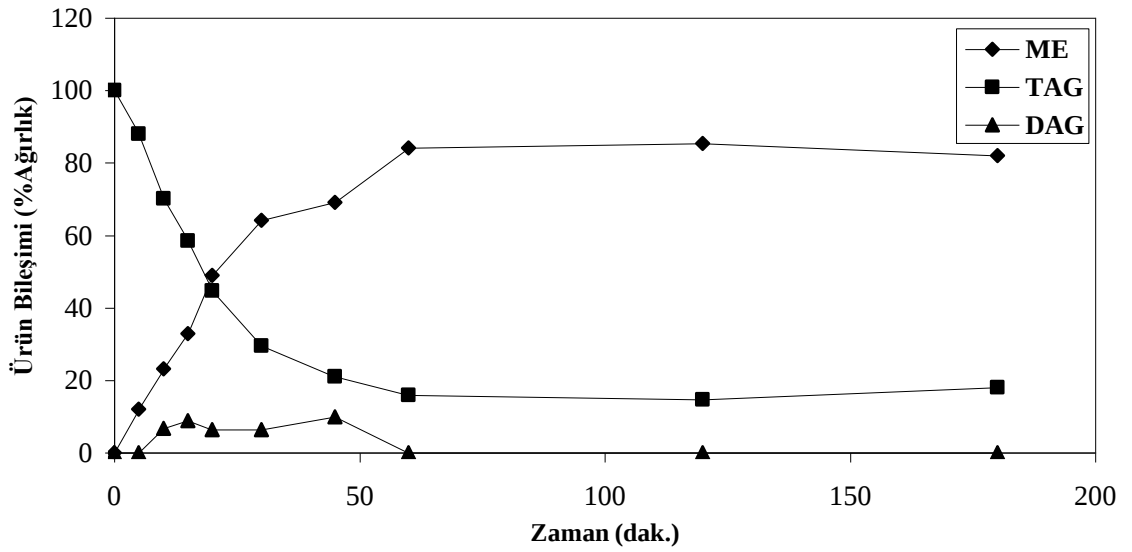
Şekil 4.3. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun Adsorbansız Ortamda Yürütülmesi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 °C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 4.4. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,2 Silikajel/Yağ Ağırlık Oranında Silikajel Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 4.5. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,4 Silikajel/Yağ Ağırlık Oranında Silikajel Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 4.6. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,6 Silikajel/Yağ Ağırlık Oranında Silikajel Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

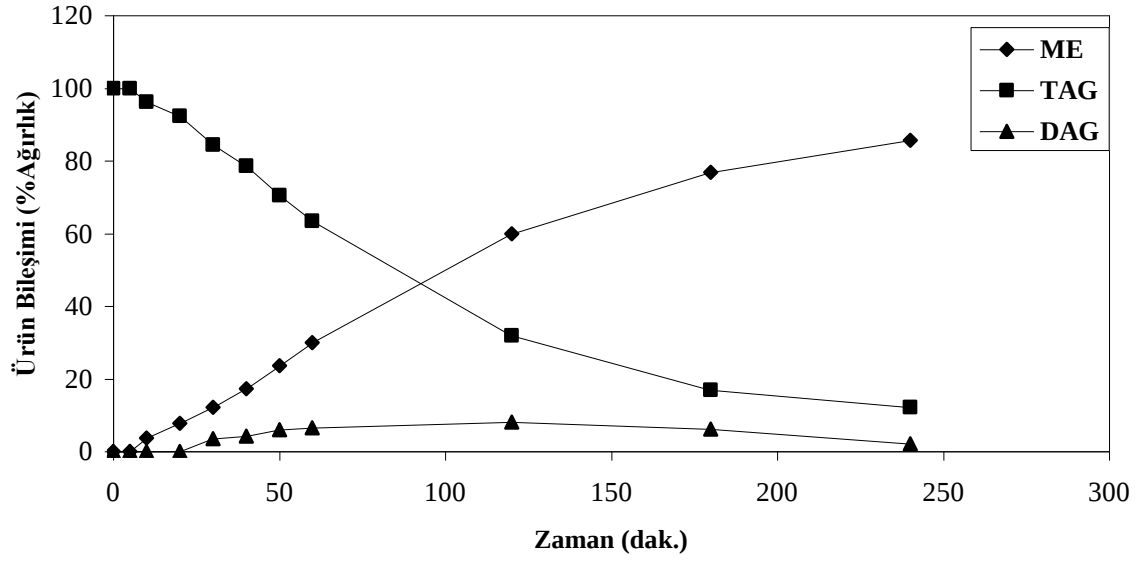
Deneylerden elde edilen sonuçlar silikajel kullanımı ile ester oluşumunun arttığını göstermiştir. Bu sonuç literatür bilgileri ile uyumludur. Tablo 4.2 incelendiğinde 0,6 ve 0,8 silikajel/ yağ ağırlık oranında yürütülen deneylerde elde edilen yağ asidi metil ester içeriklerinin birbirine yakın olduğu görülmüş; fakat 3 saat sonunda en yüksek yağ asidi metil esteri oluşumunun (%86,64) 0,8 silikajel/ yağ oranında elde edildiği dikkate alınarak daha sonraki çalışmalarda bu silikajel miktarında çalışılmasına karar verilmiştir. Reaksiyon süresini belirlemek için 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranında yapılan deneylerden biri 24 saat sürdürülmüştür. Tablo A.7 incelendiğinde 24 saat sonucunda da yağ asidi metil esteri oluşumunun yaklaşık %87 olduğu görülmüştür.

4.3. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi

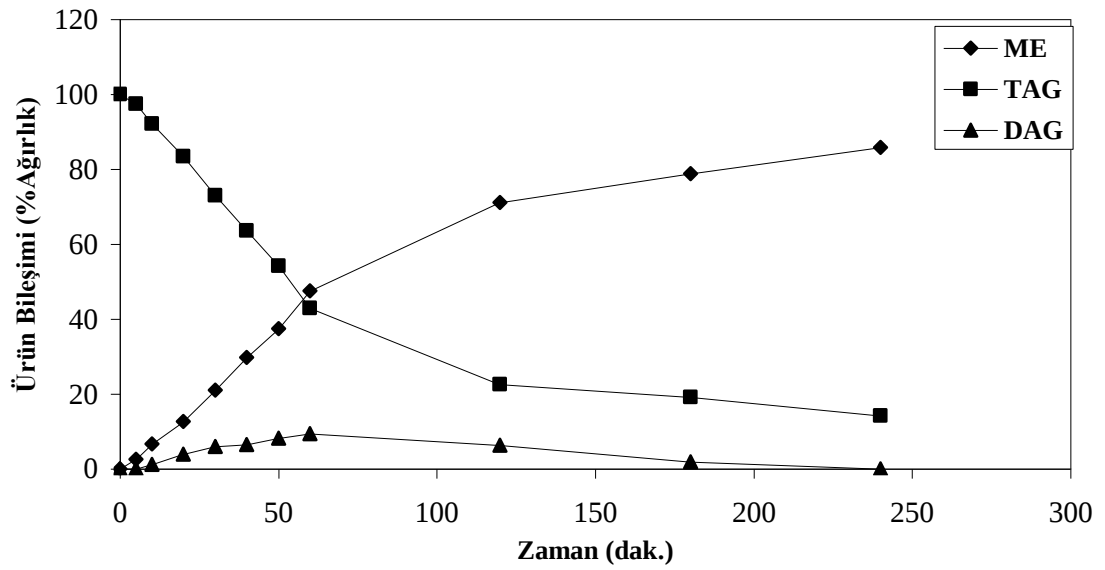
Enzim miktarının fındık yağı alkolizindeki etkisini belirlemek amacı ile, fındık yağı (5g) alkoliz reaksiyonu, metanol (yağ/metanol mol oranı: 1/3), silikajel (silika jel/yağ ağırlık oranı: 0.8) ve 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,1; 0,15 enzim/yağ ağırlık oranlarında enzim kullanılarak, 50°C'de 25 mL n-hekzan ortamında yürütülmüştür. Elde edilen ürünlerin yağ asidi esteri içerikleri Tablo 4.3'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri ise Şekil 4.2, 4.7- 4.11 ve ekler bölümünde Tablo A.1, A.8-A.12'de verilmiştir.

Tablo 4.3 Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

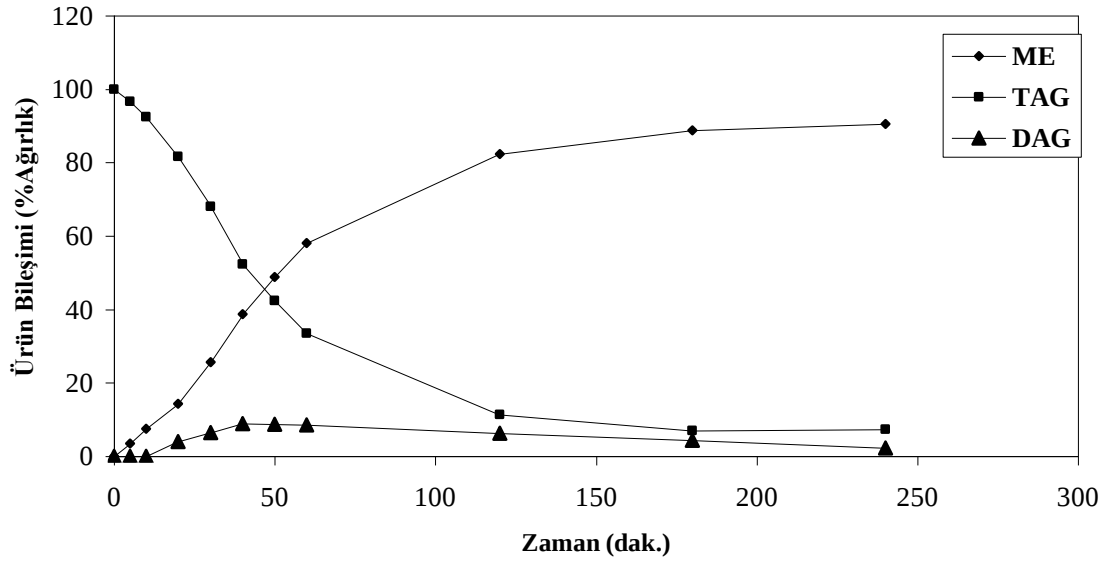
Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (%Ağırlık)					
	Enzim/Yağ 0,02	Enzim/Yağ 0,03	Enzim/Yağ 0,04	Enzim/Yağ 0,05	Enzim/Yağ 0,1	Enzim/Yağ 0,15
0	--	--	--	--	--	--
5	--	2,53±0,1	3,45±0,2	4,03±0,1	9,7±0,6	14,31±5,4
10	3,71±0,4	6,64±0	7,5±1,2	9,23±1,0	21,98±2,2	31,5±14,3
20	7,73±0,8	12,7±0,1	14,29±0,3	20,29±1,3	43,12±0,4	56,54±11,9
30	12,11±1,4	21,02±2,3	25,56±1,2	36,01±2,8	63,65±6,1	71,65±11,1
40	17,24±2,5	29,81±2,5	38,78±1,9	46,00±1,3	71,26±6,3	78,85±5,9
50	23,53±1,2	37,45±2,1	48,88±0,1	55,03±2,6	76,27±5,1	81,2±6,2
60	29,89±1,5	47,56±1,2	58,06±0,2	63,57±0	76,96±3,8	85,15±4,7
120	60±3,8	71,19±4,7	82,41±1,4	74,95±0,5	87,82±2,7	85,68±3,9
180	76,86±2,1	78,83±3,6	88,78±0	77,59±0,4	86,64±2,1	89,59±3,9
240	85,66±5	85,75±1,2	90,45±0,5	86,65±1,1	84,63±3,2	91,23±7,6



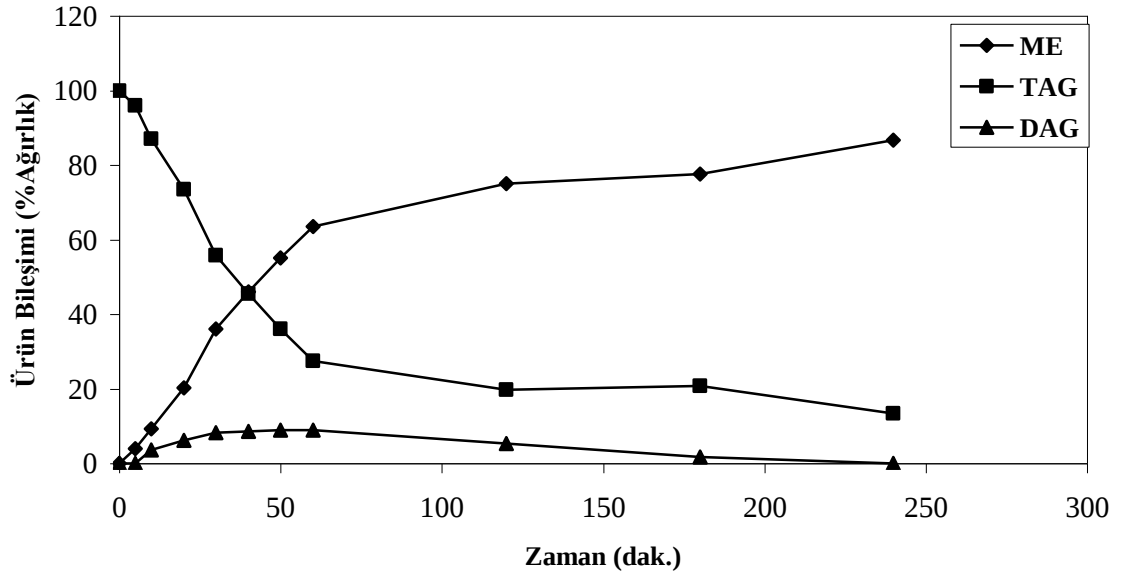
Şekil 4.7. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,02 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



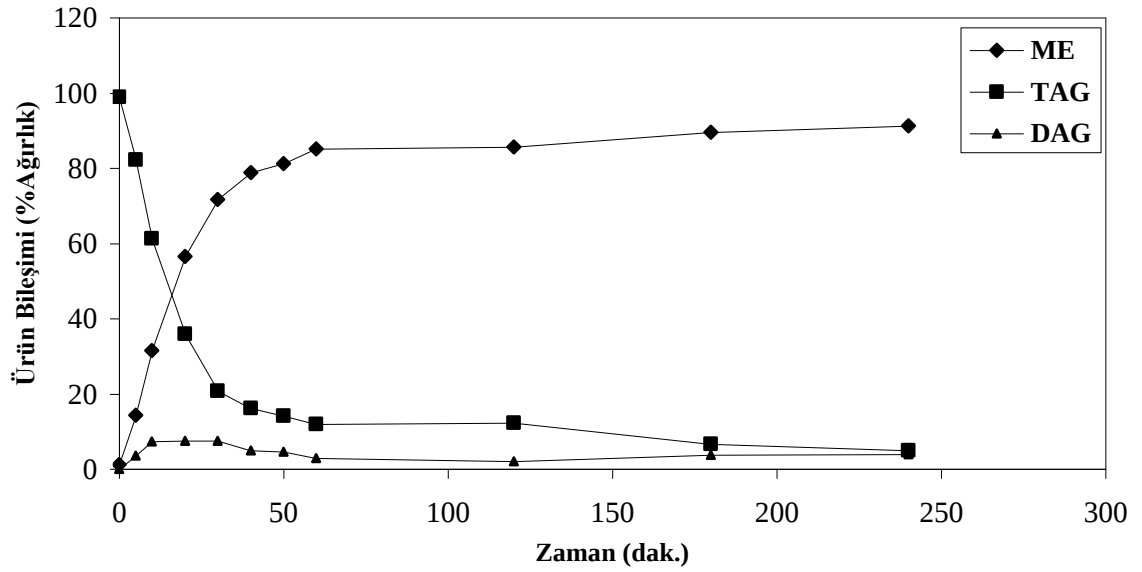
Şekil 4.8. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,03 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.9. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,04 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.10. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,05 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.11. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,15 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Tablo 4.3' de görüldüğü gibi, incelenen enzim miktarları için 4 saat sonunda reaksiyon denge durumuna yaklaşmıştır. Ulaşılan en yüksek yağ asidi metil ester içeriği %91,23 olup 0,15 enzim/yağ ağırlık oranında elde edilmiştir. Ancak, enzimlerin pahalı katalizörler olduğu düşünülerek çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde 0,1 enzim/yağ ağırlık oranında çalışılması uygun görülmüştür.

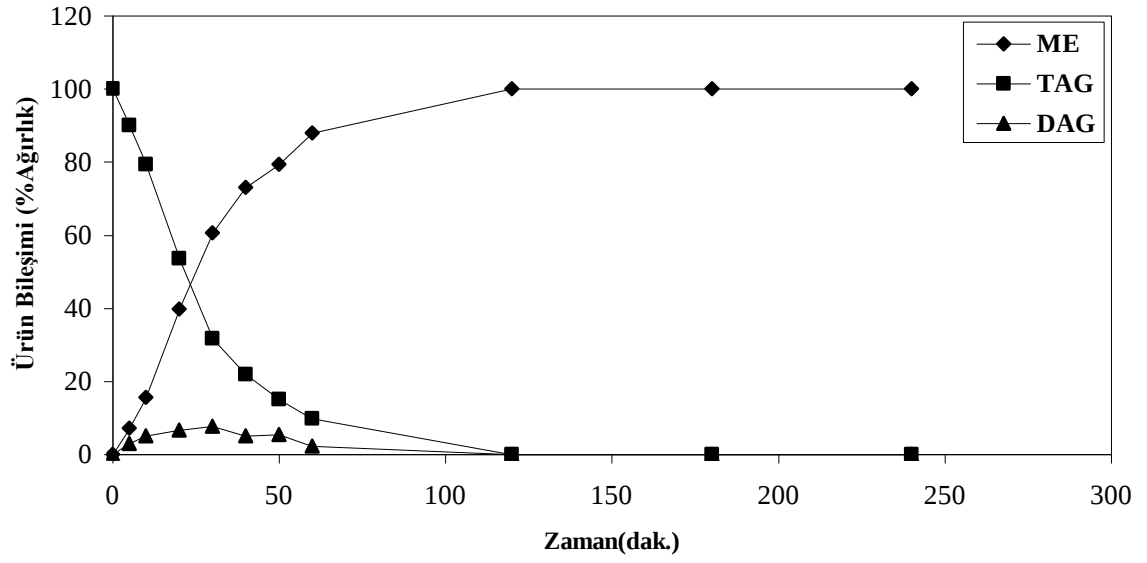
4.4. Fındık Yağı-Metanol Alkoliz Reaksiyonuna Sıcaklık Etkisi

Fındık yağının enzimatik metanoliz reaksiyonunda sıcaklık etkisini belirlemek için, alkoliz reaksiyonu daha önce belirlenen en uygun koşullar da dikkate alınarak 30, 40 ve 50 °C' de yürütülmüştür. Elde edilen ürünlerin ME içerikleri Tablo 4.4 'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 4.2, 4.12, 4.13 ve ekler bölümünde Tablo A.1, A.13, A.14 'de verilmiştir.

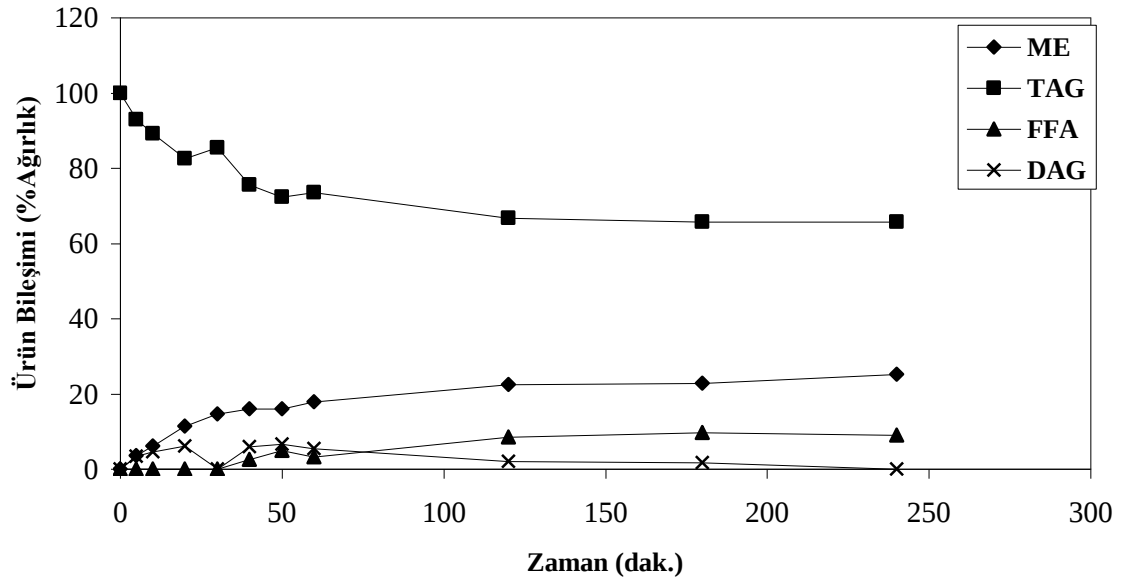
Tablo 4.4. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Sıcaklık Etkisi (yağ 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Esteri İçeriği (%Ağırlık)		
	40°C	50°C	60°C
0	--	--	--
5	7,11± 0,7	9,7± 0,6	3,51± 0,3
10	15,57± 1	21,98± 2,2	6,14± 0
20	39,75± 3,4	43,12± 0,4	11,36± 0,2
30	60,62± 5,7	63,65± 6,1	14,63± 0,6
40	73,04± 3,9	71,26± 6,3	15,97± 0,3
50	79,43± 0,6	76,27± 5,1	15,98± 0,3
60	87,88± 0,2	76,96± 3,8	17,8± 0,7
120	100± 0	87,82± 2,7	22,55± 0,4
180	100± 0	86,64± 2,1	22,79± 2,1
240	100± 0	84,63± 3,2	25,25± 0,9

Tablo 4.4 incelendiğinde reaksiyonun ilk yarım saati sonunda, 50°C 'deki ester miktarı 40°C'dekine göre daha fazladır. Ancak, reaksiyonun ilerleyen saatlerinde 40°C'deki oluşan ester miktarının diğer iki sıcaklıktakinden daha yüksek olduğu görülmektedir. 2 saat sonunda 40°C'de ester oluşumu pratik olarak %100 değerine ulaşmıştır. Literatürde verilen bilgilere göre, Lipozym IM için optimum çalışma sıcaklık aralığı 30-70°C dir. İncelenen koşullarda sıcaklığın 40°C'nin üstüne yükselmesi ile enzimin aktivitesinde düşme ve bunun sonucu olarak da yağ dönüşümünde bir azalma görülmüştür. Bu sonuç doğal bir sonuçtur ve enzimin optimum aktivite göstereceği sıcaklığın uygulanan reaksiyona ve substrat çeşidine göre de değişmekte olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada incelenen koşullarda optimum sıcaklığın 40°C'de olduğu kabul edilmiştir. Ancak kesin yargıya varabilmek için reaksiyonun 30°C' de de yürütülmesi gereklidir.



Şekil 4.12. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 40°C'de Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı:1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silikajel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.13. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 60°C'de Yürütülmesi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı:1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silikajel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

4.5. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Yağ/Metanol Mol Oranının Etkisi

Fındık yağının enzimatik alkoliz reaksiyonuna yağ/metanol mol oranının etkisini belirlemek için 40°C’de, 5 g yağ, 0,1 enzim/yağ ve 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranlarında, 25 mL n-hekzan içerisinde yürütülen reaksiyonlarda yağ/alkol mol oranları 1/2, 1/3, 1/4 olarak seçilmiştir.

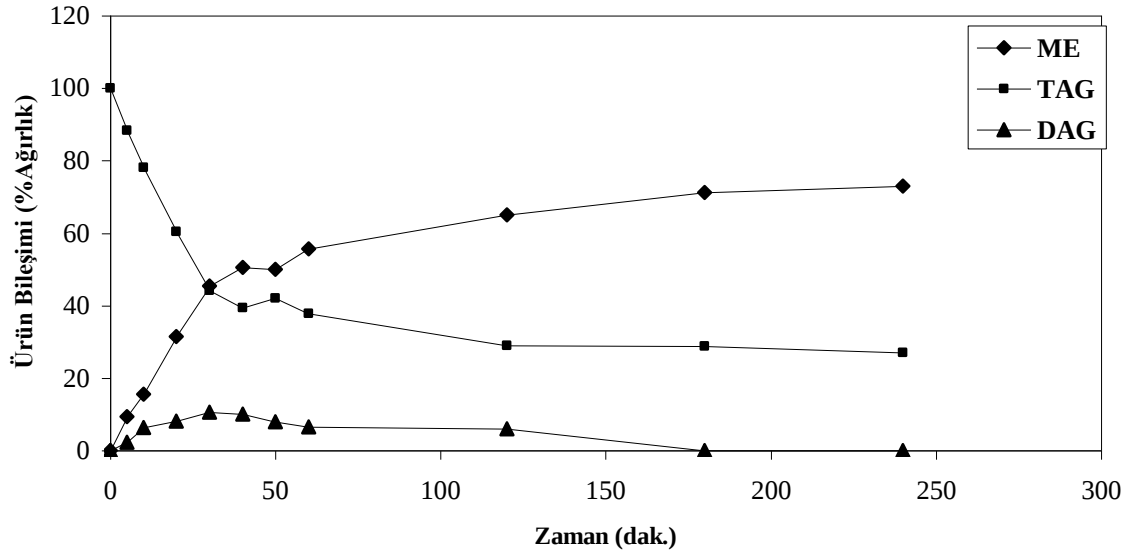
Elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri Tablo 4.5’de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 4.12, 4.14, 4.15 ve ekler bölümünde Tablo A.13, A.15 ve A.16 ‘da verilmiştir.

Tablo 4.5 Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda yağ/metanol mol

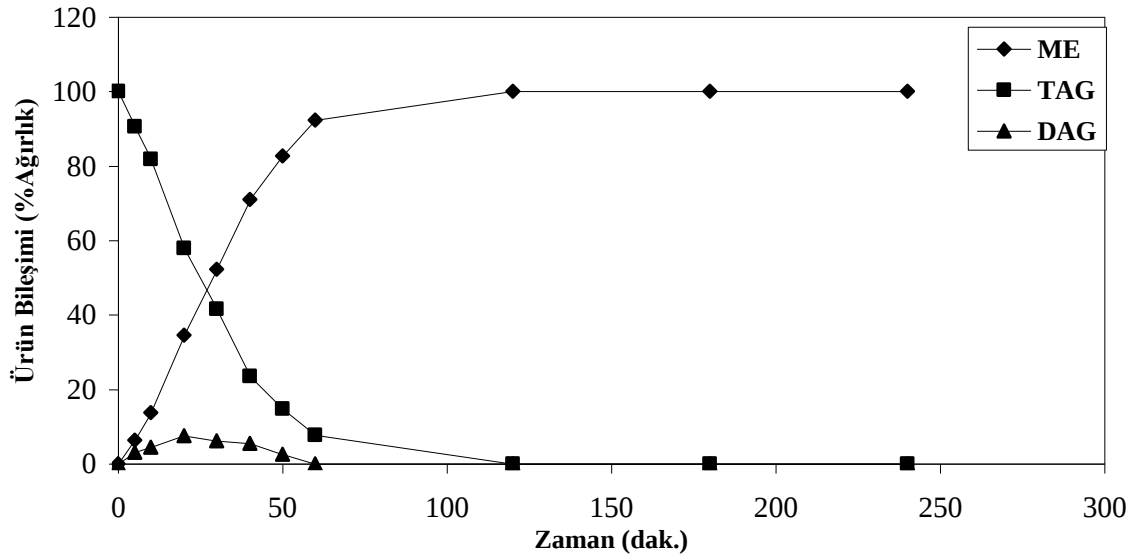
Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (%Ağırlık)		
	1/2	1/3	1/4
0	--	--	--
5	9,29 ± 0,9	7,11 ± 0,7	6,37 ± 0,2
10	15,49 ± 1,6	15,57 ± 1	13,74 ± 0,2
20	31,47 ± 0,2	39,5 ± 3,4	34,52 ± 0,5
30	45,35 ± 0,9	60,62 ± 5,7	52,25 ± 2,4
40	50,49 ± 0,1	73,04 ± 3,9	71 ± 1,2
50	50,09 ± 0,9	79,43 ± 0,6	82,67 ± 4,9
60	55,65 ± 0,8	87,88 ± 0,2	92,33 ± 1,9
120	65,06 ± 1,7	100 ± 0	100 ± 0
180	71,18 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
240	72,97 ± 1,8	100 ± 0	100 ± 0

Oranının Etkisi (yağ: 5 g; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Tablo 4.5’den de görüldüğü gibi 1/2 yağ/metanol mol oranında düşük ester dönüşümleri elde edilmiştir. Bunun nedeni olarak ortamdaki metanolün alkoliz reaksiyonu için yeterli miktarda olmamasıdır. 1/3 ve 1/4 yağ/metanol oranında çalışıldığında oluşan yağ asidi esteri yüzdeleri birbirine yakındır. Her iki değer de 2 saat sonunda % 100 ester elde edilmiştir. Ekonomik açıdan düşünüldüğünde stokiyometrik oranda çalışılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.14. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/2 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ:5g; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.15. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/4 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ:5g; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

4.6. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Çözücü Etkisi.

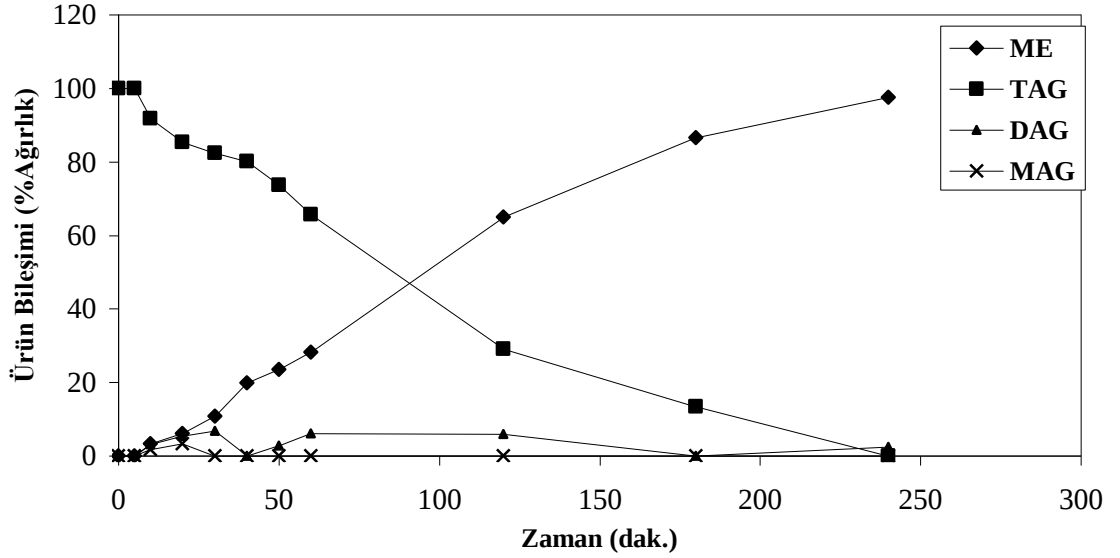
Fındık yağının enzimatik metanoliz reaksiyonunda çözücü ortamının etkisini belirlemek için, alkoliz reaksiyonu daha önce belirlenen en uygun koşullar da dikkate alınarak toluen, i-oktan, sikloheksan, n-heptan, n-hekzan çözücü ortamında yürütülmüştür. Elde edilen ürünlerin ME içerikleri Tablo 4.6 'da, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 4.12, 4.16- 4.19 ve Ekler bölümünde Tablo A.17- A.19 'de verilmiştir.

Tablo 4.6. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda Çözücünün Etkisi (yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; çözücü: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

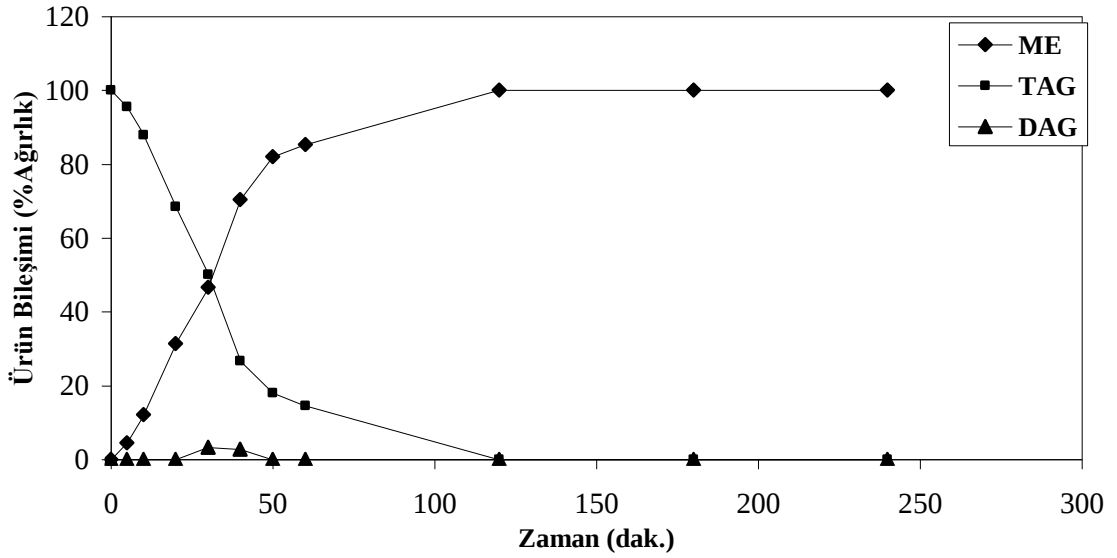
Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (%Ağırlık)				
	Toluen	İ-oktan	Sikloheksan	n-Heptan	n-Hekzan
0	--	--	--	--	--
5	--	4,45±0	5,23±0,3	7,77	7,11±0,7
10	3,26±0,7	12,13±0,4	10,75±0,2	15,84±0,6	15,57±1
20	6,03±0,4	31,43±0,8	21,48±0,3	38,36±2,4	39,75±3,4
30	10,87±1,1	46,63±4,1	32,92±6	49,77±2,9	60,62±5,7
40	19,92±1	70,48±6,14	45,18±5,2	72,67±2,8	73,04±3,9
50	23,58±1,3	81,99±0,6	58,21±8	84,63±1	79,43±0,6
60	28,23±1,2	85,39±0,8	68,25±7,2	88,33±0	87,88±0,2
120	64,99±1,1	100	90,46±0,2	100	100
180	86,61±2	100	100	100	100
240	97,53±2,5	100	100	100	100

Tablo 4.6 incelendiğinde, fındık yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu için n-heksan ve n-heptanın yakın sonuçlar verdiği görülmüştür. En düşük ester oluşumu ise toluenin çözücü olarak kullanıldığı deneylerde elde edilmiştir. Çözücünün yapısı ve polaritesi enzimin aktivitesini etkilemektedir. Organik çözücülerin polaritesi logP (oktanol-su ikili sisteminde, verilen bir komponentin dağılım katsayılarının oranlarının logaritması) ile ölçülür. Literatürde, ikiden küçük olan logP değerlerine sahip olan çözücülerin enzimatik reaksiyonlarda iyi sonuç vermediği logP değeri 3,5 ve üstünde olan çözücülerle yürütülen reaksiyonlarda ise daha düşük logP değerine sahip olan çözücülere göre daha yüksek verim ve stereoseçicilik elde edildiği belirtilmektedir. Bu çalışmada çözücü olarak kullanılan toluen, i-oktan, sikloheksan, n-heptan ve n-heksanın logP değerleri sırasıyla 2,5, 4,5, 3,2, 4 ve 3,5'dir [42]. Tablo 4.6'da gösterilen sonuçlar literatürde açıklanan bu bilgilerle uyumludur. Sikloheksanın aynı C sayılı n-heksana göre, tolueninde n-heptana göre daha düşük alkoliz

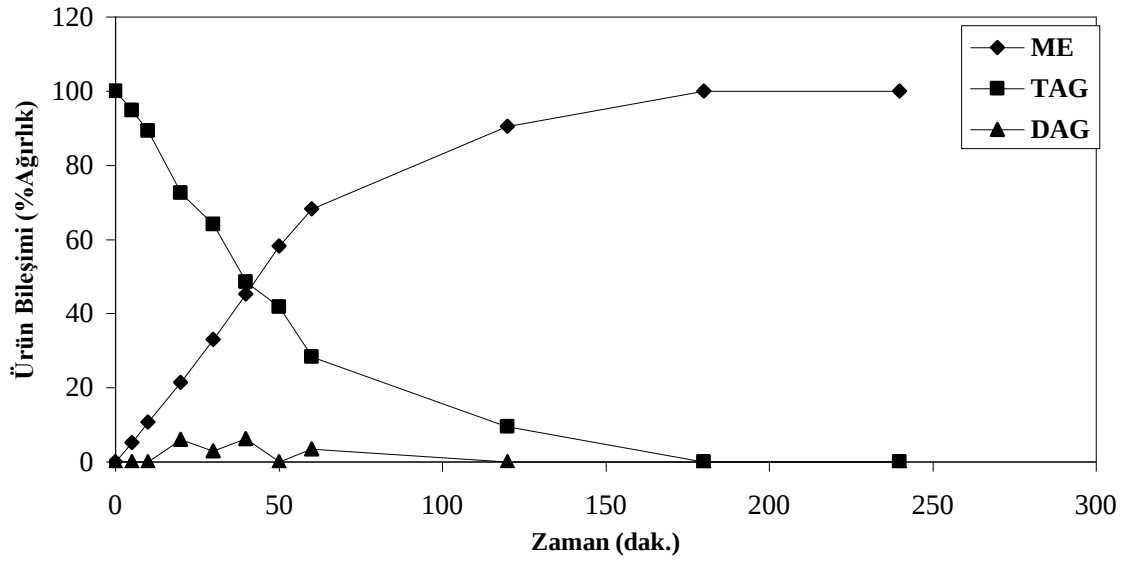
verimine neden olması çözücünün kimyasal yapısının enzimatik reaksiyonlardaki önemini göstermektedir.



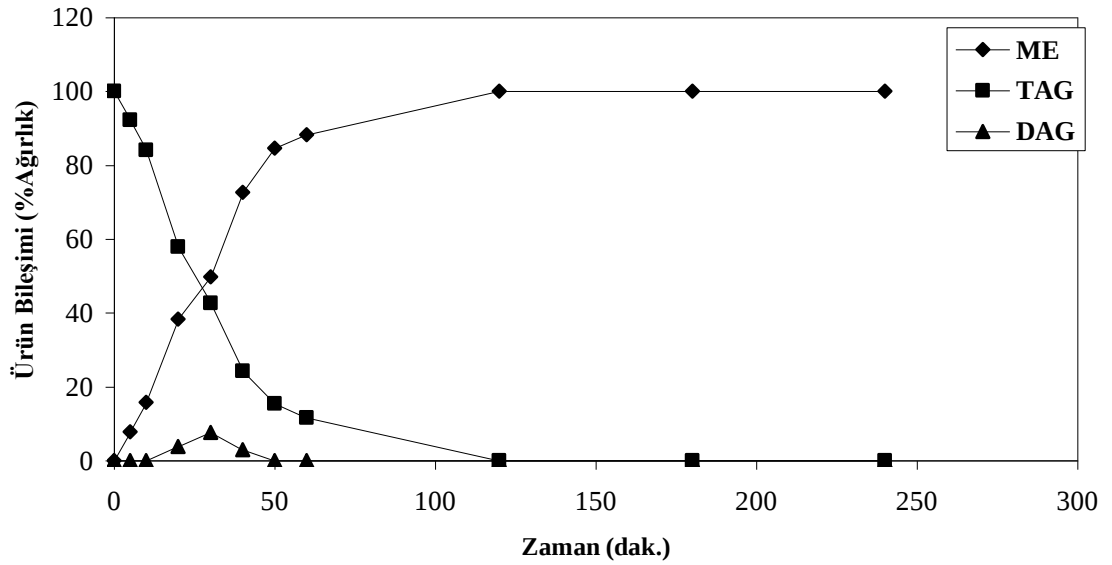
Şekil 4.16. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Toluenin Etkisi (yağ: 5g; yağ/alkol mol oranı:1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.17. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna İ-oktanın Etkisi (yağ: 5g; yağ/alkol mol oranı:1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.18. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Sikloheksanın Etkisi (yağ: 5g; yağ/alkol mol oranı:1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).



Şekil 4.19. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna n-Heptanın Etkisi (yağ: 5g; yağ/alkol mol oranı:1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

5. VARGILAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; Türkiye kökenli fındık yağının enzimatik metanolizi incelenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1. Farklı lipazlar varlığında yürütülen reaksiyonlarda 3 saat sonunda en yüksek ester oluşumu Lipozym IM lipazı ile elde edilmiştir.
2. Reaksiyon sonucunda oluşan gliserini reaksiyon ortamından uzaklaştırmak, böylece daha yüksek ester oluşumu elde etmek için silika jel katılarak 50°C de ve 3 saat, 1/3 yağ/metanol mol oranında ve 0,1 enzim/yağ ağırlık oranında yürütülen reaksiyonlarda en yüksek ester oluşumu 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranında silika jel kullanımı ile elde edilmiştir.
3. Reaksiyon süresinin alkoliz verimine etkisini belirlemek için, yukarıda açıklanan koşullarda 24 saat yürütülen reaksiyonlar sonucunda en uygun reaksiyon süresi 4 saat olarak belirlenmiştir.
4. Enzim miktarı ve sıcaklığın etkisini belirlemek için yürütülen deneyler sonunda elde edilen optimum koşullar;
 - yağ/metanol mol oranı: 1/3
 - enzim/ yağ ağırlık oranı: 0,1
 - sıcaklık: 40°C
 - silikajel/yağ ağırlık oranı: 0,8
 - reaksiyon süresi: 4 saat
 - n-hekzan: 25 mL olarak saptanmıştır.
5. Farklı çözücü ortamında, optimum koşullarda yürütülen deneylerde n-hekzan ve n-heptanın benzer sonuçlar verdiği ve 2 saat reaksiyon süresi sonunda ester oluşumunun yaklaşık %100 olduğu görülmüştür.
6. Fındık yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu sonucu elde edilen yağ asidi metil ester karışımının biyodizel yakıt olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesi

için bu ester ürününün yakıt özelliklerinin belirlenmesi ve biyodizel standartlarına uygunluğunun incelenmesi gereklidir.

7. Fındık potansiyeli yüksek olan ülkemizde, bu konu üzerine yapılan çalışmalarla fındık yağı üretimine de teşvik sağlanmış olunacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] **Schuchard, U., Sercheli, R. and Vargas, R.M.**, 1997. Transesterification of vegetable oils: A review, *J. Braz. Chem. Soc.*, **9**, 199-210.
- [2] **Fukuda, H., Kondo, A. and Noda, H.**, 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils: Review, *J. of Biosci. Bioeng.*, **92**, 405-416.
- [3] **Karaosmanoğlu, F.**, 2001. Biyomotorin ve Türkiye, *Enerji*, **1**, 35-38.
- [4] **Kurşun, E.**, 2002. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşmesi ile yağ asidi esterlerinin üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [5] **Watanabe, Y., Shimada, Y., Sugihara, A., Noda, H., Fukudo, H. and Tominaga, Y.**, 2000. Continuous production of biodiesel fuel from vegetable oil using immobilized *Candida antartica* lipase, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 355-360.
- [6] **Akdere, C.**, 2003. Fındık yağı-füzel yağı fraksiyonu enzimatik alkoliz reaksiyonunun incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [7] **Fiskobirlik Firması**, 2003. “Fındık ve Fındık Yağı tarihçesi”, web sayfası, www.fiskobirlik.org.tr.
- [8] **Ordu Soya Sanayi A.Ş. Genel Müdürlüğü**, 2003 “Fındık Yağı”, web sayfası, www.ordusoya.com.tr.
- [9] **Khan, A.K.**, 2002. Research into biodiesel kinetics catalyst development, The University of Queensland, Australia.
- [10] **Murat, M.Z. and Güvener Z.**, 1993. Çörekotu tohumu enziminin esterleşme ve alkoliz reaksiyonlarındaki enzimatik etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [11] **De, B.K., Bhattacharyya, D.K. and Bandhu.C.**, 1999. Enzymatic synthesis of fatty alcohol esters by alcoholysis, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76**, 451-453.
- [12] **Gryglewicz, S.**, 2000. Enzyme catalyzed synthesis of some adipic esters, *J. of Mol. Catal. B: Enz.*, **15**, 9-13.

- [13] **Nelson, L.A., Foglia, T.A. and Marmer, W.N.,** 1996. Lipase-catalyzed production of biodiesel, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 1191-1195.
- [14] **Mittelbach, M.,** 1990. Lipase catalyzed alcoholysis of sunflower oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **67**, 168-170.
- [15] **Wikipedia The Free Encyclopedia,** 2003. "Methanol", web sayfası, www.wikipedia.org.
- [16] **Chronic Toxicity Summary,** "Methanol", CAS Registry Number: 67-56-1.
- [17] **Cetiner Engineering Corporation,** "Physical Properties of Methanol", web sayfası, [http:// cetiner.tripod.com](http://cetiner.tripod.com).
- [18] **Freedman, B., Pryde, E.H. and Mounts, T.L.,** 1984. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1638-1643.
- [19] **Işığür, A.,** 1992. Türkiye kökenli aspir tohum yağlarının transesterifikasyonu ve dizel yakıt alternatifi olarak değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [20] **Noureddini, H., Harkey, D. and Medikonduru, V.,** 1998. A. Continuous process for the conversion of vegetable oils into methyl esters of fatty acids, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **75**, 1775-1783.
- [21] **Darnoko, D. and Cheryan, M.,** 2000. Kinetics of palm oil transesterification in a batch reactor, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **77**, 1263-1267.
- [22] **Wang D., Shaw, J. and Wang, Y.,** 1991. Lipase-catalysed ethanolysis and isopropanolysis of triglycerides with long-chain fatty acids, *Enzyme Microb. Technol.*, **13**, 544-546.
- [23] **Basheer, S., Snape, J.B., Mogi, K. and Nakajima, M.,** 1995. Transesterification kinetics of triglycerides for a modified lipase in n-hexane, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 231-237.
- [24] **Linko, Y.Y., Lamsa, M., Huhtala, A. and Rantanen, O.,** 1995. Lipase biocatalysis in the production of esters, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 1293-1299.
- [25] **Decagny, B., Jan, S., Vuilleumard, J.C., Sarazin, C., Seguin, J.P., Gosselin, C., Barbotin, J.N. and Ergon, F.,** 1998. Synthesis of wax ester through triolein alcoholysis: choice of the lipase and study of the mechanism, *Enzyme Microb. Technol.*, **22**, 578-582.

- [26] **Ghosh, M.**, 1997. Enzymatic alcoholysis reaction of soy phospholipids, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 597-599.
- [27] **Selmi, B. and Thomas, D.**, 1998. Immobilized lipase-catalyzed ethanolysis of sunflower oil in a solvent-free medium, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **75**, 691-695.
- [28] **Dossat, V., Combes, D. and Marty, A.**, 1999. Continuous enzymatic transesterification of high oleic sunflower oil in a packed bed reactor: influence of the glycerol production, *Enzyme Microb. Technol.*, **25**, 194-200.
- [29] **Shimada, Y., Watanabe, Y., Samukawa, T., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H. and Tominaga, Y.**, 1999. Conversion of vegetable oil to biodiesel using immobilized *Candida antarctica* lipase, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **76**, 789-793.
- [30] **Uosukainen, E., Lamsa, M., Linko, Y.Y., Linko, P. and Leisola, M.**, 1999. Optimization of enzymatic transesterification of rapeseed oil ester using response surface and principal component methodology, *Enzyme Microb. Technol.*, **25**, 236-243.
- [31] **Samukawa, T., Kaieda M., Matsumoyo T., Ban, K., Kondo, A., Shimada, Y., Noda, H. and Fukuda, H.**, 2000. Pretreatment of immobilized *Candida antarctica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil, *J. Biosci. Bioeng.*, **90**, 180-183.
- [32] **Vacek, M., Zarevucka, M., Wimmer, Z., Stransky, K., Mackova, M. and Demnerova, K.**, 2001. Enzymatic alcoholysis of blackcurrant oil, *Biotechnol. Lett.*, **23**, 27-32.
- [33] **Kamini, N.R. and Iefuji, H.**, 2001. Lipase catalyzed methanolysis of vegetable oils in aqueous medium by *Cryptococcus Spp. S-2*, *Process Biochem.*, **37**, 405-410.
- [34] **Köse, Ö.**, 1999. Pamuk yağı-metanol enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunun incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [35] **Shimada, Y., Watanabe, Y., Sugihara, A. and Tominaga, Y.**, 2001. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing, *J. of Mol. Catal. B: Enz.*, **17**, 133-142.

- [36] **Watanabe, Y., Shimada, Y., Sugihara, A. and Tominaga, Y.,** 2001. Conversion of degummed soybean oil to biodiesel fuel with immobilized *Candida antartica* lipase, *J. of Mol. Catal. B: Enz.*, **17**, 151-155.
- [37] **Dossat, V., Combes, D. and Marty, A.,** 2001. Lipase-catalyzed transesterification of high oleic sunflower oil, *Enzyme Microb. Techno.*, **30**, 90-94.
- [38] **Soumanou, M.M. and Bornscheuer, U.T.,** 2003. Improvement in lipase-catalyzed synthesis of fatty acid methyl esters from sunflower oil, *Enzyme Microb. Technol.*, **33**, 97-103.
- [39] **Sharma,R., Chisti, Y. and Banerjee,U.C.,** 2001. Production, purification, characterization and application of lipases: Review, *Biotechnol. Adv.*, **19**, 627-662.
- [40] **Primozic,M., Habulin, M. and Knez, Z.,** 2003. Parameter optimization for the enzymatic hdyrolysis of sunflower oil in high-pressure reactors, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **80**, 643-646.
- [41] **Schimid, R. D. and Verger,R.,**2003. Lipases: interfacial enzymes with attractive application, *Angew.Chew. Int. Ed.*, **37**, 1608-1633.
- [42] **Hsin-Wu W., Akoh C. C. and Phillips R. S.,** 1997. Stereoselective acylation of dl-menthol in organic solvents by an immobilized lipase from *pseudomonas cepacia* with vinyl propionate, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 435-439.

EK A

Tablo A.1. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Lipozym IM Enziminin Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	9,7 ± 0,6	85,84 ± 0,9	4,47 ± 0,3	--
10	21,98 ± 2,2	70,79 ± 2,1	7,24 ± 0,1	--
15				
20	43,12 ± 0,4	47,23 ± 0	9,65 ± 0,4	--
30	63,65 ± 6,1	27,28 ± 6,1	9,1 ± 0,1	--
45				
60	76,96 ± 5,1	16,98 ± 3,9	6,06 ± 0	--
120	87,82 ± 2,7	12,19 ± 2,7	--	--
180	86,64 ± 2,1	11,26 ± 0,1	4,56 ± 0,4	--

Tablo A.2. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Novozym 435 Enziminin Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	--	100	--	--
10	--	100	--	--
15	5,07	94,93	--	--
20	8,63	91,37	--	--
30	10,57	89,43	--	--
45	17,83	82,17	--	--
60	22,54	77,46	--	--
120	41,07	58,92	--	--
180	54,72	45,28	--	--

Tablo A.3. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun Adsorbansız Ortamda Yürütülmesi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	--	100	--	--
10	3,65	96,35	--	--
15	4,88	91,95	3,18	--
20	7,17	92,83	--	--
30	8,12	82,89	4,67	4,33
45	9,90	74,83	7,11	8,16
60	14,00	67,69	9,60	8,71
120	25,05	58,30	7,90	8,75
180	33,43	50,79	9,42	6,36

Tablo A.4. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,2 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silika jel Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	6,82	87,91	5,27	--
10	8,27	81,30	5,10	5,33
15	16,80	73,07	6,40	3,73
20	25,16	63,36	6,59	4,89
30	34,84	52,88	8,57	3,71
45	52,13	36,39	11,48	--
60	58,43	28,88	12,69	--
120	63,12	26,59	10,28	--
180	67,47	20,58	11,95	--

Tablo A.5. Fındık Yağ-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,4 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silikajel Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	8,08	87,71	4,21	--
10	20,03	73,40	6,57	--
15	31,06	60,78	8,15	--
20	40,22	51,10	8,68	--
30	56,32	33,43	10,26	--
45	68,75	20,81	10,43	--
60	74,72	17,09	8,19	--
120	78,65	16,30	5,05	--
180	81,99	18,00	--	--

Tablo A.6. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,6 Silika jel/Yağ Ağırlık Oranında Silikajel Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	11,94	88,05	--	--
10	23,16	70,08	6,77	--
15	32,80	58,45	8,75	--
20	49,01	44,65	6,34	--
30	64,15	29,47	6,37	--
45	69,07	20,96	9,96	--
60	84,07	15,93	--	--
120	85,28	14,72	--	--
180	82,02	17,98	--	--

Tablo A.7. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Reaksiyon Süresinin Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50°C; hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	9,7	85,84	4,47	--
10	21,98	70,79	7,24	--
20	43,12	47,23	9,65	--
30	63,65	27,28	9,07	--
40	71,26	20,39	8,35	--
50	76,27	16,95	6,77	--
60	76,96	16,98	6,06	--
120	87,82	12,19	--	--
180	86,64	11,26	2,1	--
240	84,63	10,81	4,56	--
300	86	11,92	2,09	--
360	86,10	8,45	5,44	--
420	86,15	8,12	5,73	--
1440	87,81	4,65	7,54	--

Tablo A.8. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,02 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	--	100	--	--
10	3,71 ± 0,4	96,29 ± 0,4	--	--
20	7,73 ± 0,8	92,27 ± 0,8	--	--
30	12,11 ± 1,4	84,40 ± 1,7	3,49 ± 0,3	--
40	17,24 ± 2,5	78,51 ± 2,9	4,26 ± 0,6	--
50	23,53 ± 1,2	70,47 ± 1,6	6,00 ± 0,3	--
60	29,89 ± 1,5	63,51 ± 2,4	6,59 ± 0,8	--
120	60,00 ± 3,8	31,84 ± 4,5	8,16 ± 0,7	--
180	76,86 ± 2,1	16,96 ± 1,6	6,18 ± 0,4	--
240	85,66 ± 5	12,16 ± 2,8	2,18 ± 2,2	--

Tablo A.9. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,03 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	2,53 ± 0,1	97,47 ± 0,1	--	--
10	6,64 ± 0	92,08 ± 1,2	1,28 ± 1,3	--
20	12,70 ± 0,1	83,34 ± 0,4	3,97 ± 0,3	--
30	21,02 ± 2,3	72,95 ± 2,9	6,03 ± 0,6	--
40	29,81 ± 2,5	63,62 ± 2,7	6,58 ± 0,2	--
50	37,45 ± 2,1	54,27 ± 2,2	8,28 ± 0,2	--
60	47,56 ± 1,2	42,96 ± 0,9	9,48 ± 0,4	--
120	71,19 ± 4,7	22,48 ± 5,4	6,33 ± 0,6	--
180	78,83 ± 3,6	19,21 ± 1,6	1,95 ± 1,9	--
240	85,75 ± 1,2	14,26 ± 1,2	--	--

Tablo A.10. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,04 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	3,45 ± 0,2	96,55 ± 0,2	--	--
10	7,50 ± 1,2	92,50 ± 1,2	--	--
20	14,29 ± 0,3	81,69 ± 0,2	4,02 ± 0,5	--
30	25,56 ± 1,2	68,04 ± 1,5	6,40 ± 0,3	--
40	38,78 ± 1,9	52,38 ± 1,3	8,84 ± 0,5	--
50	48,88 ± 0,1	42,40 ± 0,5	8,71 ± 0,6	--
60	58,06 ± 0,2	33,44 ± 0,7	8,49 ± 0,5	--
120	82,41 ± 1,4	11,34 ± 1,4	6,25 ± 0	--
180	88,78	6,89	4,34	--
240	90,45 ± 0,5	7,27 ± 1,8	2,28 ± 2,3	--

Tablo A.11. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,05 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	4,03 ± 0,1	95,97 ± 0,1	--	--
10	9,23 ± 1	87,10 ± 0,9	3,67 ± 0,1	--
20	20,29 ± 1,3	73,47 ± 1,8	6,24 ± 0,5	--
30	36,01 ± 2,8	55,78 ± 2,6	8,20 ± 0,2	--
40	46,00 ± 1,3	45,41 ± 1,1	8,59 ± 0,2	--
50	55,03 ± 2,6	36,13 ± 3,2	8,85 ± 0,6	--
60	63,57 ± 0	27,55 ± 0	8,88 ± 0	--
120	74,95 ± 0,5	19,72 ± 0,5	5,33 ± 0	--
180	77,59 ± 0,4	20,75 ± 2	1,66 ± 1,7	--
240	86,65 ± 1,1	13,35 ± 1,1	--	--

Tablo A.12. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 0,15 Enzim/Yağ Ağırlık Oranında Enzim Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 50°C; hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	--	--	--
5	14,31 ± 5,4	82,18 ± 7,2	3,51 ± 3,4	--
10	31,50 ± 14,3	61,27 ± 17,1	7,24 ± 5,6	--
20	56,54 ± 11,9	35,90 ± 11,5	7,56 ± 2,0	--
30	71,65 ± 11,1	20,81 ± 8,5	7,54 ± 2,1	--
40	78,85 ± 5,9	16,21 ± 3,2	4,94 ± 1,6	--
50	81,20 ± 6,2	14,17 ± 2,2	4,63 ± 3,0	--
60	85,15 ± 4,7	12,00 ± 2,5	2,85 ± 2,8	--
120	85,68 ± 3,9	12,24 ± 4,3	2,09 ± 3,6	--
180	89,59 ± 3,9	6,61 ± 0,9	3,80 ± 3,7	--
240	91,23 ± 7,6	4,88 ± 4,8	3,90 ± 3,6	--

Tablo A.13. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 40°C’de Yürütülmesi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,11 ± 0,7	89,96 ± 1,1	2,92 ± 0,4	--
10	15,57 ± 1	79,43 ± 0,7	5 ± 0,2	--
20	39,75 ± 3,4	53,67 ± 4,5	6,58 ± 1,1	--
30	60,62 ± 5,7	31,70 ± 5,2	7,68 ± 0,5	--
40	73,04 ± 3,9	21,92 ± 5,4	5,04 ± 1,5	--
50	79,43 ± 0,6	15,15 ± 0,4	5,42 ± 0,1	--
60	87,88 ± 0,2	9,89 ± 2	2,26 ± 2,3	--
120	100	--	--	--
180	100	--	--	--
240	100	--	--	--

Tablo A.14. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunun 60°C’de Yürütülmesi (yağ: 5g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; n-hekzan: 25 mL; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	100	--	--	--
5	3,51 ± 0,3	93,02 ± 0,6	--	3,47 ± 3,5	--
10	6,14 ± 0	89,19 ± 0,1	--	4,67 ± 0,1	--
20	11,36 ± 0,2	82,53 ± 1,4	--	6,11 ± 1,1	--
30	14,63 ± 0,6	85,37 ± 0,6	--	--	--
40	15,97 ± 0,3	75,53 ± 2,4	2,48 ± 2,5	6,02 ± 0,2	--
50	15,98 ± 0,3	72,40 ± 3,2	5,01 ± 1,1	6,61 ± 1,7	--
60	17,80 ± 0,7	73,52 ± 4,5	3,30 ± 3,3	5,39 ± 0,5	--
120	22,55 ± 0,4	66,80 ± 0,3	8,55 ± 2	2,10 ± 2,1	--
180	22,79 ± 2,1	65,67 ± 1,1	9,76 ± 1,4	1,78 ± 1,8	--
240	25,25 ± 0,9	65,71 ± 0,5	9,04 ± 1,4	--	--

Tablo A.15. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/2 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	9,29 ± 0,9	88,42 ± 6,3	2,29 ± 2,3	--
10	15,49 ± 1,6	78,16 ± 3,8	6,36 ± 0,2	--
20	31,47 ± 0,2	60,44 ± 1	8,09 ± 0,7	--
30	45,35 ± 0,9	44,13 ± 2,2	10,52 ± 0,2	--
40	50,49 ± 0,1	39,35 ± 0	10,15 ± 0,2	--
50	50,09 ± 0,9	41,98 ± 1,7	7,93 ± 0	--
60	55,65 ± 0,8	37,87 ± 0,1	6,48 ± 0,7	--
120	65,06 ± 1,7	28,98 ± 2,3	5,96 ± 0,5	--
180	71,18	28,82	--	--
240	72,97 ± 1,8	27,03 ± 1,8	--	--

Tablo A.16. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonunda 1/4 Yağ/Metanol Mol Oranında Metanol Kullanımının Etkisi (yağ: 5g; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	6,37 ± 0,2	90,62 ± 0,2	3,02 ± 0	--
10	13,74 ± 0,2	81,84 ± 0,9	4,42 ± 0,7	--
20	34,52 ± 0,5	57,98 ± 0,8	7,5 ± 0,3	--
30	52,25 ± 2,4	41,62 ± 1,7	6,13 ± 0,7	--
40	71 ± 1,2	23,48 ± 1,3	5,52 ± 0,1	--
50	82,67 ± 4,9	14,72 ± 2,2	2,61 ± 2,6	--
60	92,33 ± 1,9	7,67 ± 1,9	--	--
120	100	--	--	--
180	100	--	--	--
240	100	--	--	--

(dak.)	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	--	100	--	--
10	3,26 ± 0,7	91,79 ± 0,5	3,16 ± 0,6	1,79 ± 1,79
20	6,03 ± 0,4	85,31 ± 3,4	5,38 ± 0,5	3,28 ± 3,28
30	10,87 ± 1,1	82,30 ± 1,91	6,83 ± 0,8	--
40	19,92 ± 1	80,08 ± 1,02	--	--
50	23,58 ± 1,3	73,71 ± 1,42	2,71 ± 2,7	--
60	28,23 ± 1,2	65,68 ± 1,28	6,09 ± 0,1	--
120	64,99 ± 1,1	29,12 ± 1,31	5,89 ± 0,2	--
180	86,61 ± 2	13,40 ± 2,02	--	--
240	97,53 ± 2,5	--	2,47 ± 2,47	--

Tablo A.17. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Toluenin Etkisi (yağ: 5g; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; yağ/metanol: 1/3; sıcaklık: 40°C; çözücü: 25 mL).

Tablo A.18. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna İ-oktanın Etkisi (yağ:5g; silika jel/yağ ağırlık oranı:0,8; enzim/yağ ağırlık oranı:0,1; yağ/metanol:1/3; sıcaklık: 40°C; çözücü: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	4,45 ± 0	95,55 ± 0	--	--
10	12,13 ± 0,4	87,87 ± 0,4	--	--
20	31,43 ± 0,8	68,56 ± 0,8	--	--
30	46,63 ± 4,1	50,09 ± 0,9	3,29 ± 3,3	--
40	70,48 ± 6,1	26,67 ± 3,3	2,85 ± 2,8	--
50	81,99 ± 0,6	18,01 ± 0,6	--	--
60	85,39 ± 0,8	14,61 ± 0,8	--	--
120	100	--	--	--
180	100	--	--	--
240	100	--	--	--

Tablo A.19. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Sikloheksanın Etkisi (yağ: 5g; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; yağ/metanol:1/3; sıcaklık: 40⁰C; çözücü: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	5,23 ± 0,3	94,77 ± 0,3	--	--
10	10,75 ± 0,2	89,25 ± 0,2	--	--
20	21,48 ± 0,3	72,47 ± 0,3	6,06 ± 0	--
30	32,92 ± 6	64,06 ± 2,9	3,02 ± 3	--
40	45,18 ± 5,2	48,55 ± 5,6	6,27 ± 0,4	--
50	58,21 ± 8	41,79 ± 8	--	--
60	68,25 ± 7,2	28,36 ± 3,8	3,40 ± 3,4	--
120	90,46 ± 0,2	9,54 ± 0,2	--	--
180	100	--	--	--
240	100	--	--	--

Tablo A.20. Fındık Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna n-Heptanın Etkisi (yağ: 5g; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,8; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; yağ/metanol: 1/3; sıcaklık: 40⁰C; çözücü: 25 mL).

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (%Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,77	92,23	--	--
10	15,84 ± 0,6	84,16 ± 0,6	--	--
20	38,36 ± 2,4	57,88 ± 1,3	3,76 ± 3,8	--
30	49,77 ± 2,9	42,68 ± 3,4	7,55 ± 0,5	--
40	72,67 ± 2,8	24,30 ± 0,2	3,02 ± 3	--
50	84,63 ± 1	15,37 ± 1	--	--
60	88,33 ± 0	11,68 ± 0	--	--
120	100	--	--	--
180	100	--	--	--
240	100	--	--	--

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İstanbul'da doğdu. İlk öğrenimini Mehmet Akif Ersoy İlköğretim okulu, orta öğrenimini Koca Mustafa Paşa Lisesi ve lise öğrenimini Pertevniyal Süper Lisesi'nde tamamladı. 1997 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde öğrenimine başlayarak, 1998'de İ.T.Ü Kimya Mühendisliği bölümüne geçiş yaparak lisans öğrenimini tamamladı. Halen İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrencisidir.