İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOYA YAĞININ ENZİMATİK ALKOLİZİ İLE YAĞ ASİDİ METİL ESTERLERİ ÜRETİMİNİN OPTİMİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Seda DEMİRKOL

Tez Danışmanı: Prof .Dr. H. Ayşe AKSOY

Anabilim Dalı: Kimya Mühendisliği
Programı: Kimya Mühendisliği

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bana her konuda yardımcı olan ve daima yol gösteren değerli hocam, Sayın Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY'a, tüm çalışmam boyunca ilgi ve desteği ile yanımda olan değerli hocam, Sayın Doç. Dr. Melek TÜTER'e ayrıca bilgi ve yardımları için Sayın Yrd. Doç. Dr. Beraat ÖZÇELİK'e ve Sayın Prof. Dr. Dursun Ali ŞAŞMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda tüm çalışmam boyunca büyük yardım ve desteklerini gördüğüm değerli hocam Dr. Sevil YÜCEL'e ve Ar. Gör. Aslı CAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek Lisans tez aşamasında yaşadığım zorlukları paylaşarak bana destek olan sevgili labaratuar arkadaşlarım, Kim. Müh. Ömer Faruk GÜL'e ve Kim. Müh. Aytuğ GENÇOĞLU'na ve ismini sayamadığım tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca her zaman olduğu gibi bu çalışmam sırasında da yanımda olan ve bana destek olan aileme, başta annem Tülinay DEMİRKOL'a ve daima yanında olduğunu hissettiğim babam Macit DEMİRKOL'a teşekkürlerimi sunarım.

OCAK, 2005 Kim.Müh. Seda DEMİRKOL

OCAK 2005

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR **v**

TABLO LİSTESİ **vi**

ŞEKİL LİSTESİ **x**

ÖZET **xiii**

SUMMARY **xiv**

1.GİRİŞ ve AMAÇ **1**

2. TEORİK KISIM **3**

2.1. Soya Fasulyesi Bitkisi **3**

2.2. Soya Yağı, Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri **6**

2.3. Yağlara Uygulanan Kimyasal Dönüşümler **8**

2.3.1.Esterleşme Reaksiyonları 8

2.3.2. İç Esterleşme Reaksiyonları 9

2.3.3. Asidoliz Reaksiyonları 9

2.3.4. Transesterifikasyon Reaksiyonları 10

2.3.5. Alkoliz Reaksiyonları 10

2.4. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Kullanımı ve Önemi **12**

2.5. Literatür Araştırması **14**

2.6. Tepki-Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology) **21**

3. DENEYSEL ÇALIŞMA **24**

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler **24**

3.2. Soya Yağının Karakterizasyonu **24**

3.3. Deney Düzeneği **25**

3.4. Soya Yağının Enzimatik Metanoliz Reaksiyonu **26**

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA **28**

4.1. Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Silika jel Etkisi **28**

4.2. Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi 32

4.3. Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Yağ/Metanol Mol Oranının Etkisi 36

4.4. Soya Yağı-Metanol Alkoliz Reaksiyonuna Sıcaklık Etkisi 39

4.5. Deneysel Tasarım 41

4.6. İstatistiksel Analiz 44

4.7. Farklı Reaksiyon Koşullarının Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Etkilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi 44 46

4.8. Tepki-Yüzey ve İzdüşüm Grafiklerinin Yorumlanması 47

5. VARGILAR ve ÖNERİLER 52

KAYNAKLAR 54

EK A. 58

ÖZGEÇMİŞ 76

KISALTMALAR

TLC	: İnce Yüzey Kromatografisi (Thin Layer Chomatography)
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü (Flame Ionization Detector)
ME	: Metil Ester
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol
FFA	: Serbest Yağ Asidi Esterleri
FAE	: Yağ Asidi Esterleri
IV	: İyot Değeri (Iodine Value)

TABLO LİSTESİ

		Sayfa No
Tablo 2.1.	Soya fasulyesinin ortalama bileşimi.....	5
Tablo 2.2.	Soya yağı yağ asidi bileşimi	6
Tablo 2.3.	Ham ve rafine soya yağlarının ortalama bileşimi ……....	7
Tablo 2.4.	Soya yağının bazı kimyasal özellikleri	7
Tablo 2.5.	Soya yağına ait bazı fiziksel özellikler	8
Tablo 2.6.	Çevrilebilir merkezil bileşik deney tasarımları	22
Tablo 3.1.	Soya yağının özellikleri	25
Tablo 3.2.	Gaz kromatografi analiz koşulları	25
Tablo 4.1.	Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda silika jel etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)	29
Tablo 4.2.	Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)	33
Tablo 4.3.	Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda yağ/metanol mol oranının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)	36
Tablo 4.4.	Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)	39
Tablo 4.5.	Yüzey merkezil deney tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler için kodlanan seviyeler ve bu kodlara karşılık gelen değerler	43
Tablo 4.6.	Yüzey merkezil deney tasarımı ve belirlenen tepki değerleri (%ME).....	44
Tablo 4.7.	Bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiye bağlı olarak lineer ve kuadratik modellerde etkilerin tahminleri ve katsayıları	45
Tablo 4.8.	Varyans analizi sonuçları	46
Tablo 4.9.	Bağımsız değişkenlerin kritik değerleri	46
Tablo A.1.	Adsorbansız ortamda yürütülen soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)	58
Tablo A.2.	Soya 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)	58

Tablo A.3. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 59

Tablo A.4. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL 59

Tablo A.5. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 0,8 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 60

Tablo A.6. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,05 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 60

Tablo A.7. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,125 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 61

Tablo A.8. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,15 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 61

Tablo A.9. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,2 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 62

Tablo A.10. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 62

Tablo A.11. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 63

Tablo A.12. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 63

Tablo A.13. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 63

Tablo A.14. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/4 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL) 64

Tablo A.15. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 30 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL) 64
Tablo A.16. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 50 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL) 65
Tablo A.17. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 60 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL) 65
Tablo A.18. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) ... 66
Tablo A.19. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) ... 66
Tablo A.20. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) ... 67
Tablo A.21. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) 67
Tablo A.22. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) 68
Tablo A.23. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) 68
Tablo A.24. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) ... 69
Tablo A.25. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C) ... 69
Tablo A.26. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C) ... 70
Tablo A.27. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C) ... 70
Tablo A.28. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C).. 71
Tablo A.29. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C).. 71

Tablo A.30. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C) ... 72

Tablo A.31. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C) ... 72

Tablo A.32. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C) ... 73

Tablo A.33. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C).. 73

Tablo A.34. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C).. 74

Tablo A.35. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C).. 74

Tablo A.36. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C) 75

Tablo A.37. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C) 76

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Metil esterlerin üretimi ve kullanım alanları……..... 13
Şekil 2.2.a : Üç faktörlü bir sistem için merkezil bileşik deney deseni…….... 23
Şekil 2.2.b : Üç faktörlü bir sistem için yüzey merkezil küp dizaynı (α=1)... 23
Şekil 4.1 : Adsorbansız ortamda yürütülen soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 30
Şekil 4.2 : Soya 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 30
Şekil 4.3 : Soya 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 31
Şekil 4.4 : Soya 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 31
Şekil 4.5 : Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,8 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 32
Şekil 4.6 : Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,05 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…….. 34
Şekil 4.7 : Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,125 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 34
Şekil 4.8 : Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,15 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…….. 35

Şekil 4.9 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,2 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)…… 35

Şekil 4.10 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)..... 37

Şekil 4.11 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)..... 38

Şekil 4.12 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/4 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)..... 38

Şekil 4.13 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 30 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)..... 40

Şekil 4.14 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 50 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)..... 41

Şekil 4.15 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürünün metil ester içeriği üzerine enzim /yağ ağırlık oranının etkisi (yağ: 5 g ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; reaksiyon süresi: 30 dak.)..... 42

Şekil 4.16 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürünün metil ester içeriği üzerine yağ/metanol mol oranının etkisi (yağ: 5 g ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; reaksiyon süresi: 30 dak.)..... 42

Şekil 4.17 **:** Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürünün metil ester içeriği üzerine sıcaklığın etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; reaksiyon süresi: 30 dak.)..... 43

Şekil 4.18 **:** Gözlenen değerlere karşılık tahmin edilen değerler arasındaki ilişki..... 47

Şekil 4.19.a **:** Ürünün metil ester içeriğinin (%ME) sıcaklık ve mol oranı ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği..... 48

Şekil 4.19.b **:** Ürünün metil ester içeriğinin (%ME) sıcaklık ve mol oranı ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği..... 49

Şekil 4.20.a **:** Ürünün metil ester içeriğinin (% ME) sıcaklık ve enzim miktarı ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği..... 49

Şekil 4.20.b **:** Ürünün metil ester içeriğinin (%ME) sıcaklık ve enzim miktarı ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği..... 50

Şekil 4.21.a **:** Ürünün metil ester içeriğinin yağ/metanol mol oranı ve enzim miktarı ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği..... 51
Şekil 4.21.b : Ürünün metil ester içeriğinin yağ/metanol mol oranı ve enzim miktarı ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği..... 51

SOYA YAĞININ ENZİMATİK ALKOLİZİ İLE YAĞ ASİDİ METİL ESTERLERİ ÜRETİMİNİN OPTİMİZASYONU

ÖZET

Yağlardan elde edilen ürünler, kimya sanayiinde çok önemli bir yere sahiptir. Bu ürünlerden biri olan yağ asidi alkil esterleri endüstride geniş kullanım alanına sahip değerli yağ kimyasallarındandır. Hayvansal ve bitkisel yağların alkollerle reaksiyona girmesi sonucunda oluşan yağ asidi alkil esterleri aynı zamanda dizel yakıtlara alternatif olmaları ile de önemlidirler. Biyodizel olarak adlandırılan bu yakıtlar, doğada bozunabilir olmaları, yenilenebilir kaynaklara sahip olmaları ve zehirsiz olmaları gibi sebeplerle son on yıldır oldukça dikkat çekmeye başlamıştır.

Bu çalışmada, Türkiye kökenli rafine soya yağının metil alkol ile *Mucor miehei* orijinli Lipozyme IM mikrobiyal lipazı varlığında alkoliz reaksiyonu incelenmiştir. Bu amaçla, öncelikle n-hekzan ortamında gerçekleştirilen metanoliz reaksiyonu üzerine silika jel/yağ ağırlık oranı, enzim/yağ ağırlık oranı, metanol/yağ mol oranı ve sıcaklığın etkisi incelenmiş ve alkoliz reaksiyonu için en uygun olduğu düşünülen koşullar belirlenmiştir. Daha sonra bu koşulları istatistiksel açıdan irdelemek amacıyla sıcaklık, yağ/metanol mol oranı ve enzim/yağ ağırlık oranının alkoliz reaksiyonu üzerine etkileri, Tepki-Yüzey Metadolojisi (Response Surface Methodology) optimizasyon yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir.

Soya yağı ve metanolün Lipozym IM lipazı varlığında n-hekzan çözücü ortamında gerçekleştirilen enzimatik alkoliz reaksiyonu için en uygun sıcaklık 50 ^{0}C, enzim/yağ ağırlık oranı 0,15, silika jel/yağ ağırlık oranı 0,6 ve metanol/yağ mol oranı 1/3 olarak tespit edilmiştir. Bu koşullarda 1,5 saat sonunda elde edilen ürünün metil ester içeriği yaklaşık %100'dür.

Optimizasyon için kullanılan Tepki-Yüzey Metadolojisi yöntemine göre 30 dakikalık reaksiyon süresi sonunda elde edilebilecek maksimum metil ester içeriği ise %76,70 olarak bulunmuştur. Bu istatistiksel analiz yöntemine göre kritik reaksiyon koşulları ise 50,46 ^{0}C sıcaklık , 1/2,35 yağ/metanol mol oranı ve 0,09 enzim/yağ ağırlık oranıdır.

Yağ/metanol mol oranı, sıcaklık ve enzim miktarının metil ester oluşumuna etkisini göstermek için varyans analizinden yararlanarak 2. dereceden polinom olan bir model denklem oluşturulmuş ve bu model denkleme göre tahmin edilen değerler ile gözlenen değerlerin %97 (R^2 = 0,935, R=0,97) oranında uyum sağladığı görülmüştür.

OPTIMIZATION OF FATTY ACID METHYL ESTER PRODUCTION BY ENZYMATIC ALCOHOLYSIS OF SOYBEAN OIL

SUMMARY

The products which are obtained from oils have a great importance at chemical industry. One of these products is fatty acid alkyl esters which are the most valuable oleochemicals in industry where they have widespread applications . Fatty acid alkyl esters produced by a chemical reaction of fats and oils with an alcohol are also very important since they are an alternative fuel to diesel fuels. These fuels which are called biodiesel has attracted considerable attention during the past decade as renewable, biodegradable and non toxic fuels.

In this study, enzymatic alcoholysis of refined soybean oil which is originated from Turkey with methanol using Lipozyme IM as lipase was investigated. The parameters that effect the methanolysis reaction which was carried out in the presence of n-hekzan such as silica gel amount, enzyme amount, oil/alcohol molar ratio and temperature were examined. In the second part of the study, the optimization method, Response Surface Methodology was employed to evaluate the effects of enzyme amount, oil/alcohol molar ratio and temperature on the conversion of soybean oil to methyl ester by alcoholysis.

The optimum conditions for enzymatic alcoholysis reaction of soybean oil with methanol in the presence of n-hekzan using Lipozyme IM as lipase were determined as follows; temperature:50 ^{0}C, enzyme/oil weight ratio:0,15, silica gel/oil weight ratio:0,6 and oil/methanol molar ratio:1/3. At the optimum conditions after 90 min. reaction , the reaction yielded approximately %100 ester.

Based on Response Surface Methodology, the critical synthesis conditions for 30 min. reaction time giving the maximum %76,70 methyl ester content were determined as follows; temperature:50,46 ^{0}C, enzyme/oil weight ratio:0,09 and oil/methanol molar ratio:1/2,35.

A second-order model was obtained to predict conversions as a function of temperature, enzyme/oil weight ration and oil/methanol mol ratio. The analysis of variance indicated that the second-order model was highly significant and adequate to represent the actual relationship between the response (ME content, %) and the significant variables with a satisfactory coefficient of determination (R^2 = 0,935).

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Yağların metanol ve etanol gibi monohidroksi alkollerle oluşturdukları esterleri, pek çok kullanım alanı olan önemli yağ kimyasallarındandır. Bu yağ kimyasalları içersinde alternatif yakıt, biyodizel önemli bir yer tutmaktadır. Biyodizel, yağlardan transesterifikasyon (alkoliz) reaksiyonu sonucu elde edilmektedir. Dünyadaki teknolojik gelişmelerin paralelinde hızla artan enerji ihtiyacı nedeniyle, enerjiyi yoğun olarak kullanan sektörler, araştırma ve geliştirme faaliyetlerini, alternatif enerji kaynaklarının geliştirilmesi üzerinde yoğunlaştırmışlardır. Bu açıdan bakıldığında da biyodizel kullanımı; ekonomik olması, çevre kirliliği açısından daha temiz bir yakıt olması ve dışa bağımlık yerine öz kaynaklardan elde edilerek ülke ekonomisine çok yönlü katkıda bulunması açısından önem kazanmaktadır [1,2].

Biyodizel üretiminde bitkisel yağ olarak kolza, ayçiçek, soya ve kullanılmış kızartma yağları, alkol olarak metanol, katalizör olarak alkali katalizörler (sodyum ve potasyum hidroksit) tercih edilmektedir [2]. Ancak alkali katalizörler kullanılarak gerçekleştirilen biyodizel üretiminde bazı olumsuzluklar ön plana çıkmaktadır. Bunlardan bazıları reaksiyonun son derece yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi, oluşan yan ürün gliserol ile tuzun reaksiyon ortamından kolaylıkla uzaklaştırılamamasıdır. Bu gibi olumsuzlukların önüne geçebilmek amacıyla alkoliz reaksiyonunda katalizör olarak lipazların kullanılması gündeme gelmiştir. Şu ana kadar yapılan çalışmalar, çözücüsüz ortamda sürekli bir proses ile enzimatik alkoliz reaksiyonun gerçekleştirilmesi durumunda endüstriyel anlamda biyodizel üretimi için ekonomik bir çözümünde bulunmuş olacağını göstermektedir [3].

Günümüzde kolza yağından elde edilen biyodizel, yakıt olarak Avrupa'da kullanılmaktadır. Ayrıca palm yağından elde edilen biyodizel de yine aynı amaçla Malezya'da kullanılmaya başlanmıştır [3].

Bu çalışmada, Türkiye kökenli soya yağının immobilize Lipozyme IM mikrobiyal lipazı varlığında, n-hekzan çözücü ortamındaki metanoliz reaksiyonu incelenmiştir. Enzimatik alkoliz reaksiyonuna etki eden parametreler belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca bu amaçla reaksiyona ait seçilen bazı parametrelerin Tepki-Yüzey Metodolojisi (Response Surface Metodology) kullanılarak optimizasyonu da gerçekleştirilmiştir.

2. TEORİK KISIM

2.1. Soya Fasulyesi Bitkisi

Soya fasulyesi Baklagiller familyasına ait olan Glycine max. (L) Merrill adıyla da bilinen bir bitkinin tohumudur [4]. Glycine Yunanca tatlı anlamına gelmektedir ve Baklagiller familyasındaki kökü yenen tüm bitkiler içinde kullanılmaktadır. Max sözcüğü ise geniş anlamına gelmekte ve soya fasulyesi bitkisi üzerindeki geniş yumruları ifade etmektedir [5]. Boyu 75 cm'den 1.5 metreye kadar olan soya bitkisinin meyvesi bir bakladır. Soya baklaları olgunlaşınca içlerinde yuvarlak ve sarı renkli tohumlar oluşmaktadır. Esas olarak ılıman iklim bölgelerinde yetişen soya fasulyesi bitkisi bir kısa gün bitkisi olup günlerin kısalmasıyla çiçek açmakta, kasım ve aralık aylarında ise hasat edilmektedir [4].

Soya fasulyesinin insan gıdası olarak değerlendirilmesine ilk önce Uzak Doğu Asya'da başlandığı bilinmektedir. M.Ö. 2000 yıllarına ait eski Çin kayıtlarında, soya tarımı ilgili önerilere rastlanmaktadır. Daha sonra Budizm dininin et yemeyi yasaklaması nedeniyle soya fasulyesi Çin'den Japonya'ya ve diğer doğu ülkelerine doğru yayılmaya başlamıştır [4]. Avrupa'nın soya fasulyesi ile ilk tanışması ise Engelbert Kaempfer adlı bir Alman botanikçinin merakı sonucu 1712 yıllarında olmuştur. Daha sonraları ise bir başka botanikçi İsveçli Carl von Linne′ soya fasulyesine genetik ismi olan Glycine max. adını vermiştir. Ancak yetersiz iklim ve toprak koşulları nedeniyle Avrupa'da ki soya fasulyesi üretimi kısıtlı kalmıştır. Soya fasulyesinin Amerika'ya gelişi ise 18. yüzyılın ortalarında geçekleşmiş olsa da bu bitki ile geniş ölçekli resmi tanışma 1900'lerin başlarına kadar gerçekleşmemiştir. 1920'lerin sonlarına doğru Amerika'ya William Morse tarafından büyük çoğunlukla Çin'den olmak üzere binlerce soya fasulyesi türü getirilmiştir. William Morse daha sonra Amerikan Soya Derneği'nin kurulmasına öncülük etmiş ve bu derneğin ilk başkanı olarak görev yapmıştır. 1954 yılına kadar Çin dünya soya

fasulyesi üretiminde ve ihracatında birinci sırada yer alsa da o tarihten sonra Amerika Birleşik Devletleri bu konuda dünya lideri haline gelmiştir [5]. Soya fasulyesi Güneydoğu Asya'ya özgü bir bitki olmasına karşın günümüzde soya fasulyesi ekim alanlarının % 45'i ve dünyada soya fasulyesi üretiminin %55'i Amerika Birleşik Devletlerinin elinde bulunmaktadır. 2000 yılında Amerika 75 milyon ton soya fasulyesi üretmiş ve bunun üçte birinden fazlasını ihraç etmiştir. Dünyada bu konudaki diğer lider üretici ülkeler ise Brezilya, Arjantin, Çin ve Hindistan'dır [6].

Yurdumuzda soya fasulyesi tarımı oldukça yenidir. Birinci Dünya Savaşı yıllarında Karadeniz sahillerimizde (Ordu, Samsun, Rize) soya ekimi ve üretimi çalışmaları başlamıştır. Ancak 1974'e kadar geçen süre içersinde gerek ekiliş alanlarında gerek üretim miktarlarında hızlı bir artış olmadığı gibi, birçok yıllar azalmalar da olmuştur. 1975 yılından itibaren Ceyhan-Aslantaş Projesi kapsamında, Çukurova'da buğday ekilebilen ve sulanabilen alanlara ikinci ürün olarak ekimi öngörülmüş, ancak bölge koşullarına adapte olacak çeşitlerin iyi belirlenmemiş olması, gerekli bakteri kültürü ile aşılamanın sağlanamaması, bilinçsiz sulama, yabancı ot sorunu gibi nedenlerden ötürü arzu edilen üretim düzeyi gerçekleştirilememiştir. 1981 yılı yazında ise Devlet, Tarım Bakanlığı kanalıyla üreticiyi, kredili tohum vererek ve yüksek taban fiyat politikası ile teşvik ederek üretimi arttırma yoluna gitmiştir [4].

Yurdumuzda halen Adana, Antalya, İçel, Hatay, Aydın, Manisa, İzmir, Urfa, Gaziantep, Kahramanmaraş, Denizli, Muğla ve Mardin illerimizde soya fasulyesi ekimi yapılmaktadır [4].

Soya fasulyesi eşsiz kimyasal bileşimi nedeniyle değerli ve ekonomik tarımsal ürünler içersindeki yerini almıştır. Soya fasulyesi diğer baklagiller ve tahıllar içersinde en yüksek protein miktarına sahip olan bitkidir. İçersindeki protein miktarı % 40 civarındadır. Diğer baklagiller ise %20- %30 civarında protein içermektedir. Soya fasulyesi ayrıca %20 oranında yağ da içermektedir [5].

Soya fasulyesinin ortalama bileşimi için şu değerler verilmektedir.

Tablo 2.1. Soya fasulyesinin ortalama bileşimi [7]

Protein	% 40
Lipid	%20
Selüloz ve hemiselüloz	%17
Şekerler	%7
Ham lif	%5
Kül	%6

Soya fasulyesinin değişik amaçlar için kullanılan pek çok türü bulunmaktadır. Farklı şekillerde işlenmesi ile farklı türlerde ürünler ortaya çıkmaktadır. Soya fasulyesinden elde edilen başlıca ürünler ise soya hayvan yemi**,** soya unu, tofu yani soya peyniri, textured vegetable protein adıyla da bilinen tekstüre bitkisel protein yani yaygın adıyla soya eti, bir fermente soya ürünü olan tempeh , soya lesitini ve soya yağıdır. Soya fasulyesi aynı zamanda pek çok ürünün de temel bileşenini oluşturmaktadır. Bunlar arasında soya sosu da vardır. Ayrıca soya fasulyesinden günlük tüketim maddelerinin pek çoğu da imal edilmeye başlanmıştır. Soya sütü, soya yoğurdu ve soya krem peyniri bu ürünler arasındadır. Soya yoğurdu, soya peyniri ve soya krem peyniri gibi soya sütünden yola çıkılarak imal bu ürünler görünüş ve tat olarak hayvansal diğer süt ürünlerinden farklılık göstermeseler de yapısal olarak önemli bir farklılık taşımaktadırlar. Çünkü soya fasulyesi yapısında kalsiyum bulundurmamaktadır. Ayrıca hayvansal süt ürünlerinde bulunan bazı vitaminleri de içermemektedir. Bu yüzden özellikle küçük çocuk ve bebeklerin beslenmesinde kullanılmaları önerilmemektedir. Bazı vakalarda, normal yetişkinler için olan soya sütüyle beslenen bazı bebek ve çocukların kötü beslenmeye bağlı olarak rahatsızlandıkları ve hatta öldükleri tespit edilmiştir. Soya sütünün bu eksikliğinin giderilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Son zamanlarda bebek ve küçük çocukların beslenmesi için soya sütüne gerekli katkıları sağlayan bir formül de ortaya konmuştur [6].

2.2. Soya Yağı, Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Soya yağı, soya fasulyesinden elde edilen önemli bir üründür. Soya yağı bir çok gıda ürününde yaygın olarak kullanılan en önemli yemeklik yağlardan biridir. Vücudumuz için kalori sağlamanın yanı sıra yine vücudumuz için gerekli olan yağ asitleri ile yağda çözünen vitaminler açısından da önemli bir kaynak teşkil etmektedir [5]. Tablo 2.2'de tipik bir soya yağının yağ asitleri bileşimi görülmektedir.

Tablo 2.2. Soya yağı yağ asidi bileşimi [7]

Yağ Asidi	Yağ Asidi Bileşimi, %
Doymuş Yağ Asitleri	
Miristik asit	<0,5
Palmitik asit	7-12
Stearik asit	2-5,5
Araşidik asit	<1,0
Behenik asit	<0,5
Doymamış Yağ Asitleri	
Palmitoleik asit	<0,5
Oleik asit	20-50
Linoleik asit	35-60
Linolenik asit	2-13

Tablodan da görüldüğü gibi temel yağ asitleri açısından soya yağı mükemmel bir kaynaktır. Ayrıca yine tablodan da görüldüğü gibi, soya yağının linoleik asit içeriği oldukça yüksektir. Linoleik asit, vücudun kendisinin sentezleyemediği, dolayısıyla diyetle alınması zorunlu temel yağ asitlerinin en önemlilerinden biridir. Büyüme ve üreme için çok önemli bir yağ asididir. Ayrıca vücuttan aşırı su kaybının önlenmesinde ve radyasyondan kaynaklanacak zararların azaltılmasında son derece büyük rolü vardır. Sağlıklı bir deriye sahip olmak için alınması şarttır. Çünkü deri kurumalarını ve çatlamalarını önler [8].

Tablo 2.3'de ise ham ve rafine soya yağlarının ortalama bileşimi verilmektedir.

Tablo 2.3. Ham ve rafine soya yağlarının ortalama bileşimi [5]

Bileşenler	Ham Yağ	Rafine Yağ
Triaçilgliseroller (%)	95-97	>99
Fosfatidler (%)	1,5-2,5	0,003-0,045
Serbest yağ asitleri (%)	0,3-0,7	<0,05
Sabunlaşmayan maddeler (%)	1,6	0,3
Steroller (%)	0,33	0,13
Tokoferoller (%)	0,15-0,21	0,11-0,18
Hidrokarbonlar (%)	0,014	0,01
Demir (ppm)	1-3	0,1-0,3
Bakır (ppm)	0,03-0,05	0,02-0,06

Soya yağının, diğer bitkisel yağlara göre oldukça fazla miktarda içerdiği fosfatidler, soya fasulyesinden elde edilen önemli bir ticari üründür. Bu maddeler ham yağın rafinasyonu sırasında yan ürün olarak ele geçer ve ticari lesitin olarak pazarlanırlar. Soya lesitininin, emülsiyon yapma özelliğinden dolayı, gıda sanayiinin çeşitli dallarında (margarin, çukulata yapımı gibi) kullanım alanları vardır. Ayrıca ilaç ve kozmetik yapımında da önemli bir katkı maddesidir [4].

Tablo 2.4'de soya yağının bazı kimyasal özellikleri bulunmaktadır.

Tablo 2.4. Soya yağının bazı kimyasal özellikleri [4]

Özellik	Değer
İyot sayısı	120-140
Sabunlaşma sayısı (mg KOH/g)	189-195
Sabunlaşmayan kısım (%)	<1,5

Tablo 2.5'de ise soya yağına ait bazı fiziksel özellikler görülmektedir.

Tablo 2.5. Soya yağına ait bazı fiziksel özellikler [9]

Özellik	Değer
Özgül ağırlık, 25 ^{0}C'de	0,9175 [a]
Kırılma indisi, n^{25}_D	1,4728 [b]
Spesifik kırılma, n^{20}_D	0,3054
Viskozite, 25 ^{0}C'de (cP)	50,09 [a]
Katılaşma noktası (^{0}C)	-10'dan –16'a kadar
Spesifik ısısı, 19,7 ^{0}C'de (cal/g)	0,458
Yanma ısısı (cal/g)	9,478 [c]
Alevlenme noktası (^{0}C)	328
Yanma noktası (^{0}C)	363

[a] IV = 132,6

[b] IV = 130,2

[c] IV = 131,6

Soya yağının gıda üretimi dışında pek çok kullanım alanı daha bulunmaktadır. Başlıca gıda dışı kullanım alanları kuruyan yağ sanayileri (boya, vernik, reçine gibi), plastifiyan madde üretimi (epoksitlenmiş soya yağı gibi), dimer asit üretimi (yapıştırıcı, mürekkep yapımında) ve yüzey aktif madde üretimleridir [4].

2.3. Yağlara Uygulanan Kimyasal Dönüşümler

2.3.1.Esterleşme Reaksiyonları

Bir alkol ile asidin katalizör varlığında reaksiyona girerek ester oluşturduğu reaksiyonlara esterleşme reaksiyonu denir. Bu reaksiyonun tersi hidroliz reaksiyonudur [10].

Esterler, monohidrik ve polihidrik alkollerle, etilen veya propilen oksitlerle, asetilen veya vinil asetatlarla yürütülen reaksiyonlarla elde edilirler. Genellikle de monohidrik alkoller olarak metanol, 1-propanol, 2-propanol ve 1-bütanol kullanılır. Esterleşme bir denge reaksiyonudur ve esterin yanında su da oluşur [11].

$$R_1COOH + R_2OH \rightleftharpoons R_1COOR_2 + H_2O$$

Asit Alkol Ester Su

Esterleşme reaksiyonları genellikle asit katalizörler varlığında yürütülmektedir. Sülfürik asit, fosforik asit, organik sülfonik asitler ve hidroklorik asit gibi kuvvetli asitler kullanılmadığında da son derece yavaş gerçekleşen reaksiyonlardır [12].

2.3.2. İç Esterleşme Reaksiyonları

İnteresterifikasyon (iç esterleşme) reaksiyonları bir ester ile başka bir bileşen arsında gerçekleşen, alkoksi ve açil gruplarının yer değiştirmesiyle karakterize edilen ve farklı bir ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlar olarak tanımlanabilir [11].

$$RCOOR' + R''OH \rightleftharpoons RCOOR'' + R'OH$$

$$RCOOR' + R''COOH \rightleftharpoons RCOOH + R''COOR'$$

$$RCOOR' + R''COOR'' \rightleftharpoons RCOOR'' + R''COOR'$$

En önemli interesterifikasyon reaksiyonları, esterin bir alkolle, bir asitle veya başka bir esterle olan reaksiyonlarıdır. Ester alkol arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına alkoliz, ester ile asit arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına asidoliz, ester ile başka bir ester arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına ise transesterifikasyon denir [11]. Ancak bazı kaynaklara göre transesterifikasyon (transesterleşme) bir esterin bir asit, bir alkol, bir başka ester ve bir amin ile olan reaksiyonlarını ifade eden genel bir terim olarak kullanılmaktadır [4].

2.3.3. Asidoliz Reaksiyonları

Bir asit ile esterin reaksiyona girmesiyle alkil gruplarının yer değiştirmesi sonucu yeni bir ester oluşmasına asidoliz denir [10].

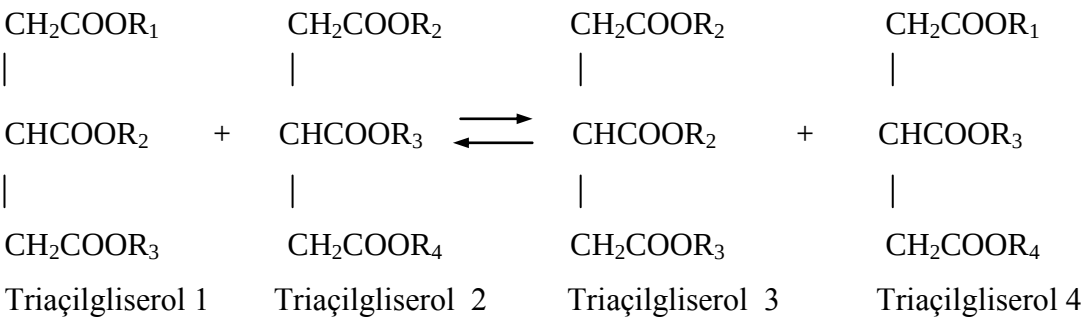
$$R_1COOR_2 + R_3COOH \rightleftharpoons R_3COOR_2 + R_1COOH$$

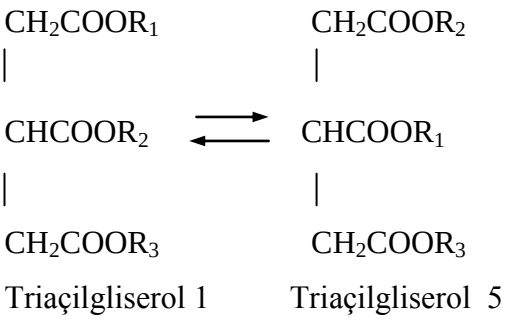
Ester Yağ asidi Ester Yağ asidi

Bu reaksiyonlar gerçekleşmesi için yüksek sıcaklık veya asit katalizör ya da her ikisi birden gereklidir [11].

2.3.4. Transesterifikasyon Reaksiyonları

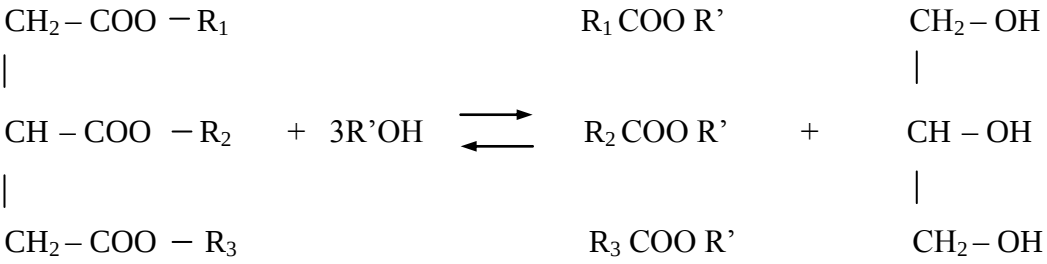
Transesterifikasyon (ester değişimi) reaksiyonları, iki ester arasında gerçekleşen ve farklı iki ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlardır [11].





2.3.5. Alkoliz Reaksiyonları

Bir alkol ile esterin reaksiyona girmesiyle alkil gruplarının yer değiştirmesi sonucu yeni bir ester ve alkol oluşmasına alkoliz denir [13].



Alkoliz reaksiyonları denge reaksiyonları olup alkol fazlası genellikle reaksiyonu ürün lehine döndürür. Bu reaksiyon için stokiyometrik oran 3 mol alkole karşılık 1 mol yağ olmasına karşın pratikte ürün verimini arttırmak adına stokiyometrik orandan farklı olarak genellikle daha yüksek alkol mol oranlarında çalışılmaktadır [12].

Alkoliz reaksiyonunu hızlandırmak için asit, alkali veya enzimatik katalizörler kullanılabilir. Alkali katalizörler olarak NaOH, KOH, sodyum metoksit, sodyum etoksit, sodyum propoksit veya sodyum butoksit tercih edilir. NaOH ise hem ucuz olması hem de kolay temin edilebilmesi sebebiyle bu reaksiyon için en çok kullanılan alkali katalizördür. Genel olarak bakıldığında da ise alkali katalizörler reaksiyonu asit katalizörlere göre daha hızlı yürüttüğünden daha çok tercih edilirler [12]. Alkali katalizörlü alkolizde, gliserollerin ve alkollerin susuz olması gerekir; çünkü su sabunlaşma reaksiyonuna sebep olur. Sabun oluşumu ester miktarını azaltır, ester ve gliserolün ayrılmasını zorlaştırır [10].

Alkolizde kullanılan asit katalizörler ise sülfürik asit, fosforik asit, hidroklorik asit, ve organik sulfonik asitlerdir. Alkali katalizörlü reaksiyonlara göre daha yavaş gerçekleşmelerine rağmen, su ve serbest yağ asidi içeren triaçilgliserollerin alkolizi için uygundur [10].

Enzimatik katalizörler olarak genellikle lipazlar kullanılır. Ancak enzimin aktivitesini korumak için reaksiyon koşullarının çok iyi denetlenmesi gerekmektedir [12]. Alkoliz reaksiyonu için katalizör olarak lipaz kullanıldığında triaçilgliseroller ve kısmi gliseroller lipaz varlığında hidrolize olarak kısmi gliserol ve serbest yağ asidi verirler. Metil esterler de, metanol ve serbest yağ asidinin esterleşme reaksiyonu sonucu oluşur [10].

$$\text{Triaçilgliserol (TAG)} + \text{R'OH} \underset{\text{Katalizör}}{\rightleftharpoons} \text{Diaçilgliserol (DAG)} + \text{R'COOR}_1$$

$$\text{Diaçilgliserol (DAG)} + \text{R'OH} \underset{\text{Katalizör}}{\rightleftharpoons} \text{Monoaçilgliserol (MAG)} + \text{R'COOR}_2$$

$$\text{Monoaçilgliserol (MAG)} + \text{R'OH} \underset{\text{Katalizör}}{\rightleftharpoons} \text{Gliserol (GL)} + \text{R'COOR}_3$$

Enzimatik alkolizde, alkoliz reaksiyonunda bir yan ürün olarak ortaya çıkan gliserolün geri kazanılması diğer katalizörlerle gerçekleştirilen alkoliz reaksiyonlarına göre daha kolaydır. Ayrıca enzimler atık yağlar içerisindeki serbest yağ asitlerinin de bütünüyle metil esterlere dönüştürülmesine olanak sağlamaktadır.

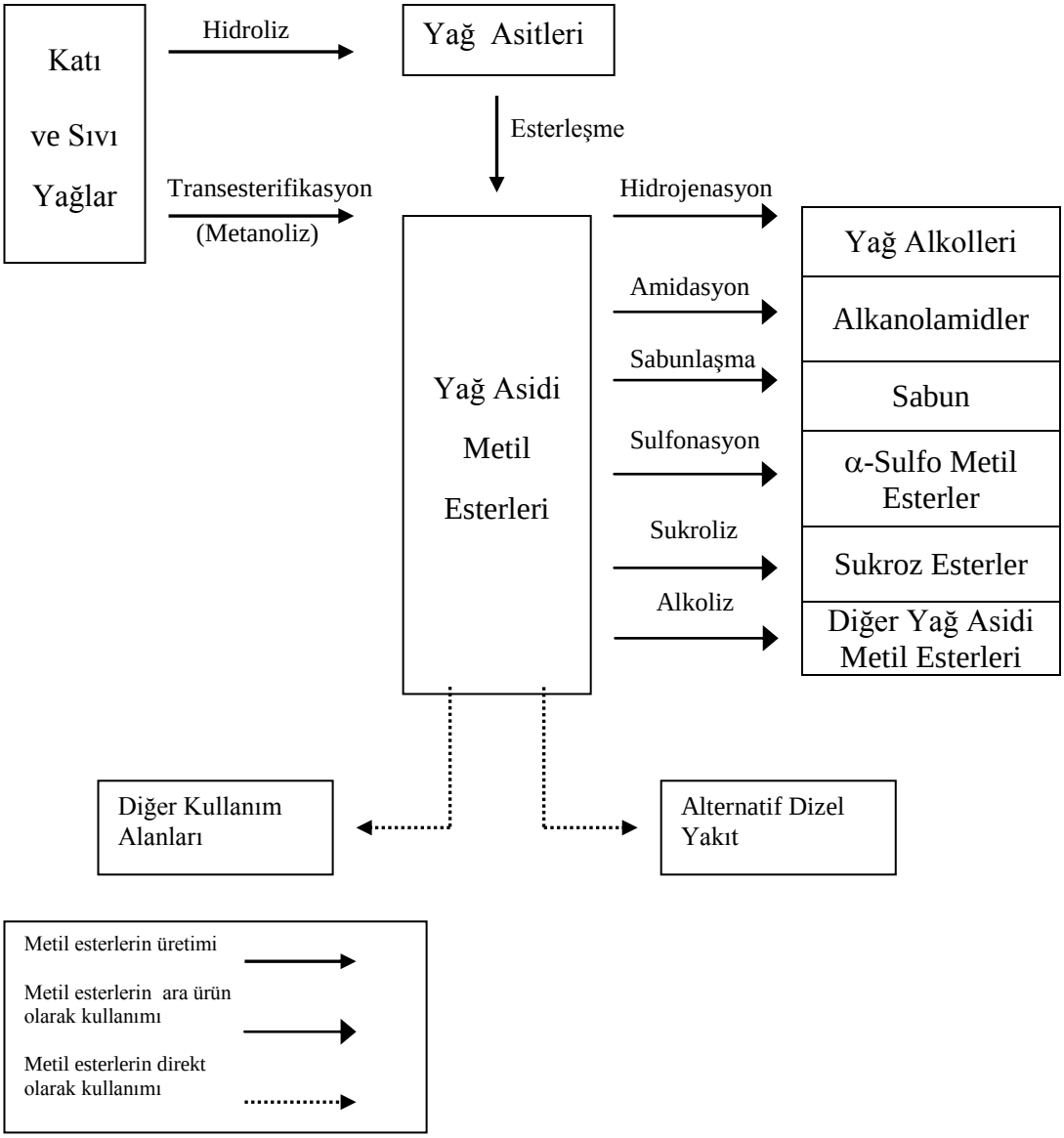
Ayrıca enzimatik alkolizin diğer bir avantajı da kullanılan lipazın substrat seçiciliğine bağlı olarak, farklı bileşim ve özelliklere sahip pek çok ürünün elde edilmesidir [10,14].

Alkoliz reaksiyonlarında sadece metanol, etanol, propanol, bütanol ve amil alkol gibi basit alkoller kullanılır. Bu alkoller arasında en çok tercih edilen alkol metanoldür. Çünkü metanol en kısa zincirli alkoldür ve ayrıca polar bir bileşiktir [12].

Endüstriyel olarak alkoliz reaksiyonu, genellikle bitkisel yağların güçlü bir asit veya baz varlığında 100 ile 200 ^{0}C arasında ısıtılmasıyla gerçekleşir. Çeşitli katalizörlerin kullanıldığı geleneksel kimyasal teknoloji ile alkil esterlerin üretimi, gliserolün yeniden elde edilme zorluğu, katalizörün uzaklaştırılması ve yüksek enerji sarfiyatı gibi pek çok dezavantaja sahiptir. Bu nedenle alkoliz reaksiyonlarında lipazların kullanımın bu dezavantajları ortadan kaldırabileceği düşünülmektedir [13].

2.4. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Kullanımı ve Önemi

Yağ asidi metil esterleri, pek çok yararlı kimyasallara ve çeşitli sentezler için hammaddelere dönüştürülebilir. Metil esterlerinden üretilen alkanolamidler, iyonik olmayan yüzey aktif madde, emülgatör, inceltici ve plastikleştirici ajanı gibi kullanım alanlarına sahiptirler. Metil esterlerden üretilen yağ alkolleri ise karbon zincir uzunluklarına göre çeşitli kullanım alanlarına sahiptirler. (C_{16}-C_{18}) ilaç ve kozmetikte katkı maddesi olarak , (C_6-C_{12}) ise yağlayıcı madde ve plastikleştirici ajanı olarak kullanılmaktadır [10,13]. Kısacası metil esterlerin direkt kullanımı azdır, genellikle ara ürün üzerinden değerli yağ kimyasallarının sentezinde kullanılır [15]. Şekil 2.1'de metil esterlerin üretim yöntemleri ve kullanım alanları verilmiştir.



Şekil 2.1. Metil esterlerin üretimi ve kullanım alanları [15]

Günümüzde hayvansal ve bitkisel yağlardan elde edilen yağ asidi metil esterlerinin en önemli kullanım alanlarından biri petrol bazlı dizel yakıtlara alternatif olarak biyodizel yakıtı üretimidir. Biyodizel, zehirsiz oluşu ve doğaya zarar vermemesi gibi yönlerden petrol bazlı dizel yakıtlara oranla daha çok tercih edilmeye başlanmıştır [16]. Ayrıca biyodizel yakıtların, yanması atmosferdeki var olan CO_2 miktarını arttırmamaktadır. CO_2, sera gazlarından biridir [14]. Bilindiği gibi şu anda dünyanın önemli sorunlarından biri olan küresel ısınmanın başlıca sebebi atmosferdeki sera gazlarının miktarındaki değişimdir. Yine ilerleyen zamanla birlikte dünyadaki petrol rezevrlerinin tükenecek olması biyodizele olan ilgiyi

arttırmaktadır [16]. Biyodizel özellikle çeşitli lipazlar kullanılarak hayvansal ve bitkisel yağların transesterifikasyonu sonucu elde edilebilir. Çeşitli yağların çeşitli lipazlarla olan bu reaksiyonu birçok araştırmacı tarafından incelenmektedir.

2.5. Literatür Araştırması

Bu bölümde literatürden seçilen bazı çalışmalar özet olarak verilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi yağların transesterifikayonunda kimyasal veya enzimatik katalizörler kullanılabilmektedir. Bu nedenle aşağıda öncelikle kimyasal katalizörlerle gerçekleştirilen çalışmalara yer verilecek daha sonra da enzimlerle katalizlenen reaksiyonlara ait çalışmalar aktarılacaktır.

Zhang ve arkadaşları, saf bitkisel yağlardan ve atık yemeklik yağlardan bazik ve asidik katalizörler kullanarak ticari ölçekte biyodizel yakıtı üreten dört faklı, sürekli çalışan proses geliştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalar neticesinde biyodizel üretimi için saf bitkisel yağ ve alkali katalizör kullanıldığında prosesin gerçekleşmesi için en az ve en küçük donanımın yeterli olduğunu görmüşlerdir. Ancak diğer dört proses içersinde en yüksek ham madde maliyeti de bu proseste ortaya çıkmıştır. Kısacası bu proseste ekipman maliyetleri düşük olmasına karşın ham madde maliyetleri çok yüksektir. Ayrıca yaptıkları çalışmalar atık yağların kullanılmasının proses maliyetlerini her durumda azalttığını göstermiştir. Ayrıca asit katalizör ve atık yağ kullanılarak gerçekleştirilen prosesin baz katalizör ve atık yağ kullanılarak gerçekleştirilen prosese göre daha basit olduğu ve bu açıdan bakıldığında ticari biyodizel yakıtı üretiminde bu iki prosesin de birbiriyle yarışan iki önemli proses olduğu üzerinde durulmuştur. Bu çalışmada prosesler, yılda 8000 ton biyodizel üretecekleri düşünülerek tasarımlanmıştır [17].

Noureddini, Harkey ve Medikonduru, yaptıkları çalışmada rafine soya yağının transesterifikasyonu ile metil ester elde etmek üzere pilot ölçekte sürekli çalışan bir proses tasarlamışlardır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için alkol olarak susuz metanol ve katalizör olarak ise 25g sodyum hidroksitin 1L metanol içersine katılmasıyla elde edilen çözelti kullanılmıştır. Yapılan deneyler ile karıştırma kuvveti, reaksiyon stokiyometrisi ve katalizör konsantrasyonundaki değişimlerin dönüşüm üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ayrıca bunlarla bağlantılı olarak farklı karıştırıcıların dönüşüm üzerine olan etkisi de tek başına incelenmiştir. Sonuçta yapılan çalışmalar

neticesinde %98 gibi yüksek bir dönüşüm elde edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar yüksek katalizör konsantrasyonları kullanıldığında yüksek dönüşüm elde edildiğini ancak bu durumda da oluşan metil esterlerin gliserol fazı içersindeki çözünürlüğünün arttığını bunun da reaksiyon neticesinde ayrılan metil ester miktarında azalmaya sebep olduğunu göstermiştir [18].

Alcantara ve arkadaşları, ise soya yağı, donyağı ve kullanılmış kızartma yağı olmak üzere üç farklı yağdan transesterifikasyon ve amidleşme reaksiyonları ile iki farklı yöntemle biyodizel yakıtı üretmeye çalışmışlardır. Transesterifikasyon reaksiyonunun gerçekleşmesi için metanol, amidleşme reaksiyonunun gerçekleşmesi için ise dietilamin kullanılmıştır. Çalışmalarında her iki reaksiyon için de bu üç yağdan biyodizel yakıtı üretilmesine ilişkin en uygun çalışma koşullarını belirlemişlerdir. Ayrıca bu üç yağdan elde edilen biyodizel yakıtlara ilişkin özellikler ASTM metodu ile tespit edilmiş ve bu yakıtların petrokimyasal temelli dizel yakıtlarla benzer setan sayılarına sahip oldukları görülmüştür [19].

Kıldıran, çalışmasında soya yağından yağ asidi mono esterlerinin üretimini yerinde (in-situ) alkoliz yöntemi ile incelemiştir. Yerinde alkoliz yönteminde yağ tohumdan ekstrakte edilmeden, doğrudan alkol ile reaksiyona sokulmaktadır. Kıldıran, deneysel çalışmasında öğütülmüş soya fasulyelerini, aynı koşullarda ve katalizör olarak derişik sülfirik asit kullanarak, metanol, %96'lık etanol, %98,75'lik etanol, n-propanol ve n-bütanol ile reaksiyona sokmuş partikül büyüklüğü, reaksiyon süresi, alkol cinsi gibi değişkenlerin yerinde alkoliz reaksiyonuna etkisini incelemiştir [4].

Tomasevic ve arkadaşları, ısıtılmış rafine ayçiçek yağından ve kullanılmış kızartma yağlarından metil ester üretimini inceleyen bir çalışma yapmıştır. Çalışmalarında özellikle yağ kalitesi, metanol-yağ mol oranı, katalizör türü ve konsantrasyonu, sıcaklık ve reaksiyon süresi gibi ester dönüşümü ve saflığı üzerine son derece önemli olan reaksiyon koşullarını incelemişlerdir. Dizel motorlarda kullanılabilecek özelliklere sahip biyodizel yakıtı üretiminin, incelenen tüm yağlarla 25 ^{0}C'de, 6:1 metanol-yağ mol oranında, 30 dakikada ve %1 KOH katalizör oranıyla gerçekleşebileceğini tespit etmişlerdir [20].

Vincente ve arkadaşları, ayçiçek yağının farklı bazik katalizörlerle gerçekleşen transesterifikasyonunu incelemiştir. Tüm reaksiyonlar aynı deneysel koşullar altında

ve karıştırmalı kesikli bir reaktörde yapılmıştır. Sodyum metoksit, potasyum metoksit, sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit olmak üzere dört faklı bazik katalizör kullanılmıştır. Bu dört farklı katalizörün dördüyle de oldukça hızlı ve yüzde yüze yaklaşan bir dönüşüm elde edilse de sodyum hidroksit ile gerçekleştirilen reaksiyonlar içlerinde en hızlı gerçekleşen reaksiyonlar olmuştur [21].

Mittelbach ve Enzelsberger, kolza yağının ısıtılması sırasında meydana gelen kimyasal değişiklikleri özellikle de polimer oluşumunu incelemişlerdir. Biyodizel yakıtı üretiminde kullanılmış kızartma yağlarının tercih edilmesi özellikle ekonomik açıdan çok büyük önem taşımaktadır. Ancak ısıtma sırasında oluşan polimerlerin miktarının çok fazla olması yakıtın viskozitesi, uçuculuğu veya diğer özellikleri üzerinde olumsuz bir etki oluşturmaktadır. Buradan yola çıkarak yaptıkları deneylerle ısıtmayla birlikte yağ içersindeki polimer miktarının ağırlıkça %15'e ulaştığını ancak yağın metanol ile transesterifikasyonu neticesinde oluşan metil ester örnekleri içersindeki polimer miktarının en fazla ağırlıkça %5 dolayında olduğunu görmüşlerdir. Bu çalışmalarıyla atık kolza kızartma yağının da biyodizel yakıtı üretimi için uygun olduğunu ve bu şekilde elde edilen yakıtın da gerekli yakıt karakteristiklerini sağladığını ortaya koymuşlardır [22].

Ham soya yağının üç kademeli metanolizi, *Candida antartica* (Novozym 435) lipazı katalizörlüğünde, çözücüsüz ortamda Du ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Üç kademeli metanoliz gerçekleştirilirken ikinci kademe metanolizin birinci kademe metanolizden daha hızlı gerçekleştiği görülmüştür. Buradan yola çıkılarak da kullanılan lipaza bir ön işlem uygulayarak enzim aktivitesinin arttırılabileceği düşüncesi doğmuştur. Lipazın reaksiyondan önce ham soya yağı içersinde bir süre bekletilmesi yolu ile hem reaksiyon hızının hem de metil ester dönüşümünün artacağı kanıtlanmıştır. Bu şekilde bir ön işlem görmüş Novozym 435 lipazı kullanıldığında 120 saatte %94 gibi yüksek bir metil ester dönüşümü elde edilmiştir. Bu dönüşüm yüzdesi de nerdeyse rafine soya yağının metanolizi ile elde edilen dönüşüm kadar yüksektir [23].

Gao, Philkana ve Noureddini, yaptıkları çalışmada soya yağının etanol ve metanol ile enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunu incelemiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan dokuz adet lipaz içersinde *Pseudomonas cepacia* en yüksek alkil ester dönüşümünü sağlamıştır. Bu lipaz daha sonra immobilize edilerek tekrar deneysel

çalışmalarda kullanılmıştır. İmmobilize *Pseudomonas cepacia* lipazı kullanılarak transesterifikasyon reaksiyonu üzerine su ve alkol konsantrasyonunun, enzim miktarının artışının, enzimin termal kararlılığının ve reaksiyon sıcaklığının etkisi incelenmiştir. Çalışmada 10 g soya yağının metanol ile alkolizinin gerçekleştiği bir proses için optimum koşullar 35 ^{0}C, 1:7,5 yağ-metanol mol oranı, 0,5 g su ve 475 mg lipaz olarak verilmiştir. Aynı miktar yağın etanol ile alkolizinde ise optimum koşullar 35 ^{0}C, 1:15,2 yağ-metanol mol oranı, 0,3 g su ve 475 mg lipaz olarak belirlenmiştir. Ayrıca immobilize edilen lipazın tekrar kullanıldığında aktivitesini çok az yitirdiği ve karalılığını da koruduğu tespit edilmiştir [16].

Soya yağının çözücüsüz ortamda *Termomyces lanuginosus* (Lipozyme TL IM) lipazı ile metanolizi Xu ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Çalışmada yağ-metanol oranının 1:1,5'u geçmesi durumunda fazla eklenen alkolün lipazı inaktive ettiği görülmüştür. Reaksiyonun üç aşamalı olarak, 1:1 yağ-metanol mol oranında 40 ^{0}C'de, 150 devir/dakika karıştırma hızıyla ve yağın ağırlıkça %10'u kadar enzim ilavesiyle gerçekleştirildiğinde 12 saatte %94'lük bir metil ester dönüşümü elde edilmiştir. Reaksiyonda bir yan ürün olan gliserolün enzim aktivitesi üzerinde olumsuz bir etkisi bulunduğundan gliserolü ortamdan uzaklaştırmak amacıyla izo-propanol kullanılmıştır. Bu sayede 15 reaksiyon devri neticesinde enzim aktivitesini korumuş ve reaksiyonda %94'ün üzerinde dönüşüm elde edilebilmiştir [24].

Watanabe, Shimada ve arkadaşları, immobilize *Candida antartica* lipazının, ham soya yağının metanolizini gerçekleştirmediğini ama gamı giderilmiş soya yağının metanolizini gerçekleştirdiğini tespit etmişlerdir. Buradan yola çıkarak gamın giderildiği basamakta ayrılan maddelerin, ham soya yağının metanolizini inhibe ettiği sonucuna varmışlardır. Soya yağının içersinde fosfolipidler yüksek oranda bulunurlar ve gamın giderildiği basamakta bu fosfolipidlerde ayrılırlar. Bu sebeple metanolizi inhibe eden maddelerden birinin de bu fosfolipidler olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bilgilerin ışığı altında gamı giderilmiş soya yağının metanolizde kullanılması gerektiğine karar verilmiştir. Ayrıca çalışmada üç kademeli metanoliz sonucunda, gamı giderilmiş soya yağının, %93,8 oranında metil esterlerine dönüştüğünü ve lipazın, aktivitesinde hiçbir azalma olmadan 25 kere kullanılabildiği belirtilmiştir [25].

Du, Xu ve Liu, kısa zincirli alkollerle soya yağının Lipozyme TL IM lipazı katalizörlüğünde alkolizini incelemiştir. Özellikle reaksiyon üzerine sıcaklığın, yağ/alkol mol oranının ve yan ürün gliserolün etkisini araştırmışlardır. Sürekli olmayan üretimde optimum yağ /alkol mol oranı 1:4 ve optimum sıcaklık da 40-50 ^{0}C olarak tespit edilmiştir. Ancak sürekli üretimde optimum yağ/alkol mol oranı 1:1 ve optimum sıcaklık da 30 ^{0}C olarak belirlenmiştir. Gliserolün ortamdan uzaklaştırılması amacıyla izo-propanol kullanılmış ve bu şekilde lipaz 10 kere aktivitesini %95 oranında koruyarak tekrar kullanılabilmiştir [26].

Nelson ve arkadaşları triaçilgliserollerin lipazın katalitik etkisi altındaki enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunu incelemişlerdir. Çeşitli lipazların kısa zincirli alkoller ile yağı alkil esterlere dönüştürme miktarları belirlenmiştir. Buna göre, kullanılan lipazlar içersinde *Mucor miehei* lipazı birincil alkoller kullanıldığında en yüksek ester dönüşümü sağlayan lipazdır ancak ikincil alkoller kullanıldığında en yüksek ester dönüşümü *Candida antartica* lipazı ile sağlanmaktadır. Donyağının kısa zincirli esterlere dönüşümünde %90 oranında dönüşüm sağlanmıştır [27].

Iso ve çalışma grubu, triaçilgliserollerin kısa zincirli alkollerle transesterifikasyon reaksiyonunu immobilize lipazlarla ve susuz ortamda gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada kullanılan lipazlar içersinde en yüksek dönüşüm immobilize *Pseudomonas fluorescens* lipazı ile elde edilmiştir. Çalışmada alkol olarak metanol ve etanol kullanıldığında 1,4-dioksan gibi bir organik çözücüye ihtiyaç duyulduğu ancak 1-propanol ve 1- butanol kullanıldığında organik çözücü kullanılmasına da gerek kalmadığı ortaya konmuştur. Ayrıca çalışmada immobilize edilen lipazın aktivitesinin immobilize edilmemiş lipaza oranla hayli yüksek olduğu ve tekrar kullanıldığında da aktivitesinde her hangi bir azalma olmadığı gözlemlenmiştir [28].

Köse, Tüter ve Aksoy, yaptıkları çalışmada Türkiye orijinli rafine pamuk tohumu yağının, birincil ve ikincil alkollerle ve çözücüsüz ortamda alkolizini incelemişlerdir. Bu çalışmada katalizör olarak immobilize *Candida antartica* (Novozym 435) lipazını kullanmıştır ve metanoliz reaksiyonu için optimum koşullar ağırlıkça yağın %30'u kadar lipaz, 1:4 yağ-alkol mol oranı, 50 ^{0}C sıcaklık ve 7 saat reaksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında elde edilen maksimum metil ester dönüşümü %91,5'dir. Yine bu reaksiyon koşullarında pamuk tohumu yağının kısa

zincirli birincil ve ikincil alkollerle alkolizi ile elde edilen ester dönüşümlerinin %72 ile %94 arasında değiştiği açıklanmıştır [29].

Foglia ve arkadaşları, restoran atık yağlarının immobilize lipazlar kullanarak basit alkil esterlere dönüşümünü incelemiştir. Çalışmada tüm alkoliz reaksiyonları çözücüsüz ortamda ve alkolün tek seferde eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Atık yağın metanoliz ve etanolizinde immobilize *Pseudomonas cepacia* (PS-30) lipazı en yüksek dönüşümü sağlamıştır. Su aktivitesinin (a_w) metanoliz reaksiyonu üzerinde önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. Bu bilgiden yola çıkılarak yapılan deneysel çalışmada reaksiyon ortamında $a_w < 0,5$ olduğunda en yüksek metil ester dönüşümünün elde edildiği kanıtlanmıştır. Moleküler eleklerin ise *Pseudomonas cepacia* (PS-30) lipazı kullanılarak gerçekleştirilen transesterifikasyon reaksiyondaki metil ester dönüşümünü %20 arttırdığı gözlenmiştir [30].

Dossat ve çalışma grubu, yüksek oleik asit içerikli ayçiçek yağının, bütanol ile immobilize Lipozyme lipazı katalizörlüğünde enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunu incelenmiştir. Çalışma da transesterifikasyon reaksiyonu hem çözücü olarak n-hekzan kullanılarak hem de çözücüsüz ortamda gerçekleştirilmiştir. Çözücüsüz ortamda gerçekleştirilen reaksiyonun başlangıç hızı yüksektir. Ancak termodinamik dengeye ulaşıldığında oleik asidin sadece %60'ı estere dönüşmüştür. Oysa ki n-hekzan ile gerçekleştirilen reaksiyon ile %95'lik bir ester dönüşümü elde edilmiştir [31].

Abigor ve arkadaşları, palm çekirdek yağı ve hindistan cevizi yağının farklı alkoller ile Pseudomonas cepacia (PS-30) lipazı katalizörlüğünde transesterifikasyon reaksiyonunu gerçekleştirmiştir. Palm çekirdek yağından yağ asidi esteri üretiminde en yüksek dönüşüm (%72) etanol ile sağlamıştır. Aynı koşullarda t-bütanol %62, 1-bütanol %42, n-propanol %42, izo-propanol %24 ve metanol ise sadece %15 dönüşüm sağlamıştır. Hindistan cevizi yağından yağ asidi metil esteri elde edilirken ise 1-bütanol ve izo-bütanol %40, 1-propanol % 16 ve etanol %35 dönüşüm sağlamıştır. Metanol kullanıldığında gerçekleşen dönüşüm ise eser miktardadır [32].

Esen, çalışmasında Türkiye kökenli fındık yağının, metanol ile çözücü ortamındaki enzimatik alkoliz reaksiyonunu incelemiştir. Bu amaçla, öncelikle alkoliz reaksiyonunda en etkin ticari lipaz belirlenmiş, daha sonra da alkoliz reaksiyonuna etki eden silika jel/yağ ağırlık oranı, alkol/yağ mol oranı, enzim/yağ ağırlık oranı,

sıcaklık gibi çeşitli parametreler ve çözücü etkisi incelenmiştir. İncelenen lipazlar içerisinde en uygun olanı *Mucor miehei* orijinli Lipozym IM olarak belirlenmiştir. Fındık yağının metanol ile Lipozym IM lipazı varlığında gerçekleştirilen enzimatik alkoliz reaksiyonu için optimum sıcaklık 40 ^{0}C, enzim/yağ ağırlık oranı 0,1, silika jel/yağ ağırlık oranı 0,8, yağ/alkol mol oranı 1/3 olarak bulunmuştur. Bu koşullarda 2 saat sonunda verimi yaklaşık %100'e ulaşmıştır. En uygun çözücü ortamının belirlenmesine ilişkin deneyler neticesinde ise n-hekzan'nın en uygun çözücü olduğuna karar verilmiştir. n-heptan'ın ise n-hekzan'dan sonra fındık yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu için en uygun çözücü olacağı tespit edilmiştir [10].

Shieh ve arkadaşları, soya yağının metanol ile enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunu incelemişlerdir. Çalışmada, katalizör olarak *Rhizomucor miehei* orijinli immobilize Lipozyme IM 77 lipazı kullanılmıştır. Soya yağından transesterifikasyon ile metil ester oluşumu reaksiyonu üzerine reaksiyon süresi, sıcaklık, enzim miktarı, metanol/soya yağı mol oranı ve eklenen su miktarının (% ağırlık) etkisi Tepki-Yüzey Metodolojisi (Response Surface Metodology) ve 5 kademe-5 faktör Merkezil-Bileşik (Central Composite) dizayn kullanılarak incelenmiştir. %92,2'lik dönüşüm için optimum koşullar ise reaksiyon süresi 6,3 saat, sıcaklık 36,5 ^{0}C, enzim miktarı 0,9, substrat/metanol mol oranı 3,4:1 ve eklenen su miktarı da %5,8 olarak bulunmuştur [33].

Uosukainen ve çalışma grubu, istatistiksel deney dizaynını, temel komponent analizi ile birleştirerek enzimatik transesterifikasyon reaksiyonundaki birbirine bağlı proses değişkenlerini değerlendirmeye çalışmışlardır. Çalışmada, kolza yağı metil esterlerinin trimetilolpropan ile alkoliz reaksiyonu incelenmiştir. Reaksiyon ürünü trimetilolpropan esterleri olmuştur. Tepki-Yüzey Metodolojisi ve temel komponent (Principal Component Methodology) metotlarının çalışmada kullanılması ile reaksiyonu etkileyen bazı gizli faktörlerin ortaya çıkması sağlamıştır. Böylece su aktivitesinin ve yan ürün metanolün, ortamdan uzaklaştırılmasının ürün verimini etkileyen en önemli faktörler olduğu ortaya konmuştur [34].

Somon balığı yağından hazırlanan n-3 yağ asidi konsantresi ile gliserolün enzimatik esterleşme reaksiyonu sonucu açilgliserol sentezi Linder ve çalışma grubu tarafından incelenmiştir. Açilgliserol sentezi, Lipozyme IM lipazı kullanılarak farklı koşullar altında Doehlert deney dizaynına göre gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın,

su miktarının, gliserol/yağ asidi mol oranının ve enzim/substrat mol oranının reaksiyon üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada, Teki-Yüzey Metodolojisi kullanılarak %97'lik maksimum ester oluşumu için optimum koşullar, gliserol/yağ mol oranı 1,2, sıcaklık 46 ^{0}C, moleküler elek miktarı 3,5 g /100 mL ve enzim/substrat oranı ise 8,1 olarak tespit edilmiştir [35].

2.6. Tepki-Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology)

Tepki-Yüzey Metodolojisi, optimum proses koşullarını, özel deney tasarımları ile birleştirerek birinci ve ikinci dereceden polinom denklemleri ile birlikte bir ardışık deney prosedürü içersinde kararlaştıran bir optimizasyon tekniğidir. Tepki-Yüzey Metodolojisi ile bir seferde birden çok değişkenin tepki üzerine olan etkisi denenebilmekte, özel deney tasarımları kullanılarak optimizasyon için gerekli deney sayısı azaltılabilmektedir [36]. Kısacası, Tepki-Yüzey Metodolojisi tepkinin en iyi değerini bulmak için oluşturmuş bir teknikler bütünüdür. Bu teknikler, ilk olarak Box ve Wilson tarafından 1951 yılında ortaya konmuştur. Daha sonra 1957 yılında Box ile Hunter ortak çalışmaları ile bunları geliştirmiştir. Bu araştırmacıları 1958 yılında Bradley, 1958-1959 yılları arasında Hunter ve 1960 yılında ise Davies izler. Bu tekniklerin tümü deneyin tasarımını ve elde edilen deneysel verilerin analizini kapsamaktadır [37].

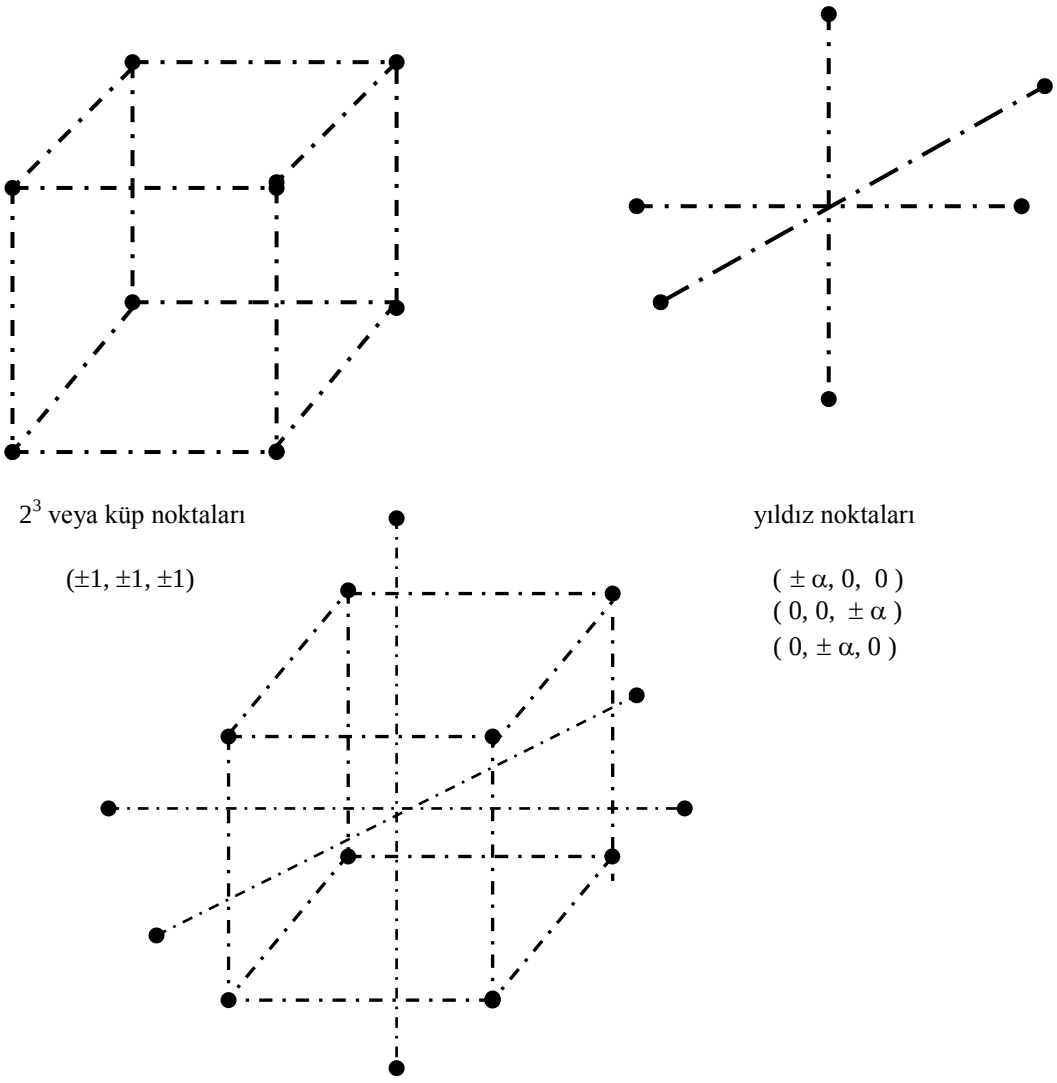
Bu metodoloji kullanılırken öncelikle ölçülmek istenen tepki üzerine en fazla etki ettiği düşünülen değişkenler yani faktörler (factor) seçilir. Daha sonra bu değişkenlerin ölçülecekleri değer aralıkları yapılan ön denemeler ve literatür araştırması ile belirlenir. Bundan sonra yapılması gereken uygun model denklemin seçilmesidir. Model denklem, ölçülen tepkiyi incelenen proses değişkenlerinin bir fonksiyonu olarak ifade eder. Bu model denklemler birinci veya ikinci dereceden olabilir. Model denklemin belirlenmesinin ardından uygun deney tasarımı (deney deseni) tespit edilir. Bunlar arasında en önemlileri, merkezil bileşik (Central Composite), Box-Behnken, tam faktöriyel, kısmi faktöriyel , rastgele, Latin kareler, Taguchi, Plackett-Burmann deney tasarımlarıdır [38]. Bu tasarımlar sayesinde optimizasyon için yürütülmesi gerekli deneylerin koşulları ve deney sayıları belirlenmiş olur.

Merkezil bileşik deney desenleri, küp noktalar (cube points), yıldız noktalar (star points) ve merkez noktaları (center points) olmak üzere üç tip deneysel noktayı kapsamaktadır. Küp noktaları için kodlanan bağımsız değişken değerleri ±1'dir. Merkezil bileşik deney tasarımında ikinci nokta grubu olan yıldız noktalarının, $(\pm\alpha, 0, 0,...,0)$, $(0, \pm\alpha, 0, ...,0)$, $(0,0,... 0, \pm\alpha)$ koordinatları vardır. Üçüncü grup noktalar yani merkez noktaları ise koordinatları daima (0,...,0) olan ve dizayn merkezinde yerleşen noktalardır. Merkez noktaların sayısı, Tablo 2.6'da da gösterildiği gibi, kullanılan ortagonal dizaynla belirlenmektedir [38].

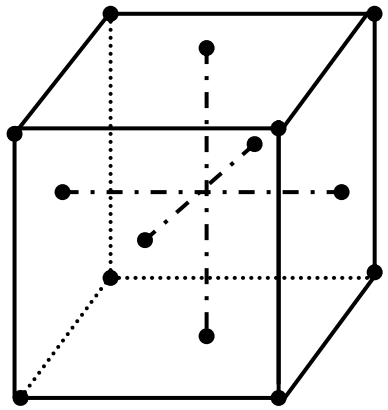
Tablo 2.6. Çevrilebilir merkezil bileşik deney tasarımları [39]

Bağımsız Değişken Sayısı k	**2. Dereceden Modelde Parametrelerin Sayısı** p	**Küp Noktaların ın Sayısı** $2^k = n_c$	**Yıldız Noktaları**		**Ortogonal Tasarım**	
			Sayı 2k	**Değer** α	**Merkez Noktalarının Sayısı** n_0	**Toplam Nokta Sayısı**
2	6	4	4	1.414	8	16
3	10	8	6	1.682	9	23
4	15	16	8	2.0	12	36
5	21	32	10	2.378	17	59
5.5 tekrar	21	16	10	2.0	10	36
6	28	64	12	2.828	24	100
6.5 tekrar	36	32	12	2.378	15	59
7	36	128	14	3.364	35	177
7.5 tekrar	45	64	14	2.828	22	100
8	45	256	16	4.0	52	324
8.5 tekrar	45	128	16	3.364	33	177
8.25 tekrar	45	64	16	2.828	20	100

Yüzey merkezil deney tasarımında (Face Centered Design) $\alpha = 1$'dir. Dizayn merkezi ise (0, 0, 0) koordinatlarına sahip merkez noktasıdır. Bu deney tasarımında, yıldız noktalar küpün yüzlerinin tam ortasında yer almaktadır [40]. Şekil 2.2.a'da da üç faktörlü bir sistem için merkezil bileşik deney deseni ve Şekil 2.2.b'de ise üç faktörlü bir sistem için yüzey merkezil küp dizaynı görülmektedir [39].



Şekil 2.2.a. Üç faktörlü bir sistem için merkezil bileşik deney deseni [37]



Şekil 2.2.b. Üç faktörlü bir sistem için yüzey merkezil küp dizaynı (α=1) [39]

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye kökenli soya yağının metanol ile *Mucor miehei* orijinli Lipozyme IM mikrobiyal lipazı varlığında alkoliz reaksiyonu incelenmiş ve reaksiyon üzerine etkili olabilecek parametreler belirlenmiştir.

Deneysel çalışma aşağıda belirtilen üç aşamada yürütülmüştür.

1) Soya yağının karakterizasyonu

2) Soya yağı-metil alkol enzimatik alkoliz reaksiyonu için en uygun koşulların belirlenmesi

3) Soya yağı-metil alkol enzimatik alkoliz reaksiyonu üzerine enzim miktarı, yağ-metanol mol oranı ve sıcaklığın etkisinin anlaşılması amacıyla Tepki-Yüzey Metodolojisi kullanılarak alkoliz reaksiyonun optimizasyonu

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan soya yağı Soyola marka olup bir marketten satın alınmıştır. Deneylerde kullanılan *Mucor miehei* orijinli immobilize enzim, Lipozyme IM mikrobiyal lipazı, Novo Nordisk A/S (Danimarka) firması tarafından hediye edilmiştir. Lipozyme IM, 1,3 pozisyon seçiciliği göstermektedir. Enzim için optimum çalışma sıcaklığı 30-70 ^{0}C arasında olup enzimin su içeriği de %2-3 civarındadır [10].

3.2. Soya Yağının Karakterizasyonu

Soya yağının asit değeri ve sabunlaşma değeri standart yağ analiz yöntemleriyle belirlenmiştir [40]. Tablo 3.1'de bu özellikler, yağın yağ asidi bileşimi değerleri ile

birlikte verilmiştir. Soya yağının yağ asidi bileşiminin kapiler gaz kromatografisi yöntemi ile belirlenmesinde Hewlett-Packard 5890 II (Hewlett-Packard, Waldron, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Yağın analizi için önce BF_3-Metanol kompleksi ile yağın metil esterleri hazırlanarak gaz kromatografi cihazına besleme yapılmıştır. Tablo 3.2'de gaz kromotografisi analiz koşulları belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Soya yağının özellikleri

Özellikler	Değer
Asit değeri (mg KOH/g)	0,4
Sabunlaşma değeri (mg KOH/g)	194,70
Yağ asidi bileşimi (% Ağırlık)	
$C_{16:0}$	11,50
$C_{18:0}$	3,40
$C_{18:1}$	24,90
$C_{18:2} + C_{18:3}$	60,20
Yağın ortalama molekül ağırlığı (kg/mol kg)	871,60

Tablo 3.2. Gaz kromatografi analiz koşulları

Dedektör tipi Dedektör sıcaklığı (^{0}C)	FID(1) 280
Enjektör tipi Enjektör sıcaklığı (^{0}C)	Dağıtmalı 250
Gaz hızları (mL/dak) Taşıyıcı gaz (N_2) Hidrojen Hava Dağıtma oranı	 4,5 30 400 88:1
Fırın sıcaklığı (^{0}C)	170 (5 dak) 170-275 (10 ^{0}C/dak) 275 (10 dak)
Kolon tipi	Kapiler kolon Ultra 1(2)

(1) Alev iyonizasyon dedektörü
(2) 25 m × 0,32 mm, 0,52 μm kalınlığında %100 dimetil polisiloksan

3.3. Deney Düzeneği

Enzimatik alkoliz reaksiyonu, su banyosu içine yerleştirilmiş, 50 mL hacimli, dibi yuvarlak cam balonda gerçekleştirilmiştir. Su banyosunun sıcaklığı özel bir ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Framo-Geratatechnik M22/1 5655 Franz Morad Eisenbach,

Almanya) ile ± 2 ^{0}C hassasiyetle kontrol edilmiştir. Yapılan deneylerin tümünde karıştırma hızı 800 devir/dak olarak sabit tutulmuştur.

3.4. Soya Yağının Enzimatik Metanoliz Reaksiyonu

Enzimatik esterleşme reaksiyonu için 5 g yağ, belirli oranlarda metanol ve çözücü olarak kullanılan 25 mL n-hekzan reaksiyon balonuna alınarak ısıtılmış ve karışım istenilen sıcaklığa ulaşınca sırasıyla mikrobiyal enzim ve silika jel ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Bu şartlar altında reaksiyon devam ettirilirken belirli zaman aralıklarında yaklaşık 1 mL'lik örnekler alınmıştır. Reaksiyonun gidişatı bu örneklerin bileşimlerinin belirlenmesi ile takip edilmiştir. Bu amaçla alınan numuneler öncelikle yaklaşık 100 ^{0}C'deki su banyosunda 15 dakika bekletilerek enzimin inaktif hale gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra ise bu numunelere 5 mL n-hekzan ve 2 mL destile su ilave edilmiştir. Yağ ve su fazı olmak üzere iki faza ayrılan numunelerdeki üstte bulunan yağ fazı, içlerinde susuz Na_2SO_4 bulunan şişelere alınarak kurutulmuştur. Daha sonra bu şişelere 3mL daha n-hekzan eklenip numunelerin bileşimleri ince yüzey kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü (TLC-FID) kombine sistemi ile belirlenmiştir. Analiz için şişelerdeki numune çözeltisinden alınan 1μL'lik örnek SIII rodlarına enjekte edilmiş, daha sonra iki kademeli yürütme işlemi ile ürün bileşenlerinin rod üzerinede yürütülmesi sağlanmıştır. Yürütücü olarak kullanılan çözücücü sistemleri sırasıyla çözücü sistemi I; benzen:kloroform:asetik asit (hacmen 50 : 20 : 0,7 mL) ve çözücü sistemi II; benzen : n-hekzan (hacmen 35 : 35 mL) olarak seçilmiştir. Rodlar öncelikle çöcücü sistemi I'in bulunduğu tank içerisinde 23 dakika bekletilmiş daha sonra çözücülerin uçması için 60 ^{0}C'lik etüve (Rod Dryer TK 5 Iatron Lab. Inc., Tokyo, Japonya) konularak 6 dakika süreyle bekletilmiştir. Daha sonra etüvden çıkarılan rodlar, çözücü sistemi II'nin bulunduğu tank içersine konularak burada da 30 dakika bekletilmiştir. 30 dakika sonra tank içinden alınan rodlar tekrar 60 ^{0}C'lik etüvde 6 dakika tutulup çözücülerin uçması sağlanmıştır. Örneklerin TLC-FID sistemindeki analizi için hidrojen gazı debisi 160 mL/dak, hava debisi 2200 mL/dak ve tarama hızı 30 s/tarama olarak ayarlanmıştır.

Bu koşullar altında çalışılarak reaksiyon ürünlerinin yağ asidi esterleri (FAE), triaçilgliserol (TAG), diaçilgliserol (DAG), monoaçilgliserol (MAG) ve serbest yağ asidi (FFA) miktarları ağırlık yüzdesi olarak belirlenmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Silika jel Etkisi

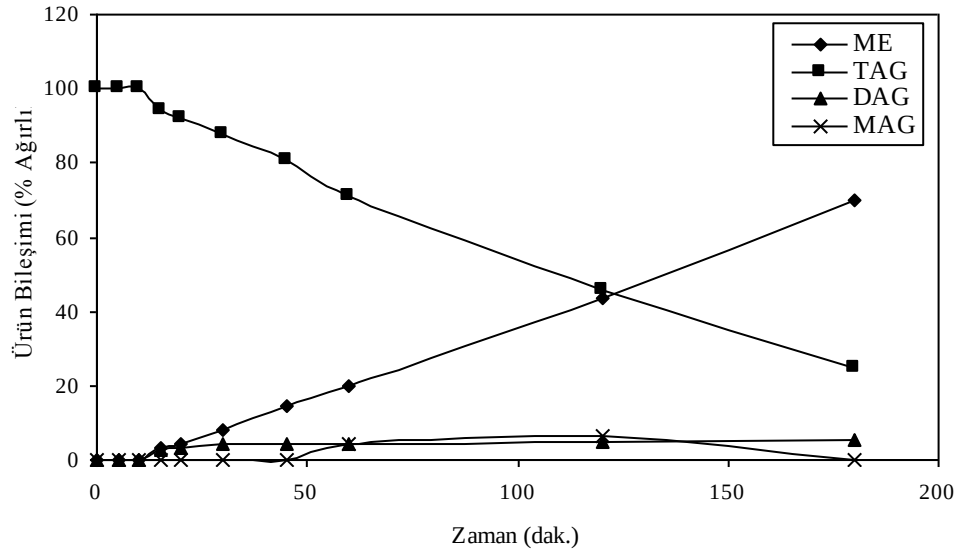
Literatürde, alkoliz reaksiyonu sonucu oluşan gliserolün, katalizör olarak kullanılan enzim üzerine adsorbe olduğu ve bunun sonucu olarak da enzim aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Reaksiyon ortamına ilave edilen çeşitli adsorbanların ise gliserol toplayıcısı gibi davranarak bu durumu engellediği bulunmuştur. Kısacası bu adsorbanlar enzimi koruyucu olarak görev yapmaktadırlar. Silika jel de özellikle lipazlarla gerçekleştirilen alkoliz reaksiyonlarında polar bileşikleri adsorblayarak enzimin inaktive olmasını engellemektedir [13, 41]. Bu bilgilerin ışığı altında soya yağının metanoliz reaksiyonu, reaksiyon ortamına silika jel ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. İlave edilen silika jel miktarının metil ester dönüşümü üzerine etkisini belirlemek amacıyla önce silika jel kullanılmadan ve daha sonra da farklı miktarlarda silika jel kullanılarak çeşitli denemeler yapılmıştır. Reaksiyonlar, 40 ^{0}C sıcaklıkta, 1/3 yağ/metanol mol oranında, 0,1 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanılarak 25 mL n-hekzan ortamında gerçekleştirilmiştir. Silika jel ilavesi ile yapılan deneylerde, silika jel 60, 0,2-0,5 mm 180 ^{0}C'de 30 dakika kurutulduktan sonra kullanılmıştır. Silika jel kullanılmadan ve 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranında silika jel katılarak yürütülen reaksiyonlarda gözlenen yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri, Tablo 4.1'de ve ekler bölümünde de Tablo A.1- A.5'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 4.1- 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.1. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda silika jel etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)

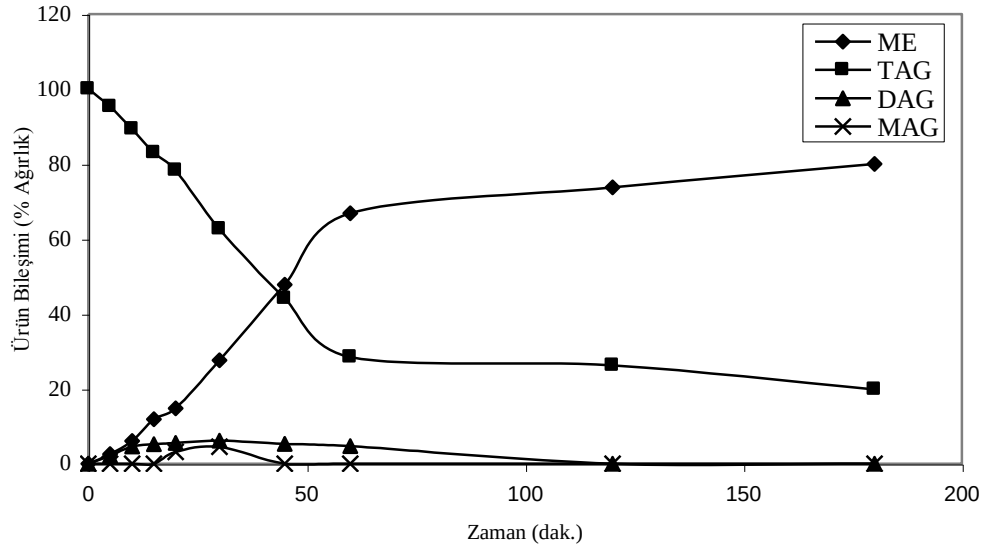
Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)*				
	Silika./Yağ 0	Silika./Yağ 0,2	Silika./Yağ 0,4	Silika./Yağ 0,6	Silika./Yağ 0,8
0	--	--	--	--	--
5	--	2,59 ± 0,16	4,19 ± 0,14	5,87 ± 0,58	6,70 ± 0,89
10	--	6,05 ± 0,26	10,04 ± 0,85	13,64 ± 0,21	15,46 ± 0,40
15	3,00	11,84 ± 1,08	16,41 ± 0,71	22,93 ± 1,30	26,59 ± 2,1
20	4,51	14,78 ± 0,49	23,01 ± 0,51	35,64 ± 1,75	40,61 ± 2,92
30	7,99	27,61 ± 1,25	42,82 ± 0,72	53,14 ± 0,11	57,02 ± 4,62
45	14,72	47,81 ± 3,18	65,61 ± 0,68	71,99 ± 1,24	73,87 ± 3,70
60	20,10	66,82 ± 2,63	78,14 ± 1,02	100 ± 0	100 ± 0
120	43,32	73,78 ± 1,15	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
180	70,17	80,03 ± 0,23	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0

* 0,2, 0,4, 0,6 ve 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranı için verilen değerler paralel yürütülen iki çalışmanın ortalama değerleridir.

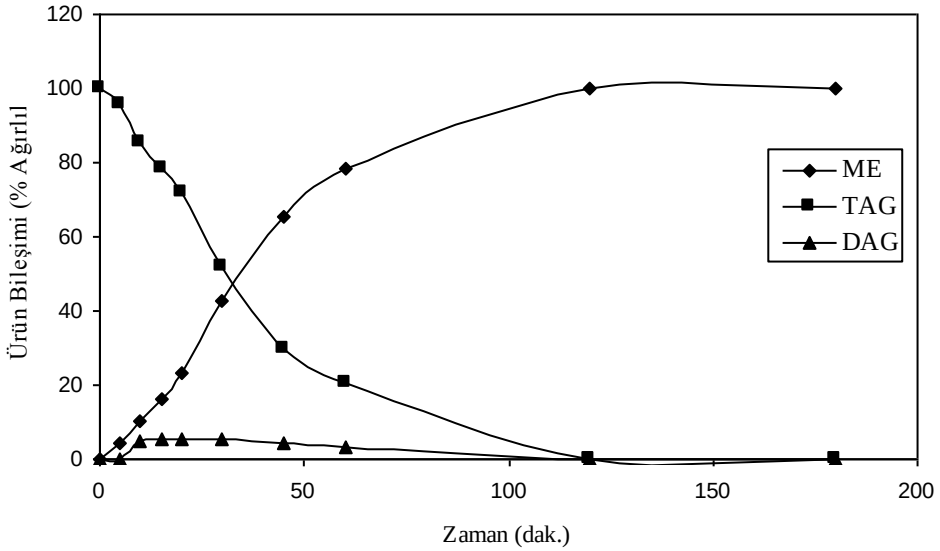
Tablo 4.1.'de de görüldüğü gibi silika jel kullanımı ile metil ester oluşumu artmaktadır. Bu durum literatür ile de uyumludur. Daha önce de bahsedildiği gibi adsorban, gliserol toplayıcısı olarak görev yapmakta ve bunun sonucu olarak enzimin aktivitesinde bir azalma olmamaktadır. Bu da elde edilen metil ester miktarının artışını açıklamaktadır. Ayrıca deneyler neticesinde silika jel miktarının artması ile daha kısa sürede daha yüksek metil ester dönüşümü elde edildiği görülmüştür. Ancak Tablo 4.1 incelendiğinde 0,6 ve 0,8 silika jel/yağ ağırlık oranlarında yürütülen deneylerde elde edilen ürünlerin yağ asidi metil ester içeriklerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Bu sonuç dikkate alınarak 0,6 silika jel/yağ ağırlık oranından daha fazla miktarda silika jel kullanılmasının reaksiyondaki metil ester dönüşümü üzerine önemli bir etkisinin olmayacağı anlaşılmış ve bundan sonraki çalışmalarda 0,6 silika jel/yağ ağırlık oranı ile çalışılmasına karar verilmiştir.



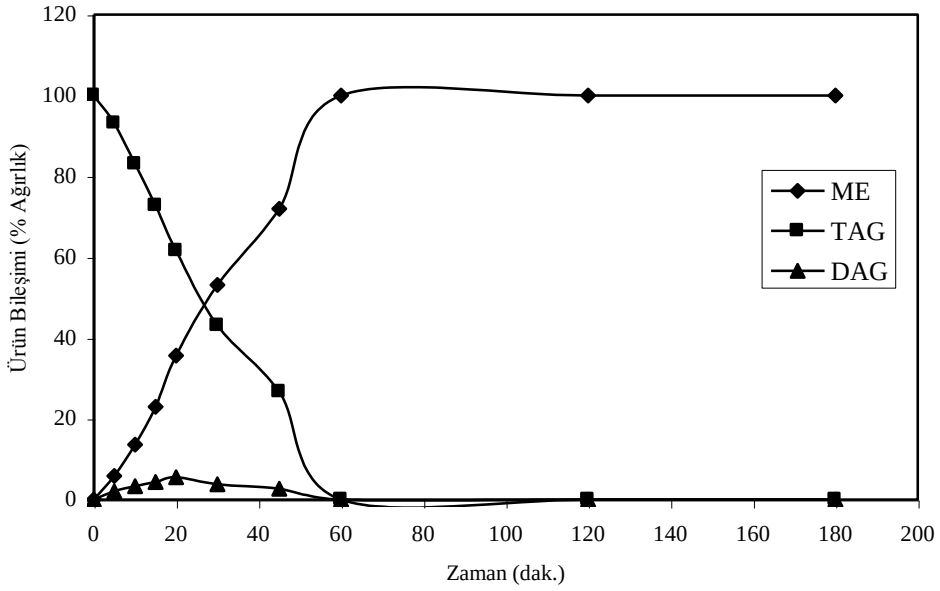
Şekil 4.1. Adsorbansız ortamda yürütülen soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



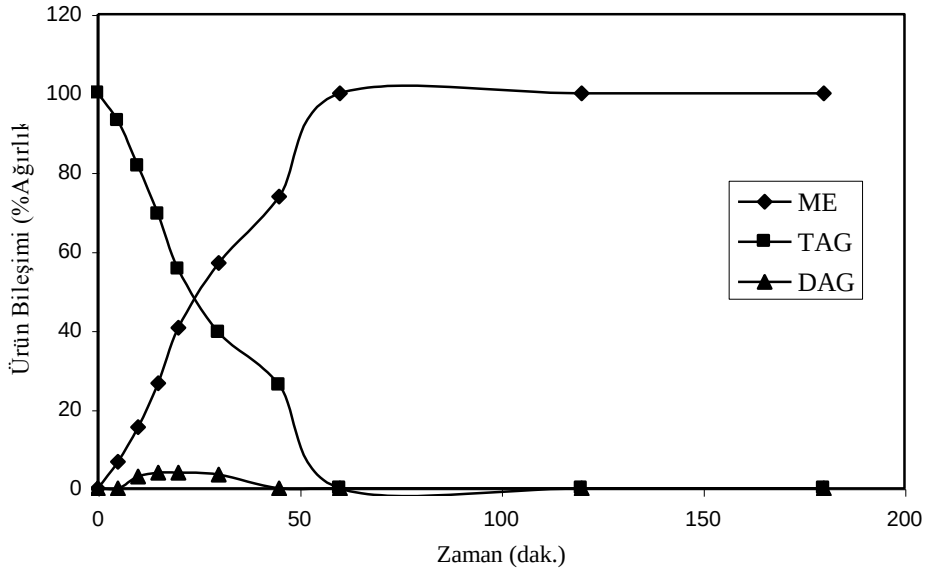
Şekil 4.2. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,2 silika jel/yağ ağırlık oranında silika jel kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.3. Soya 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.4. Soya 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.5. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,8 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: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)

4.2. Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi

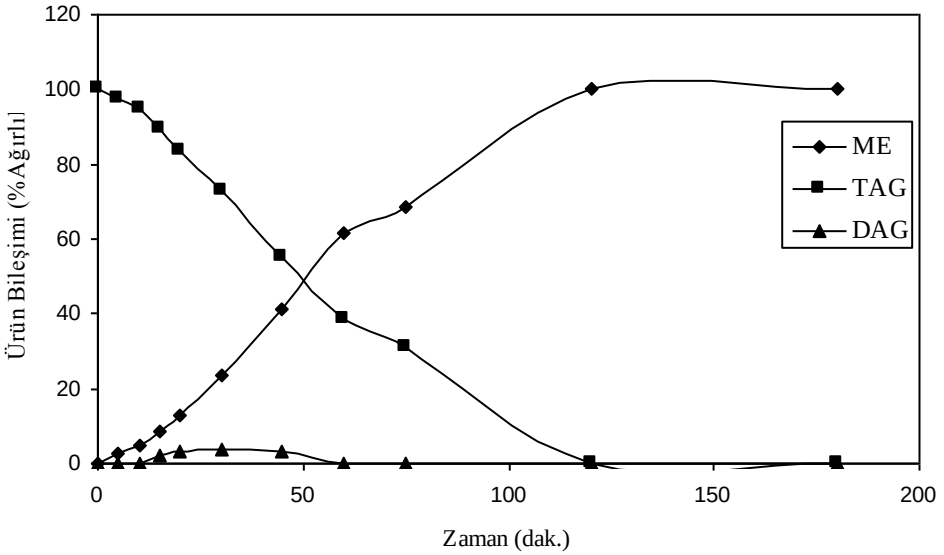
Enzim miktarının soya yağı alkolizindeki etkisini belirlemek amacı ile, soya yağı alkoliz reaksiyonu, 0,05, 0,1, 0,125, 0,15, 0,2 enzim/yağ ağırlık oranlarında enzim kullanılarak, 40 ^{0}C'de ve 25 mL n-hekzan ortamında yürütülmüştür. Deneylerde 5 g yağ kullanılmış ve 1/3 yağ/alkol mol oranı ile 0,6 silika jel/yağ ağırlık oranında çalışılmıştır. Elde edilen ürünlerin yağ asidi esteri içerikleri tablo 4.2'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 4.4, 4.6- 4.9 ve ekler bölümünde Tablo A.4, A.6- A.9'da verilmiştir.

Tablo 4.2. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)

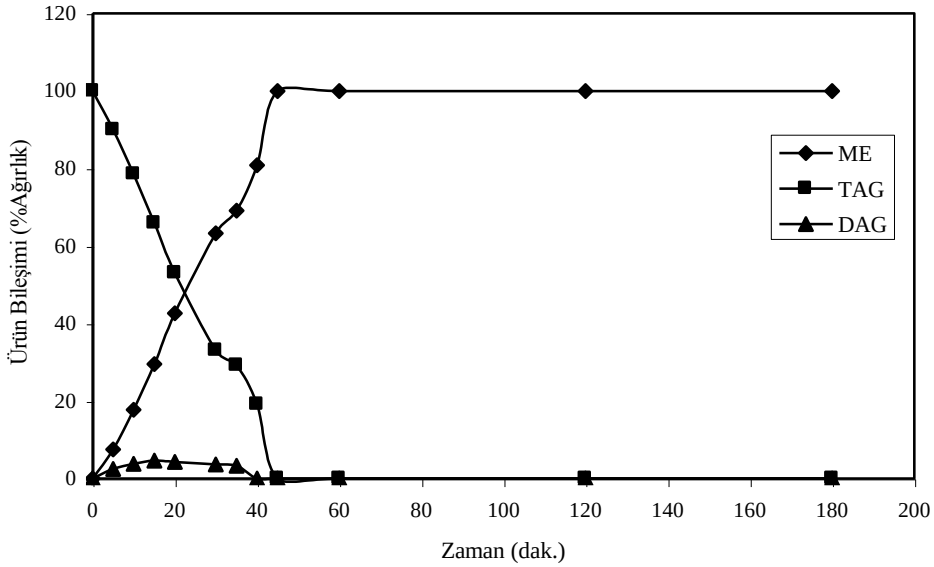
Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)*				
	Enzim/Yağ 0,05	Enzim/Yağ 0,1	Enzim/Yağ 0,125	Enzim/Yağ 0,15	Enzim/Yağ 0,2
0	--	--	--	--	--
5	2,47 ± 0,06	5,87 ± 0,58	7,54 ± 0,24	10,96 ± 0,32	18,28
10	4,96 ± 0,30	13,64 ± 0,21	17,74 ± 0,25	25,85 ± 0,59	40,93
15	8,37 ± 0,79	22,93 ± 1,30	29,51 ± 0,82	40,52 ± 0,24	61,26
20	12,76 ± 0,26	35,64 ± 1,75	42,67 ± 1,52	56,48 ± 1,61	75,32
30	23,80 ± 1,93	53,14 ± 0,11	63,26 ± 3,30	77,09 ± 0,25	100 ± 0
35	--	--	69,14 ± 0,20	79,17	100 ± 0
40	--	--	80,84	--	100 ± 0
45	41,46 ± 3,11	71,99 ± 1,24	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
60	61,40 ± 0,52	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
75	68,76	--	--	--	--
120	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	--
180	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	--

* 0,05, 0,1, 0,125 ve 0,15 enzim/yağ ağırlık oranı için verilen değerler paralel yürütülen iki çalışmanın ortalama değerleridir.

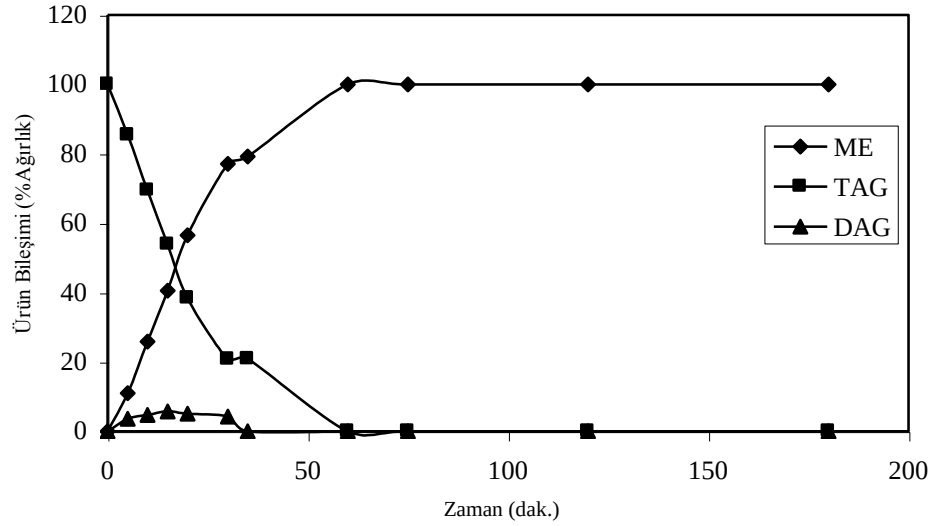
Sonuçlar incelendiğinde enzim/yağ oranı arttıkça elde edilen ürünün yağ asidi metil ester içeriğinin daha hızlı arttığı, 0,2 enzim/yağ oranında enzimin doygunluğa yaklaştığı anlaşılmaktadır. Ulaşılabilecek maksimum ester içeriği, analiz cihazının hassasiyet sınırları nedeni ile kesin olarak verilememiştir. Tablo 4.2'de görüldüğü gibi enzim/yağ ağırlık oranı 0,15 olduğunda 35 dakikada elde edilen dönüşüme enzim/yağ ağırlık oranı 0,2 olduğunda yaklaşık olarak 20 dakikada ulaşılmaktadır. Ancak enzimlerin pahalı katalizörler olduğu düşünülerek çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde 0,15 enzim/yağ ağırlık oranında çalışılması uygun görülmüştür.



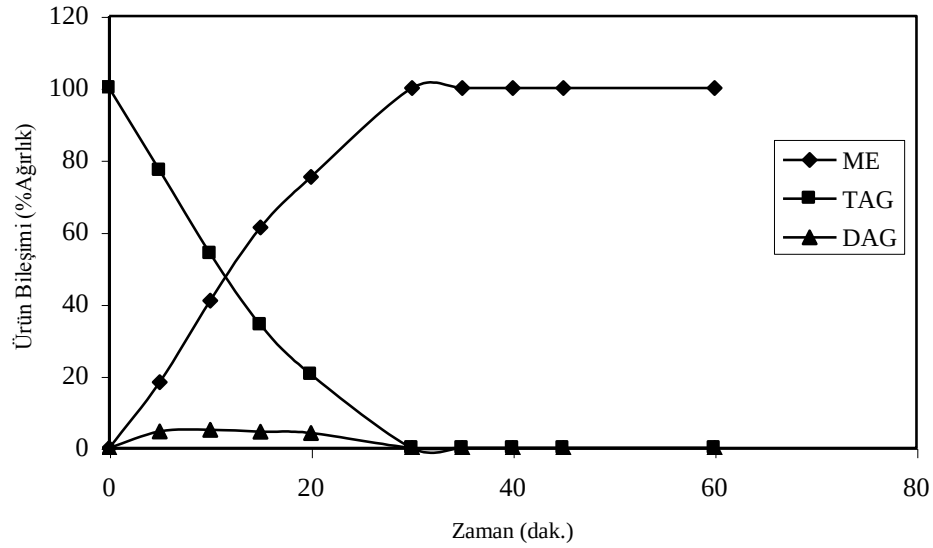
Şekil 4.6. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,05 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.7. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,125 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.8. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,15 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.9. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,2 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)

4.3. Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Yağ/Metanol Mol Oranının Etkisi

Soya yağının enzimatik alkoliz reaksiyonuna yağ/metanol mol oranının etkisini belirlemek için 40 ^{0}C, 5 g yağ, 0,15 enzim/yağ ve 0,6 silika jel/yağ ağırlık oranlarında, 25 mL n-hekzan içerisinde yürütülen reaksiyonlarda yağ/alkol mol oranları 1/2, 1/2,5, 1/3 ve 1/4 olarak seçilmiştir. Elde edilen metil ester içerikleri Tablo 4.3'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi Şekil 4.8, 4.10- 4.12'de ve ekler bölümünde de Tablo A.8, A.10- A.12'da verilmiştir.

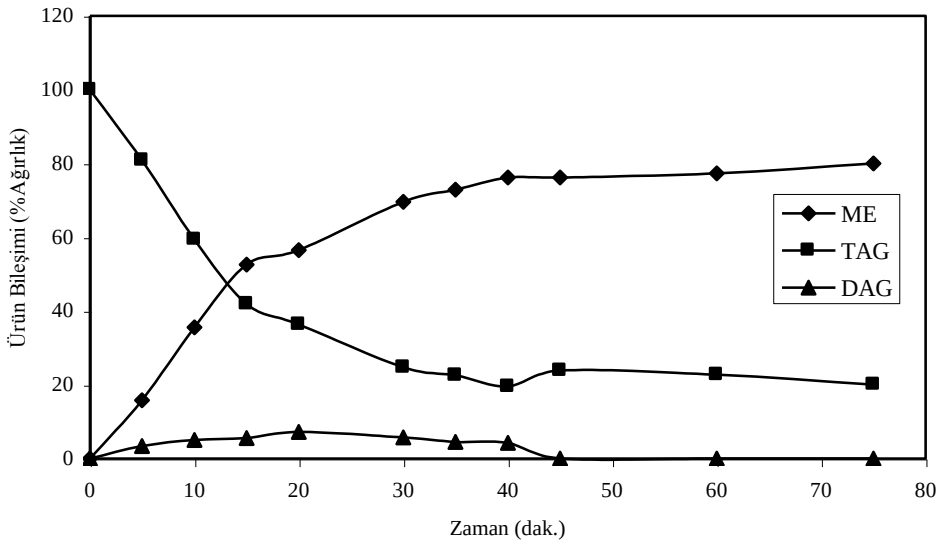
Tablo 4.3. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda yağ/metanol mol oranının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)*			
	1/2	1/2,5	1/3	1/4
0	--	--	--	--
5	15,77	14,23	10,96 ± 0,32	6,07
10	35,60	31,02	25,85 ± 0,59	15,18 ± 1,92
15	52,27	47,96	40,52 ± 0,24	26,28 ± 3,68
20	56,52	62,36	56,48 ± 1,61	33,69 ± 2,00
30	69,61	84,16	77,09 ± 0,25	54,48 ± 1,03
35	72,92	--	79,17	61,18 ± 0
40	76,19	--	--	71,48 ± 2,32
45	76,17	--	100 ± 0	74,87 ± 3,31
60	77,29	--	100 ± 0	--

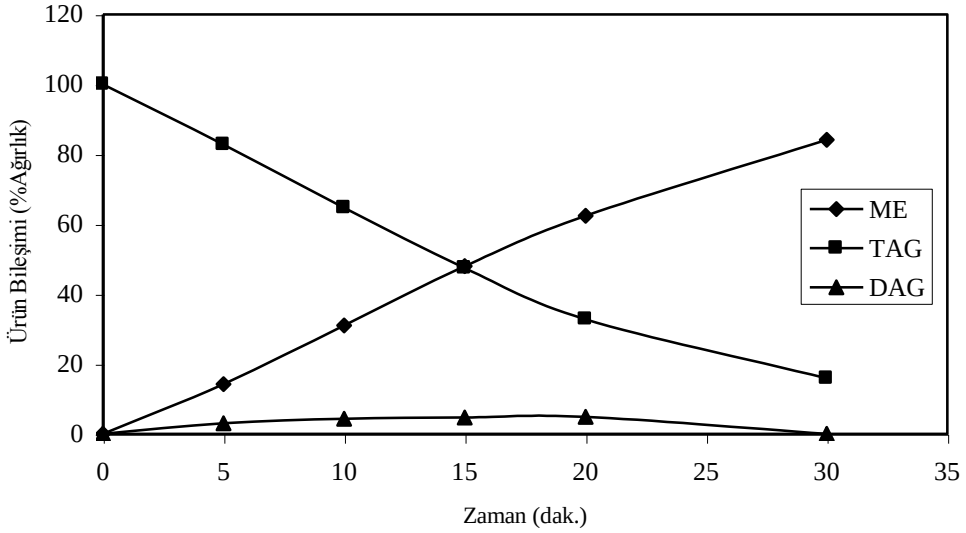
*1/3 ve 1/4 yağ/metanol mol oranı için verilen değerler paralel yürütülen iki çalışmanın ortalama değerleridir.

Tablo 4.3'de de görüldüğü gibi 1/2 yağ/metanol mol oranında elde edilen metil ester miktarı kırkıncı dakika itibari ile sabitlenmiştir. Bilindiği gibi alkoliz reaksiyonunda stokiyometrik yağ/alkol mol oranı 1/3'dür. 1/2 mol oranında çalışıldığında ortamda bulunan metanolün alkoliz reaksiyonu için yeterli olmaması, ürünün metil ester içeriğinin daha fazla yükselmesine engel olmuştur. Her ne kadar kullanılan analiz cihazının hassasiyetinden dolayı diğer yağ/metanol mol oralarında elde edilen ürünün metil ester içeriği kesin olarak bilinmese de literatürden edinilen bilgiler özellikle 1/3 yağ/metanol mol oranı ile çalışıldığında daha yüksek bir metil ester dönüşümü elde

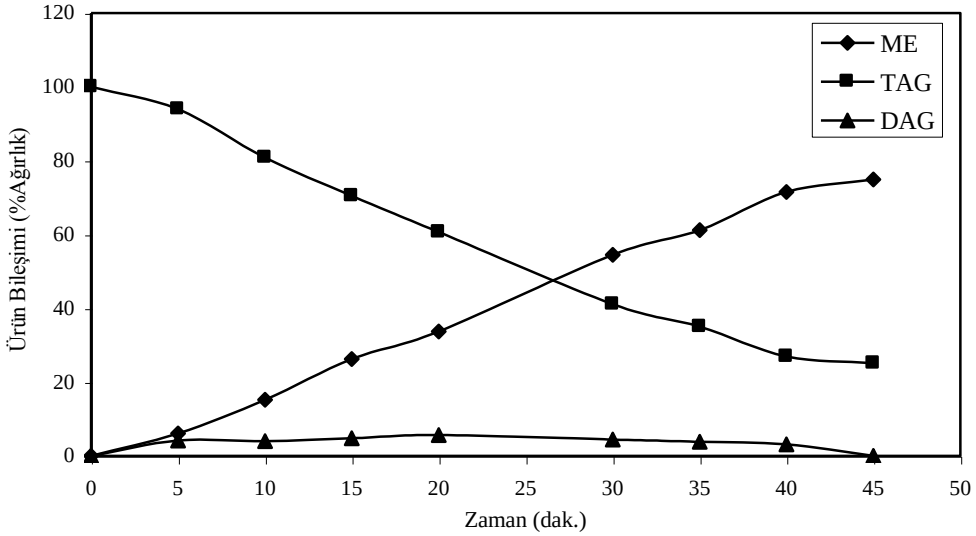
edilebileceğini göstermektedir [24]. Tablodan da rahatlıkla görülebileceği gibi ortama ilave edilen alkol miktarının artması ile alkoliz reaksiyonu yavaşlamaktadır. Özellikle yağ/metanol mol oranı 1/4 olduğunda reaksiyon, çok daha yavaş ilerlemekte ve elde edilen maksimum metil ester içeriği de 1/3 yağ/metanol mol oranı kullanılan reaksiyonlara göre daha düşük kalmaktadır. Hem dönüşüm hem de reaksiyon hızında ki bu azalmanın, metanol fazlasından kaynaklandığına karar verilmiştir. Çözücüsüz ortamda Lipozyme TL IM ile yürütülen alkoliz raksiyonunda ortamda 1,5 molar ekivalenden fazla bulunması durumunda metanolün, enzimi inaktive ederek reaksiyon hızını ve yağ dönüşümünü azalttığı tespit edilmiştir [24]. Lipozyme IM ile yürütülen bu çalışmada ise 2,5 molar ekivalent metanol miktarının üzerinde enzim inaktivasyonun başladığı görülmektedir. Tüm bu bilgilerin ışığı altında stokiyometrik oranda çalışılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.10. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.11. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.12. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/4 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40^0C ; n-hekzan: 25 mL)

4.4. Soya Yağı-Metanol Alkoliz Reaksiyonuna Sıcaklık Etkisi

Soya yağının enzimatik alkoliz reaksiyonunda sıcaklık etkisini belirlemek için, alkoliz reaksiyonu daha önce belirlenen en uygun koşullar da dikkate alınarak 30, 40 ve 50 ^{0}Cde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen metil ester içerikleri Tablo 4.4'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 4.8, 4.13 ve 4.14'de ve de ekler bölümünde Tablo A.8, A.13 ve A.14'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)*		
	30 ^{0}C	40 ^{0}C	50 ^{0}C
0	--	--	--
5	7,50	10,96 ± 0,32	13,81
10	19,85	25,85 ± 0,59	31,85
15	30,32	40,52 ± 0,24	52,08
20	40,83	56,48 ± 1,61	63,98
25	53,18	--	--
30	59,58	77,09 ± 0,25	100
35	74,94	79,17	100
40	76,40	--	100
45	100	100 ± 0	100
60	100	100 ± 0	100
75	100	--	100
90	--	--	100
120	--	100 ± 0	--
180	--	100 ± 0	--

*40 ^{0}C için verilen değerler paralel yürütülen iki çalışmanın ortalama değerleridir.

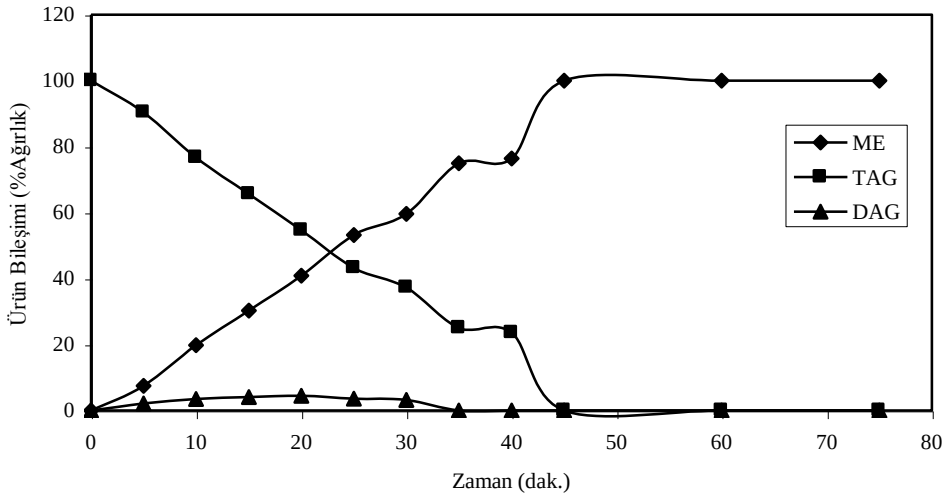
Tablo incelendiğinde sıcaklığın artması ile reaksiyonun tamamlanma süresinin kısaldığı görülmektedir. Literatürde verilen bilgilere göre Lipozym IM için optimum çalışma sıcaklık aralığı 30- 70 ^{0}C'dir. Ancak enzimin optimum aktivite göstereceği sıcaklık, uygulanan reaksiyona ve substrat çeşidine göre de değişmektedir [10]. Bu çalışmada incelenen koşullarda optimum sıcaklığın 50 ^{0}C olduğu belirlenmiştir. Tüm bu çalışmalar sonunda n-hekzan ortamında yürütülen soya yağı metanoliz reaksiyonu için en uygun koşulların ;

Enzim/yağ oranı = 0,15

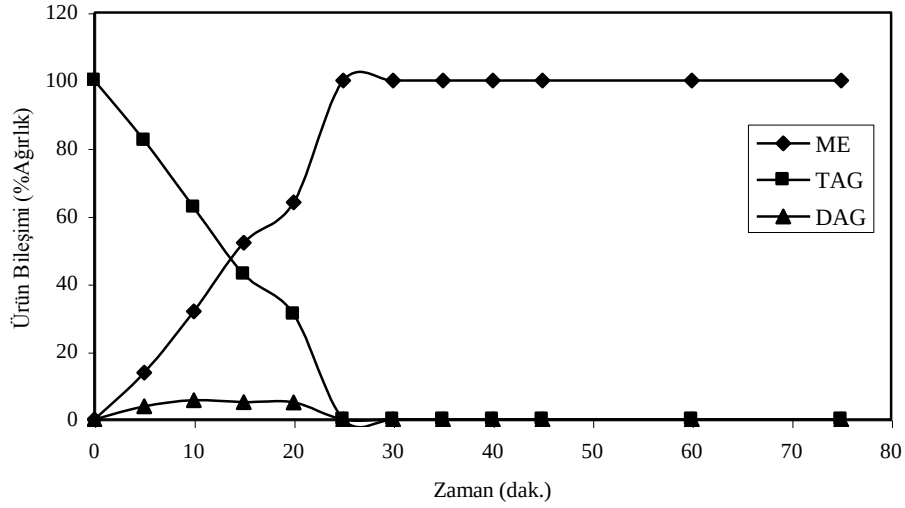
Silika jel/ yağ oranı = 0,6

Yağ/metanol mol oranı = 1/3

Sıcaklık = 50 ^{0}C olduğuna karar verilerek bu reaksiyonun optimizasyonu üzerine de çalışılmıştır.



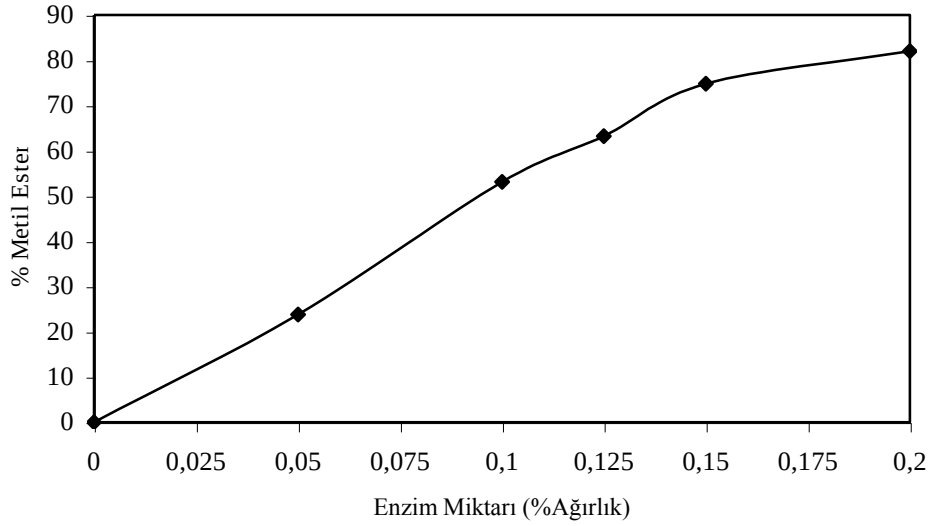
Şekil 4.13. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 30 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)



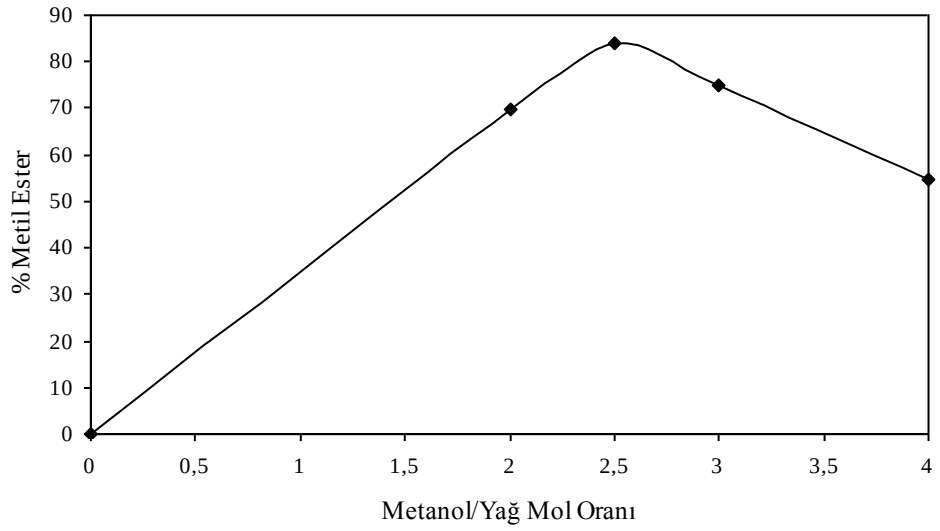
Şekil 4.14. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 50 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)

4.5. Deneysel Tasarım

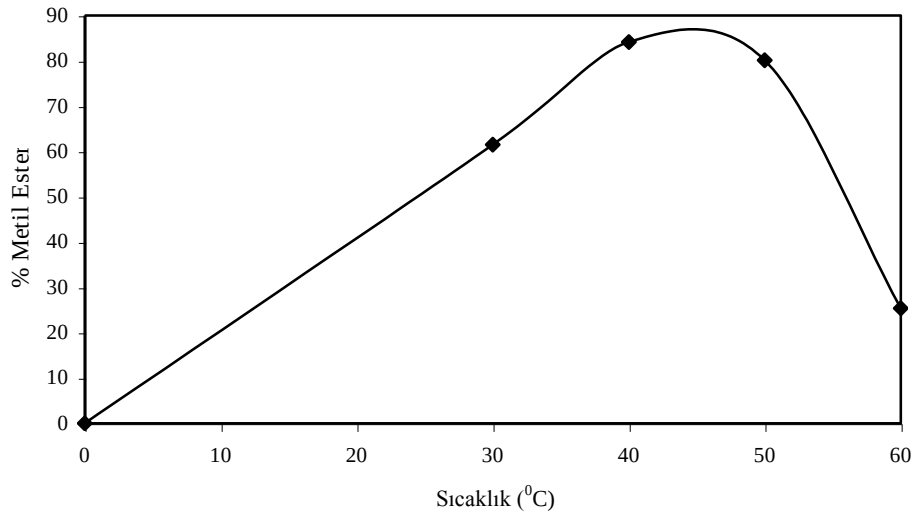
Soya yağının metil alkol ile *Mucor miehei* orijinli Lipozyme IM mikrobiyal lipazı varlığında alkoliz reaksiyonu üzerinde üç bağımsız değişken (faktör), enzim/yağ ağırlık oranı, yağ/metanol mol oranı ve sıcaklığın etkisinin incelenmesi ve optimum koşulların belirlenmesi amacıyla deneysel tasarımdan yaralanılmış, bu amaçla Tepki-Yüzey Metodolojisi kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler için değer aralığı belirlemek amacıyla daha önce yapılan deneylerin sonuçları da kullanılarak bir dizi ön deneme yapılmıştır. Bu ön denemeler ile elde edilen grafikler Şekil 4.15- 4.17'de gösterilmiştir. Analiz hatalarını en aza indirebilmek için deneysel tasarımda reaksiyon süresi 30 dakika olarak seçilmiştir. Daha önce de açıklandığı gibi analiz için kullanılan ince yüzey kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü (TLC-FID) kombine sisteminin hassasiyetinden kaynaklanan bir sebeple yaklaşık %90'nın üzerindeki metil ester değerlerinde metil ester ve dönüşmemiş triaçilgliserol pikleri ayrılamamakta ve kromatogramda metil ester miktarı %100 olarak yansımaktadır. Reaksiyon süresinin 30 dakika olduğu tüm deneylerde ise dönüşüm daha az olduğu için metil ester içeriklerinin tamamı belirlenebilmiştir.



Şekil 4.15. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürünün metil ester içeriği üzerine enzim /yağ ağırlık oranının etkisi (yağ: 5 g ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; reaksiyon süresi: 30 dak.)



Şekil 4.16. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürünün metil ester içeriği üzerine yağ/metanol mol oranının etkisi (yağ: 5 g ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; reaksiyon süresi: 30 dak.)



Şekil 4.17. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürünün metil ester içeriği üzerine sıcaklığın etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; reaksiyon süresi: 30 dak.)

Hem bu yapılan ön deneme sonuçlarından hem de literatür bilgilerinden faydalanılarak reaksiyona etki eden bağımsız değişkenlerin değer aralıkları seçilmiştir [36, 38]. Tablo 4.5'de yüzey merkezil deney tasarımında çalışılan 3 faktör (sıcaklık, enzim/yağ ağırlık oranı, yağ/metanol mol oranı) ve kodlanan 3 değişken seviyesi (-1, 0, +1) görülmektedir. Yapılan tüm ön denemelere ilişkin tablolar ise ekler bölümünde Tablo A.4, A.8- A.13 ve A.15- A.37'de verilmiştir.

Tablo 4.5. Yüzey merkezil deney tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler için kodlanan seviyeler ve bu kodlara karşılık gelen değerler [36, 38]

	Kodlanan değişken seviyeleri		
Bağımsız değişken	-1	0	+1
Sıcaklık (^{0}C)	30	40	50
Enzim/yağ oranı	0,1	0,15	0,2
Yağ/metanol mol oranı (mol/mol)	1/2	1/2,5	1/3

Yüzey merkezil deney tasarımı ile belirlenen 3 değişkenli ve 3 kademeli deney deseninin noktaları (kodları ve değerleri ile) Tablo 4.6'da gösterilmektedir. Merkez noktasında üç tekrar yapılmıştır [36].

Tablo 4.6. Yüzey merkezil deney tasarımı ve belirlenen tepki değerleri (%ME) [36,38]

	Sıcaklık(^{0}C)		Enzim/yağ ağırlık oranı		Yağ/metanol mol oranı		Tepki (%ME)
	Kod	Değer	Kod	Değer	Kod	Değer	Değer
1	-1	30	-1	0,1	-1	1/2	50,65
2	-1	30	-1	0,1	+1	1/3	70,00
3	-1	30	+1	0,2	-1	1/2	36,06
4	-1	30	+1	0,2	+1	1/3	82,73
5	+1	50	-1	0,1	-1	1/2	70,05
6	+1	50	-1	0,1	+1	1/3	77,93
7	+1	50	+1	0,2	-1	1/2	70,87
8	+1	50	+1	0,2	+1	1/3	84,00
9	-1	30	0	0,15	0	1/2,5	61,84
10	+1	50	0	0,15	0	1/2,5	80,11
11	0	40	-1	0,1	0	1/2,5	69,61
12	0	40	+1	0,2	0	1/2,5	77,09
13	0	40	0	0,15	-1	1/2	74,97
14	0	40	0	0,15	+1	1/3	83,33
15	0	40	0	0,15	0	1/2,5	76,90
16	0	40	0	0,15	0	1/2,5	81,68
17	0	40	0	0,15	0	1/2,5	80,00

4.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için STATISTICA 6.0 (Stat Soft® Inc.) bilgisayar paket programı kullanılmıştır.

4.7. Farklı Reaksiyon Koşullarının Soya Yağı-Metanol Enzimatik Alkoliz Reaksiyonuna Etkilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizlerde STATISTICA 6.0 (Stat Soft® Inc.) paket programından yararlanılarak bağımsız değişkenlere karşılık bağımlı değişkenler yani tepkiler için "Varyans Analizi" yapılmıştır.

3 değişken ,3 seviye yüzey merkezil deney tasarımında elde edilen tepkilerin değerlendirilmesinde aşağıda verilen 2. dereceden polinom eşitliği kullanılmıştır.

$$\text{Tepki} = Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{3} \beta_{ii} x_i^2 + \sum \sum_{j=i+1}^{3} \beta_{ij} x_i x_j$$

Bu denklemde; β_0, ortalama etki, β_i, $\beta_{ii,}$ β_{ij} ise sırasıyla değişkenlerin lineer, kuadratik ve etkileşimleri için belirlenen katsayılardır. x_i ve x_j de bağımsız değişkenlerdir.

Bağımsız değişkenlerle bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiye bağlı olarak lineer ve kuadratik modellerde etkilerinin tahminleri ve katsayıları alınmıştır. Bu değerler Tablo 4.7'de ve varyans analizi sonuçları ise Tablo 4.8'de görülmektedir.

Tablo 4.7. Bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiye bağlı olarak lineer ve kuadratik modellerde etkilerin tahminleri ve katsayıları

	Etki	Standart hata	t değeri	p değeri	Katsayı
Ortalama/Intersept	78,7693	2,084095	37,79544	0,000000	78,76930
Sıcaklık (L)	16,3300	3,080386	5,30128	0,001122[a]	8,16500
Sıcaklık (Q)	-14,4525	5,951122	-2,42854	0,045518[b]	-7,22627
Mol Oranı (L)	2,4960	3,080386	0,81029	0,444444	1,24800
Mol Oranı (Q)	-9,7025	5,951122	-1,63037	0,147045	-4,85127
Enzim miktarı (L)	19,0840	3,080386	6,19533	0,000447[a]	9,54200
Enzim miktarı (Q)	1,8975	5,951122	0,31884	0,759150	0,94873
Sıcaklık * Mol oranı (L)	2,1800	3,443976	0,63299	0,546855	1,09000
Sıcaklık * Enzim miktarı (L)	-11,2450	3,443976	-3,26512	0,013767	-5,62250
Mol oranı * Enzim miktarı (L)	8,1500	3,443976	2,36645	0,049866	4,07500

[a] : $p<0,01$ düzeyinde anlamlı
[b] : $p<0,05$ düzeyinde anlamlı
L : Lineer
Q : Kuadratik

Tabloda verilen "p" değeri, sonuçların istatistik olarak önemli olup olmadığını gösterir.

Oluşturulan ve 2. dereceden bir polinom olan model denklem aşağıda verilmiştir. Bu denklemde bağımsız değişkenler (x_i) için kullanılan semboller, "T", "m" ve "e"'dir. "T" sıcaklığı, "m" yağ/metanol mol oranını ve "e" ise enzim miktarını ifade etmektedir.

$$\% \text{ Metil Ester} = 78,77 + 8,17*T - 7,23*T^2 + 1,25*m - 4,85*m^2 + 9,54*e + 0,95*e^2 + 1,09*T*m - 5,66*T*e + 4,08*m*e$$

Tablo 4.8. Varyans analizi sonuçları

Faktör	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	p değeri
Sıcaklık (L)	666,672	1	666,6722	28,10361	0,001122[a]
Sıcaklık (Q)	139,907	1	139,9074	5,89780	0,045518[b]
Mol Oranı (L)	15,575	1	15,5750	0,65657	0,444444
Mol Oranı (Q)	63,055	1	63,0555	2,65811	0,147045
Enzim miktarı (L)	910,498	1	910,4976	38,38209	0,000447[a]
Enzim miktarı (Q)	2,412	1	2,4116	0,10166	0,759150
Sıcaklık * Mol oranı (L)	9,505	1	9,5048	0,40068	0,546855
Sıcaklık * Enzim miktarı (L)	252,900	1	252,9001	10,66102	0,013767
Mol oranı * Enzim miktarı (L)	132,845	1	132,8450	5,60009	0,049866
Hata	166,054	7	23,7219		
∑ Kareler top.	2569,627	16			

[a] : p<0,01 düzeyinde anlamlı
[b] : p<0,05 düzeyinde anlamlı
L : Lineer
Q : Kuadratik

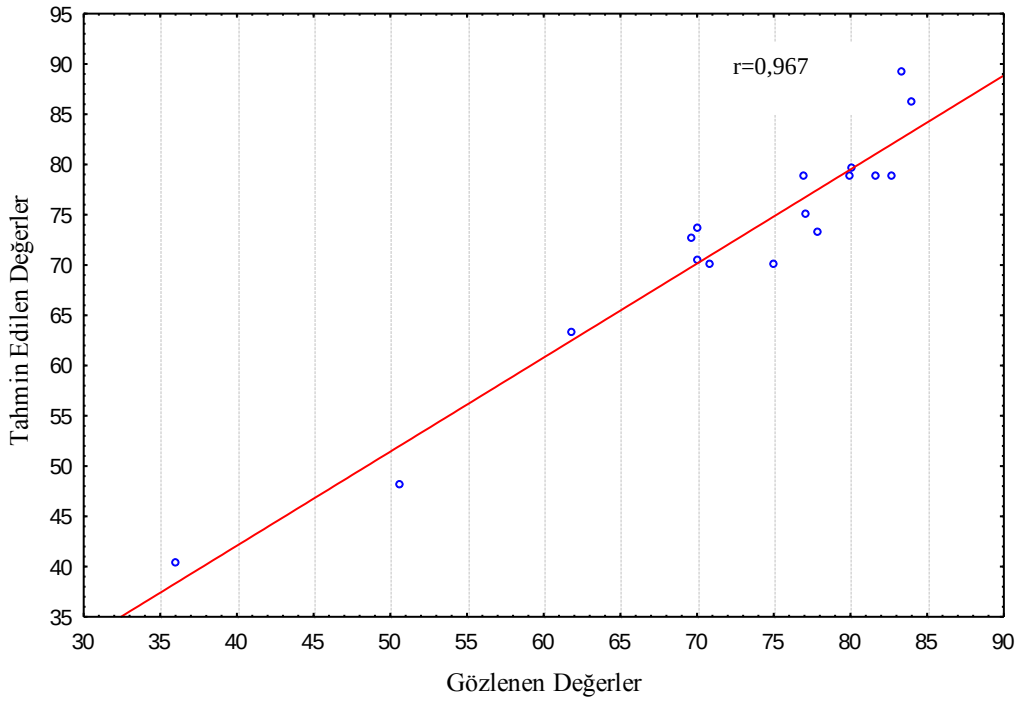
Varyans analizinin sonuçları incelendiğinde, sıcaklığın lineer etkisi p<0,01 düzeyinde, yine sıcaklığın kuadratik etkisinin p<0,05 düzeyinde ve enzim miktarının lineer etkisi de p<0,01 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Buna karşılık yağ/metanol mol oranının lineer, kuadratik etkisinin ve enzim miktarının kuadratik etkisinin istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür.

Oluşturulan Tepki-Yüzey modelinde, sıcaklık, enzim/yağ ağırlık oranı ve yağ/metanol mol oranı olmak üzere 3 farklı bağımsız değişken için gözlenen minimum ve maksimum değerler ile kritik değerler Tablo 4.9'da görülmektedir.

Tablo 4.9. Bağımsız değişkenlerin kritik değerleri

	Gözlenen minimum değer	Kritik değer	Gözlenen maksimum değer
Sıcaklık	30,00	50,46	50,00
Enzim/yağ oranı	0,10	0,09	0,20
Metanol/yağ mol oranı	2,00	2,35	3,00

Daha önce elde edilmiş olan model denklemden yaralanarak, gözlenen değerlere karşılık tahmin edilen değerler arasındaki ilişki ise Şekil 4.18'de verilmiştir.



Şekil 4.18. Gözlenen değerlere karşılık tahmin edilen değerler arasındaki ilişki

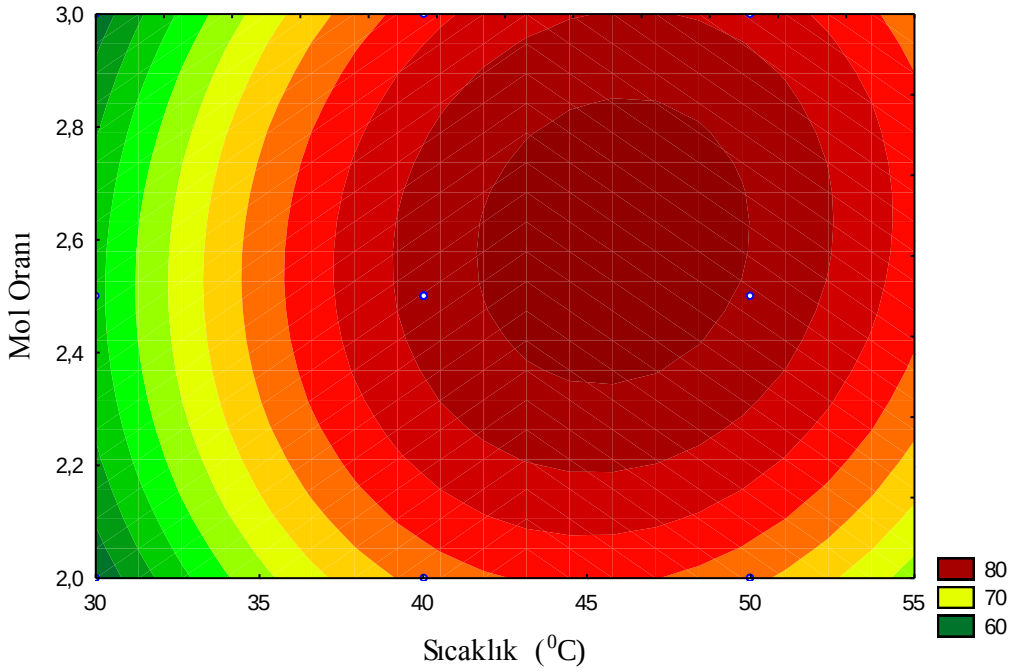
Faktörlerin model denklemde yerine konması ile elde edilen ürünün metil ester içeriğiyle (tahmin edilen değer), deney sonucunda elde edilen veriler (gözlenen değerler) arasındaki ilişki büyük oranda lineerlik göstermektedir. Grafikten de görüldüğü gibi korelasyon katsayısının 0,967 olması da bu durumu doğrulamaktadır. Bu durum oluşturulan modelin reaksiyon parametreleri arasındaki gerçek ilişkileri gösterdiğini ortaya koymaktadır.

4.8. Tepki-Yüzey ve İzdüşüm Grafiklerinin Yorumlanması

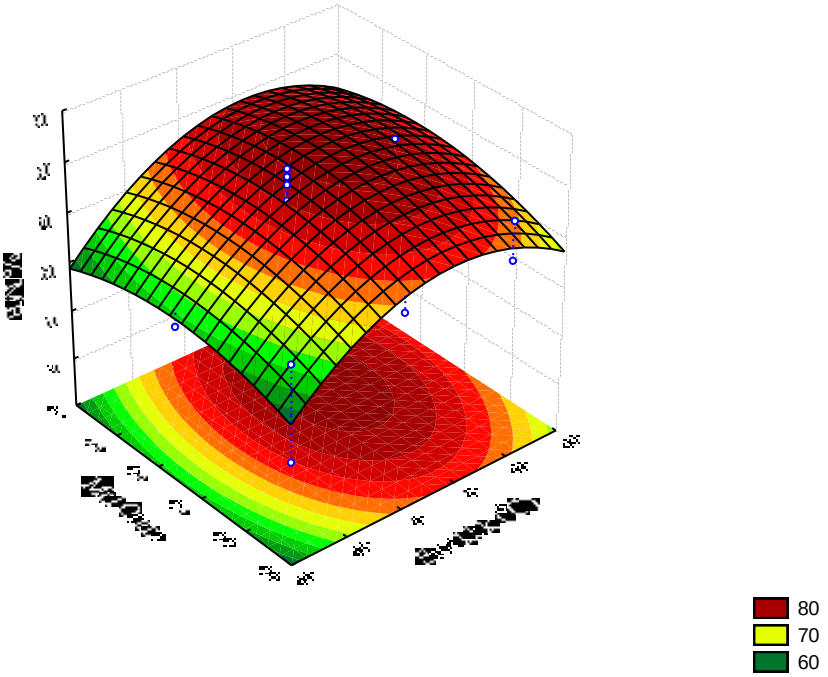
Soya yağının metanol ile enzimatik alkoliz reaksiyonu sonucu elde edilen ürünün metil ester içeriğinin sıcaklık ve yağ/metanol mol oranına göre değişimini gösteren izdüşüm (Contour Plot) ve tepki-yüzey grafikleri (Response Surface) grafikleri Şekil 4.19.a ve 4.19.b'de görülmektedir. İzdüşüm grafiklerinde denemeler neticesinde elde edilen tepki değerlerine ait eğriler bir düzlem üzerinde gösterilir. Bu düzleme ait koordinatlar ise bağımsız değişkenlerin seviyelerini göstermektedir. Her bir izdüşüm eğrisi, bağımsız değişkenlere ait seviyelerin bir birleşimi olarak ifade

edilen bir düzlemle yüzey arasındaki yüksekliği temsil eden özel bir değere sahiptir. Metil ester içeriğinin sıcaklık ve yağ/metanol mol oranına göre değişimini açıklayan grafiklerden literatürde maksimum tepki (maximum response) olarak tanımlanan izdüşüm grafiği elde edilmiştir [39]. Şekil 4.19.a incelendiğinde sıcaklık ve mol oranı orta noktadan uzaklaştıkça metil ester içeriğinin azaldığı görülmektedir. Bu grafikten anlaşılacağı üzere metil ester dönüşümün en yüksek olacağı sıcaklık aralığı 45- 50 ^{0}C ve yağ/metanol mol oranı aralığı da 2,4- 2,8 'dir.

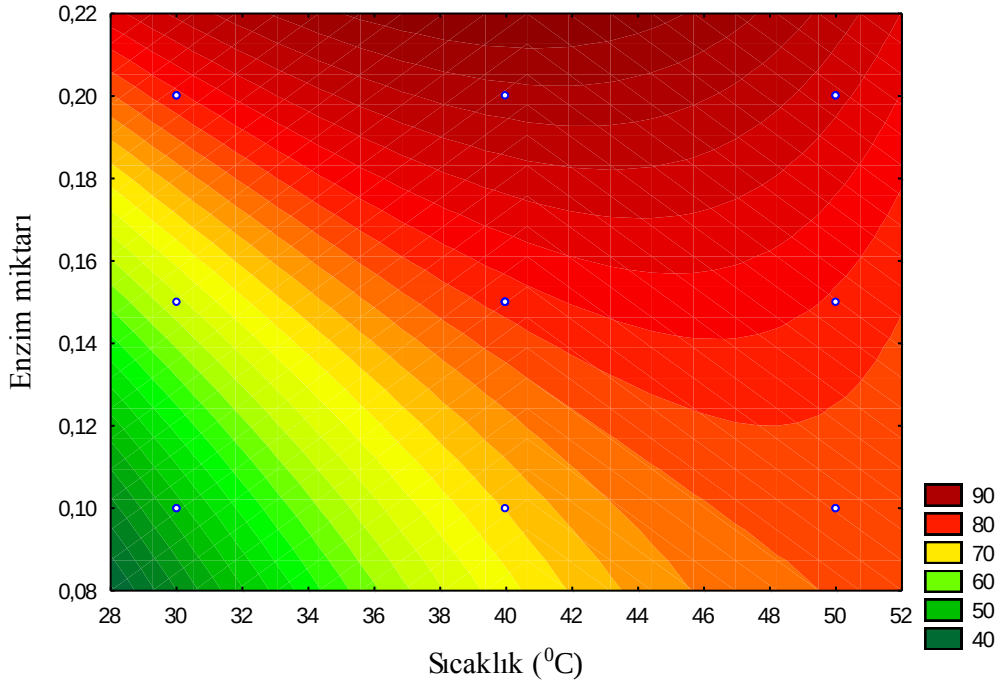
Metil ester içeriğinin sıcaklık ve enzim miktarına göre değişimini gösteren tepki yüzey ve izdüşüm grafikleri Şekil 4.20.a ve 4.20.b'de görülmektedir. Metil ester içeriğine enzim miktarı ve sıcaklığın etkileşimleri sonucunda literatürde "sırt noktası" (saddle) olarak tanımlanan izdüşüm grafiği elde edilmiştir [39]. Çalışmada gözlenen değer aralığında, enzim miktarı 0,16'nın ve sıcaklığın da 40 ^{0}C'nin üzerinde olması durumunda metil ester içeriği yüksek değerlere ulaşmıştır. Düşük sıcaklık ve enzim oranlarında ise metil ester içeriği azalmaktadır.



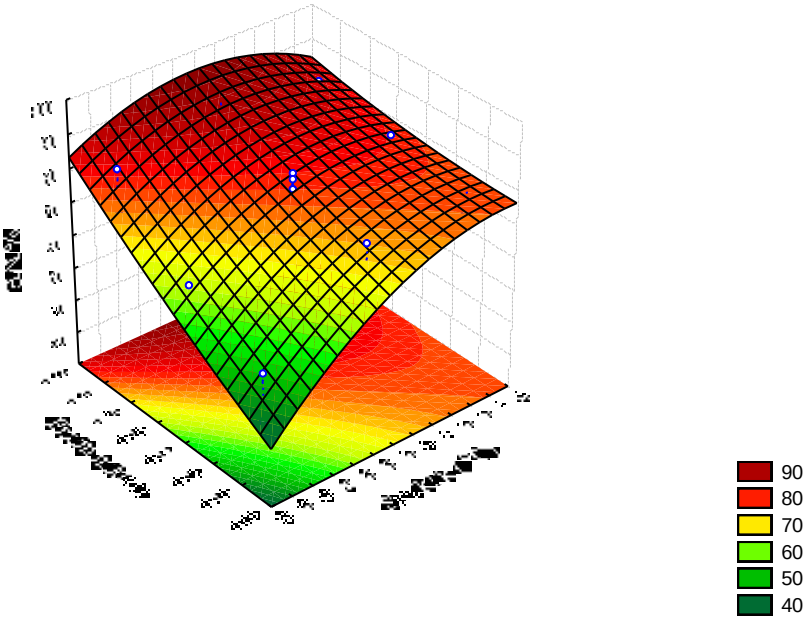
Şekil 4.19.a. Ürünün metil ester içeriğinin (%ME) sıcaklık ve mol oranı ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği



Şekil 4.19.b. Ürünün metil ester içeriğinin (%ME) sıcaklık ve mol oranı ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği

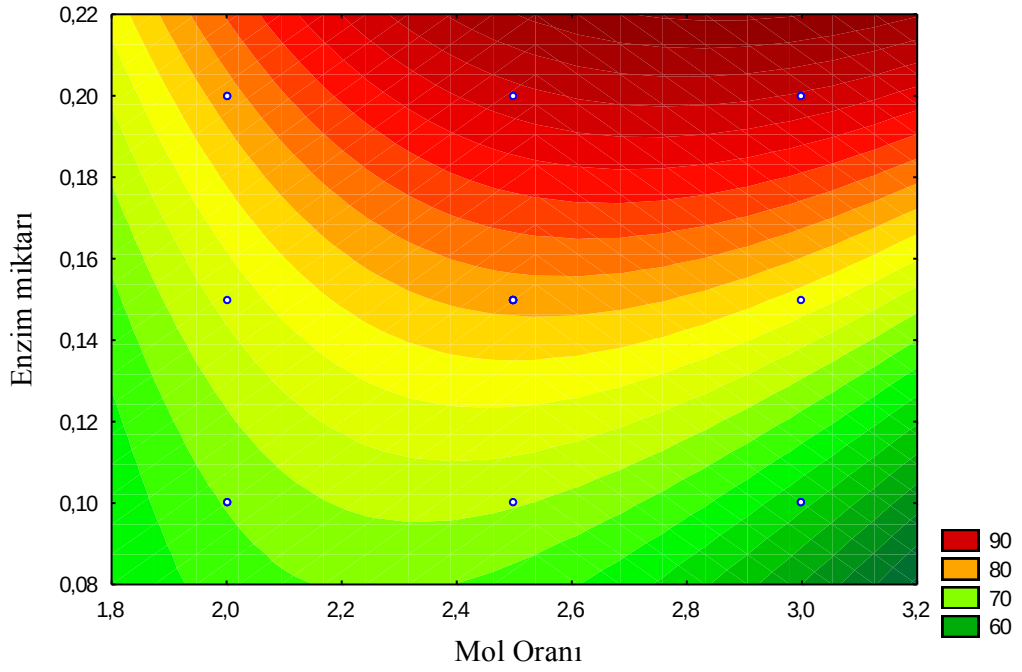


Şekil 4.20.a. Ürünün metil ester içeriğinin (% ME) sıcaklık ve enzim miktarı ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği

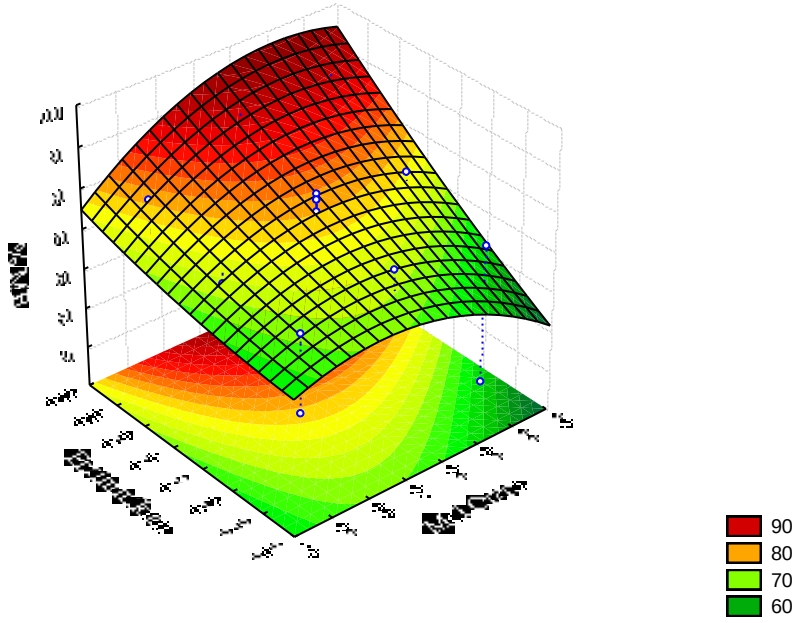


Şekil 4.20.b. Ürünün metil ester içeriğinin (%ME) sıcaklık ve enzim miktarı ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği

Metil ester içeriğinin yağ/metanol mol oranı ve enzim miktarına göre değişimini gösteren tepki yüzey ve izdüşüm grafikleri Şekil 4.21.a ve 4.21.b'de gösterilmiştir. Metil ester içeriği ile enzim miktarı ve yağ/metanol mol oranının etkileşimleri sonucunda literatürde "sırt noktası" (saddle) olarak tanımlanan izdüşüm grafiği elde edilmiştir [39]. İzdüşüm grafiği incelendiğinde enzim miktarı 0,16'nın üzerinde iken metil ester dönüşüm yüzdesi mol oranından bağımsız olarak yüksek değerlere ulaşmıştır. Ayrıca izdüşüm grafiğinden metil ester içeriği üzerine enzim miktarının etkisinin mol oranının etkisinden daha fazla olduğu da anlaşılmaktadır.



Şekil 4.21.a. Ürünün metil ester içeriğinin yağ/metanol mol oranı ve enzim miktarı ile değişimini gösteren izdüşüm grafiği



Şekil 4.21.b. Ürünün metil ester içeriğinin yağ/metanol mol oranı ve enzim miktarı ile değişimini gösteren tepki yüzey grafiği

5. VARGILAR ve ÖNERİLER

Türkiye kökenli soya yağının Lipozyme IM varlığında n-hekzan ortamında yürütülen enzimatik metanoliz reaksiyonu için en uygun koşulların belirlenmesi ve optimizasyonu olmak üzere iki kademede yürütülen bu çalışmada elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1. Reaksiyon sonucunda yan ürün olarak meydana gelen gliserolü ortamdan uzaklaştırmak ve böylece metil ester içeriği daha yüksek bir ürün elde etmek için silika jel kullanılmıştır. 40 ^{0}C'de, 1/3 yağ/metanol mol oranı, 0,1 enzim/yağ ağırlık oranı ile 25 mL n-hekzan ortamında 3 saat boyunca yürütülen reaksiyonlar sonucunda en yüksek metil ester içeriği 0,6 silika jel/yağ oranında silika jel kullanımı ile elde edilmiştir.

2. Enzim miktarı, yağ/metanol mol oranı ve sıcaklığın incelenen metanoliz reaksiyonu üzerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülen deneyler neticesinde belirlenen ve en uygun olduğu düşünülen koşullar:
Yağ/metanol mol oranı : 1/3
Enzim/yağ oranı : 0,15
Sıcaklık : 50 ^{0}C
Silika jel/yağ ağırlık oranı = 0,6 olarak tespit edilmiştir.

3. En uygun olarak belirlenen bu koşulların doğruluğunu istatistiksel olarak da irdelemek amacıyla Tepki-Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology) optimizasyon yöntemi ile 3 değişken 3 seviye yüzey merkezil deney tasarımı kullanılmış ve bu yönteme göre 30 dakikalık reaksiyon süresi sonunda elde edilebilecek maksimum metil ester içeriği %76,70 olarak bulunmuştur. Bu istatistiksel analiz yöntemine göre kritik reaksiyon koşulları ise ;

Yağ/metanol mol oranı : 1/2,35

Enzim /yağ ağırlık oranı : 0,09

Sıcaklık : 50,46 ^{0}C'dir.

4. Tepki-Yüzey Metodolojisi yöntemi kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmasında, metil ester içeriğinin yaklaşık %90'ın üzerinde olduğu deneylerde metil ester ve dönüşmemiş triaçilgliserol içerikleri, analiz cihazı koşulları nedeni ile kesin olarak tespit edilemediği için reaksiyon süresi 30 dakika olarak seçilmiştir. Metanoliz reaksiyonunun yürüyüşü ile ilgili grafiklerde de görüldüğü gibi optimizasyonun daha sağlıklı yapılabilmesi için daha uzun reaksiyon süresine gereksinim vardır. Reaksiyon ürünlerinin bileşiminin, uygun kolon ve koşulların uygulanabileceği bir gaz kromatografi cihazı veya sıvı kromatografi cihazı (HPLC) ile belirlenmesi, reaksiyon süresinin daha uzun tutulmasına ve daha sağlıklı sonuçların elde edilmesine olanak sağlayacaktır.

5. Tepki Yüzey Metodolojisi kullanılarak 2. dereceden polinom olan bir model denklem oluşturulmuştur. Bu model denkleme göre tahmin edilen değerler ile gözlenen değerlerin, %97 oranında uyum sağladığı görülmüştür. Bir başka deyişle tahmin edilen değerler ile gözlenen değerler arasında çizilen grafiğe ait korelasyon katsayısı 0,97'dir.

6. Soya yağının enzimatik metanolizi bilinen kimyasal metanoliz reaksiyonlarına alternatif bir yöntemdir. Lipozyme IM, soya yağı ve benzer bitkisel yağların metanolizini ekonomik olarak katalizleyebilecek uygun bir biyokatalizörlerdir.

7. Soya yağı-metanol enzimatik metanoliz reaksiyonu sonucu elde edilen yağ asidi metil ester karışımının biyodizel yakıtı olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesi için bu ürünün yakıt özelliklerinin belirlenmesi ve biyodizel standartlarına uygunluğunun incelenmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

[1] **Ulusoy, Y., Alibaş, K.,** 2002. Diesel motorlarda biodiesel kullanımının teknik ve ekonomik olarak incelenmesi, *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg*., **16**, 37-50.

[2] **Karaosmanoğlu, F.,** 2002. Türkiye için çevre dostu-yenilenebilir bir yakıt adayı : biyomotorin, *Ekojenerasyon Dünyası-Kojenarasyon Dergisi, ICCI*., **10**, 50-56.

[3] **Samukawa, T., Kaieda, M., Matsumoto, T., Ban, K., Kondo, A., Shimada, Y., Noda, H., Fukuda, H.,** 2000. Pretreatment of immobilized *Candida antartica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil, *J. Biosci. Bioeng*., **90**, 180-183.

[4] **Kıldıran, G.,** 1993. Soya yağının yerinde alkolizi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[5] **Liu, K.S.,** 1999. Soybeans : chemistry, technology and utilization, Aspen Publications, Gaithersburg, Maryland.

[6] **Wikipedia The Free Encyclopedia**, 2004. "Soybean", web sayfası www.wikipedia.org.

[7] **Pryde, E.H.,** 1987. Composition of soybean oil, in *Handbook of Soy Oil Processing and Utilization*, pp. 13-31, Eds. Erickson, D.R., Brekke O.L., Mounts, T.L., Falb, R.A., Pryde, E.H., American Soybean Assc., Missouri.

[8] **Doty,Jr, H.O.,** 1987. U.S. and world soybean oil markets, in *Handbook of Soy Oil Processing and Utilization*, pp. 483-509, Eds. Erickson, D.R., Brekke O.L., Mounts, T.L., Falb, R.A., Pryde, E.H., American Soybean Assc., Missouri.

[9] **Pryde, E.H.,** 1987. Physical properties of soybean oil, in *Handbook of Soy Oil Processing and Utilizati*on, pp. 33-47, Eds. Erickson, D.R., Brekke O.L., Mounts, T.L., Falb, R.A., Pryde, E.H., American Soybean Assc., Missouri.

[10] **Esen, A.,** 2003. Fındık yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[11] **Kurşun, E.,** 2002. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşmesi ile yağ asidi esterlerinin üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[12] **Khan, A.K.,** 2002. Research into biodiesel kinetics catalyst and development, The University of Quennsland, Australia.

[13] **Akdere, C.,** 2003. Fındık yağı-füzel yağı fraksiyonu enzimatik alkoliz reaksiyonunun incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[14] **Ban, K., Hama, S., Hama, S., Nishizuka, K., Kaieda, M., Matsumoto, T., Kondo, A., Noda, H., Fukuda, H.,** 2002. Repeated use of whole-cell biocatalysts immobilized within biomass support particles for biodiesel fuel production , *J. of Mol . Catal. B: Enz.*, **17**, 157-165.

[15] **Gılbaz, E.E.,** 2002. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşmesi ile yağ asidi esterlerinin üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[16] **Noureddini, H., Gao, X., Philkana, R.S.,** 2005. Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fuel production from soybean oil, *Bioresour. Technol.*, **96**, 769-777.

[17] **Zhang, Y., Dubé, M.A., McLean, D.D.,** 2003. Biodiesel production from waste cooking oil : 1. Process design and technological assessment, *Bioresour. Technol.*, **89**, 1-16.+

[18] **Noureddini, H., Harkey, D., 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.

[19] **Alcantara, R., Amores , J., Canoira, L., Fidalgo, E., Franco, M.J., Navarro, A.,** 2000. Catalytic production of biodiesel from soy-bean oil, used frying oil and tallow, *Biomass and Bioenerg.*, **18**, 515-527.

[20] **Tomasevic, A.V.,Siler-Marinkovic, S.S.,** 2003. Methanolysis of used frying oil, *Fuel Process. Technol.*, **81**, 1-6.

[21] **Vicente, G., Martínez, M., Aracil, J.,** 2004. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems, *Bioresour. Technol*., **92**, 297-305.

[22] **Mittelbach, M., Enzelsberger, H.,** 1999. Transesterification of heated rapeseed oil for extending diesel fuel, *J. Am. Oil Chem. Soc.,***76,** 545-550.

[23] **Du, W., Xu, Y., Zeng, J., Liu, D.,** 2004. Novozym 435-catalyzed transesterification from crude soybean oils to biodiesel production in a solvent-free medium, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **40**, 187-190.

[24] **Xu, Y., Du, W., Zeng, J., Liu, D.,** 2004. Conversion of soybean oil to biodiesel fuel using Lipozyme TL IM in a solvent-free medium, *Biocatal. Biotransform.*, **22,** 45-48.

[25] **Watanabe, Y., Shimada , Y., Sugihara, A., 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.

[26] **Du, W., Xu, Y., Liu, D.,** 2003. Lipase-catalysed transesterification of soya bean oil for biodiesel production during continuous batch operation, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **38**, 103-106.

[27] **Nelson, L.A., Foglia, T.A., Marmer, W.N.,** 1996. Lipase-catalyzed production of biodiesel, *J. Am. Oil Chem. Soc.,***73,** 1191-1195.

[28] **Iso, M., Chen, B., Eguchi, M., Kudo, T., Shrestha, S.,** 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase, *J. of Mol . Catal. B: Enz*., **16**, 53-58.

[29] **Köse, A., Tüter, M., Aksoy, H.A.,** 2002. Immobilized *Candida antartica* lipase-catalyzed alcoholysis of cotton seed oil in a solvent-free medium, *Bioresour. Technol*., **83**, 125-129.

[30] **Hsu, A., Jones, K., Foglia, T.A., Marmer, W.N.,** 2002. Immobilized lipase-catalysed production of alkyl esters of restaurant grease as biodiesel, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **36**, 181-186.

[31] **Dossat, V., Combes, D., Marty, A.,** 2002. Lipase-catalysed transesterification of high oleic sunflower oil, *Enzyme Microb. Technol*., **30**, 90-94.

[32] **Abigor, R.D., Uadia, P.O., Foglia, T.A., Haas, M.J., Jones, K.C., Okpefa, E., Obibuzor, J.U., Bafor, M.E.,** 2000. Lipase-catalysed production of biodiesel fuel from Nigerian lauric oils, *Biochem. Soc. T.*, **28**, 979-981.

[33] **Shieh, C.-J., Liao, H.-F., Lee, C.-C.,** 2003. Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology, *Bioresour. Technol.*, **88**, 103-106.

[34] **Uosukainen, E., Lämsä, M., Linko, Y.-Y., Linko, P., Leisola, M.,** 1999. Optimization of enzymatic transesterification of rapeseed oil ester using response surface and principal component methology, *Enzyme Microb. Technol.*, **25**, 236-243.

[35] **Linder, M., Kochanowski, N., Fanni, J., Parmentier, M.,** 2005. Response surface optimisation of lipase-catalysed esterification of glycerol and *n*-3 polyunsaturated fatty acids from salmon oil, *Process Biochem.*, **40**, 273-279.

[36] **Senanayake, S.P.J.N., Shahidi, F.,** 2002. Lipase-catalyzed incorporation of docosahexaenoic acid (DHA) into borage oil : optimization using response surface methodology, *Food Chem.*, **77**, 115-123.

[37] **Cornell, J.A.,** 1990. How to Apply Response Surface Methodology, Quality Press, American Society for Quality., USA.

[38] **Can, A.,** 2004. Lipaz enzimi kullanılarak fındık yağının uzun zincirli çoklu doymamış omega-3 yağ asitlarince zenginleştirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[39] **Montgomery, D.C and Myers R.H.,** 2002. Response Surface Methodology Process and Product Optimization Using Designed Experiments, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., New York.

[40] **Cocks, L.V., Van R.C.,** 1966. Laboratory Handbook of Oil and Fat Analysis, Academic Press, London and New York.

[41] **Castillo, E., Dossat, V., Marty, A., Condoret, J.S., Combes, D.,** 1997. The role of silica gel in lipase-catalayzed esterification reactions of high polar substrates, *J. Am. Oil Chem. Soc.*,**74,** 77-85.

EK A.

Tablo A.1. Adsorbansız ortamda yürütülen soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	--	100	--	--
10	--	100	--	--
15	3,00	94,22	2,78	--
20	4,51	92,13	3,36	--
30	7,99	87,49	4,52	--
45	14,72	80,71	4,57	--
60	20,10	71,14	4,41	4,35
120	43,32	45,61	4,84	6,23
180	70,17	24,53	5,30	--

Tablo A.2. Soya 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	2,59 ± 0,16	95,29 ± 0,39	2,13 ± 0,22	--
10	6,05 ± 0,26	89,31 ± 0,24	4,65 ± 0,03	--
15	11,84 ± 1,08	82,97 ± 0,93	5,20 ± 0,14	--
20	14,78 ± 0,49	78,32 ± 2,52	5,57 ± 0,68	3,13 ± 0,43
30	27,61 ± 1,25	62,67 ± 2,47	6,18 ± 1,23	4,55 ± 1,02
45	47,81 ± 3,18	44,11 ± 0,63	5,30 ± 0,23	--
60	66,82 ± 2,63	28,48 ± 3,11	4,70 ± 0,48	--
120	73,78 ± 1,15	26,23 ± 1,15	--	--
180	80,03 ± 0,23	19,84 ± 0,37	--	--

Tablo A.3. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	4,19 ± 0,14	95,81 ± 0,14	--	--
10	10,04 ± 0,85	85,19 ± 0,85	4,78 ± 0,01	--
15	16,41 ± 0,71	78,18 ± 0,26	5,26 ± 0,60	--
20	23,01 ± 0,51	71,81 ± 1,22	5,18 ± 0,71	--
30	42,82 ± 0,72	51,93 ± 0,38	5,26 ± 0,34	--
45	65,61 ± 0,68	29,85 ± 1,53	4,55 ± 0,85	--
60	78,14 ± 1,02	20,32 ± 0,52	3,08	--
120	100 ± 0	--	--	--
180	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.4. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	5,87 ± 0,58	93,10 ± 1,62	2,08	--
10	13,64 ± 0,21	83,02 ± 0,54	3,35 ± 0,32	--
15	22,93 ± 1,30	72,72 ± 1,59	4,35 ± 0,29	--
20	35,64 ± 1,75	61,61 ± 1,01	5,51	--
30	53,14 ± 0,11	43,10 ± 0,02	3,77 ± 0,12	--
45	71,99 ± 1,24	26,67 ± 2,58	2,70	--
60	100 ± 0	--	--	--
120	100 ± 0	--	--	--
180	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.5. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 0,8 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: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	6,70 ± 0,89	93,01 ± 0,60	--	--
10	15,46 ± 0,40	81,58 ± 0,46	2,97 ± 0,06	--
15	26,59 ± 2,1	69,40 ± 2,18	4,01 ± 0,08	--
20	40,61 ± 2,92	55,42 ± 2,88	3,97 ± 0,04	--
30	57,02 ± 4,62	39,47 ± 4,44	3,52 ± 0,19	--
45	73,87 ± 3,70	26,14 ± 3,71	--	--
60	100 ± 0	--	--	--
120	100 ± 0	--	--	--
180	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.6. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,05 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	2,47 ± 0,06	97,71 ± 0,06	--	--
10	4,96 ± 0,30	95,05 ± 0,29	--	--
15	8,37 ± 0,79	89,27 ± 1,02	2,37 ± 0,24	--
20	12,76 ± 0,26	83,83 ± 0,19	3,42 ± 0,44	--
30	23,80 ± 1,93	72,60 ± 1,63	3,61 ± 0,29	--
45	41,46 ± 3,11	55,61 ± 3,42	3,25 ± 0,31	--
60	61,40 ± 0,52	38,61 ± 0,52	--	--
75	68,76	31,24	--	--
120	100 ± 0	--	--	--
180	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.7. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,125 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,54 ± 0,24	90,01 ± 0,36	2,46 ± 0,12	--
10	17,74 ± 0,25	78,51 ± 0,34	3,76 ± 0,09	--
15	29,51 ± 0,82	65,86 ± 0,90	4,63 ± 0,08	--
20	42,67 ± 1,52	53,03 ± 1,42	4,30 ± 0,10	--
30	63,26 ± 3,30	33,11 ± 2,92	3,63 ± 0,38	--
35	69,14 ± 0,20	29,23 ± 1,44	3,27	--
40	80,84	19,16	--	--
45	100 ± 0	--	--	--
60	100 ± 0	--	--	--
120	100 ± 0	--	--	--
180	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.8. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,15 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	10,96 ± 0,32	85,42 ± 0,42	3,63 ± 0,09	--
10	25,85 ± 0,59	69,43 ± 0,92	4,73 ± 0,32	--
15	40,52 ± 0,24	53,79 ± 0,01	5,70 ± 0,26	--
20	56,48 ± 1,61	38,43 ± 2,00	5,10 ± 0,38	--
30	77,09 ± 0,25	20,78 ± 1,98	4,27	--
35	79,17	20,83	--	--
45	100 ± 0	--	--	--
60	100 ± 0	--	--	--
120	100 ± 0	--	--	--
180	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.9. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 0,2 enzim/yağ ağırlık oranında enzim kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6 ; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	18,28	77,10	4,62	--
10	40,93	54,02	5,05	--
15	61,26	34,23	4,51	--
20	75,32	20,47	4,21	--
30	100 ± 0	--	--	--
35	100 ± 0	--	--	--
45	100 ± 0	--	--	--
60	100 ± 0	--	--	--

Tablo A.10. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	15,77	80,85	3,38	--
10	35,60	59,33	5,07	--
15	52,57	41,87	5,56	--
20	56,52	36,32	7,16	--
30	69,61	24,70	5,69	--
35	72,92	22,58	4,50	--
40	76,19	19,52	4,29	--
45	76,17	23,83	--	--
60	77,29	22,71	--	--
75	79,96	20,04	--	--

Tablo A.11. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	14,23	82,77	3,00	--
10	31,02	64,67	4,31	--
15	47,96	47,40	4,64	--
20	62,36	32,74	4,90	--
30	84,16	15,84	--	--

Tablo A.12. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	14,58	82,24	3,18	--
10	32,37	62,25	5,38	--
15	56,05	38,50	5,45	--
20	67,61	27,33	5,06	--
25	76,46	18,70	4,84	
30	80,00	16,05	3,95	--

Tablo A.13. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/2,5 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	18,35	77,18	4,47	--
10	35,54	59,30	5,16	--
15	56,02	38,49	5,49	--
20	67,52	27,62	4,86	--
25	74,97	19,56	5,47	
30	81,68	14,15	4,17	--
35	83,63	13,45	2,92	--

Tablo A.14. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunda 1/4 yağ/metanol mol oranında metanol kullanımının etkisi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; sıcaklık: 40 ^{0}C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	6,07	93,93	4,16	--
10	15,18 ± 1,92	80,81 ± 1,46	4,02 ± 0,15	--
15	26,28 ± 3,68	70,47 ± 2,17	4,75 ± 0,01	--
20	33,69 ± 2,00	60,63 ± 2,16	5,68 ± 0,16	--
30	54,48 ± 1,03	41,12 ± 0,84	4,41 ± 0,21	--
35	61,18 ± 0	35,00 ± 0,03	3,82 ± 0,70	--
40	71,48 ± 2,32	26,96 ± 0,76	3,12	--
45	74,87 ± 3,31	25,14 ± 3,31	--	--

Tablo A.15. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 30 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,50	90,34	2,16	--
10	19,85	76,68	3,47	--
15	30,32	65,59	4,09	--
20	40,83	54,67	4,50	--
25	53,18	43,21	3,61	--
30	59,58	37,26	3,16	--
35	74,94	25,06	--	--
40	76,40	23,60	--	--
45	100	--	--	--
60	100	--	--	--
75	100	--	--	--

Tablo A.16. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 50 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	13,81	82,27	3,92	--
10	31,85	62,48	5,67	--
15	52,08	42,86	5,06	--
20	63,98	30,99	5,03	--
30	100	--	--	--
35	100	--	--	--
40	100	--	--	--
45	100	--	--	--
60	100	--	--	--
75	100	--	--	--
90	100	--	--	--

Tablo A.17. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonunun 60 ^{0}C'de yürütülmesinde ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	100	--	--	--
5	16,94	77,75	--	5,31	--
10	19,42	73,09	--	7,49	--
15	20,37	72,51	--	7,12	--
20	24,32	69,97	--	5,71	--
25	24,17	70,18	--	5,65	--
30	25,42	69,96	--	4,62	--
35	24,61	67,67	3,24	4,48	--
40	25,39	66,90	3,92	3,79	--
45	23,77	67,99	4,22	4,02	--
60	24,99	66,94	5,04	3,03	--
75	24,53	63,99	8,74	2,74	--
90	25,04	66,53	5,42	3,01	--

Tablo A.18. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	5,55	94,45	--	--
10	13,27	83,78	2,95	--
15	23,65	72,06	4,29	--
20	34,77	60,89	4,34	--
25	46,15	48,84	5,04	--
30	50,65	44,19	5,16	--
40	65,61	30,06	4,33	--
45	68,98	26,80	4,22	--
60	70,88	25,60	3,52	--
75	72,69	27,31	--	--
90	78,47	21,53	--	--

Tablo A.19. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	9,13	88,57	2,30	--
10	23,45	73,07	3,48	--
15	36,19	59,60	4,21	--
20	49,70	45,65	4,65	--
25	58,18	35,71	6,11	--
30	61,80	33,76	4,44	--
35	65,46	31,26	3,28	--
45	73,18	26,82	--	--
60	74,21	25,79	--	--
75	75,52	24,48	--	--
90	81,94	18,06	--	--

Tablo A.20. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	11,63	85,60	2,77	--
10	27,59	68,02	4,39	--
15	44,75	50,20	5,05	--
20	52,99	41,41	5,60	--
25	61,48	32,74	5,78	--
30	70,00	25,46	4,54	--
35	72,70	22,85	4,45	--
40	80,68	19,32	--	--
45	80,46	19,54	--	--
60	79,51	20,49	--	--
75	78,31	21,69	--	--
90	83,16	16,84	--	--

Tablo A.21. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	4,78	95,22	--	--
10	11,29	88,71	--	--
15	20,10	76,80	3,10	--
20	31,91	64,44	3,65	--
25	41,43	54,46	4,11	--
30	51,24	45,39	3,37	--
35	60,00	36,63	3,37	--
40	63,20	36,80	--	--
45	69,75	30,25	--	--

Tablo A.22. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,29	90,64	2,07	--
10	20,30	76,63	3,07	--
15	30,34	66,05	3,61	--
20	38,96	56,99	4,05	--
25	53,37	42,74	3,89	--
30	61,48	34,38	3,69	--
35	71,43	25,55	3,02	--
40	80,06	19,94	--	--
45	84,49	15,51	--	--

Tablo A.23. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	12,61	84,32	3,07	--
10	31,79	63,28	4,93	--
15	49,82	44,89	5,29	--
20	59,03	35,99	4,97	--
25	70,89	24,50	4,61	--
30	79,09	20,91	--	--
35	83,73	16,27	--	--

Tablo A.24. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	4,07	95,93	--	--
10	9,48	90,52	--	--
15	15,46	81,12	3,42	--
20	23,99	72,50	3,51	--
25	29,05	66,44	4,51	--
30	36,06	56,63	4,31	--
35	49,72	46,14	4,14	--
40	60,47	39,53	--	--
45	62,77	37,23	--	--
60	74,14	25,86	--	--
75	100	--	--	--
90	100	--	--	--

Tablo A.25. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 30 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	12,55	84,31	3,14	--
10	30,10	65,63	4,27	--
15	45,28	51,20	3,52	--
20	55,98	40,46	3,56	--
25	76,20	23,80	--	--
30	82,73	17,27	--	--
35	100	--	--	--
40	100	--	--	--
45	100	--	--	--
60	100	--	--	--
75	100	--	--	--
90	100	--	--	--

Tablo A.26. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	8,33	91,67	--	--
10	20,75	74,60	4,65	--
15	31,63	61,67	6,70	--
20	52,59	40,91	6,50	--
25	61,09	31,90	7,01	--
30	64,35	29,40	6,25	--
35	70,41	23,76	5,83	--
40	73,13	21,91	4,96	--
45	73,26	22,22	4,52	--
60	79,21	20,79	--	--
75	79,47	20,53	--	--

Tablo A.27. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	100	--	--	--
5	23,80	71,69	--	4,51	--
10	47,07	46,96	--	5,97	--
15	58,36	34,64	--	7,00	--
20	64,09	29,76	--	6,15	--
25	70,83	24,50	--	4,67	--
30	70,31	25,16	--	4,53	--
35	71,55	24,50	--	3,95	--
40	69,16	27,16	--	3,68	--
45	71,31	25,87	--	2,82	--
60	73,52	26,48	--	--	--
75	73,50	26,50	--	--	--
90	73,23	23,73	3,04	--	--

Tablo A.28. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,24	92,76	--	--
10	20,31	76,28	3,41	--
15	34,49	60,95	4,56	--
20	48,72	47,58	3,70	--
25	64,69	30,86	4,45	--
30	74,97	25,03	--	--
35	76,84	18,59	4,57	--
40	82,62	17,38	--	--

Tablo A.29. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	19,35	76,86	3,79	--
10	50,59	43,87	5,54	--
15	66,73	29,07	4,20	--
20	73,21	24,03	2,76	--
25	80,09	16,99	2,92	--
30	83,33	14,17	2,50	--

Tablo A.30. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	100	--	--	--
5	14,31	85,09	--	--	--
10	31,37	68,63	--	--	--
15	51,57	43,63	--	--	--
20	61,10	38,90	--	--	--
25	72,07	27,93	--	--	--
30	70,05	29,95	--	--	--
35	70,21	29,79	--	--	--
40	68,49	31,51	--	--	--
45	69,49	27,61	2,96	--	--
60	73,60	26,40	--	--	--
75	73,16	23,62	3,22	--	--
90	73,38	26,62	--	--	--

Tablo A.31. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 40 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	24,13	75,87	--	--
10	50,93	49,07	--	--
15	68,58	31,42	--	--
20	76,24	23,76	--	--
25	76,12	23,88	--	--
30	74,75	22,25	--	--
35	75,42	24,58	--	--
40	71,77	28,23	--	--
45	74,02	25,98	--	--
60	69,66	30,34	--	--
75	70,87	29,13	--	--
90	70,25	29,75	--	--

Tablo A.32. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	100	--	--	--
5	33,80	66,20	--	--	--
10	58,71	41,29	--	--	--
15	72,57	24,43	--	--	--
20	74,62	25,38	--	--	--
25	77,03	22,97	--	--	--
30	77,93	22,07	--	--	--
35	79,02	20,98	--	--	--
40	79,97	23,03	--	--	--
45	76,97	20,03	--	--	--
60	80,11	19,89	--	--	--
75	79,65	20,35	4,04	--	--
90	78,67	17,29	--	--	--

Tablo A.33. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	9,72	90,28	--	--
10	25,14	74,86	--	--
15	43,81	52,02	4,17	--
20	61,57	38,43	--	--
25	71,97	28,03	--	--
30	77,67	22,33	--	--
35	84,50	15,50	--	--
40	81,28	15,12	3,60	--
45	80,39	16,48	3,13	--
60	82,12	17,88	--	--
75	87,48	12,52	--	--
90	87,31	12,69	--	--

Tablo A.34. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,15 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	15,26	81,31	3,43	--
10	42,42	52,68	4,90	--
15	61,44	33,63	4,93	--
20	69,50	25,50	5,00	--
25	76,16	19,62	4,22	--
30	80,11	19,89	--	--

Tablo A.35. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/2,5 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	25,38	74,62	--	--
10	53,32	42,01	4,67	--
15	72,04	23,94	4,02	--
20	80,57	19,43	--	--

Tablo A.36. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,1 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)			
	ME	TAG	DAG	MAG
0	--	100	--	--
5	7,22	92,78	--	--
10	19,51	80,49	--	--
15	36,35	59,77	3,88	--
20	56,00	44,00	--	--
25	67,19	32,81	--	--
30	70,87	25,53	3,60	--
35	84,11	15,89	--	--
40	91,86	8,14	--	--
45	100	--	--	--
60	100	--	--	--

Tablo A.37. Soya yağı-metanol enzimatik alkoliz reaksiyonu (yağ: 5 g ; enzim/yağ mol oranı: 0,2 ; silika jel/yağ ağırlık oranı: 0,6; yağ/metanol mol oranı: 1/3 ; n-hekzan: 25 mL ; sıcaklık: 50 ^{0}C)

Zaman (dak.)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	100	--	--	--
5	17,31	79,08	--	3,61	--
10	42,92	52,48	--	4,60	--
15	64,33	31,75	--	3,92	--
20	100	--	--	--	--
25	100	--	--	--	--
30	100	--	--	--	--
35	100	--	--	--	--
40	100	--	--	--	--
45	100	--	--	--	--
60	100	--	--	--	--
75	100	--	--	--	--
90	98,03	--	1,97	--	--

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında İstanbul'da doğdu. 1998 yılında Özel Üsküdar Fen Lisesi'nden mezun oldu. Aynı İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde girdi ve 2002 yılında mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. 2002 yılında başladığı İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Yüksek Lisans Programında halen öğrencidir.