

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MISIR ASİDİK YAĞININ ENZİMATİK
ESTERLEŞMESİ İLE YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN
ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Emel Elif GILBAZ**

Anabilim Dalı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

MAYIS 2002

**MISIR ASİDİK YAĞININ ENZİMATİK
ESTERLEŞMESİ İLE YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN
ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Emel Elif GILBAZ
(506001112)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27 Haziran 2002
Tezin Savunulduğu Tarih : 31 Mayıs 2002**

**Tez Danışmanı : Prof.Dr. H. Ayşe AKSOY
Diğer Jüri Üyeleri Prof.Dr. Nuran DEVECİ (İTÜ)
Doç.Dr. Candan TAMERLER (İTÜ)**

MAYIS 2002

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bilgi, yardım ve hoşgörüsünü büyük bir özveriyle kullanarak, tez çalışmamı bitirmeme yardımcı olan değerli hocam, Sayın Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında bana her konuda yardımcı olan bilgi ve desteğini esirgemeyen, değerli hocam, Sayın Doç. Dr. Melek TÜTER'e ayrıca yardım ve destekleri için hocam, Sayın Prof. Dr. Hasancan OKUTAN'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans ders ve tez aşamasında yaşadığım zorlukları paylaşarak bana destek olan sevgili arkadaşım Kim. Müh. Emel KURŞUN'a ve ismimi sayamadığım hocalarıma ve arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca maddi, manevi her türlü destekleriyle bana güç veren değerli aileme ve özellikle görüş ve tavsiyeleriyle hayatıma yön veren biricik annem Dr. Nurcan GILBAZ'a ve teyzem Kim. Nuray AKGÖL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2002

Kim. Müh. Emel Elif GILBAZ

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET	xii
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK ÇALIŞMA	3
2.1. Yağ Asitleri Hakkında Genel Bilgi	3
2.2. Yağ Asitlerinin Direkt Esterleşmesi	4
2.2.1. Yağ asitlerinin monohidrik alkoller ile esterleşmesi	5
2.2.2. Yağ asitlerinin polihidrik alkoller ile esterleşmesi	6
2.3. Yağların İnteresterleşme (İç Esterleşme) Reaksiyonları	7
2.3.1. Alkoliz	8
2.4. Yağ Asidi Esterlerinin Önemli Özellikleri ve Kullanım Alanları	9
2.5. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Ticari Önemi ve Kullanım Alanları	11
2.6. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Endüstriyel Üretimi	13
2.7. Enzimatik Esterleşme Reaksiyonları	14
2.8. Çalışmanın Önemi ve Literatürden Örnekler	15
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	20
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
3.2. Mısır Asidik Yağının Karakterizasyonu	21
3.3. Deney Düzenegi	21
3.4. Mısır Asidik Yağının Enzimatik Esterleşme Reaksiyonu	22
3.4.1. Esterleşme ürün bileşiminin belirlenmesi	22
3.4.2. Mısır asidik yağı bileşiminin kromatografik olarak belirlenmesi	23
3.5. Mısır Asidik Yağının Novozym 435 Lipazı ile Esterleşme Reaksiyonu İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi	24
3.5.1. Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşmesine reaksiyon süresinin etkisi	24
3.5.2. Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna alkol / yağ asidi mol oranının etkisi	26
3.5.3. Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna enzim miktarının etkisi	29

3.5.4 Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna sıcaklığın etkisi	32
3.5.5. Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna alkol cinsinin etkisi	35
3.6. Mısır Asidik Yağının Novozym 435 Lipazı ile Üç Kademeli Esterleşme Reaksiyonu	39
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	43
EKLER	45
ÖZGEÇMİŞ	53

KISALTMALAR

DHSA	: Dihidroksistearik asit
TLC	: Thin Layer Chromatography
FID	: Flame Ionization Detector
SM	: Sabunlaşmayan Maddeler
YAE	: Yağ Asidi Esteri
SYA	: Serbest Yağ Asidi
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol

TABLO LİSTESİ**Sayfa No**

Tablo 2.1.	Bazı hayvansal ve bitkisel yağların yağ asidi bileşimleri (%Ağır.)	5
Tablo 2.2.	Metil ester üretimi, (1970 – 2000).....	13
Tablo 3.1.	Mısır asidik yağının özellikleri.....	21
Tablo 3.2.	Gaz kromatografisi analiz koşulları.....	21
Tablo 3.3.	Mısır asidik yağının, yağ asidi bileşimi ve yağ asidi ortalama molekül ağırlıkları.....	21
Tablo 3.4.	Üç kademeli uygulanan enzimatik esterleşme reaksiyonunda oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g, yağ asidi/ alkol mol oranı: 3/1, 3/1, 3/ 2, enzim miktarı yağın %15'i, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık 30 °C).....	40
Tablo A.1.	Mısır asidik yağının çözücüsüz ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; yağ asidi / alkol mol oranı : 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C).....	45
Tablo A.2.	Mısır asidik yağının çözücülü ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşimini zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; yağ asidi / alkol mol oranı: 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C; n – hegzan : 25 mL).....	45
Tablo A.3.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı :5g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi /alkol mol oranı: 1/0.25; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	46
Tablo A.4.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı :5g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi /alkol mol oranı: 1/0.5; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	46
Tablo A.5.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı :5g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi /alkol mol oranı: 1/1; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	46

Tablo A.6.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi / alkol oranı; 1/2; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	47
Tablo A.7.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %10 u, yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0,5; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C, moleküler elek : 0.1 g).....	47
Tablo A.8.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %5 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	47
Tablo A.9.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5g, enzim miktarı: yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5;n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	48
Tablo A.10.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %20 si, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5;n – hegzan: 25 mL; sıcaklık: 50 °C).....	48
Tablo A.11.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5;n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 20 °C).....	48
Tablo A.12.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı : yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5;n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 30 °C).....	49
Tablo A.13.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı : yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5;n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 40 °C).....	49
Tablo A.14.	Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı : yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5;n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 60 °C).....	49
Tablo A.15.	Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1:/0,5, alkol: n- Propanol; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 30 °C).....	50

Tablo A.16.	Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: n- Bütıl Alkol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 30°C).....	50
Tablo A.17.	Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: izo- Bütıl Alkol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 30 °C).....	51
Tablo A.18.	Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi /alkol mol oranı: 1/0,5, alkol: n- Amil Alkol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 30°C).....	51
Tablo A.19.	Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi /alkol mol oranı: 1/0,5, alkol: izo- Amil Alkol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:30 °C).....	52
Tablo A.20.	Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi /alkol mol oranı:1/0,5; alkol:Oktanól;n–hegzan:25ml; sıcaklık:30°C).....	52

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 2.1** : Metil esterlerin üretimi ve kullanım alanları..... 12
- Şekil 3.1** : Mısır asidik yağının çözücüsüz ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşimini zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi / metanol mol oranı : 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C)..... 25
- Şekil 3.2** : Farklı yağ asidi / metanol mol oranlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı : yağın %10 u; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık : 50 °C)..... 25
- Şekil 3.3** : Farklı yağ asidi / metanol mol oranlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı : yağın %10 u; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık : 50 °C)..... 26
- Şekil 3.4** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.25; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 27
- Şekil 3.5** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 27
- Şekil 3.6** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/1; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 28
- Şekil 3.7** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/2; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 28
- Şekil 3.8** : Farklı enzim miktarlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı :5g; yağ asidi/metanol oranı; 1: 0.5; n – hegzan : 25 mL, sıcaklık: 50 °C)..... 29

- Şekil 3.9** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %10'u; moleküler elek: 0.1 g; n – hegzan: 25 mL; sıcaklık: 50°C)..... 30
- Şekil 3.10** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %5'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 31
- Şekil 3.11** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 31
- Şekil 3.12** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %20'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)..... 32
- Şekil 3.13** : Farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5g, yağ/alkol oranı: 1 / 0.5, enzim miktarı : yağın %15'i, n – hegzan : 25 mL)..... 33
- Şekil 3.14** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :20 °C)..... 33
- Şekil 3.15** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :30 °C)..... 34
- Şekil 3.16** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :40 °C)..... 34
- Şekil 3.17** : Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :60 °C)..... 35
- Şekil 3.18** : Farklı alkollerle gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g, yağ asidi/alkol mol oranı:1/0.5, enzim miktarı: yağın %15'i, n – hegzan : 25 mL, sıcaklık:30 °C)..... 36

- Şekil 3.19** : Mısır asidik yağının farklı alkol cinsleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi/ alkol oranı; 1:0,5, alkol: Propanol, n– hegzan : 25 mL, sıcaklık: 30 °C)..... 36
- Şekil 3.20** : Mısır asidik yağının farklı alkol cinsleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1:0,5, alkol: n- Bütanol, n – hegzan : 25 mL, 30 °C)..... 37
- Şekil 3.21** : Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı : yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0,5, alkol: izo- Bütanol, n – hegzan : 25 mL, sıcaklık :30 °C)..... 37
- Şekil 3.22** : Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: n- Amil Alkol, n – hegzan : 25 mL, sıcaklık :30 °C)..... 38
- Şekil 3.23** : Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi/ alkol mol oranı; 1:0,5, alkol: izo- Amil Alkol n – hegzan : 25 mL, sıcaklık :30 °C)..... 38
- Şekil 3.24** : Mısır asidik yağının farklı alkol cinsleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı:5 g, enzim miktarı: yağın %15 i; yağ asidi /alkol oranı; 1/0,5, alkol: Oktanol n – hegzan : 25 mL, sıcaklık: 30°C)..... 38

MISIR ASİDİK YAĞININ ENZİMATİK ESTERLEŞMESİ İLE YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN ÜRETİMİ

ÖZET

Yağ asidi esterleri; sabun, kozmetik, gıda, plastik, ilaç gibi pek çok kimyasal endüstrilerde ve biodizel üretiminde hammadde veya ara ürün olarak kullanılan önemli, ticari yağ kimyasallarıdır. Günümüzde kimyasal katalizörlerle, yüksek sıcaklık ve basınçta, esterleşme ve transesterifikasyon reaksiyonları ile üretilen yağ asidi esterleri; mikrobiyal lipaz teknolojisi ile ılımlı koşullarda, buna bağlı olarak düşük enerji tüketimiyle, termal bozunmaya uğramadan ve saflaştırmaya gerek olmadan üretilmektedir.

Bu çalışmada, yağ sanayii yan ürünü olan mısır asidik yağının, Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı varlığındaki enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Çeşitli toplam yağ asidi/ metanol mol oranı, enzim miktarı ve sıcaklık değerleri ile n- hegzan ortamında 1.5 saat yürütülen esterleşme reaksiyonları sonucunda, mısır asidik yağının Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı varlığındaki enzimatik esterleşme reaksiyonu için optimum koşullar; toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/0.5, sıcaklık: 30°C, ve enzim miktarı: asidik yağın % 15'i olarak belirlenmiştir.

Alkol cinsinin enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisinin belirlenmesi amacıyla C1-C8 düz ve dallanmış zincirli alkoller ile yürütülen reaksiyonlar, zincir uzunluğunun artmasıyla reaksiyonun başlangıç hızının da arttığını, bununla birlikte, zincir üzerindeki dallanmanın ürünün ester içeriğini azalttığını göstermiştir. Esterleşme dönüşümünü arttırmak amacıyla, belirlenen optimum koşullarda üç kademeli olarak yürütülen esterleşme reaksiyonu sonunda da, ürünün ester içeriğinin % 50,08'den % 75,51'e yükselmesi sağlanmıştır. Ayrıca Novozym 435 lipazının serbest yağ asitlerine (SYA), triaçilgliserollere (TAG) oranla daha seçici olduğu ortaya konmuştur.

THE PRODUCTION OF FATTY ACID ESTERS BY ENZYMATIC ESTERIFICATION OF CORN ACID OIL

SUMMARY

Fatty acid esters are important commercial oleochemicals which have wide applications in many chemical industries like soap, cosmetics, food, plastics, pharmaceuticals and biodiesel production as raw materials or intermediates. At present, the production of fatty acid esters is performed by esterification or transesterification reactions with chemical catalysts at high temperature and pressure, but they can also be produced efficiently by microbial lipase technology under mild reaction conditions leading to reduced energy consumption without thermal dissociation and purification processes.

In this study enzymatic esterification reaction of corn acid oil using lipase from *Candida Antarctica* (Novozym 435) was investigated. The enzymatic esterification reactions were carried out in n-hexan with different fatty acid/ methanol mol ratio, enzyme amounts and temperature. As a result, the optimum conditions were determined as follows; total fatty acid/methanol: 1/0.5, amount of enzyme: 15% (wt.) of acid oil, temperature: 30°C.

Enzymatic esterification reactions which were conducted with C1-C8 straight and brunched chain alcohols to determine the effect of alcohol type on the reaction, showed that the initial esterification rate increased by the increase of alcohol chain length. In the esterification reactions of corn acid oil with straight-chain alcohols, the ester yields were hgher than those of the reactions carried out with branched-chain alcohols. Three steps batch esterification reaction was conducted under optimum conditions to provide high esterification conversions and the ester yield of product was increased from % 50,03 to % 75,61(wt/wt). On the other hand, it is exposed that Novozym 435 showed more selectivity to free fatty acids (FFA) than triachylglycerols (TAG).

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikrobiyal lipaz teknolojisi; kimyasal yöntemlere alternatif olarak, yağların ve yağ endüstrisi yan ürünlerinin değerlendirilmesinde ve endüstriyel kullanıma sunulmasında etkili ve önemi gittikçe artan bir teknolojidir. Kimyasal yöntemlerle yüksek sıcaklık ve basınçta gerçekleştirilen esterleşme, hidroliz ve alkoliz reaksiyonlarının mikrobiyal lipazlarla katalizlenmesiyle, çok daha düşük sıcaklık ve basınçta gerçekleşmesi ve yüksek verimle elde edilen ürünlerin termal bozunmaya uğramasının engellenmesi mümkün olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, biyoteknolojik yöntemler uygulanarak yağ endüstrisi ürünlerinden, ticari bakımdan önemli yağ asitleri ve esterler başta olmak üzere yağ kimyasallarının üretimi daha kolay ve düşük maliyetle gerçekleştirilmektedir.

Asidik yağlar, yağ sanayinde uygulanan alkali rafinasyonunda açığa çıkan başlıca yan üründür. Genellikle koyu renkli olan asidik yağlar, ağırlıkça % 40 – 80 serbest yağ asidi, % 20 – 25 oranında nötral gliserid, sabunlaşmayan maddeler ve yağın bileşiminde bulunan diğer safsızlıkları içeren kompleks bileşiklerdir. Günümüzde düşük kaliteli sabunların üretiminde kullanılan asidik yağlar, kimyasal kompozisyonları itibariyle ilaç, kozmetik ve diğer kimyasal endüstrilerin gerksinimini karşılamada çok önemli potansiyel hammaddelerdir [1].

Esterleşme ve iç esterleşme (transesterifikasyon) reaksiyonları yağ asitleri ve türevlerinin üretiminde en yaygın olarak kullanılan reaksiyonlardır. İçerdikleri serbest yağ asidi miktarı yüksek olan asidik yağlar bahsedilen reaksiyonlar için önemli bir başlangıç maddeleridir. Buna karşın literatürde bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağların enzimatik esterleşme reaksiyonları üzerine yapılmış pek çok araştırma olmasına rağmen, asidik yağların enzimatik esterleştirilmesi konusunda sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Esterleşme ve transesterifikasyon reaksiyonları sonucu üretilen değişik yapı ve özellikteki yağ asidi esterleri, çok sayıda kimyasal endüstride hammadde olarak kullanılmaktadır. Yağ asidi esterleri başlıca kozmetik, sabun, ilaç, kauçuk, plastik endüstrilerinde, termosetling reçine üretiminde ve kaplama sistemlerinde kullanılmaktadır. Kısa zincirli yağ asidi esterleri ise sentetik

yağ ve gıda sanayinde tatlandırıcı ve hoş koku veren katkı maddesi olarak yaygın kullanım alanı bulmaktadır [2]. Belirtildiği gibi son derece geniş kullanım alanına sahip değerli ürünler olan yağ asidi esterlerinin üretiminde ekonomik ve verimli şartlar sağlayan mikrobiyal lipaz teknolojisinin önemi bu noktada açığa çıkmaktadır.

Bu çalışmada yağ sanayii yan ürününün biyoteknolojik olarak değerlendirilmesi amacı ile, mısır asidik yağının Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı varlığında enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Esterleşme reaksiyonu üzerinde etkili olan reaksiyon süresi, alkol / yağ asidi mol oranı, enzim miktarı, sıcaklık ve alkol cinsinin etkisi gibi parametrelerin belirlenmesine çalışılmıştır. Reaksiyonun optimum koşullarının belirlenmesine paralel olarak, üç kademeli, esterleşme reaksiyonu ile yüksek dönüşüm verimi amaçlanmıştır.

2. TEORİK ÇALIŞMA

2.1 Yağ Asitleri Hakkında Genel Bilgi

Yağ asitleri, yüksek karbon sayılı doymuş veya doymamış alifatik monokarboksilik asitlerdir. ($C_nH_{2n+1}COOH$ veya $C_nH_{2n-a}COOH$ $a=1, 3, 5$ v.b) Doğada bitkisel ve hayvansal kaynaklarda en fazla rastlanan yağ asitleri, 8-18 karbon atomlu (çift karbon sayılı) doymuş ve doymamış yağ asitleri karışımlarıdır. Doymuş yağ asitlerinin en çok rastlanan örnekleri kaprilik, kaprik, laurik, miristik, palmitik ve stearik asitler iken en çok rastlanan doymamış asitlere örnek olarak ise oleik, linoleik, risinoleik ve erusik asitler verilebilir.

Saf yağ asitlerinin kaynama noktası, erime noktası, yoğunluk, refraksiyon indeksleri gibi fiziksel özellikleri molekül ağırlığına, yapıya, doymamışlık derecesine, içerdiği diğer fonksiyonel gruplara bağlı olarak değişir [3,4].

Doymuş yağ asitlerinin erime noktaları karbon sayısının artmasıyla artar. Çift karbon sayılı doymuş yağ asitleri, tek karbon sayılı olanlara göre daha yüksek erime noktasına sahiptir. Bu durum, çift karbon sayılı asitlerin daha simetrik kristal yapıya sahip olmasından kaynaklanır. Doymamışlık derecesinin ise erime noktasını önemli ölçüde düşüren bir etkisi vardır. Örneğin tek çift bağ içeren doymamış yağ asidinin erime noktası aynı karbon sayılı doymuş yağ asidinin erime noktasından daha düşük, aynı şekilde birden fazla çift bağ içeren doymamış yağ asidinin erime noktası aynı karbon sayılı ve bir tane çift bağ içeren doymamış yağ asidinin erime noktasından daha düşüktür [3,4].

Yağ asitlerinin kaynama noktaları molekül ağırlığının artmasıyla artar. 300 °C nin üstündeki sıcaklıklarda yağ asitleri hızla bozulduğundan laurik asitten büyük asitleri atmosfer basıncında destile etmek mümkün değildir. Metil esterlerin kaynama noktaları ise oluştukları yağ asitlerinkinden yaklaşık 30 °C daha düşüktür [3,4].

Genel olarak yağ asitlerinin viskozitesi molekül ağırlığının artmasıyla artar. Metil esterler oluştukları yağ asitlerinden daha düşük viskoziteye sahiptirler. Doymamış

yağ asitlerinin viskoziteleri ise aynı karbon sayılı doymuş yağ asitlerine göre biraz daha düşüktür [3,4].

Yağ asitlerinin saflığının bir ölçüsü olarak kullanılan refraksiyon indisi de, doymuş yağ asitlerinde molekül ağırlığının artmasıyla artar. Doymamışlık derecesinin artışı da refraksiyon indisinde bir artışa neden olur. Özellikle konjuge doymamışlığın refraksiyon indisinin artmasında önemli bir rolü vardır [3,4].

Suyun yağ asitlerindeki çözünürlüğü (68,7 °C de stearik asit için % 0,92) yağ asidinin sudaki çözünürlüğünden (20 °C de stearik asit için % 0,0003) daha büyük olup, bu çözünürlük sıcaklığın artmasıyla artar. Yağ asitlerinin sahip oldukları doymamışlık dereceleri bu asitlerin çözücülerdeki çözünürlük oranlarının artmasına neden olur. Doymuş ve doymamış yağ asitleri arasındaki çözünürlük farkları bu asitlerin birbirinden ayrılmasında kullanılır [3,4].

Günümüzde endüstriyel olarak üretilen yağ asitleri kaynaklarına göre üç grupta toplanır [3,4].

- 1- Bitkisel ve hayvansal yağlardan üretilen yağ asitleri
- 2- Sülfat prosesine göre kağıt üretimi sırasında yan ürün olarak ele geçen tall yağından üretilen yağ asitleri
- 3- Petrol kökenli sentetik yağ asitleri

Yağ asitleri bitkisel ve hayvansal kaynaklardan presleme ve çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağların hidrolizi ile elde edilmektedir. Tablo 2.1.' de yağ asidi üretiminde kullanılan bazı hayvansal ve bitkisel yağların yağ asitleri bileşimi verilmiştir [5].

2.2 Yağ Asitlerinin Direkt Esterleşmesi

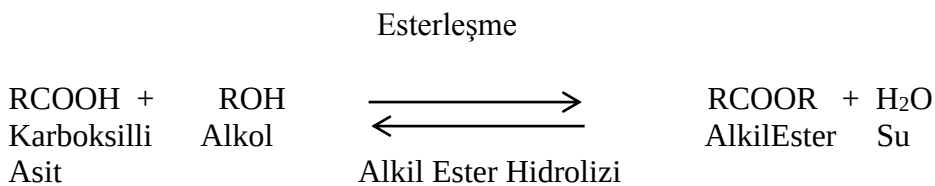
Genel anlamda esterleşme reaksiyonları, bir karboksilli asit ile alkolün ürün olarak ester ve su verecek şekilde yaptıkları tersinir bir reaksiyondur. Hidroliz reaksiyonun tersi olarak da tanımlanabilir. Esterler, yağ asitlerinin monohidrik, polihidrik alkoller, etilen veya propilenoksid, asetilen veya vinil asetat ile reaksiyon sonucu oluşabilirler [2,6].

Tablo 2.1. Bazı Hayvansal ve Bitkisel Yağların Yağ Asidi Bileşimleri (%Ağırl.) [5].

Yağ asitleri	Karbon Sayısı	Pamuk Tohumu Yağı	Mısır Yağı	Soya Yağı	Hint Yağı	Hindistan Cevizi Yağı	Palm Yağı	Palm Çekirdeği Yağı	Tall Yağı	Domuz Yağı
Kaproik	C6					0,5		0,3		
Kaprilik	C8					7,5		3,9		
Kaprik	C10					7		4		
Laurik	C12					48		49,6		0,5
Miristik	C14	1,0				16,5	1	16		1,5
Palmitik	C16	25	11,5	10,5	1	8	47	8		26
Palmitoleik	C16:1	1				1				4
Stearik	C18	3	2	3	1	4	4	2,4	2	13,5
Dihidroksisterarık	C18				1,5					
Oleik	C18:1	17	26,5	22,5	3	5	37,5	13,7	59,5	43
Risinoleik	C18:1				89					
Linoleik	C18:2	53	59	54,5	4	2,5	10	2	37	9
Linolenik	C18:3			8,5		1				0,5
Arachidic	C20				0,5				0,5	
Araşidonik	C20:1			1			0,5		0,5	1

2.2.1 Yağ Asitlerinin Monohidrik Alkoller ile Esterleşmesi

Yağ asitlerinin monohidrik alkoller ile esterleşmesi aşağıda belirtilen mekanizma üzerinden yürür. Esterleşmede kullanılan temel monohidrik alkoller; Metanol, 1-Propanol, 2- Propanol ve 1- Bütanoldür [2,6].

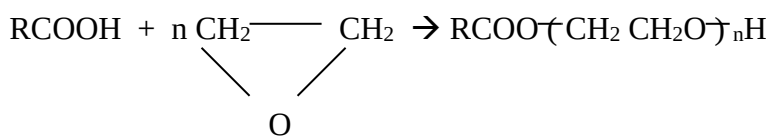


Reaksiyon genelde % 1-3 H₂SO₄ veya HCl katalizörlüğünde gerçekleşir. Esterleşme bir denge reaksiyonudur, dengenin sağ tarafa kayması esterleşme verimini arttıracaktır. Kısa zincirli alkollerle gerçekleştirilen reaksiyonlarda, Alkol / yağ asidi mol oranları: 10-20/1 olacak şekilde esterleşme başlatılır. Alkol fazlası nedeniyle denge sağa kayar. Yağ asitlerinin monohidrik alkollerle yaptıkları esterleşme reaksiyonu %95'den büyük dönüşüm verimi ile gerçekleşir. Orta zincirli alkollerle örneğin; hegzil alkolle gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarında asit ve alkolün stokiyometrik oranları kullanılabilir. Su, toluen veya ksilen ile azeotropik destilasyonla uzaklaştırılır. Uzun zincirli alkollerle gerçekleştirilen reaksiyonlarda ise su azeotropik destilasyon veya vakumla uzaklaştırılır. Monohidrik alkollerin esterleri sıklıkla plastik ve kozmetik endüstrisinde kullanılırlar [2].

1879 – 1883 yılları arasında Menshutkin alifatik asitler ile alkollerin esterleşme reaksiyonlarında en yüksek reaksiyon hızı ve dönüşümün primer > sekonder > tersiyer alkoller sırasında gerçekleştiğini ortaya koymuştur. Ayrıca asitlerin esterleşmesinde ulaşılan limit değer, asidin molekül ağırlığının artmasıyla yükselmektedir. Buna karşın, asitte dallanmış zincir yapısı ve dallanma sayısı ile doymamışlık derecesindeki artış, sadece reaksiyon hızını düşürürken, bu asitlerin esterleşme limitleri düz zincirli asitlere göre daha yüksektir [3].

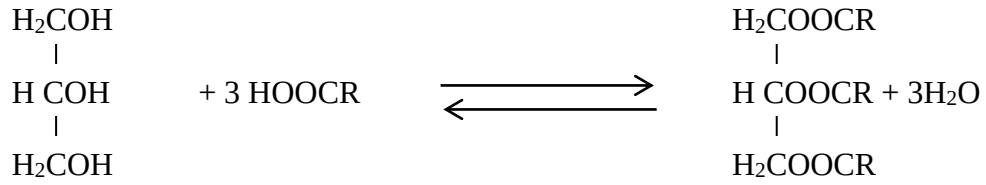
2.2.2 Yağ Asitlerinin Polihidrik Alkoller ile Esterleşmesi

Esterleşme reaksiyonlarında kullanılan önemli polihidrik alkoller; etilen, propilen, dietilen, polietilen glikoller, gliserol, pentaeritrol ve bazı karbonhidratlardır. Poliollerle esterleşme basit alkollere oranla daha kompleks bir reaksiyondur. Sıcaklık 230- 235°C'de olmalıdır, 235°C'nin üstündeki sıcaklıkta polioller parçalanarak etlere ayrılır. Monoester ve diester oluşturmak için glikol ve yağ asidi stokiyometrik oranlarda reaksiyona sokulmalıdır. İstenmeyen ürün olarak oluşan suyun uzaklaştırılması azeotropik destilasyon ve vakumla yapılabilir. Monoesterler tercihan yağ asidi ile etilen veya propilen oksidin esterleşme reaksiyonu ile üretilir. Reaksiyon oluşum mekanizması aşağıda verilmiştir [2,6].



Glikol diesterleri vinil plastikleyicilerde, monoesterler ise yüzey aktif madde ve alkid reçineleri için viskozite ayarlayıcı olarak kullanılırlar [2].

Yağ asitleri ile gliserolün reaksiyonu sonucunda mono-di-ve triaçilgliserollerden oluşan kompleks bir ürün açığa çıkar. İstenilen bileşimlerdeki triaçilgliseroller, yağların hidrolizi ile açığa çıkan ve fraksiyonlu distilasyon ile saflaştırılan yağ asitlerinin, gliserol ile esterleşme reaksiyonu sonucunda elde edilirler. Bu ürünlerin gıda sanayiinde katkı maddelerinden, endüstriyel emülgatörlere kadar çok geniş kullanım alanları vardır. Gliserol ve yağ asitlerinden uygun koşullarda kullanım amacına göre mono-,di- ve triaçilgliseroller üretilebilir. Yağ asitleri ile gliserolün esterleşme reaksiyonu ile homotrigliserollerin oluşumu basit bir ifade ile aşağıdaki gibidir. [7]



Gerçekte reaksiyon monoaçilgliserollerin oluşumuyla başlarken bu adımı diaçil gliserol sentezi izler ve sonuçta mono- ve diaçil gliserollerin triaçil gliserol oluşumu yönündeki esterleşmesiyle tamamlanır. Ancak bu üçlü karışım gliserol yağ asidiyle reaksiyona girdiğinde esterleşme koşullarına bağlı olarak meydana gelir. [7]

2.3 Yağların İnteresterleşme (İç Esterleşme) Reaksiyonları

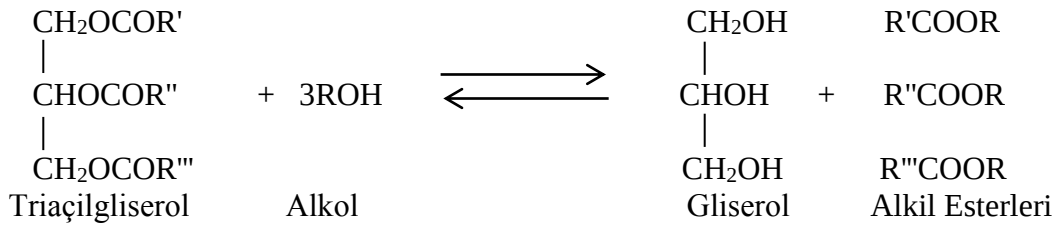
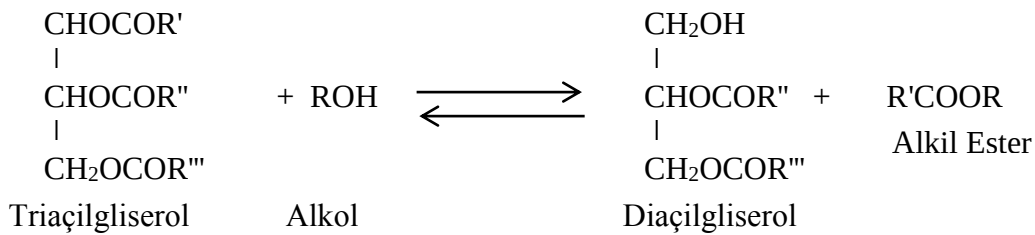
Direkt esterleşme reaksiyonları dışında uygulama alanları olan interesterifikasyon reaksiyonları; ester ve değişik bileşikler arasında farklı bir ester oluşumuyla sonuçlanan alkoksi veya açıl grupların karşılıklı değişimiyle karakterize edilen reaksiyonlar olarak tanımlanabilir. İnteresterleşme reaksiyonları üç grupta toplanır. Bunlar esterin bir alkol, bir asit ve bir ester ile etkileşimi olan ve sırasıyla alkoliz, asidoliz, transesterleşme (ester değişimi) olarak adlandırılan geri dönüşümlü reaksiyonlardır [2]. Asidik yağların önemli bileşenlerinden biri de triaçil gliseroller olduğu için bu reaksiyonlarda sadece alkoliz açıklanacaktır.

2.3.1 Alkoliz

Uzun zamandır bilinen ve çoğunlukla sıvı fazda gerçekleşen ve genel ifadesi aşağıda görülen alkoliz reaksiyonları dört ana grupta toplanır [7].

- Monoester ve monohidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar
- Monoester ve polihidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar
- Poliester ve monohidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar
- Poliester ve polihidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar

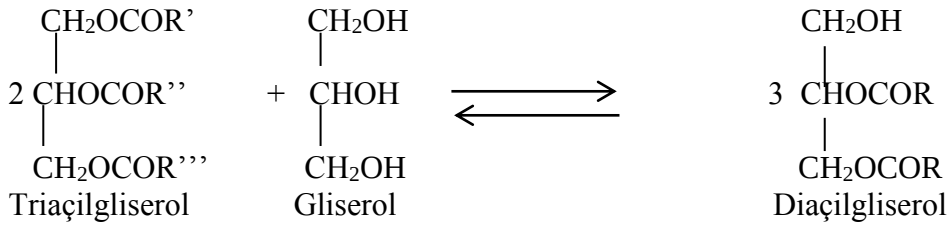
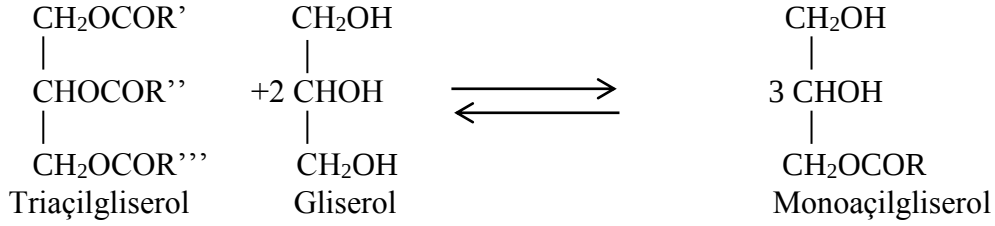
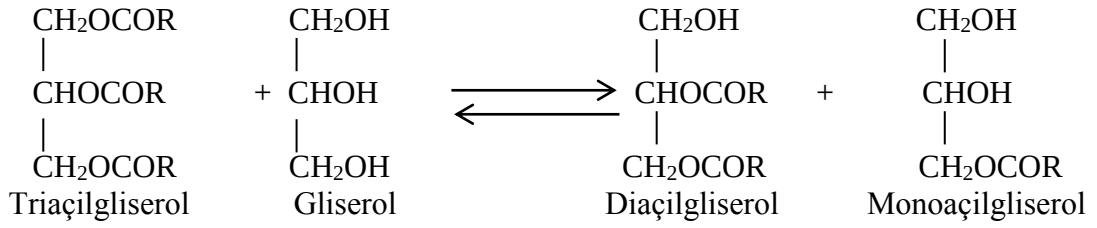
Triaçilgliserollerin alkoliz reaksiyonlarında farklı alkol oranlarının kullanılmasıyla değişik bileşimde ürünler elde edilebilir [6].



Reaksiyon özel bir alkolle gerçekleştirildiğinde o alkolün adı ile tanımlanır. Metanoliz, etanoliz; metil ve etil alkollerle yürütülen reaksiyonları ifade eder [7].

Alkoliz genellikle katalizör varlığı altında, alkol fazlasıyla geniş bir sıcaklık aralığında yapılır. Alkali katalizörlerle (sodium, potasyum alkoksit) reaksiyon oda sıcaklığında veya altında, asit katalizör (sülfürik asit, sulfonic asit) kullanıldığında 100°C civarında yürütülürken katalizörün olmadığı bir ortamda 250°C veya daha yüksek sıcaklıklarda yürütülür [2].

Alkolizin özel bir çeşidi olan gliseroliz reaksiyonları yağlar ile gliserol arasında gerçekleşir. Markley'e göre gliserol ve triaçil gliserol molekülleri arasında çok çeşitli reaksiyonların oluşumu mümkündür. Aşağıdaki reaksiyonlara göre triaçil gliserolün 1 mol'ü 1/2 , 1 veya 2 mol gliserol ile, hem mono- hem de diaçil gliserollerin ya da her ikisinin de farklı oranlarda üretimi için reaksiyona girebilir [7].



2.4 Yağ Asidi Esterlerinin Önemli Özellikleri ve Kullanım Alanları

Yağ asidi esterleri Bölüm 2.2 'de anlatıldığı gibi, yağ asitlerinin alkollerle olan reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Esterler yapısal özellikleri nedeniyle geniş kullanım potansiyeline sahip, dünyada üretilmesi ve tüketilmesi hızla artan önemli yağ kimyasallarıdır. Temel özellikleri ve bu özelliklere dayanan kullanım alanları aşağıda belirtilmiştir [8].

1. **Reaktif bölgeler:** Doymamış yağ asitlerinin çiftbağları gibi reaktif bölgeler, esterleri bir çok kimyasal sentezde kullanımlarına olanak sağlar. Doymamış esterler epoksidasyon ile polimer katkı maddesi veya sülfürizasyon ile makine yağı katkı maddesi olarak kullanılabilen bileşiklere dönüştürülebilirler. Metil esterler ise α - süfonasyon reaksiyonu ile deterjan endüstrisinde yüzey aktif madde olarak sıklıkla kullanılır.
2. **Polarlık ve yağlayıcı olarak kullanımı:** Esterlerin polarlığı, viskozitesinin sıcaklıkla değişiminin az oluşu nedeniyle plastiklerde iç ve dış yağlayıcı olarak kullanılması mümkün olmaktadır. Film oluşturabilme özellikleriyle

esterler makine yağlarında katkı maddesi olarak kullanılır. Yumuşatıcı özellikleri ise kozmetik endüstrisinde değerlendirilmektedir.

3. Yüzey aktif madde olarak kullanımı: Esterler lipofilik ve hidrofilik kısımlarının oluşturulmasıyla yüzey aktif madde olabilme özelliğini kazanırlar. Bu özellikleri yağ asidi esterlerinin, kozmetik, margarin, tekstil ve tarım endüstrilerinde kullanılmasını sağlar.
4. Sindirilme Özellikleri: Uzun zincirli triaçilgliseroller, doğal yağ esterleridir. Orta zincirli triaçilgliserollerin ($C_6 - C_{12}$), özel metabolik davranışları vardır; daha kolay hidroliz olarak, uzun zincirli triaçilgliserollerini sindirip absorbe edemeyenlerde enerji kaynağı olarak kullanılırlar. Bir diğer örnek ise düşük kalorili diyetle kullanılan özel şeker esterleridir.
5. Eko-Güvenilirlik: Yağ asidi esterlerinin çevreye dost oluşu piyasada gelişiminin önde gelen sebeplerindendir. Isıya dayanıklı yağ esterleri orman mühendisliğinde ve tarımda güvenle kullanılırlar. Ester ve türevleri, çamaşır yumuşatıcıların içinde bulunan ve ciddi bir eko-toksik olan kuarter amonyum klorürün yerine bir alternatif olarak düşünülmelidir.
6. Toksik olmayışı: Yağ asidi esterlerinden izopropil miristat ve izooktil stearat bu özellikleriyle kozmetik endüstrisinde yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde emülgatör olarak kullanılmaktadır. Amerika gıda ve ilaç örgütü, bazı ester emülgatörleri, günlük ve limitsiz kullanılabilen maddeler sınıfına almıştır.

Yukarıda temel özellikleri ve bu özelliklerine göre kullanım alanları verilen yağ asidi esterleri pek çok kimyasal endüstride, özelliklerine uygun olarak kullanım alanı bulabilmektedir. Aşağıda ticari önemi olan esterler ve kullanıldıkları sektörler verilmiştir [2,9].

Reçine, plastik ve kaplamalarda kullanılan yağ asidi esterleri: Ticari olarak kullanılan birçok polimerik maddenin üretimi esterlere dayanmaktadır. Akrilatlar, methakrilatlar, vinil asetat gibi doymamış esterlerden vinil polimerler üretilmektedir. Yüksek çözücü gücünden dolayı etil, izopropil, bütül, izobütül, amil ve izoamil asetatlar; selüloz nitrat ve diğer vernikli kaplama tiplerinde kullanılmaktadır. Dialil ftalat alil termosetil reçinelerini elde etmek için kullanılan monomerdur [2,9].

Yağlayıcı olarak kullanılan yağ asidi esterleri: Günümüzde bitkisel ve hayvansal yağlar petrol hidrokarbonlarının yerini almaktadır. Sıcaklıkla viskozite değişiminin az oluşu nedeniyle neopentil poliol esterleri, turbo jet motor yağı olarak petrol ürünlerinin yerine kullanılmaktadır [2,9].

Kozmetik, gıda, ve sabun endüstrilerinde kullanılan yağ asidi esterleri: Bu alanda ester kullanımı plastik sektörüne kıyasla daha düşüktür, ama ekonomik ve estetik özellikleri göz ardı edilemez. Bütirat, izobütirat, izovalerat, kaprolat ve kaprilatlar tatlandırıcı olarak kullanılır. Ayrıca etil, amil ve geranil bütirat parfümeride kullanılır [2,9].

İlaç Endüstrisinde kullanılan yağ asidi esterleri : Fiziksel olarak inert yapıda olmalarına rağmen esterler ilaç yapımında yaygın olarak kullanılır. Lokal anestezi madde olan benzokain; p-aminobenzoik asitlerin etil esterleridir. Ayrıca izoamil ve metil valeratlar ve stearatlar, salisilatlar bu sektörde kullanılmaktadır [2,9].

2.5 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Ticari Önemi ve Kullanım Alanları

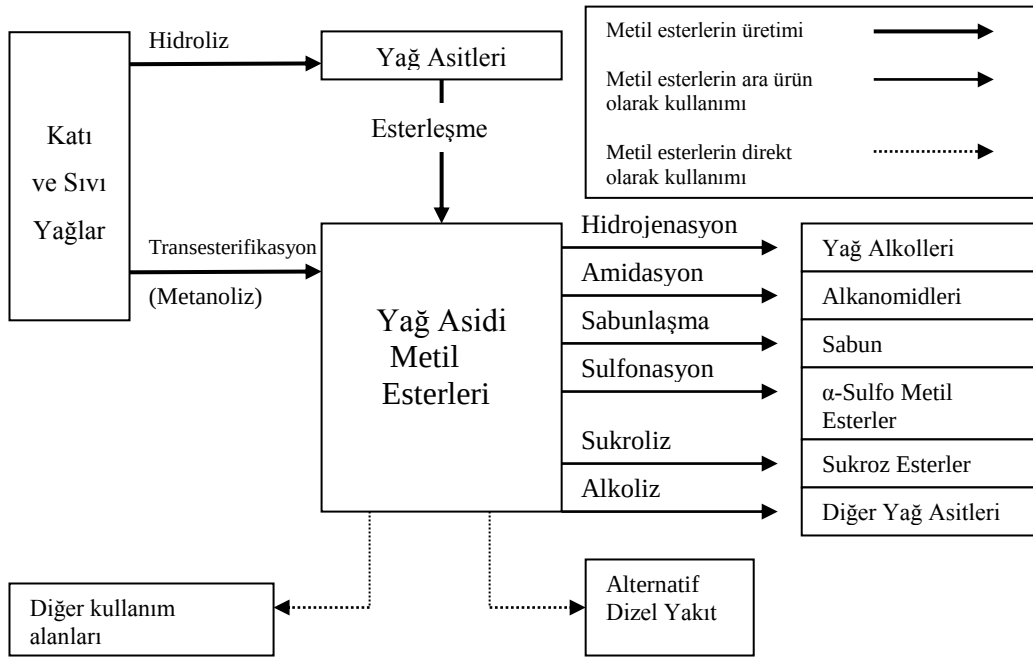
Yağ asidi metil esterleri yağ kimyasalları endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Metil esterleri, yağ kimyasalların üretimi için başlangıç maddesi olarak kullanılan yağ asitlerinin yerini hızla almaktadır. Yağ asitlerinin yerine kullanılması metil esterlerin aşağıda belirtilen avantajlarından kaynaklanmaktadır [10].

1. Düşük enerji tüketimi: Metil esterlerin üretimi yağ asitlerine oranla daha düşük sıcaklık ve basınçta dolayısıyla düşük enerji maliyeti ile gerçekleşir.
2. Düşük maliyetli proses sistemi: Metil esterler korozyon olmalarını ve düşük sıcaklık ve basınçta üretilmeleri nedeniyle karbon çelikten yapılmış proses sistemlerinde üretilirler. Buna karşın, yağ asitleri korozyon yapıdadır, daha yüksek maliyetli paslanmaz çelikten yapılmış sistemlerde üretilirler.
3. Yan ürün olarak derişik gliserol eldesi: Transesterifikasyon sonucu elde edilen gliserol su içermez. Yağ asitlerinin üretimiyle açığa çıkan gliserol % 80 oranında su ile karışım halindedir. Suyun uzaklaştırılması ek maliyete neden olmaktadır.

4. Bazı kimyasal uygulamalarda ara ürün olarak üstünlüğü: Alkanoamidlerin üretiminde metil esterler % 90 saflıkta süperamid üretimini sağlarken , yağ asitlerinde bu oran %65-70 civarında kalmaktadır.
5. Fraksiyonlu destilasyonla daha kolay ayrılması: Metil esterler düşük kaynama noktasına sahiptir, ayrılması gereken durumlarda daha kolay distile edilirler.

Aktarım kolaylığı: Kimyasal kararlılıkları ve korozif olmamaları nedeniyle metil esterler yağ asitlerine göre daha kolay taşınırlar [10].

Metil esterlerin direkt olarak kullanımı azdır, genellikle ara ürün üzerinden değerli yağ kimyasallarının sentezinde kullanılır. Şekil 2.1.de Metil esterlerin üretimi ve kullanımları verilmiştir [5].



Şekil 2.1. Metil esterlerin üretimi ve kullanım alanları [5].

Dünyada, metil esterlerin, endüstriyel boyutta pek çok yağ kimyasalları için yağ asitlerinin yerine tercih edilmesi ve yeni uygulamalarının geliştirilmesi nedeniyle üretimi ve tüketimi hızla artmaktadır. 1970 – 2000 yılları arasında dünyada metil ester üretimleri Tablo 2.2’de verilmiştir [5].

Tablo 2.2 Metil ester üretimi, 1970 – 2000 (1000 MT)

Ülke	1970	1988	1995	2000
Amerika	-	110	175	190
Batı Avrupa	-	180	215	240
Asya	-	70	180	200
Diğerleri	-	20	25	30
Toplam	180	380	595	660

2.6 Yağ Asidi Metil Esterlerinin Endüstriyel Üretimi

Metil esterlerin üretimi iki şekilde yapılmaktadır;

1. Yağların parçalanmasıyla oluşan yağ asitlerinin esterleşmesi ile üretimi
2. Yağların transesterifikasyonu ile direkt üretimi

Endüstride metil ester üretimi bu iki yönteme dayanarak, sürekli veya kesikli sistemlerde gerçekleştirilir. Bu bölümde özel yağ asitlerinden metil ester üretiminde en çok tercih edilen yol olan esterleşme yöntemi üzerinde durulacaktır [10].

Tank tipi kesikli sistemlerde metil esterler 200- 250°C’de yüksek basınç altında üretilir. Suyun ortamdan uzaklaştırılması ile yüksek dönüşüm oranları elde edilir. Henkel ikili reaksiyon kolonları kullanarak ters akımlı sürekli esterleşme geliştirmiştir. Bu prosesde aşırı ısıtılmış metanol buharının absorpsiyonu ve esterleşme reaksiyonu aynı anda gerçekleşir. Henkel’in sürekli prosesi 1000 kPa basınçta ve 240 °C’de gerçekleşmektedir. Sürekli yöntemde metanol/yağ asidi oranının 1.5/ 1 mol oranında tutulmuş olması tank tipi yöntemine göre avantaj oluşturmaktadır. Tank tipinde bu oran 3-4/ 1 ‘dir. Sürekli yöntemle elde edilen metil esterlerin destilasyondan sonra daha ileri saflaştırmalarına gerek yoktur, ayrıca metanol fazlası da tekrar kullanılabilir. Sürekli prosesin bir üstünlüğü de daha kısa zamanda aynı miktarda metil ester elde edilmesi ve daha az metanol kullanılmasıdır [10].

2.7 Enzimatik Esterleşme Reaksiyonları

Lipazların biyoteknolojik proseslerde kullanımı, kimyasal sentezlerle üretilmeyen, ticari değeri yüksek spesifik ürünlerin eldesi için en uygun ve en ekonomik yöntem olarak görülür [11].

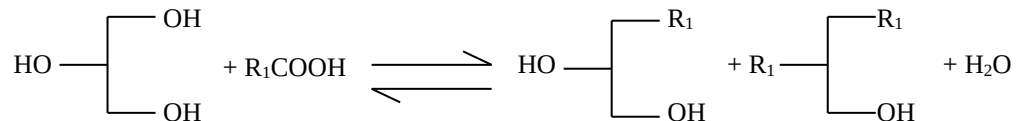
Esterleşme ve içesterleşme reaksiyonlarının, yüksek sıcaklık ve/veya katalizör etkisiyle gerçekleşen reaksiyonlar olduğu ve katalitik etkinin asit veya alkali hidroksitlerle sağlandığı bölüm 2.1 - 2.3 de belirtilmişti. Ancak bu kimyasal katalizör varlığında reaksiyon çok yüksek sıcaklıkta (250-300 °C) uzun sürelerde gerçekleşmekte, ürünün rengi koyulaşmakta, katalizörün ester ürününden ayrılması büyük sorun yaratırken korozif etki de yapmaktadır. Bu yüzden enerji tüketiminin de fazla olması gözönüne alındığında kimyasal katalizör kullanımı hem elde edilen ürün açısından hem de ekonomik açıdan uygun değildir. Son zamanlarda bu proseslerin daha düşük sıcaklık ve basınçta, daha ekonomik olması hedef alınarak enzimatik çalışmalara hız verilmiştir [11].

Lipazlarla katalizlenen reaksiyonların, kimyasal katalizörlerle yürütülen reaksiyonlara göre en büyük avantajı kullanılan lipaza bağlı olarak farklı bileşim ve özelliklere sahip çok çeşitli ürünlerin elde edilebilmesidir. Daha da önemlisi, bu reaksiyonlar düşük sıcaklıklarda ve ılımlı koşullarda gerçekleştiğinden enerji tüketimi azdır ve reaktanlarla ürünlerin termal bozunmaları meydana gelmez [11].

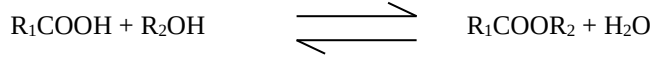
Lipazlarla katalizlenen esterleşme veya transesterifikasyon reaksiyonlarından; etil propionat, izoamil asetat, izobutilasetat gibi kısa ve orta uzunluktaki zincir yapısına sahip, lezzet verici olarak kullanılan esterler, emülgatör olarak kullanılan monoaçilgliseroller ve kozmetik sanayiinde kullanılan vaks esterleri gibi pek çok maddenin üretimi için yararlanılır [11].

Aşağıda lipazlarla katalizlenen tipik esterleşme reaksiyonlarının uygulamaları görülmektedir [11].

1. Kısmi Açılgliserol Oluşumu



2. Düz Zincirli Esterlerin Oluşumu (vaks esterleri plastikleştiriciler, aroma esterleri)



3. Diğer Poliesterlerin Oluşumu



2.8 Çalışmanın Önemi ve Literatürden Örnekler

Daha önce açıklandığı gibi; yağ asidi esterleri, yaygın kullanım alanına ve öneme sahip temel yağ kimyasallarından biridir. Yağ asitlerinin esterleşme ve iç esterleşme reaksiyonları ile oluşan yağ asidi esterleri çok sayıda endüstride hammadde ve ara ürün olarak kullanılmaktadır. Kimyasal yollarla yağ asidi sentezi yüksek sıcaklık ve basınçta gerçekleşmekte, elde edilen ürünün saflaştırma işleminden geçmesi gerekmektedir. Mikrobiyal lipaz teknolojisi kimyasal yöntemlerin sorunlarını ortadan kaldırmakta, ılımlı şartlarda daha ekonomik olarak yağ asidi esterleri üretimini sağlamaktadır. Literatürde yağ ve yağ asitlerinin enzimatik esterleşme reaksiyonu konusunda çok sayıda çalışmaya rastlanırken, asidik yağlarla yapılmış çalışmalar sınırlı sayıdadır. Literatürden seçilen bazı çalışmalar özet olarak aşağıda sunulmuştur.

Ghosh ve Bhattacharya hindistan cevizi, soya, hardal, pirinç kepeği ve ayçiçek asidik yağlarının, C4-C18 alkoller ile Lipozyme IM-20 (*Mucor Miehei*) lipazı varlığındaki eş zamanlı esterleşme ve alkoliz reaksiyonlarını incelemişlerdir. 1 g asidik yağ, 1/1 alkol/ yağ mol oranında alkol ve asidik yağın % 10'u oranında lipaz miktarı ile 60°C'de gerçekleştirdikleri esterleşme reaksiyonunun süresi 4 saattir. Asidik yağın molar konsantrasyonu toplam yağ asidi ekivalen miktarından hesaplanmıştır. 1,3- pozisyon seçici enzim kullanıldığı için sadece serbest asitler ve nötral açilgliserollerin 1. ve 3. pozisyonun daki yağ asitleri eş zamanlı olarak esterleşmiştir. Bu nedenle ester verimi asidik yağın serbest asit ve nötral açilgliserol içeriğine bağlı olmuştur. Örneğin %38 serbest asit içeren ayçiçek yağından C8- C18 alkoller ile % 73-77 alkol dönüşümü sağlanmıştır. Bu çalışmada asidik yağların

mikrobiyal lipaz teknolojisiyle değerlendirilmesinin ekonomik ve verimli olacağı ortaya konmuştur [1].

Gandhi ve Mukherjee yaptıkları çalışmada bitkisel kökenli Papaya (*Carica Papaya*) lipazı ile Novozym 435 (*Candida Antarctica*, Lipase B) ve Lipozyme IM 20 (*Rhizomucor Miehei*) mikrobiyal lipazlarının relatif substrat seçiciliklerini, kaprilat esteri sentezinde incelemişlerdir. Yürütülen reaksiyon ile, karbon sayıları 4 ile 18 arasında değişen doymuş alkoller ve 18 karbonlu doymamış alkoller kullanılarak kaprilik asidin esterleşmesi 24 saatte gerçekleştirilmiştir. Novozym 435 (*Candida Antarctica*) ve Lipozyme (*Rhizomucor Miehei*) mikrobiyal lipazlarının karbon sayıları 4 ile 10 arasında değişen alkollerle esterleşme reaksiyonunda, alkolün zincir uzunluğu arttıkça ester veriminin de paralel olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Mikrobiyal lipazlarla gerçekleşen reaksiyon sonuçları değerlendirildiğinde, alkolün zincir uzunluğunun artmasıyla reaksiyon hızında düşme görülmüştür. Her iki lipazın katalizlediği esterleşme reaksiyonlarında, 16 karbonlu alkol kullanıldığında ester veriminin düştüğü tespit edilmiştir, bu düşüş Novozym 435’de daha fazla olmuştur. Ayrıca 18 karbonlu doymuş ve doymamış alkollerin kaprilik asitle esterleşme reaksiyonu için mikrobiyal enzimlerin, bitkisel lipaza oranla daha seçici davrandığı ve dönüşüm oranının en yüksek *Candida Antarctica* ile katalizlenen reaksiyonda meydana geldiğini belirtmişlerdir [12].

Shimada ve çalışma arkadaşları soya ve kolza yağı karışımından çeşitli lipazlar varlığında üç kademeli metanoliz ile biodizel üretimini gerçekleştirmişlerdir. Enzimatik metanoliz reaksiyonunda lipaz etkinlikleri karşılaştırılmış ve en yüksek dönüşüm oranının Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı ile elde edildiğini açıklanmıştır. Metanol miktarı yağa göre 1.5 ekivalanttan daha fazla olduğunda metanolün enzimi inaktive ettiği belirtilmiş, bu sorunun ortadan kaldırılması amacıyla üç kademeli sistem ile çalışılmıştır. Novozym 435 lipazının katalizlediği metanolizde sürekli bir sistemle enzimin yeni substrat ve alkol karışımıyla karşılaşması sağlanmış, enzimin tekrar kullanılabilirliğini de incelemişlerdir. Belirli zaman aralıklarıyla 1/1 yağ/alkol mol oranında metanol ilavesiyle yağ karışımının metanoliz reaksiyonu 30°C’ de sürekli olarak yürütülmüştür. Toplam 48 saat süre sonunda Novozym 435 lipazı ile % 98.4’lük bir dönüşüm elde edilmiştir. Üç kademeli metanoliz reaksiyonunda ortamda, 1 /1.5 yağ/metanol mol oranından

yüksek miktarda metanol bulunmasına karşın, lipazın aktivitesini kaybetmediği ve ester dönüşümünde bir düşmeye rastlanmadığı ortaya konmuştur [13].

Watanabe ve çalışma arkadaşları biodizel üretmek amacı ile bitkisel ve atık yemeklik yağların sabit yataklı bioreaktörde kesikli ve sürekli olarak üç kademeli metanoliz reaksiyonunu incelemişlerdir. Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı ile katalizlenen 3 kademeli kesikli çalışmada reaksiyon 30°C’de, 1:3 metanol/ yağ asidi mol oranında metanol ilavesiyle başlatılmış 10. ve 24. saatlerde aynı miktarda metanol ilavesi ile 48 saat sürdürülmüştür. Metil ester içeriği 1. kademedeki % 34’e, 2. kademedeki % 66’ya, 3. kademedeki ise yaklaşık % 90’a ulaşmıştır. Bitkisel ve atık yağlarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sürekli sistemde ise, 3 g immobilize lipaz ile doldurulmuş üç sabit yataklı bioreaktöre değişik akış hızlarında, belirli oranda metanol ve atık yağ karışımı beslenerek, akış hızlarının dönüşüm verimine olan etkisi saptanmış, optimum akış hızları belirlenmiştir. Novozym 435 lipazının açıl gliserol seçiciliğine bir yaklaşım getirilmiş, açıl gliserollerin esterleşme hızları bu lipaz için $MAG > DAG > TAG$ olarak açıklanmıştır [14].

Steinke ve çalışma arkadaşları Crambe ve Camelina yağlarından elde edilen yağ asitlerinin, oleil alkol ile Crambe ve Camelina yağlarından elde edilen alkollerle esterleşme reaksiyonunu incelemişlerdir. Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı ile katalizlenen reaksiyonlarda yüksek verimle uzun zincirli vaks esterleri elde edilmiştir. Reaksiyonda esterleştirme verimini yükseltmek amacıyla, oluşan su vakumla uzaklaştırılmıştır. Ayrıca esterleşme reaksiyonları Papaya (*Carica Papaya*) lipazı ile de tekrarlanmış ve iki lipazın vaks esterleri üretiminde etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Novozym 435 lipaz ile 4 – 6 saatte % 95 vaks esterlerine dönüşüm oranı elde edilirken, bu oran Papaya lipazı için 24 saatte % 90 olarak belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmayla, kozmetik, ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan yüksek zincir yapısındaki vaks esterlerinin üretiminde, bahsedilen substratlar varlığında Novozym 435 lipazının kısa reaksiyon süresinde en yüksek dönüşüm oranını sağladığı literatüre sunulmuştur [15].

Basheer ve çalışma arkadaşları uzun zincirli yağ asitleri ve yağ alkollerinin, yüzey aktif madde ile kaplanmış lipaz katalizliğinde esterleşme reaksiyon kinetiğini incelemişlerdir. Laurik asidin , dodesil alkolü ile 1/1 mol oranında, çözücülü (n-Hegzan) sistemde reaksiyonunu esterleşme reaksiyon modeli olarak kullanmışlardır. Yürütülen reaksiyonu katalizleyen Lipase Saiken 100 (*Rhizopus Japonicus*) lipazı

özel olarak yüzey aktif maddeyle kaplanarak modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş lipaza göre esterleşme etkinliği 40 kat artmıştır. Organik çözücü ortamında gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarında dönüşümünün kütle aktarım sınırlamalarından dolayı düşük olduğu belirtilmiş, yüzey aktif madde ile kaplanmış lipazın hidrofobik özellik kazanarak dönüşümü arttırdığı açıklanmıştır. Substrat olarak kullanılan yağ asidi zincir uzunluğu, ortamın su içeriği ve sıcaklık faktörleri irdelenmiş, optimum koşulları belirlemişlerdir. 25– 69°C sıcaklık aralığında gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucu 45°C' ye kadar reaksiyon hızında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Böylece ham lipazın sulu sistemdeki optimum sıcaklığı yaklaşık 35°C olduğu dikkate alındığında modifiye enzimin daha yüksek sıcaklıkta kararlılığını koruduğu saptanmıştır. Substratların zincir uzunluğu arttıkça ester veriminde arttığını gözlemlemişlerdir. Reaksiyon ortamının su içeriğinin etkisini incelemişler ve ortama su eklenmediğinde en iyi sonucun alındığını belirtmişlerdir [16].

Awang ve çalışma arkadaşları dihidroksistearik asidin (DHSA) Novozym 435 (*Candida Antarctica*) ve Lipozyme IM (*R. Miehei*) Lipazlarıyla enzimatik esterleşme reaksiyonunu incelemiş ve reaksiyon üzerinde etkili olabilecek faktörleri belirlemişlerdir. Reaksiyon 1 /2 DHSA – Alkol mol oranında 1–oktanol ile 30 °C de, n – Hegzan ortamında 54 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. *R. Miehei* ve *C. Antarctica* yüksek verimle (>%80 dönüşüm oranı) reaksiyonu katalizlemişlerdir. Ancak *R. Miehei* lipazı varlığında reaksiyonun daha hızlı gerçekleştiği tespit edilmiştir. Farklı polarlıkta çözücü sistemleri denenerek, reaksiyon için uygun çözücüler toluen, hegzan, pentan ve heptan olarak belirlenmiştir. DHSA oktanol ile 1/2 alkol/DHSA mol oranlarında yüksek dönüşüm ile esterleşmiştir. Daha fazla alkol kullanımının lipazı inaktive etmediği de gözlenmiştir [17].

Weber ve çalışma arkadaşları, Sitostanolün farklı lipazlar varlığında enzimatik esterleşme reaksiyonunu incelemişlerdir. Reaksiyonlar Lipozyme IM (*Rhizomucor Miehei*), Novozym 435 (*Candida Antarctica*, Lipase B) ve Papaya (*Carica Papaya*) lipazlarıyla değişik sıcaklıklarda yürütülmüş lipazların etkinlikleri ve tekrar kullanılabilirlikleri karşılaştırılmıştır. Vakum altında gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarında genel olarak Papaya lipazıyla düşük verim elde edilmiş buna karşın kullanılan diğer iki mikrobiyal lipazlarla yüksek dönüşüm oranları gözlemlemişlerdir. Optimum sıcaklık 80 °C olarak belirlenmiş, sıcaklık düştükçe

ester dönüşümünde düştüğü gözlenmiştir. En yüksek dönüşüm oranı sitastanolün metil oleatla 80 °C de gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonu sonucu Lipozyme IM lipazıyla alınmıştır. Novozym 435 lipazının 10 kez tekrar kullanılmasından sonra aktivitesinde % 40 oranında kayıba uğradığı, Lipozyme IM lipazının ise aktivitesinin düşmediği belirtilmiştir [18].

Yan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, enzimatik esterleşme ile şeker yağ asidi esterlerinin sentezini, karıştırmalı tank tipi membran reaktörlerde gerçekleştirmiştir. Enzimatik esterleşme için seçilen enzim Novozym 435 (*Candida Antarctica*,) lipazıdır. Substrat (glikoz) miktarı, sıcaklık, substrat/alkol oranı, enzim miktarı ve zaman olmak üzere beş parametreyi inceleyerek sistemin optimizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Novozym 435 lipazı varlığında, optimum koşullarda % 93 oranında dönüşüm verimi elde edilmiştir. Oluşturdukları sistemde yüksek seçicilikte membranlar kullanılmış, organik çözücünden suyun ayrılması kolaylaştırılmıştır. Reaksiyon ortamının su içeriğinin reaksiyon sırasında sabit kalmadığını ve yükselen dönüşüm oranı ile arttığını belirterek, membran reaktörlerle suyun sistemden uzaklaşması sağlanmıştır [19].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu çalışmada, Türkiye kökenli mısır asidik yağının, Novozym 435 (*Candida Antarctica*) mikrobiyal lipazı varlığında esterleşme reaksiyonu incelenmiş, reaksiyon üzerinde etkili olan faktörler ve optimum koşullar belirlenerek, esterleşme verimini artırma amaçlı kademeli sistem uygulaması yapılmıştır.

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan mısır asidik yağı Kırlangıç Yağ Fabrikasından temin edilmiştir. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda katalizör olarak kullanılan *Candida Antarctica* orjinli Novozym 435 mikrobiyal lipazı, Novo Nordisk A/S (Danimarka) firmasından temin edilmiştir. Pozisyon seçiciliği substratlara bağlı olan immobilize enzimin bazı reaksiyonlarda 1,3 pozisyon seçiciliği gösterirken, bazı reaksiyonlarda pozisyon seçiciliği göstermediği belirtilmektedir. Lipazın 1-Propanolün Laurik asitle esterleşmesi üzerinden firma tarafından tayin edilmiş aktivite değeri Propil Laurat birimi olarak yaklaşık 7000 PLU/g' dır. Kullanılan immobilize enzim % 1-2 oranında su içeriğine sahiptir. Kullanılan diğer kimyasal maddeler Merck ürünüdür.

3.2 Mısır Asidik Yağının Karakterizasyonu

Mısır asidik yağının asit değeri ve sabunlaşma değeri standart yağ analiz yöntemleriyle belirlenmiştir [20]. Asidik yağın karakteristik özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Asit değeri ve yağ asidi ortalama molekül ağırlığı kullanılarak, mısır asidik yağının ağırlıkça % 75,2 serbest yağ asidi (SYA) içerdiği deneysel olarak tespit edilmiştir.

Mısır asidik yağının yağ asitleri bileşimi gaz kromatografi yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla önce BF₃ – Metanol kompleksi ile asidik yağın metil esterleri hazırlanarak Hewlett Packard 5890 II (Hewlett Packard, Waldron, Almanya) gaz kromatografi cihazına besleme yapılmıştır [21]. Uygulanan kromatografik analiz

koşulları Tablo 3.2 'de, mısır asidik yağının, yağ asidi bileşimi ve yağ asidi ortalama molekül ağırlığı ise Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.1 . Mısır asidik yağının özellikleri.

Özellikler	Değer
Sabunlaşma değeri (mg KOH/g)	192.74
Asit değeri (mg KOH/g)	151.24
Sabunlaşmayan madde miktarı (% Ağır.)	5,6

Tablo 3.2. Gaz kromatografisi analiz koşulları.

Dedektör tipi	FID ⁽¹⁾
Dedektör sıcaklığı (°C)	280
Enjektör tipi	Dağıtmalı
Enjektör sıcaklığı (°C)	250
Gaz hızları (ml/dak)	
Taşıyıcı gaz (N ₂)	4.5
Hidrojen	30
Hava	400
Dağıtma oranı	88:1
Fırın sıcaklığı (°C)	170 (5 dak) 170 – 300 (10°C/dak) 300 (10 dak)
Kolon tipi	Kapiler kolon Ultra 1 ⁽²⁾

(1) Alev iyonizasyon dedektörü

(2) 25 m x 0.32 mm, 0.52µm kalınlığında %100 dimetil polisiloksan

Tablo 3.3. Mısır asidik yağının, yağ asidi bileşimi ve yağ asidi ortalama molekül ağırlığı

Yağ asitleri	% Ağırlık
16 : 1	0.2
16 : 0	13.9
18 : 2	53
18 : 1	25.5
18 : 0	2.4
20 : 0	0.4
22 : 0	0.4
24 : 0	0.5
20 : 1	0.3
Diğerleri	0.4
Σ Doymuşlar	17.6
Σ Doymamışlar	79.0
Yağ asitlerinin ortalama molekül ağırlığı (g/mol)	278.4

3.3 Deney Düzenegi

Enzimatik esterleşme reaksiyonu, su banyosuna daldırılmış 50 ml hacimli dibi yuvarlak bir cam balonunda gerçekleştirilmiştir. Karıştırma işlemi, Framo – Geratatechnick M22/1 5655, (Franz Morat Eisenbach, Almanya) seri numaralı ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile sağlanmış olup, sıcaklık ± 1 °C olacak şekilde kontrol edilmiştir. Deneysel çalışmalarda karıştırma hızı 700 dev/dak değerinde sabit tutulmuştur.

3.4 Mısır Asidik Yağının Enzimatik Esterleşme Reaksiyonu

Enzimatik esterleşme reaksiyonu için 5 g yağ, belirli miktarda metanol ve çözücü olarak kullanılan 25 ml n- hegzan reaksiyon balonuna alınarak ısıtılmış ve karışım istenilen sıcaklığa ulaştığında mikrobiyal lipaz ilavesi ile reaksiyon başlatılmış ve 0. saat ürünü olarak adlandırılan ilk ürün alınmıştır. Reaksiyon süresince belirli aralıklarla alınan numuneler, 90 °C sıcaklığındaki su banyosunda bekletilerek enzimin inaktif hale geçmesi sağlanmıştır. İnaktivasyon aşamasından sonra, numunelere 5 mL n- hegzan ve 2 mL destile su ilave edilerek, 4 dakika süre ile santrifüj işlemi yapılmıştır. Daha sonra yağ ve su fazı ayrılmış olan numunelerin yağ fazı, Pasteur pipetleriyle çekilerek susuz Na₂SO₄ içeren analiz tüplerine alınmış, 3 mL daha n – hegzan ilave edilerek numuneler analiz için hazır hale getirilmiştir. Ürün bileşimleri , İnce Yüzey Kromatografisi – Alev İyonizasyon Dedektör (TLC – FID) kombine sistemi olan Iatroscan TH 10 (Iatron Lab. Inc., Tokyo, Japonya) cihazı ile belirlenmiştir.

3.4.1 Esterleşme Ürün Bileşiminin Belirlenmesi

Mısır asidik yağının enzimatik esterleşmesi, belirli zaman aralıklarıyla alınan numunelerin bileşimleri TLC – FID Iatroscan TH 10 cihazında belirlenerek izlenmiştir. Bu amaçla, önce yukarıda açıklandığı şekilde hazırlanan analiz tüplerindeki numune çözeltisinden alınan 1µL’lik örnek SIII rodlarına enjekte edilmiş, daha sonra iki kademeli yürütme işlemi ile ürün bileşenlerinin rod üzerinde yürütülmesi sağlanmıştır. Kullanılan çözücü sistemleri; benzen : kloroform : asetik asit (hacmen 50 : 20 : 0.7 mL) ve benzen : n- hegzan (hacmen 35 : 35 mL) olarak seçilmiştir. Yürütme işleminin ilk kademesinde rodlar içinde benzen, kloroform, asetik asit olan 1. çözücü tankına daldırılıp, 23 dakikalık yürütme sağlandıktan sonra,

rod etüvünde (Rod Dryer TK-5, Iatron Lab. Inc., Tokyo, Japonya) 60°C'de 2 dakika bekletilerek çözücünün buharlaştırılması işlemi tamamlanmıştır. Kurutulan rodlar daha sonra ikinci çözücü tankına alınmış ve benzen, n-hegzan sisteminde 30 dakika yürütme işlemi uygulanmıştır. Daha sonra yukarıda açıklandığı gibi çözücü uzaklaştırılmış ve kuruyan rodlar Iatroscan TH 10 cihazına yerleştirilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz için kullanılan hidrojen gazı debisi 160 mL / dak, hava debisi 2200 mL / dak ve tarama hızı 30 sn / tarama olarak seçilmiştir. Enjeksiyon, yürütme, kurutma ve belirtilen koşullarda cihazda analiz sonucu reaksiyon ürünlerinin bileşimleri; yağ asidi esterleri (YAE), triaçilgliserol (TAG), yağ asidi (YA), diaçilgliserol (DAG) ve monoaçilgliserol (MAG) ağırlık yüzdeleri olmak üzere integratör yardımıyla belirlenmiştir.

3.4.2 Mısır Asidik Yağı Bileşiminin Kromatografik Olarak Belirlenmesi

Mısır asidik yağının bileşimi Iatroscan TH 10 cihazında belirlenmiştir. Bu amaçla, 0.1 gram asidik yağ, bir miktar susuz Na_2SO_4 ve 10 mL n-Hegzan içeren karışım hazırlanmıştır. Bu karışımdan alınan 1 μL 'lik örnekler SIII rodlarına enjekte edilmiştir. Bölüm 3.4.1' de açıklanan koşullarda, bileşenlerin rod üzerinde yürütülmesi sağlanmış ve daha sonra çözücü uzaklaştırılmıştır. Kuruyan rodlar Iatroscan TH 10 cihazına yerleştirilerek, belirtilen koşullarda analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucu mısır asidik yağının bileşimi; ağırlıkça % 5.5 Sabunlaşmayan maddeler, % 75.3 SYA, % 8,6 TAG, % 5.4 DAG ve % 5,2 MAG olmak üzere belirlenmiştir. Kromatografik olarak belirlenen serbest yağ asidi ve sabunlaşmayan madde miktarları, numunenin kimyasal analizi ile bulunan değerleri ile uyumludur.

Esterleşme reaksiyonunu gerçekleştirmek için, belirli miktarda alınan asidik yağın içerdiği toplam yağ asidinin mol sayısının hesaplanması ve buna belirli mol oranında karşılık gelen alkolün ilavesi gerekmektedir. Bu amaçla, yağın hem asit ve sabunlaşma değerleri hem de SYA, TAG, DAG ve MAG içerikleri (% Ağırlık) ve yağ asidi ortalama molekül ağırlığı dikkate alınarak, yağdaki serbest ve toplam yağ asitleri mol sayıları (mol/1g yağ) hesaplanmıştır. Bu hesaplamalara göre asidik yağdaki, serbest yağ asidi miktarı: 2.7×10^{-3} mol/g yağ, toplam yağ asidi miktarı ise 3.4×10^{-3} mol/g yağ dır. Alkol ve yağ asidi mol oranlarının belirlenmesinde yağdaki toplam yağ asidi mol sayısı esas alınmıştır.

3.5 Mısır Asidik Yağının Novozym 435 Lipazı ile Esterleşme Reaksiyonu İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi

Enzimatik esterleşme reaksiyonu optimum koşullarının belirlenmesi amacıyla yürütülen deneysel çalışmalar aşağıda açıklanmıştır:

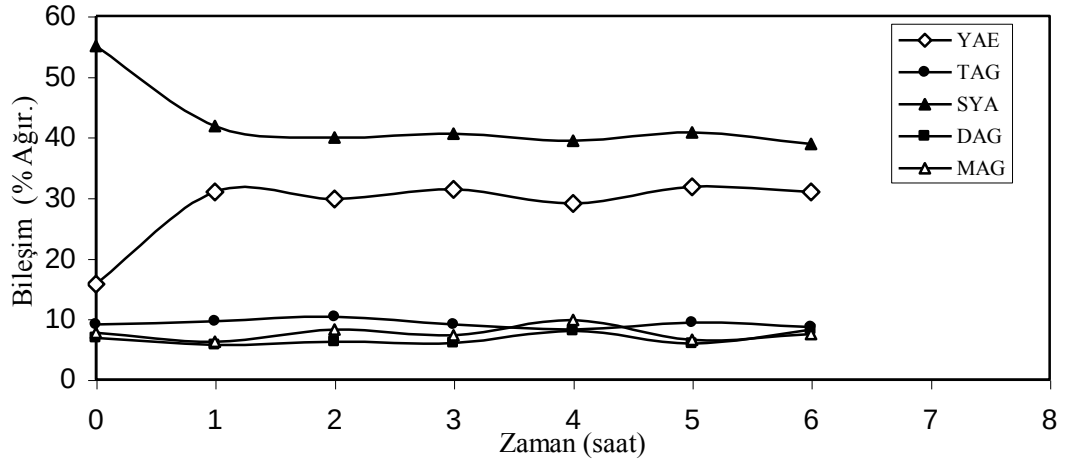
- 1) Reaksiyon süresinin enzimatik esterleşme reaksiyonuna olan etkisinin incelenmesi,
- 2) Alkol / toplam yağ asidi mol oranının enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisinin incelenmesi ve optimum mol oranının belirlenmesi,
- 3) Enzim miktarındaki değişimlerin enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisinin incelenmesi ve optimum enzim miktarının belirlenmesi
- 4) Sıcaklığın enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisi saptanarak, optimum sıcaklığın belirlenmesi,
- 5) Alkol cinsinin enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisinin incelenmesi.

Tezin bundan sonraki bölümlerinde, toplam yağ asidi mol değeri için yağ asidi mol ifadesi kullanılacaktır.

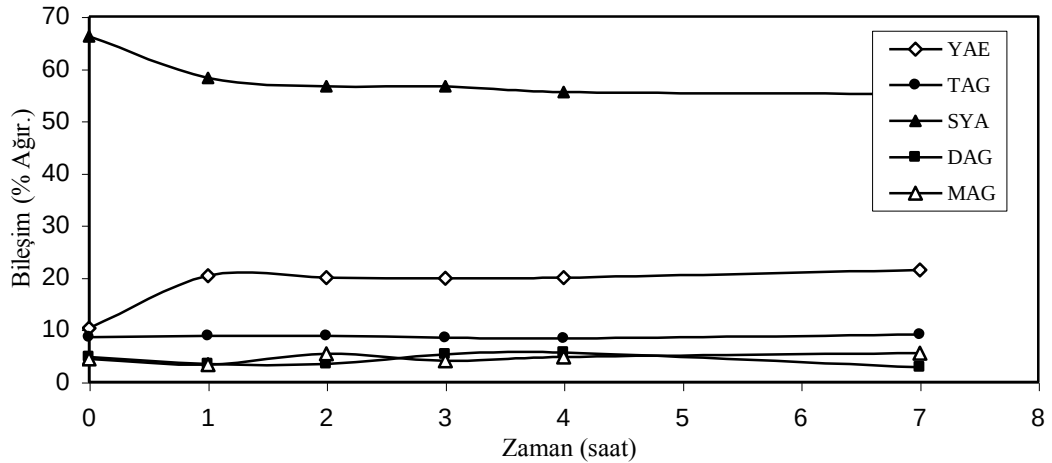
3.5.1 Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyon süresinin etkisi

Optimum reaksiyon süresinin belirlenmesi için yürütülen deneylerde ilk reaksiyon süresi 24 saat olarak seçilmiştir. Yağ asidi / metanol mol oranı 1/1, sıcaklık 50°C, enzim miktarı yağın % 10'u olmak üzere seçilen başlangıç koşullarında reaksiyon 1. deneyde çözücüsüz, 2. deneyde çözücü (n-hegzan) ortamında gerçekleştirilmiştir. Birinci ve ikinci deneyde elde edilen ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi Şekil 3.1 ve 3.2 'de sayısal değerleri ise ekte sunulan Tablo A.1 ve A.2'de verilmiştir. Sabunlaşmayan madde miktarları pratik olarak sabit olduğu için tablolarda gösterilmemiştir. Şekil 3.1 ve 3.2' den görüldüğü gibi ester miktarındaki artış birinci saate kadar gerçekleşmiş, 24 saatlik reaksiyon sürecinde hemen hemen sabit kalmıştır. TAG, DAG ve MAG miktarlarında ise pratik olarak bir değişme gözlenmemiştir. Çözücülü ortamda gerçekleştirilen reaksiyonda elde edilen YAE içeriği, çözücüsüz ortamda gerçekleştirilen reaksiyona kıyasla %10 kadar azalmıştır.

Bu sonuç literatürle uyumludur ve kullanılan Novozym 435 lipazının aktivitesinin çözücülü ortamda azalması şeklinde açıklanabilir [22]. Buna karşın, reaksiyonun zamanla ilerlemesi esnasında meydana gelen ürün viskozitesindeki artış ve numune alımında meydana gelen zorluk nedeniyle esterleşme reaksiyonlarının çözücü ortamında yürütülmesine karar verilmiştir. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonu üzerinde etkili olabilecek diğer parametrelerinin belirlenmesinde yapılacak deneyler için optimum reaksiyon süresi, ester oluşumunun reaksiyonun 1. saatinde hızla yükselmesi dikkate alınarak 1.5 saat olarak seçilmiştir.



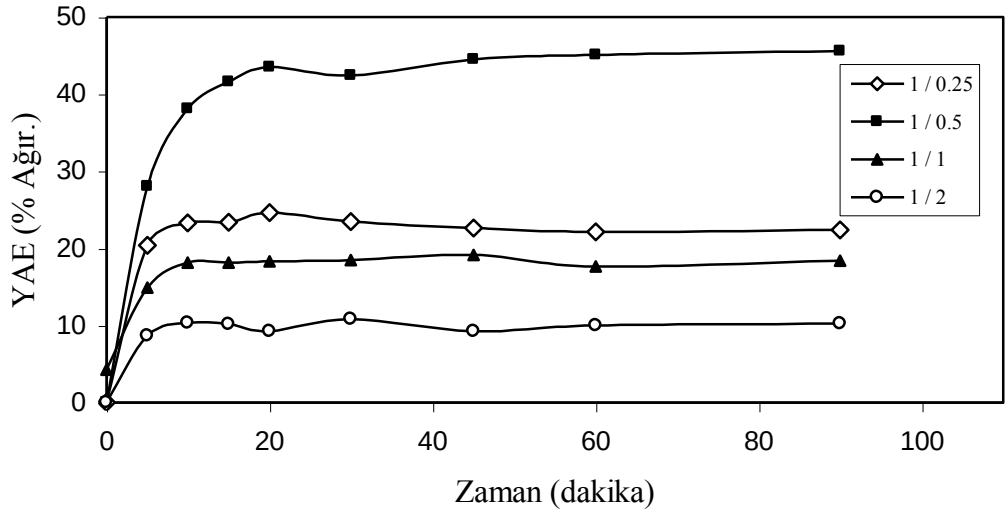
Şekil 3.1. Mısır asidik yağının çözücüsüz ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşimini zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi / metanol mol oranı : 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C)



Şekil 3.2. Mısır asidik yağının çözücülü ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşimini zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi / metanol mol oranı : 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C; n – hegzan : 25 mL)

3.5.2 Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna alkol / yağ asidi mol oranının etkisi

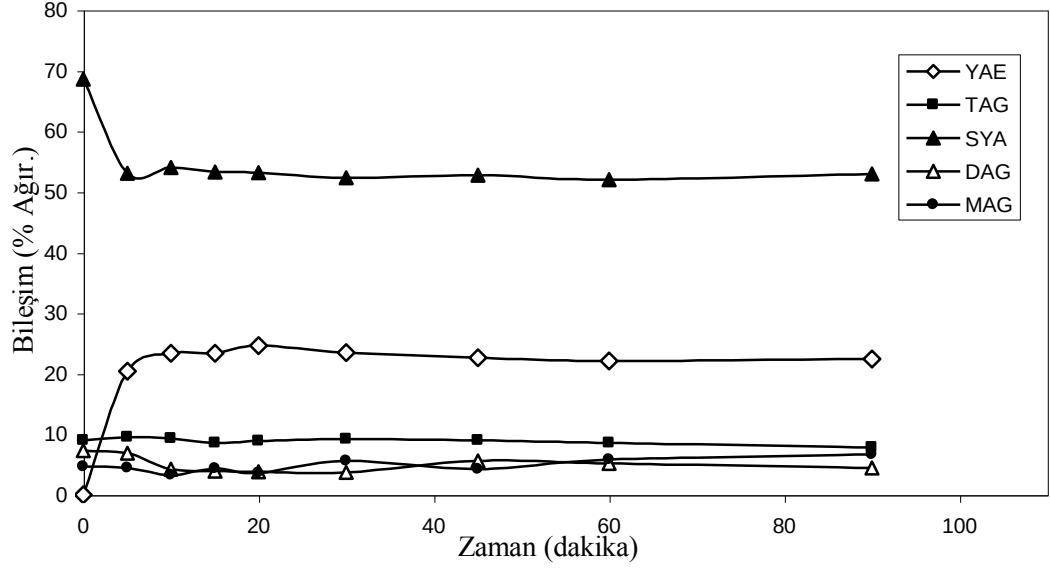
Optimum alkol / yağ asidi mol oranının saptanması amacıyla gerçekleştirilen reaksiyonlar, metanol ile 50 °C de, yağın % 10 u kadar enzim kullanılarak ve 25 mL n – hegzan varlığında 1.5 saat sürdürülmüştür. Farklı alkol / yağ asidi mol oranlarında elde edilen YAE içeriklerinin zamanla değişimleri Şekil 3.3’de, ürün bileşimlerinin zamanla değişimi Şekil 3.4-3.7 ‘de ve bu şekillerle ilgili sayısal değerler ekler bölümünde Tablo A.3-A.6’ da verilmiştir. 1/1 alkol / yağ asidi mol oranında yürütülen deneylerle ilgili olarak eklerde verilen Tablo A.2 ve Tablo A.5, aynı koşullarda fakat farklı zamanlarda numune alınması ile yürütülen deneylerin sonuçlarını göstermektedir. Sonuçlar arasındaki küçük farklılıklar kabul edilebilir düzeyde deneysel hatalardan kaynaklanmaktadır.



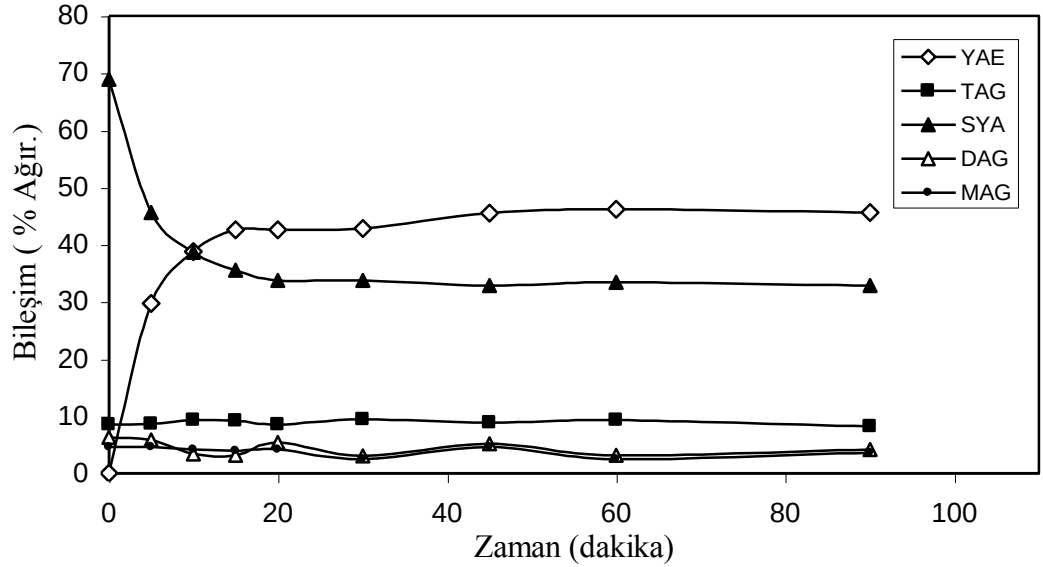
Şekil 3.3. Farklı yağ asidi / metanol mol oranlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı : yağın %10 u; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık : 50 °C)

Şekil 3.3’den görüldüğü gibi en yüksek YAE içeriği yağ asidi / alkol mol oranı 1 / 0,5 olduğunda elde edilmiştir. Yağ asidi / alkol mol oranı 1 / 0,25 alınarak yapılan deney sonucunda oluşan ürünün düşük YAE içeriğe sahip olduğu ve mevcut SYA nin yaklaşık %30’ unun esterlere dönüştüğü görülmüştür. YAE veriminin düşük oluşu, beklenen bir sonuçtur çünkü ortamda yağın esterleşmesi için gerekli miktarda alkol yoktur. 1 / 1 ve 1 / 2 yağ asidi / alkol mol oranında çalışıldığında da, YAE oranı düşmüştür. Alkol miktarının artması ile meydana gelen düşüş ise metanol fazlasında

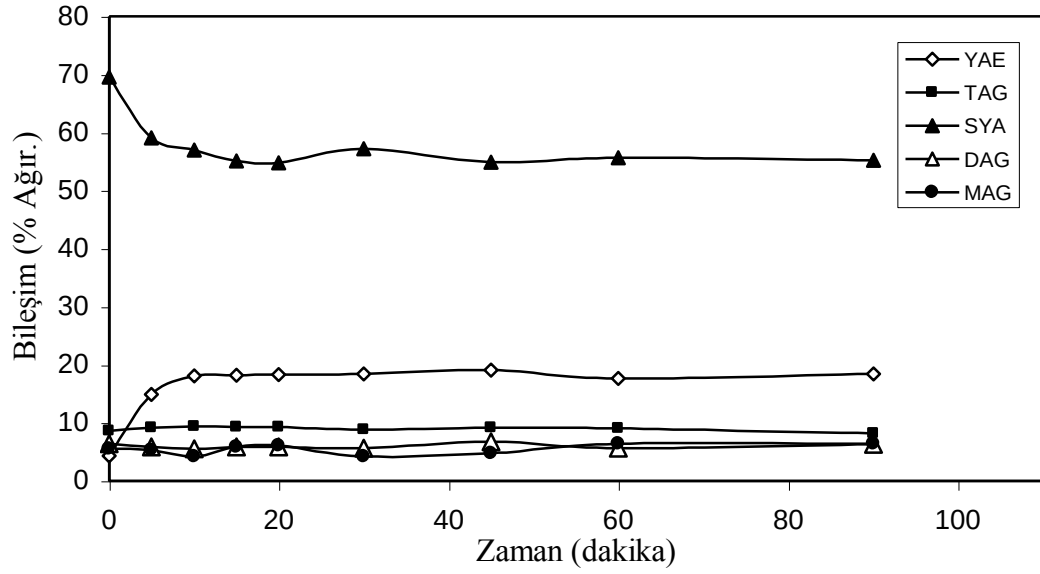
enzimin inaktif olduğunu göstermektedir. Shimada ve arkadaşları da bitkisel yağ alkolizinde, 1.5 molar ekivalentten fazla miktardaki metanolün *Candida Antarctica* lipazını inaktif ettiğini açıklamışlardır [13,14]. 1 /0,5 yağ asidi / alkol mol oranında en yüksek YAE içeriği elde edildiğinden mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonu için optimum koşul, bu mol oranı olarak seçilmiştir.



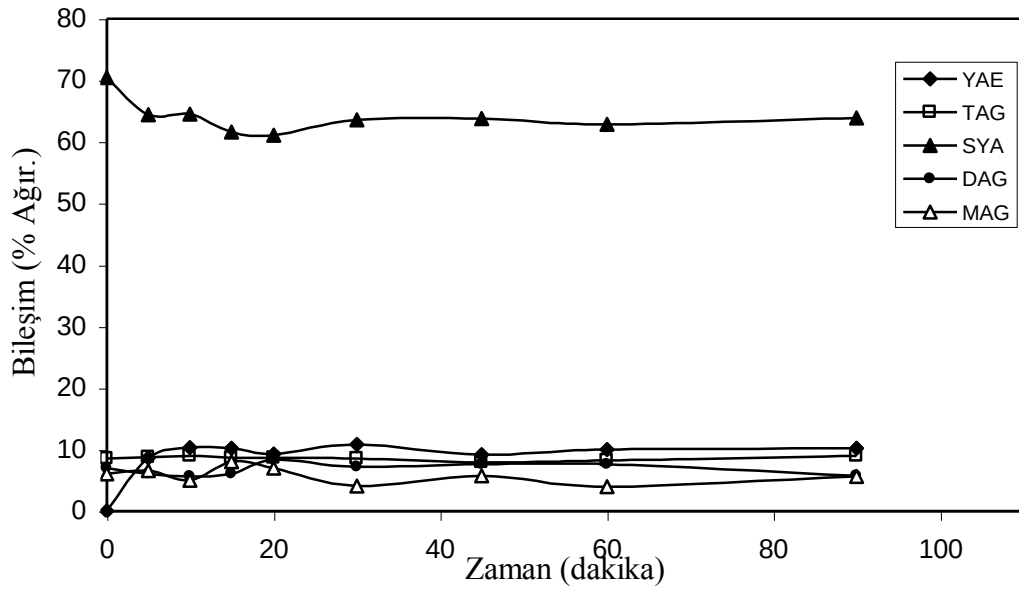
Şekil 3.4. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.25; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)



Şekil 3.5. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)



Şekil 3.6. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/1; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)

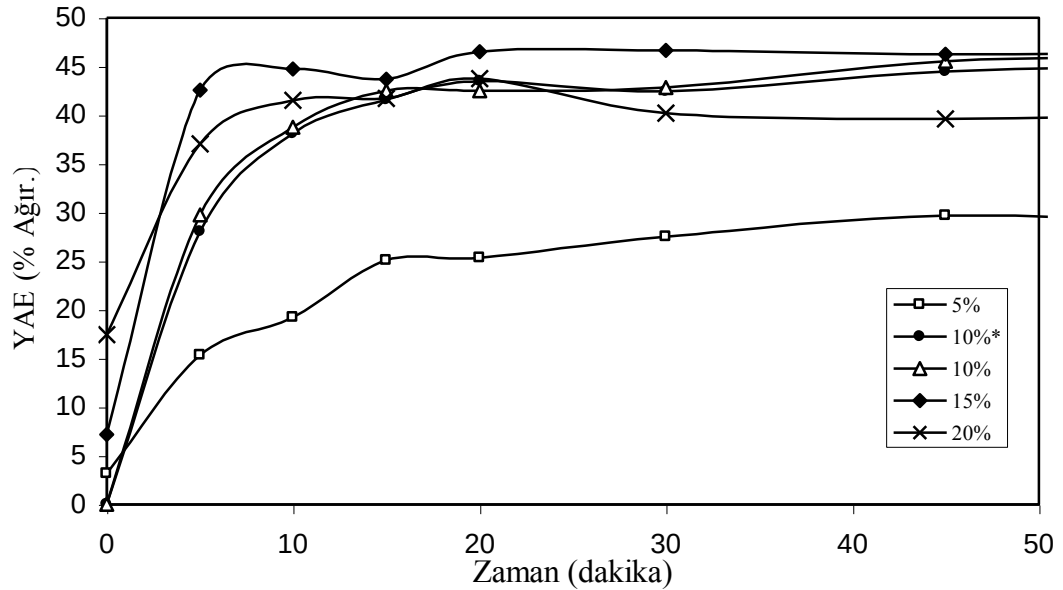


Şekil 3.7. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/2; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)

3.5.3 Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna enzim miktarının etkisi

Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonuna enzim miktarının etkisini incelemek amacıyla 5 g yağ tartılmış, 50°C de , 1/ 0,5 yağ asidi / alkol mol oranında metanol ve 25 mL n-hegzan kullanılarak reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlarda diğer koşullar sabit kalacak şekilde yağın %5, %10 , %15 ve %20' si kadar Novozym 435 lipazı ilave edilmiş ve elde edilen YAE içerikleri Şekil 3.8 te, ürünün bileşimi, Şekil 3.5, 3.9.-3.12.'de ve eklerde Tablo A.4., A.7.-A.10.'da zamanın fonksiyonu olarak verilmiştir.

Şekil 3.8.'den görüldüğü gibi, yağın % 5'i oranında enzim alındığında esterleşme reaksiyonu yavaşlamış, elde edilen YAE içeriği düşmüştür. Enzim miktarının artırılması ile dönüşüm artmış ve en yüksek YAE içeriği enzim miktarı yağın %15 i oluğunda elde edilmiştir.

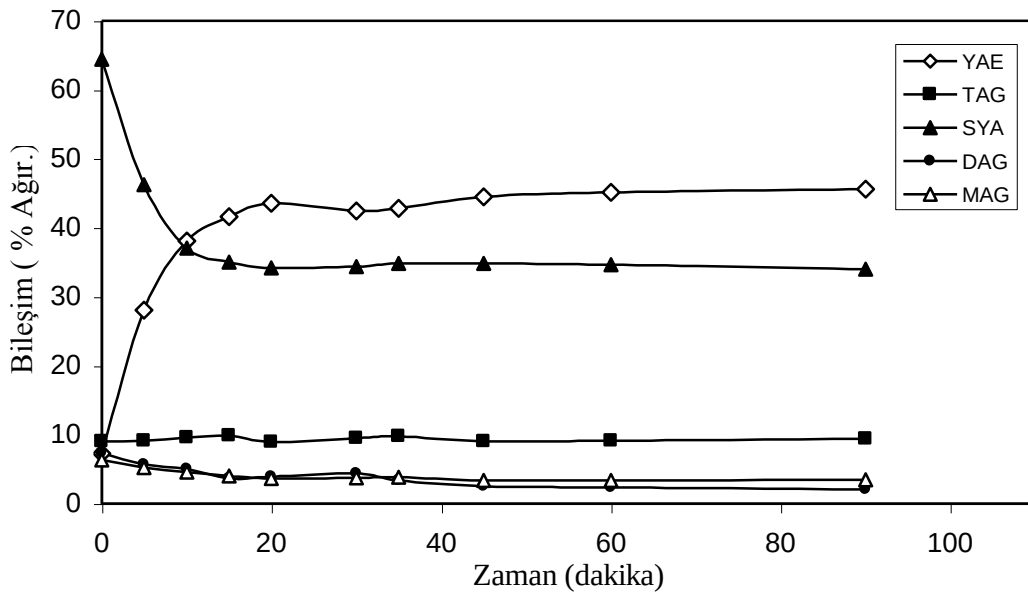


Şekil 3.8. Farklı enzim miktarlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı :5g; yağ asidi/metanol oranı; 1: 0.5; n – hegzan : 25 mL, sıcaklık: 50 °C)

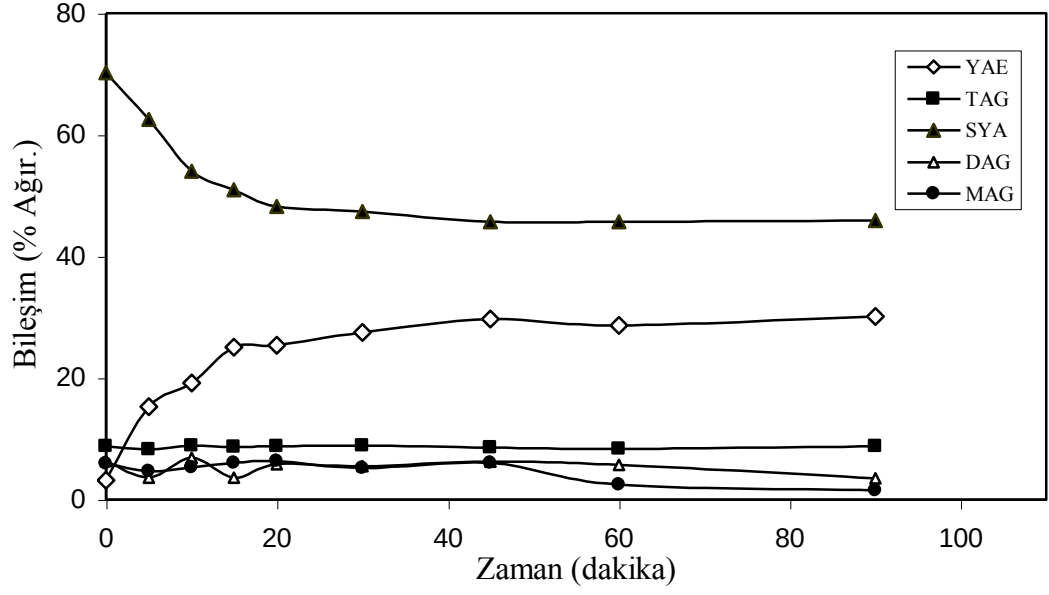
Yağın %10 u kadar enzim kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyon moleküler elek ilavesiyle tekrarlanmıştır. Reaksiyonun 30. dakikasında, esterleşme reaksiyonunda oluşan suyun ortamdan uzaklaştırılması ve reaksiyonun hidroliz yönünde ilerlemesini önlemek amacıyla konulan 0.1 g moleküler eleğin YAE verimini arttırmadığı görülmüştür.

Yağın %20 si kadar enzim ile çalışıldığında başlangıç reaksiyon hızı daha yüksek olmasına rağmen, reaksiyon hızı daha sonra yavaşlamış ve elde edilen ürünün YAE içeriği düşmüştür. Bu düşüşün nedeni immobilize enzimin %2-3 oranında su içermesi, dolayısıyla enzim miktarının artmasına bağlı olarak artan su miktarı nedeniyle reaksiyonun hidroliz yönünde ilerlemesi olarak açıklanabilir. Ayrıca fazla miktarda katının karıştırma rejimine olumsuz olarak etkilemesi de reaksiyon hızını yavaşlatıcı bir etkidir.

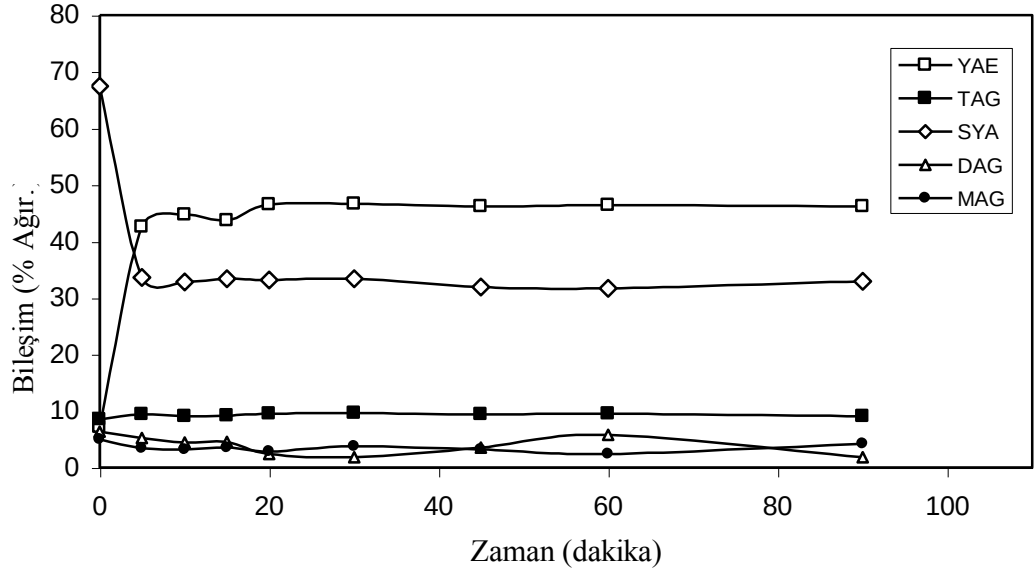
Yapılan dört deneyde de ürünün TAG içeriğinde azalma gözlenmemiştir. Bu sonuç kullanılan Novozym 435 lipazının yağ asitlerinin esterleşme reaksiyonu seçici olarak katalizlediğini ve alkoliz reaksiyon hızının ise düşük olduğunu göstermektedir. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda optimum koşul; asidik yağın %15'i oranında enzim miktarı olarak seçilmiştir.



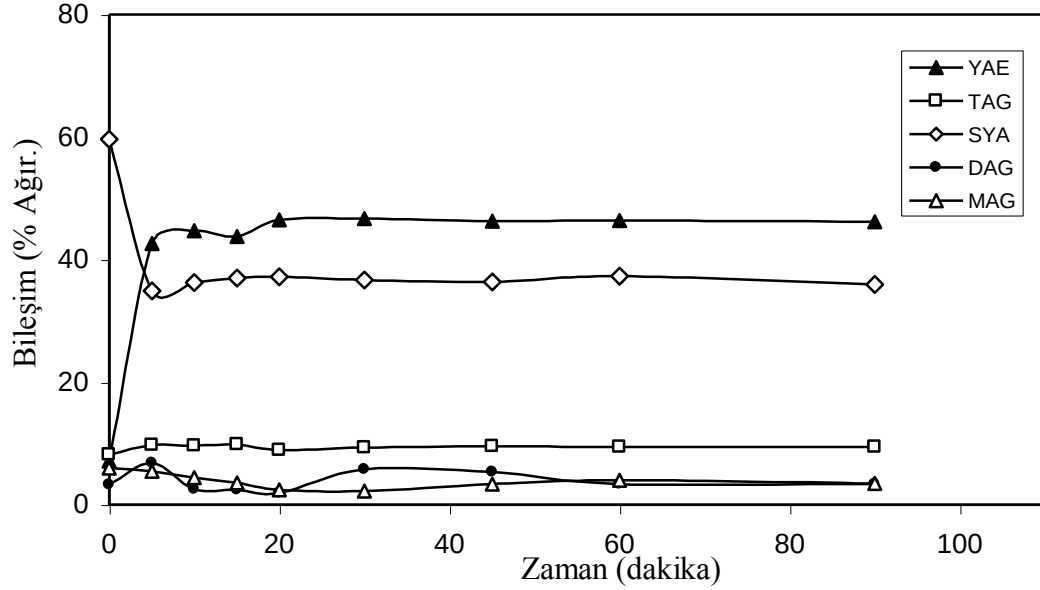
Şekil 3.9. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %10'u; moleküler elek: 0.1 g; n – hegzan: 25 mL; sıcaklık: 50°C)



Şekil 3.10. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %5'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)



Şekil 3.11. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :50 °C)



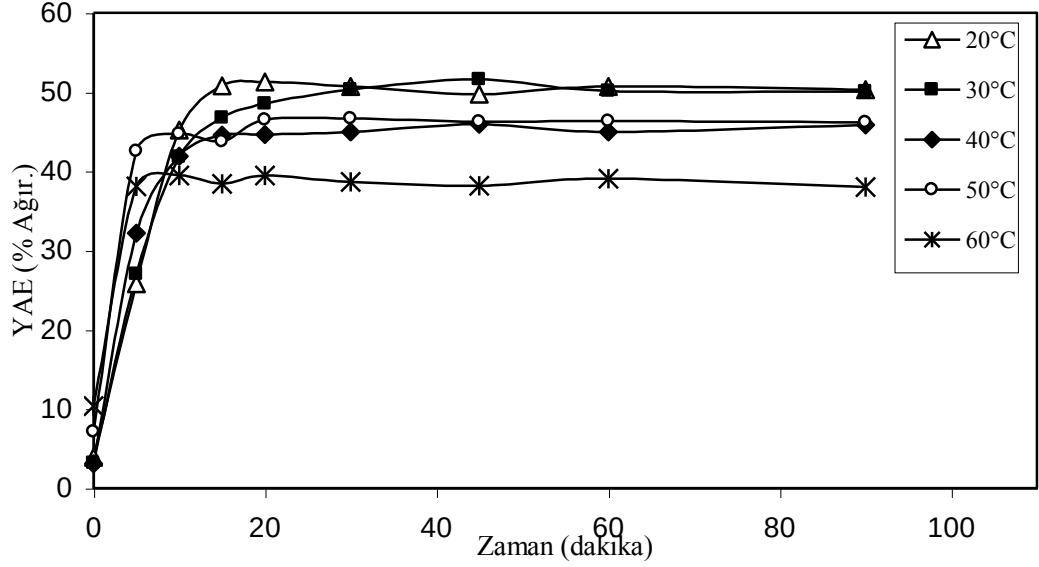
Şekil 3.12. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1:0.5; enzim miktarı: asidik yağın %20'si; n – hegzan: 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

3.5.4 Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna sıcaklığın etkisi

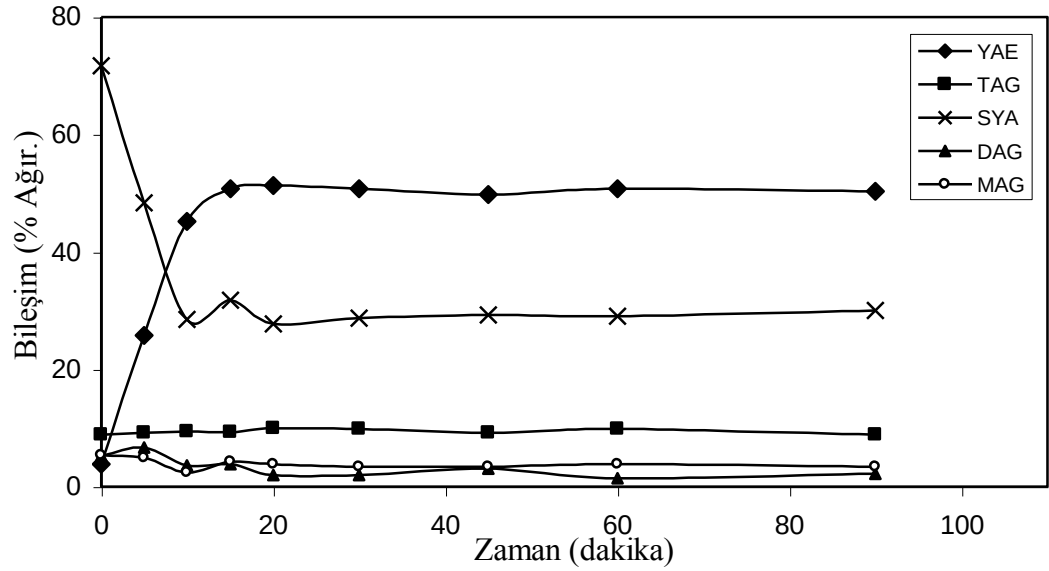
Sıcaklığın enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisini belirlemek amacıyla, 5 gram yağ, yağ miktarının % 15'i kadar enzim, 1: 0.5 yağ asidi/ alkol mol oranında metanol ve 25 mL n-Hegzan ile değişik sıcaklıklarda deneyler yapılmıştır. Farklı sıcaklıklarda elde edilen YAE içerikleri zamanın fonksiyonu olarak Şekil 3.13.'te gösterilmektedir. Esterleşme ürün bileşimleri, Şekil 3.11, 3.14– 3.17 'de, ve sayısal değerleri ise eklerde Tablo A.9, A.11-14.de verilmiştir.

Lipaz enzimlerinin ana yapısı proteinden oluşmuştur, dolayısıyla sıcaklık enzimlerin aktivitesini etkileyen önemli bir faktördür. Her enzimin kendine özgü, seçicilik gösterdiği reaksiyon türlerine bağlı olarak maksimum aktivite gösterdikleri optimum sıcaklık değerleri mevcuttur. Lipazların genelde 30-62 °C' ler arasında aktivite gösterdiği ve immobilize lipazların termal bozunmaya daha dayanıklı olduğu literatürde belirtilmektedir [23]. Novozym 435 lipazının mısır asidik yağının esterleşme reaksiyonu için yüksek YAE verimi 20°C ve 30 °C 'de elde edilmiştir. 40°C, 50°C ve 60°C 'lerde yapılan deneylerde ürün bileşimindeki YAE içeriğinin düştüğü Şekil 3.13'den görülmektedir. Literatüre uyum gösteren bu sonuç, artan sıcaklığın enzim aktivitesini olumsuz olarak etkilediğini açıklamaktadır. 20 °C ve 30°C 'de elde edilen YAE içerikleri birbirine yakındır. Ancak 20°C' de yapılan

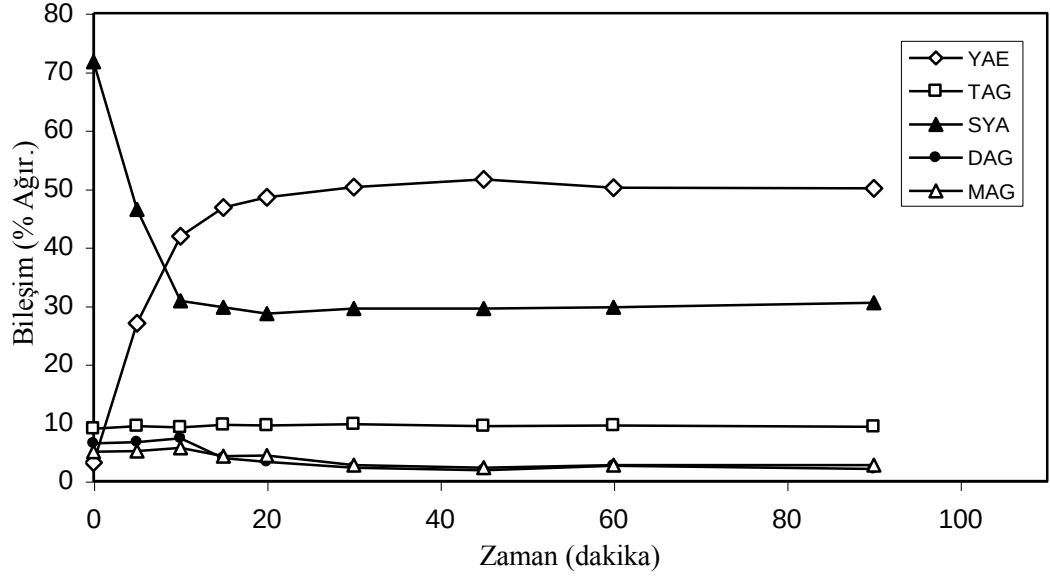
çalışmada sıcaklığın kontrolü oldukça zorlaşmış, hava değişimlerinin reaksiyon üzerindeki etkisini azaltmak ve sıcaklık değişimlerini önlemek amacıyla optimum sıcaklık değeri 30°C olarak seçilmiştir.



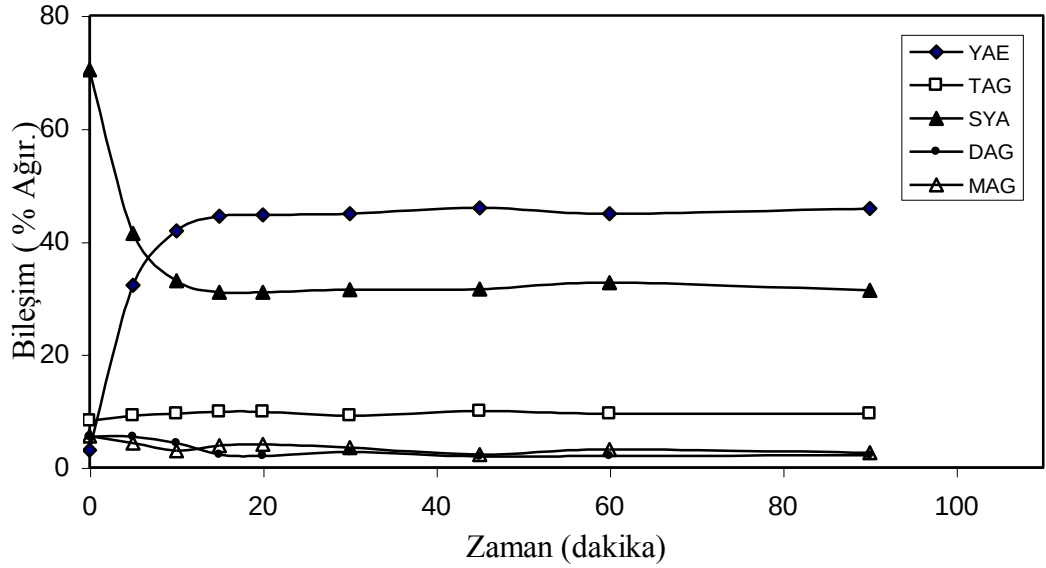
Şekil 3.13. Farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5g, yağ/alkol oranı: 1 / 0.5, enzim miktarı : yağın %15'i, n – hegzan : 25 mL)



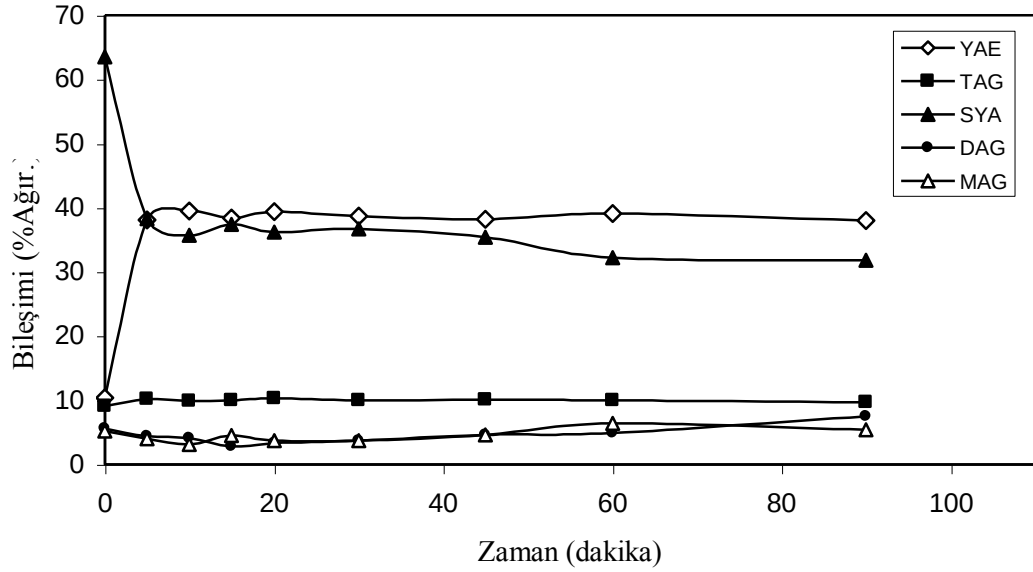
Şekil 3.14. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :20 °C)



Şekil 3.15. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15 'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :30 °C)



Şekil 3.16. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15 'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :40 °C)



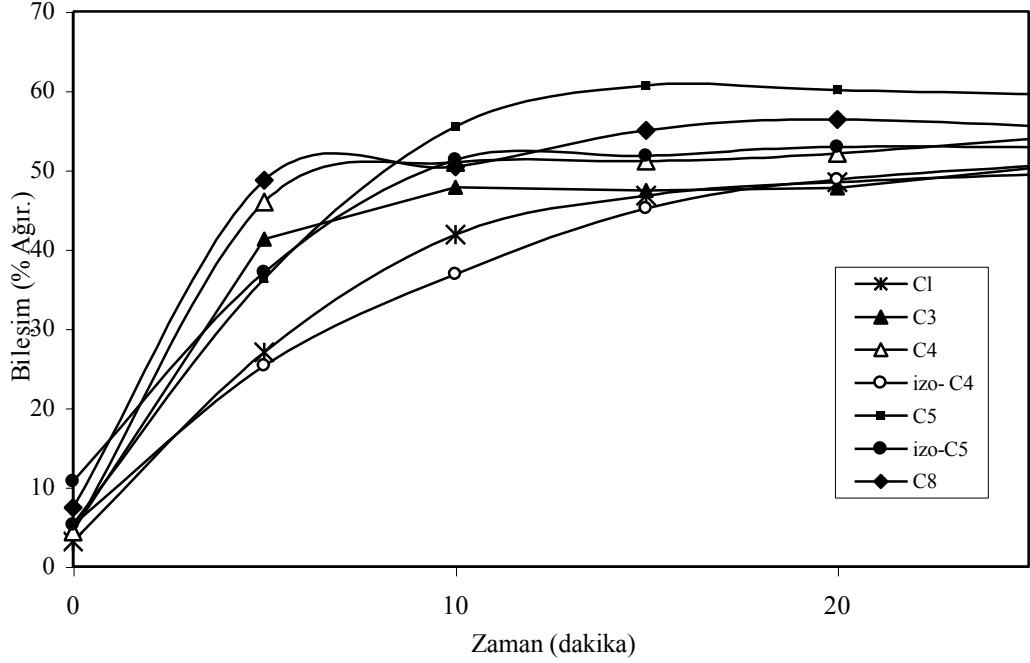
Şekil 3.17. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0.5; enzim miktarı: asidik yağın %15 'i; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık :60 °C)

3.5.5 Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile esterleşme reaksiyonuna alkol cinsinin etkisi

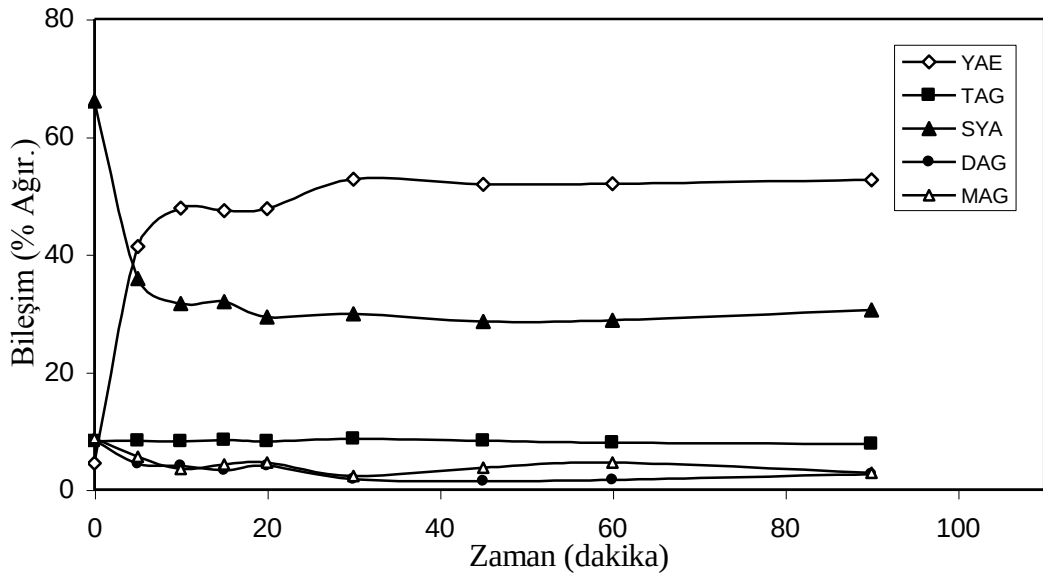
Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonuna farklı alkol türlerinin etkisini belirlemek amacıyla reaksiyonlar yapılmıştır. Deneyler metanol için belirlenmiş optimum koşullarda (1: 0.5 yağ/ alkol, yağın %15'i kadar enzim, 30°C, n-hegzan: 25 mL) n- Amil alkol (C5), izo- Amil alkol (izo-C5), Propanol (C3), n- Bütıl alkol (C4), izo- Bütıl alkol (izo-C4) ve Oktanol (C8) kullanılarak yapılmıştır. Şekil 3.18' de farklı alkoller varlığında elde edilmiş YAE içerikleri zamanın fonksiyonu olarak gösterilmiştir. Yapılan deneylerin ürün bileşimleri Tablo A. 15-20'de ve Şekil 3.19.– 3.24'de verilmiştir. Metanol (C1) ile yapılan çalışmanın ürün bileşimi ise daha önce Şekil 3.15'de verilmiştir.

Şekil.3.18'de gösterilen sonuçlara dayanılarak, enzimatik esterleşme reaksiyonunda kullanılan alkol türünün kullanılan alkol türünün ürün bileşimini etkilediği ortaya konmuştur. Başlangıç hızları dikkate alındığında alkolün zincir uzunluğu arttıkça reaksiyon hızının da arttığı görülmüştür. Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazının alkoliz reaksiyonlarında da benzer davranış gösterdiği literatürde verilmektedir [12]. Ancak reaksiyonun ilerleyen safhalarında en yüksek ester oluşumu n- amil alkolle gerçekleşmiştir. Alkol yapısındaki dallanma arttıkça, düz zincir yapısına oranla YAE içeriğinin düştüğü de gözlemlenmiştir. Yapılan altı

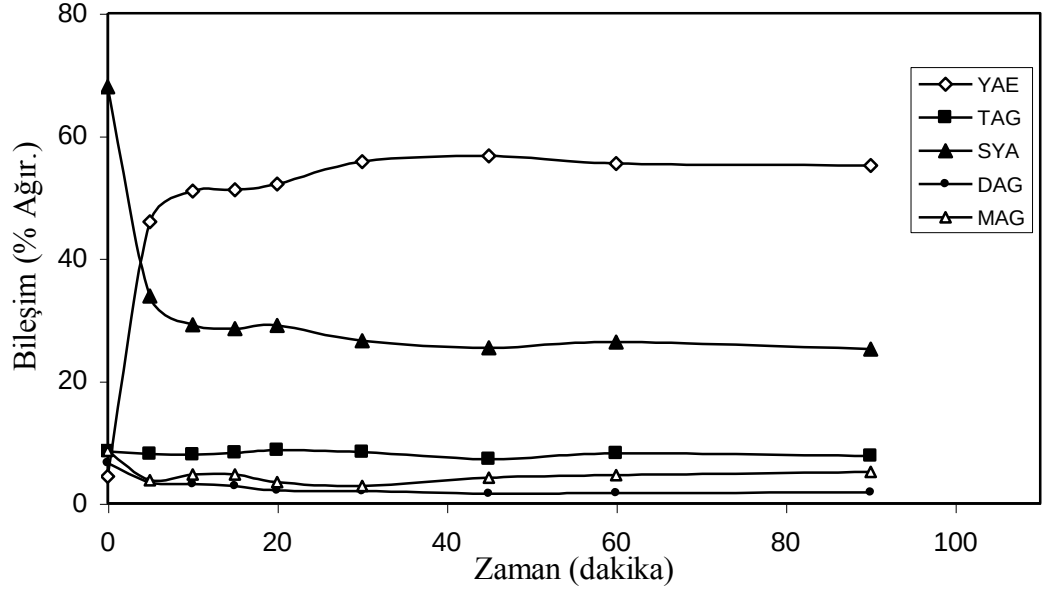
çalışmada da ürünün TAG içeriğinde tükenmeye rastlanmamıştır. Bu durum hem ortamda yeterli miktarda alkol bulunmamasından hem de alkoliz reaksiyon hızının çok yavaş olmasından kaynaklanmaktadır.



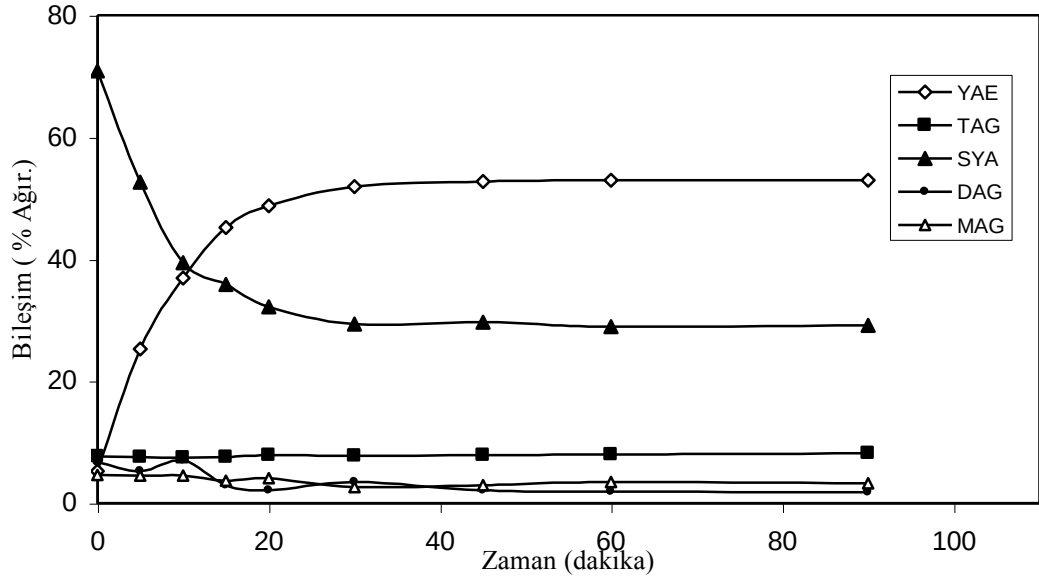
Şekil 3.18. Farklı alkollerle gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g, yağ asidi/ alkol mol oranı:1/0.5, enzim miktarı: yağın %15'i, n – hegzan : 25 mL, sıcaklık:30 °C)



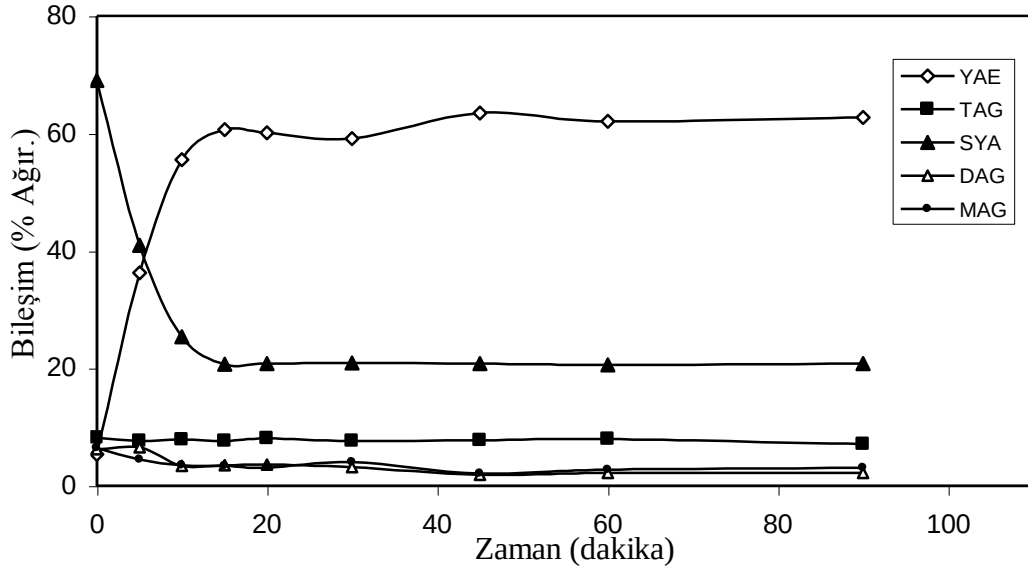
Şekil 3.19. Mısır asidik yağının farklı alkol cinsleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi/ alkol oranı; 1:0,5, alkol: Propanol, n– hegzan : 25 mL, sıcaklık: 30 °C)



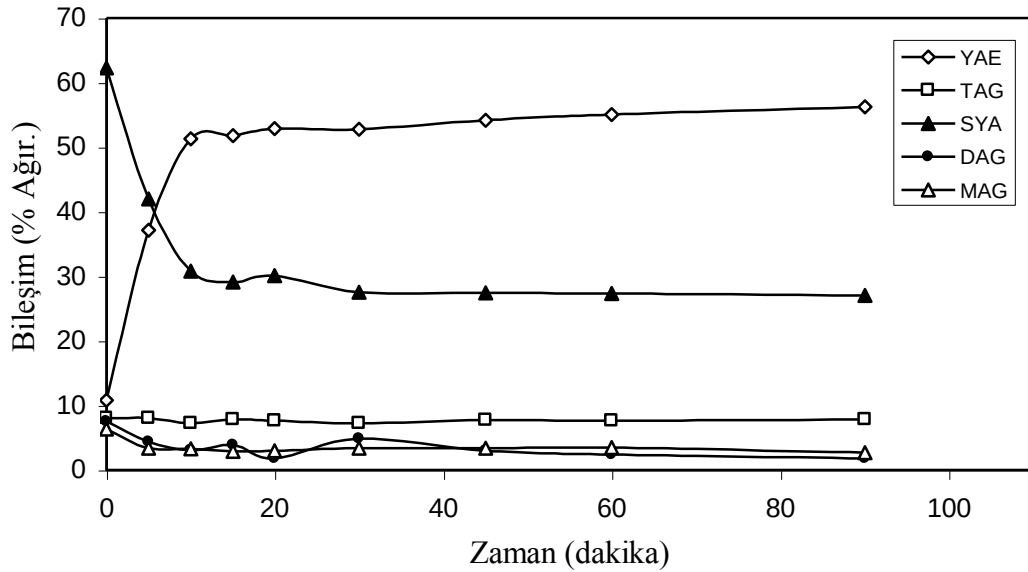
Şekil 3.20. Mısır asidik yağının farklı alkol cinsleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1:0,5, alkol: n- Bütanol, n – hegzan : 25 mL, 30 °C)



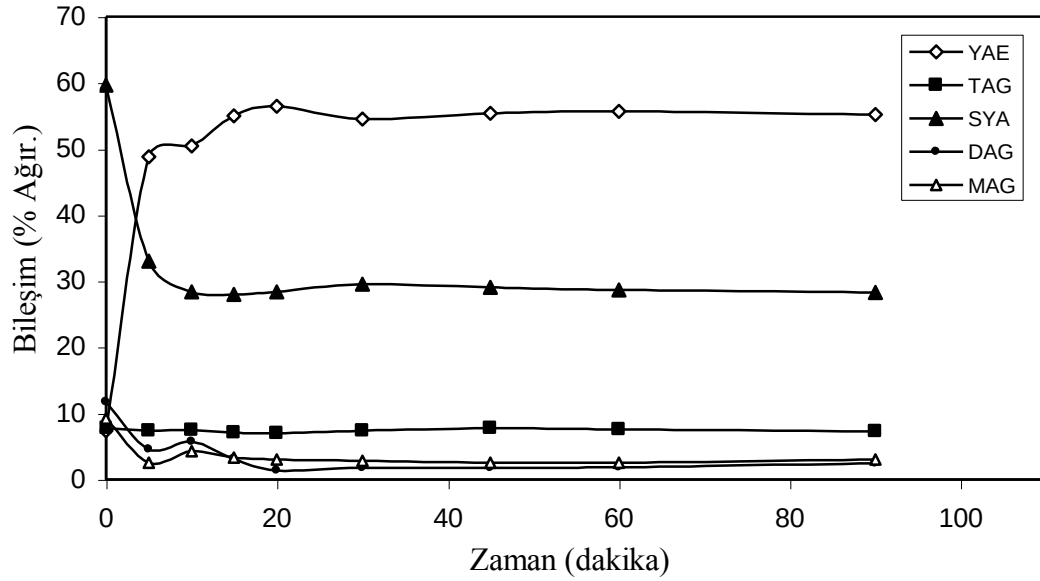
Şekil 3.21. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı :yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı: 1/0,5, alkol: izo- Bütanol, n – hegzan : 25 mL, sıcaklık :30 °C)



Şekil 3.22. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: n- Amil Alkol, n – hegzan : 25 mL, sıcaklık :30 °C)



Şekil 3.23. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: izo- Amil Alkol n – hegzan : 25 mL, sıcaklık :30 °C)



Şekil 3.24. Mısır asidik yağının farklı alkol cinsleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı:5 g,enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi /alkol oranı; 1/0,5, alkol: Oktanol n – hegzan : 25 mL, sıcaklık: 30°C)

3.6 Mısır Asidik Yağının Novozym 435 Lipazı ile Üç Kademeli Esterleşme Reaksiyonu

Mısır asidik yağının Novozym 435 lipazı ile 3 kademeli enzimatik esterleşmesi için, 5 g yağ, yağın %15 i kadar enzim, 25 mL n – hegzan, 30°C de yürütülen esterleşme reaksiyonlarında toplam reaksiyon süresi 48 saat olarak seçilmiştir. Reaksiyonun ilk kademesi 3/1 yağ asidi / metanol ile 6 saat yürütülmüştür. 6 saat sonunda ürünün ester içeriği %29.4 e yükselmiştir. Reaksiyonun 6. saatinde ortama başlangıç alkol miktarında metanol tekrar ilave edilmiş ve reaksiyona 21 saat devam edilmiştir. Sonuç olarak 27 saat sonunda ürün ester içeriği yaklaşık %71 e yükselmiştir. 27. saatte daha önceki kademedeki kullanılan alkolün 2 katı daha metanol ortama ilave edilerek reaksiyona devam edilmiştir. Böylece 3. kademedeki ilave edilen metanol ile birlikte yağ asidi / alkol mol oranı 3/4 olmuştur. Ancak toplam 48 saat sonunda SYA değeri yaklaşık %4 e düşerken, ester miktarı %75.5 e yükselmiştir. TAG da ise pratik olarak herhangi bir değişme gözlenmemiştir. Bu çalışma şekliyle YAE oluşumu %50 lerden %75.5 e yükselmiştir. Ürün bileşiminin zamanla değişim tablosu tablo 3.4’te verilmiştir.

Tablo 3.4. Üç kademeli uygulanan enzimatik esterleşme reaksiyonunda oluşan YAE içeriklerinin zamanla değişimi (yağ miktarı: 5 g, yağ asidi/ alkol mol oranı:3: 1, 3: 1, 3: 2, enzim miktarı yağın %15'i, n – hegzan : 25 mL; 30 °C)

Zaman(saat)	Ürün bileşimi (ağırlıkça %)				
	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,33	7,68	67,89	7,97	8,85
0,5	29,49	9,48	47,18	3,88	5,33
1	30,27	9,22	49,72	2,8	3
2	28,3	9,63	51,1	2,86	2,37
3	26,61	9,62	48,9	5,95	3,28
4	27,73	8,88	45,91	7,63	4,77
6	29,39	9,79	44,72	6,46	3,65
6 saat1 dak	36,99	9,55	43,19	2,1	2,2
6,5	40,51	9,77	38,51	2,1	3,79
7	46,56	10,09	31,53	2,74	2,96
9	54,46	10,65	24,01	2,15	3,21
24	71,07	11,67	5,25	2,03	3,99
27	70,9	12,79	4,32	2,82	3,08
27 saat 1 dak.	72,03	12,13	4,67	2,55	3,3
27,5	77,19	9,68	2,23	2,21	2,88
28	77,55	9,78	2,61	1,9	2,74
31	75,89	10,05	3,76	2,16	2,5
48	75,51	10,11	3,56	2,37	2,98

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, mısır asidik yağının Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı varlığında, enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Çalışmada varılan sonuç, değerlendirme ve öneriler aşağıda verilmiştir.

1. Çözücülü ve çözücüsüz ortamlarda gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucu; çözücüsüz ortamda daha yüksek oranda ester verimi elde edilmiştir. Fakat reaksiyon sırasında meydana gelen viskozite artışıyla numune alımında meydana gelen zorluk nedeniyle çözücülü ortam tercih edilmiştir. Bu çalışmada çözücü olarak n-Hegzan kullanılmıştır. İleride yapılacak çalışmalarda farklı çözücüler denenerek, enzimatik esterleşme reaksiyonu için en uygun çözücü belirlenebilir.
2. Çeşitli toplam yağ asidi/Alkol mol oranlarında metanolle gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucu optimum mol oranı 1/0,5 olarak belirlenmiştir. Metanol miktarı arttıkça elde edilen ester miktarının düştüğü gözlemlenmiş, çeşitli literatürlerde de belirtildiği gibi metanolün lipazı inaktive ettiği belirlenmiştir. Metanol fazlası ile oluşan enzim inaktivasyonunu önlemek için üç kademeli kesikli enzimatik esterleşme reaksiyonları yapılmış ve ürünün ester içeriği ağırlıkça % 50' den % 75.5'e yükselmiştir.
3. Enzim miktarı arttıkça esterleşme reaksiyon hızının da arttığı gözlenmiş, optimum enzim miktarı asidik yağın % 15'i olarak tespit edilmiştir.
4. Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazının katalizlediği enzimatik esterleşme reaksiyonları için optimum sıcaklık 30°C olarak bulunmuştur. Sıcaklık 20°C olduğunda gerçekleştirilen reaksiyonlarda benzer şekilde yüksek dönüşüm oranı sağlanmasına rağmen, reaksiyon sırasında sıcaklığın kontrolü zorlaştığından 30°C optimum koşul olarak seçilmiştir.
5. Farklı zincir uzunluklarında, dallanmış ve düz zincirli alkollerle Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazı varlığında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonları sonucu, alkol zincir uzunluğu arttıkça (C1, C3, C4,

C5) ürün bileşiminin ester içeriğinin de arttığı belirlenmiştir. Buna karşın n-n-oktanol (C8) ile yapılan deneyde ester miktarında düşme görülmüştür. Aynı zincir uzunluğuna sahip düz ve dallanmış zincirli alkoller kullanıldığında ise zincir üzerindeki dallanmanın esterleşme dönüşümünü düşürdüğü görülmüştür.

6. Gerçekleştirilen tüm reaksiyonlarda, ürün bileşiminin TAG içeriğinde azalmaya rastlanmamıştır. Bu sonuca dayanarak, Novozym 435 (*Candida Antarctica*) lipazının SYA'lara karşı seçicilik gösterdiği ortaya konmuştur. Literatürde de bu lipaz ile yürütülen alkoliz reaksiyon hızlarının çok düşük olduğu açıklanmaktadır.İleride yapılacak çalışmalarda değişik lipazlar varlığında mısır asidik yağının esterleşmesi incelenip, lipaz etkinlikleri karşılaştırılabilir.
7. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşmes reaksiyonu bu çalışmada kesikli sistemde gerçekleştirilmiştir. İleride yapılacak çalışmalarda, reaksiyon sürekli akışlı sistemlerde gerçekleştirilerek, kesikli sistemden olan farkları ortaya konabilir. Ayrıca lipazla doldurulmuş sabit yataklı bioreaktörler hazırlanarak, lipazın tekrar kullanılabilirlik dereceleri saptanabilir.
8. Esterleşme reaksiyonu sonucu oluşan suyun moleküler elek yardımıyla uzaklaştırılması denenmiş fakat olumlu bir netice alınamamıştır. Suyun vakumla veya azeotropik destilasyonla uzaklaştırılması da incelenebilir.
9. Yağ sanayii yan ürünü olan asidik yağlar, enzimatik esterleşme ile değerli yağ kimyasalları olan yağ asidi esterlerine dönüştürülebilir. Asidik yağın içinde bulunan TAG'ların önce hidroliz ile yağ asitlerine dönüştürülmesi, daha sonra esterleşme reaksiyonun uygulanarak lipazın seçiciliğine bağlı olarak esterleşmeyen TAG'ların yağ asidi esterlerine dönüşümü sağlanabilir.
10. Yağ asidi esterleri TAG lara göre çok daha düşük kaynama noktasına sahip oldukları için esterlerin destilasyonu ile saf olarak kazanılması da mümkündür.

KAYNAKLAR

- [1] **Ghosh, S., Bhattacharya, D.K.**, 1995. Utilization of Acid Oils in Making Valuable Products by Microbial Lipase Technology, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **72**, 1541-1544.
- [2] **Kirk, R.E., Othmer, D.F.**, 1965. Encyclopedia of Chemical Technology, Vol.8, pp. 374-375, 777-820 , Interscience Publishers a Division of John Wiley and Sons Inc., New York.
- [3] **Bor, T.**, 1988. Hint Tohumu lipazı ile bitkisel yağların enzimatik hidrolizi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [4] **Pattison, E.S.**, 1968. Fatty Acids and Their Industrial Applications, pp.48-57, Marcel Dekker, INC., New York.
- [5] **Kaufman, A.J., Ruebusch, R.J.**, 1990. Oleochemicals: a world overview, *World Conference on Oleochemicals Into the 21st Century*, Kuala Lumpur, Malaysia, 8-12 October, !0-38.
- [6] **Swern, D.**, 1979. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Fourth Edition, Vol.2, pp. 97-127, Wiley Interscience Publishers a Division of John Wiley and Sons Inc., New York.
- [7] **Mert, Ş.**, 1994. Gliserinin yağ asitleri ile çörek otu tohumu varlığında enzimatik esterleşme reaksiyonunun incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [8] **Bogaerts, L.**, 1990. Esters: performance oleochemicals for food and industrial usage, *World Conference on Oleochemicals Into the 21st Century*, Kuala Lumpur, Malaysia, 8-12 October, 251-255.
- [9] **Gandhi, N.N.**, 1997. Applications of Lipase, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **74**, 621-629.
- [10] **Swern, D.**, 1996. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Fifth Edition, Vol.5, pp.46-51, Wiley Interscience Publishers a Division of John Wiley and Sons Inc., New York.
- [11] **Mukherjee, K.D.**, 1990. Lipase-Catalyzed Reactions For Modification of Fats and Other Lipids, *Biocatalysis*, **3**, pp. 277-293, Harwood Academic Publishers, United Kingdom
- [12] **Gandhi, N.N., Mukherjee, K.D.**, 2001. Specificity of Papaya Lipase in Esterification of Aliphatic Alcohols – A Comparison with Microbial Lipases, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **78**, 161-165.
- [13] **Shimada, Y., Watanabe, Y., Samukawa, T., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H., Tominaga, Y.**, 1999. Conversion of Vegetable Oil to Biodiesel Using Immobilized *Candida antarctica* Lipase, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **76**, 789 – 793

- [14] **Shimada, Y., Watanabe, Y., Sugihara, A., Tominaga, Y.,** 2000. Enzymatic Conversion of Waste Edible Oil to Biodiesel Fuel in a Fixed-Bed Bioreactor, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **78**, 703 – 707
- [15] **Steinke, G., Weitkamp, P., Klein, E., Mukherjee, K.D.,** 2001. High – Yield Preparation of Wax Esters via Lipase – Catalyzed Esterification Using Fatty Acids and Alcohols from Crambe and Camelina Oils, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 647-651
- [16] **Basheer, S., Cogan, U., Nakajima, M.,** 1998. Esterification Kinetics of Long – Chain Fatty Acids and Fatty Alcohols with a Surfactant – Coated Lipase in n-Hexane, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **75**, 1783 – 1789
- [17] **Awang, R., Basri, M., Admad, S., Salleh, A.B.,** 2000. Enzymatic Esterification of Dihydroxystearic Acid, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **77**, 609 – 612
- [18] **Weber, N., Weitkamp, P., Mukherjee, K.D,** 2001. Steryl and Stanyl Esters of Fatty Acids by Solvent – Free Esterification and Transesterification in Vacuo Using Lipases from *Rhizomucor miehei*, *Candida antarctica*, and *Carica papaya*, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 5210 – 5216
- [19] **Yan, Y., Bornscheuer, U.T., Stadler, G., Wahl, S.L., Reuss, M., Schmid, R.D.,** 2001. Production of Sugar Fatty Acid Esters by Enzymatic Esterification in a Stirred – Tank Membrane Reactor: Optimization of Parameters by Response Surface Methodology, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **78**, 147 - 152
- [20] **Cocks, L. V., Van Rede, C.,** 1996 . Laboratory Handbook of Oil and Fat Analysis, Academic Press, London and New York.
- [21] **Sampling and Analysis of Fats and Oils,** 1973. *Am. Oil. Chem. Soc.*, Official Method Ce 2-66
- [22] **Klibanov, A.M.,** 1997. Why Are Enzymes Less Active in Organic Solvents Than in Water?, *TIBTECH*, **15**, 97- 101
- [23] **Malcata, F.X., Reyes, H.R., Garcia, H.S., Hill, C.G., Amundson, C.H.,** 1992. Kinetics and Mechanisms of Reactions Catalyzed by Immobilized Lipases, *Enzyme Microb. Technol.*, **14**, 426- 446

EK A.

Tablo A.1. Mısır asidik yağının çözücüsüz ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; yağ asidi / alkol mol oranı : 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C)

Zaman (saat)	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	15,76	9,06	55,06	6,82	7,66
1	30,9	9,62	41,86	5,69	6,18
2	29,82	10,4	39,9	6,2	8,21
3	31,41	9,07	40,59	6,03	7,27
4	29,01	8,29	39,35	7,99	9,81
5	31,76	9,41	40,74	5,93	6,51
6	30,96	8,71	38,87	8,25	7,54
7	30,42	10,86	40,45	5,31	7,16
24	31,62	10,32	39,01	5,94	7,63

Tablo A.2. Mısır asidik yağının çözücülü ortamda enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşimini zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; yağ asidi / alkol mol oranı : 1/1; enzim miktarı : yağın %10 u; sıcaklık : 50 °C; n – hegzan : 25 mL)

Zaman (saat)	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	10,34	8,58	66,16	4,73	4,43
1	20,36	8,78	58,24	3,41	3,26
2	20,03	8,83	56,61	3,41	5,34
3	19,91	8,41	56,65	5,25	4,1
4	19,98	8,29	55,55	5,68	4,83
7	21,48	9,11	55,14	2,78	5,56
24	20,45	8,08	53,45	6,28	6,1

Tablo A.3. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi / alkol oranı; 1/0.25; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,07	9,01	69,56	7,25	4,61
5	20,4	9,49	53,03	6,84	4,44
10	23,33	9,29	54,02	4,19	3,3
15	23,35	8,52	53,23	3,87	4,3
20	24,61	8,9	53,12	3,83	3,63
30	23,42	9,19	52,3	3,71	5,61
45	22,62	9	52,77	5,55	4,23
60	22,09	8,56	52,02	5,14	5,77
90	22,37	7,83	52,95	4,45	6,71

Tablo A.4. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi / alkol oranı; 1/0.5; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	6,08	8,54	68,86	6,31	4,59
5	29,73	8,65	45,58	5,78	4,59
10	38,78	9,31	38,61	3,37	4,19
15	42,53	9,22	35,47	3,1	3,94
20	42,53	8,54	33,72	5,41	4,11
30	42,82	9,46	33,72	3,01	2,51
45	45,5	8,84	32,85	5,2	4,62
60	46,15	9,34	33,41	3,14	2,43
90	45,61	8,16	32,83	4,09	3,59

Tablo A.5. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı : 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi / alkol oranı; 1/1; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman(dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	4,26	8,6	69,48	6,44	5,49
5	14,9	9,12	59,07	5,86	5,3
10	18,11	9,32	57,01	5,54	4,23
15	18,16	9,26	55,09	5,89	5,83
20	18,34	9,22	54,81	5,79	6,09
30	18,43	8,8	57,17	5,59	4,16
45	19,11	9,13	54,85	6,77	4,75
60	17,64	9,03	55,64	5,58	6,39
90	18,38	8,1	55,17	6,26	6,35

Tablo A.6. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g; enzim miktarı: yağın %10 u; yağ asidi / alkol oranı; 1/2; n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	2,42	8,58	70,38	6,98	6,03
5	8,63	8,76	64,4	6,02	6,55
10	10,29	8,95	64,52	5,61	4,99
15	10,15	8,67	61,58	6,02	7,97
20	9,25	8,63	61,04	8,36	7,01
30	10,84	8,54	63,6	7,14	4,1
45	9,2	7,94	63,76	7,63	5,76
60	10,01	8,2	62,82	7,61	3,93
90	10,22	8,94	63,84	5,71	5,6

Tablo A.7. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %10 u, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C, moleküler elek : 0.1 g)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,15	8,73	70,16	6,34	5,89
5	15,3	8,18	62,53	3,61	4,67
10	19,19	8,83	54,04	6,89	5,24
15	25,05	8,65	50,91	3,6	5,99
20	25,34	8,71	48,16	5,76	6,29
30	27,48	8,81	47,36	5,47	5,13
45	29,66	8,5	45,67	6,23	5,97
60	28,67	8,28	45,71	5,72	5,93
90	30,16	8,75	45,94	3,46	5,99

Tablo A.8. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %5 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,15	8,73	70,16	6,34	5,89
5	15,3	8,18	62,53	3,61	4,67
10	19,19	8,83	54,04	6,89	5,24
15	25,05	8,65	50,91	3,6	5,99
20	25,34	8,71	48,16	5,76	6,29
30	27,48	8,81	47,36	5,47	5,13
45	29,66	8,5	45,67	6,23	5,97
60	28,67	8,28	45,71	5,72	2,38
90	30,1	8,75	45,94	3,46	1,45

Tablo A.9. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağırl.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	7,15	8,44	67,39	6,34	4,99
5	42,56	9,37	33,66	5,15	3,45
10	44,72	9,1	32,83	4,44	3,19
15	43,71	9,14	33,38	4,58	3,49
20	46,49	9,51	33,1	2,33	2,86
30	46,67	9,67	33,42	1,84	3,68
45	46,22	9,43	31,93	3,49	3,19
60	46,36	9,51	31,68	5,74	2,37
90	46,2	9,03	32,92	1,86	4,2

Tablo A.10. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %20 si, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, n – hegzan: 25 mL; sıcaklık: 50 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağırl.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	17,45	8,12	59,62	3,23	5,91
5	37,05	9,71	34,87	6,78	5,39
10	41,52	9,56	36,26	2,46	4,34
15	41,70	9,81	36,96	2,41	3,54
20	43,77	8,92	37,22	1,91	2,42
30	40,21	9,26	36,67	5,75	2,16
45	39,62	9,5	36,36	5,35	3,3
60	40,18	9,4	37,33	3,33	3,94
90	42,03	9,36	35,94	3,39	3,4

Tablo A.11. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 20 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağırl.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,87	8,81	71,71	5,27	5,39
5	25,79	9,18	48,35	6,71	4,94
10	45,23	9,36	28,51	3,59	2,37
15	50,79	9,33	31,74	3,87	4,22
20	51,27	9,91	27,77	1,93	3,84
30	50,74	9,79	28,73	2	3,4
45	49,77	9,18	29,2	3,06	3,33
60	50,73	9,83	29	1,4	3,86
90	50,28	8,87	29,98	2,19	3,33

Tablo A.12. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı :yağın %15 i, yağ asidi/alkol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,13	9	71,72	6,49	5,03
5	26,99	9,37	46,5	6,71	5,13
10	41,84	9,13	30,82	7,29	5,72
15	46,75	9,64	29,78	3,9	4,27
20	48,49	9,53	28,59	3,32	4,36
30	50,29	9,69	29,55	2,33	2,72
45	51,58	9,44	29,56	1,88	2,34
60	50,14	9,49	29,73	2,61	2,73
90	50,08	9,31	30,52	2,09	2,71

Tablo A.13. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i, yağ /alkol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık: 40 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman(dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	3,04	8,29	70,35	5,45	5,6
5	32,22	9,14	41,43	5,47	4,26
10	41,89	9,56	33,03	4,28	2,9
15	44,52	9,84	31,02	2,3	3,85
20	44,64	9,88	31,05	2,04	4,05
30	44,94	9,22	31,45	2,66	3,47
45	45,9	9,93	31,61	1,95	2,28
60	44,93	9,51	32,7	2,05	3,15
90	45,82	9,48	31,4	2,2	2,57

Tablo A.14. Mısır asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:60 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	10,36	9,03	63,53	5,55	5,22
5	38,05	10,13	38,31	4,36	4,03
10	39,47	9,91	35,71	4,08	3,09
15	38,37	10,01	37,44	2,75	4,48
20	39,43	10,31	36,21	3,26	3,72
30	38,66	9,96	36,68	3,69	3,72
45	38,15	10,1	35,35	4,61	4,55
60	39,06	10,01	32,25	4,93	6,34
90	38,02	9,7	31,8	7,48	5,42

Tablo A.15. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı :yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1:/,5, alkol: n- Propanol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	4,51	8,13	66,03	8,36	8,77
5	41,26	8,27	35,82	4,37	5,53
10	47,86	8,15	31,63	4,08	3,54
15	47,39	8,35	31,91	3,29	4,3
20	47,73	8,22	29,33	4,01	4,56
30	52,7	8,65	29,82	1,76	2,29
45	51,87	8,29	28,59	1,37	3,71
60	52,04	7,99	28,73	1,6	4,59
90	52,65	7,78	30,5	2,61	2,84

Tablo A.16. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: n- Bütil Alkol n – hegzan : 25 mL; 30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	4,36	8,5	68,02	6,6	8,54
5	45,96	8,03	33,86	3,47	3,71
10	50,93	7,96	29,13	3,18	4,65
15	51,16	8,29	28,53	2,83	4,66
20	52,07	8,71	29,05	2,12	3,43
30	55,81	8,31	26,52	2,01	2,84
45	56,75	7,25	25,42	1,59	4,17
60	55,5	8,17	26,32	1,72	4,62
90	55,19	7,69	25,2	1,79	5,16

Tablo A.17. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı yağın %15 i, yağ asidi/ alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: izo- Bütıl Alkol n – hegzan : 25 mL; 30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	5,23	7,65	70,9	6,71	4,65
5	25,29	7,55	52,67	5,29	4,51
10	36,89	7,49	39,4	6,98	4,54
15	45,15	7,52	35,85	2,93	3,7
20	48,76	7,89	32,15	2,11	4,07
30	51,95	7,79	29,31	3,5	2,62
45	52,74	7,86	29,69	2,12	2,94
60	52,95	8,01	28,9	1,86	3,48
90	52,98	8,18	29,2	1,75	3,2

Tablo A.18. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi /alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: n- Amıl Alkol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	5,31	8,2	68,98	6,25	6,4
5	36,27	7,61	40,92	6,52	4,42
10	55,47	7,88	25,33	3,35	3,48
15	60,61	7,58	20,71	3,52	3,34
20	60,07	8,06	20,81	3,56	3,02
30	59,15	7,64	20,92	3,19	4
45	63,42	7,72	20,78	1,89	2,02
60	62,09	7,95	20,59	2,21	2,69
90	62,74	7,04	20,78	2,2	3,07

Tablo A.19. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi /alkol mol oranı; 1/0,5, alkol: izo- Amil Alkol n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	10,75	7,98	62,29	7,48	6,33
5	37,11	7,98	42,02	4,38	3,37
10	51,33	7,18	30,77	3,07	3,3
15	51,74	7,8	29,1	3,82	2,88
20	52,9	7,63	30,12	1,82	2,93
30	52,76	7,23	27,48	4,84	3,37
45	54,14	7,73	27,47	2,96	3,4
60	55,06	7,66	27,36	2,33	3,45
90	56,2	7,83	27,05	1,8	2,7

Tablo A.20. Mısır asidik yağının farklı alkol türleri ile enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (yağ miktarı: 5 g, enzim miktarı: yağın %15 i, yağ asidi /alkol oranı; 1/0,5, alkol: Oktanol, n – hegzan : 25 mL; sıcaklık:30 °C)

	Ürün bileşimi (% Ağır.)				
Zaman (dakika)	YAE	TAG	SYA	DAG	MAG
0	7,4	7,75	59,67	11,69	9,17
5	48,75	7,39	32,98	4,52	2,53
10	50,44	7,46	28,39	5,67	4,25
15	55,04	7,04	27,99	3,05	3,3
20	56,41	7	28,34	1,39	3,03
30	54,53	7,36	29,49	1,74	2,81
45	55,42	7,72	29,04	1,71	2,53
60	55,66	7,54	28,7	1,81	2,53
90	55,21	7,29	28,28	2,4	3,02

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul’da doğdu. Lise eğitimini 1993-1996 yılları arasında Tekirdağ Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 1996’da başladığı, Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü lisans eğitiminden, 2000 yılında mezun oldu. Aynı yıl İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Programında yüksek lisansa başladı, halen aynı bölümde ders aşamasını bitirmiş yüksek lisans öğrencisidir.