İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEK ASİDİK YAĞININ ENZİMATİK ESTERLEŞMESİ İLE YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kim. Müh. Emel KURŞUN

Anabilim Dalı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

MAYIS 2002

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEK ASİDİK YAĞININ ENZİMATİK ESTERLEŞMESİ İLE YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Emel KURŞUN
(506001102)

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

Tez Danışmanı : **Doç.Dr. Melek TÜTER**
Diğer Jüri Üyeleri **Doç.Dr. Yüksel GÜVENİLİR (İTÜ)**
Doç.Dr. Candan TAMERLER (İTÜ)

MAYIS 2002

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında, bilgi ve hoşgörüsünü esirgemeyen, her konuda bana yardımcı olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Melek TÜTER'e, bilgi ve destekleri için hocam Sayın Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY'a, tez çalışmamın her anında bana yardımcı olan canım arkadaşım Kimya Mühendisi Elif GILBAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yazımında verdiği destek için değerli kuzenim Melih SARIOĞLU'na teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde yanımda olan ve bana sürekli destek veren sevgili aileme sonsuz teşekkürler sunarım.

MAYIS, 2002 Kim. Müh. Emel KURŞUN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ **ii**
KISALTMALAR **v**
TABLO LİSTESİ **vi**
ŞEKİL LİSTESİ **x**
ÖZET **xiii**
SUMMARY **xiv**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. TEORİK KISIM **3**
2.1. Ayçiçek Bitkisi 3
2.1.1. Ayçiçek yağı 4
2.2. Yağ Asitleri Hakkında Genel Bilgiler 5
2.3. Esterleşme Reaksiyonları 6
2.4. Esterleşme Prosesi 7
2.5. Yağlarda İnteresterifikasyon (İç Esterleşme) Reaksiyonları 8
2.5.1. Alkoliz 9
2.5.2. Asidoliz 10
2.5.3. Transesterifikasyon (Ester Değişimi) 11
2.6. Esterlerin Genel Kullanımı 12
2.7. Metil Esterler 13
2.7.1. Metil esterlerin avantajları 13
2.8. Enzimatik Esterleşme Reaksiyonları 14
2.9. Literatür Araştırması 15

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR **20**
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 20
3.2. Ayçiçek Asidik Yağının Karakterizasyonu 21
3.3. Deney Düzeneği 22
3.4. Ayçiçek Asidik Yağının Enzimatik Esterleşme Reaksiyonu 22
3.5. Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonunun Çözücülü ve Çözücüsüz Ortamlarda Yürütülmesi 23
3.6. Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Sürenin Etkisi 25
3.7. Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Moleküler Elek Kullanımının Etkisi 26
3.8. Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Toplam Yağ Asidi/Metanol Mol Oranının Etkisi 28
3.9. Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi 31
3.10. Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Sıcaklığın Etkisi 34

3.11. Ayçiçek Asidik Yağının Farklı Alkollerle Enzimatik Esterleşme Reaksiyonlarının İncelenmesi 37
3.12. Ayçiçek Asidik Yağının Metanol İle Kademeli Enzimatik Esterleşme Reaksiyonlarının İncelenmesi 42

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 45

KAYNAKLAR 47

EKLER 49

ÖZGEÇMİŞ 60

KISALTMALAR

AG	: Açilgliserol
ME	: Metil Esteri
TLC	: İnce Yüzey Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü (Flame Ionization Detector)
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol
FFA	: Serbest Yağ Asidi (Free Fatty Acid)
CGC	: Kapiler Gaz Kromatografisi
FAE	: Yağ Asidi Esteri (Fatty Acid Ester)

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1. Ayçiçek asidik yağının özellikleri 21

Tablo 3.2. Gaz kromatografisi analiz koşulları 21

Tablo 3.3. Ayçiçek asidik yağının toplam yağ asidi bileşimi 22

Tablo 3.4. Ayçiçek asidik yağının çözücülü ve çözücüsüz ortamda gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriğinin zamana göre değişimi (yağ:5 g; toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10; sıcaklık:50°C) 23

Tablo 3.5. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonu sonucu elde edilen ürünün metil ester içeriğinin zamana göre değişimi (toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10; sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL)…..... 25

Tablo 3.6. Ayçiçek asidik yağının moleküler elek kullanılarak ve kullanılmadan gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin zamana göre değişimi (toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10, sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL; moleküler elek miktarı: 0.1 g) …..... 27

Tablo 3.7. Farklı toplam yağ asidi/metanol mol oranlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (yağ miktarı:5 g; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10; sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL) …..... 29

Tablo 3.8. Farklı enzim miktarlarında gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarında elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (yağ miktarı:5 g; toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL) 31

Tablo 3.9. Farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre degişimi (toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.15; n-hekzan:25 L) 34

Tablo 3.10. Ayçiçek asidik yağının farklı alkollerle gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında elde edilen ürünlerin yağ asidi ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (yağ:5 g; toplam yağ asidi/alkol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.15; sıcaklık:40°C; n-hekzan:25 mL)... 37

Tablo 3.11. Metanolle gerçekleştirilen iki kademeli esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1.kademe: 1/1, 2.kademe:1/1) 42

Tablo 3.12. Metanolle gerçekleştirilen üç kademeli esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1.kademe: 3/1, 2.kademe:3/2, 3.kademe:3/1) 43

Tablo A.1. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C) 49

Tablo A.2. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 49

Tablo A.3. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 50

Tablo A.4. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; moleküler elek miktarı:0.1 g) 50

Tablo A.5. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 51

Tablo A.6. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/0.5; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 51

Tablo A.7. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/2; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 52

Tablo A.8. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 52

Tablo A.9. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.05; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 53

Tablo A.10. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 53

Tablo A.11. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.20; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 54

Tablo A.12. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.25; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 54

Tablo A.13. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 30°C; n-hekzan: 25 mL) 55

Tablo A.14. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL) 55

Tablo A.15. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 60°C; n-hekzan: 25 mL) 56

Tablo A.16. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 70°C; n-hekzan: 25 mL) 56

Tablo A.17. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: 1-propanol) 57

Tablo A.18. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-bütil alkol) 57

Tablo A.19. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-bütil alkol) 58

Tablo A.20. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-amil alkol) 58

Tablo A.21. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-amil alkol) 59

Tablo A.22. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-oktanol) 59

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 **:** Esterleşme ile metil esterlerin üretimi 8

Şekil 3.1 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C) 24

Şekil 3.2 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 24

Şekil 3.3 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 26

Şekil 3.4 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; moleküler elek miktarı:0.1 g) 27

Şekil 3.5 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 28

Şekil 3.6 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/0.5; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 29

Şekil 3.7 **:** Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/2; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 30

Şekil 3.8 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 30

Şekil 3.9 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.05; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 32

Şekil 3.10 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 32

Şekil 3.11 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.20; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 33

Şekil 3.12 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.25; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL) 33

Şekil 3.13 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 30°C; n-hekzan: 25 mL) 35

Şekil 3.14 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL) 35

Şekil 3.15 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 60°C; n-hekzan: 25 mL) 36

Şekil 3.16 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 70°C; n-hekzan: 25 mL) 36

Şekil 3.17 : Ayçiçek asidik yağının faklı alkollerle enzimatik esterleşme reaksiyonu sonucu elde edilen ester ürün miktarına alkol cinsinin etkisi (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL) 38

Şekil 3.18 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: 1-propanol) 38

Şekil 3.19 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-bütil alkol) 39

Şekil 3.20 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-bütil alkol) 40

Şekil 3.21 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-amil alkol) 40

Şekil 3.22 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-amil alkol) 41

Şekil 3.23 : Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-oktanol) 41

AYÇİÇEK ASİDİK YAĞININ ENZİMATİK ESTERLEŞMESİ İLE YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN ÜRETİMİ

ÖZET

Yağ asitleri ve esterleri kimya sanayiinde oldukça büyük öneme sahiptir. Kısa zincirli yağ asidi esterleri gıda sanayiinde tat ve aroma maddesi olarak kullanılmaktadır. Uzun zincirli yağ asitlerinin metil ve etil esterleri yağ alkollerinin üretiminde hammaddde olarak kullanıldıkları gibi dizel yakıtı alternatifi (biyodizel) olarak da kullanım alanına sahiptirler. Yağ asitlerinin uzun zincirli esterleşme ve alkoliz reaksiyonları ile üretimleri endüstride sınırlı sayıda uygulanmaktadır. Çünkü çoklu doymamış yağ asitleri bu proseslerde polimerizasyon ve diğer bazı reaksiyonlarla değişime uğrayarak istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna neden olurlar.

Günümüzde, mikrobiyal lipazların katalizör olarak kullanıldığı biyoteknolojik uygulamalar, doymamış yağ asitleri gibi yüksek sıcaklıklarda bozunan hammaddelerin ortam sıcaklığında dönüştürülmesine olanak sağladıkları için önem kazanmış, özellikle ester üretimi konusunda yapılan araştırmalarda büyük bir artış olmuştur.

Bu çalışmada, yemeklik ayçiçek yağı üretimi sırasında açığa çıkan ayçiçek asidik yağının Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığındaki enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Farklı enzim/yağ ağırlık oranı, sıcaklık, toplam yağ asidi/alkol mol oranlarında, n-hekzan ortamında yürütülen reaksiyonlarla esterleşme reaksiyonu için optimum koşullar belirlenmiştir.

Ayçiçek asidik yağı ve metanolün Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonu için optimum sıcaklığın 40°C, enzim/yağ ağırlık oranının 0.15 ve toplam yağ asidi/metanol mol oranının ise 1/1 olduğu saptanmıştır.

Enzimatik esterleşme reaksiyonları, metanol için belirlenen optimum koşullarda farklı alkollerle (1-propanol, n-bütil alkol, izo-bütil alkol, n-amil alkol, izo-amil alkol, n-oktanol) yürütülmüş ve en yüksek ester verimi (%72.4) n-oktanol kullanıldığında elde edilmiştir.

PRODUCTION OF FATTY ACID ESTERS BY ENZYMATIC ESTERIFICATION OF SUNFLOWER ACID OIL

SUMMARY

Fatty acids and fatty acid esters have an enormous importance in chemical industry. Short chain fatty acid esters are used in food industry as flavor and odour agents. Methyl and ethyl esters of long chain fatty acids are used as raw materials for production of fatty alcohols, they also utilized as alternative of diesel fuel (biodiesel). Production of long chain fatty acid esters by esterification and alcoholysis reactions have limited applications in the industry. This is partly because poly unsaturated fatty acids are modified by polimerization and some other reactions consequently cause the formation of undesirable side products.

Nowadays, biotechnological applications catalyzed by microbial lipases are gaining importance because of their ability to convert raw materials, at medium temperature, rather than breaking them at high temperatures like unsaturated fatty acids, this reflects itself in increasing number of research projects on esters.

In this study, enzymatic esterification reaction of sunflower acid oil, which is obtained during the production of edible sunflower oil, in the presence of Novozym 435 microbial lipase was examined. The optimum conditions of esterification reaction was investigated, in reactions carried out at different enzyme/oil weight ratios, temperatures, total fatty acid/methanol mol ratios and using n-hexane as solvent.

The optimum temperature, optimum enzyme/oil weight ratio and optimum total fatty acid/methanol mol ratio were observed to be 40°C, 0.15 and 1/1 respectively for the enzymatic esterification reaction of sunflower acid oil and methanol in the presence of Novozym 435 microbial lipase

Enzymatic esterification reactions were also carried out with various alcohols such as 1-propanol, n-buthanol, iso-butyl alcohol, n-amyl alcohol, iso-amyl alcohol, n-octanol, at the optimum conditions obtained for the reactions carried out with methanol. The highest ester yield (72.4%) was obtained with n-octanol.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Asidik yağlar yağ sanayiinde uygulanan alkali rafinasyonunda oluşan önemli bir yan üründür. Ticari olarak elde edilen asidik yağlardan bazıları hindistan cevizi, soya, hardal, ayçiçeği ve pirinç kepeği asidik yağlarıdır. Asidik yağlar, genellikle koyu renkli ve %40-80 oranında serbest yağ asidi, %20-50 oranında nötral gliseridler, sabunlaşmayan maddeler ve diğer safsızlıkları içeren kompleks bileşikler olup kimyasal kompozisyon itibariyle ecza sektöründe, kozmetiklerde ve diğer kimyasal endüstrilerde gereksinimi karşılamada çok büyük ve önemli potansiyel hammaddelerdir [1].

Esterleşme ve içesterleşme reaksiyonları yağ asitleri türevleri üretiminde en yaygın olarak kullanılan reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar sonucu üretilen ve başlangıç maddelerinin yapılarına bağlı olarak farklı özelliklere sahip olan esterlerin kullanımı geniş sektörlere yayılmıştır. Yağlara göre düşük kaynama noktasıyla yakıt olarak kullanılabilen metil ve etil esterler aynı zamanda pek çok kimyasal ürün için de hammaddedir. Ticari amaçla kullanılan polimerik malzemelerin temeli esterlere dayanır. Bunlara ek olarak; yağ asidi esterleri kozmetik, sabun ve ilaç endüstrisinde, termoseting reçine üretiminde, lak türü ve poliüretan kaplama sistemlerinde, kauçuk, plastik, tekstil, sentetik yağ ve gıda sanayii (lezzet ve hoş koku vericiler) gibi daha sayamadığımız çeşitli alanlarda kullanılırlar [2].

Yağ asidi esterleri, yağ asitlerinin uygun alkol veya poliollerle uygun asidik katalizör kullanılarak esterleştirilmesi sonucunda üretilirler. Esterleşme ve içesterleşme reaksiyonları çoğunlukla yüksek sıcaklıklarda ve uzun sürelerde gerçekleştirilirler ve ürün saflığı ve geri kazanılmasında zorluklarla karşılaşılır. Büyük ölçüde ihtiyaç duyulan esterlerin bu koşullarda üretilmesi hem ekonomik açıdan hem de enerji açısından sakıncalıdır.

20. yüzyılın başından itibaren esterleşme reaksiyonlarını daha ılımlı koşullarda gerçekleştirmek için katalizör olarak enzimlerin kullanılması gündeme gelmiş ve bu yönde çalışmalar yapılmıştır. Böylece reaksiyonlarda enerji tüketiminin daha az

olması sağlanarak reaksiyonların ekonomik olarak gerçekleştirilmesinin mümkün olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, yemeklik ayçiçek yağı üretimi sırasında açığa çıkan ayçiçek asidik yağının Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığındaki enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Önce bu konuda literatür araştırması yapılmış daha sonra esterleşme reaksiyonu deneysel olarak gerçekleştirilerek optimum reaksiyon koşullarının belirlenmesine çalışılmıştır.

2. TEORİK KISIM

2.1. Ayçiçek Bitkisi

Compositae familyasından Helianthus annuus L. adlı fert "ayçiçek (gündöndü, çiğdem) adı ile bilinmektedir. Bu çiçekli bitkinin 67 değişik türü vardır. Ayçiçek bitkisi genellikle tek mevsimlik yetiştirilmektedir. Ancak çok uzun ömürlü olanları da yetiştirilebilmektedir. Yetişmiş bir ayçiçek bitkisi, uzun, dik, dalsız bir görünümdedir ve yağlı tohumları içeren altın sarısı renkli bir baş kısmı vardır. Yoğun bir kökleşme gösteren bitkinin, ana kökü topraktan 3 m derinliğe kadar inebilmektedir. Kökler toprak yüzeyinden aşağıya doğru çap olarak daralır. Bu durum bitkinin toprağa güvenli bir şekilde tutunmasını azaltır. Köklerin büyük kısmı yüzeye yakın durmaktadır. Ayçiçeği bitki gövdesi 3-6 cm çapında ve sağlam yapıdadır. Bazen gövde, tüylü ve ince uzun çizgili ve 10 cm çapında olabilmektedir. Bitki çok çabuk büyür, gövde 1-3 m'lik uzunluğa erişir. Bazı türlerde gövde boyu 5 m'ye kadar çıkmaktadır. Ayçiçeği dalları, genellikle çok küçüktür ve gövdenin üst kısmına doğru oluşurlar. Yaprakları lamina geniş-oval ve kenarları dişli olup, uzun sapları vardır. Yapraklar genellikle karşılıklı yerleşik değildir, renkleri ise genelde koyu yeşildir. Ancak, yapraklar hafif mavimsi ya da kırmızımsı olabilir. Baş kısım (kapitulum) 20-30 cm çapındadır, daha büyükleri de olabilir. Ortada bulunan çiçekler küçük ve tüp şeklindedir. Kenarlarda çok sayıda dil şeklinde çiçek bulunur. Çiçekler açıldıktan sonra, kapitulum sarkık bir görünüm alır. Ayçiçek meyvası (yağlı tohum) başlıkta bulunur [3].

Ayçiçeği tohumu, yassı şeklinde olup, dibi sivri üst kısmı ise toparlak biçimindedir; siyahtan beyaza çeşitli renklerdedir, kahverengi, çizgili veya beneklileri de oluşmaktadır. Tohumun dış kısmı kabuktan oluşur. Koyu renkli kabuk ile yüksek yağ içeriği arasında bir ilişki olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, birçok melez cinsin açık renkli tohumları da yüksek yağ içerir. Kabuk yaklaşık olarak eşit oranlarda pentozan, lignin ve selüloz içerir. Kabuğun hemen altında beyaz kağıt gibi ince bir tabaka mevcuttur. Genelde çekirdek olarak adlandırılan embriyo, bir köke

bağlı iki kotiledondan oluşmuştur. Ayçiçeği tohumu 10-25 mm uzunluğunda, 7.5-15 mm genişliğinde ve 3-75 mm kalınlığında bir akendir. 1000 tohumlu olanının ağırlığı 50-150 g arasında değişir. Ayçiçeği tohumu %25-48 oranında yağ içerir ve bu değerler bazen deneysel yollarla (ıslah çalışmaları ile) %65'e kadar çıkarılabilmektedir. Tohumun kabuk miktarı yaklaşık olarak %25'tir.

Ayçiçek tarımı ilk önce Trakya'da I. Dünya Savaşı'ndan sonra başlamıştır ve büyük oranda tarım bu bölgede yapılmaktadır. Ayrıca, Marmara Bölgesinin Trakya dışındaki kısımlarında da, Ege ve Karadeniz Bölgelerinde de yaygın ayçiçek bitkisi ekimi yapılmaktadır. Ülkemizin en önemli yağ bitkilerinden biridir; ziraati gelişmiş durumdadır [3].

2.1.1. Ayçiçek Yağı

Ayçiçek yağı, ayçiçek tohumlarından, presleme ve ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilir. Ham ayçiçek yağı açık kehribar renklidir, rafinasyon ile rengi açık sarıya dönmektedir. Yağ yüksek miktarda linoleik asit, daha az miktarda da oleik asit içeriği ile tanımlanır; yağ %15'den az oranda doymuş yağ asitlerini içerir. Bu nedenle yağ mükemmel bir yemeklik yağ özelliğine sahiptir.

Ayçiçeği türleri ve yetiştiği bölgeler, tohumun genel bileşimini ve özellikle yağ asidi bileşimini etkilemektedir.

Ham ayçiçek yağı triaçilgliserolleri içerir. Bunun yanında minimum miktarlarda fosfolipid, tokoferol, sterol ve vaks da içerir. Ayçiçek yağındaki esas tokoferol α-şeklindedir. Yüksek sıcaklıklarda, ayçiçek yağındaki α-tokoferol, diğerlerine göre daha az antioksidan aktivite gösterir. Öte yandan, ayçiçek yağı, daha yüksek E vitamini aktivitesine (α-tokoferol 1.49 IU/mg ve γ-tokoferol0.14 IU/mg'dır) sahiptir. Tokoferol içerikleri, yetiştirme koşulları ve tohumların olgunluk derecelerine bağlı olarak farklılıklar gösterir. Rafinasyon sırasında %10-33'lük bir kayıp olmaktadır. Ayçiçek yağının fosfolipid içeriği %0.5-1 arasında değişir. Süreç sırasında, yağla beraber yaklaşık yarısı ekstrakte edilmektedir.

Ayçiçek yağının sterol içeriği %0.275-0.436'dır, vaks içeriği toplam lipidlerin %1'inden daha azdır. Vaksların yaklaşık %83'ü kabukta, %17'si tohumu örten ince tabakada ve eser miktarda tohumda bulunmaktadır. Bu nedenle, yağın vaks içeriği kabuk giderme işleminin etkinliğine bağlıdır.

Ayçiçek yağı, dünyadaki en lezzetli bitkisel yağlardan birisidir. Isıl değer açısından diğer bitkisel yağlarla rekabet edebilecek ölçüdedir. Yüksek iyot değerinden dolayı "yarı kuruyan yağ" olarak tanımlanır. Ayçiçek yağı doymamış yağ asit içeriğinin doymuş yağ asit içeriğine göre yüksek olmasından dolayı mükemmel bir diyet yağı özelliği taşır. Ayçiçek yağı linoleik asitçe zengin olup, yüksek miktarda E vitamini, ayrıca, A,D ve K vitaminlerini de içerir, rafinasyondan sonra, yağ özelliğini 1 yıl süreyle korur. Soğuk olarak kullanımlarda salata, sos (sirke, yağ ve baharat karışımı) ve mayonezlerde değerlendirilmektedir. Ayçiçek yağı bakımından zengin birçok margarin üretilmektedir. Ayçiçek yağı, sabun ve boya sanayiinde de uygulama alanı bulmuştur [3].

2.2. Yağ Asitleri Hakkında Genel Bilgiler

Yağ asitleri, yüksek karbon sayılı doymuş veya doymamış alifatik mono karboksilik asitlerdir. 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, linolenik, risinoleik ve erusik asitler verilebilir.

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

Doymuş yağ asitlerinin erime noktaları karbon sayısının artmasıyla artar. Doymamışlık derecesinin ise erime noktasını önemli ölçüde düşüren bir etkisi vardır. Yağ asitlerinin metil ve etil esterlerinin erime noktaları her zaman serbest yağ asitlerininkinden daha düşüktür.

Yağ asitlerinin kaynama noktaları molekül ağırlığının artmasıyla artar. 300°C'nin üstündeki sıcaklıklarda yağ asitleri hızla bozunduğundan laurik asitten büyük asitleri atmosfer basıncında distile etmek mümkün değildir. Metil esterlerinin kaynama noktaları ise karşılık geldikleri yağ asitlerinden yaklaşık 30°C daha düşüktür.

Genel olarak yağ asitlerinin viskozitesi molekül ağırlığının artmasıyla artar. Metil esterleri karşılık geldikleri yağ asitlerinden daha az viskoziteye sahiptirler.

Doymamış yağ asitlerinin viskoziteleri ise aynı karbon sayılı doymuş yağ asitlerine göre biraz daha düşüktür.

Kırılma indisi yağ asitlerinin saflığının bir ölçüsü olarak kullanılır ve doymuş yağ asitlerinde molekül ağırlığının artmasıyla artar. Doymamışlık derecesinin artışı da kırılma indisinde bir artışa neden olur. Özellikle konjuge doymamışlığın kırılma indisinin artmasında önemli bir rolü vardır [4,5].

Sıvı haldeki yağ asitlerinin yoğunlukları sıcaklığın artmasıyla düşer. Düşük molekül ağırlıklı yağ asitleri en yoğun olanlarıdır. Doymamış yağ asitlerinin yoğunlukları aynı karbon sayılı doymuş yağ asitlerine göre biraz daha fazladır. Metil esterlerin yoğunlukları karşılık geldikleri yağ asitlerinin yoğunluklarından daha düşüktür [5].

Suyun yağ asitlerindeki çözünürlüğü yağ asidinin sudaki çözünürlüğünden 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 birbirlerinden ayrılmasında kullanılır [4].

2.3. Esterleşme Reaksiyonları

Yağ asitlerinin kimya endüstrisindeki en önemli uygulama alanlarından biri yağ asidi esterlerinin üretimidir. Esterleşme, bir asit ile bir alkolün katalizör varlığında reaksiyona girerek ester oluşturmasıdır. Esterler monohidrik ve polihidrik alkollerle, etilen veya propilen oksitlerle, asetilen veya vinil asetatlarla yürütülen reaksiyonlarla elde edilirler.

Genellikle monohidrik alkoller olarak metanol, 1-propanol, 2-propanol ve 1-bütanol kullanılır. Esterleşme bir denge reaksiyonudur ve esterin yanında su da oluşur.

$$RCOOH + R'OH \rightleftharpoons RCOOR' + H_2O$$

Asit Alkol Ester Su

Reaksiyon bir asit tarafından katalizlenir. Katalizör olarak genellikle %1-3'lük sülfürik asit veya hidroklorik asit kullanılır. Denge, çeşitli yollarla tamamlanma yönüne kaydırılır. Kısa zincir uzunluğuna sahip alkoller kullanıldığında alkol/yağ asidi ağırlık oranı 2-4/1 olarak kullanılabilir. Bu ağırlık oranı 10-20/1 molar orana denktir. Yüksek mol oranlarında çalışıldığında, kütlelerin etkisi kanununa uygun

olarak denge ürünler lehinedir ve %95'in üzerinde verim elde edilir. Orta uzunlukta zincir yapısına sahip olan ve suyla karışmayan alkoller kullanıldığında asit ve alkol stokiometrik oranda kullanılabilir. Su, toluen veya ksilen kullanılarak azeotropik distilasyonla ortamdan uzaklaştırılır. Uzun zincirli alkoller kullanıldığında suyun uzaklaştırılması, azeotropik distilasyonla, inert bir gazla dağıtılarak ya da reaksiyon azaltılmış basınç altında gerçekleştirilerek yapılabilir.

Monohidrik alkoller kullanılarak üretilen esterler plastikleştirici olarak ve kozmetikte kullanılırlar.

Polihidrik alkoller olarak ise genellikle etilen, propilen, dietilen ve polietilen glikoller, gliserin, pentaeritritol ve bazı karbohidratlar kullanılırlar. Poliollerle yapılan esterleşme reaksiyonları basit alkollerle yapılanlara göre daha karmaşıktır. Çünkü polioller yağ asitleriyle ya da esterlerle karışmazlar. İyi bir reaksiyon için 230-235°C sıcaklık ve şiddetli karıştırma gereklidir. Buna karşın basit alkoller kullanıldığında daha hafif koşullarda çalışılır. 235°C'nin üzerindeki sıcaklıklar poliollerin eterlere kondense olmasına ve bozunmasına neden olur. Monoesterleri ve diesterleri üretmek için bile yaklaşık olarak stokiometrik oranlarda glikole ve yağ asidine ihtiyaç duyulur. Ürün olarak oluşan su azaltılmış basınçla, azeotropik distilasyonla veya gaz dağıtımıyla uzaklaştırılabilir. Uçucu glikollerle çalışıldığında glikol kaybını önlemek için uygun sıcaklıklarda ve basınçlarda çalışılmalıdır [6].

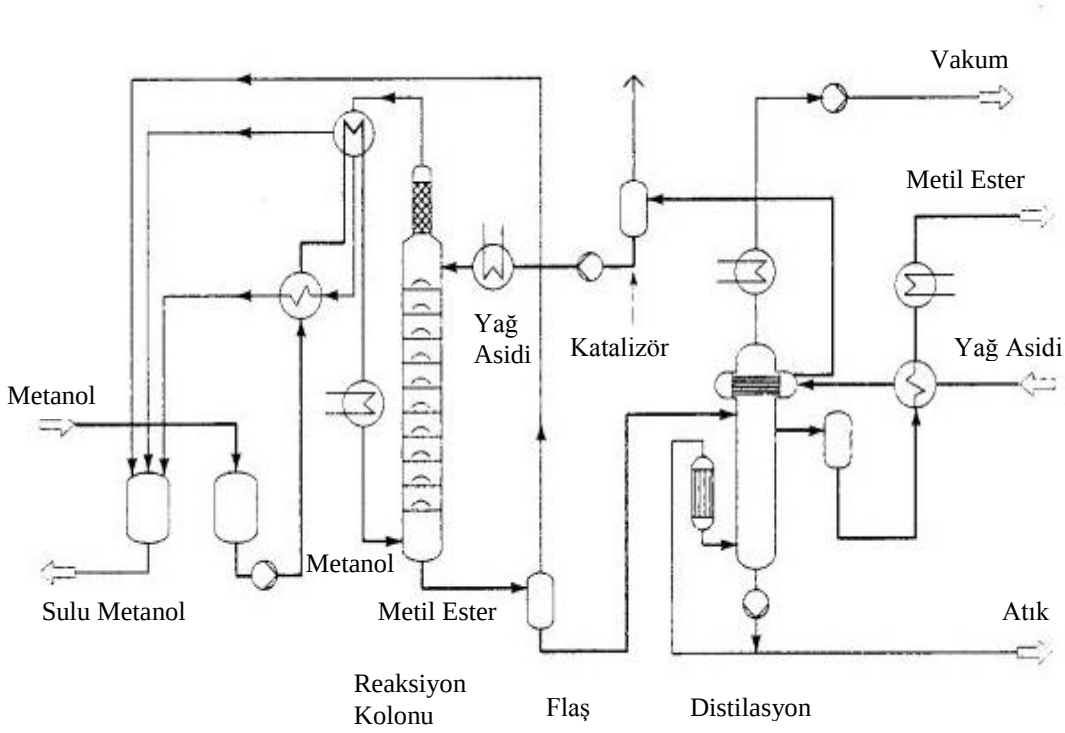
2.4. Esterleşme Prosesi

Esterleşme için kullanılan iki yöntem vardır. Bunlar kesikli ve sürekli proseslerdir. Kesikli prosesle esterleşme, basınç altında 200-250°C sıcaklıklarda gerçekleştirilebilir. Bu reaksiyon denge reaksiyonu olduğundan yüksek ester verimi elde etmek için oluşan su sürekli olarak uzaklaştırılır.

Henkel, çift-raflı reaksiyon kolonu kullanarak sürekli zıt akımlı esterleşme reaksiyonunu geliştirmiştir. Bu teknoloji aşırı ısınmış metanol buharının absorpsiyonunun ve metanol-su karışımının desorpsiyonunun aynı anda oluşmasıyla gerçekleşen esterleşme reaksiyonu prensibine dayanır. Henkel'in sürekli yağ asidi esterleşme prosesi, yaklaşık 1000 kPa basınçta ve 240°C sıcaklıkta gerçekleşir. Bu prosesin bir avantajı metanol fazlasının daha düşük tutulmasıdır. Bu proseste 1.5/1 metanol/yağ asidi mol oranında çalışılırken kesikli sistemde 3-4/1 mol oranında

çalışılır. Distilasyondan geçirilmiş metil ester için ayrıca arıtmaya ihtiyaç duyulmaz. Bu esterleşme reaksiyonunun akım şeması Şekil 2.1'de görülmektedir.

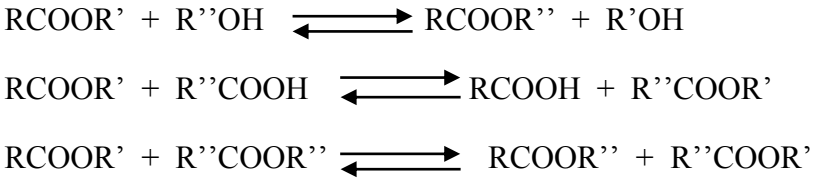
Sürekli esterleşme prosesi kesikli prosesten daha üstündür. Sürekli proseste daha kısa zamanda ve daha az metanol fazlası kullanılarak aynı miktarda yüksek ester verimine ulaşılabilmektedir. Bu proses, spesifik yağ asitlerinden ester üretiminde tercih edilen bir yöntemdir [7].



Şekil 2.1. Esterleşme ile metil esterlerinin üretimi.

2.5. Yağlarda İnteresterifikasyon (İç Esterleşme) Reaksiyonları

İnteresterifikasyon (iç esterleşme) reaksiyonları bir ester ile başka bir bileşen arasında gerçekleşen, alkoksi ve açil gruplarının yer değiştirmesiyle karakterize edilen ve farklı bir ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlar olarak tanımlanabilir. En önemli interesterefikasyon reaksiyonları, esterin bir alkolle, bir asitle veya başka bir esterle reaksiyonlarıdır. Ester-alkol arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına alkoliz, ester-asit arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına asidoliz, ester-ester arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına ise transesterifikasyon denir.



Bu reaksiyonlar tersinirdir ve büyük enerji değişikliklerini içermezler [6].

2.5.1. Alkoliz

Alkoliz en önemli iç esterleşme reaksiyonudur. Yağların alkolizi ticari açıdan çok önemlidir. Yağların metil esterlere alkolizi ve yağların karışık mono ve diaçilgliserollere gliserolizi endüstride büyük öneme sahiptir [8]. Çoğunlukla sıvı fazda gerçekleşen ve genel ifadesi aşağıda görülen alkoliz reaksiyonları dört ana grupta toplanır.

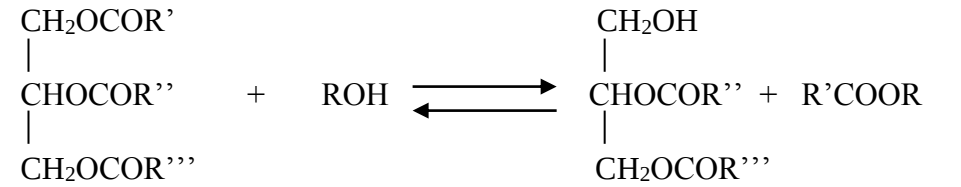
1. Monoester ve monohidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar

2. Monoester ve polihidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar

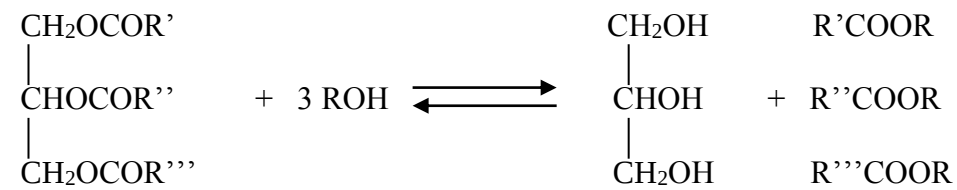
3. Poliester ve monohidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar

4. Poliester ve polihidrik alkoller arasındaki reaksiyonlar

Alkoliz reaksiyonlarında farklı alkol oranlarının kullanılmasıyla değişik bileşimde ürünler elde edilebilir [2].



Triaçilgliserol Alkol Diaçilgliserol Alkil esteri

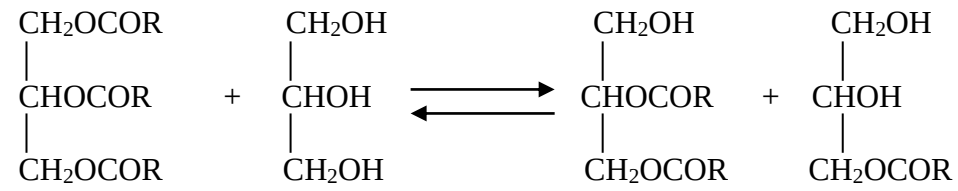


Triaçilgliserol Alkol Gliserin Alkil esterleri

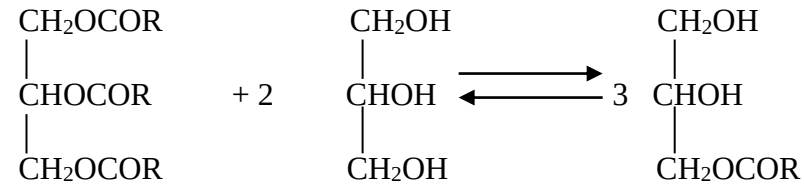
Reaksiyon özel bir alkolle gerçekleştirildiğinde o alkolün adı ile tanımlanır. Metanoliz, etanoliz; metil ve etil alkollerle yürütülen reaksiyonları ifade eder.

Alkoliz reaksiyonları, genellikle katalizör varlığında, alkol fazlasıyla geniş bir sıcaklık aralığında gerçekleştirilir. Alkali katalizörler kullanıldığında oda sıcaklığında veya altındaki sıcaklıklarda, asit katalizörler kullanıldığında yaklaşık 100°C civarında, katalizör kullanılmadığında ise 250°C civarında veya daha yüksek sıcaklıklarda çalışılır [2,6].

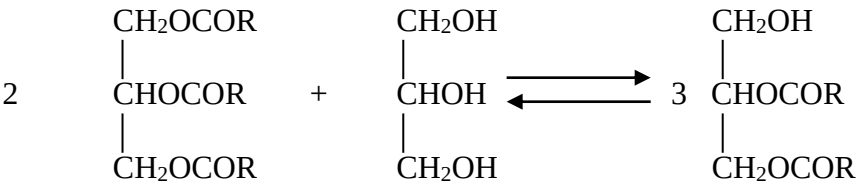
Alkolizin özel bir çeşidi olan gliseroliz reaksiyonları yağlar ile gliserin arasında gerçekleşir. Markley'e göre gliserin ve triaçilgliserol molekülleri arasında çok çeşitli reaksiyonların oluşumu mümkündür. Aşağıdaki reaksiyonlara göre triaçilgliserolün 1 molü 0.5, 1 veya 2 mol gliserin ile, hem monoaçilgliserollerin hem de diaçilgliserollerin ya da her ikisinin de farklı oranlarda üretimi için reaksiyona girebilir [2].



Triaçilgliserol Gliserin Diaçilgliserol Monoaçilgliserol



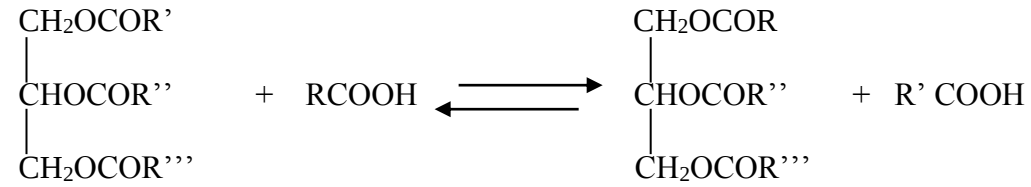
Triaçilgliserol Gliserin Monoaçilgliserol



Triaçilgliserol Gliserin Diaçilgliserol

2.5.2. Asidoliz

Asidoliz, alkolize benzer değişim gösteren bir reaksiyon çeşididir. Ester bir yağ asidi fazlasıyla reaksiyona sokulduğunda bu yağ asidi ile esterin orjinal alkol grubu birleşerek yeni ester oluşturur.

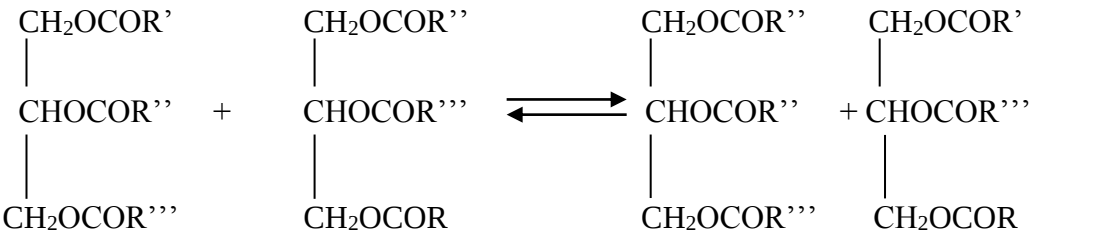


Triaçilgliserol Yağ asidi Triaçilgliserol Yağ asidi

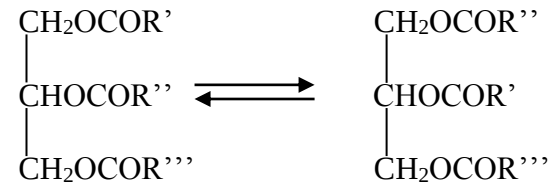
Bu reaksiyonlar için yükseltilmiş sıcaklık veya asit katalizör ya da her ikisi birden gereklidir. Alkoliz gibi bu reaksiyonlar da tersinirdir. Düşük molekül ağırlığına sahip asitler, esterlerdeki daha yüksek molekül ağırlıklı asitlerle yer değiştirme eğilimine sahiptir [8].

2.5.3. Transesterifikasyon (Ester Değişimi)

Transesterifikasyon reaksiyonları, iki ester arasında gerçekleşen ve farklı iki ester oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonlardır. Ancak alkoliz kadar çok kullanılmazlar ve genellikle alkoliz reaksiyonlarından daha yavaştırlar [2,6].



Triaçilgliserol 1 Triaçilgliserol 2 Triaçilgliserol 3 Triaçilgliserol 4



Triaçilgliserol Triaçilgliserol 2

Doğal yağların ve ester karışımlarının özelliklerinin geliştirilmesi, yağların erime noktalarının değiştirilmesi bu reaksiyonla mümkündür. Doğal yağlardan veya suni karışımlardan yüksek oranda triaçilgliserol içeren ürün elde etmek için kullanılabilen prosesin temeli, reaksiyon boyunca ürünlerden birinin ortamdan alınmasına dayanır [2].

2.6. Esterlerin Genel Kullanımı

Çözücüler ve Plastikleştiriciler: Esterlerin en büyük kullanım alanları çözücü ve plastikleştiricilerdir. Düşük esterler lake, boya ve vernik alanlarında; yüksek esterler ise plastikleştiricilerde kullanılır [6].

Reçineler, Plastikler ve Kaplamalar: Ticari olarak kullanılan pek çok polimerin ana bileşeni esterlerdir. Bunlar; akrilatlar, metakrilatlar, vinil asetat ve benzerleri gibi vinil polimerleri; polihidrik alkollerden ve dibazik asitlerden hazırlanan çapraz bağlı poliesterler olan alkid reçineleri; poliester reçineleri ve plastikleri içerirler. Bu polimerler termoplastik malzemelerdir ve film, elyaf ve kalıplanmış plastik olarak kullanılırlar [6].

Yağlayıcılar: Doğal katı yağlar, sıvı yağlar ve vakslar şeklinde bulunan esterler eski zamanlardan beri yağlayıcı olarak kullanılırlar. Hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağların yerini çoğunlukla petrol kökenli hidrokarbonlar almıştır. Petrol kökenli yağlayıcılar, uçak pervaneleri ve turbo jet uçak motorları için uygun değildirler. Bunun nedeni, uçak pervanelerinin ve turbo jet uçak motorlarının geniş iklimsel koşullar altında kullanılması ve iç motor sıcaklıklarının yüksek olmasıdır. Alifatik esterler turbo jet motor yağlayıcıları için ana bileşen olarak kullanılırlar. Çünkü bunların sıcaklığa bağlı viskozite değişim hızları göreceli olarak düşüktür ve sıvı aralıkları geniştir [6].

Parfümler, Tatlandırıcılar, Kozmetik Ürünleri ve Sabun: Çözücü ve plastikleştirici olarak kullanılan ester miktarıyla karşılaştırıldığında, tat ve kokuyu geliştirmek için kullanılan ester miktarı azdır. Fakat ekonomik ve estetik açıdan önemlidir. İzopropil, benzil, oktil, geranil, linalil parfümlerde önemli katkı iken, etil, izobütil, amil ve izoamil asetatlar sık sık tatlandırma bileşenleri olarak kullanılırlar. Bütirat, izobütirat, izovalerat ile kaprilatlar tatlandırıcı olarak kullanılırlar. Ayrıca etil, amil ve geranil bütirat parfümeride kullanılır. İzoamil ve metil valeratlar ve sitearatlar, p-amino benzoatlar ve salisilatlar kozmetikte geniş olarak kullanılırlar [6].

Tedavi Ediciler: Görünüşte fiziksel olarak inert olmasına rağmen esterler ilaç endüstrisinde geniş olarak kullanılırlar. İzoamil ve metil valeratlar ve sitearatlar, p-amino benzoatlar ve salisilatlar eczacılıkta geniş bir şekilde kullanılırlar [6].

2.7. Metil Esterler

Yağ asidi metil esterleri yağ kimyası endüstrisinde büyük rol oynamaktadırlar. Metil esterler birçok yağ kimyasalı için başlangıç materyali olarak yağ asitlerinin yerini almaktadırlar. Yağ alkolleri, alkanolamidler, α-sülfolanmış metil esterler ve daha birçoğu gibi yağ kimyasallarının ara ürünleri olarak kullanılırlar. Japonlar metil esterlerini kaliteli tuvalet sabunu üretiminde kullanmaktadırlar. Metil esterlerin diğer potansiyel kullanımı ise dizel yakıtı alternatifi olarak kullanılmalarıdır. Metil esterler SO_2 emisyonu olmadan temiz yanarlar. Yanma ısısı biraz düşük olmasına rağmen motor ayarı gerekli değildir ve verimde düşme yoktur [7].

2.7.1. Metil Esterlerin Avantajları

Pek çok yağ kimyasalları için başlangıç materyali olarak yağ asitleri yerine metil esterlerin kullanımı aşağıda verilen avantajlar nedeniyle hızla artmaktadır [7].

Daha Düşük Enerji Tüketimi: Metil esterlerin üretimi, yağ asidi elde etmek için katı ve sıvı yağların parçalanması prosesinden çok daha az reaktör sıcaklığı ve basıncı gerektirir.

Daha Ucuz Cihaz Donanımı: Metil esterler korozif değildirler ve daha düşük işletme basıncında ve sıcaklığında üretilirler. Bu yüzden karbon çeliğinden yapılmış cihazlar kullanılabilir. Yağ asitleri koroziftirler ve dayanıklı paslanmaz çelik cihazlar gereklidir.

Ürün Olarak Daha Konsantre Gliserin: Transesterifikasyon sonucunda ürün olarak konsantre gliserin oluşur. Katı yağların ayrılması prosesinde elde edilen gliserinin %80'i sudur, dolayısıyla daha çok enerji harcanır.

Daha Kolay Distilasyon: Esterler düşük kaynama noktalarından dolayı daha kolay distile edilirler ve yağ asitlerine göre daha kararlı ısıdadırlar.

Kimyasal Ara Ürünler Olarak Bazı Uygulamalarda Yağ Asitlerinden Üstün Olmaları: Alkanolamid üretiminde esterler %90 saflıktaki süper amidleri üretebilirler. Yağ asitleri ise ancak %65-70 saflıktaki amidleri üretebilirler.

Taşınmasının Kolay Oluşu: Kimyasal kararlılıklarından ve korozif olmama özelliklerinden dolayı esterler, yağ asitlerinden çok daha kolay taşınırlar.

Göz önüne alınması gereken önemli bir konu da metanolün geri kazanılması ve geri dönüşümüdür. Metanol zehirli ve patlayıcı olduğundan patlamaya dayanıklı cihazların kullanılması ve ekstra güvenlik önlemlerinin alınması gereklidir.

2.8. Enzimatik Esterleşme Reaksiyonları

Günümüzde lipazların biyoteknolojik proseslerde kullanımı özellikle kimyasal sentezlerle üretilemeyen ticari değeri yüksek ürünlerin hazırlanmasında ekonomik ve uygun bir yöntem olarak görülmektedir [9].

Esterleşme ve iç esterleşme reaksiyonları yüksek sıcaklık ve katalizör etkisiyle gerçekleşen ve katalitik etkinin asit veya alkali hidroksitlerle sağlandığı reaksiyonlardır. 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 sarfiyatının da fazla olması göz önüne 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 [2].

20. yüzyılın başından beri, yağların ve lipidlerin biyoteknolojik prosesleri için lipazlarla katalizlenen reaksiyonlar incelenmektedir. Bu proseslere örnek olarak; yağ asitlerinin üretimi için hint tohumu lipazıyla yağların hidrolizi ve yağ asitleriyle gliserinin esterleşmesi sonucu açilgliserollerin sentezlenmesi verilebilir [2,4,9,10,11].

Lipaz katalizörlü reaksiyonların en önemli avantajı, kullanılan lipazın substrat seçiciliğine bağlı olarak farklı bileşim ve özelliklere sahip pek çok ürünün elde edilebilmesidir. Daha önemli bir avantajı ise lipaz katalizörlü reaksiyonların ılımlı reaksiyon koşullarında gerçekleşmesinden dolayı enerji tüketiminin düşük olması ve reaktanların ve ürünlerin daha az termal bozunmaya uğramasıdır.

Lipaz katalizörlü esterleşme ve transesterifikasyon reaksiyonları kısa ve orta zincirli esterlerin hazırlanmasında kullanılırlar. Lipaz katalizörlü esterleşme reaksiyonları sonunda, emülsiyonlaştırıcı olarak kullanılan monoaçilgliseroller ve kozmetikte kullanılan vaks esterleri gibi pek çok ürün elde edilir [9].

2.9. Literatür Araştırması

Yapılan literatür araştırması sonucu asidik yağların esterleşmesi üzerine çok fazla çalışma bulunamamıştır. Aşağıda enzimatik esterleşme konusu ile ilgili yapılmış literatür çalışmalarından örnekler sunulmuştur.

S. Ghosh ve D.K. Bhattacharyya yaptıkları çalışmada hardal, ayçiçek ve pirinç kepeği gibi çeşitli ticari asidik yağların *Mucor miehei* lipazı varlığında esterleşme reaksiyonunu gerçekleştirerek yağ asidi esterlerini elde etmişlerdir. 60°C'de, 1/1 yağ/alkol mol oranında 1 g yağ ve asidik yağın %10'u kadar enzim kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonlar 4 saat süreyle devam ettirilmiştir. Çalışmada, asidik yağlar aynı anda gerçekleşen esterleşme ve alkoliz reaksiyonlarıyla yağ asidi esterlerine dönüştürülmüştür; bunun için 4, 8, 10, 12, 16, 18 karbonlu alkoller kullanılmış ve yüksek ester verimi elde edilmiştir [1].

A. Ducret ve arkadaşları biyosurfaktanlar hazırlamak için şekerlerin ve şeker alkollerinin susuz ortamdaki enzimatik esterleşme reaksiyonlarını incelemişlerdir. Saf erimiş substratlar içerisinde sorbitol monooleat üretilmiş ve oluşan su düşük basınç kullanımı ile uzaklaştırılmıştır. Çalışmada pek çok lipaz denenmiş ve en iyi sonuç *Candida antarctica* lipazı kullanıldığında elde edilmiştir. Hidroksil verici, disakkarit olduğunda ürün elde edilemediği, monosakkarit olduğunda ise esterleşme reaksiyonunun her durumda oluştuğu görülmüştür. Uygulanan reaksiyon koşullarında *Candida antarctica* lipazının primer alkoller üzerinde seçicilik gösterdiği belirlenmiştir [12].

P. Pepin ve R. Lortie tarafından yapılan çalışmada çözücüsüz ortamda *Candida antarctica* lipazı kullanılarak ibuprofenin esterleşme reaksiyonu ve su aktivitesinin ibuprofenin enantiomerlerinin ((R)- ve (S)- ibuprofenin) esterleşme hızını nasıl etkilediği incelenmiştir. (R)-ibuprofenin esterleşme hızının her zaman konsantrasyonuna bağlı olduğu, (S)-ibuprofenin esterleşme hızının ise düşük su aktivitesinde yüksek konsantrasyonlarda doygunluk gösterdiği görülmüştür [13].

Y. Shimada ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bitkisel yağı biyodizele dönüştürmek istemişler ve bu amaçla bitkisel yağın sürekli metanoliz reaksiyonunu incelemişlerdir. Yapılan çalışmalarda immobilize *Candida antarctica* lipazının metanoliz reaksiyonu için en etkili enzim olduğu görülmüş ve bu enzimle çalışılmıştır. 1.5/1 alkol/yağ mol oranından fazla metanol kullanıldığında enzimin

inaktive olması ve yağın tam olarak metil esterlerine dönüşmesi için 3 mol alkole ihtiyaç duyulması nedeniyle 3 kademeli metanoliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun birinci kademesi, 30°C'de 1/1 yağ/alkol mol oranında metanol ve yağın %4'ü kadar enzim kullanılarak ve 130 devir/dakika karıştırma hızıyla gerçekleştirilmiş ve 10 saat devam ettirilmiştir. Metanolün %95'i tükendiğinde 1/1 yağ/alkol mol oranında metanol tekrar ilave edilerek reaksiyon 14 saat daha devam ettirilmiştir. Bu süre sonunda son olarak aynı oranda metanol eklenmiş ve reaksiyon 24 saat daha sürdürülmüştür. Toplam reaksiyon süresi 48 saat olarak belirlenmiş ve bu süre sonunda yağın %98.4'ü metil esterine dönüşmüştür. Lipazın kararlılığını bulabilmek için aynı enzim taze karışıma alınarak 3 kademeli metanoliz reaksiyonu tekrar gerçekleştirilmiş ve 50 tekrardan sonra bile %95'den fazla dönüşüm elde edildiği gözlemlenmiştir [14].

Y. Watanabe ve arkadaşları, *Candida antarctica* lipazını kullanarak bitkisel yağdan sürekli sistemle biyodizel üretmişlerdir. *Candida antarctica* lipazının, bitkisel yağ karışımı ve 1/2 metanol/toplam yağ asidi mol oranından fazla metanol içinde inaktive olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada ise lipazın açilgliseroller (AG) ve %33 metil ester (ME) karışımı içinde 2/3 mol oranında metanolle inaktive olmadığı görülmüştür. Bu nedenle iki kademeli metanoliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. 30°C'de, %4 enzim kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonda, birinci kademede 1/3 oranında metanol kullanılmıştır. 24 saat sonra 2/3 mol oranında metanol ilave edilmiş ve reaksiyon 12 saat daha devam ettirilmiştir. İki kademeli metanoliz reaksiyonu sonunda %95 dönüşüm elde edilmiştir. Reaksiyon, immobilize lipaz yeni substrat karışımına alınarak tekrarlandığında, enzimin dönüşümde düşme olmadan 70 kere kullanılabildiği görülmüştür. Çalışmada ayrıca immobilize *Candida antarctica* lipazı ile doldurulmuş kolonda akışlı reaksiyon gerçekleştirilmiştir. AG ve %33 ME karışımı ve 2/3 mol oranında metanol kolona beslendiğinde kolonun içinde lipazın inaktive olduğu görülmüştür. Bu yüzden reaksiyon 3 g immobilize lipazla doldurulmuş üç kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Birinci kolona 6 mL/h sabit debiyle bitkisel yağ ve 1/3 mol oranında metanol beslenmiştir. Alınan ürün ve 1/3 mol oranında metanol karıştırılmış ve aynı debiyle ikinci kolona beslenmiştir. Son olarak ikinci kolondan alınan ürün ve 1/3 metanol karışımı aynı debiyle üçüncü kolona beslenmiştir. Reaksiyon sonunda %93 oranında ME elde edilmiştir ve lipazın dönüşümde düşme olmadan 100 gün kullanılabildiği görülmüştür [15].

R. Awang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada dihidroksi stearik asit esterinin enzimatik sentezi yapılmıştır. Çalışmada başlangıçtaki su içeriğinin, organik çözücünün, substrat konsantrasyonunun ve alkol zincir uzunluğunun reaksiyona etkisi incelenmiştir. Reaksiyonlarda *Rhizomucor miehei* ve *Candida antarctica* immobilize lipazları ve karbon sayısı 8'den 18'e kadar değişen doymuş yağ alkolleri kullanılmıştır. Alkol olarak oktanol kullanıldığında en yüksek verim bu iki enzimle elde edilmiştir. Her iki enziminde dimetil formamit hariç denenen tüm organik çözücülerde aktif olduğu görülmüştür. Alkol zincir uzunluğunun reaksiyonun başlangıç hızına etkisi olduğu fakat reaksiyonların son hızının 1-oktadekanol (C_{18}-OH) hariç hemen hemen aynı olduğu görülmüştür. Bunun nedeni ise C_{18}-OH'ın reaksiyon sıcaklığında çözünememesinden kaynaklanabileceği şeklinde açıklanmıştır [16].

L. Gubicza ve arkadaşları yaptıkları çalışmada düşük molekül ağırlıklı lezzet verici esterlerin organik çözücü ortamında enzimatik olarak üretimi için, yeni ve büyük ölçekte bir proses geliştirmişlerdir. Çalışmada asit/alkol mol oranının 1/3, başlangıçtaki asit konsantrasyonunun ise mümkün olduğu kadar düşük olması gerektiği belirtilmiştir. Reaksiyon sırasında oluşan suyun fazlası hetero-azeotropik distilasyonla sistemden uzaklaştırılmıştır. n-hekzan-su azeotropik karışımının kaynama noktası reaksiyonda kullanılan *Candida antarctica* lipazının optimum sıcaklığından fazla olduğundan çözücü olarak n-pentan kullanılmıştır. Reaksiyon sonunda %90'ın üzerinde ester verimi elde edilmiştir [17].

Y. Watanabe ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada kullanılabilir atık yağın biyodizele enzimatik olarak dönüşümü incelenmiştir. Reaksiyonlarda *Candida antarctica* lipazı kullanılmıştır. Çalışmada, atık yağın kesikli ve sürekli metanoliz reaksiyonları incelenmiştir. Üç kademeli kesikli metanoliz reaksiyonuna 1/3 metanol/toplam yağ asidi mol oranında metanol ile başlanmış, ikinci ve üçüncü kademede metanol tükendikten sonra 1/3 mol oranında metanol ilave edilmiştir. Birinci kademede %34, ikinci kademede %66, üçüncü kademede %90 dönüşüm elde edilmiştir. Kesikli reaksiyonlar lipaz taze reaksiyon karışımına alınarak devam ettirilmiştir. Atık yağın üç kademeli sürekli metanoliz reaksiyonu 3 g immobilize *Candida antarctica* lipazı ile doldurulmuş üç kolonda gerçekleştirilmiştir. Birinci kademede atık yağ ve 1/3 metanol/toplam yağ asidi mol oranında metanol substrat olarak kullanılmıştır. İkinci ve üçüncü kademelerde ise birinci ve ikinci

kademelerden alınan ürünler ve 1/3 mol oranında metanol kullanılmıştır. Karışımlar birinci kolona 6mL/h, ikinci kolona 6 mL/h, üçüncü kolona 4 mL/h debiyle beslendiğinde %90'lık bir verim elde edilmiştir. Çalışmada ayrıca atık yağın tek kademeli sürekli reaksiyonu da incelenmiştir. Atık yağ ve %90 ME içeren ürün karışımı ve eşit mol oranında metanol 3 g immobilize lipazla doldurulmuş kolona 4 mL/h debiyle beslenmiştir. Reaksiyon sonunda %90 ester verimine ulaşılmıştır. Her iki sürekli sistemde de lipazın dönüşümde düşme olmadan 100 gün kullanılabileceği görülmüştür [18].

T. H. Yang ve çalışma arkadaşları yaptıkları çalışmada düşük kalorili yağların çözücüsüz ortamda enzimatik sentezini incelemişlerdir. Triasetin ve stearik asit arasında transesterifikasyon reaksiyonunu gerçekleştirerek düşük kalorili yağları elde etmişlerdir. Açık, kapalı ve vakumlu olmak üzere 3 tip reaktörde reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyonlarda pek çok immobilize lipaz denenmiş ve en yüksek verim *Candida antarctica* lipazı kullanıldığında elde edilmiştir. Çalışmada substratların molar oranı, karıştırma hızı ve reaksiyon sıcaklığı gibi reaksiyon değişkenlerinin etkisi araştırılmış ve substratların mol oranı 1/1.4, karıştırma hızı 400 rpm ve sıcaklık 80°C olarak belirlenmiştir [19].

N. N. Gandhi ve K. D. Mukherjee yaptıkları çalışmada düz zincirli, 4 karbonludan 18 karbonluya kadar doymuş alkollerin, 18 karbonlu doymamış alkollerin, *Carica papaya, Candida antarctica* ve *Rhizomucor miehei* lipazlarını kullanarak kaprilik asitle esterleşmesini incelemişlerdir. *Carica papaya* bitkisel lipazı kullanıldığında en yüksek aktivite oktil ve desil kaprilat sentezi için bulunmuştur. Çalışmada ayrıca *Candida antarctica* ve *Rhizomucor miehei* lipazlarının alkol substratlara karşı genel zincir uzunluğu seçiciliği gösterdikleri belirtilmiştir [20].

G. Steinke ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada crambe ve camelina tohumu yağlarından elde edilen yağ asitlerinin, yine crambe ve camelina yağlarından elde edilen alkollerle *Candida antarctica* ve *Carica papaya* lipazları varlığında esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Ortamdaki su, vakum uygulanarak uzaklaştırılmıştır. Reaksiyon sonunda uzun zincirli vaks esterleri elde edilmiştir. *Candida antarctica* lipazı kullanıldığında 4-6 saatlik reaksiyon sonunda en yüksek vaks esteri dönüşümü (≥%95) elde edilmiştir. Buna karşın *Carica papaya* lipazı kullanıldığında yüksek ester dönüşümüne ancak 24 saat sonunda ulaşılmıştır [21].

R. Irimescu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 1,3-dikaprilol-2-dokosa-hekzanol gliserolün 2 kademeli enzimatik sentezini gerçekleştirmişlerdir. Birinci kademede *Candida antarctica* lipazı, ikinci kademede *Rhizomucor miehei* lipazı kullanılmıştır. Çalışmada *Candida antarctica* lipazının bölgesel seçiciliğinin reaksiyon çeşidine ve reaksiyon ortamının başlangıç kompozisyonuna bağlı olduğu görülmüştür. Bu lipazın esterleşme ve transesterifikasyon reaksiyonlarında bölgesel seçicilik göstermezken etanoliz reaksiyonunda, reaksiyon karışımında etanol fazlası bulunduğunda 1,3-bölgesel seçiciliği gösterdiği çalışmada belirtilmektedir [22].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu çalışmada; bitkisel yağ sanayinin bir yan ürünü olan ayçiçek asidik yağının Novozym 435 lipazı varlığında enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiş ve reaksiyon üzerinde etkili olabilecek parametreler belirlenmeye çalışılmıştır.

Deneysel çalışma dört aşamada gerçekleştirilmiştir:

1. Ayçiçek asidik yağının karakterizasyonunun belirlenmesi

2. Ayçiçek asidik yağının metanol ile enzimatik esterleşme reaksiyonu için optimum koşulların belirlenmesi

3. Ayçiçek asidik yağının farklı alkollerle enzimatik esterleşme reaksiyonlarının incelenmesi

4. Ayçiçek asidik yağının metanol ile kademeli enzimatik esterleşme reaksiyonlarının incelenmesi

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan ayçiçek asidik yağı Kırlangıç Yağ Fabrikasından temin edilmiştir. Ayçiçek asidik yağının esterleşme reaksiyonlarında, *Candida antarctica* orijinli Novozyme 435 mikrobiyal lipazı kullanılmış olup bu lipaz Novo Nordisk A/S (Danimarka) firmasından hediye edilmiştir. Pozisyon seçiciliği substratlara bağlı olan immobilize enzimin bazı reaksiyonlarda 1,3 pozisyon seçiciliği gösterirken, bazı reaksiyonlarda da pozisyon seçiciliği göstermediği belirtilmektedir. Lipazın, 1-propanolün lorik asitle esterleşmesi üzerinden firma tarafından tayin edilmiş aktivite değeri Propil Laurat birimi olarak 7000 PLU/g'dır. Kullanılan immobilize enzim %1-2 oranında su içeriğine sahiptir [23]. Kullanılan diğer kimyasal maddeler saf ve Merck ürünüdür.

3.2 Ayçiçek Asidik Yağının Karakterizasyonu

Ayçiçek asidik yağının yoğunluğu, asit değeri, sabunlaşma değeri ve sabunlaşmayan madde miktarı standart yağ analiz yöntemleri ile belirlenmiştir [24]. Bu özellikler Tablo 3.1'de verilmiştir. Asidik yağın, İnce Yüzey Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektör (TLC-FID) kombine sistemi olan Iatroscan TH10 cihazı ile yapılan analizi sonucunda ağırlık %si olarak % 24.27 triaçilgliserol (TAG), % 14.28 diaçilgliserol (DAG), % 5.88 monoaçilgliserol (MAG), % 55.57 serbest yağ asidi (FFA) içerdiği belirlenmiştir.

Tablo 3.1. Ayçiçek asidik yağının özellikleri.

Özellikler	Değer
Yoğunluk (kg/m³)	323
Sabunlaşma Değeri (mg KOH/g)	200.4
Asit Değeri (mg KOH/g)	109.5
Sabunlaşmayan Madde Miktarı (%Ağırlık)	2.25

Ayçiçek asidik yağının yağ asidi bileşiminin kapiler gaz kromatografisi (CGC) yöntemi ile belirlenmesinde Hewlett-Packard 5890 II (Hewlett Packard, Waldron, Almanya) cihazı kullanılmıştır [25]. Uygulanan kromatografik analiz koşulları Tablo 3.2'de, ayçiçek yağının yağ asitleri bileşimi ise Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Gaz kromatografisi analiz koşulları.

Dedektör tipi Dedektör sıcaklığı (ºC)	FID(1) 280
Enjektör tipi Enjektör sıcaklığı (ºC)	Dağıtmalı 250
Gaz hızlar (mL/dk) Taşıyıcı gaz (N_2) Hidrojen Hava Dağıtma oranı	 4.5 30 400 88:1
Fırın sıcaklığı (ºC)	170 (5 dk) 170-300 (10ºC/dak) 300 (10 dk)
Kolon tipi	Kapiler kolon Ultra 1(2)

(1) Alev iyonizasyon dedektörü

(2) 25m*0.32mm, 0.52µ kalınlığında %100 dimetil polisiloksan

Tablo 3.3. Ayçiçek asidik yağının toplam yağ asidi bileşimi.

Yağ asitleri	% Ağırlığı
14:0	0.1
16:0	8.0
18:0	4.6
18:1	13.0
18:2	71.6
20:1	0.2
20:0	0.5
Diğer	2.0
ΣDoymuşlar	13.2
Σdoymamışlar	84.8

3.3 Deney Düzeneği

Enzimatik esterleşme reaksiyonları, su banyosu içine yerleştirilmiş, 50 mL hacimli dibi yuvarlak cam bir balonda gerçekleştirilmiştir. Su banyosunun sıcaklığı özel bir ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (Frame-Geratetechnik M22/1 5655, Franz Morad Eisenbach, Almanya) ile ± 1°C hassasiyetle kontrol edilmiştir. Deneysel çalışmalarda karıştırma hızı 800 dev/dak olarak sabit tutulmuştur.

3.4 Ayçiçek Asidik Yağının Enzimatik Esterleşme Reaksiyonu

Enzimatik esterleşme reaksiyonu için 5 gram yağ, belirli miktarda metanol (veya farklı alkoller) ve 25 mL n-hekzan reaksiyon balonuna alınarak ısıtılmış ve karışım istenilen sıcaklığa ulaştığında belirli miktarda enzim ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Bu koşullar altında reaksiyon gerçekleştirilirken belirli zaman aralıklarında numuneler alınmıştır (yaklaşık 1 mL). Alınan numuneler 90°C sıcaklıktaki su banyosunda 15 dakika bekletilerek enzimin inaktif hale gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra üzerine 5 mL n-hekzan ve 2 mL distile su konulan numuneler santrifüjlenerek yağ ve su fazına ayrılmıştır. Ayrılan n-hekzan içindeki yağ fazını kurutmak için üzerine susuz Na_2SO_4 ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan numuneler üzerine 3 mL daha n-hekzan ilave edildikten sonra bileşimleri, TLC-FID kombine sistemi ile belirlenmiştir. Analiz işleminde yürütücü sistem olarak benzen:kloroform:asetik asit (hacmen 50:20:0.7) ve benzen:n-hekzan (hacmen 35:35) ikili sistemi kullanılmıştır. Ürün bileşenlerinin yürümesi için rodlar 23 dakika birinci sistemde bekletildikten sonra 60°C'lik etüve (Rod Dryer TK 5 Iatron Lab.

Inc., Tokyo, Japonya) konulmuştur. Çözücülerin uçması için 2 dakika etüvde bekletilen rodlar daha sonra ikinci sisteme alınarak bu sistemde 30 dakika bekletilmiştir. Tekrar 60°C'lik etüvde 2 dakika tutularak çözücülerin uçması sağlanmıştır. Örneklerin TLC-FID sistemindeki analizi için hidrojen gazı debisi 160 mL/dak, hava debisi 2200 mL/dak ve tarama hızı 30 s/tarama olarak seçilmiştir. Bu koşullar altında çalışılarak reaksiyon ürünlerinin içerdiği metil esteri (ME) veya yağ asidi esteri (FAE), TAG, DAG, MAG ve FFA miktarları ağırlık yüzdesi olarak belirlenmiştir.

3.5 Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonunun Çözücülü ve Çözücüsüz Ortamlarda Yürütülmesi

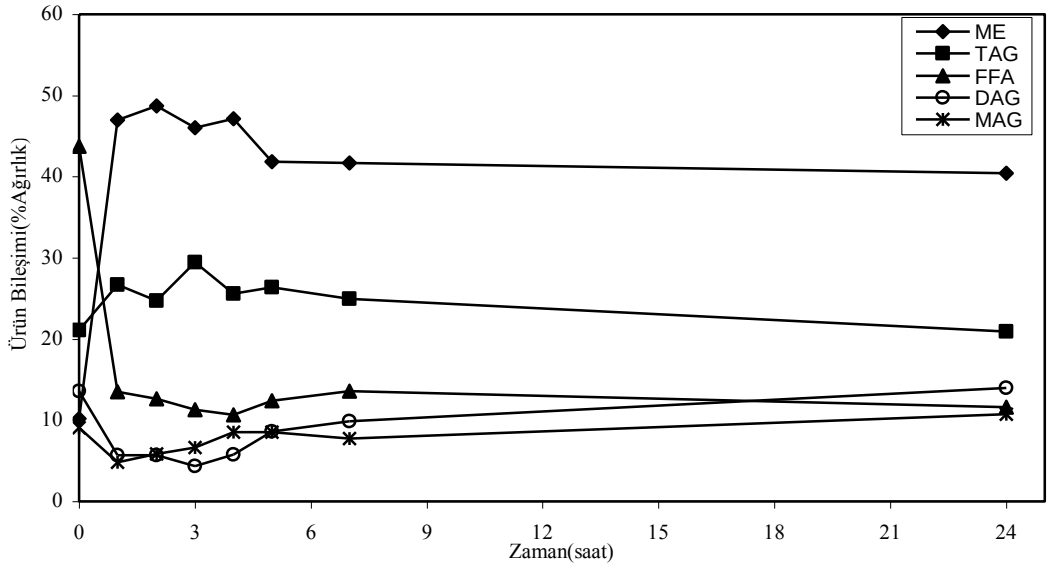
Ayçiçek asidik yağının çözücüsüz ve çözücülü ortamlarda esterleşme reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. 50°C'de, 1/1 toplam yağ asidi/metanol mol oranında ve 0.10 enzim/yağ ağırlık oranında, 5 g yağ kullanılarak yürütülen reaksiyonlarda çözücü ortamı olarak 25 mL n-hekzan kullanılmıştır. Elde edilen ürünlerin metil ester içeriğinin zamana göre değişimi Tablo 3.4'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 3.1-3.2 ve Ekler bölümünde Tablo A.1-A.2'de verilmiştir.

Tablo 3.4. Ayçiçek asidik yağının çözücülü ve çözücüsüz ortamlarda gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriğinin zamana göre değişimi (yağ:5 g; toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10; sıcaklık:50°C)

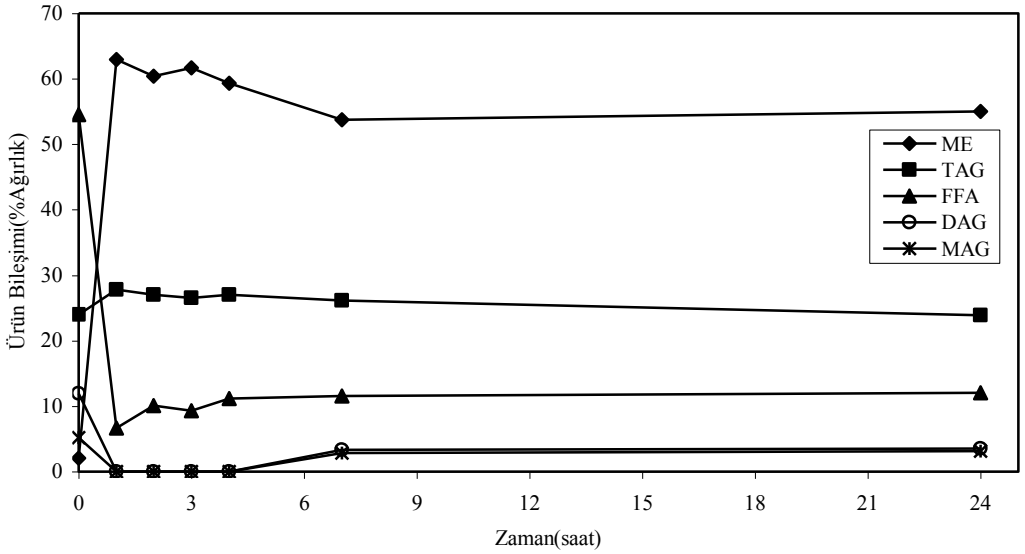
Zaman (saat)	%ME (%Ağırlık)	
	Çözücüsüz Ortam	Çözücülü Ortam
0	10.18	2.02
1	47.00	62.99
2	48.71	60.45
3	46.06	61.69
4	47.17	59.37
7	41.66	53.79
24	40.46	54.98

Tablo 3.4'den görüldüğü gibi çözücülü ortamda çalışıldığında daha yüksek ester içeriği elde edilmiştir. Çözücüsüz ortamda çalışıldığında reaksiyon karışımı bir süre sonra bulamaç haline gelmiş ve bu da numune almayı zorlaştırmıştır. Daha yüksek

ester içeriği elde edilmesi ve çalışma kolaylığı sağlaması nedeniyle bundan sonraki reaksiyonlar 25 mL n-hekzan içeren çözücü ortamında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C).



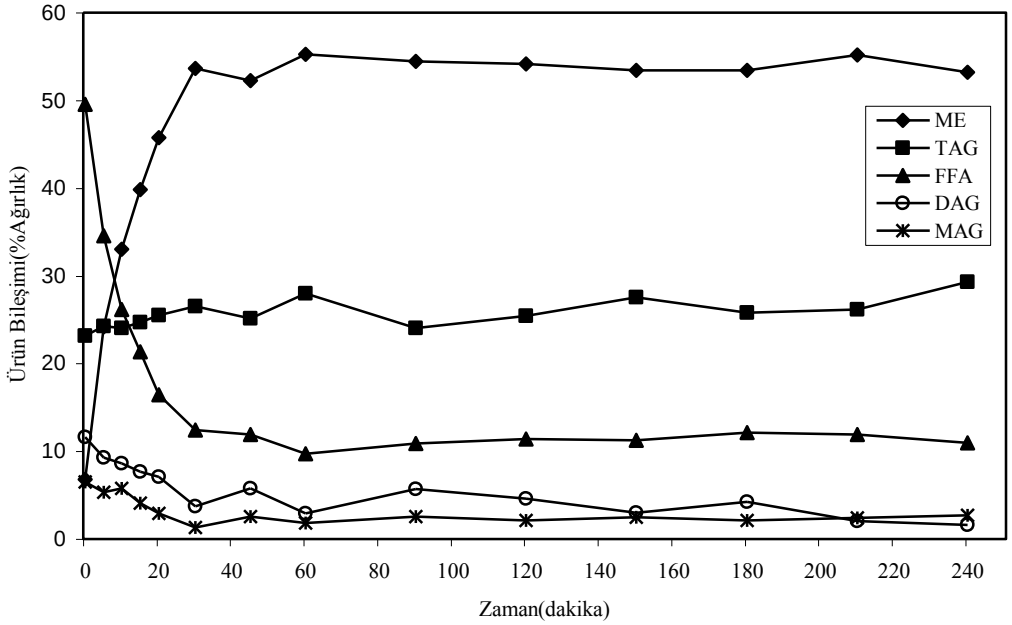
Şekil 3.2. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

3.6 Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Sürenin Etkisi

Çalışmanın başlangıcında, esterleşme reaksiyonunu takip etmek için, reaksiyon karışımına enzim ilave edildikten sonra, 30 saniye karıştırılan karışımdan örnek alınmış ve bu an başlangıç zamanı (sıfırıncı saat) olarak belirlenmiştir. Daha sonra her saat başı numune alınmış ve reaksiyon 24 saat devam ettirilmiştir. Ancak sonuçlar incelendiğinde reaksiyonun 1 saat içerisinde hızla ilerlediği daha sonra hemen hemen sabit kaldığı, 24 saat sonunda ise düştüğü gözlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkılarak, reaksiyonun yürüyüşünü daha iyi takip edebilmek amacıyla reaksiyon devam ederken, daha sık aralıklarla örnekler alınmış ve analiz edilmiştir. Elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri Tablo 3.5'de, ürün bileşiminin zamana göre değişimi ise Şekil 3.3 ve Tablo A.3'de verilmiştir.

Tablo 3.5. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonu sonucu elde edilen ürünün metil ester içeriğinin zamana göre değişimi (toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10; sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL)

Zaman (dakika)	**%ME (%Ağırlık)**
0	6.82
5	24.19
10	33.05
15	39.80
20	45.73
30	53.67
45	52.28
60	55.25
90	54.45
120	54.13
150	53.42
180	53.40
210	55.16
240	53.17



Şekil 3.3. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Tablo 3.5'den görüldüğü gibi 90 dakikaya kadar ürünün metil ester içeriği artmış daha sonra hemen hemen sabit kalmıştır. Bu nedenle, zaman ve enerji açısından daha ekonomik olacağından optimum reaksiyon süresi 90 dakika olarak seçilmiştir.

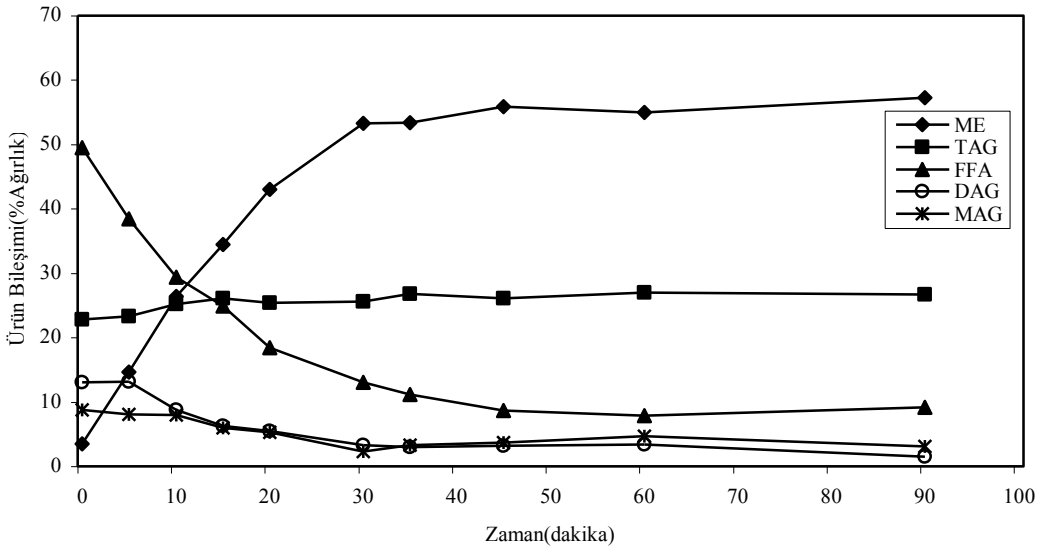
3.7 Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Moleküler Elek Kullanımının Etkisi

Bilindiği gibi esterleşme reaksiyonu sonucunda ana ürün olarak ester oluşurken yanında su da oluşmaktadır ve verimi artırmak için suyun ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Ancak enzimatik reaksiyonlarda ortamda bir miktar suyun bulunması enzimin aktivite göstermesi için gereklidir. Bu bölümde fazla suyun moleküler elek tarafından tutulmasının enzimatik esterleşme reaksiyonuna etkisinin olup olmadığını görmek amacıyla reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon 50°C'de, 1/1 toplam yağ asidi/metanol mol oranında, 0.10 enzim/yağ ağırlık oranında, 25 mL n-hekzan ortamında 30 dakika yürütülmüş ve bu süre sonunda reaksiyon karışımına 110°C'lik etüvde 24 saat kurutularak hazırlanan 0.1 g moleküler elek ilave edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.6'da, ürün bileşiminin zamana göre değişimi Şekil 3.4-3.5'de ve Tablo A.4-A.5'de verilmiştir.

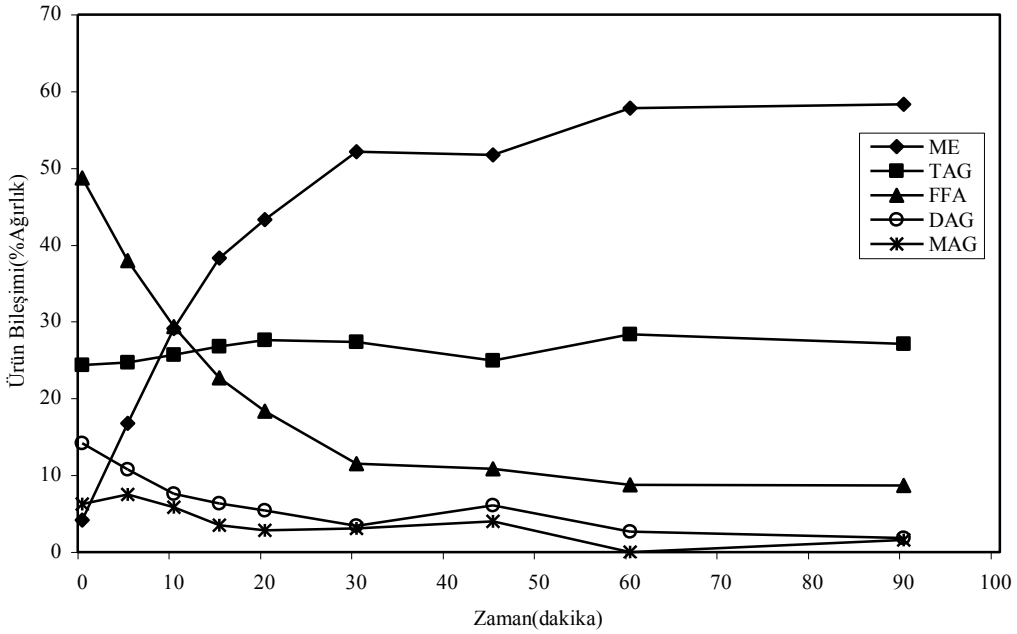
Tablo 3.6. Ayçiçek asidik yağının moleküler elek kullanılarak ve kullanılmadan gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin zamana göre değişimi (toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10, sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL; moleküler elek miktarı: 0.1 g)

Zaman (dakika)	%ME (%Ağırlık)	
	Moleküler Elek yok	Moleküler Elek var
0	4.13	3.45
5	16.76	14.65
10	29.11	26.39
15	38.27	34.43
20	43.33	43.05
30	52.12	53.29
45	51.72	55.91
60	57.83	54.98
90	58.36	57.29

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde moleküler elek kullanmanın ürünlerin metil ester içeriğini etkilemediği görülmüştür. Buna neden olarak oluşan suyun hidroliz reaksiyonuna neden olacak kadar fazla olmaması ve verimi etkilememesi gösterilebilir. Bu nedenle daha sonraki çalışmalara moleküler elek kullanılmadan devam edilmiştir.



Şekil 3.4. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; moleküler elek miktarı:0.1 g).



Şekil 3.5. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

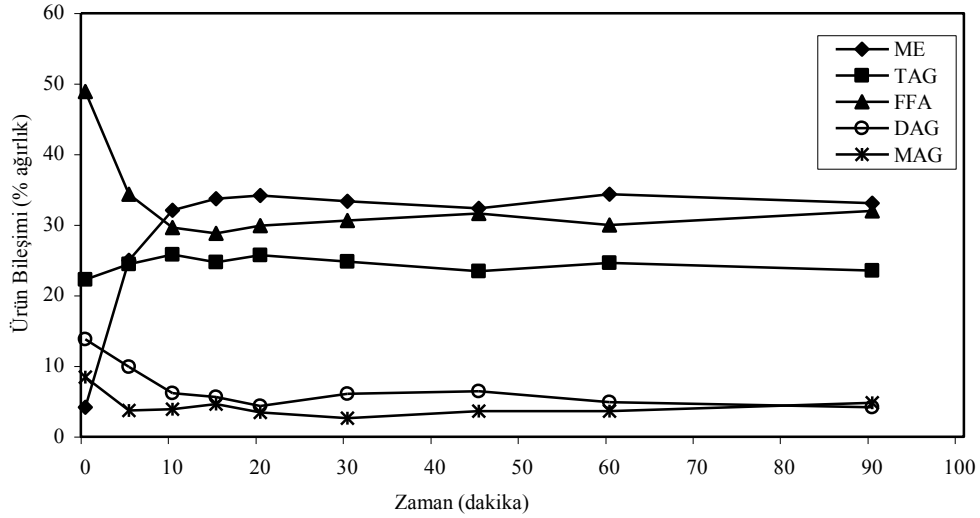
3.8 Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Toplam yağ asidi/Metanol Mol Oranının Etkisi

Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonuna toplam yağ asidi/metanol mol oranının etkisini incelemek amacıyla reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. 50°C'de, 0.10 enzim/yağ ağırlık oranında ve 5 g asidik yağ kullanılarak yürütülen reaksiyonlarda toplam yağ asidi/metanol mol oranları 1/0.5, 1/1, 1/2 ve 1/3 olarak değiştirilmiştir. Bu reaksiyonlar sonucunda elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri Tablo 3.7'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 3.5-3.8 ve Tablo A.5-A.8'de verilmiştir.

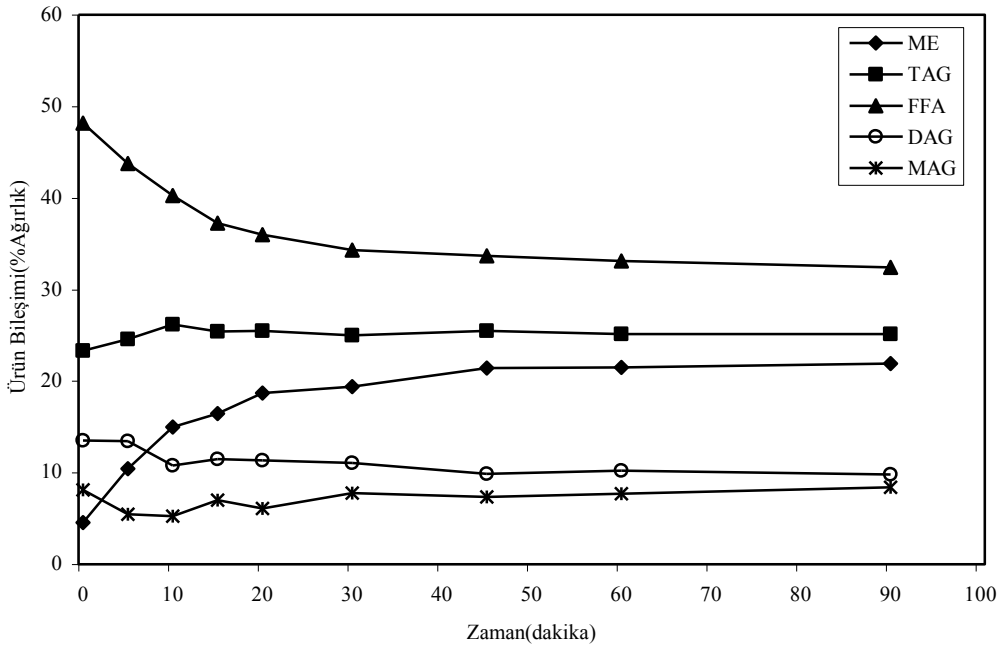
Tablo 3.7. Farklı toplam yağ asidi/metanol mol oranlarında gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (yağ miktarı:5 g; enzim/yağ ağırlık oranı:0.10; sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL)

Zaman (dakika)	**Toplam yağ asidi/Metanol Mol Oranı**			
	1/0.5	1/1	1/2	1/3
0	4.19	4.13	4.56	1.92
5	25.04	16.76	10.40	6.68
10	32.07	29.11	15.00	8.97
15	33.75	38.27	16.44	10.70
20	34.22	43.33	18.70	10.62
30	33.34	52.12	19.40	10.37
45	32.38	51.72	21.44	10.94
60	34.38	57.83	21.50	10.41
90	33.10	58.36	21.89	11.41

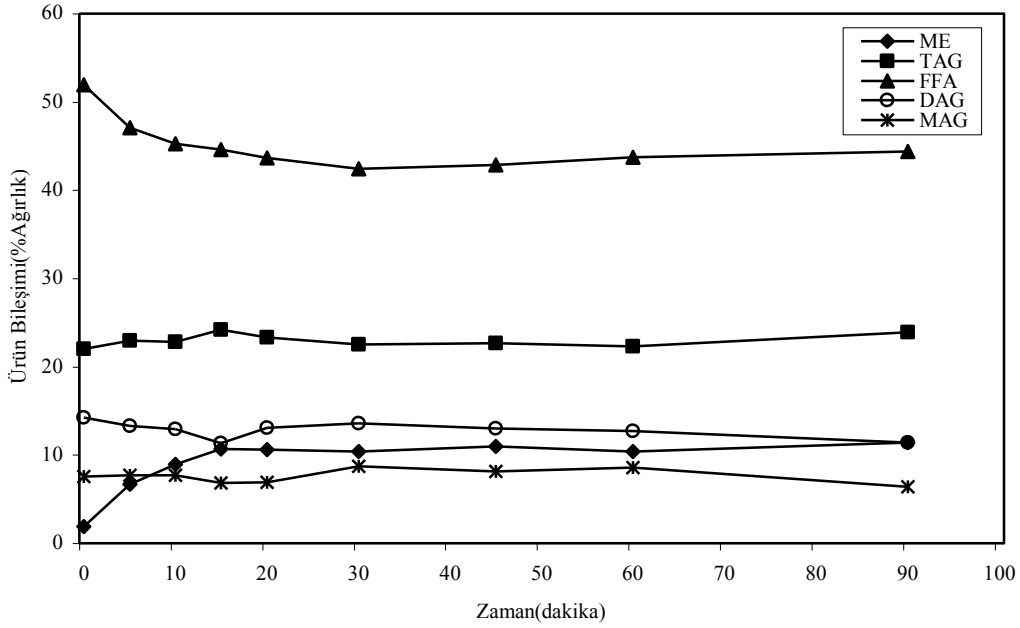
Tablo 3.7'den de görüldüğü gibi en yüksek metil ester içeriği Toplam yağ asidi/metanol mol oranı 1/1 olduğunda elde edilmiştir. Toplam yağ asidi/metanol mol oranı 1/2 ve 1/3'e çıkarıldığında ürünlerin ester içerikleri düşmüştür. Bunun nedeni ortamdaki metanol miktarının, kullanılan immobilize enzimin stabilitesini sağlayan gerekli su tabakasını bozacak kadar fazla olması şeklinde açıklanabilir [14,15]. Toplam yağ asidi/metanol mol oranı 1/0.5'e düşürüldüğünde ürünlerin ester içerikleri düşmüştür. Bunun, ortamdaki metanolün esterleşme reaksiyonu için yeterli miktarda olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 3.6. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/0.5; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.7. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/2; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.8. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

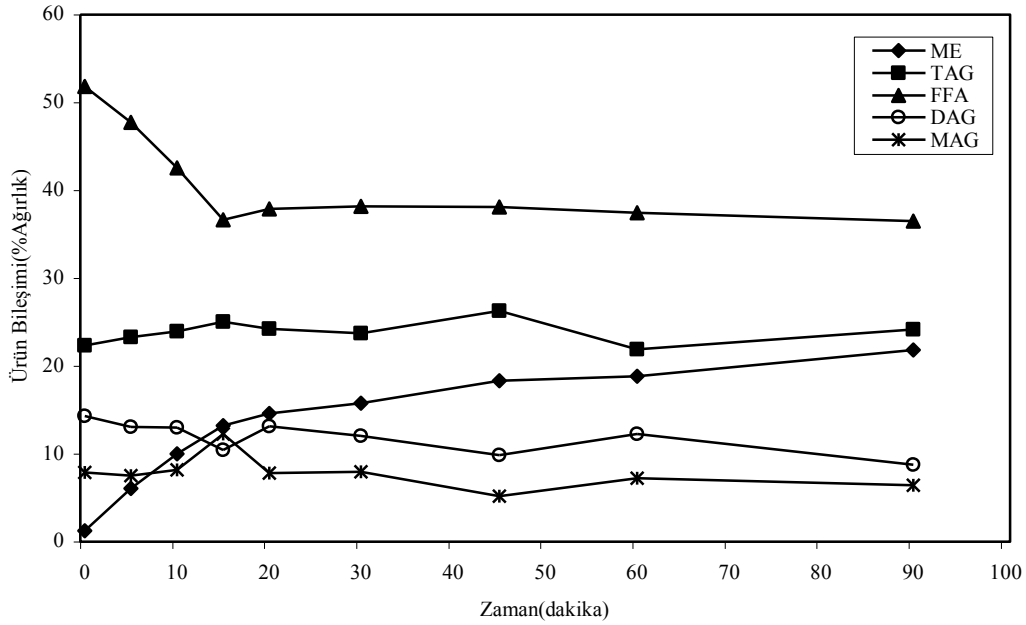
3.9 Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi

Bu bölümde enzim miktarının esterleşme reaksiyonuna etkisini incelemek için deneyler yapılmıştır. 50°C'de, 5 g yağ ve 1/1 toplam yağ asidi/metanol mol oranında gerçekleştirilen reaksiyonlarda enzim/yağ ağırlık oranları 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 ve 0.25 olarak değiştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri Tablo 3.8'de, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 3.5, 3.9-3.12 ve Tablo A.5, A.9-A.12'de verilmiştir.

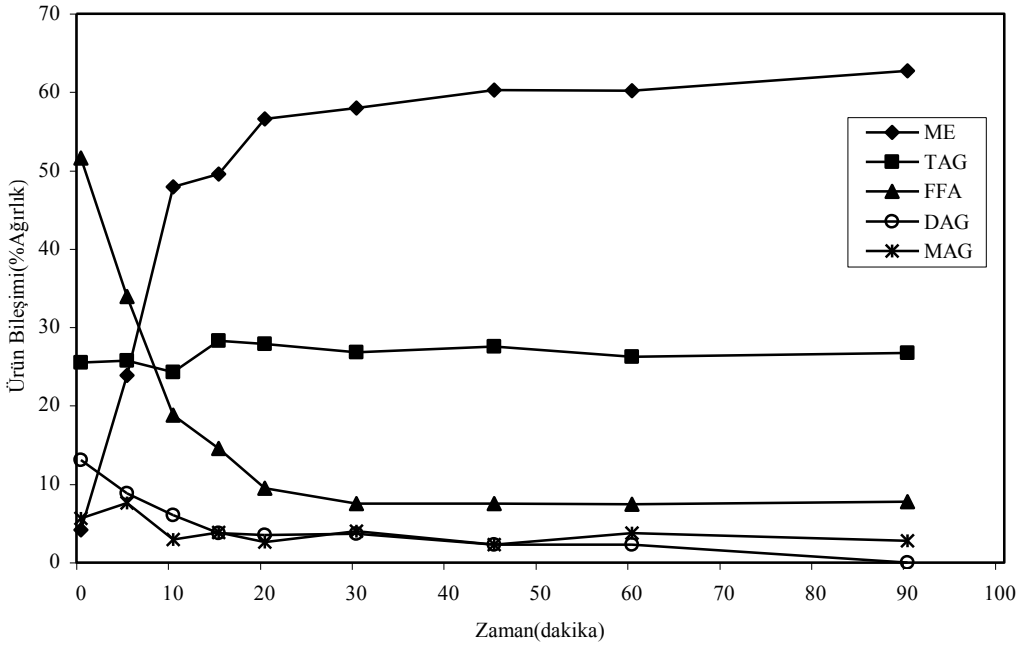
Tablo 3.8. Farklı enzim miktarlarında gerçekleştirilen esterleşme reaksiyonlarında elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (yağ miktarı:5 g; toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; sıcaklık:50°C; n-hekzan:25 mL)

Zaman (dakika)	**Enzim/Yağ Ağırlık Oranı**				
	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
0	1.25	4.13	4.17	9.90	10.94
5	6.09	16.76	23.86	42.45	46.87
10	10.02	29.11	47.95	53.35	57.55
15	13.20	38.27	49.52	53.57	57.03
20	14.59	43.33	56.55	55.87	60.09
30	15.80	52.12	58.00	60.84	62.17
45	18.29	51.72	60.27	58.91	61.89
60	18.83	57.83	60.19	58.61	61.78
90	21.81	58.36	62.74	60.98	61.73

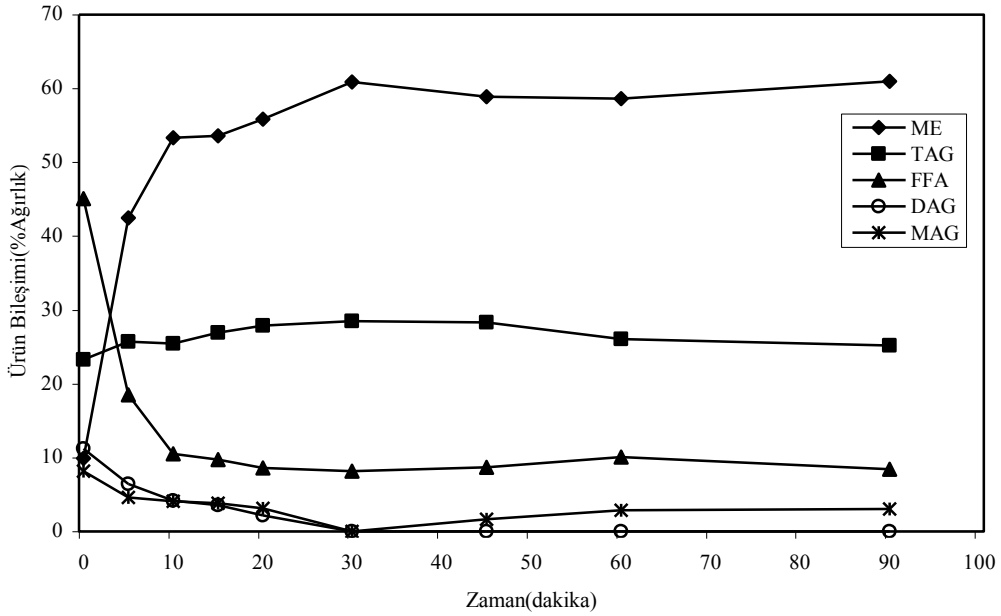
Elde edilen sonuçlar incelendiğinde enzim/yağ ağırlık oranı artıkça reaksiyonun daha hızlı gerçekleştiği ve daha kısa sürede yüksek ester içeriğine ulaşıldığı görülmüştür. Enzim/yağ ağırlık oranı 0.15 iken 45 dakikada ulaşılan ester içeriğine, bu oran 0.20 iken 30 dakikada, 0.25 iken 20 dakikada ulaşılmıştır. Fakat 0.15, 0.20, 0.25 enzim/yağ ağırlık oranlarında çalışıldığında 90 dakikalık reaksiyon sonunda elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri hemen hemen aynıdır. Bilindiği gibi enzimler uzun teknolojik işlemler sonucunda elde edilen pahalı katalizörlerdir. Bu nedenle elde edilen sonuçlara ekonomik yönden bakıldığında, en uygun enzim/yağ ağırlık oranının 0.15 olması gerektiğine karar verilmiştir.



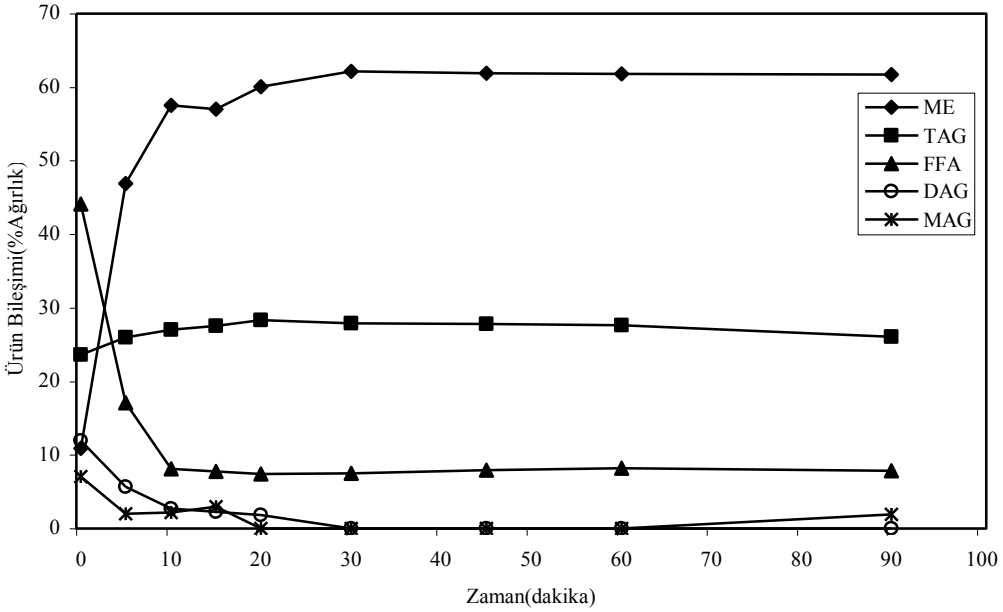
Şekil 3.9. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.05; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.10. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.11. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.20; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.12. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.25; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

3.10 Ayçiçek Asidik Yağının Esterleşme Reaksiyonuna Sıcaklığın Etkisi

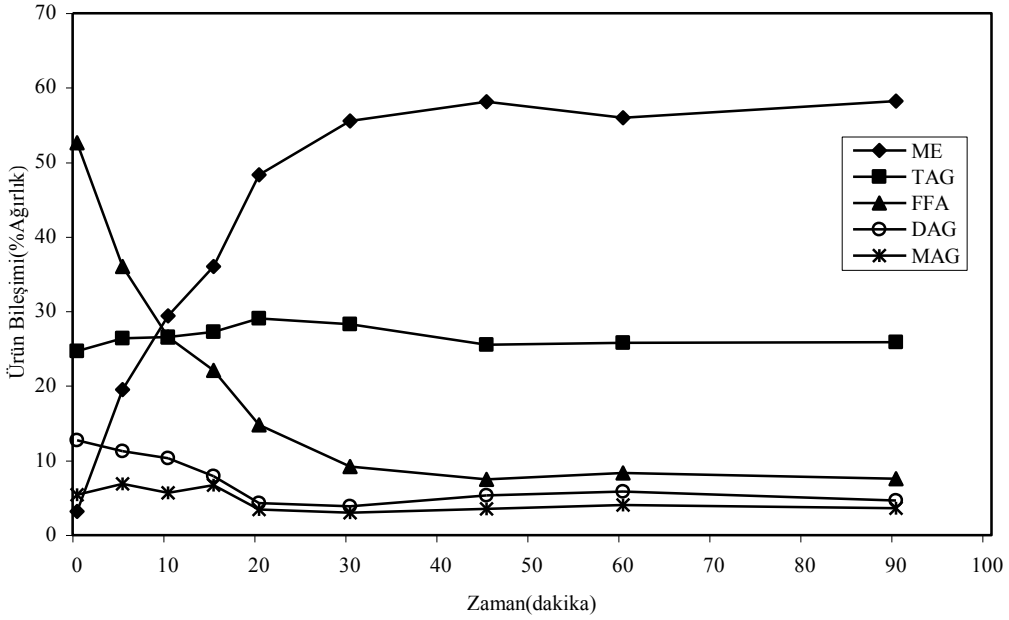
Lipaz enzimlerinin protein yapısından dolayı, lipaz enzimi üzerinde sıcaklığın çok önemli bir etkisi vardır. Lipaz enzimlerinin genel olarak 35-60°C'ler arasında aktivite gösterdikleri belirtilmekte ise de maksimum aktivite sıcaklığı lipaz enziminin cinsine göre farklılık gösterir [26,27]. Çalışmanın bu bölümünde, kullanılan Novozym 435 mikrobiyal lipazının ayçiçek asidik yağının esterleşme reaksiyonunda en yüksek aktivite gösterdiği sıcaklığı bulmak amacıyla deneyler gerçekleştirilmiştir. 1/1 Toplam yağ asidi/metanol mol oranında ve 0.15 enzim/yağ ağırlık oranında gerçekleştirilen reaksiyonlarda sıcaklıklar 30°C, 40°C, 50°C, 60°C ve 70°C olarak değiştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri Tablo 3.9'da, ürün bileşimlerinin zamana göre değişimi ise Şekil 3.10, 3.13-3.16 ve Tablo A.10, A.13-A.16'da verilmiştir.

Tablo 3.9. Farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonlarından elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (toplam yağ asidi/metanol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.15; n-hekzan:25 mL)

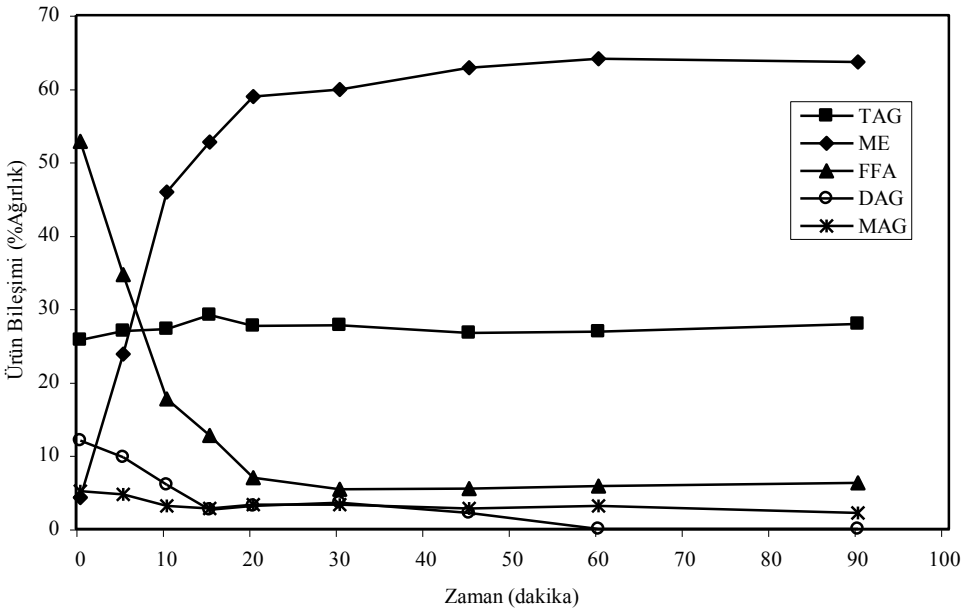
Zaman (dakika)	**Sıcaklık**				
	30ºC	40ºC	50ºC	60ºC	70ºC
0	3.15	4.30	4.17	7.70	8.69
5	19.55	23.85	23.86	28.82	10.47
10	29.40	45.91	47.95	41.04	9.91
15	36.00	52.68	49.52	51.08	9.56
20	48.31	58.89	56.55	54.98	10.88
30	55.57	59.90	58.00	55.13	10.61
45	58.13	62.87	60.27	56.19	10.62
60	55.94	64.07	60.19	55.30	9.66
90	58.21	63.65	62.74	55.95	9.30

Tablo 3.9'dan görüldüğü gibi en yüksek ester içeriği 40°C'de gerçekleştirilen reaksiyonda elde edilmiştir. Sıcaklık 40°C'nin üzerine çıkarıldığında ester içeriğinin düştüğü görülmüştür. Buna neden olarak sıcaklığın artması ile enzim aktivitesinin olumsuz yönde etkilenmesi gösterilebilir. Bilindiği gibi aynı enzim için optimum aktivite göstereceği sıcaklık kullanılan reaksiyona ve reaktanların çeşidine göre de farklılık gösterebilmektedir. Pamuk yağının, metanoliz reaksiyonunda kullanılan Novozym 435 mikrobiyal lipazı için optimum sıcaklık 50°C olarak belirtilirken yemeklik yağın biyodizele dönüşümünün incelendiği bir diğer çalışmada ise aynı

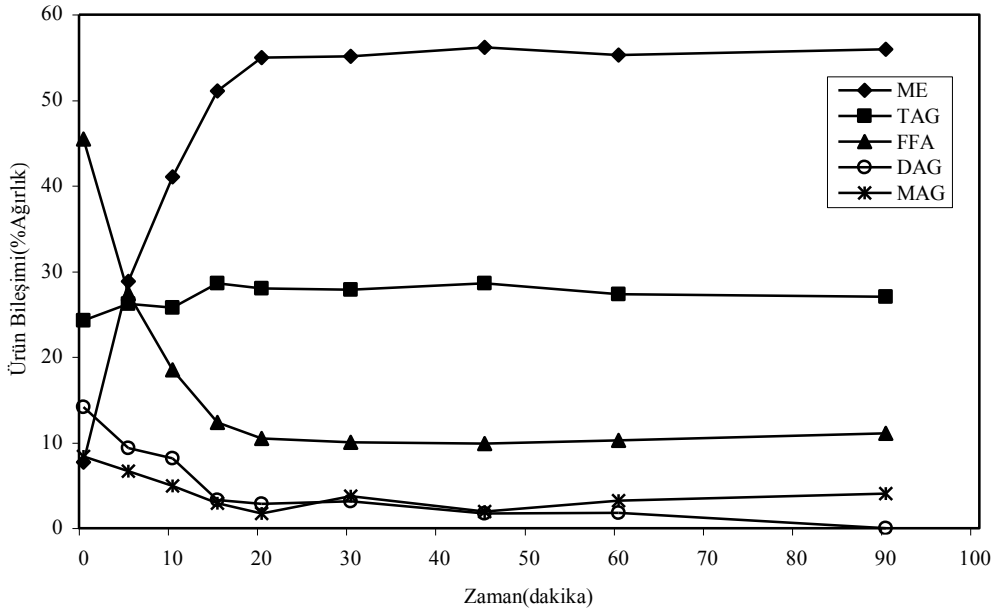
enzim için optimum sıcaklığın 30°C olduğu bildirilmektedir [14,28]. Bu çalışmada ise Novozym 435 mikrobiyal lipazı için optimum sıcaklık 40°C olarak belirlenmiştir.



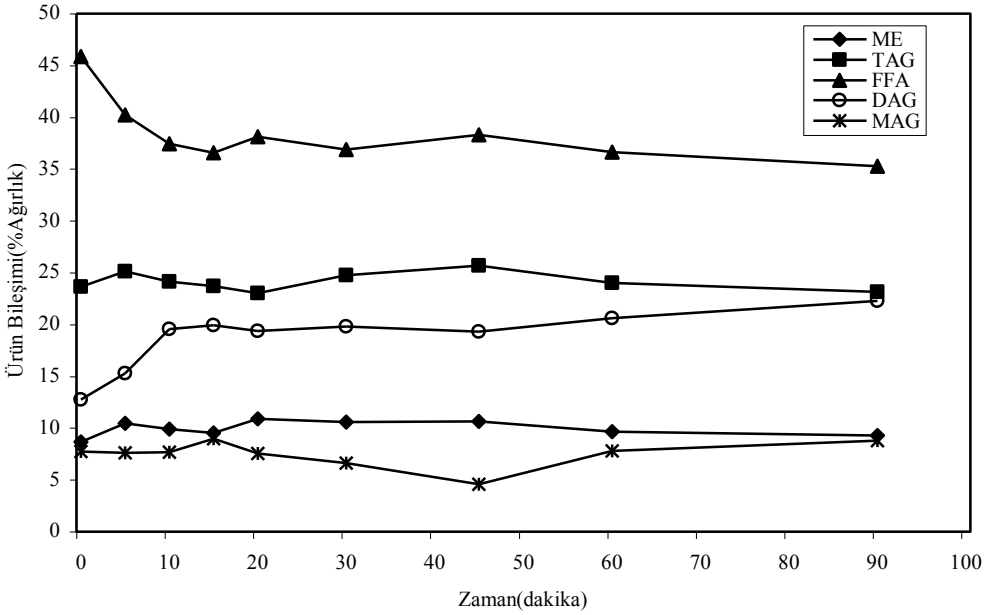
Şekil 3.13. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 30°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.14. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL).



Şekil 3.15. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 60°C; n-hekzan: 25 mL).



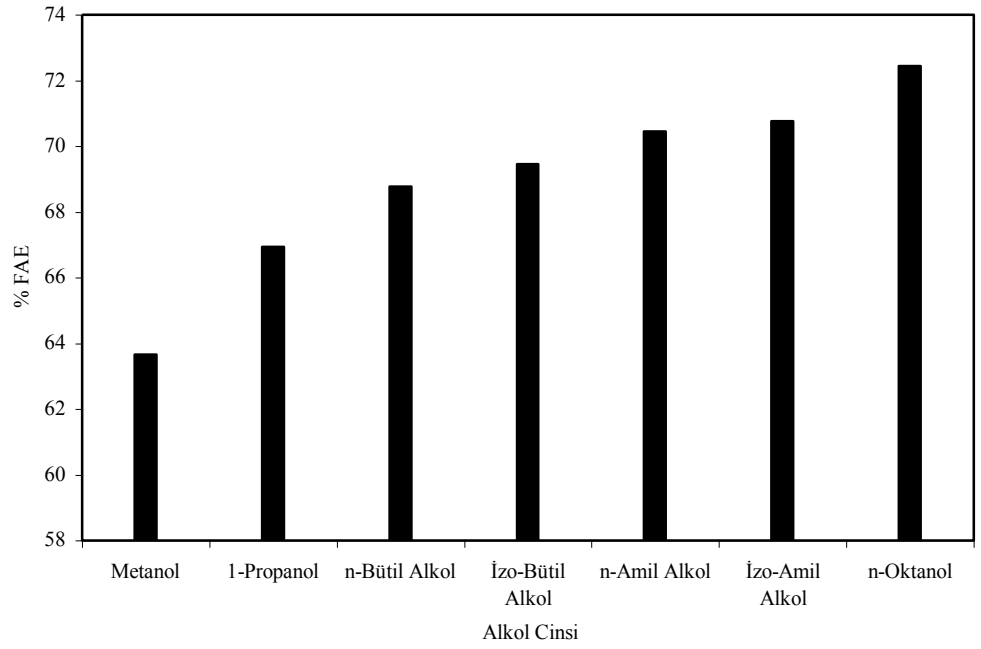
Şekil 3.16. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 70°C; n-hekzan: 25 mL).

3.11 Ayçiçek Asidik Yağının Farklı Alkollerle Enzimatik Esterleşme Reaksiyonlarının İncelenmesi

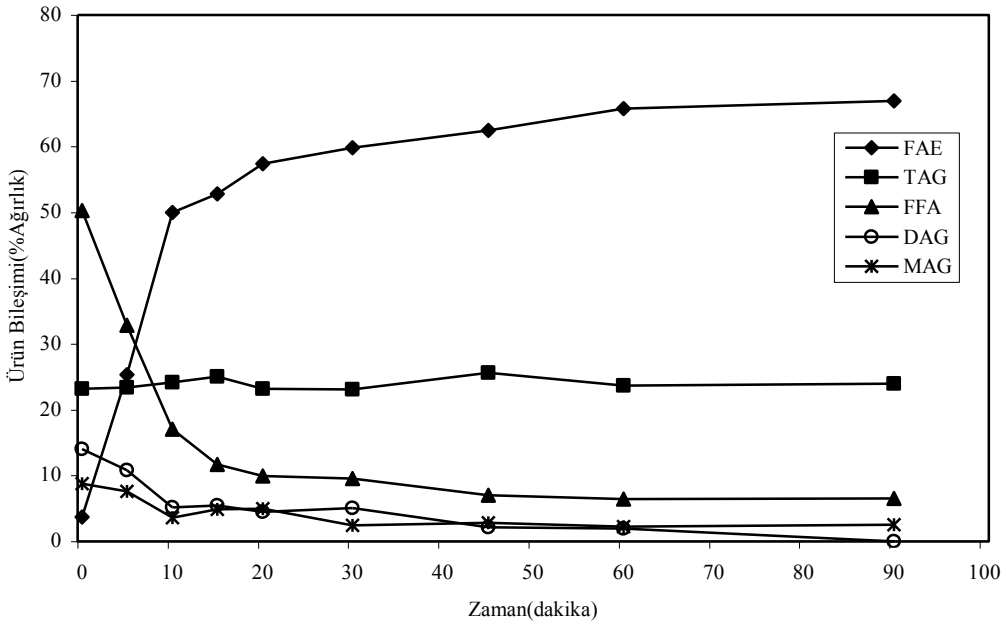
Esterleşme reaksiyonlarında kullanılan alkol çeşidinin reaksiyonu etkilediği bilinmektedir [1,16,20]. Çalışmanın bu bölümünde, ayçiçek asidik yağının metanol ile yürütülen enzimatik esterleşme reaksiyonu için belirlenen optimum çalışma koşullarında, ayçiçek asidik yağı ile farklı alkollerin enzimatik esterleşme reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. 40°C'de, 1/1 toplam yağ asidi/alkol mol oranında ve 0.15 enzim/yağ ağırlık oranında 25 mL n-hekzan ortamında gerçekleştirilen reaksiyonlarda alkol olarak 1-propanol, n-bütil alkol, izo-bütil alkol, n-amil alkol, izo-amil alkol ve n-oktanol kullanılmıştır. Elde edilen ester ürününün FAE içeriğinin, alkol cinsine bağlı olarak zaman göre değişimi Tablo 3.10 ve Şekil 3.17'de verilmiştir. Ayrıca ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri ise Şekil 3.14, 3.18-3.23 ve Tablo A.14, A.17-A.22'de verilmiştir.

Tablo 3.10. Ayçiçek asidik yağının farklı alkollerle gerçekleştirilen enzimatik esterleşme reaksiyonlarında elde edilen ürünlerin yağ asidi ester içeriklerinin ağırlık %'si olarak zamana göre değişimi (yağ:5 g; toplam yağ asidi/alkol mol oranı:1/1; enzim/yağ ağırlık oranı:0.15; sıcaklık:40°C; n-hekzan:25 mL)

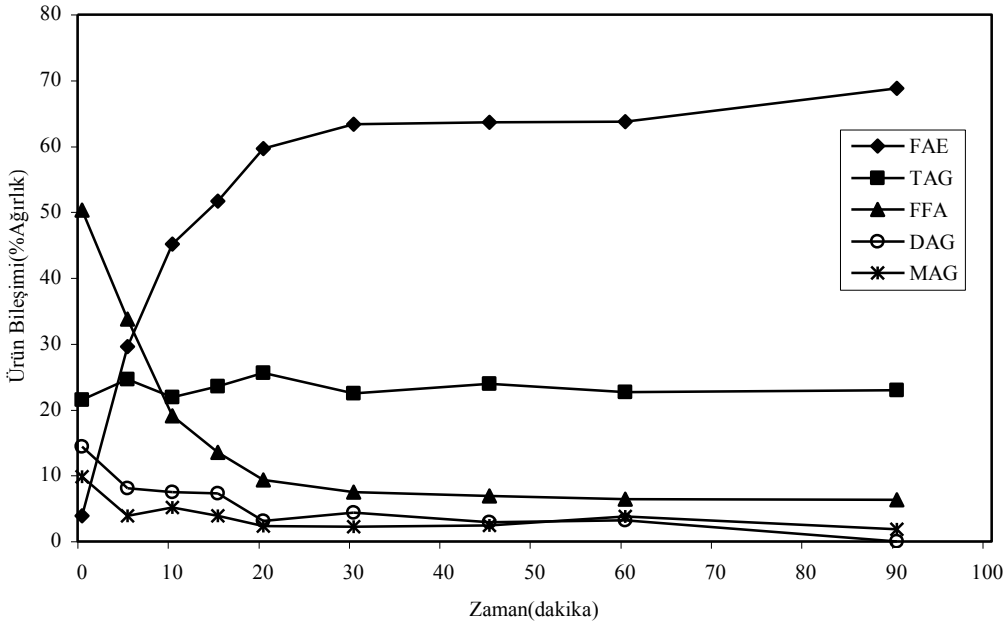
Zaman (dakika)	Metanol	1-Propanol	n-Bütil Alkol	İzo-Bütil Alkol	n-Amil Alkol	İzo-Amil Alkol	n-Oktanol
0	4.30	3.75	3.88	5.41	7.31	8.40	10.02
5	23.85	25.32	29.56	27.33	31.18	37.60	44.55
10	45.91	50.03	45.13	45.93	55.96	56.75	57.35
15	52.68	52.79	51.72	52.46	58.62	58.73	61.37
20	58.89	57.38	59.68	63.55	63.14	60.87	67.59
30	59.90	59.87	63.32	64.83	66.71	68.37	69.53
45	62.87	62.44	63.69	64.83	66.54	69.24	70.51
60	64.07	65.75	63.74	66.60	67.45	70.81	71.60
90	63.65	66.93	68.78	69.45	70.44	70.77	72.44



Şekil 3.17. Ayçiçek asidik yağının faklı alkollerle enzimatik esterleşme reaksiyonu sonucu elde edilen ester ürün miktarına alkol cinsinin etkisi (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL)

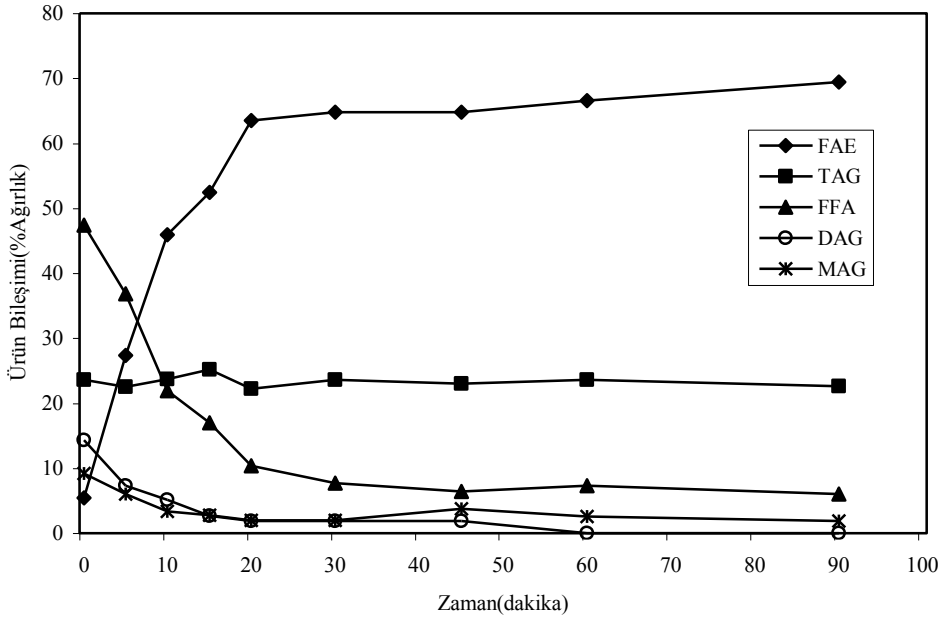


Şekil 3.18. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: 1-propanol).

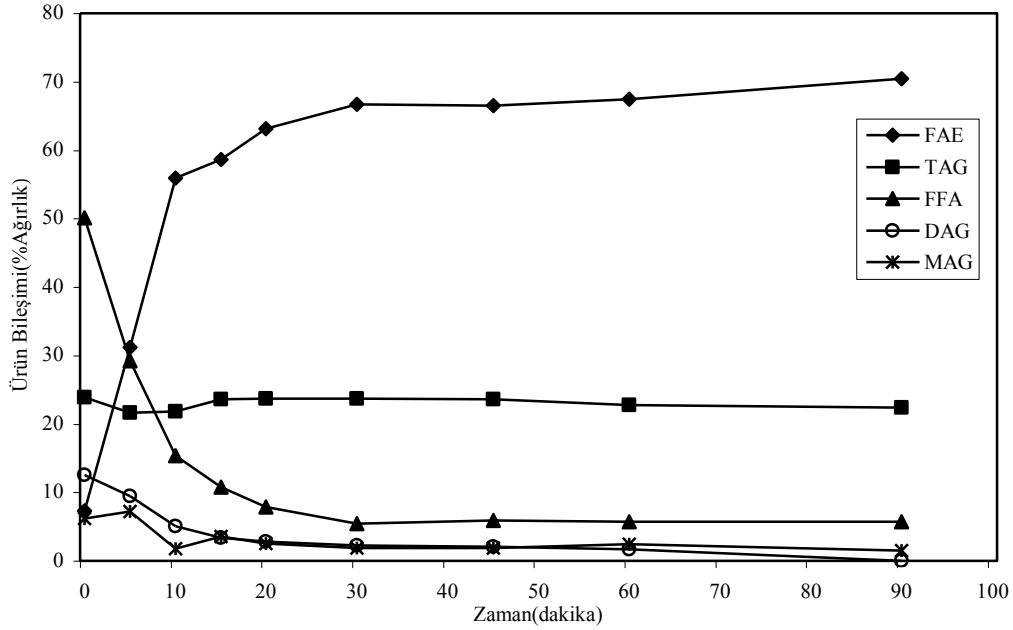


Şekil 3.19. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-bütil alkol).

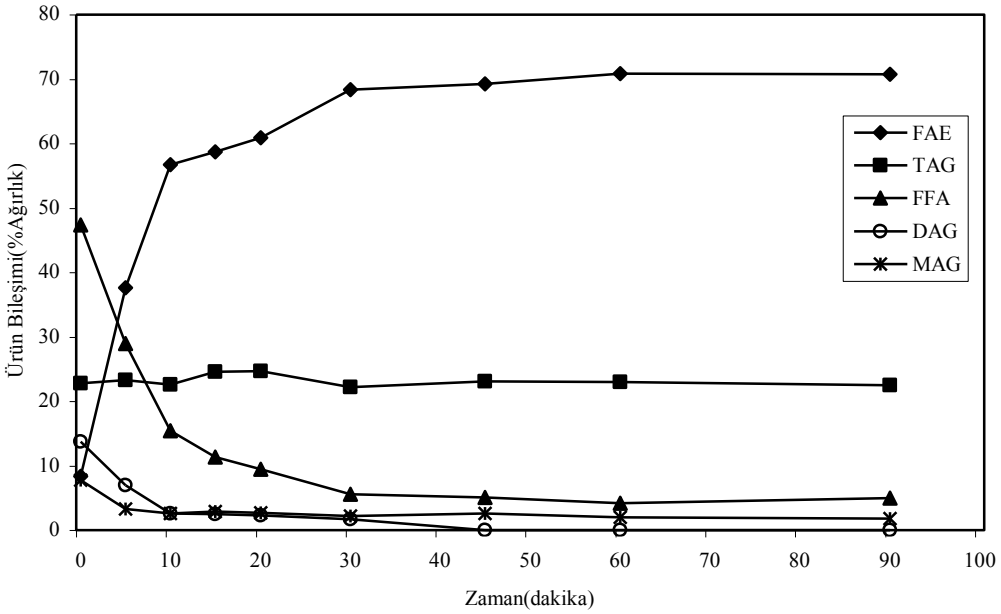
Elde edilen sonuçlar incelendiğinde kullanılan alkolün karbon zinciri uzadıkça elde edilen ürünlerin ester içeriğinin de arttığı görülmüştür. Tablo 3.10'dan da görüldüğü gibi en yüksek ester içeriği n-oktanol kullanıldığında elde edilmiştir. Bu sonuçlar literatürle uyum göstermektedir [16,20]. Elde edilen sonuçlara göre Novozym 435 mikrobiyal lipazının uzun zincirli alkollere karşı bir substrat seçiciliğinden bahsedilebilir ancak kesin bir sonuca varmak için daha uzun zincirli alkollerle de çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir. İzo-bütil alkol ve izo-amil alkol dallanmış yapıdaki alkollerdir. Tablo 3.10'dan görüldüğü gibi karbon zincirindeki dallanmanın ürünlerin ester içeriğine etkisi olmamıştır. n-bütil alkol kullanıldığında elde edilen ester içeriği, izo-bütil alkol kullanıldığında elde edilen ester içeriğiyle hemen hemen aynıdır. Aynı durum n-amil alkol ve izo-amil alkol için de geçerlidir.



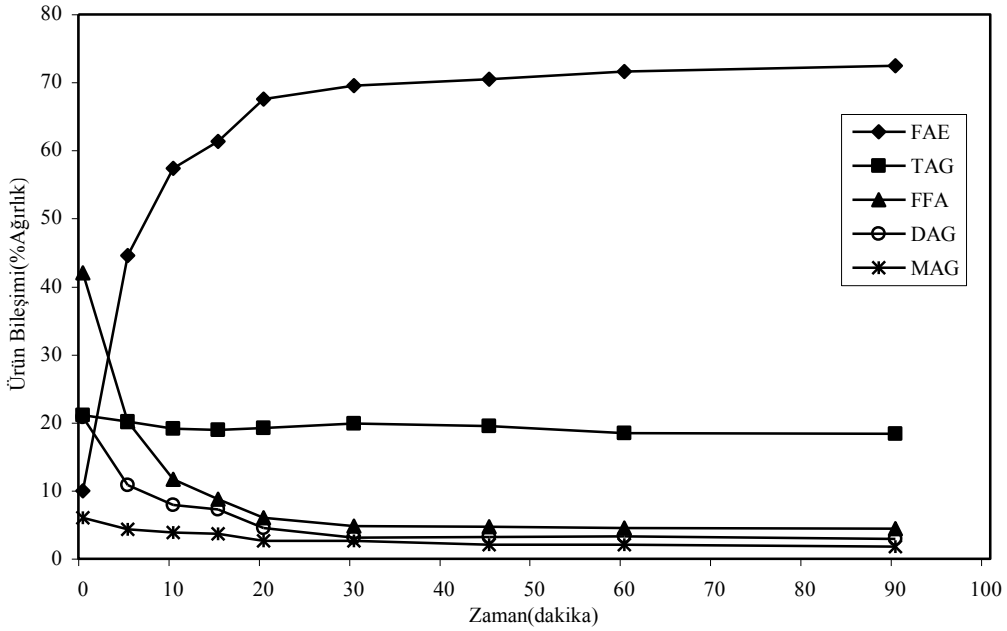
Şekil 3.20. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-bütil alkol).



Şekil 3.21. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-amil alkol).



Şekil 3.22. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-amil alkol).



Şekil 3.23. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-oktanol).

3.12. Ayçiçek Asidik Yağının Metanol ile Kademeli Enzimatik Esterleşme Reaksiyonlarının İncelenmesi

Çalışmanın bu kısmında, literatür araştırmaları sonuçlarına dayanarak ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonu kademeli olarak gerçekleştirilmiştir [14,15,18]. Bu amaçla daha önce belirlenen optimum reaksiyon koşullarında (40°C, 0.15 enzim/yağ ağırlık oranı, 25 mL n-hekzan) yürütülen esterleşme reaksiyonu 90 dakika optimum metanol miktarında (1/1 toplam yağ asidi/metanol mol oranı) gerçekleştirilmiştir. Daha sonra aynı miktarda metanol (1/1 toplam yağ asidi/metanol) reaksiyon karışımına ilave edilmiş ve esterleşme reaksiyonu 90 dakika daha devam ettirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.11'de görülmektedir.

Tablo 3.11. Metanolle gerçekleştirilen iki kademeli esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1.kademe: 1/1, 2.kademe:1/1).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	1.17	4.60	22.94	50.30	11.73	8.07
5	-	19.43	23.18	36.87	11.20	9.31
10	1.40	35.03	24.27	25.66	7.63	6.01
15	-	41.49	25.93	19.00	7.87	5.70
20	1.68	47.38	24.58	13.79	7.95	4.61
30	1.78	54.92	27.71	8.07	3.06	4.45
45	-	62.14	25.62	6.48	2.50	3.26
60	-	62.66	26.38	5.70	2.18	3.07
90	2.13	62.29	25.11	6.68	-	3.79
91	1.48	60.76	25.92	6.28	2.20	4.84
95	-	61.63	27.79	6.99	-	3.59
100	-	65.51	28.15	6.34	-	-
105	-	64.52	28.15	5.32	-	2.00
110	-	64.14	26.92	6.39	-	2.55
120	-	63.03	26.59	6.41	1.65	2.32
135	-	64.18	28.07	5.76	-	1.99
150	-	65.54	26.56	5.02	-	2.87
180	-	64.82	25.37	5.02	1.86	2.93

Tablo 3.11 incelendiğinde metil ester ürününün ester miktarının optimum koşullarda metanolün tek seferde ilave edildiği reaksiyonda elde edilen miktarla hemen hemen aynı olduğu görülmektedir (Tablo 3.10). Ancak bu reaksiyonda toplam yağ asidi/metanol mol oranı iki kademe sonucunda 1/2 toplam yağ asidi/metanol mol

oranına tekabül etmektedir. Elde edilen sonuçlara göre metanolü kademeli ilave etmenin enzimin inaktivasyonunu önleyebildiğini söyleyebiliriz. Aynı reaksiyon koşulları olmamasına rağmen Bölüm 3.8'de 1/2 toplam yağ asidi/metanol mol oranında çalışılan reaksiyon incelendiğinde, aynı miktarda metanolü, tek kademede ilave etmenin enzimi inaktive ettiği ve ester miktarını düşürdüğü görülebilir.

Optimum metanol miktarının iki kademede ilave edilmesi ile elde edilen sonuçların fazla değişmemesi nedeniyle çalışmanın bu aşamasında optimum metanol miktarının önce 1/3'ü, daha sonra 2/3'ü ve son aşamada tekrar 1/3'ü kadar metanol reaksiyona ilave edilmiştir. İlk kademe 6 saat, ikinci kademe 21 saat ve son kademe ise tekrar 21 saat devam ettirilmiştir. Toplam sürenin 48 saat olduğu reaksiyondan elde edilen sonuçlar Tablo 3.12'de verilmiştir.

Tablo 3.12. Metanolle gerçekleştirilen üç kademeli esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1.kademe: 3/1, 2.kademe:3/2, 3.kademe:3/1).

Zaman (saat)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	6.51	23.18	49.10	11.70	9.51
0.5	-	21.66	23.29	41.73	7.02	6.29
1	-	22.63	24.81	42.08	5.16	5.31
2	-	21.00	23.81	40.80	7.41	6.98
3	1.45	21.38	24.58	42.40	5.20	5.58
4	1.58	21.98	26.70	42.70	4.46	2.57
6	-	21.62	27.11	33.93	11.35	5.99
6.016	-	38.59	24.04	19.72	12.15	5.50
7	-	46.44	25.14	18.62	6.25	3.54
9	-	49.13	26.24	15.60	4.59	4.44
24	-	56.76	25.35	8.36	4.75	4.77
27	1.67	57.25	26.83	10.25	3.99	-
27.016	1.57	56.84	29.23	7.83	1.29	3.24
27.5	1.51	59.92	24.62	7.4	3.07	3.48
28	1.85	59.25	25.38	7.94	2.21	3.35
31	1.76	59.58	24.43	8.51	2.16	3.55
48	1.82	56.45	26.39	12.75	-	2.59

Sonuçlar incelendiğinde esterleşme reaksiyonunun kademeli olarak yürütülmesinin reaksiyon için olumlu bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak bundan sonra yapılacak kademeli çalışma için literatürde belirtilen dolgulu kolon tipi

reaktörlerde reaksiyonların yürütülmesi ile sonuçlarda bir değişiklik olabileceği düşünülmektedir [18].

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ayçiçek asidik yağının Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığında enzimatik esterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Çalışmada varılan sonuç, değerlendirme ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1. Enzimatik esterleşme reaksiyonları çözücülü ve çözücüsüz ortamlarda yürütülmüş ve çözücü olarak n-hekzan (25 mL) kullanıldığında ester veriminin arttığı görülmüştür. Daha sonraki çalışmalarda farklı çözücülerle aynı koşullarda yürütülecek esterleşme reaksiyonları ile çözücü cinsinin esterleşme reaksiyonuna etkisinin incelenmesi faydalı olacaktır.

2. Esterleşme reaksiyonuna reaksiyon süresinin etkisi incelenmiş ve 90 dakikadan sonra ester ürün bileşiminin hemen hemen sabit kaldığı gözlenmiştir. Reaksiyon süresi 90 dakika olarak belirlenmiştir.

3. Esterleşme reaksiyonu sırasında oluşan suyu uzaklaştırmak için reaksiyon karışımına 30 dakikadan sonra moleküler elek ilave edilmiştir. Ancak elde edilen sonuçlar moleküler elek kullanımının esterleşme verimi üzerinde bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

4. Ayçiçek asidik yağı ve metanol arasındaki enzimatik esterleşme reaksiyonu için en uygun toplam yağ asidi/metanol mol oranının 1/1 olduğu belirlenmiştir. Metanol miktarı arttıkça ester veriminin düştüğü görülmüştür. Bu, literatürde de belirtildiği gibi ortamdaki metanol fazlasının kullanılan enzimi inaktive etmesinden kaynaklanmaktadır.

5. Enzim miktarı arttıkça ürünlerin ester içerikleri ve reaksiyon hızı artmıştır. Enzim/yağ ağırlık oranı 0.20 ve 0.25 olduğunda reaksiyon hızının 0.15 oranına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak durum ekonomik yönden değerlendirildiğinde en uygun enzim/yağ ağırlık oranı 0.15 olarak belirlenmiştir. Çünkü enzimler oldukça yüksek maliyet gerektiren katalizörlerdir.

6. Novozym 435 mikrobiyal lipazının katalitik etkisi altında farklı sıcaklıklarda yürütülen esterleşme reaksiyonları sonucunda kullanılan enzim için optimum sıcaklık 40°C olarak belirlenmiştir.

7. Ayçiçek asidik yağının metanol ile enzimatik esterleşme reaksiyonu için belirlenen optimum reaksiyon koşullarında, farklı zincir uzunluklarına sahip alkollerle esterleşme reaksiyonları yürütülmüş ve en yüksek ester içeriği (%72.4) n-oktanol ile elde edilmiştir. Kullanılan alkolün karbon zincir uzunluğu arttıkça elde edilen ürünlerin ester içeriklerinin arttığı ancak karbon zincirindeki dallanmanın ürünlerin ester içeriğini etkilemediği görülmüştür.

8. Ayçiçek asidik yağının metanol ile kademeli enzimatik esterleşme reaksiyonları incelenmiştir. Ancak stokiometrik toplam yağ asidi/metanol mol oranının iki defa kademeli olarak reaksiyon ortamına ilave edilmesinin ester ürün bileşimine etki etmediği görülmüştür. Stokiometrik toplam yağ asidi/metanol mol oranının, önce 1/3'ü kadar (6 saat), daha sonra 2/3'ü kadar (27 saat) ve son kademede 1/3'ü kadar metanol (48 saat) üç kademede reaksiyona ilave edilerek esterleşme reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ancak toplam reaksiyon süresinin 48 saat olduğu çalışmada elde edilen ürünün ester içeriğinin düştüğü görülmüştür.

9. Gerçekleştirilen reaksiyonlarda ürünlerin TAG içeriklerinde düşme görülmemiştir.

10. Bu çalışmada Novozym 435 mikrobiyal lipazının ayçiçek asidik yağının esterleşme reaksiyonu üzerindeki katalitik etkisi incelenmiştir. Bu konuda daha sonra yapılacak çalışmada farklı enzimlerin reaksiyon hızına olan etkisini incelemek yararlı olacaktır. Böylece farklı enzimler kullanılarak esterleşme veriminin artırılması ve ayçiçek asidik yağı içinde bulunan triaçilgliserollerin alkolizi mümkün olabilir. Yağ asidi esterleri triaçilgliserollere göre çok daha düşük kaynama noktasına sahiptirler. Bu özellikten yararlanılarak esterleri distilasyon ile saf olarak kazanmak da mümkündür.

KAYNAKLAR

[1] Ghosh, S., Bhattacharyya, D.K., 1995. Utilization of Acid Oils in Making Valuable Products by Microbial Lipase Technology, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol. 72,** 1541-1544

[2] Mert, Ş., 1994. Gliserinin Yağ Asitleri ile Çörekotu Tohumu Varlığında Enzimatik Esterleşme Reaksiyonunun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul

[3] Kurt,G., 1997. Ayçiçek Yağının Doğrudan Alternatif Yakıt Olarak Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul

[4] Bor, T., 1988. Hint Tohumu Lipazı ile Bitkisel Yağların Enzimatik Hidrolizi, Yüksek Lisans Tezi, , İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul

[5] Pattison, S.E., 1968. Fatty Acids and Their Industrial Applications, pp. 48-57, Markel Dekker, Inc., New York

[6] Kirk, R.E., Othmer, D.F., 1965. Encylopedia of Chemical Technology, **Vol.8,** pp. 313-315, 357-363, 374-375, 818-820, Interscience Publishers a Division of John Wiley and Sons Inc., New York

[7] Bailey, A.E., 1996. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, **Vol.5,** pp.46-52, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., New York, Chishester, Brisbane, Toronto, Singapore

[8] Bailey, A.E., 1982. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, **Vol. 2,** pp. 127-133, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., New York, Chishester, Brisbane, Toronto, Singapore

[9] Mukherjee, K.D., 1990. Lipase-Catalyzed Reactions for Modification of Fats and Other Lipids, *Biocatalysis*, **Vol.3,** 277-293

[10] Tüter, M., 1998. Castor Bean Lipase as a Biocatalyst in the Esterification of Fatty Acids to Glycerol, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol. 75,** 417-420

[11] Mert, Ş., Dandik, L., Aksoy, H.A., 1995. Production of Glycerides from Glycerol and Fatty Acids by Native Lipase of Nigella sativa Seed, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **Vol. 50,** 333-342

[12] Ducret, A., Giroux, A., Trani, M., Lortie, R., 1995. Enzymatic Preparation of Biosurfactants from Sugar or Sugar Alcohols and Fatty Acids in Organic Media Under Reduced Pressure, *Biotechnol. Bioeng.*, **Vol. 48,** 214-221

[13] Pepin, P., Lortie, R., 1999. Influence of Water Activity on the Enantioselective Esterification of (R, S)-Ibuprofen by Candida antarctica Lipase B in Solventless Media, *Biotechnol. Bioeng.*, **Vol. 63,** 502-505

[14] 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.*, **Vol. 76,** 789-793

[15] Watanabe, Y., Shimada, Y., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H., Tominaga, Y., 2000. Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized Candida antarctica Lipase, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol.77,** 355-360

[16] Awang, R., Basri, M., Ahmad, S., Salleh, A.B., 2000. Enzymatic Esterification of Dihydroxystearic Acid, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol.77,** 609-612

[17] Gubicza, L., Kabiri-Badr, A., Keoves, E., Belafi-Bako, K., 2000. Large-scale enzymatic production of natural flavour esters in organic solvent with continuous water removal, *Journal of Biotechnology*, **Vol.84,** 193-196

[18] Watanabe,Y., Shimada, Y., Sugihara, A., Tominaga, Y., 2001. Enzymatic Conversion of Waste Edible Oil to Biodiesel Fuel in a Fixed-Bed Bioreactor, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol.78,** 703-707

[19] Yang, T.H., Jang, Y., Han, J.J., Rhee, J.S., 2001. Enzymatic Synthesis of Low-Calorie Structured Lipids in a Solvent Free System, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol.78,** 291-296

[20] Gandhi, N.N., Mukherjee, K.D., 2001. Specificity of Papaya Lipase in Esterification of Aliphatic Alcohols-A Comparison with Mikrobial Lipases, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol.78,** 161-165

[21] Steinke, G., Weitkamp, P., Klein, E., Mukherjee, K.D., 2001. High Yield Preparation of Wax Esters via Lipase-Catalyzed Esterification Usig Fatty Acids and Alcohols from Crambe and Camelina Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol.49,** 647-651

[22] Irımescu, R., Furihata, K., Iwasaki, Y., Yamane, T., 2001. Utilization of Reaction Medium-Dependent Regiospecificity of Candida antarctica Lipase (Novozym 435) for the Synthesis of 1,3- Dicapryloyl-2-docosahexaenoyl (or eicosapentaenoyl) Gliserol, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **Vol. 78,** 285-289

[23] Novo Nordisk Firması, "What are Enzymes?", web sayfası,

www.novo.dk/enzymes/what are.htm.

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

[25] Sampling and Analysis of Fats and Oils, 1973. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Official Method Ce 2-66

[26] Chaplin, M.F., Bucke, C., 1990. Enzyme Technology, Cambridge University Press, Cambridge, New York, Port Chester, Melbourne, Sydney

[27] Palmer, T., 1994. Enzim Bilgisi, Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı, İstanbul

[28] Köse, Ö., 1999. Pamuk Yağı-Metanol Enzimatik Transesterifikasyon Reaksiyonunun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul

EK A

Tablo A.1. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C).

Zaman (saat)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.31	10.18	21.09	43.76	13.58	9.08
1	2.31	47.00	26.69	13.49	5.72	4.79
2	2.38	48.71	24.75	12.63	5.67	5.86
3	2.32	46.06	29.43	11.27	4.31	6.60
4	2.30	47.17	25.56	10.66	5.77	8.53
5	2.33	41.82	26.34	12.37	8.63	8.51
7	2.32	41.66	24.91	13.54	9.85	7.71
24	2.31	40.46	20.94	11.62	13.94	10.73

Tablo A.2. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (saat)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.37	2.02	23.94	54.58	11.92	5.17
1	2.58	62.99	27.79	6.63	-	-
2	2.49	60.45	27.02	10.04	-	-
3	2.52	61.69	26.49	9.30	-	-
4	2.44	59.37	26.98	11.20	-	-
7	2.40	53.79	26.13	11.56	3.29	2.83
24	2.44	54.98	23.91	12.04	3.53	3.10

Tablo A.3. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.32	6.82	23.17	49.56	11.63	6.50
5	2.36	24.19	24.24	34.58	9.30	5.33
10	2.36	33.05	24.08	26.16	8.59	5.76
15	2.39	39.80	24.68	21.32	7.70	4.11
20	2.41	45.73	25.47	16.41	7.07	2.91
30	2.33	53.67	26.51	12.45	3.75	1.29
45	2.36	52.28	25.14	11.88	5.77	2.56
60	2.35	55.25	27.97	9.69	2.91	1.83
90	2.37	54.45	24.02	10.90	5.69	2.57
120	2.34	54.13	25.44	11.40	4.57	2.12
150	2.33	53.42	27.57	11.23	2.97	2.47
180	2.38	53.40	25.79	12.10	4.24	2.09
210	2.37	55.16	26.15	11.89	2.05	2.38
240	2.34	53.17	29.28	10.93	1.59	2.69

Tablo A.4. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL; moleküler elek miktarı:0.1 g).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.35	3.45	22.82	49.51	13.07	8.80
5	2.34	14.65	23.32	38.43	13.18	8.08
10	2.40	26.39	25.16	29.37	8.75	7.92
15	2.42	34.43	26.04	24.88	6.26	5.97
20	2.44	43.05	25.39	18.40	5.47	5.25
30	2.37	53.29	25.64	13.08	3.32	2.30
35	2.38	53.39	26.79	11.16	3.00	3.28
45	2.45	55.91	26.09	8.69	3.19	3.67
60	2.41	54.98	27.03	7.82	3.40	4.65
90	2.31	57.29	26.71	9.15	1.46	3.08

Tablo A.5. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.35	4.13	24.33	48.73	14.19	6.26
5	2.38	16.76	24.68	37.95	10.75	7.48
10	2.43	29.11	25.66	29.37	7.61	5.82
15	2.46	38.27	26.78	22.68	6.32	3.49
20	2.37	43.33	27.65	18.35	5.45	2.85
30	2.37	52.12	27.40	11.54	3.45	3.12
45	2.42	51.72	24.93	10.82	6.08	4.03
60	2.38	57.83	28.37	8.75	2.67	-
90	2.37	58.36	27.14	8.66	1.87	1.60

Tablo A.6. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/0.5; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.38	4.19	22.28	48.93	13.79	8.43
5	2.44	25.04	24.45	34.39	9.95	3.72
10	2.44	32.07	25.79	29.62	6.20	3.88
15	2.42	33.75	24.73	28.79	5.63	4.68
20	2.37	34.22	25.70	29.91	4.35	3.44
30	2.40	33.34	24.86	30.67	6.07	2.66
45	2.41	32.38	23.41	31.68	6.46	3.65
60	2.41	34.38	24.67	30.00	4.89	3.65
90	2.38	33.10	23.51	32.01	4.14	4.86

Tablo A.7. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/2; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.37	4.56	23.34	48.15	13.49	8.09
5	2.39	10.40	24.56	43.76	13.44	5.44
10	2.46	15.00	26.19	40.28	10.79	5.28
15	2.41	16.44	25.39	37.27	11.51	6.98
20	2.43	18.70	25.47	35.98	11.33	6.09
30	2.41	19.40	25.00	34.32	11.07	7.79
45	2.40	21.44	25.45	33.70	9.89	7.32
60	2.33	21.50	25.10	33.11	10.23	7.73
90	2.35	21.89	25.12	32.39	9.83	8.42

Tablo A.8. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.10; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.34	1.92	22.02	51.91	14.23	7.58
5	2.36	6.68	22.92	47.08	13.29	7.67
10	2.37	8.97	22.81	45.22	12.91	7.72
15	2.38	10.70	24.18	44.57	11.36	6.80
20	2.43	10.62	23.34	43.62	13.09	6.90
30	2.36	10.37	22.52	42.44	13.61	8.69
45	2.38	10.94	22.68	42.86	13.03	8.11
60	2.36	10.41	22.28	43.73	12.68	8.54
90	2.45	11.41	23.93	44.38	11.41	6.42

Tablo A.9. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.05; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.30	1.25	22.35	51.85	14.34	7.91
5	2.30	6.09	23.30	47.73	13.03	7.55
10	2.32	10.02	23.92	42.54	13.00	8.20
15	2.32	13.20	25.07	36.67	10.46	12.28
20	2.37	14.59	24.20	37.89	13.17	7.79
30	2.33	15.80	23.72	38.17	12.04	7.94
45	2.38	18.29	26.25	38.10	9.83	5.15
60	2.34	18.83	21.92	37.42	12.27	7.22
90	2.37	21.81	24.17	36.52	8.74	6.39

Tablo A.10. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	4.17	25.52	51.58	13.07	5.65
5	-	23.86	25.79	33.90	8.86	7.59
10	-	47.95	24.26	18.82	6.06	2.91
15	-	49.52	28.27	14.59	3.79	3.83
20	-	56.55	27.85	9.51	3.50	2.59
30	-	58.00	26.79	7.55	3.67	3.99
45	-	60.27	27.57	7.53	2.32	2.30
60	-	60.19	26.29	7.43	2.32	3.77
90	-	62.74	26.76	7.74	-	2.75

Tablo A.11. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.20; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.38	9.90	23.24	45.06	11.22	8.20
5	2.38	42.45	25.72	18.49	6.39	4.57
10	2.42	53.35	25.45	10.53	4.21	4.04
15	2.38	53.57	26.93	9.69	3.58	3.85
20	2.39	55.87	27.84	8.59	2.17	3.14
30	2.46	60.84	28.52	8.18	-	-
45	2.38	58.91	28.35	8.67	-	1.69
60	2.37	58.61	26.06	10.05	-	2.90
90	2.37	60.98	25.20	8.44	-	3.00

Tablo A.12. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.25; sıcaklık: 50°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	2.40	10.94	23.59	44.08	11.91	7.08
5	2.37	46.87	26.01	17.06	5.67	2.01
10	2.37	57.55	27.06	8.11	2.73	2.17
15	2.39	57.03	27.57	7.80	2.23	2.98
20	2.39	60.09	28.31	7.40	1.81	-
30	2.40	62.17	27.90	7.52	-	-
45	2.35	61.89	27.82	7.94	-	-
60	2.38	61.78	27.64	8.20	-	-
90	2.36	61.73	26.09	7.88	-	1.94

Tablo A.13. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 30°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	1.34	3.15	24.66	52.65	12.75	5.43
5	-	19.55	26.39	36.01	11.23	6.84
10	1.43	29.40	26.60	26.59	10.32	5.65
15	-	36.00	27.30	22.06	7.91	6.72
20	-	48.31	29.06	14.81	4.34	3.48
30	-	55.57	28.32	9.17	3.88	3.05
45	-	58.13	25.50	7.45	5.37	3.55
60	-	55.94	25.80	8.37	5.83	4.05
90	-	58.21	25.90	7.60	4.64	3.65

Tablo A.14. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	4.30	25.73	52.77	12.03	5.14
5	-	23.85	26.97	34.66	9.8	4.71
10	-	45.91	27.27	17.74	5.98	3.10
15	-	52.68	29.13	12.72	2.65	2.81
20	-	58.89	27.64	7.00	3.12	3.35
30	-	59.90	27.79	5.44	3.58	3.29
45	-	62.87	26.68	5.53	2.15	2.77
60	-	64.07	26.91	5.87	-	3.15
90	-	63.65	27.93	6.26	-	2.15

Tablo A.15. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 60°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	7.70	24.26	45.47	14.17	8.40
5	1.47	28.82	26.25	27.43	9.36	6.67
10	1.63	41.04	25.77	18.47	8.16	4.92
15	1.70	51.08	28.62	12.34	3.32	2.93
20	1.96	54.98	28.01	10.50	2.83	1.71
30	-	55.13	27.90	10.06	3.15	3.76
45	1.64	56.19	28.61	9.89	1.73	1.93
60	2.08	55.30	27.35	10.24	1.80	3.22
90	1.83	55.95	27.07	11.06	-	4.08

Tablo A.16. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/metanol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 70°C; n-hekzan: 25 mL).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**ME**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	1.35	8.69	23.61	45.88	12.74	7.72
5	1.26	10.47	25.13	40.23	15.29	7.61
10	1.30	9.91	24.13	37.44	19.53	7.68
15	1.25	9.56	23.71	36.59	19.93	8.95
20	1.05	10.88	23.00	38.10	19.39	7.56
30	1.27	10.61	24.78	36.88	19.81	6.64
45	1.47	10.62	25.69	38.31	19.29	4.61
60	1.30	9.66	24.02	36.62	20.60	7.79
90	1.15	9.30	23.17	35.29	22.28	8.81

Tablo A.17. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: 1-propanol).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**FAE**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	3.75	23.22	50.24	14.04	8.75
5	-	25.32	23.39	32.88	10.83	7.57
10	-	50.03	24.17	17.03	5.21	3.56
15	-	52.79	25.08	11.73	5.48	4.92
20	-	57.38	23.15	9.96	4.52	4.98
30	-	59.87	23.05	9.57	5.06	2.43
45	-	62.44	25.58	6.99	2.13	2.85
60	-	65.75	23.67	6.39	1.98	2.21
90	-	66.93	23.97	6.53	-	2.57

Tablo A.18. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-bütil alkol).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**FAE**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	3.88	21.53	50.33	14.42	9.84
5	-	29.56	24.65	33.81	8.09	3.89
10	1.27	45.13	21.91	19.06	7.47	5.16
15	-	51.72	23.57	13.48	7.30	3.93
20	-	59.68	25.60	9.33	3.08	2.31
30	-	63.32	22.48	7.50	4.42	2.28
45	-	63.69	23.95	6.91	2.96	2.48
60	-	63.74	22.71	6.47	3.26	3.83
90	-	68.78	23.00	6.33	-	1.89

Tablo A.19. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-bütil alkol).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**FAE**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	5.41	23.58	47.42	14.36	9.23
5	-	27.33	22.51	36.81	7.33	6.02
10	-	45.93	23.72	21.90	5.11	3.31
15	-	52.46	25.23	16.95	2.64	2.72
20	-	63.55	22.19	10.41	1.91	1.93
30	-	64.83	23.57	7.73	1.87	2.00
45	-	64.83	23.03	6.42	1.92	3.80
60	-	66.60	23.57	7.27	-	2.54
90	-	69.45	22.62	6.07	-	1.86

Tablo A.20. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-amil alkol).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**FAE**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	7.31	23.86	50.13	12.52	6.18
5	1.28	31.18	21.65	29.23	9.42	7.23
10	-	55.96	21.86	15.34	5.04	1.81
15	-	58.62	23.65	10.78	3.39	3.56
20	-	63.14	23.74	7.83	2.77	2.52
30	-	66.71	23.69	5.46	2.21	1.92
45	-	66.54	23.56	5.89	2.09	1.91
60	-	67.45	22.75	5.70	1.65	2.45
90	-	70.44	22.38	5.70	-	1.48

Tablo A.21. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: izo-amil alkol).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**FAE**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	8.40	22.75	47.34	13.74	7.77
5	-	37.60	23.30	28.93	6.93	3.24
10	-	56.75	22.58	15.43	2.61	2.63
15	-	58.73	24.61	11.33	2.48	2.84
20	-	60.87	24.67	9.48	2.25	2.73
30	-	68.37	22.17	5.60	1.68	2.18
45	-	69.24	23.10	5.10	-	2.56
60	-	70.81	23.00	4.16	-	2.02
90	-	70.77	22.44	4.95	-	1.84

Tablo A.22. Ayçiçek asidik yağının enzimatik esterleşme reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (toplam yağ asidi/alkol mol oranı: 1/1; enzim/yağ ağırlık oranı: 0.15; sıcaklık: 40°C; n-hekzan: 25 mL; alkol: n-oktanol).

Zaman (dakika)	**Ürün Bileşimi(%Ağırlık)**					
	Sabunlaşmayan Madde	**FAE**	**TAG**	**FFA**	**DAG**	**MAG**
0	-	10.02	21.09	42.01	20.85	6.02
5	-	44.55	20.12	20.18	10.86	4.29
10	-	57.35	19.12	11.71	7.96	3.86
15	-	61.37	18.92	8.73	7.28	3.70
20	-	67.59	19.22	6.06	4.51	2.62
30	-	69.53	19.87	4.84	3.07	2.68
45	-	70.51	19.51	4.75	3.19	2.04
60	-	71.60	18.48	4.53	3.28	2.11
90	-	72.44	18.37	4.45	2.91	1.83

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında İstanbul'da doğdu. İlk öğrenimini Antalya Faruk Tugayoğlu İlköğretim Okulu'nda,orta öğrenimini Antalya Merkez Ortaokulu'nda, lise öğrenimini Antalya Karatay Lisesi'nde tamamladı. 1996 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümüne girdi ve 2000 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2000-2001 öğrenim döneminde İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde Yüksek Lisans öğrenimine başladı.