

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PAMUK YAĞI-METANOL ENZİMATİK TRANSESTERİFİKASYON  
REAKSİYONUNUN İNCELENMESİ**

100563

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kim. Müh. Öznur KÖSE**

**F0697Y003**

TC YÜKSEKÖĞRETİM ENSTİTÜSÜ  
DOĞUMAN YASIN MEKKE

100563

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 31 Mayıs 1999**

**Tezin Savunulduğu Tarih : 16 Haziran 1999**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Melek TÜTER**  
**Diğer Jüri Üyeleri Prof. Dr. Ayşe ERDEM-ŞENATALAR**  
**Doç. Dr. Oya GALİOĞLU-ATICI**

**HAZİRAN 1999**

## ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca, hiçbir bilgi ve yardımlarını esirgemedi bana yol gösteren, manevi desteğini her zaman hissettiğim değerli Hocam, Sayın Doç. Dr. Melek TÜTER' e, bilgi ve yardımlarından dolayı Hocam, Sayın Doç. Dr. Filiz KARAOSMANOĞLU' na, ilgi ve desteklerinden ötürü Hocam, Sayın Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY' a, laboratuvarını kullanmama izin vererek deneylerimin ilerlemesine yardımcı olan Sayın Araş. Gör. Sevil Özgül-YÜCEL' e, deneylerim esnasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Aylin AKOVA' ya, analizlerime katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Seniha GÜNER' e, Sayın Doç. Dr. Sermet KABASAKAL' a, Sayın Doç. Dr. Ülker BEKER' e, Sayın Kim. Müh. Cenk KARAKAŞ'a ve Sayın Kim. Yük. Müh. Gürkan KURT' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Değerli Arkadaşım Kim. Müh. Banu BABALI' ya tez çalışmam boyunca gösterdiği manevi desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Ve bütün öğrenim hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan Değerli Aileme de sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

HAZİRAN, 1999

Kim. Müh. Öznur KÖSE

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                | <u>Sayfa No</u> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>KISALTMALAR .....</b>                                                                                       | <b>v</b>        |
| <b>TABLO LİSTESİ .....</b>                                                                                     | <b>vi</b>       |
| <b>ŞEKİL LİSTESİ .....</b>                                                                                     | <b>vii</b>      |
| <b>ÖZET .....</b>                                                                                              | <b>viii</b>     |
| <b>SUMMARY .....</b>                                                                                           | <b>x</b>        |
| <br>                                                                                                           |                 |
| <b>1. GİRİŞ .....</b>                                                                                          | <b>1</b>        |
| 1.1 Giriş ve Amaç .....                                                                                        | 1               |
| <br>                                                                                                           |                 |
| <b>2. TEORİK ÇALIŞMA .....</b>                                                                                 | <b>4</b>        |
| 2.1 Pamuk Bitkisi .....                                                                                        | 4               |
| 2.2 Pamuk Tohumu .....                                                                                         | 6               |
| 2.3 Pamuk Yağı .....                                                                                           | 6               |
| 2.4 Bitkisel Yağların Transesterifikasyonu ve Ester Ürünün Yakıt Alternatifi<br>Olarak Değerlendirilmesi ..... | 11              |
| 2.4.1 Kaynak tarama .....                                                                                      | 15              |
| <br>                                                                                                           |                 |
| <b>3. DENEYSEL ÇALIŞMA .....</b>                                                                               | <b>20</b>       |
| 3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                                         | 20              |
| 3.2 Pamuk Yağının Karakterizasyonu .....                                                                       | 20              |
| 3.3 Deney Düzenegi .....                                                                                       | 21              |
| 3.4 Enzimatik Transesterifikasyon Reaksiyonu .....                                                             | 21              |
| 3.5 Transesterifikasyon Reaksiyon Ürününün Kolon Kromatografisi ile<br>Fraksiyonlarına Ayrılması .....         | 22              |
| 3.6 Enzimatik Transesterifikasyon Reaksiyonu İçin Optimum Koşulların<br>Belirlenmesi .....                     | 24              |
| 3.6.1 Enzim miktarının etkisi .....                                                                            | 24              |
| 3.6.2 Mol oranının etkisi .....                                                                                | 25              |
| 3.6.3 Sıcaklığın etkisi .....                                                                                  | 26              |
| 3.6.4 Zamanın etkisi .....                                                                                     | 26              |
| 3.7 Novozym 435 Mikrobiyal Lipazının Tekrar Kullanılabilirlik<br>Derecesinin İncelenmesi .....                 | 27              |

|                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.8 Biyomotorinin Yakıt Özelliklerinin İncelenmesi .....         | 30        |
| 3.8.1 Biyomotorinin yakıt özelliklerinin değerlendirilmesi ..... | 34        |
| <b>4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>                             | <b>37</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                           | <b>39</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                            | <b>43</b> |



## **KISALTMALAR**

|            |                              |
|------------|------------------------------|
| <b>TEP</b> | : Ton Eşdeğer Petrol         |
| <b>CGC</b> | : Kapiler Gaz Kromatografisi |
| <b>TLC</b> | : İnce Tabaka Kromatografisi |
| <b>ME</b>  | : Metil ester                |
| <b>TAG</b> | : Triaçilgliserid            |
| <b>FFA</b> | : Serbest yağ asidi          |
| <b>DAG</b> | : Diaçilgliserid             |
| <b>MAG</b> | : Monoaçilgliserid           |



## TABLO LİSTESİ

|                                                                                           | <u>Sayfa No</u> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>Tablo 1.1</b> Türkiye önemli petrol ürünleri dağılımı .....                            | 3               |
| <b>Tablo 1.2</b> Türkiye enerji tüketimi dağılımının yıllara bağlı değişimi .....         | 3               |
| <b>Tablo 2.1</b> Tipik bir pamuk yağı yağ asidi bileşimi .....                            | 7               |
| <b>Tablo 2.2</b> Dünya pamuk stok, üretim ve tüketim durumu (bin ton).....                | 9               |
| <b>Tablo 2.3</b> Ülkelerin dünya pamuk üretimi (bin ton) .....                            | 10              |
| <b>Tablo 2.4</b> Çeşitli yağlı tohumların Türkiye ve dünyadaki<br>üretimi (bin ton) ..... | 10              |
| <b>Tablo 3.1</b> Pamuk yağının bazı teknolojik özellikleri.....                           | 21              |
| <b>Tablo 3.2</b> Enzim miktarındaki değişimin ürün bileşimine etkisi.....                 | 24              |
| <b>Tablo 3.3</b> Yağ/alkol mol oranındaki değişimin ürün bileşimine etkisi .....          | 25              |
| <b>Tablo 3.4</b> Sıcaklıktaki değişimin ürün bileşimine etkisi .....                      | 26              |
| <b>Tablo 3.5</b> Reaksiyon süresindeki değişimin ürün bileşimine etkisi .....             | 27              |
| <b>Tablo 3.6</b> Enzimin tekrar kullanım sayısının ürün bileşimine etkisi .....           | 29              |
| <b>Tablo 3.7</b> Biyomotorin ve motorinin yakıt özellikleri .....                         | 33              |
| <b>Tablo 3.8</b> TS 3082 – EN 590/Aralık 1994 motorin özellikleri .....                   | 35              |
| <b>Tablo 3.8</b> TS 3082 – EN 590/Aralık 1994 motorin özellikleri (Devam) .....           | 36              |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                                               | <u>Sayfa No</u> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Şekil 3.1 : Enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunun akım şeması .....                                                     | 23              |
| Şekil 3.2 : Enzimin tekrar kullanılabilirlik derecesini belirlemek<br>amacıyla gerçekleştirilen reaksiyonun akım şeması ..... | 28              |
| Şekil 3.3 : Enzimin kullanım sayısının ürün bileşimine etkisi .....                                                           | 29              |
| Şekil 3.4 : Biyomotorin ve motorinin viskozite-sıcaklık değişimi .....                                                        | 32              |



# PAMUK YAĞI-METANOL ENZİMATİK TRANSESTERİFİKASYON REAKSİYONUNUN İNCELENMESİ

## ÖZET

Enerji, ülkelerin sosyal ve ekonomik kalkınması için en önemli temel girdidir. Dünya enerji ihtiyacı artan endüstrileşme ve nüfus ile sürekli artarken, fosil enerji kaynakları da hızla tükenmektedir. Mevcut enerji kaynaklarının hızla tükenir olması ve yaşanan enerji krizleri sonrasında yeni enerji kaynaklarına ilgi artmıştır. Bu amaçla, yeni yakıt teknolojileri kapsamında değerlendirilebilen önemli bir enerji kaynağı biyokütle kökenli bitkisel yağlardır.

Yüksek ısı değerleri ve uygun setan sayıları ile bitkisel yağlar, alternatif dizel yakıt olarak önemli bir potansiyeldirler. Ancak, bitkisel yağların yüksek viskoziteye sahip olmaları, alternatif dizel yakıtı olarak kullanılmalarını sınırlamaktadır. Ortaya çıkan sorunlar şu şekilde sıralanabilir: filtrede tıkanma, soğukta ilk hareket zorluğu, yağlama yağının işlevini yitirmesi, enjeksiyon sırasında tane boyutunda büyüme ile tam yanma oluşamaması, koklaşma ve motor ömrü kısılması ve yağların soğuk iklim koşullarında katılaşma eğilimleri. Bu sorunları ortadan kaldırmak için dört ayrı modifikasyon tekniği önerilmektedir: seyreltme, mikroemülsiyon oluşturma, piroliz ve transesterifikasyon. Transesterifikasyon, bu teknikler içinde ham, rafine ve atık yağlar için en çok tercih edilen yöntemdir.

Transesterifikasyon reaksiyonunda, yağ monohidrik bir alkol (metanol, etanol, v.b) ile katalizör varlığında gliserin ve yağ asidi vererek esterleşir. Ürün olarak elde edilen yağ asidi esterleri dizel motorunda yakıt olarak kullanılmaktadır. Avrupa’ da birçok ülkede bu esterlerin dizel yakıtı olarak kullanımı gündemdedir. Bitkisel yağların dizel yakıtı olarak alkil esterlerine dönüştürülme amaçları şunlardır: gliseridleri bütünüyle ortadan kaldırmak, yağın viskozitesini düşürmek, yağın kaynama noktasını düşürmek, yağın akma noktasını düşürmek, yağın alevlenme noktasını düşürmek, gliserini kimya endüstrisinde kullanmak ve yan ürünleri sabun ve deterjan endüstrileri gibi alanlarda değerlendirmek.

Transesterifikasyon reaksiyonlarında kimyasal katalizörlerin dışında, son yıllarda enzimlerin kullanımı da hızla artmaktadır. Böylece, kimyasal katalizörlerin neden olduğu bazı olumsuzluklar enzimlerin kullanımı ile ortadan kaldırılabilir.

Bu çalışmada, Türkiye kökenli rafine pamuk tohumu yağının metanol ile Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığında transesterifikasyon reaksiyonunun gerçekleştirilmesi ve elde edilen metil esterlerin yakıt özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma dört aşamada yürütülmüştür: pamuk tohumu yağının karakterizasyonu, transesterifikasyon reaksiyonu için optimum koşulların belirlenmesi, immobilize enzimin kullanılabilirlik derecesinin belirlenmesi ve elde edilen metil esterlerinin yakıt özelliklerinin belirlenmesi.

Pamuk tohumu yağının bazı teknolojik özellikleri standart yağ analiz yöntemleri ile belirlenmiştir:

|                                     |          |
|-------------------------------------|----------|
| Yoğunluk, 20°C (kg/m <sup>3</sup> ) | : 916.9  |
| Kırılma indisi, 20°C                | : 1.4718 |
| Asit değeri, mg KOH/g               | : 0.309  |
| Sabunlaşma değeri, mg KOH/g         | : 197.16 |
| İyot değeri, g I/100 g              | : 121.82 |

Pamuk yağı yağ asidi bileşimi, kapiler gaz kromatografisi yöntemi ile belirlenmiştir.

Yağ asidi bileşimi, (% Ağırlık):

|                  |         |
|------------------|---------|
| Miristik asit    | : 0.68  |
| Palmitik asit    | : 21.61 |
| Palmitoleik asit | : 0.56  |
| Stearik asit     | : 2.46  |
| Oleik asit       | : 11.91 |
| Linoleik asit    | : 61.08 |
| Araşidik asit    | : 0.34  |
| Diğer            | : 1.36  |

Transesterifikasyon reaksiyonu, 100 ml hacminde dibi yuvarlak cam bir balonda gerçekleştirilmiştir. Belirli süre devam ettirilen reaksiyon, bu süre sonunda durdurularak 90°C’ deki su banyosunda 30 dakika ısıtılarak enzimin inaktivasyonu sağlanmış ve 100 ml hegzan ile süzülerek enzimin yağ fazından ayrılması sağlanmıştır. Gliserini uzaklaştırmak için ise yağ fazı 3 kez 50°C’ deki distile su ile ayırma hunisinde yıkanmıştır. Yağ fazı susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile kurutulmuş ve çözücüsü giderilen ürün karışımı, fraksiyonlarına kolon kromatografisi yöntemi kullanılarak ayrılmıştır. Kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlara, kalitatif analizleri için ince tabaka kromatografisi uygulanmıştır.

Çalışmada 4 parametrenin etkisi incelenmiştir. Optimum enzim miktarı, yağın % 30’ u kadar, yağ/alkol mol oranı 1/4, sıcaklık 50°C ve reaksiyon süresi 7 saat olarak belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan Novozym 435 immobilize mikrobiyal lipazının üçüncü kullanımı sonucunda ME içeriği % 91.45’ ten % 11.69’ a düşmüştür.

Elde edilen biyomotorin TS 3082-EN 590 standartında yer alan “Normal İklimler – Tip A” sınıfı özelliklerine sahip bir yakıttır. Biyomotorinin akma noktası, bulutlanma noktası ve soğukta filtre tıkanma noktası değerlerini düşürmek amacı ile katkı maddeleri kullanımı uygun olacaktır. Böylece, yakıt daha soğuk iklim koşullarında da kullanılabilir özelliklere sahip olabilir. Biyomotorinin 40°C’ deki kinematik viskozitesi 4.5 cSt’ dur. Bu değer, normal iklimler için kullanılan viskozite (2.0-4.5 cSt) aralığındadır. Biyomotorin; kükürt, kül, su ve tortu içermemektedir. Bu özellikler, çevre kirliliği ve korozyon açısından yakıta avantaj sağlar. Biyomotorinin setan indeksi 48.1 olarak hesaplanmıştır. Biyomotorinin çok düşük oranda içerdiği serbest yağ asitleri miktarı yakıtın saflığı açısından olumludur. Biyomotorin çevre dostu özelliklere sahip yenilenebilir kaynaklı bir yakıt alternatifidir.

## **THE INVESTIGATION OF THE ENZYMATIC TRANSESTERIFICATION REACTIONS BETWEEN METHANOL AND COTTONSEED OIL**

### **SUMMARY**

Energy is the most important basic input required for the countries to make social and economical progress. The fossil energy sources are being used up day by day as the energy need of the world rises continuously with the increasing industrialization and population. Rapid exhaustion of these sources and the appearing energy shortages force human beings to search for new and alternative energy fields. For this purpose, important energy sources considered as useful materials used in new fuel technologies are vegetable oils based on biomass.

Vegetable oils, with their high heat contents and appropriate cetane numbers, are great potential for alternative diesel fuels. However, a characteristic known as viscosity limits its applications and it leads to serious problems such as poor atomization of the fuel, incomplete combustion, coking of the fuel injectors, ring carbonization and accumulation of fuel in the lubricating oil. Solution to viscosity problems have been approached by four routes; dilution, microemulsification, pyrolysis and transesterification. The latter one is the most preferred technique for crude, refined and waste oils.

In transesterification reactions, vegetable oils react with monohydric alcohols (methanol, ethanol, etc.) in the presence of acidic or alkali catalysts to give glycerol and fatty acid esters which are excellent substitutes for diesel fuel. In Europe, many countries use fatty acid esters for this purpose. The aims of the conversion of vegetable oils to their esters can be classified as follows: complete removal of the glycerides, lowering the boiling point of the oil, lowering the flash point of the oil, lowering the pour point of the oil, lowering the viscosity of the oil, use of glycerol in chemical industries and use of byproducts in the soap and detergent industries.

Besides chemical catalysts used in the transesterification reactions, enzymes are taking place in recent works. Thus, the disadvantages caused by chemical catalysts are largely prevented by the enzymes which allow milder reaction conditions and easy recovery of glycerol without any purification and no chemical waste is formed.

In this study, we have intended to realize transesterification reaction of Türkiye originated cottonseed oil with methanol in the presence of an immobilized enzyme, commercially called Novozym 435 and to investigate the fuel characteristics of the methyl esters produced. The experimental study is performed in 4 steps: (1) characterization of the cottonseed oil, (2) determination of optimum conditions for the transesterification reaction, (3) recovery of the immobilized enzyme and investing the extent of reuse of the enzyme, (4) evaluation of the fuel characteristics of the ester product.

Some technological characteristics of the cottonseed oil were determined according to standart methods for fats and oils.

Some oil characteristics are:

|                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| Density, 20°C (kg/m <sup>3</sup> ) | : 916.9  |
| Refractive index, 20°C             | : 1.4718 |
| Acid value (mg KOH /g)             | : 0.309  |
| Saponification value (mg KOH/g)    | : 197.16 |
| Iodine value (g I/100 g)           | : 121.82 |

The fatty acid composition of cottonseed oil was analyzed by using capillary gas chromatography.

Component fatty acids (wt %):

|                  |         |
|------------------|---------|
| Myristic acid    | : 0.68  |
| Palmitic acid    | : 21.61 |
| Palmitoleic acid | : 0.56  |
| Stearic acid     | : 2.46  |
| Oleic acid       | : 11.91 |
| Linoleic acid    | : 61.08 |
| Arachidic acid   | : 0.34  |
| Others           | : 1.36  |

Lipase-catalyzed transesterification reactions of cottonseed oil were carried out in a round-bottomed flask (100 ml) equipped with a magnetic stirrer and a contact thermometer. After a certain time the reaction was stopped and the reaction mixture was placed in a water bath at 90°C for 30 minutes to inactivate the enzyme. The enzyme was removed from the oil phase by filtration using 100 ml of hexane. To separate glycerol, the oil phase was washed 3 times with distilled water at 50°C in a separatory funnel. The oil phase was then dried by using anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. After removing the solvents, the product was separated into ME, TAG, DAG and MAG fractions by column chromatography. Samples eluted from the column were checked by thin layer chromatography (TLC) and weighed after evaporation.

The effects that were investigated are; enzyme quantity, molar ratio of substrates, temperature and the reaction time. The highest ME content was obtained when the amount of the enzyme was taken as 30 % of oil. Optimum oil/alcohol molar ratio was determined as 1/4, temperature and reaction time was 50°C and 7 hours, respectively.

To determine the extent of reuse of the immobilized enzyme, three consecutive runs were done and ME content decreased from 91.45 % to 11.69 %.

According to Turkish standards of TS 3082-EN 590, biodiesel obtained from the cottonseed oil is a fuel suitable for Normal Climates-Class A. The fuel characteristics of biodiesel are generally fitting with the standard characteristics. Biodiesel has higher pour , cloud and cold filter plugging points than those of diesel fuels. In order to decrease these values, substitutes have to be used and thus, biodiesel can be used in cold climatic conditions. The kinematic viscosity of biodiesel at 40°C is 4.5 cSt. The diesel fuels used in the normal climates have the viscosity between 2.0-4.5 cSt.

It is seen that biodiesel is within these limits. Biodiesel contains no sulphur, ash, water and sediment. The cetane index of the biodiesel is calculated as 48.1. Purity of the biodiesel as a fuel is good because its free fatty acids content is low. Biodiesel is an environmental friendly, renewable, alternative diesel fuel candidate.



## 1. GİRİŞ

### 1.1 Giriş ve Amaç

Enerji, ülkelerin sosyal ve ekonomik kalkınması için en önemli temel girdidir. Dünya enerji ihtiyacı artan nüfus ve endüstrileşme ile sürekli artarken, fosil enerji kaynakları ise hızla tükenmektedir. 1997 yılı verilerinde dünya petrol rezervlerinin 41 yıl, kömür rezervlerinin 219 yıl, doğal gaz rezervlerinin 64 yıl olduğu görülmektedir. Türkiye birincil enerji kaynakları tüketimi içinde en büyük pay petrole aittir. Ülkemiz, enerji ihtiyacının hemen hemen yarısını oluşturan petrolün yaklaşık % 90' ını ithalat ile karşılamakta olup 1997 yılında 23.3 milyon ton ham petrol ile 4.6 milyon ton petrol ürünleri ithalatı yapmıştır. Ülkemizde bilinen sahalara göre teorik olarak 978.7 milyon ton petrol varlığı hesaplanmıştır. Toplam üretilebilir petrol 149.7 milyon ton olup 1997 yılı sonuna kadar bu üretilebilir petrolün 103.4 milyon tonu üretilmiş ve 46.3 milyon ton üretilebilir petrol kalmıştır. 1997 yılı üretim seviyesine göre 13.4 yıl üretim yapabilecek kapasite bulunmaktadır. Ülkemizde petrol ürünleri Orta Anadolu, Batman, Ataş, İzmit ve İzmir-Aliağa rafinerilerinde üretilmektedir. Rafinerilerin toplam kapasitesi 32 milyon ton/yıl olup, 1997 yılında 26.7 milyon ton ham petrol işlenerek 26.1 milyon ton ürün elde edilmiştir [1].

1994 ve 1995 yılları için Türkiye önemli petrol ürünleri üretim dağılımı Tablo 1.1' de verilmiştir. Bu dağılım içinde motorin ve fuel oilin önemli payı olduğu görülmektedir. Motorin yaygın olarak kara taşımacılığında, fuel oil ise evsel ve endüstriyel ısıtmada kullanılmaktadır. Tablo 1.2' de ise Türkiye' deki enerji tüketiminin yıllara bağlı olarak ulaştırma, sanayi ve konut sektörlerindeki payı verilmiştir. Bu üç sektörde en çok tüketilen yakıtların motorin ve fuel oil olduğu ve petrol kökenli bu yakıtların dışa bağımlı üretimleri ile ülke ekonomisini zorladıkları bilinmektedir [1,2].

Mevcut enerji kaynaklarının hızla tükenir olmasından dolayı ve yaşanan enerji krizleri sonrasında yeni enerji kaynaklarına ilgi artmıştır. Yeni yakıt teknolojileri kapsamında, motorin ve fuel oile alternatif değerlendirilebilen önemli bir enerji kaynağı biyokütle kökenli bitkisel yağlardır.

Bitkisel yağların motorin alternatifi olarak kullanımı dizel motorunun mucidi Rudolph Diesel' e kadar uzanmakla beraber, sonraki yıllarda petrol kökenli yakıtların bol ve ucuz olması çalışmaların sürmesini önlemiştir. Petrol krizleri ardından konu tekrar ön plana çıkmış ve araştırma-geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır. Ancak, bitkisel yağların doğrudan yakıt olarak kullanımında; filtrede tıkanma, soğukta ilk hareket zorluğu, yağlama yağının işlevini yitirmesi gibi önemli sorunlar oluşmaktadır. Bu olumsuzluklar nedeni ile belirtilen sorunların çözümü için dört ayrı modifikasyon tekniği önerilmektedir. Seyreltme, mikroemülsiyon oluşturma, piroliz ve transesterifikasyon olarak sıralanabilen bu modifikasyon teknikleri içerisinde en çok tercih edilen yöntem transesterifikasyon (Alkoliz) dur.

Endüstriyel olarak, transesterifikasyon reaksiyonu bitkisel yağların monohidrik bir alkol ile katalizör varlığında 100-200°C' da ısıtılması ile yürütülmektedir. Mineral asitler, bortriflorür, iyon değiştiriciler, alkali alkolatlar, alkali hidroksitler, metal oksitler katalizör olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda yüksek enerji gereksinimi, yağ kimyasalları endüstrisinde katalizör olarak lipazların kullanımını çekici hale getirmiştir. Bununla beraber, bitkisel yağların lipazlarla transesterifikasyonu yaygın olarak araştırılmamıştır.

Bu amaçla, bu çalışmada Türkiye kökenli pamuk tohumu yağının metanol ile Novozym 435 lipazı varlığında enzimatik transesterifikasyon reaksiyonu incelenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında transesterifikasyon reaksiyonu için optimum koşullar belirlenmiştir. Daha sonra bu optimum koşullarda elde edilen ester ürünün rafinasyonu yapılmış ve yakıt özellikleri tespit edilmiştir.

Tablo 1.1 Türkiye önemli petrol ürünleri üretim dağılımı [2].

| Ürünler                           | Miktar, bin ton |        |
|-----------------------------------|-----------------|--------|
|                                   | 1994            | 1995   |
| Sıvılaştırılmış Petrol Gazı (LPG) | 702.4           | 748.5  |
| Kurşunsuz Süper Benzin            | 119.2           | 166.7  |
| Süper Benzin                      | 1205.6          | 1343.5 |
| Normal Benzin                     | 2036.8          | 2109.5 |
| Jet Yakıtı                        | 976.7           | 1146.1 |
| Motorin                           | 6448.3          | 7706.1 |
| Fuel Oil (Kalorifer Yakıtı)       | 1066.9          | 1641.1 |
| No.5 Fuel Oil                     | 13.1            | 13.2   |
| No.6 Fuel Oil                     | 6663.0          | 6767.1 |
| Askeri Ürünler Toplamı            | 627.5           | 653.2  |

Tablo 1.2 Türkiye sektörel enerji tüketimi dağılımının yıllara bağlı değişimi [1].

| Sektör      | 1990                |     | 1995                |     | 1996                |     | 1997                |     |
|-------------|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|
|             | 10 <sup>3</sup> TEP | %   | 10 <sup>3</sup> TEP | %   | 10 <sup>3</sup> TEP | %   | 10 <sup>3</sup> TEP | %   |
| Ulaştırma   | 8.723               | 21  | 11.066              | 22  | 11.778              | 22  | 11.339              | 21  |
| Sanayi      | 14.543              | 35  | 17.354              | 35  | 20.028              | 37  | 20.055              | 36  |
| Konut       | 15.002              | 36  | 17.150              | 35  | 18.028              | 33  | 19.015              | 35  |
| Tarım       | 1.956               | 5   | 2.556               | 5   | 2.714               | 5   | 2.835               | 5   |
| Enerji Dışı | 1.031               | 3   | 1.386               | 3   | 1.643               | 3   | 1.788               | 3   |
| TOPLAM      | 41.255              | 100 | 49.512              | 100 | 54.191              | 100 | 55.032              | 100 |

## 2. TEORİK ÇALIŞMA

### 2.1 Pamuk Bitkisi

Pamuk, ebegümeciler ( Malvaceae ) familyasının *Gossypium* cinsinde yer alan, tropik ve astropik bölgelerde yetişen bir bitkidir. Bu ad aynı zamanda pamuk tohumuna bağlı liflere de verilir. Bu lifler, dünya tekstilinin en önemli hammaddesidir [3].

Pamuk bitkileri, ilk kez İ. Ö. 3000' lerde yetiştirilmeye başlanmıştır. İ. Ö. 1500' de yazılmış bir Hindu ilahisinde de pamuktan söz edilmektedir. Eski Yunanlı tarihçi ve gezgin Herodot yaklaşık İ. Ö. 450' de yazdığı yapıtlarında hintli kadınların pamuk liflerini tohumlarından ayırdıktan sonra eğirerek bunlardan tezgahlarda bez dokuduklarını anlatmaktadır. İ. Ö. 4. yüzyılda Büyük İskender' in hint pamuğunu Mısır' a getirmiş olduğu, buradan da Yunanistan, İtalya ve İspanya' ya dağıldığı söylenmektedir. İ. Ö. 700 yıllarında Çin' e getirilmiş, Çin' de bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılmaya başlanmıştır ve daha sonra 8. yüzyılın sonlarında Japonya' ya gelmiştir. Pamuk, Kuzey Amerika' da ilk olarak 1492 yılında Kristof Kolomb tarafından bulunmuştur [3].

Giderek artan pamuk üretimine karşılık, liflerin tohumlardan ayrılması işleminin elle yapılıyor olması pamuğun işlenip satılmasını yavaşlatıyordu. 1793 yılında Eli Whitney adındaki Amerikalı mühendis “çırçır” denen bir makine geliştirerek pamuk liflerinin elle ayıklanmasına son vermiştir. Whitney' in çırçır makinesi sayesinde pamuk üretiminin hızla artması, elde edilen pamuğu eğirmek ve dokuyabilmek için daha hızlı ve daha nitelikli tezgahlara gereksinim doğurmuştur; bu alandaki yenilikler ve buluşlarla pamuklu dokuma sanayisi dünyanın en büyük sanayi dallarından biri durumuna gelmiştir [4].

Kalite açısından en önemli pamuk türleri şunlardır: *Gossypium Hirsutum*, *G. Barbadense*, *G. Arboreum* ve *G. Herbaceum*. Ülkemizde yetiştirilen pamuk *G.*

Herbaceum türüne aittir [3]. Bunlardan başka G. Nanking, G. Obtusifolium, G. Peruvianum, G. Vitifolium, G. Brasiliense, G. Religiosum, G. Sandwicense ve G. Haitense türleri de mevcuttur [2].

Yetiştirilen çeşide, toprak ve iklim koşullarına bağlı olarak boyları 1-2 m arasında değişen pamuk bitkilerinin asma yaprağı gibi dilimli yaprakları ve beyaz, sarı ya da morumsu pembe iri çiçekleri vardır. Bazı türlerde taçyaprakların dibi mor lekeli. Taçyapraklar döküldükten sonra, gelişmeye başlayan pamuk meyveleri birkaç sert kapakçığın bitişerek kapanmasından oluşan bir kılıf biçimindedir. “Koza” denen bu meyvelerin içinde üzeri sarımsı beyaz liflerle kaplı tohumlar (çiğit ) bulunur. Koza olgunlaşıp çatladığında, içindeki lif yığını ortaya çıkar ve pamuk tarlaları karıştan kar yığınlarını andırır. Bu tohumlu lif yumaklarına “kütü” adı verilmektedir [4]. Uzunlukları ortalama 2-4 cm arasında değişen liflerin yapısı % 87 oranında selüloz, % 5-8 oranında su ve % 5-6 oranında yabancı maddelerden (doğal kirlilikler) oluşur [2].

Pamuk lifleri uzunluklarına ve görünüşlerine bağlı olarak kabaca üç gruba ayrılır. Bunların ilkinde, uzunlukları 2.5 ile 6.5 cm arasında değişen ince ve parlak lifler yer alır. Yetiştirilmesi çok zor ve verimi çok düşük olan uzun lifli pamuklar pahalı ürünlerdir; başlıca ince kumaş ve iplik üretiminde kullanılırlar. İkinci grup, boyları 1.3-3.3 cm arasında değişen orta uzunluktaki liflerden oluşur. Üçüncü grubun içerdığı 1-2.5 cm uzunluktaki kaba ve kısa lifli pamuklar ( linter pamuğı) ise halı, battaniye ve kaba kumaşların üretiminde, koltuk, yatak, yorgan ve yastık dolgusu olarak kullanılırlar [2,4].

Pamuk ekimi, zaman açısından çeşitli bölgelere göre değişiklik gösterirse de, genellikle ortalama sıcaklığın 15°C olduğu mart-nisan aylarında yapılır. Ekildiğinde az ama sık yağışlı bir dönem gerekir. Buna karşılık, hasat döneminde kesinlikle yağış istenmez. Çünkü yağmurlarla ıslanan ürün kirlenip lekelenir [4].

Pamuk ekildiğı toprağın nitelikleri açısından çok seçici olmamakla birlikte, en iyi derin, süzek, nemli, alüvyonlu, kumlu ve besince zengin topraklarda yetişir [2].

Pamuk ekildikten bir süre sonra, yani pamuk bitkisi yeni gelişmeye başlarken birbirine yakın olanlar sökülerek seyreltilir; böylece geride kalanların topraktan

yeterince besin alarak daha iyi gelişmesi sağlanır. Ayrıca tarla yabancı otlardan arındırılır, hastalık ve zararlı böceklerle karşı ilaçlama yapılır [4].

Pamuk bitkisi son çiçeğini haziran-temmuz aylarında açar, çiçekler çabucak solar ve ceviz iriliğinde koza yapar. Kozalar olgunlaşır ve yeni çiçeklerle aynı zamanda açılır. Genellikle yaz sonuna ya da sonbahara rastlayan pamuk hasadı kozaların olgunlaşmasına göre ardarda birçok sefer yapılır. Kozalar elle veya makas yardımıyla toplanır. Günümüzde motorlu pamuk toplama makineleri de kullanılmaktadır. Toplanan kozalar birkaç gün süreyle kurumaya bırakılır; sonra pamuklar kozadan ve tohumlardan çırpır makineleriyle ayrılır; balyalara konarak kullanılacağı yere gönderilir. İplik fabrikalarında balyalar açılır, pamuk lifleri temizlenip kabartılarak eğirilir ve ipliğe dönüştürülür [2,4].

## **2.2 Pamuk Tohumu**

Pamuk tohumu % 40-55 oranında kabuk ve % 45-60 oranında çekirdek içi içerir. Bunların yanında, % 6-12 oranında su, % 15-25 oranında yağ, % 19-24 oranında protein, % 24-31 oranında karbonhidrat, % 14-21 oranında ham lif ve % 3-4.5 oranında da kül içerir. Tohumun içerdiği yağ oranı, pamuğun yetiştirildiği iklim koşullarına ve tohum kökenine göre değişmektedir [5].

## **2.3 Pamuk Yağı**

Çeşitli pamuk türlerinin tohumlarından ( çiğit ) ya doğrudan doğruya basınçla ya da karbon sülfürle ekstraksiyonla pamuk yağı elde edilir. Çekirdekler ya oldukları gibi ya da kabuğundan ayrıldıktan sonra, iç kısım pres edilmek suretiyle yağ çıkarılır. İlk önce presle elde edilen yağ ham yağdır; gossipol (  $C_{30}H_{30}O_8$  ) gibi pigmentlerden ötürü rengi koyu kahverengi veya kirli sarıdır [2]. Gossipol fenolik yapıda zehirli bir bileşiktir. % 0.4-1.2 oranında çekirdek içinde bulunan gossipol, eğer çekirdek içi soğukta preslenirse yağa geçebilir. İşlem ıslak buhar etkisi altında yapılırsa, gossipol tohumdaki proteinlere bağlanarak “D-gossipol” veya “bağlı gossipol” adında daha zararsız bir bileşiğe dönüşür [5]. Gossipol içeren yağ sadece sanayide kullanılabilir. Başka amaçlarla kullanılacak ise rafinasyon gereklidir. Sürekli rafinasyon burada yararlıdır; kayıp az olur. Bu yağ su buharı ve potas çözeltisi ile muamele edilerek

asitliği düzeltilir ve bu sırada kazanın dibine çöken kısımdan sabun yapılır. Üst kısım renk açıcı topraklarla muamele edildikten sonra filtrasyonla topraktan ayrılır. Kokusunun düzeltilmesi için de büyük vakum kazanlarında yüksek sıcaklıktaki buharla muamele edilir. Bu şekilde rafine edilmiş pamuk yağının rengi sarı olup, lezzeti de düzeltilmiştir. Daha sonra oldukça büyük miktarda bulunan katı gliserinli (pamuk stearini) maddelerden kurtarmak için yağ vinterize edilir. Rafine pamuk yağının bileşiminde başlıca linoleik, oleik, palmitik asit gliseridleri vardır. Küçük oranlarda bulunan diğer asitler miristik, stearik, araşidik, palmitoleik ve linolenik asitlerdir. Tablo 2.1' de AOCS ve Soxhlet yöntemlerine göre belirlenmiş tipik bir pamuk yağı yağ asidi bileşimi gösterilmektedir [6]. Ham yağın bileşiminde gliserid ve serbest asitlerden başka % 1.2 oranında fosfolipidler vardır. Yağı aseton veya su ile muamele etmek suretiyle çöktürülebilen fosfolipid fraksiyonu tek bir bileşenden ibaret değildir; lesitin ve sefalinden başka bazı karbonhidratlar, reçineler, inozit fosfat, fitosterolin (sterin glikozid ) ve başka maddeleri de içermektedir [2].

Tablo 2.1 Tipik bir pamuk yağı yağ asidi bileşimi [6].

| Ekstraksiyon metodu           | AOCS | Soxhlet Yöntemi |       |
|-------------------------------|------|-----------------|-------|
| Yağ asidi bileşimi (%)        |      | Tohum           | Küspe |
| Miristik (14:0)               | 0.6  | 0.7             | 0.6   |
| Palmitik (16:0)               | 24.6 | 26.8            | 27.6  |
| Palmitoleik (16:1)            | 2.1  | 0.7             | 0.1   |
| Stearik (18:0)                | 2.0  | 1.3             | 1.6   |
| Oleik (18:1)                  | 13.1 | 13.7            | 14.3  |
| Linoleik (18:2)               | 57.4 | 56.5            | 55.3  |
| Linolenik (18:3)              | 0.1  | 0.1             | 0.1   |
| Araşidik (20:0)               | 0.1  | 0.2             | 0.2   |
| Serbest yağ asidi miktarı (%) | 11.8 | 1.2             | 18.2  |
| Yağ içeriği (% kuru baz)      | 71.4 | 100             | 28.6  |

Ortalama % 0.9 olan sabunlaşmayan madde içeriğinin büyük bir kısmı rafine yağda kalır. Bu fraksiyonda sterinler, tokoferoller ve hidrokarbonlar vardır. Sterinlerin büyük kısmını  $\beta$ -sitosterin oluşturmakta, ergosterin tüm sterinlerin ancak % 5' i kadar bulunmaktadır. Ham yağdan % 0.01' den az sterin glikozidleri karışımı çıkarılmıştır.

% 0.1 kadar bulunan tokoferol başlıca  $\alpha$ - ve  $\gamma$ - tokoferoller karışımı olup az bir miktar  $\delta$ -tokoferol de vardır. Tokoferollerin antioksidan ve vitamin etkileri bulunmaktadır [2].

Pamuk yağı, “yarı-kuruyan yağlar” grubuna girer. Yağların sıvı halden katı hale geçmesinden ibaret olan kuruma özelliği, yağın hava oksijenini tutma yeteneğine dayanır [7]. Livache testine göre, pamuk yağı 24 saatte % 5-9 oranında O<sub>2</sub> absorblar. Pamuk yağından 90-100°C sıcaklıkları arasında hava geçirildiğinde, okside asitlerin oluşumu ile O<sub>2</sub> absorblanır. Bu şekilde muamele görmüş yağın asetil değeri, viskozitesi ve yoğunluğu artar [5].

Uzun süre depolanan pamuk tohumlarında ısıl bozulma meydana geldiği ve bu tohumlardan elde edilen yağların kalitesinin düştüğü görülmüştür. Ham pamuk yağı, asit değerine, kokusuna, rafinasyon kaybına ve üretilebilen rafine yağın kalitesine göre değer kazanır.

Preslenmiş pamuk tohumu küspesi proteince zengindir ve büyükbaş hayvan yiyeceklerinin değerli bir katkı maddesidir. Daha düşük kalitede olanlar ise gübre olarak kullanılmaktadır [5]

Tablo 2.2’ de dünya pamuk stok, üretim ve tüketim durumu, Tablo 2.3’ te ise ülkelerin pamuk üretimi görülmektedir. Tablo 2.4’ te pamuk tohumu, dünyadaki ve Türkiye’ deki çeşitli yağlı tohumların üretim değerleri ile karşılaştırılarak verilmiştir.

Tablo 2.2 Dünya pamuk stok, üretim ve tüketim durumu (bin ton) [2].

| STOKLAR                         | 1993/1994 | 1994/1995 | 1995/1996 | 1996/1997 | 1997/1998 |
|---------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| A.B.D.                          | 1.015     | 0.769     | 0.577     | 0.57      | 0.94      |
| Diğer ihracatçı ülkeler         | 2.895     | 2.498     | 2.419     | 2.74      | 2.6       |
| İthalatçı ülkeler               | 1.749     | 1.611     | 1.551     | 1.63      | 1.48      |
| TOPLAM                          | 5.659     | 4.878     | 4.547     | 4.94      | 5.02      |
| Rusya, Kızıl Çin ve Doğu Avrupa | 2.964     | 2.126     | 3.043     | 4.22      | 4.17      |
| DÜNYA TOPLAMI                   | 8.623     | 7.004     | 7.59      | 9.16      | 9.19      |
| ÜRETİM                          |           |           |           |           |           |
| A.B.D.                          | 3.513     | 4.281     | 3.897     | 4.13      | 3.9       |
| Diğerleri                       | 9.615     | 10.066    | 11.394    | 10.83     | 11.49     |
| TOPLAM                          | 13.128    | 14.347    | 15.291    | 14.96     | 15.39     |
| Rusya, Kızıl Çin ve Doğu Avrupa | 3.739     | 4.342     | 4.767     | 4         | 4.1       |
| DÜNYA TOPLAMI                   | 16.867    | 18.689    | 20.056    | 18.96     | 19.49     |
| TÜKETİM                         |           |           |           |           |           |
| A.B.D.                          | 2.268     | 2.438     | 2.309     | 2.4       | 2.47      |
| Diğerleri                       | 11.588    | 11.6      | 11.955    | 12.11     | 12.52     |
| TOPLAM                          | 13.856    | 14.038    | 14.264    | 14.513    | 14.99     |
| Rusya, Kızıl Çin ve Doğu Avrupa | 4.587     | 4.269     | 4.251     | 4.4       | 4.5       |
| DÜNYA TOPLAMI                   | 18.443    | 18.307    | 18.515    | 18.91     | 19.49     |

Tablo 2.3 Ülkelerin dünya pamuk üretimi (bin ton) [2].

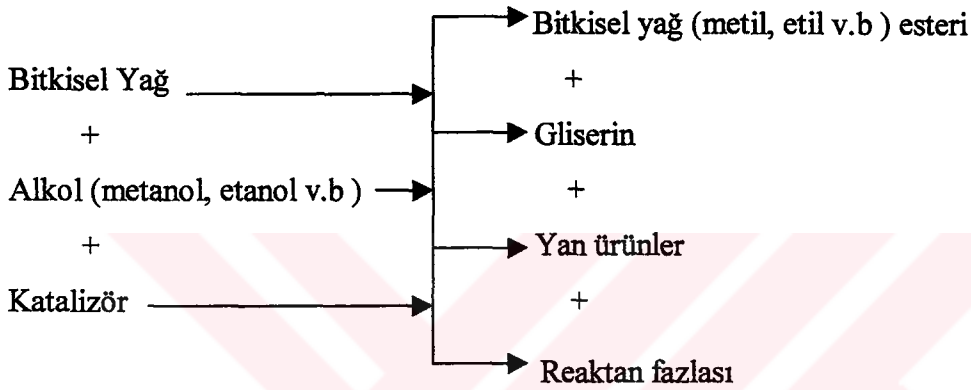
| STOKLAR       | 1994/1995 | 1995/1996 | 1996/1997 | 1997/1998 | PAY % |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| A.B.D.        | 4.281     | 3.897     | 4.13      | 3.9       | 20    |
| Bağ.Dev.Top.  | 1.901     | 1.806     | 1.453     | 1.603     | 8.2   |
| Kıta Çin      | 4.342     | 4.767     | 4         | 4.1       | 21    |
| Hindistan     | 2.355     | 2.699     | 2.7       | 2.668     | 13.7  |
| Pakistan      | 1.478     | 1.799     | 1.455     | 1.8       | 9.2   |
| Türkiye       | 628       | 851       | 792       | 785       | 4     |
| Brezilya      | 564       | 360       | 300       | 391       | 2     |
| Mısır         | 255       | 237       | 345       | 309       | 1.6   |
| Meksika       | 99        | 191       | 247       | 218       | 1.2   |
| Arjantin      | 350       | 420       | 400       | 425       | 2.2   |
| Sudan         | 83        | 106       | 97        | 108       | 0.6   |
| Guatemala     | 6         | 6         | 1         | 1         | 0     |
| Suriye        | 179       | 191       | 250       | 225       | 1.2   |
| Kolombiya     | 50        | 71        | 56        | 51        | 0.03  |
| İran          | 123       | 165       | 200       | 183       | 0.9   |
| Yunanistan    | 385       | 443       | 305       | 430       | 2.2   |
| Peru          | 55        | 63        | 58        | 63        | 0.3   |
| İsrail        | 31        | 43        | 51        | 50        | 0.3   |
| Paraguay      | 151       | 110       | 70        | 78        | 0.4   |
| Tanzanya      | 43        | 86        | 72        | 75        | 0.4   |
| Nikaragua     | 1         | 7         | 3         | 4         | 0     |
| Diğer ülkeler | 1.329     | 1.77      | 1.985     | 2.023     | 1.3   |
| TOPLAM        | 18.689    | 20.058    | 18.96     | 19.49     | 100   |

Tablo 2.4 Çeşitli yağlı tohumların Türkiye ve dünyadaki üretimi (bin ton) [2].

| Yağlı Tohumlar | 1995      |         |
|----------------|-----------|---------|
|                | Türkiye   | Dünya   |
| Aspir          | 125       | 892     |
| Ayçiçeği       | 900.000   | 26.186  |
| Haşhaş         | 28.249    | -       |
| Kenevir        | 360       | -       |
| Keten          | 390       | 2.648   |
| Yerfıstığı     | 70.000    | 27.990  |
| Soya           | 75.000    | 125.930 |
| Susam          | 30.000    | -       |
| Kolza          | 9         | 34.685  |
| Pamuk Tohumu   | 1.262.583 | 57.244  |

## 2.4 Bitkisel Yağların Transesterifikasyonu ve Ester Ürünün Yakıt Alternatifi Olarak Değerlendirilmesi

Bitkisel yağların transesterifikasyonunda yağ monohidrik bir alkolle (metanol, etanol, v.b) katalizör varlığında ana ürün olarak yağ asidi esteri ve gliserin vererek esterleşir. Bitkisel yağlara uygulanan transesterifikasyon reaksiyonunu aşağıdaki gibi göstermek mümkündür:



Reaksiyon ürün ortamı yukarıda belirtilen ürünlerin yanında, serbest yağ asitlerini de içerebilir. Bu, kullanılan yağdan ya da açilgliseridlerin nemden dolayı hidroliz olmasından kaynaklanır [8,9].

Reaksiyonda kullanılan katalizör asit veya alkali olabilir. Mineral asitler, alkali hidroksitler, alkali alkolatlar yaygın olarak kullanılan katalizörlerdir. Reaksiyon bazik katalizörler ile asidik katalizörlere göre daha hızlı yürümekte; ancak asidik katalizörler ile yağda bulunabilecek yağ asitlerinin de esterleştirilmesi mümkün olmaktadır [3, 10, 11].

Son yıllarda ise biyoteknolojideki gelişmeler araştırmacıları, transesterifikasyon reaksiyonlarında katalizör olarak enzimlerin kullanımına yöneltmiştir. Endüstriyel olarak, bitkisel yağların yüksek sıcaklıklarda (100-200°C) alkollerle ısıtılması ile gerçekleştirilen transesterifikasyon reaksiyonlarındaki yüksek enerji sarfıyatı enzimlerin kullanımıyla azalabilecektir. Çok geniş çapta endüstriyel uygulamalarının olmasına karşın, lipazların bitkisel yağların transesterifikasyon reaksiyonundaki kullanımı çok fazla incelenmemiştir [12]. Ancak son yıllarda bu çalışmalar hız

kazanmıştır. Lipazların en temel teknik uygulaması, triaçilgliseridlerin yağ asidi bileşimlerini interesterifikasyon reaksiyonu ile modifiye etmektir [13].

Alkali ve asit katalizörleri kullanıldığında görülen dezavantajlar; katalizörün gliserin tabakasıyla beraber ayrılması ile tekrar kullanılamaması ve önemli bir ekonomik faktör olan, yan ürün gliserinin saflaştırılmasının da büyük miktarlarda inorganik madde (katalizör) kullanılması durumunda daha zor olması şeklinde sıralanabilir [14]. Ayrıca kimyasal olarak gerçekleştirilen transesterifikasyon reaksiyonunun enerji sarfiyatının yüksek olmasından dolayı enzimlerin son yıllardaki endüstriyel uygulamaları önem kazanmıştır [15].

Lipaz katalizörlü alkoliz reaksiyonlarının avantajları ise ılımlı reaksiyon koşulları, saflaştırma işlemi gerekmeden gliserinin izolasyonu, kimyasal atık oluşmaması ve lipazların serbest yağ asitlerinin esterleştirme reaksiyonlarını katalizleyebilme yeteneğine sahip olmaları şeklinde sıralanabilir [14].

Reaksiyonlarda çözücü kullanımı, ürün saflaştırma, alev alma ve zehirlilik gibi problemler doğurduğundan, ancak bazı durumlarda tercih edilmektedir. Çözücü kullanılmadığında, son ürünün maliyeti düşük olur [13]. Ancak, suyun aktivitesinin ve mikrobiyal kirliliklerin kontrolünün sağlanmasında çözücü kullanımının yararları vardır [16].

Transesterifikasyon reaksiyonlarındaki enzimler organik çözücülerde aktivite gösterebilmek için suya gereksinim duymaktadırlar. Ancak çok fazla su ilavesinde ise enzimlerin inaktive oldukları görülmektedir [17].

Ayçiçek yağı, soya yağı, kolza yağı, palm yağı ve don yağı gibi yağların çeşitli lipazlarla transesterifikasyon reaksiyonları birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Soya yağı esterleri, dizel yakıt alternatifi olarak potansiyel oluşturmaktadır ve bu konuda çalışmalar mevcuttur. Don yağının metil ve etil esterleri ise dizel yakıt katkı maddesi olarak test edilmiştir [18].

Bitkisel yağlar, dizel motor yakıtı olarak ilk kez bu motorun yaratıcısı Rudolph Diesel tarafından 1900 yıllarında kullanılmaya başlanmıştır [19]. Ancak petrol kökenli dizel yakıtının uzun yıllar boyunca ucuz ve bol miktarda bulunur olması motorun bu yakıt ile uyum sağlayacak şekilde geliştirilmesine neden olmuştur.

Zaman zaman ortaya çıkan petrol krizleri sırasında bitkisel yağların yakıt olarak kullanımı gündeme gelmiştir ve bu konuyla ilgili bilimsel çalışmalar 1970' lerdeki petrol krizi ile birlikte yoğunlaşmıştır [11].

Bitkisel yağların enerji içerikleri motorin ile hemen hemen aynı düzeyde olmasına karşın, viskoziteleri motorinden yaklaşık 10-20 kat fazladır. Viskozite, motorinden beklenen temel özelliklerin başında gelmektedir. Bu nedenle, bitkisel yağların doğrudan yakıt olarak kullanımında, filtrede tıkanma, soğukta ilk hareket zorluğu, enjeksiyon sırasında tane boyutunda büyüme nedeni ile tam yanma oluşmaması, yanmamış yağın yağlama yağına karışması ile yağın işlevini yitirmesi, enjektörde koklaşma, yanma kamarasında birikme ve motor ömrü kısılması gibi önemli sorunlar oluşmaktadır [20]. Ayrıca, bitkisel yağların doymamışlık derecelerine göre yağlama yağında polimerleşerek yağın viskozitesini artırmaları da söz konusudur [11]. Yağların doğrudan yakıt olarak kullanımını kısıtlayan bir başka etken de soğuk iklim koşullarında katılaşma eğilimleridir. Bu olumsuzluklardan dolayı, bitkisel yağlar ancak rafine olarak, ön yanma kamaralı Diesel motorlarında bazı sınırlamalar ile değerlendirilebilmektedir [20]. Bir motorun alternatif yakıt ile çalıştırılması ancak aşağıdaki şartlar sağlandığında önerilebilir:

- 1) Motorun performansında herhangi bir problem olmamalı; motor ömrü azalmaları, onarım masrafları önemli ölçüde artmamalıdır.
- 2) Yakıt insanlara ve çevreye zarar vermemeli; üretimi, taşınımı, depolanması ve yakıtın kullanımı herhangi bir tehlikeye sebep olmamalıdır.
- 3) Yakıtın kullanımı motorda herhangi bir modifikasyon gerektirmeden mümkün olmalıdır.

Yukarıdaki şartlar incelendiğinde, bitkisel yağların yüksek viskozite sorununun giderilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır [21]. Belirtilen sorunların çözümü için daha önce de belirtildiği gibi dört ayrı modifikasyon tekniği önerilmektedir. Seyreltme, mikroemülsiyon oluşturma, piroliz ve transesterifikasyon olarak verilen modifikasyon teknikleri içinde çeşitli ham, rafine, atık ve artık yağlar için en çok tercih edilen yöntem transesterifikasyondur. Bitkisel yağ transesterifikasyon reaksiyonunun ester ürünü; Diesel-Bi, Biyodizel, Biyoyakıt, Di-Ester ve Yeşil Ester adlandırılmaları ile bilinmektedir. Biyomotorin; yeni- temiz- yenilenebilir kökenli

uygulama aşamasına geçmiş, varolan önemli ve popüler motorin alternatiftir [20]. Biyoyakıtların yakıt olarak kullanılmasının nedenleri; petrol ihracatını azaltarak kolaylıkla üretilabilir olmaları, bitkisel kökenli oldukları için yanmaları sonucunda atmosferde sera etkisine sebep olan CO<sub>2</sub> seviyesini arttırmamaları, biyolojik olarak bozunabilir olmaları ve dizel yakıtlara nazaran yanma ürünleri olan partikül, CO ve NO<sub>x</sub> miktarlarının az olması şeklinde sıralanabilmektedir [17,13]. Ancak, bitkisel yağların pahalı olması bu yağların metil esterlerinin petrol kökenli yakıtlarla rekabet etmesini engellemektedir [17]. Petrol krizi dönemlerinde bile bitkisel yağların fiyatları petrol fiyatlarından yüksek olmuştur. Bu nedenle, bitkisel yağların ve metil esterlerinin dizel yakıtı olarak kullanılması, bitkisel yağ üretimi çok fazla olan ülkelerde daha uygun olmaktadır [22].

Bitkisel yağların, yakıt adayı olarak metil esterlerine dönüştürülme amaçları [20]:

- 1) Gliseridleri bütünüyle ortadan kaldırmak,
- 2) Yağın kaynama noktasını düşürmek,
- 3) Yağın alevlenme noktasını düşürmek,
- 4) Yağın akma noktasını düşürmek,
- 5) Yağın viskozitesini düşürmek,
- 6) Gliserini kimya endüstrisinde kullanmak ve
- 7) Yan ürünleri sabun ve deterjan endüstrisi gibi alanlarda değerlendirmek olarak sıralanabilir.

Biyomotorinin saflığı motor yakıtı özelliklerini etkilemektedir. Özellikle yakıt içindeki trigliserid ve kısmi gliseridlerin varlığı ciddi problemlere neden olabilmektedir. Ayrıca yakıt, su, alkol, gliserin ve katalizörden arınmış olmalıdır. Biyomotorinin % 99 değeri üzerinde saf olması istenmektedir [23].

Günümüzde kolza yağı esterleri ve daha az uygulamayla ayçiçek yağı esterleri Avrupa’ da pek çok ülkede biyomotorin olarak gündemdedir [9,18]. Çevre bilincinin artması sonucunda, metil esterleri üreten tesisler kurulmuştur. Bu tesislerin en büyüğü 250.000 ton/yıl kapasite ile İtalya’ da bulunmaktadır [24]. Avusturya’ da ise yılda

15.000 ton kapasite ile üretim yapılmaktadır [19]. Palm yağı, Malezya' nın en önemli ihracat maddesi ve ürünüdür. Bu yağın esterleri palm yağı dizeli olarak adlandırılarak biyodizel olarak değerlendirilmektedir ve petrol kökenli dizel yakıtlarla rekabet edebilecek düzeyde yer almaktadır. Bu esterlerin üretimi, Malezya Palm Yağı Araştırma Enstitüsü tarafından yapılmaktadır [25].

Kısa zincirli asitlerin esterleri gıda endüstrisinde koku verici ve tatlandırıcı olarak kullanılırken; uzun zincirli asitlerin esterleri (vaks esterleri) yağlayıcı, plastik ve kozmetik malzemeleri olarak kullanılmaktadır [26,27].

#### 2.4.1 Kaynak tarama

Bitkisel tohum yağlarının dizel yakıt olarak kullanılmasını konu alan bir çalışmada, K. Krisnangkura ve arkadaşları 51 tane bitki tohumunu incelemiş ve yağların metil esterlerinin setan sayılarının 35-40 aralığından yüksek ve iyot değerinin de 80-145 arasında olması gerektiğini belirtmişlerdir. Yüksek iyot değerine sahip olan bitkisel yağların çok kolay okside olduğunu ve polimerleştiğini; bu durumun da yağların depolanma süresini kısalttığını ve dizel motorunda koklaşma oluşturduğunu gözlemlemişlerdir [22].

Y.Y Linko ve arkadaşları, kolza yağının 2-Etil-1-Hegzanol ile transesterifikasyon reaksiyonunu çözücüsüz ortamda gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada çeşitli enzimler kullanılmış; en iyi sonuç *Candida rugosa* ile alınmıştır. Yağ/alkol mol oranı 1/2.8; su miktarı %1 (w/w); sıcaklık 37-55°C arasında ve enzim miktarı % 14.6 olduğunda en yüksek yağ dönüşümü ve ester miktarı elde edilmiştir. Aşırı miktarda alkol kullanıldığında ise kolza yağı dönüşümünün ve ester veriminin düşük olduğu, ayrıca ortamda alkol ve yağ fazlası birikimi olduğu belirlenmiştir. Reaksiyonda su kullanılmadığında, enzimin kendisinde var olan su miktarı da yetersiz kaldığından, 7 saatte ancak % 25 dönüşüm elde edilmiştir. % 1, % 3 ve % 50 su miktarlarında çalışıldığında ise dönüşümde bir değişiklik olmadığı için, çalışmalar % 1 su miktarı ile yürütülmüştür [16].

Mittelbach, ayçiçek yağının lipaz katalizörlü transesterifikasyon reaksiyonunu metil ve etil ester üretmek amacıyla *Pseudomonas* lipazı varlığında gerçekleştirmiş ve çözücü olarak petrol eteri kullanmıştır. Metanol kullanıldığında susuz ortamda ester verimi en yüksekken, etanol ile çalışılan reaksiyonda su kullanılması durumunda

ester veriminin yükseldiği görülmüştür. Hem sulu hem de susuz ortamda, transesterifikasyon reaksiyon hızının artan zincir uzunluğuyla arttığı belirtilmiştir [14].

D. Thomas ve arkadaşları, çalışmalarında yine ayçiçek yağının etanol ile Lipozyme enzimi varlığında transesterifikasyon reaksiyonunu optimum koşulları belirleyerek gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada, yağ/alkol mol oranı, sıcaklık, ilave edilen su ve enzim miktarı gibi koşulların reaksiyon üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmacılar yağ/alkol mol oranı 1/3; reaksiyon sıcaklığı 50°C; su miktarı %0 (v/v) ve enzim miktarı 0.4 g olduğunda en iyi sonucu elde etmişlerdir. Alkol fazlasında dönüşümün çok düşük çıktığını ve ürün karışımının fazla miktarda alkol, mono- ve digliseridler içerdiğini belirtmişlerdir. Buna neden olarak alkol fazlasının enzimin stabilizasyonu için gerekli olan su tabakasını kırdığını göstermişlerdir. Enzim miktarındaki artış başlangıç hızı ve toplam alkil ester dönüşümünü de artırmıştır. Ortama su ilave edilmediği zaman alkil ester veriminin yüksek çıktığı ve enzimin içerdiği su miktarının dönüşüm için yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada, enzimin kaç defa kullanılabileceğini saptamak için, silika-jel reaksiyon ortamına ilave edilerek, bu durumun denge verimine olan etkisi de incelenmiştir. Aynı miktarda enzim hem silika-jel içeren hem de silika-jel içermeyen reaksiyon ortamına ilave edilmiş ve yüksek dönüşüm silika-jel içeren durumda elde edilmiştir. Araştırmacılar, bunu reaksiyon boyunca oluşan gliserinin enzimin aktivitesini düşürmesi şeklinde açıklamışlar ve ilave edilen silika-jelin, gliserin toplayıcısı olarak davrandığını, böylece oluşan gliserinin enzim üzerine adsorpsiyonu önlenerek enzimin korunmuş olduğunu vurgulamışlardır [13].

Bazı araştırmacılar tarafından trigliseridlerin, çözücü ortamında lipaz katalizörleri varlığında hidroliz reaksiyonları yapılmış ve tekrar kullanım için geri kazanılan enzimlerin aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. Ancak, transesterifikasyon reaksiyonlarında ise geri kazanılan enzimlerin aktivitelerinin ilk aktivite değerlerine yakın olduğu görülmüştür. Bunun için Ward ve arkadaşları, balık yağının omega-3 çoklu doymamış yağ asidi esterleri üretmek amacıyla enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyon sonunda geri kazanılan enzimi 7 gün boyunca kullandıklarını ve enzimin bu süre sonunda ilk aktivitesinin % 80' ini muhafaza ettiğini belirlemişlerdir [28].

D. Stevenson' ın çalışmasında, silika-jel haricinde diğer adsorbanlar (selüloz, nişasta, kok kömürü, v.b) da kullanılmış; ancak daha ekonomik olmalarına rağmen silika-jel kadar güçlü gliserin adsorplayıcıları olmadıkları görülmüştür. Silika-jel kullanılmadığında yağ/alkol mol oranı 1/2 iken en yüksek dönüşüm elde edilmiş (% 70); silika-jel kullanıldığında ise mol oranı 1/3 olduğunda en yüksek dönüşüm (% 98) elde edilmiştir. Ancak, diğer çalışmalarda olduğu gibi, bu optimum mol oranı olan 1/3' den yüksek mol oranlarında dönüşümün giderek azaldığı; MAG içeriklerinin de giderek arttığı görülmüştür. Araştırmacılar, bunu ortamda bulunan fazla alkolün silika-jele bağlanarak silika-jelin gliserini adsorplayabilme yeteneğini engellediğini ve böylece MAG' in ester ve gliserine dönüşümünü önlediği şeklinde açıklamışlardır [29].

Doncescu ve arkadaşlarının, stearil alkol ile oleik asit metil esterinin Lipozyme IM varlığında gerçekleştirdiği transesterifikasyon reaksiyonunda, optimum mol oranı 1/0.5 (metil oleat/stearil alkol) olarak belirlenmiştir. Alkol mol oranı arttıkça, reaksiyon başlangıç hızında bir düşüş görülmüştür. Bu da alkolün substratı inhibe etmesi olarak açıklanmıştır ve yüksek alkol konsantrasyonlarında transesterifikasyon veriminin düşmesi kütle iletimi probleminden kaynaklandığı düşünülmüştür. Enzim miktarının artmasıyla reaksiyon hızında da artış gözlenmiştir [30].

M. Basri ve arkadaşlarının çalışmasında ise, palm yağı ara fraksiyonunun (PMF) *Rhizopus rhizopodiformis* lipazıyla çözücü bulunan ortamda metanol ve propanol alkollerile transesterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirilmiş; kullanılan enzimin apolar çözücülerle yüksek aktivite gösterdiği (hegzan seçilmiş) belirtilmiştir. Palm yağı ara fraksiyonunda palmitik asit miktarı diğer yağ asidi miktarlarına göre daha fazla olduğundan, dönüşümün palmitik asit üzerinden olduğu açıklanmıştır. Ester verimi ve reaksiyon hızları her iki alkol için farklı elde edilmiştir. Optimum yağ/alkol mol oranı 1/2 olarak alınmıştır. Optimum değerden sonra mol oranının artması ile transesterifikasyon reaksiyonunun aktivitesinin düştüğü belirtilmiştir [12].

Foglia ve arkadaşları, don yağını temel alarak çeşitli lipazların varlığında primer ve sekonder alkoller ile optimum koşullarda alkil esterler üretmişlerdir. Buna göre *Mucor miehei* lipazı primer alkoller ile yüksek dönüşüm sağlarken, *Candida antarctica* lipazı sekonder alkoller ile yüksek dönüşüm vermiştir. Primer alkoller kullanıldığında, reaksiyon karışımına ilave edilen su ile dönüşümler düşük çıkmıştır.

Sekonder alkollerin ise yüksek dönüşüm için ortamda suya ihtiyaç duydukları belirtilmiştir. Sekonder alkoller kullanıldığında reaksiyondaki enzim miktarının iki katına çıkarılması gerekmiş ve reaksiyonun daha uzun sürede tamamlandığı gözlenmiştir. Çözücüsüz ortamda metanol ve etanol ile dönüşüm düşükken, sekonder alkollerle dönüşümün yüksek olduğu görülmüştür. Metanol ile yapılan reaksiyonda çözücü kullanılmadığında ortaya çıkan viskoziteden dolayı substratların enzimle karışmasının engellendiği açıklanmıştır. Yüksek miktarda serbest yağ asidi içeren yağlarda metanol ile reaksiyonun etkili olmadığı, ancak sekonder alkoller ile yüksek serbest yağ asidi içeriklerinde bile yüksek verimle alkil ester dönüşümünün sağlandığı ortaya konmuştur [18].

Zeytin yağının laurik ve palmitik alkoller ile immobilize mantar hücreleri varlığında ve çözücüsüz ortamda vaks esterleri üretmek amacıyla transesterifikasyon reaksiyonu Chen ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Çalışmada, reaksiyon hızının ve dönüşümün artan su miktarı ile azaldığı belirtilmiştir. Reaksiyon hızının 60°C' ye kadar artarak ilerlediği, ancak en yüksek dönüşümün 50°C' de elde edildiği görülmüştür. Substrat konsantrasyonu oranı (alkol/oleik asit) 1.5 olduğunda dönüşümün maksimum olduğu belirtilmiştir [31].

F. Ergen ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, vaks esterlerinin lipaz katalizörlüğünde sentezlenmesi iki farklı yöntem ile incelenmiştir. Birinci yöntemde, yağ asidi ile stearil alkol stokiometrik oranlarda % 5 (w/w) lipaz miktarında çözücü kullanılmadan reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyonda maksimum miktarda vaks ester sentezinin, reaksiyon ilerledikçe oluşan suyun ortamdan çekilmesine bağlı olduğu belirtilmiştir. İkinci yöntemde ise bir trigliserid (triolein) yine stearil alkol ile reaksiyona girerek 1,2- diolein, 2- monoolein ve oleik asit vaks esteri üretilmiştir. Yüksek stearil alkol konsantrasyonlarında, ürün bileşimindeki ester içeriği yüksek iken, düşük alkol konsantrasyonlarında enzimde bulunan % 10 (w/w) su miktarından dolayı, reaksiyon hidrolize kayarak ortamda asitin oluştuğu belirtilmiştir [26].

Bhattacharya ve arkadaşları tarafından soya fosfolipidlerin *Mucor miehei* lipazı ile çözücü ortamında transesterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek lisofosfolipid üretilmiş ve alkol zincir uzunluğu arttıkça kullanılan enzimin seçicilik özelliğinin azaldığı görülmüştür. Bu nedenle; artan alkol zincir uzunluklarında alkolün esterlerine ve fosfolipidin lisofosfolipide dönüşümleri düşük elde edilmiştir [27].

Hanna ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada, don ve soya yağı esterlerinin yakıt özellikleri incelenmiştir. Transesterifikasyon reaksiyonu ile alkil esterlerine dönüştürülen bu yağların viskozitelerinin büyük ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Viskozite dışında, soya ve don yağı esterlerinde bulunan kül, kükürt ve su içeriklerinin de kullanılan yağlara nazaran daha düşük olduğu ve bu durumun da yağların esterlerinin kullanılmasını daha avantajlı kıldığı açıklanmıştır [32].

Sakine Yılmaz, yüksek lisans tezinde pamuk yağının alternatif motorin ve fuel oil özelliklerini incelemiştir. Buna göre; pamuk yağının TSE-F-RFI sınıflamasına uygun fuel oil niteliklerine sahip bir yağ olduğu ortaya çıkmıştır. Pamuk tohumu yağının su ve tortu içermeyen iyi nitelikli bir yakıt olduğu sonucuna varılmıştır. Atomizörlü ve buharlaştırıcı yakıcılara uygun bir yakıt olduğu belirlenmiştir. Çok az oranda kül ve kükürt içerdiği ve bu nedenle insan ve çevre sağlığı açısından fuel oilden daha avantajlı bir sera ısıtıcısı olarak veya hububat işlemlerinde kullanılabileceği belirtilmiştir. Pamuk yağı setan indeksi 59.5, otomotiv motoru setan indeksi ise 53'tür. Pamuk yağının % 12 oranında daha fazla setan indeksi değerine sahip olması nedeni ile pamuk yağının motor karakteristiklerini olumlu yönde etkilediği açıklanmıştır. Pamuk tohumu yağının düşük akma noktasının soğuk iklimler için kullanım uygunluğu sağlayacağı vurgulanmıştır. Ancak yağın 40°C' deki kinematik viskozitesi yüksek olduğundan (35.8 cSt) bu özelliğinin dışında TS 3082-EN 590 standartına uygun motorin alternatifi bir yakıt olduğu belirtilmiştir [2].

### 3. DENEYSEL ÇALIŞMA

Türkiye kökenli pamuk yağının Novozym 435 mikrobiyal lipazı varlığında transesterifikasyonunun incelenmesini amaçlayan bu bölümde ilk olarak transesterifikasyon reaksiyonu için optimum koşullar belirlenmiş ve daha sonra elde edilen ester ürünün yakıt özellikleri tespit edilmiştir.

#### 3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan pamuk yağı Karamehmetler Yağ Sanayi ve Ticaret A.Ş (Tarsus) firmasından temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan Novozym 435 mikrobiyal 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 laurik asitle esterleşmesi üzerinden firma tarafından tayin edilmiş aktivite değeri Propil Laurat birimi olarak 7000 PLU/g' dir. Kullanılan immobilize enzim % 1-2 oranında su içeriğine sahiptir [33]. Kullanılan diğer kimyasal maddeler saf ve Merck ürünüdür.

#### 3.2 Pamuk Yağının Karakterizasyonu

Pamuk yağının kırılma indisi, yoğunluğu, asit değeri ve sabunlaşma değeri standart yağ analiz yöntemleri ile belirlenmiştir [34,35]. Tablo 3.1' de bu özellikler, yağın yağ asidi bileşimi değerleri ile birlikte verilmiştir. Pamuk yağının yağ asidi bileşiminin kapiler gaz kromatografisi (CGC) yöntemi ile belirlenmesinde Hewlett-Packard 5890 Seri II cihazı kullanılmıştır. Ayırma işlemi Ultra 2 (25 m x 0.32 mm x 0.52 µm film kalınlığında % 5 difenil, % 95 dimetil polisiloksan içeren) kapiler kolonunda gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan azot debisi 1.6 ml/dak, hava debisi 460 ml/dak, hidrojen debisi 33 ml/dak olacak şekilde ayarlanmış, enjektör sıcaklığı 250°C, dedektör (FID) sıcaklığı 280°C olarak seçilmiştir. Fırın

sıcaklığı 150°C (5 dak); 150-225°C (5°C/dak); 225°C (30 dak) olacak şekilde programlanmıştır. Yağın kromatografik analizi için gerekli metil ester karışımı BF<sub>3</sub> yöntemine göre hazırlanmıştır [36].

Tablo 3.1 Pamuk yağının bazı teknolojik özellikleri.

| Özellikler                                           | Pamuk Yağı |
|------------------------------------------------------|------------|
| Yoğunluk, 20°C (kg/m <sup>3</sup> )                  | 916.9      |
| Kırılma indisi, 20° C                                | 1.4718     |
| Asit değeri, mg KOH/g                                | 0.309      |
| Sabunlaşma değeri, mg KOH/g                          | 197.16     |
| İyot değeri, g I/100 g                               | 121.82     |
| Yağ Asidi Bileşimi, Ağırlık %'si                     |            |
| C <sub>14:0</sub>                                    | 0.68       |
| C <sub>16:0</sub>                                    | 21.61      |
| C <sub>16:1</sub>                                    | 0.56       |
| C <sub>18:0</sub>                                    | 2.46       |
| C <sub>18:1</sub>                                    | 11.91      |
| C <sub>18:2</sub>                                    | 61.08      |
| C <sub>20:0</sub>                                    | 0.34       |
| Diğer                                                | 1.36       |
| Yağ asitlerinin ortalama molekül ağırlığı, kg/mol kg | 271.34     |
| Yağın ortalama molekül ağırlığı, kg/mol kg           | 855.02     |

### 3.3 Deney Düzeneği

Enzimatik transesterifikasyon reaksiyonu, 100 ml hacimli dibi yuvarlak bir cam balonda gerçekleştirilmiştir. Karıştırma işlemi, Framo-Gerätetechnik D-7821 Eisenbach / Hochschwarzwald 1 seri numaralı ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile sağlanmış olup sıcaklık  $\pm 1^\circ\text{C}$  olacak şekilde kontrol edilmiştir. Deneysel çalışmalarda karıştırma hızı 700 dev/dak olarak sabit tutulmuştur.

### 3.4 Enzimatik Transesterifikasyon Reaksiyonu

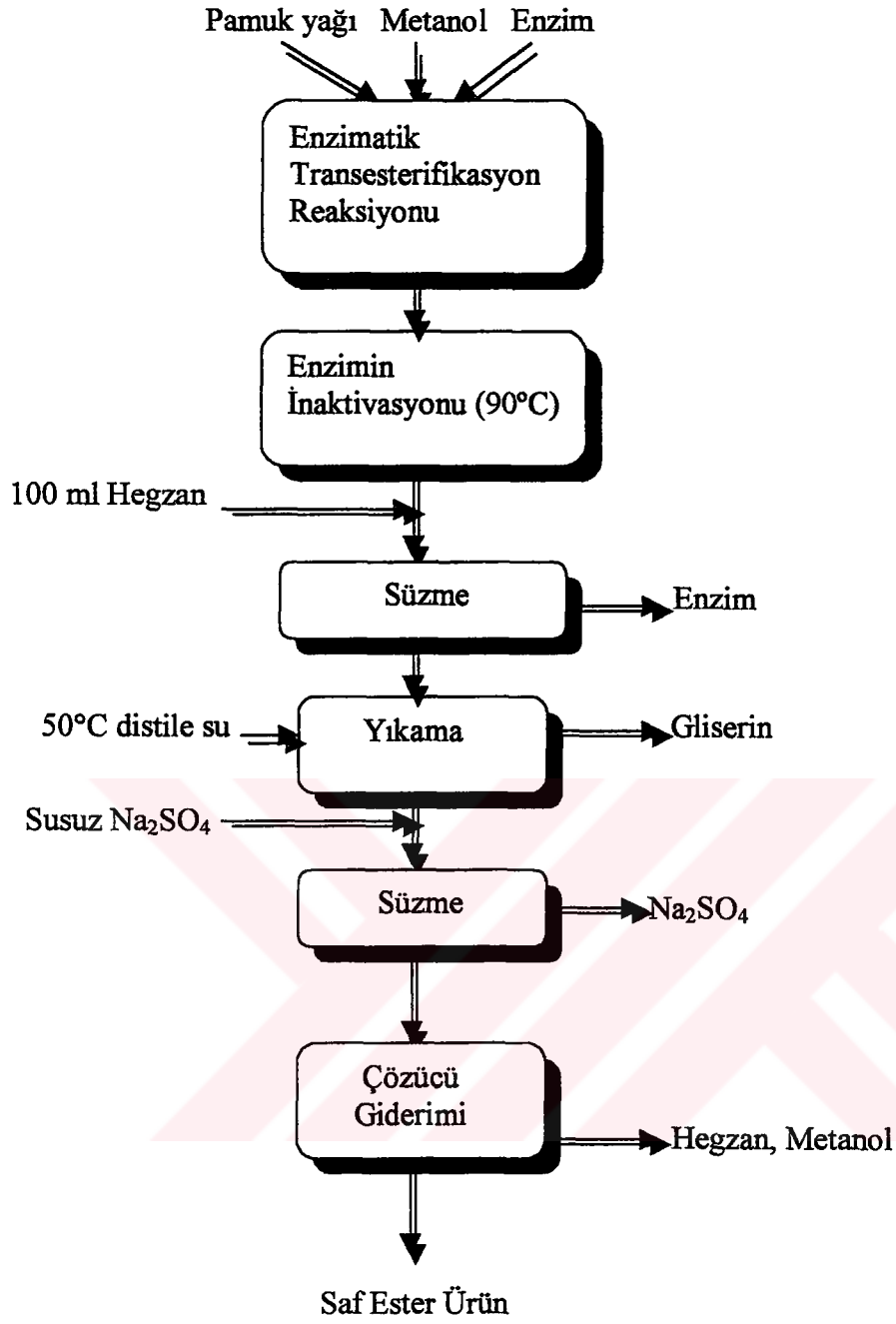
Transesterifikasyon reaksiyonu için belirli oranlarda pamuk yağı ve metanol reaksiyon balonuna alınarak ısıtılmış ve karışıma istenilen sıcaklığa ulaşıldığında enzim ilave edilmiştir. Belirli bir süre devam ettirilen reaksiyon, bu süre sonunda durdurularak reaksiyon balonu 90°C sıcaklıktaki su banyosunda 30 dakika

birakılmak suretiyle enzimin inaktif hale gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımı 100 ml hekzan ile süzülerek yağ fazı ile enzim birbirinden ayrılmıştır. Enzimi ayrılan ürün karışımında bulunan gliserinin ayrılması için karışım ayırma hunisine alınarak 50°C’ deki distile su ile 3 kez yıkanmıştır [23]. Gliserini giderilen ürün karışımına susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilmiş ve bu şekilde bir gece bekletilerek suyu giderilen ürün karışımı filtre edilmiştir. Daha sonra döner evaporatörde çözücüsü giderilen saf ester ürünün bileşimi kolon kromatografisi ile belirlenmiştir. Enzimatik transesterifikasyon reaksiyonu akım şeması Şekil 3.1’ de gösterilmektedir. Ester verimi (%),

$$\frac{\text{Saf ester ürün miktarı}}{\text{Pamuk yağı miktarı}} \times 100 \text{ formülü ile belirlenmiştir.}$$

### **3.5 Transesterifikasyon Reaksiyon Ürününün Kolon Kromatografisi ile Fraksiyonlarına Ayrılması**

Rafinasyonu yapılmış ester ürününün kolon kromatografisi yöntemi ile fraksiyonlarına ayrılmasında, 18 mm iç çapında ve içerisinde 25 g silika-jel (0.2 mm-0.5 mm) bulunan cam kolon kullanılmıştır. Hassas olarak tartılan 1 g numune 10 ml petrol eterinde çözülmüş ve kolona beslenmiştir. Daha sonra fraksiyonları ayırabilmek için, kolona sırası ile ME fraksiyonu için çözücü olarak 550 ml hekzan:dietileter (99:1); TAG fraksiyonu için 200 ml hekzan:dietileter (85:15); DAG fraksiyonu için 250 ml hekzan:dietileter (50:50) ve MAG fraksiyonu için de 400 ml dietileter beslenmiştir. Çözücülerin kolona beslenme hızları 2 ml/dak olarak seçilmiştir [37]. Kolondan 50’ şer ml’ lik hacimler halinde toplanan örneklerin her biri ince tabaka kromatografisi ile incelenerek ME, TAG, DAG ve MAG fraksiyonlarının bulunduğu örnekler belirlenmiştir. Daha sonra aynı fraksiyonları içeren örnekler birleştirilmiş ve döner evaporatörde çözücülerini giderilerek miktarları belirlenmiştir. Enzim miktarının artmasıyla ester ürünün serbest yağ asidi içeriğinde (FFA) artış olmuş ve FFA kolon kromatografisinde DAG fraksiyonu ile birlikte ayrılmıştır. Bu nedenle ester ürün bileşimi belirlenirken DAG fraksiyonunun asit değerine bakılarak gerçek değerler hesaplanmıştır.



Şekil 3.1 Enzimatik transesterifikasyon reaksiyonunun akım şeması.

### 3.6 Transesterifikasyon Reaksiyonu İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi

Reaksiyon için optimum koşulların belirlenmesi amacı ile verim üzerinde etkili; enzim miktarı, alkol/yağ mol oranı, sıcaklık ve zaman parametreleri değişimleri incelenmiştir. Deneysel çalışmanın bu bölümü aşağıda açıklanan basamaklardan oluşmaktadır:

- 1) Enzim miktarındaki değişimlerin transesterifikasyon reaksiyonuna olan etkisi,
- 2) Alkol/yağ mol oranı değişimlerinin transesterifikasyon reaksiyonuna olan etkisi,
- 3) Sıcaklık değişiminin transesterifikasyon reaksiyonuna olan etkisi,
- 4) Zamanın transesterifikasyon reaksiyonuna olan etkisi.

#### 3.6.1 Pamuk yağı–metanol transesterifikasyon reaksiyonuna enzim miktarının etkisi

Optimum enzim miktarının belirlenmesi amacıyla 40°C’ de, stokiometrik mol oranında ve kullanılan yağ miktarının % 10, % 20, % 30 ve % 40’ ı olmak üzere dört farklı enzim miktarlarında yürütülen reaksiyonlardan elde edilen sonuçlar Tablo 3.2’de sunulmuştur. Optimum koşulların belirlenmesi amacıyla yürütülen deneylerde reaksiyon süresi 7 saat olarak sabit tutulmuştur.

Tablo 3.2 Enzim miktarındaki değişimin ürün bileşimine etkisi  
(1/3 yağ/alkol mol oranı, 40°C, 7 saat).

| Enzim miktarı (%) | Bileşim (% ağırlık) |       |      |      |      |
|-------------------|---------------------|-------|------|------|------|
|                   | ME                  | TAG   | DAG  | MAG  | FFA  |
| 10                | 70.76               | 22.70 | 5.10 | 1.72 | 0.64 |
| 20                | 82.10               | 11.14 | 4.72 | 2.04 | 1.26 |
| 30                | 83.55               | 7.49  | 6.01 | 2.94 | 2.05 |
| 40                | 80.20               | 7.56  | 7.95 | 4.29 | 2.93 |

Tablo 3.2’ den görüldüğü gibi en yüksek metil ester içeriği yağın % 30’ u oranında kullanılan enzim miktarı ile elde edilmiştir. Enzim miktarı yağın % 40’ ı olarak alındığında ME içeriği düşmüş, ürünün FFA içeriği ise artmıştır. Bu düşme reaksiyon ortamında bulunan fazla miktardaki katının karıştırma rejimi üzerinde olumsuz bir

etki yapması şeklinde açıklanabilir. FFA içeriğindeki artışın nedeni ise; ortamdaki enzim miktarına bağlı olarak artan su miktarının reaksiyonu hidroliz yönüne kaydırması şeklinde yorumlanabilir.

### 3.6.2 Pamuk yağı – metanol transesterifikasyon reaksiyonuna mol oranının etkisi

Optimum mol oranının belirlenmesi amacıyla 40°C’ de, kullanılan yağın % 30’ u kadar enzim miktarı ile 1/1, 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1/6 yağ/alkol mol oranlarıyla deneyler yapılmış ve bu reaksiyonlardan elde edilen sonuçlar Tablo 3.3’ de verilmiştir

Tablo 3.3 Yağ/alkol mol oranlarındaki değişimin ürün bileşimine etkisi (% 30 enzim miktarı, 40°C, 7 saat).

| Yağ/alkol<br>mol oranı | Bileşim (% Ağırlık) |       |       |      |      |
|------------------------|---------------------|-------|-------|------|------|
|                        | ME                  | TAG   | DAG   | MAG  | FFA  |
| 1/1                    | 29.88               | 27.03 | 21.31 | 9.38 | 12.4 |
| 1/2                    | 57.26               | 11.55 | 17.16 | 4.91 | 9.12 |
| 1/3                    | 83.55               | 7.49  | 6.01  | 2.94 | 2.05 |
| 1/4                    | 87.35               | 7.30  | 2.81  | 1.99 | 0.55 |
| 1/5                    | 85.17               | 7.06  | 4.31  | 2.93 | 0.53 |
| 1/6                    | 63.90               | 18.85 | 10.81 | 5.97 | 0.47 |

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; alkol miktarındaki artışa bağlı olarak ürünün ME içeriği de artmıştır. Ancak, yağ/alkol mol oranı 1/5 ve 1/6 olduğunda ürünlerin ME içerikleri düşmüştür. Bu düşüşün nedeni, ortamdaki alkol miktarının, kullanılan immobilize enzimin stabilitesini sağlayan gerekli su tabakasını bozacak kadar fazla olması şeklinde açıklanabilir [13]. Ester ürünün FFA içeriği ise alkol miktarı düştükçe artmıştır. Bu ise ortamda yeterli miktarda alkolün bulunmaması nedeniyle reaksiyonun immobilize enzimin su içeriğinden dolayı hidroliz yönüne ilerlemesinden kaynaklanmaktadır [26]. En yüksek ME miktarı 1/4 yağ/alkol mol oranında elde edilmiş ve bundan sonraki deneylerde optimum mol oranı 1/4 olarak alınmıştır.

### 3.6.3 Pamuk yağı – metanol transesterifikasyon reaksiyonuna sıcaklığın etkisi

Enzimatik transesterifikasyon reaksiyonlarında kullanılan Novozym 435 immobilize lipazının 40-70°C arasında yüksek aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Sıcaklığın reaksiyon üzerindeki etkisini görmek amacıyla 1/4 yağ/alkol mol oranında ve kullanılan yağın % 30' u kadar enzim kullanılarak 30°C, 40°C, 50°C, 60°C ve 70°C' de reaksiyonlar yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 3.4' de verilmiştir.

Tablo 3.4 Sıcaklıktaki değişimin ürün bileşimine etkisi  
(% 30 enzim miktarı, 1/4 yağ/alkol mol oranı, 7 saat).

| Sıcaklık ( °C) | Bileşim (% ağırlık) |       |      |      |      |
|----------------|---------------------|-------|------|------|------|
|                | ME                  | TAG   | DAG  | MAG  | FFA  |
| 30             | 84.02               | 10.16 | 3.82 | 1.46 | 0.54 |
| 40             | 87.35               | 7.30  | 2.81 | 1.99 | 0.55 |
| 50             | 91.45               | 3.47  | 2.06 | 2.45 | 0.57 |
| 60             | 90.09               | 4.87  | 3.02 | 1.36 | 0.66 |
| 70             | 87.31               | 3.98  | 5.19 | 1.61 | 1.91 |

Tablo 3.4 incelendiğinde en yüksek ME oluşumu 50°C' de yürütülen reaksiyondan elde edilmiştir. Sıcaklık 50°C' nin üzerine çıktığında ise ME oluşumunda düşme görülmüştür. Buna neden olarak sıcaklığın artmasıyla enzim aktivitesinin olumsuz yönde etkilenmesi gösterilebilir. Literatürde de belirtildiği gibi her enzimin optimum aktivite gösterdiği bir sıcaklık değeri vardır ve transesterifikasyon reaksiyonlarında kullanılan Novozym 435 mikrobiyal enziminin optimum sıcaklığı 50°C olarak belirlenmiştir.

### 3.6.4 Pamuk yağı – metanol transesterifikasyon reaksiyonuna zamanın etkisi

Optimum koşulların belirlenmesi amacıyla yürütülen tüm deneylerde reaksiyon süresi 7 saat olarak sabit tutulmuştur. Çalışmanın bu kısmında, belirlenen optimum koşullarda (yağ/alkol mol oranı, 1/4; sıcaklık, 50°C; enzim miktarı, yağın % 30' u kadar) reaksiyon süresi 2, 4, 10, 15 ve 24 saat olarak değiştirilerek zamanın reaksiyon üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.5' de sunulmuştur.

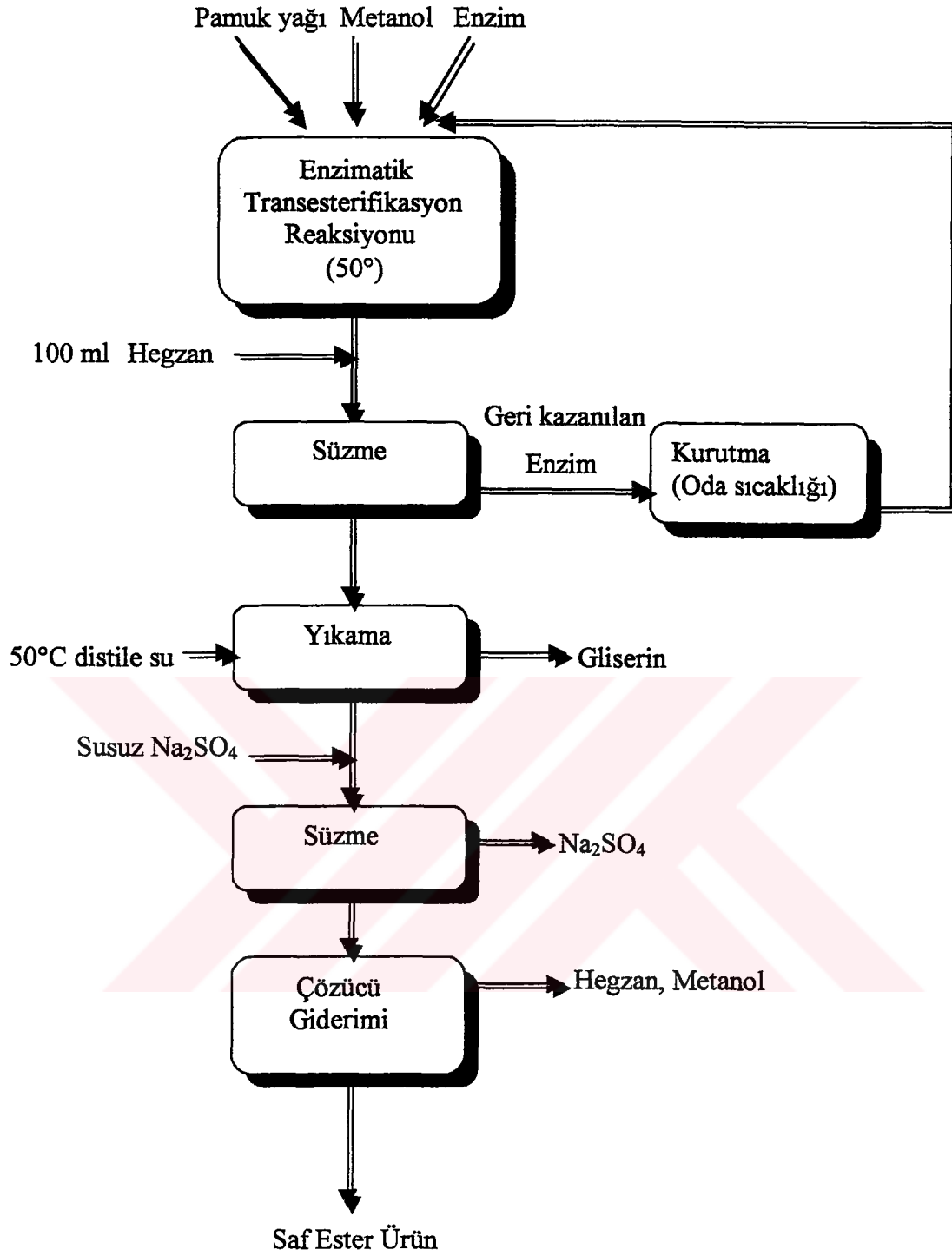
Tablo 3.5 Reaksiyon süresindeki değişimin ürün bileşimine etkisi  
(% 30 enzim miktarı, 1/4 yağ/alkol mol oranı, 50°C).

| Zaman (saat) | Bileşim (% Ağırlık) |       |      |      |      |
|--------------|---------------------|-------|------|------|------|
|              | ME                  | TAG   | DAG  | MAG  | FFA  |
| 2            | 79.92               | 13.37 | 4.56 | 1.60 | 0.55 |
| 4            | 85.74               | 8.97  | 2.15 | 2.42 | 0.72 |
| 7            | 91.45               | 3.47  | 2.06 | 2.45 | 0.57 |
| 10           | 92.21               | 2.74  | 3.12 | 1.38 | 0.55 |
| 15           | 91.13               | 2.52  | 3.00 | 2.76 | 0.59 |
| 24           | 92.11               | 1.95  | 3.00 | 1.87 | 1.07 |

Tablo 3.5’ den görüldüğü gibi reaksiyon süresindeki artış 7. saate kadar ME oluşumunda bir artışa neden olmuş ancak 7. saatten sonra reaksiyon sabit kalmıştır. 10 saat sürdürülen deneyde ME oluşumunda çok az bir artış görünmesine karşın optimum reaksiyon süresi zaman ve enerji açısından 7 saat olarak seçilmiştir.

### 3.7 Novozym 435 Mikrobiyal Lipazının Tekrar Kullanılabilirlik Derecesinin İncelenmesi

Enzimlerin elde edilmesi oldukça pahalı işlemleri gerektirmektedir. Bu nedenle enzimlerin yeniden kullanılabilirliğini artırmak amacıyla enzim immobilizasyon teknikleri geliştirilmiştir. Kelime anlamı olarak immobilizasyon hareketi sınırlandırma demektir. Enzimler immobilize edilerek hareketleri sınırlandırılır. Enzim rijid bir yapı kazanır, ısı ve çözelti etkisiyle yapısında değişiklikler yapamaz, dolayısıyla serbest enzimlere göre daha stabil hale gelirler [38]. Böylelikle bir reaksiyon ortamından, kullanılan enzimin kolayca ayrılması ve tekrar kullanılabilmesi mümkün olmaktadır. Bu düşünceden yola çıkılarak çalışmanın bu kısmında, deneylerde kullanılan immobilize mikrobiyal lipazın tekrar kullanılabilirlik derecesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için, transesterifikasyon reaksiyonu optimum koşullarda (yağ/alkol mol oranı, 1/4; enzim miktarı yağın % 30’ u kadar; sıcaklık, 50°C; zaman, 7 saat) Bölüm 3.4’ te anlatıldığı gibi yürütülmüş, ancak reaksiyon sonunda ürün karışımı inaktivasyon aşaması yapılmadan, direkt olarak 100 ml hegzan ile süzülerek yağ fazı ile enzim birbirinden ayrılmıştır. Diğer işlemler aynı şekilde devam ettirilmiştir. Bu işlemlerin akım şeması Şekil 3.2’ de, deneylerden elde edilen sonuçlar ise Tablo 3.6’ da ve Şekil 3.3’ de sunulmuştur.

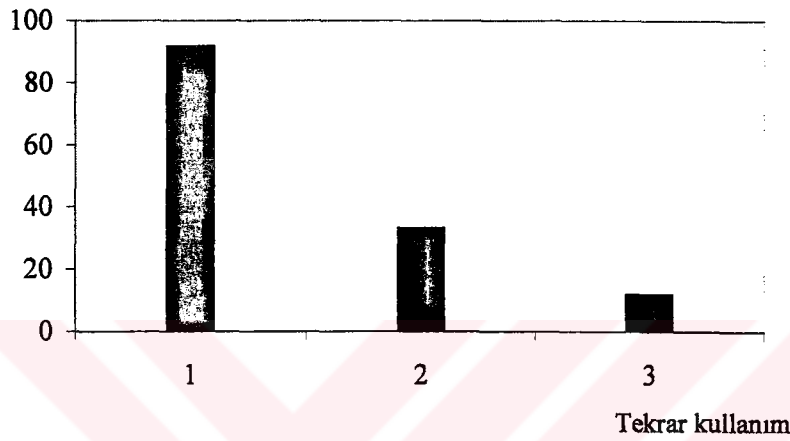


Şekil 3.2 Enzimin tekrar kullanılabilirlik derecesini belirlemek için gerçekleştirilen reaksiyonun akım şeması.

Tablo 3.6 Enzimin tekrarlı kullanımının ürün bileşimine etkisi.

| Tekrar kullanım | Bileşim (% Ağırlık) |       |      |      |      |
|-----------------|---------------------|-------|------|------|------|
|                 | ME                  | TAG   | DAG  | MAG  | FFA  |
| 1               | 91.45               | 3.47  | 2.06 | 2.45 | 0.57 |
| 2               | 33.15               | 55.71 | 8.56 | 2.18 | 0.4  |
| 3               | 11.69               | 77.26 | 8.48 | 2.12 | 0.45 |

ME (%) Ağırlık



Şekil 3.3 Novozym 435 mikrobiyal lipazının tekrar kullanılabilirlik derecesinin ME bileşimine etkisi.

Şekilden ve tablodan görüldüğü üzere, enzimin aktivitesi ilk kullanımdan sonra giderek azalmış ve ürünün ME içeriği ikinci kullanım sonunda %33.15 iken, üçüncü kullanım sonunda % 11.69' a düşmüştür. Ancak literatürde de belirtildiği gibi, reaksiyon ortamına ilave edilen bazı adsorbanlar (silika-jel, selüloz, nişasta) ile immobilize enzimlerin tekrarlı kullanımlarında yüksek dönüşümler elde edilebilmektedir. İlave edilen bu adsorbanlar, gliserin toplayıcısı olarak davranmakta ve böylece oluşan gliserinin enzim üzerine adsorbsiyonu önlenerek enzimin aktivitesi korunmuş olmaktadır [13,28].

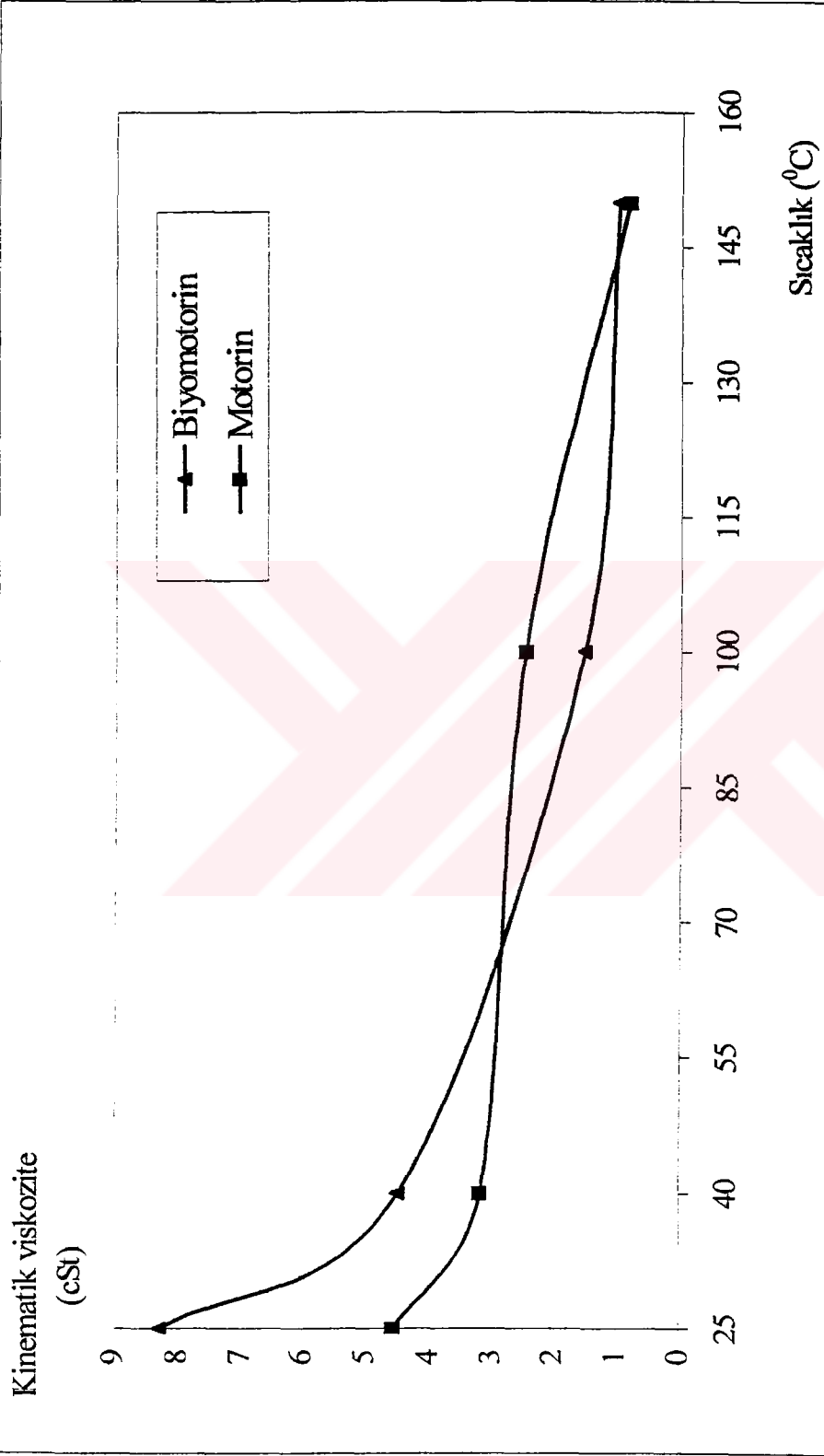
### 3.8 Biyomotorinin Yakıt Özelliklerinin İncelenmesi

Bu bölümde, biyomotorin ve referans yakıt motorine (ticari motorin) ASTM (American Safety for Testing and Materials) ve IP (The Institute of Petroleum) yöntemlerine göre standart yakıt testleri uygulanmıştır. Biyomotorinin çeşitli yağ karakteristik değerleri ise standart yağ analizlerine göre belirlenmiştir. Aşağıda uygulanan testler sıralanmıştır:

1. ASTM D 1500 : Petrol ürünlerinde renk tayini.
2. ASTM D 1298 : Petrol ürünlerinde hidrometre yöntemi ile yoğunluk, bağül yoğunluk ve API gravitesi tayini.
3. ASTM D 92 : Petrol ürünlerinde açık kap yöntemi ile alevlenme noktası tayini.
4. ASTM D 93 : Petrol ürünlerinde kapalı kap yöntemi ile alevlenme noktası tayini.
5. ASTM D 97 : Petrol ürünlerinde akma noktası tayini.
6. ASTM D 2500 : Petrol ürünlerinde bulutlanma noktası tayini.
7. IP 309 : Distile yakıtlarda soğukta filtre tıkanma noktası tayini.
8. IP 336 : Petrol ürünlerinde X ışınları yöntemine göre kükürt miktarı tayini.
9. ASTM D 482 : Petrol ürünlerinde kül miktarı tayini.
10. ASTM D 1796 : Petrol ürünlerinde santrifüj yöntemi ile su ve tortu miktarı tayini.

11. ASTM D 473 : Petrol ürünlerinde ekstraksiyon yöntemi ile tortu miktarı tayini.
12. ASTM D 88 : Saybolt viskozitesi tayini.
13. ASTM D 130 : Petrol ürünlerinde bakır şeriti kirlilik yöntemi ile korozyon tayini.
14. ASTM D 86 : Petrol ürünlerinin distilasyonu.
15. ASTM D 240 : Petrol ürünlerinde kalorimetre bombası yöntemi ile ısı değeri tayini.
16. ASTM D 976 : Distile petrol ürünlerinde setan indeksi hesaplanması.
17. Yağ karakteristikleri : Kırılma indisi, sabunlaşma değeri, iyot değeri, serbest yağ asitleri miktarı tayini ile setan indeksi hesaplanması [35,39].

Biyomotorin distilasyon testi, test sırasında kriting oluşması nedeni ile yapılmamıştır. Yakıtların ASTM D 88' e göre belirlenen Saybolt viskozite değerleri cSt birimine çevrilmiştir. Yakıtların viskozite-sıcaklık değişimleri Şekil 3.4' de, yakıt özellikleri ise Tablo 3.7' de verilmektedir.



Şekil 3.4 Biyomotorin ve motorinin viskozite-sıcaklık değişimi.

Tablo 3.7 Biyomotorin ve motorinin yakıt özellikleri.

| Özellikler                                  | Motorin | Biyomotorin |
|---------------------------------------------|---------|-------------|
| Renk                                        | L 1.0   | L 1.5       |
| Yoğunluk, 15 °C, kg/m <sup>3</sup>          | 835.4   | 885         |
| Alevlenme Noktası, °C                       | 69      | 126         |
| Akma Noktası, °C                            | -12.2   | 4.4         |
| Bulutlanma Noktası, °C                      | -2.2    | 4.4         |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C          | -10.0   | 1.0         |
| Viskozite, 40 °C, cSt                       | 3.2     | 4.5         |
| Kükürt İçeriği, Ağır. %' si                 | 0.51    | Yok         |
| Kül İçeriği, Ağır. %' si                    | 0.0002  | Yok         |
| Su ve Tortu İçeriği, Hac. %' si             | Yok     | Yok         |
| Ekstraksiyon ile Tortu İçeriği, Ağır. %' si | 0.003   | Yok         |
| Bakır Korozyonu, 50 °C, 3 saat              | No. 1a  | No. 1a      |
| Üst Isıl Değer, MJ/kg                       | 45.6    | 39.5        |
| Distilasyon Testi, °C                       |         |             |
| İlk Kaynama Noktası                         | 185     | -           |
| % 5                                         | 197     | -           |
| % 50                                        | 298     | -           |
| % 90                                        | 356     | -           |
| Son Kaynama Noktası                         | 361     | -           |
| Setan İndeksi                               | 53      | 48.1        |
| Yağ karakteristikleri                       |         |             |
| Serbest yağ asidi, ağır. %' si              | -       | 0.58        |
| Kırılma indisi, 20°C                        | -       | 1.4547      |
| Sabunlaşma değeri, mg KOH/g                 | -       | 189.85      |
| İyot değeri, g I/100 g                      | -       | 119.76      |
| Yağ asidi bileşimi, ağır. %' si             | -       |             |
| C <sub>14:0</sub>                           | -       | 0.69        |
| C <sub>16:0</sub>                           | -       | 21.94       |
| C <sub>16:1</sub>                           | -       | 0.53        |
| C <sub>18:0</sub>                           | -       | 2.48        |
| C <sub>18:1</sub>                           | -       | 13.07       |
| C <sub>18:2</sub>                           | -       | 59.38       |
| C <sub>20:0</sub>                           | -       | 0.32        |
| Diğer                                       | -       | 1.59        |

### 3.8.1 Biyomotorinin yakıt özelliklerinin değerlendirilmesi

TSE, TS 3082-EN 590/Aralık 1994 standartında otomotiv motorini özelliklerini belirtmektedir. Bu özellikler Tablo 3.8' de verilmektedir. Biyomotorinin TSE standartlarına uygun ve referans yakıt ile uyumlu özelliklere sahip olduğu görülerek aşağıdaki sonuçlar saptanmıştır:

1. Biyomotorinin rengi motorinin rengi ile uyumludur.
2. Biyomotorinin yoğunluğu standart değere uygundur.
3. Biyomotorin, yüksek alevlenme noktasına sahiptir, bu değer standart değere uygundur. Depolama ve taşınımında güvenlik artırıcı bu özellik önemlidir.
4. Biyomotorinin akma noktası, bulutlanma noktası, soğukta filtre tıkanma noktası değerleri, motorin değerlerine göre oldukça yüksektir. Bu yakıt özellikleri, yakıtın iklim koşullarına bağlı olarak kullanımını sınırlar; biyomotorinin kutup iklimlerinde kullanımı uygun değildir. Biyomotorin, normal iklimler için tanımlanan Tip A sınıfı motorin özelliklerine sahiptir.
5. Biyomotorinin 40°C' deki kinematik viskozitesi 4.5 cSt, motorininki ise 3.2 cSt şeklindedir. Normal iklimlerde kullanılacak motorinler 2.0-4.5 cSt aralığındaki kinematik viskozite değerlerine uygun viskoziteye sahip olmalıdırlar. Biyomotorinin viskozitesi bu sınırlar dahilindedir.
6. Biyomotorin; kükürt, kül, su ve tortu içermemektedir. Bu özellikler yakıtın niteliğini artırıcı; çevre kirliliği ve korozyon açılarından yakıtta avantaj sağlamaktadırlar.
7. Biyomotorin ve motorin benzer korozyon testi sonucu vermiştir.
8. Biyomotorinin üst ısı değeri 39.5 MJ/kg, motorininki ise 45.6 MJ/kg şeklindedir. Biyomotorinin ısı değeri motorinin ısı değerinden % 13 daha azdır.
9. Biyomotorinin setan indeksi 48.1, motorinin setan indeksi ise 53' tür. Biyomotorin, % 9 oranında daha az setan indeks değerine sahiptir.

10. Biyomotorin, çok düşük oranda serbest yağ asitlerini içermektedir; bu durum yakıtın saflığı açısından olumludur.

Tablo 3.8 TS 3082 – EN 590/Aralık 1994 motorin özellikleri.

| Özellikler                                                          | Motorin |
|---------------------------------------------------------------------|---------|
| <b>Genel Özellikler</b>                                             |         |
| Alevlenme Noktası, °C, En Az                                        | 55      |
| %10 Distilasyon Kalıntısındaki Karbon Kalıntısı, Ağır. %'si, En Çok | 0.30    |
| Kükürt İçeriği, Ağır. %' si, En Çok                                 | 0.20    |
| Kül İçeriği, Ağır. %' si, En Çok                                    | 0.01    |
| Su İçeriği, mg/kg, En Çok                                           | 200     |
| Tanecik Kirlenmesi, mg/kg, En Çok                                   | 24      |
| Bakır Korozyonu, 50°C, 3 saat, No                                   | 1       |
| Oksidasyon Kararlılığı, g/m <sup>3</sup> , En Çok                   | 25      |
| <b>İklima Bağlı Özellikler (Normal İklimler)</b>                    |         |
| Yoğunluk, 15°C, kg/m <sup>3</sup>                                   | 820-860 |
| Kinematik Viskozite, 40°C, cST                                      | 2.0-4.5 |
| Setan Sayısı, En Az                                                 | 49      |
| Setan İndeksi, En Az                                                | 46      |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C, En Çok                          |         |
| Tip A                                                               | 5       |
| Tip B                                                               | 0       |
| Tip C                                                               | -5      |
| Tip D                                                               | -10     |
| Tip E                                                               | -15     |
| Tip F                                                               | -20     |
| Distilasyon, Hac. %' si                                             |         |
| 250°C' de Elde Edilen, En Çok                                       | <65     |
| 350°C' de Elde Edilen, En Az                                        | 85      |
| 370°C' de Elde Edilen, En Az                                        | 95      |
| <b>İklima Bağlı Özellikler (Kutup İklimler)</b>                     |         |
| <b>Tip 0 :</b>                                                      |         |
| Yoğunluk, 15°C, kg/m <sup>3</sup> , En Az                           | 800     |
| Kinematik Viskozite, 40°C, cSt                                      | 1.5-4.0 |
| Setan Sayısı, En Az                                                 | 47      |
| Setan İndeksi, En Az                                                | 46      |
| Bulutlanma Noktası, °C, En Çok                                      | -10     |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C, En Çok                          | -20     |
| Distilasyon, Hac. %' si                                             |         |
| 180°C' de Elde Edilen, En Çok                                       | 10      |
| 340°C' de Elde Edilen, En Çok                                       | 95      |

Tablo 3.8 (Devam) TS 3082- EN 590/Aralık 1994 motorin özellikleri.

| Özellikler                                 | Motorin |
|--------------------------------------------|---------|
| Tip 1 :                                    |         |
| Yoğunluk, 15°C, kg/m <sup>3</sup> , En Az  | 800     |
| Kinematik Viskozite, 40°C, cSt             | 1.5-4.0 |
| Setan Sayısı, En Az                        | 47      |
| Setan İndeksi, En Az                       | 46      |
| Bulutlanma Noktası, °C, En Çok             | -16     |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C, En Çok | -26     |
| Distilasyon, Hac. %' si                    |         |
| 180°C' de Elde Edilen, En Çok              | 10      |
| 340°C' de Elde Edilen, En Çok              | 95      |
| Tip 2 :                                    |         |
| Yoğunluk, 15°C, kg/m <sup>3</sup> , En Az  | 800     |
| Kinematik Viskozite, 40°C, cSt             | 1.5-4.0 |
| Setan Sayısı, En Az                        | 46      |
| Setan İndeksi, En Az                       | 46      |
| Bulutlanma Noktası, °C, En Çok             | -22     |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C, En Çok | -32     |
| Distilasyon, Hac. %' si                    |         |
| 180°C' de Elde Edilen, En Çok              | 10      |
| 340°C' de Elde Edilen, En Çok              | 95      |
| Tip 3 :                                    |         |
| Yoğunluk, 15°C, kg/m <sup>3</sup> , En Az  | 800     |
| Kinematik Viskozite, 40°C, cSt             | 1.4-4.0 |
| Setan Sayısı, En Az                        | 45      |
| Setan İndeksi, En Az                       | 43      |
| Bulutlanma Noktası, °C, En Çok             | -28     |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C, En Çok | -38     |
| Distilasyon, Hac. %' si                    |         |
| 180°C' de Elde Edilen, En Çok              | 10      |
| 340°C' de Elde Edilen, En Çok              | 95      |
| Tip 4 :                                    |         |
| Yoğunluk, 15°C, kg/m <sup>3</sup> , En Az  | 800     |
| Kinematik Viskozite, 40°C, cSt             | 1.2-4.0 |
| Setan Sayısı, En Az                        | 45      |
| Setan İndeksi, En Az                       | 43      |
| Bulutlanma Noktası, °C, En Çok             | -34     |
| Soğukta Filtre Tıkanma Noktası, °C, En Çok | -44     |
| Distilasyon, Hac. %' si                    |         |
| 180°C' de Elde Edilen, En Çok              | 10      |
| 340°C' de Elde Edilen, En Çok              | 95      |

#### 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Türkiye kökenli rafine pamuk tohumu yağı-metanol transesterifikasyon reaksiyonu Novozym 435 lipazı varlığında incelenerek, ester ürünün yakıt özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada varılan sonuç, değerlendirme ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1) Pamuk yağı yağ asitleri bileşimi ağırlık bazında (% Ağırlık):

|                  |         |
|------------------|---------|
| Miristik asit    | : 0.68  |
| Palmitik asit    | : 21.61 |
| Palmitoleik asit | : 0.56  |
| Stearik asit     | : 2.46  |
| Oleik asit       | : 11.91 |
| Linoleik asit    | : 61.08 |
| Araşidik asit    | : 0.34  |
| Diğer            | : 0.36  |

şeklinde olup, iyot indisi 121.82 olan yağ “yarı-kuruyan yağlar” grubuna dahildir. Bu da literatürdeki değerlerle uyumluluk göstermektedir.

2) Pamuk yağı – metanol transesterifikasyon reaksiyonu için optimum reaksiyon koşulları:

|                     |                           |
|---------------------|---------------------------|
| Enzim miktarı       | : Yağın %30’ u miktarında |
| Yağ/alkol mol oranı | : 1 /4                    |
| Sıcaklık            | : 50° C                   |
| Zaman               | : 7 saat                  |

olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda yürütülen reaksiyonun ester verimi % 85’ tir. Transesterifikasyon reaksiyonu ürün karışımının kolon kromatografisi yöntemi ile belirlenen bileşimi ağırlık %’ si olarak % 91.45 ME, % 3.47 TAG, % 2.06 DAG, % 2.45 MAG ve % 0.57 FFA içermektedir.

- 3) Novozym 435 mikrobiyal lipazının tekrar kullanılabilirlik derecesi ardarda yapılan 3 deneyle incelenmiş ve üçüncü tekrarın sonunda, ME içeriğinin % 91.45' ten % 11.69' a düştüğü görülmüştür.
- 4) Çalışmada elde edilen biyomotorin, TS 3082-EN 590 standartında yer alan "Normal İklimler – Tip A" sınıfı özelliklerine sahip bir yakıttır. Biyomotorinin akma noktası, bulutlanma noktası ve soğukta filtre tıkanma noktası değerlerini düşürmek amacı ile katkı maddeleri kullanımı uygun olacaktır; böylece yakıt daha soğuk iklim koşullarında da kullanılabilir özelliklere sahip olabilir.
- 5) Biyomotorin, TS 3082-EN 590 standartına uygun bitkisel yağ kökenli bir yakıttır.
- 6) Biyomotorin çevre dostu özelliklere sahip yenilenebilir kaynaklı bir yakıt alternatifidir.
- 7) Biyomotorin, enzimatik transesterifikasyon reaksiyonu ile elde edilmiştir. Mevcut çalışma ve uygulamaların pek çoğunda, biyomotorinin inorganik ve organik katalizörler kullanımı ile eldesi yapılmaktadır. Bu çalışma ile, Novozym 435 immobilize enziminin biyomotorin üretiminde kullanılabilirliği ortaya konmuştur.
- 8) Bu çalışmada, düz zincirli bir alkol olan metanol kullanılmıştır. Çalışma, farklı zincir uzunluklarındaki ve dallanmış yapıdaki alkollerle de yürütülerek, Novozym 435 lipazının alkollere karşı gösterebileceği seçiciliği incelenebilir.
- 9) Novozym 435 mikrobiyal lipazının tekrarlı kullanımı sonucu azalan ME içeriği, ortama çeşitli adsorbanlar (silika jel, selüloz, nişasta, kok kömürü, v.b) ilave edilerek arttırılabilir.
- 10) Türkiye enerji açığı büyük olan bir ülkedir. Biyokütle enerji teknolojisi kullanımı ülkemiz için önemli seçeneklerden biri olarak görülmektedir. Türkiye florası her tür yağlı tohum bitkisi ekimine uygun olup, sahip olunan teknolojik olanaklarla biyomotorin üretimini gerçekleştirmek mümkündür.

## KAYNAKLAR

- [1] **Dünya Enerji Konseyi Türk Milli Komitesi.**, 1998. 1997 Enerji Raporu, Ankara
- [2] **Yılmaz, S.**, 1998. Pamuk Yağının Alternatif Motorin ve Fuel Oil Özellikleri, *Yüksek Lisans Tezi*, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- [3] **Kirk, R.E., Othmer, D.F.**, 1965. Encyclopedia of Chemical Technology, Vol. 4, pp. 563-588, The Interscience Encyclopedia, Inc., NewYork.
- [4] **Temel Britannica Ansiklopedisi**, 1993. Cilt 13, syf. 297-300, Hürriyet Ofset.
- [5] **Thorpe, J.F., Whiteley, M.A.**, 1939. Dictionary of Applied Chemistry, Fourth Edition, Vol. III, pp. 405-411, Longmans, London.
- [6] **Wan, P.J., Pakarinen, D.R., Wakelyn, P.J.**, 1998. Concerns for the Determination of Free Fatty Acids in Cottonseed, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **75**, 13211-1324.
- [7] **Şatıroğlu, N.**, 1990. Gıda Üretimi Temel İşlemler Ders Notları, İ.T.Ü. Kimya-Metalurji, Ofset Atölyesi, İstanbul.
- [8] **Linko, Y.Y., Lämsä, M., Huhtala, A., Rantanen, O.**, 1995. Lipase Biocatalysis in the Production of Esters, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **72**, 1293-1299.
- [9] **Cvengros, J., Cvengrosova, Z.**, 1994. Quality Control of Rapeseed Oil Methyl Esters by Determination of Acyl Conversion, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **71**, 1349-1352.
- [10] **Bailey. A.E.**, 1979. Industrial Oil and Fat Products, Fourth edition, Vol.1, pp. 99-102, Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons Inc., NewYork.
- [11] **Işığür-Tuna, A.**, 1992. Türkiye Kökenli Aspir Tohum Yağlarının Transesterifikasyonu ve Dizel Yakıt Alternatifi Olarak Değerlendirilmesi, *Doktora Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [12] Basri, M., Heng, A.C., Razak, C.N.A., Wan Yunus, W.M.Z., Ahmad, M., Rahman, R.N.A., Ampon, K., Salleh, A.B., 1997. Alcoholysis of Palm Oil Mid-Fraction by Lipase from *Rhizopus rhizopodiformis*, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **74**, 113-116.
- [13] Selmi, B., Thomas, D., 1998. Immobilized Lipase- Catalyzed Ethanolysis of Sunflower Oil in a Solvent-Free Medium, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **75**, 691-695.
- [14] Mittelbach, M., 1990. Lipase-Catalyzed Alcoholysis of Sunflower Oil, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **67**, 168-170.
- [15] Shaw, J-F., Wang, D-L., 1991. Lipase-Catalyzed Ethanolysis and Isopropanolysis of Triglycerides with Long-Chain fatty Acids, *Enzyme Microb. Technol.* **13**, 544-546.
- [16] Linko, Y.Y., L  ms  , M., Huhtala, A., Linko, P., 1994. Lipase-Catalyzed Transesterification of Rapeseed Oil and 2-Ethyl-1-Hexanol, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **71**, 1411-1414.
- [17] Haas, M.J., Scott, K.M., 1996. Diesel Fuel as a Solvent for the Lipase-Catalyzed Alcoholysis of Triglycerides and Phosphatidylcholine, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **73**, 1497-1504.
- [18] Nelson, L.A., Foglia, T.A., Marmer, W.N., 1996. Lipase-Catalyzed Production of Biodiesel, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **73**, 1191-1195.
- [19] Noureddini, H., Harkey, D., Medikonduru, V., 1998. A Continuous Process for the Conversion of Vegetable Oils into Methyl Esters of Fatty Acids, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **75**, 1775-1783.
- [20] Karaosmanoğlu, F., C    zo  lu, K.B., T  ter, M., 1995. Biyomotorin Uygulamaları, *Mühendis ve Makine*, **36**, 35-39.
- [21] Akda  , A., 1994. Kolza Yağı- Metanol Transesterifikasyon Reaksiyonu, *Yüksek Lisans Tezi*,   .T.  . Fen Bilimleri Enstitüsü,   stanbul.
- [22] Krisnangkura, K., Jeyashoke, N., Kalayasiri, P., 1996. Survey of Seed Oils for Use as Diesel Fuels, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **73**, 471-474.
- [23] Ertekin, S., 1995. Biyomotorin   retiminde Rafinasyon A  amasının   ncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*,   .T.  . Fen Bilimleri Enstitüsü,   stanbul.
- [24] Boocock, D.G.B., Konar, S.K., Mao, V., Lee, C., Buligan, S., 1998. Fast Formation of High- Purity Methyl Esters from Vegetable Oils, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **75**, 1167-1172.

- [25] Masjuki, H.H., Sapuan, S.M., 1995. Palm Oil Methyl Ester as Lubricant Additive in a Small Diesel Engine, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **72**, 609-612.
- [26] Trani, M., Ergun, F., Andre, G., 1991. Lipase-Catalyzed Production of Wax Esters, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **68**, 20-22.
- [27] Ghosh, M., Bhattacharya, D.K., 1997. Enzymatic Alcoholysis Reaction of Soy Phospholipids, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **74**, 597-599.
- [28] Zuyi, L., Ward, O.P., 1993. Stability of Microbial Lipase in Alcoholysis of Fish Oil During Repeated Enzyme Use, *Biotechnology Letters*, **15**, 393-398.
- [29] Stevenson, D.E., Stanley, R.A., Furneaux, R.H., 1994. Near-Quantitative Production of Fatty Acid Alkyl Esters by Lipase-Catalyzed Alcoholysis of Fats and Oils with Adsorption of Glycerol by Silica Gel, *Enzyme Microb. Technol.*, **16**, 478-484.
- [30] Doncescu, N.G., Legoy, M.D., 1997. An Original Transesterification Route for Fatty Acid Ester Production from Vegetable Oils in a Solvent-Free System, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **74**, 1137-1143.
- [31] Chen, J-P., Weng, J-B., Liu, H-S., 1995. Alcoholysis of Olive Oil for Producing Wax Esters by Intracellular Lipase in Immobilized Fungus Cells, *Biotechnology Letters*, **17**, 1177-1182.
- [32] Hanna, M.A., Ali, Y., Cuppett, S.L., 1995. Fuel Properties of Tallow and Soybean Oil Esters, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **72**, 1557-1564.
- [33] Novo Nordisk Firması, "What Are Enzymes?" , web sayfası, [www.novo.dk/enzymes/what are.htm](http://www.novo.dk/enzymes/what%20are.htm).
- [34] Sınai Kimya Öğrenci Çalışma Yönergeleri, 1991. 2.Baskı, İ.T.Ü. Kimya-Metalurji Fakültesi, İstanbul.
- [35] Cocks, L.V., Van Rede, C., 1966. Laboratory Handbook of Oil and Fat Analysis, Academic Press, London and New York.
- [36] Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils, 1973. *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, Official Method Ce 2-66.
- [37] Özgül, S., 1991. Pirinç Kepeği Yağının Metanol ve Etanol ile Yerinde Esterleştirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [38] Akın, A., 1998. Çörekotu (*Nigella Sativa* L) Lipaz Enziminin Stabilizasyonuna Şekerlerin Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [39] Krisnangkura, K., 1986. A Simple Method for Estimation of Cetane Index of Vegetable Oil Methyl Esters, *J.Am.Oil.Chem.Soc.*, **63**, 552-553



## ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İstanbul’ da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ata Köseoğlu İlkokulu ve Özel Moda Lisesi’ nde tamamladı. 1993 yılında girdiği İ.T.Ü. Kimya - Metalurji Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü’ nden 1997 yılında mezun oldu ve Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’ nda Yüksek Lisans öğrencisidir.

