

ÖNSÖZ

Çalışmam süresince benden bilgi, destek ve deneyimlerini esirgemeyen ve bana her konuda yardımcı olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ayşe AKSOY ve Sayın Doç. Dr. Melek TÜTER'e, ayrıca laboratuvar çalışmam sırasındaki yardımları için değerli hocam Araş. Gör. Dr. Sevil YÜCEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca Kim. Yük. Müh. Seda DEMİRKOL ve Kim. Müh. Ömer Faruk GÜL başta olmak üzere, çalışmam boyunca bana yardımcı olan, yol gösteren ve zorlukları paylaşan tüm çalışma arkadaşlarıma da en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yaşamım boyunca her zaman yanımda olan ve bana her konuda destek veren annem Melek GENÇOĞLU'na ve babam Aykut GENÇOĞLU'na da teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2005

Kim. Müh. Aytuğ GENÇOĞLU

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. TEORİK ÇALIŞMA	2
2.1. Ayçiçeği Bitkisi	2
2.2. Ayçiçeği Yağı	3
2.3. Bitkisel Yağların Eldesi ve Rafinasyonu	4
2.3.1. Reçine Giderme	5
2.3.2. Nötralizasyon	5
2.3.3. Ağartma	6
2.3.4. Deodorizasyon	6
2.3.5. Vinterizasyon	6
2.4. Ağartma İşlemi	6
2.4.1. Ağartma ile Yağdan Ayrılan Bileşikler	7
2.4.1.1. Oksidasyon Ürünleri	7
2.4.1.2. Renk Verici Bileşikler	7
2.4.1.3. Fosfolipid ve Glikolipidler	7
2.4.1.4. Metal İzleri	7
2.4.1.5. Sabunlar	8
2.4.1.6. Kontaminantlar	8
2.4.2. Ağartmada Kullanılan Adsorbanlar	8
2.4.2.1. Aktif Karbon	8
2.4.2.2. Doğal Aktif Killer	8
2.4.2.3. Aktif Killer	9
2.4.3. Ağartılmış Yağın ve Kullanılmış Ağartma Toprağının Depolanması ve Taşınması	10
2.4.4. Atık Aktive Ağartma Toprağının Kullanıldığı Uygulamalar	11
2.4.4.1. Yağın Geri Kazanımı	11
2.4.4.2. Hayvan Yemi	11
2.4.4.3. Biyogaz Üretimi	12
2.4.4.4. Çimento ve Tuğla Sanayi	12

2.4.4.5. Toprak Islahı ve Kompostlaştırma	12
2.4.4.6. Ağartma Toprağının Rejenerasyonu	12
2.5. Bitkisel Yağların Esterlerinin Uygulamaları	13
2.5.1. Anyonik Yüzey Aktif Maddeler	13
2.5.2. Yağlayıcılar	13
2.5.3. Isı Aktarım Ortamı	13
2.5.4. Biyodizel	14
2.5.4.1. Biyodizelin Enerji İçeriği	14
2.5.4.2. Biyodizelin Emisyon Özellikleri	14
2.5.4.3. Motor Aşınması	15
2.5.4.4. Dünyada Biyodizel Kullanımı	16
2.6. Biyodizel Üretim Yöntemleri	16
2.6.1. Karıştırma	17
2.6.2. Piroliz	17
2.6.3. Mikroemülsiyonlar	17
2.6.4. İç Esterleşme Reaksiyonları	17
2.6.4.1. Asidoliz	18
2.6.4.2. Transesterifikasyon (Ester değişimi)	18
2.6.4.3. Alkoliz	19
2.7. Alkoliz Reaksiyonlarında Kullanılan Katalizörler	19
2.7.1. Asitler	19
2.7.2. Bazlar	20
2.7.3. Organik Bazlar	20
2.7.4. Lipazlar	21
2.8. Literatür Araştırması	21
3. DENEYSEL ÇALIŞMA	27
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.2. Atık Aktive Ağartma Toprağındaki Yağın Karakterizasyonu	27
3.3. Deney Düzenegi	29
3.4. Enzimatik Alkoliz Reaksiyonu	29
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	31
4.1. In situ Alkoliz Reaksiyonu ile AAAT'den Ekstrakte Edilmiş Yağın Alkoliz Reaksiyonunun Karşılaştırılması	31
4.2. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Enzim Tipinin Etkisi	34
4.3. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi	36

4.4. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Sıcaklığın Etkisi	39
4.5. Atık Aktive Ağartma Toprağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Mol/Alkol Oranı Etkisi	41
4.6. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Çözücü Tipinin Etkisi	43
4.7. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Alkol Tipinin Etkisi	46
4.8. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Bozunması	49
5. VARGILAR VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	53
EK A.	56
EK B.	62
ÖZGEÇMİŞ	63

KISALTMALAR

TLC	: İnce Yüzey Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü (Flame Ionization Detector)
ME	: Metil Ester
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol
FFA	: Serbest Yağ Asidi Esterleri
AAT	: Aktive Ağartma Toprağı
AAAT	: Atık Aktive Ağartma Toprağı
AYÇ	: Aşınma Yara Çapı

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Ayçiçeği tohumu ve çekirdeğinin bileşimleri.....	3
Tablo 2.2. Ayçiçeği yağının yağ asidi bileşimi.....	4
Tablo 2.3. Çeşitli bitkisel yağ metil esterlerinin yakıt özelliklerinin No 2 dizel yakıtla karşılaştırılması.....	15
Tablo 3.1. Gaz kromatografisi koşulları.....	28
Tablo 3.2. AAAT yağının özellikleri ve yağ asidi bileşimi.....	29
Tablo 4.1. Lipozyme IM ile katalizlenen in situ ve ekstrakte edilmiş yağ alkolizinin karşılaştırılması.....	32
Tablo 4.2. Enzim tipinin in situ metanoliz reaksiyonuna etkisi.....	34
Tablo 4.3. AAAT yağının in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi	36
Tablo 4.4. AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi	39
Tablo 4.5. AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna mol oranının etkisi	41
Tablo 4.6. AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna çözücü tipinin etkisi.....	43
Tablo 4.7. AAAT in situ alkoliz reaksiyonuna alkol tipinin etkisi.....	46
Tablo A.1. AAAT'den ekstrakte edilen yağ ile yürütülen alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	56
Tablo A.2. In situ reaksiyonda ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	56
Tablo A.3. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme RM IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	56
Tablo A.4. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme TL IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	57
Tablo A.5. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,05 enzim/yag)	57
Tablo A.6. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,15 enzim/yag)	57
Tablo A.7. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,20 enzim/yag)	57
Tablo A.8. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,25 enzim/yag)	58
Tablo A.9. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (30 °C).....	58
Tablo A.10. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (50 °C).....	58
Tablo A.11. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (60 °C).....	58
Tablo A.12. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Yağ/alkol mol oranı: 1/2).....	59
Tablo A.13. AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol	59

	oranının etkisi (Yağ/alkol mol oranı: 1/4).....	
Tablo A.14.	AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-hekzan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi..	59
Tablo A.15.	AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak petrol eteri kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	59
Tablo A.16.	AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak siklohekzan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	60
Tablo A.17.	AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-heptan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi...	60
Tablo A.18.	AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak i-oktan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi...	60
Tablo A.19.	AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak etanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	60
Tablo A.20.	AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	61
Tablo A.21.	AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak i-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	61
Tablo A.22.	AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-amil alkol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi....	61
Tablo B.1.	4 °C'de saklanan AAT'nin içerdiği yağın bozunması.....	62

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : Montmorillonitin yapısı	9
Şekil 2.2 : Asidoliz reaksiyonunun denklemi	18
Şekil 2.3 : Transesterifikasyon reaksiyonunun denklemi	18
Şekil 2.4 : Alkoliz reaksiyonunun denklemi	19
Şekil 4.1 : AAAT'den ekstrakte edilen yağ ile yürütülen alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi	33
Şekil 4.2 : In situ reaksiyonda ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	33
Şekil 4.3 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme RM IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi	35
Şekil 4.4 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme TL IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi	35
Şekil 4.5 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,05 enzim/yağ)	37
Şekil 4.6 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,05 enzim/yağ)	37
Şekil 4.7 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,05 enzim/yağ)	38
Şekil 4.8 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Ağırlıkça 0,05 enzim/yağ)	38
Şekil 4.9 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (30 °C)...	39
Şekil 4.10 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (50 °C)...	40
Şekil 4.11 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (60 °C)...	40
Şekil 4.12 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Yağ/alkol mol oranı: 1/2).....	42
Şekil 4.13 : AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Yağ/alkol mol oranı: 1/4).....	42
Şekil 4.14 : AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-hekzan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi..	44
Şekil 4.15 : AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak petrol eteri kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	44
Şekil 4.16 : AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak siklohekzan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	45

Şekil 4.17	: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-heptan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi...	45
Şekil 4.18	: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak i-oktan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi...	46
Şekil 4.19	: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak etanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	47
Şekil 4.20	: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	48
Şekil 4.21	: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak i-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi.....	48
Şekil 4.22	: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-amil alkol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi....	49
Şekil 4.23	: 4 °C'de saklanan AAT'nin içerdiği yağın bozunması.....	50

ATIK AKTİVE AĞARTMA TOPRAĞINDAN BİYODİZEL ELDESİ

ÖZET

Bitkisel yağlar, gıda amaçlı kullanımlarının yanı sıra, hammadde olarak da kimya sanayinde önemli bir yere sahiptir. Bitkisel yağların farklı amaçlarla kullanılan ve farklı proseslerle üretilen çeşitli türevleri mevcuttur. Yağ kimyasallarının önemi gitgide artan bir uygulaması da alternatif dizel yakıtlarıdır. Dizel yakıt alternatifleri, bitkisel yağlardan karışım ve emülsiyon oluşturma gibi fiziksel işlemler veya piroliz ve alkoliz gibi kimyasal yöntemler ile elde edilmektedir. Alkoliz ile üretilen yağ asidi alkil esterleri olan biyodizel, temiz, yerel olarak üretilebilen ve tükenmeyen bir enerji kaynağı olarak gelecek vaatmektedir.

Bu çalışmada, bir yemeklik yağ rafinasyon prosesinden atık olarak çıkan Türkiye kökenli ayçiçek yağından, enzimatik alkoliz yoluyla biyodizel eldesi incelenmiştir. Kullanılan atık yağ, aktive ağartma toprağı (AAT) adı verilen bir adsorbana adsorbe olmuş durumdadır. Çalışmada tepkimenin yağ AAT'den ayrılarak ve yerinde (in situ) yürütüldüğü durumlar karşılaştırılmış, yağın AAT'den ayrılmadığı in situ alkoliz reaksiyonunda daha yüksek verim elde edildiği anlaşılmıştır. Daha sonra alkoliz tepkimesinde katalizör olarak kullanılacak lipaz enziminin belirlenmesi için Lipozyme TL IM ve Lipozyme RM IM lipazları karşılaştırılmış ve Lipozyme RM IM'nin bu uygulama için daha uygun olduğuna karar verilmiştir.

Daha sonra tepkimenin gerçekleştirilmesi için en uygun koşulların bulunması amacıyla, enzim/yağ ağırlık oranı, tepkime sıcaklığı, yağ/alkol mol oranı parametrelerinin etkisi ayrı ayrı incelenmiş ve en uygun koşulların 0,20 enzim/yağ ağırlık oranı, 40 °C ve 1:3 yağ/alkol mol oranı olduğu saptanmıştır.

PRODUCTION OF BIODIESEL FROM WASTE ACTIVATED BLEACHING EARTH

SUMMARY

Besides their usage in the food industry, vegetable oils have an important place in the chemical industry as raw material. Various vegetable oil derivatives with different application areas which are produced by a variety of methods are present. Biodiesel is an oleochemical application whose importance has been growing. Alternative diesel fuels are produced from vegetable oils by physical processes such as blending or forming of emulsions, or by chemical methods such as pyrolysis or alcoholysis. Biodiesel, which consists of fatty acid alcy l esters produced by alcoholysis, holds promise as a clean, renewable energy source that can be produced domestically.

In this study, biodiesel production through enzymatic alcoholysis of sunflower oil of Turkey origin that is discarded from an edible oil refining process as waste material. The waste oil is adsorbed on an adsorbant called activated bleaching earth (ABE). In the study, the alcoholysis reaction of waste oil separated from the ABE prior to the reaction, and in situ alcoholysis of waste oil have been compared. A higher conversion was observed with in situ alcoholysis. Later, the performances of Lipozyme RM IM and Lipozyme TL IM lipases for the lipase-catalysed in situ alcoholysis reaction were compared and Lipozyme RM IM was found to be more suitable for this application.

The effects of enzyme/oil weight ratio, reaction temperature and the oil/alcohol molar ratio were investigated seperately. The conditions most suitable for the alcoholysis of waste sunflower oil from ABE were found to be 0,20 enzyme/oil weight ratio, 40 °C and 1:3 oil/alcohol molar ratio.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Artan enerji ihtiyacı ve azalan enerji kaynakları, yenilenebilir enerji kaynakları konusundaki çalışmaları teşvik etmektedir. Bu çalışmaların bir meyvesi olan biyodizel, yağların alkollerle esterleştirilmesi yoluyla üretilen en önemli kimyasallar arasındadır ve önemli bir alternatif yakıt haline gelmiştir. Biyodizelin bitkisel yağlardan üretiliyor olması, yenilenebilir bir yakıt olması ve rezervleri sınırlı olan fosil yakıtlardan elde edilen dizel yakıtların aksine yerel olarak üretilmesi anlamına gelmektedir.

Biyodizel hemen her türlü bitkisel yağdan üretilmektedir ve birçok önemli tarım bitkisi (kolza, soya, ayçiçeği, vs.) bu amaçla kullanılmaktadır. Biyodizel rafine yağlardan üretilbileceği gibi, evler ve lokantalardan toplanan kullanılmış yemeklik yağlardan da üretilir. Kullanılmış yağlardan üretim, atık bir maddenin değerlendirilmesi anlamına geleceğinden daha ekonomiktir. Bu çalışmada ise yeni bir yaklaşım sunulmaktadır ve rafinasyon prosesinde kaybedilen ayçiçeği yağından biyodizel üretimi incelenmiştir.

Rafinasyon prosesinin ‘ağartma’ olarak bilinen işleminde, yağdaki istenmeyen renk verici bileşikler, asitle muamele edilmek suretiyle aktifleştirilmiş, adsorban özelliğe sahip bir kil (aktive ağartma toprağı, AAT) kullanılarak yağdan ayrılır. Ancak çok etkili bir adsorban olan AAT, önemli miktarlarda yağı da tutmaktadır. Bu çalışmada, ağartma işleminde bu şekilde kaybedilen yağın biyodizel üretiminde kullanılması hedeflenmektedir.

Çalışmada, yağın aktive ağartma toprağından ekstrakte edilmesinden sonra alkolizi ve reaksiyonun in situ gerçekleştirilmesi seçenekleri karşılaştırılmış, uygun bir lipaz enzimi seçilmiş ve çeşitli reaksiyon parametrelerinin reaksiyon hızına etkisi incelenmiştir.

2. TEORİK ÇALIŞMA

2.1. Ayçiçeği Bitkisi

Ayçiçeği, (*Helianthus annuus* L.) *compositae* familyasına ait, 67 çeşidi bilinen bir bitkidir. Çoğunlukla yıllık olarak yetiştirilen bir tarım bitkisidir. Uzun, düz bir sapı ile yağlı tohumlarını içeren parlak sarı bir baş kısmı vardır. Bitkinin tarımsal değeri baş kısmındaki yağlı tohumlardan ileri gelmektedir. Tüm ayçiçeği tohumunun ve kabuğundan ayrılmış çekirdeğin bileşimleri Tablo 2.1’de verilmiştir[1].

Ayçiçeği bitkisinin sapı uzun, dik ve 3-6 cm çapındadır. Ayçiçeği çok hızlı büyür; mevsimlik yetiştirilmesine rağmen sapının boyu 1 ila 3 metreye ulaşır. Bitkinin dalları ise tam aksine, oldukça küçüktür ve sapın üst kısımlarında bulunurlar. Yapraklar geniş-ovaldır, tırtıklı kenarlara sahiptir, koyu yeşil renktedirler ve asimetrik olarak dizilmişlerdir. Bitkinin baş kısmı, çoğu çeşidinde 20-30 cm çapındadır, ancak bazı çeşitlerinde daha büyük olabilir. Baş kısmının ortasında küçük, tübüler çiçekler, kenarlarında ise sarı, dil şekilli çiçekler bulunur. Yağlı tohumlar da baş kısmında bulunur. Ayçiçeği bitkisinin 3 metre derinliğe kadar inebilen kökleri, derine indikçe daraldığı ve büyük bir kısmı yüzeye yakın bulunduğu için toprağa güçlü bir şekilde tutunamaz[1].

Keskin bir baş kısmı ile geniş, yuvarlak bir dip kısmına sahip olan ayçiçeği çekirdeği, rengi beyazdan siyaha kadar çeşitli tonlarda olabilen bir kabuğa sahiptir. Siyah-beyaz çizgili veya kahverengi de olabilen bu kabuk, çekirdeğin toplam ağırlığının yaklaşık olarak dörtte birini oluşturur. Bazı melez türler istisna teşkil etse de, kabuğun renginin koyu olması yüksek bir yağ içeriğinin göstergesidir. Tohumun kabuğu selüloz, pentozan ve linyinden oluşur. Çekirdek bir çift kotilodondan oluşur. Çekirdeğin yağ içeriği %25-48 arasında değişir, ancak ıslah çalışmaları ile bu oran %65’e kadar çıkartılabilmektedir[1].

Türkiye’deki ayçiçeği üretimi, 1. Dünya Savaşı sonrası Trakya bölgesinde başlamıştır. Günümüzde Marmara Bölgesi’nin tamamında ve Ege ve Karadeniz bölgelerinde ayçiçeği tarımı yapılmaktadır. Ayçiçeği, Türkiye’de yetiştirilen en önemli yağ bitkilerinden birisidir[1].

Tablo 2.1: Ayçiçeği tohumu ve çekirdeğinin bileşimleri (% ağırlık olarak)[1]

Tüm Tohum		Çekirdek	
Yağ	: 50	Yağ	: 66
Protein	: 16	Protein	: 21
Selüloz	: 17	Selüloz	: 3
Kül	: 3	Kül	: 3
Azotsuz ekstrakt	: 11	Azotsuz ekstrakt	: 6

2.2. Ayçiçeği Yağı

Ayçiçeği yağı ayçiçeği tohumlarından presleme ve ekstraksiyon ile çıkartılır. Ham ayçiçeği yağı sarı renkliyen, rafine edilmiş ayçiçeği yağı çok açık veya solgun sarı renktedir[2]. Ilıman iklimde yetişen ayçiçeğinin yağı yüksek oranda (%55-60) linoleik ve daha düşük oranda (%25-30) oleik asit içerirken, daha sıcak iklimlerde yetiştirilen ayçiçeğinin yağında oleik asit miktarı %65 civarına yükselir ve linoleik asit miktarı %20 seviyesine düşer. Ayçiçeği yağının doymuş yağ asidi oranı %15'in altındadır. Bu sebeplerden ötürü ayçiçeği yağı oldukça iyi bir yemeklik yağdır. Ayçiçeği yağının yağ asidi bileşimi Tablo 2.2'de verilmiştir[1].

Ayçiçeği yağında düşük miktarda serbest yağ asidi, tokoferoller, steroller, pigment ve vaks bulunduğundan, ayçiçeği yağının rafinasyonu zor değildir. Ayçiçeği yağında bulunan tokoferoller çoğunlukla α -tokoferoldür ve antioksidan aktivitesinin yanı sıra önemli ölçüde E vitamini etkinliği sağlar, ancak tokoferol içeriğinin çoğu rafinasyon sırasında yağdan ayrılır[1,2]. Ayçiçeği yağı %0.275-2.436 oranında sterol içerir ve vaks içeriği toplan lipid içeriğinin %1'den daha düşük bir bölümünü oluşturur. Vaks içeriğinin büyük çoğunluğu tohumun kabuğunda bulunduğundan kabuk giderme işlemi sonucunda vaks içeriği de giderilmiş olur[1]. Ayçiçeği yağı ayrıca oksipolimer derişimini artıran ve lezzeti olumsuz etkileyen demir türevleri içerir[2].

Tablo 2.2: Ayçiçeği yağının yağ asidi bileşimi[1]

Yağ Asitleri	% Ağırlık
C16:0, Palmitik	5.7-6.9
C18:0, Stearik	3.0-6.3
C18:1, Oleik	14.0-34.4
C18:2, Linoleik	55.5-73.2
C18:3, Linolenik	<0.1
C20:0, Araşidik	0.2-0.3
C20:1, Gadoleik	0.1-0.2
C22:0, Beherik	0.6-0.9
C22:1, Erusik	0.0-0.15
C24:0, Lignoserik	0.2-0.3

Ayçiçeği yağı, linoleik asit içeriği ve yüksek doymamış yağ oranı nedeniyle beslenme açısından çok önemlidir. Ayrıca E vitamini aktivitesi gösterir ve A, D, K vitaminlerini içerir. Yemeklik yağ olarak kullanımının yanı sıra mayonez, salata sosu ve margarin üretiminde de kullanılmaktadır. Gıda uygulamaları dışında, sabun, boya, pomat ve eczacılık amaçlı lesitin üretiminde de hammadde olarak ayçiçeği yağı kullanılmaktadır[1].

2.3. Bitkisel Yağların Eldesi ve Rafinasyonu

Bitkisel yağların, bulundukları tohumlardan presleme gibi mekanik veya ekstraksiyon gibi fiziksel işlem yöntemleri kullanılarak çıkartılmaları gerekmektedir. Bitkisel yağların içerisinde çeşitli istenmeyen bileşikler bulunduğundan, bu mekanik veya fiziksel işlemlerin ardından yağın rafine edilmesi gerekmektedir.

Ayçiçeği tohumundan yağın eldesi, kabuk ayrılması ve ekstraksiyon aşamalarından oluşur. Kabuk ayırma, tohumların, dönen bir plaka ile tohum ayırma odacığının duvarlarına çarpılması yoluyla gerçekleştirilir. Ekstraksiyon üç şekilde gerçekleştirilebilir; çekirdekleri kırarak ve presleyerek (mekanik ekstraksiyon), organik bir çözücü kullanılarak (fiziksel ekstraksiyon) veya kırma ve presleme işlemi birden çok etapta gerçekleştirilirken organik çözücü de kullanılarak (önpresleme-çözücü ekstraksiyonu). Bu yöntemler içinde en yaygın olarak kullanılanı, önpresleme-çözücü ekstraksiyonu yöntemidir[2].

Rafinasyon, her biri farklı bileşikleri yağdan ayıran bir dizi işlem den oluşmaktadır. Ancak rafinasyon sırasında yağın da bir bölümü tutulmaktadır. Ayçiçeği yağının rafinasyonu, sırasıyla reçine giderme, nötralizasyon, ağartma, deodorizasyon ve vinterezasyon aşamalarından oluşur.

2.3.1. Reçine Giderme

Reçine giderme işleminde, yağ içerisinde bulunan reçinemsı maddelerden olan hidrofilik fosfatidler, yağ fosforik asit veya fosfat tuzu ve %1-2 oranında su ile muamele edilerek giderilir. Bu işlem fosfatidik bağların kopmasını sağlar ve hidrate olan fosfatidler santifüjlenerek ayrılır. Reçine giderme, daha sonraki rafinasyon işlemlerindeki yağ kaybını azalttığı için ilk olarak yapılır[2]. Literatürde ham soya yağı kullanılarak yapılan enzimatik metanoliz reaksiyonlarının yürümediği, ancak reçine giderme işleminden geçmiş yağ kullanıldığında yürüdüğü bildirilmiş ve bu durum fosfatidlerin lipaz enzimlerini inhibe etmesine bağlanmıştır[3].

2.3.2. Nötralizasyon

Rafinasyonun bu aşamasının amacı, yağda bulunan serbest yağ asitlerinin nötralize edilmesidir, ancak nötralizasyon, reçine giderme işleminden arta kalan fosfatidler ile pigmentler ve az miktarda bulunan diğer bileşiklerin giderilmesini de sağlar. Nötralizasyon, yağ sodyum hidroksit ile muamele edilerek yapılır. Karışım emülsiyonu kırmak için önce ısıtılır ve daha sonra oluşan tuz ve sabunlar ile kalan sodyum hidroksitleri ayırmak için santrifüjlenir. Santrifüj işleminden sonra yağ fazında kalan sabun ve sodyum hidroksit ise su ile yıkanarak giderilir[2].

2.3.3. Ağartma

Ağartma, yağda bulunan klorofil, karotenoidler ve pigmentler gibi istenmeyen renk veren diğer bileşikler gidererek yağa istenen rengi vermeye yönelik bir işlemdir. Ayçiçeği yağı klorofil içermediğinden ve içerdiği karotenoid ve zantofil miktarı oldukça düşük olduğundan çok güçlü bir ağartma işlemine ihtiyaç duymaz. Bu bileşikler asitle aktive edilmiş ağartma toprağı kullanılarak yağdan ayrılır[2]. Ağartma işlemi, aşağıda daha detaylı olarak incelenmiştir.

2.3.4. Deodorizasyon

Deodorizasyon işleminde, bazı sabunlaşmayan maddeler, serbest yağ asitleri ve steroller gibi uçucu maddeler giderilir. Bu sayede yağın hem tadı hem de rengi iyileştirilir. Daha önceki rafinasyon aşamalarında oluşmuş olabilecek peroksitler de deodorizasyon sırasında bozunurlar. Deodorizasyon, yaklaşık 270 °C’de yağın içine vakum altında istim enjekte edilerek gerçekleştirilir[2].

2.3.5. Vinterizasyon

Bitkisel yağlar, az miktarda, düşük sıcaklıklarda kristalize olan bileşikler (Çoğunlukla doymuş triaçilgliseroller ve vakslar) içerir. Bu oluşumların sağlığa herhangi bir etkisi olmasa da yağa istenmeyen bir görünüm verir. Bu görünümü önlemek için, vinterizasyon adı verilen bir işlemle bu bileşikler giderilir. Vinterizasyon, yağ 6 saat boyunca 5-10 °C’de tutularak bu bileşiklerin kristalizasyonunun sağlanması ve sonra da 15 °C’de yağ filtre edilerek bu kristallerin giderilmesiyle gerçekleştirilir. Filtreleme işlemi, yüksek viskoziteye bağlı sorunlarının yaşanmaması için 15 °C’de yapılır[4]. Vinterize yağın, 0 °C’de en az 5 saat berrak kalması beklenir. Bitkisel yağların bu sıcaklıkta 7 günden uzun süre berraklığını korumasını sağlayan vinterizasyon çalışmaları yapılmıştır[2]. Bitkisel yağın biyodizel olarak kullanımında da soğukta akış sorunları bildirilmiş ve çözüm olarak vinterizasyon önerilmiştir[2].

2.4. Ağartma İşlemi

Ağartma işlemi, önemli bir rafinasyon kaybına sebep olur. Bu durum, ağartmanın aslen bir adsorpsiyon işlemi olmasından ileri gelmektedir. Bu çalışmanın amacı

ağartma sırasında kaybedilen yağın, atık ağartma toprağından biyodizel elde edilerek değerlendirilmesidir. Bu nedenle, ağartma işlemi bu bölümde daha detaylı olarak incelenmiştir.

2.4.1. Ağartma ile Yağdan Ayrılan Bileşikler

2.4.1.1. Oksidasyon Ürünleri

Bitkisel yağların otooksidasyon yoluyla veya yağda bulunan lipooksijenaz enzimleri aracılığıyla enzimatik olarak okside olması sonucu hidroperoksitler oluşur. Hidroperoksitler de bozunarak ikincil oksidasyon ürünlerine (hidroksi-, keto-, epoksi- bileşikleri) dönüşür. İkincil oksidasyon ürünleri, polariteleri sayesinde, asidik özelliğe sahip olan aktive ağartma toprağı (AAT) ile kolayca yağdan ayrılır. Bunun yanında, tokoferoller ve hidrokarbonlar gibi başka bileşikler de giderilmeleri gerekecek derecede okside olabilirler. Ağartma toprağı, asidik ve katalitik karakteri sayesinde bazı oksidasyon ürünlerinin de bozunarak uçucu bileşiklere dönüşmesini sağlayabilir. Bu uçucu bileşikler, deodorizasyon işlemi sırasında yağdan ayrılır[5].

2.4.1.2. Renk Verici Bileşikler

Renk verici bileşikler, ağırlıklı olarak klorofil ve karotenoidlerdir. Bu bileşiklerin okside olmaları veya okside olmuş trigliseridlerle reaksiyona girmeleri halinde, pek iyi tanımlanamamış bileşikler ortaya çıkar. Bitkisel yağlarda rastlanabilen kirli kahverengi rengin sebebi bu bileşiklerdir[5].

2.4.1.3. Fosfolipid ve Glikolipidler

Ayçiçeğı yağı, fosfolipid açısından zengin bir yağdır. Ayçiçeğı yağında bulunan fosfolipid ve glikolipidlerin büyük bir bölümü gam giderme aşamasında yağdan ayrılır, geri kalan fosfolipid ve glikolipidlerin bir kısmı da nötralizasyon işleminde bozunur ve yıkama aşamasında giderilir. Arta kalan fosfolipid veya glikolipid varsa, ağartma sırasında yağdan ayrılır[5].

2.4.1.4. Metal İzleri

Nötralizasyon esnasında fosfolipidlerin kısmi hidrolizi sonucu kalsiyum ve magnezyum sabunları oluşur. Ek olarak, proses ekipmanından yağa demir ve bakır bulaşabilir. Kurşun ve kadmiyum da bitkisel yağlara sıklıkla bulaşabilen metallerdir.

Bitkisel yağların stabilitesini olumsuz etkiledikleri için bu metal izlerinin deodorizasyondan önce giderilmesi gerekmektedir[5].

2.4.1.5. Sabunlar

Nötralizasyondan ağartmaya eser miktarda sodyum sabunu geçebilir. Bunun yanında nötralizasyon esnasında kalsiyum ve magnezyum sabunları da oluşur. Bu sabunların suda çözünürlüğü düşük olduğundan yıkama sırasında giderilemezler ve yağdan ağartma işlemi esnasında ayrılırlar[5].

2.4.1.6. Kontaminantlar

Bitkisel yağlara çevre yoluyla bazı istenmeyen bileşikler bulaşabilir. Bunlar arasında en önemlileri zirai pestisidler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlardır (PAH). PAHlar madeni yağlar ve flu gazlarında bulunur ve bitkisel yağlara tohumların kurutulmasında flu gazlarının kullanımı yoluyla veya çevre yoluyla bulaşabilirler[5].

2.4.2. Ağartmada Kullanılan Adsorbanlar

2.4.2.1. Aktif Karbon

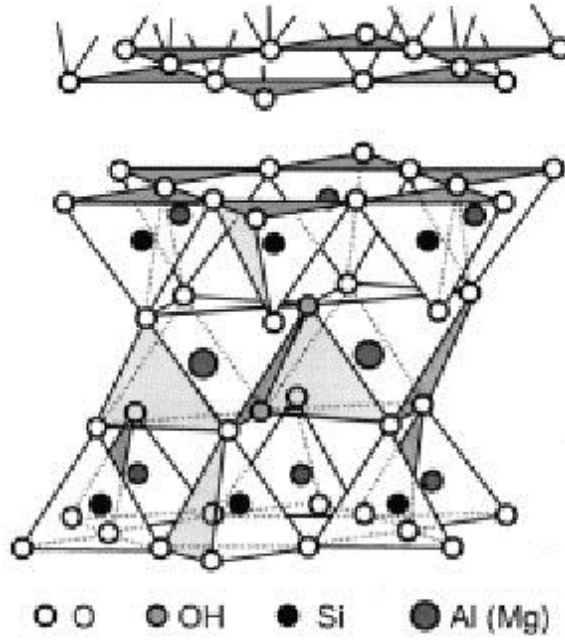
Aktif karbon, kok, talaş gibi çeşitli karbon içeren kaynaklardan üretilebilen bir adsorbandır. Adsorpsiyon özelliklerini artıran aktivasyon işlemi iki yolla yapılabilir: Kimyasal aktivasyon veya gaz ile aktivasyon. Kimyasal aktivasyon için çeşitli kimyasallar kullanılabilir ve işlem 400-800 °C arasında değişen sıcaklıklarda gerçekleştirilir. Gaz ile aktivasyon ise 800-1000 °C arasında yapılır ve istim ile karbon dioksit kullanılır. Bitkisel yağın ağartılması amacıyla kullanılan aktif karbon, gaz ile aktivasyon uygulanarak elde edilir ve AAT ile karıştırılarak kullanılır[5].

2.4.2.2. Doğal Aktif Killer

Doğal aktif killer, bentonit, paligorskit, hektorit, sepyolit gibi minerallerdir. Karakteristik olarak katmanlı bir yapıya ve yüksek bir yüzey alanına sahiptirler. Sadece öğütülme gibi fiziksel işlemlerden geçerek ağartma ajanı olarak kullanılabilirler[5]

Şekil 2.1’de montmorillonitin yapısı görülmektedir. Montmorillonit bentonitin ana bileşenini oluşturan, tipik bir aktif kildir. Montmorillonitin üç katmanlı bir yapısı vardır. Ortadaki katman oktahedral şekilde oksijen iyonlarıyla sarılı bulunan

alüminyum iyonlarından oluşur. Alüminyum iyonlarının yerine kalsiyum, demir, magnezyum gibi başka iyonlar da geçebilir. Bu katmanın altındaki ve üstündeki katmanlar aynı yapıya sahiptir ve silisyum iyonları ile onları tetrahedral olarak çevreleyen oksijen iyonlarından oluşurlar. Silisyum iyonları alüminyum katmanına, alüminyum iyonlarını çevreleyen oksijen iyonları ile etkileşimleri sayesinde bağlanır. Bu üç katmanlı yapı, biri diğerinin üstüne binecek şekilde yaklaşık 15 kez tekrar ederek bir montmorillonit kristalini oluşturur[5].



Şekil 2.1: Montmorillonitin yapısı[5]

2.4.2.3. Aktif Killer

Doğal aktif killer, adsorban özelliklerinin daha da artması için asit kullanılarak aktive edilirler. Montmorillonitin asit aktivasyonu, kil asit ile muamele edilerek gerçekleştirilir. Bu işlem sırasında orta katmandaki alüminyum iyonunun yerine asidin sağladığı hidrojen iyonları geçer ve alüminyum iyonları serbest kalır. Bu reaksiyon sırasında ortadaki oktahedral katman değişirken tetrahedral katmanların korunması, üç katmanlı yapıda bozulmalara neden olur ve yüzey alanı artar[5].

Doğal aktif killeri aktive edilmiş hallerinden ayırt etmenin bir yolu, asiditelerini karşılaştırmaktır. Doğal aktif killer nötr veya zayıf bir şekilde asidikken, aktive edilmiş killer daha asidiktir. Doğal killerde de asidite gözlenebilmesinin nedeni, aktivasyon sırasında gerçekleşen iyon değişimi olayının doğada da çok yavaş olarak

meydana gelebilmesidir. Ancak aradaki en önemli fark, yüzey alanlarıdır. Doğal montmorillonitin yüzey alanı 40-160 m²/g iken, aktivasyon sonucunda bu değer 150-350 m²/g'ye ulaşır[5].

Asit aktivasyonunun aktif killere sağladığı özellikler aşağıdaki gibi özetlenebilir[5]:

- Katı bir asit ve katalizör olma. Bu özellik sayesinde aktive ağartma toprağı istenen veya istenmeyen bazı kimyasal reaksiyonları da katalizler. Bunların en önemlisi hidroperoksitlerin bozunmasıdır.
- Adsorbanlık. Aktive edilmiş killerin kullanılmasının asıl nedeni bu özellikleridir. Kilin adsorbansı, aktivasyonun derecesi arttıkça artar. Aktive edilmiş killer, katyonik ve polar maddeleri adsorbe eder. Bunlar arasında renk verici bileşiklerin büyük bir kısmı da bulunur.
- İyon değiştirici olma. Aktif killerin asitle aktive edilme prensibi de iyon değişimidir. Doğal aktif killer, asitle aktivasyon sırasında iyon değiştirici özelliklerini kısmen kaybederler. Doğal aktif killerin iyon değiştirme kapasiteleri 80-100 meq/100 g civarındadır. Bu değer, aktivasyon sonrasında 30-60 meq/100 g'ye düşer.

2.4.3. Ağartılmış Yağın ve Kullanılmış Ağartma Toprağının Depolanması ve Taşınması

Ağartılmış yağlar oksidasyona karşı duyarlı olduklarından, ağartmayı takiben 24 saat içinde deodorize edilmelidirler. Ağartma ve ağartma ürünlerinin saklanması, ağartılmış yağın otooksidatif özelliğı nedeniyle rafinasyon prosesinin yangın riski taşıyan işlemleridir. Bu nedenle ağartılmış yağın taşınması ve depolanması dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Yağın depolama tanklarına basılmasından önce ve sonra boruların temizlenmesi için hava veya istem değil, azot kullanılması önerilmektedir. Depolama işleminin paslanmaz çelik tanklarda ve azot atmosferinde yapılması tavsiye edilmektedir[5].

Oksijenle temas halinde kullanılmış ağartma toprağı kendi kendine tutuşabileceğinden, taşınma sırasında azot örtüsü uygulanması önerilmektedir. Önerilen bir diğer yöntem de kullanılmış ağartma toprağının üzerine su püskürtülmesidir. Su hem ağartma toprağını soğutacak, hem de bu sırada buharlaşarak toprağın üzerine inert bir ortam sağlayacaktır. Kullanılmış ağartma

toprağının güneşe maruz bırakılmaması ve kapalı metal konteynerler ile taşınması önerilmektedir[5].

2.4.4. Atık Aktive Ağartma Toprağının Kullanıldığı Uygulamalar

Ağartma işleminde kullanılan ağartma toprağı, önemli oranda bitkisel yağ tutmaktadır. Tutulan yağın miktarı ağartma toprağının “yağ tutuşu” olarak adlandırılır ve (2.1) denklemiyle hesaplanır[5]:

$$\text{Yağ tutuşu (\%)} = \frac{W_{\text{filtre keki}} - (W_{\text{AT}} + W_{\text{H}_2\text{O}})}{W_{\text{filtre keki}}} \times 100 \quad (2.1)$$

Denklemde W gram cinsinden ağırlığı, AT ise saf ağartma toprağını ifade eder. Yağ tutuşu genellikle %40 civarındadır, ancak filtrelerden istim veya azot geçirilerek %20-30 seviyesine çekilebilir. Ağartma işlemlerinin çoğunluğunda yağ tutuşu değeri %25-45 arasındadır[5].

Aktif ağartma toprağında tutulan yağ, çeşitli şekillerde değerlendirilmektedir. Bazen yağla birlikte kilin kendisi de kullanılmaktadır.

2.4.4.1. Yağın Geri Kazanımı

Ağartma toprağında tutulan yağın değerlendirilmesi için bir seçenek, ekstraksiyon uygulanarak kısmen rafine edilmiş yağın geri kazanımıdır. Bu amaçla organik çözücülerin ve süperkritik karbon dioksidin kullanıldığı ekstraksiyon yöntemleri uygulanabilir[5]. Bu yolla kazanılan yağ prosese geri beslenerek rafinasyon kaybı azaltılabilir veya yağ düşük kaliteli bir hammadde olarak kullanılabilir.

2.4.4.2. Hayvan Yemi

Literatürde, kullanılmış aktive ağartma toprağının direkt olarak hayvan yemine katkı maddesi olarak kullanılabildiği, tavuk, sığır ve domuz yemlerine %3’e varan oranlarda kullanılmış ağartma toprağı katıldığında A vitamini ya da mineral kaybı gözlenmediği, nikel içeren kullanılmış ağartma toprağı bu amaçla kullanılmaması gerektiği açıklanmaktadır[5]. Ancak, bu sanayi atığının hayvan yemi olarak kullanılması günümüzde yasaklanmıştır.

2.4.4.3. Biyogaz Üretimi

Kullanılmış ağartma toprağı, kilin yüzeyindeki ince yağ dağılımı nedeniyle biyogaz santralleri için uygun bir hammaddedir. Atık ağartma toprağı yağı kullanıldığında hızlı bir bozunma ve yüksek bir dönüşüm elde edilebilmektedir. Ancak nikel içeren kullanılmış ağartma toprağının bu amaçla kullanılması sakıncalıdır. Nikel, 10 mg/kg'ye varan derişimlerde bile biyogaza dönüşümü etkilemese de, biyogaz prosesinden çıkan çamur daha sonra tarlalara dağıtılmaktadır. Buradan da kullanılmış ağartma toprağında bulunan nikelin hayvanlara ve bitkilere geçmesi tehlikesi vardır[5].

2.4.4.4. Çimento ve Tuğla Sanayi

Organizmalara geçebilecek nikel içeriğı bulunan kullanılmış ağartma toprağının kullanılabilceğı az sayıdaki alandan biri çimento ve tuğla üretimidir. Kullanılmış ağartma toprağı çimento veya tuğla sanayinde kullanıldığında, kil hammadde görevi görürken yağ içeriğı enerji kaynağı olarak değerlendirilmiş olur. Bu yolla, toprağın yağ içeriğine bağılı olarak, 10-14 MJ/kg enerji elde edilebilir[5].

2.4.4.5. Toprak Islahı ve Kompostlaştırma

Kullanılmış ağartma toprağında kil dışındaki tüm maddeler tamamen biyolojik olarak bozunabilir olduğundan, nikel içermediğı sürece toprak ıslahı, kompost veya gübre uygulamaları için oldukça uygundur. Kayda değer miktarda fosfat içeren kullanılmış ağartma toprağının bu amaçla kullanımı özellikle avantajlıdır[5].

2.4.4.6. Ağartma Toprağının Rejenerasyonu

Aktif ağartma toprağının tekrar kullanım amacıyla rejenerasyonu mümkündür. Rejenerasyon öncesinde yağın ekstrakte edildiğı sistemlerin yanı sıra, kullanılmış ağartma toprağının doğrudan kullanıldığı rejenerasyon prosesleri de geliştirilmiştir. Ancak bazı koşullar mevcut olduğunda rejenerasyon pratik olmaktan çıkmaktadır. Ağartma toprağı aynı zamanda filtre yardımcı maddeleri, aktif karbon, fosforlu bileşikler veya alkali içerdiği takdirde, etkili bir rejenerasyon mümkün değildir[5].

2.5. Bitkisel Yağların Esterlerinin Uygulamaları

Bitkisel yağların esterleri oldukça çeşitlidir, birbirlerinden farklı özelliklere sahiptir ve çeşitli uygulama alanlarına sahiptir.

2.5.1. Anyonik Yüzey Aktif Maddeler

Bitkisel yağlardan elde edilen esterler doğrudan yüzey aktif madde olarak kullanılmaz. Bitkisel ve hayvansal yağların metil esterlerinin sülfolanmasıyla elde edilen metil ester sülfonatlar ise anyonik yüzey aktif madde olarak kullanılabilir. Esterlerin sülfolanması diğer bileşiklerinkine göre daha zordur ve bu proses ancak yakın bir zamanda ticari hale gelmiştir ancak metil ester sülfonatlar sabun olmayan yağ türevi yüzey aktif maddelerin en ucuzları arasında yer almaktadır. Metil ester sülfonatların ucuz olmasının sebebi, diğer proseslerde bulunan yüksek sıcaklık ve basınçta gerçekleşen işlemlerin metil ester sülfonat prosesinde bulunmamasıdır[6].

2.5.2. Yağlayıcılar

Bitkisel yağlardan elde edilen yağlayıcıların madeni yağlara karşı biyolojik olarak bozunabilme, gerek çevre gerekse çalışanlar için daha az toksik olma, yenilenebilirlik, kirliliğe yol açmama ve atmosferdeki net CO₂ miktarını arttırmama gibi avantajları vardır. Bunun bir sonucu olarak otomobil motorları ve jet türbinlerinde, kompresörlerde ve hidrolik sistemlerinde yağlayıcı olarak bitkisel yağların metil esterleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu esterler ayrıca gıda sanayinde kullanılan proses ekipmanlarında da madeni yağların gıda maddeleriyle teması istenmediği için kullanılmaktadır. ABD Çevre Koruma Bakanlığı'nın da gıda üretimi proseslerinde madeni yağ kullanımını kısıtlayan düzenlemeleri mevcuttur[7].

2.5.3. Isı Aktarım Ortamı

Bitkisel yağların esterleri, soğutma sistemlerinde klorlu florlu hidrokarbonlara (CFC) alternatif ısı aktarım akışkanları olarak ve metal tavlama proseslerinde hızlı soğutma yağları olarak kullanılmaktadır. CFCler ozon tabakasına zarar verdiğinden esterlerin soğutma sistemlerinde kullanılması avantajlıdır. Metal tavlama proseslerinde ise işçi sağlığı konusundaki sorunlar madeni yağ yerine bitkisel yağ esterleri kullanılarak azaltılabilmektedir[7].

2.5.4. Biyodizel

Artan fosil yakıt fiyatları biyodizelin maliyet dezavantajını ortadan kaldırmaya başladığı için biyodizel ABD ve Avrupa pazarlarında daha çok kabul görmeye başlamıştır[8,9].

Biyodizel, dizel motorlarda kullanılması hedeflenen biyolojik kökenli tüm yakıtları kapsayan bir terimdir. Klasik dizel yakıtla karıştırılarak veya viskozite düşürücü katkı maddeleriyle akış özellikleri iyileştirilerek motora beslendikleri durumlarda bitkisel yağların kendileri de biyodizel sayılabilirler. Bitkisel yağların piroliz ürünlerinin bir kısmı ve yağ asitleri alkil esterleri de diğer biyodizel türlerini oluşturur. Bu biyodizel türleri arasında en yaygın olarak kullanılanı yağ asitleri alkil esterlerdir[10].

2.5.4.1. Biyodizelin Enerji İçeriği

Bitkisel yağların metil esterlerinin enerji içeriği No 2 dizel yakıtı göre düşüktür ama aradaki fark fazla değildir. Ayçiçeği yağının hacimsel ısı değeri dizel yakıttan %5,6 daha az olarak bildirilmiştir. Bu dezavantaj biraz daha yüksek setan sayısı ile dengelense de bazı bitkisel yağ esterlerinin setan sayıları da No 2 dizelinkinden düşüktür. Yemeklik yağ olarak kullanılmış yağın alkolizi ile üretilmiş biyodizelin, klasik dizele göre daha yüksek ısı değeri ve setan sayısı olduğu görülmüştür. Biyodizeller, genel olarak klasik dizele göre yüksek yoğunluğa sahiptir. Tablo 2.3’de bazı bitkisel yağların metil esterlerinin klasik dizelle karşılaştırılması yapılmıştır[11].

2.5.4.2. Biyodizelin Emisyon Özellikleri

Biyodizellerin emisyon özellikleri genel olarak olumludur. Biyodizellerin en büyük avantajı, atmosferdeki net CO₂ miktarını artırmamalarıdır. Bu durum, biyodizelerde bulunan karbonun atmosferdeki CO₂’yi kullanan bitkilerden gelmesinden kaynaklanır[12]. Biyodizeller kükürt içermediklerinden kükürt emisyonları yoktur. Klasik dizele göre yanma gazlarının partikül, halojen, CO ve hidrokarbon emisyonu da daha düşüktür[13,14]. Ancak, biyodizellerin NO_x ve aldehit emisyonları klasik dizellerinkinden yüksektir[15].

Tablo 2.3: Çeşitli bitkisel yağ metil esterlerinin yakıt özelliklerinin No 2 dizel yakıtla karşılaştırılması[11]

Bitkisel yağ metil esterleri	Kinematik viskozite (mm ² /s)	Setan sayısı	Alt ısı değeri (MJ/L)	Parlama noktası (°C)	Yoğunluk (g/L)
Yer fıstığı	4.9 (37.8 °C)	54	33.6	176	0.883
Soya	4.0 (40 °C)	45.7-56	32.7	-	0.885 (15 °C)
Palm	5.7 (37.8 °C)	62	33.5	164	0.880
Ayçiçeği	4.6 (37.8 °C)	49	33.5	183	0.860
Kolza	4.2 (40 °C)	51-59.7	32.8	-	0.882
Kullanılmış kolza	9.48 (30 °C)	53	36.7	192	0.895
Kullanılmış mısır	6.23 (30 °C)	63.9	42.3	166	0.884
Dizel yakıt	12-3.5 (40 °C)	51	35.5	-	0.830-0.840

2.5.4.3. Motor Aşınması

Dizel motorlar, bazı contalar dışında herhangi modifikasyona gerek duyulmadan bitkisel yağla veya esterleriyle çalıştırılabilir. Ancak, bitkisel yağların doğrudan kullanımının çeşitli motor sorunlarına yol açtığı da bilinmektedir[9,14]. Esterleşme bu sorunları ortadan kaldırmaktadır. Biyodizelin motorda klasik dizelden daha fazla aşınmaya sebep olmaması gerekmektedir. Motordaki aşınmanın önemli bir ölçüsü, aşınma yara çapıdır (AYÇ). Düşük AYÇ değerleri yakıtın yağlama özelliğinin iyi olduğunu ve motorda az aşınmaya yol açtığını gösterir[15]. Klasik biyodizelle karşılaştırıldığında biyodizelin AYÇ değerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu görülmüştür. Klasik dizele biyodizel karıştırılarak da AYÇ değeri düşürülebilmektedir[15]. Biyodizel ile şehir içi otobüs filolarıyla yapılan denemeler gibi büyük ölçekli testlerde de motor sorunlarına rastlanmamış ve biyodizelin No 2 dizel yakıtı göre %2-5 civarında bir yakıt ekonomisi avantajı sağladığı saptanmıştır[14].

2.5.4.4. Dünyada Biyodizel Kullanımı

Klasik dizele göre daha pahalı olan biyodizel ilk zamanlarda kabul görmemişse de geçtiğimiz yıllarda biyodizel tüketimi artmıştır ve ileriki yıllarda da biyodizel tüketiminde bir artış beklenmektedir[8]. Biyodizel kullanımını ticari hale getirmek için çeşitli denemeler yapılmıştır. Bu denemelerin önemli bir bölümü şehir içi toplu taşıma filolarında gerçekleştirilmiştir[9,14]. Biyodizel, çeşitli ülkelerde farklı nedenler ve farklı politikalar aracılığıyla kabul görmüştür. Avrupa Birliği'nin 1992 yılına ait bir kararı, gıda dışı amaçlar için yapılan zirai faaliyetlere önemli teşvikler sağlamıştır. Yakın zamanda AB ülkelerinde biyodizele %90'lık bir vergi muafiyetinin de tanınmasıyla AB biyodizel sektöründe bir patlama yaşanmıştır. Şu anda AB'deki yıllık biyodizel üretimi 1.1 milyon tondur. Bu üretimin büyük bir kısmı esterleşme reaksiyonları ile gerçekleştirilmektedir[16]. Japonya ise atık bitkisel yağları değerlendirme politikası doğrultusunda Tokyo bölgesinde toplanan atık bitkisel yağları biyodizele dönüştürecek bir tesis kurma kararı almıştır. Planlanan tesis kapasitesi 0.2 Mt/yıl'dır[16]. ABD'nin biyodizele geçmesinin en önemli sebepleri hava kirliliğiyle mücadele ve enerji üretiminde dışa bağımlılığın azaltılmasının arzulanmasıdır. ABD'nin şu anki hedefi, motor yakıtlarının %30'unun petrol türevi olmayan alternatiflerle çalışmasını sağlamaktır. ABD'de de klasik dizelden biyodizele geçişin öncülüğünü toplu taşıma otobüsleri yapmaktadır[16]. Kanada'da ise biyodizel üretimi ekonomik değildir, çünkü biyodizel konusunda en önemli potansiyele sahip olan bitkileri kanola, gıda sanayinde daha yüksek bir değere sahiptir ve önemli bir ihraç maddesidir. Yine de soğuk ya da işleme sırasında aşırı ısıtılma gibi sebeplerden kullanılamaz duruma gelen kanolanın biyodizel olarak değerlendirilmesi gündemdedir[16].

2.6. Biyodizel Üretim Yöntemleri

Bitkisel yağlar doğrudan doğruya dizel yakıtı olarak kullanılamamaktadır. Enjektörlerde tıkanma, yağlama yağının bozulması, pistonda birikinti oluşumu gibi motor sorunlarının yanı sıra, bitkisel yağların yüksek viskoziteleri de etkili bir enjeksiyon ve yanma olmasını güçleştirmektedir. Bu nedenle bitkisel yağlar daha az viskoz ve motor sorunlarına yol açmayacak bir şekle sokulmak zorundadır[14]. Biyolojik kökenli dizel yakıtının üretimi için mevcut dört yöntem vardır; klasik dizele karıştırma, piroliz (termal kraking), mikroemülsiyonlar ve esterleştirme. Bu

yöntemler arasında en çok tercih edileni, biyodizel olarak bilinen yağ asidi esterlerinin oluşturulduğu esterleştirme yöntemidir.

2.6.1. Karıştırma

Bu yöntemde bitkisel yağ kimyasal bir dönüşüm uygulanmaz. Bitkisel yağ doğrudan klasik dizelle karıştırılır. Motorda herhangi bir modifikasyon veya ayarlama yapılmadan gerçekleştirilebilen bu uygulama yakıt maliyetini düşürdüğü gibi yakıtı kısmen de olsa yenilenebilir kılmaktadır. Ancak bitkisel yağın katılması yakıtı klasik dizelden daha viskoz kılar ve yakıtın uçuculuğunu düşürür. Dahası, uzun vadede yağlama yağının koyulaşması, karbon birikimi, yakıt polimerizasyonu ve enjektör tıkanması gibi sorunlar ortaya çıkabilir. Bu sorunlara rağmen, %10'a varan oranlarda bitkisel yağ katkısı yapılmış dizel yakıtlar ile başarılı uygulamalar gerçekleştirilmiştir[9].

2.6.2. Piroliz

Piroliz ya da termal kraking, yani moleküllerin oksijensiz ortamda ısıtılma yoluyla parçalanması, alternatif dizel yakıtı eldesi amacıyla bitkisel yağlara uygulanmıştır. Bitkisel yağlar, petrolün krakinginde kullanılan katalizörlerle pirolize tabi tutulabilmekte ve piroliz ürünlerinin ayrılması ile alternatif dizel yakıtı elde edilebilmektedir. Bu esnada bir diğer piroliz ürünü olarak biyobenzin de elde edilebilir. Pirolizle üretilen alternatif dizel yakıtının kimyasal bileşimi klasik dizel yakıtına yakındır ama proses ekipmanı pahalıdır ve alternatif dizel verimi biyobenzin verimi kadar yüksek değildir[9].

2.6.3. Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyonlar, stabil bir emülsiyon halinde bitkisel yağ içinde dağılmış bulunan su ve alkol miselleridir. Mikroemülsiyon oluşturulmasında amaç, viskozitenin düşürülmesidir. Metanol, 1-bütanol, 2-bütanol veya 2-oktanol gibi alkoller bu amaçla kullanılmaktadır[11].

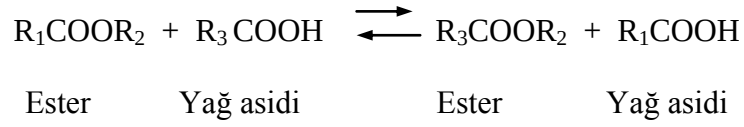
2.6.4. İç Esterleşme Reaksiyonları

İnteresterifikasyon reaksiyonları olarak da bilinen iç esterleşme reaksiyonları, esterlerin asitler, alkoller veya başka esterlerle reaksiyona girmek suretiyle başka esterlere dönüştüğü bir kimyasal reaksiyon sınıfıdır. Bu yolla üretilen dizel yakıtına

biyodizel denilmektedir. Biyolojik kökenli dizel yakıtı üretiminde en yaygın kabul görmüş olan iç esterleşme yöntemi alkoliz olarak da isimlendirilen transesterifikasyondur. Bu çalışmada da alkoliz yoluyla biyodizel sentezi gerçekleştirilmiştir[17].

2.6.4.1. Asidoliz

Asidoliz reaksiyonlarında bir ester bir asit ile reaksiyona girer ve yeni bir ester ile yeni bir asit meydana gelir. Bitkisel yağ uygulamalarında yağ asitlerinin bir esterle reaksiyona girerek yeni bir yağ asidine dönüştürülmesi mümkündür. Bu durumda reaksiyon aşağıdaki gibi gerçekleşir:

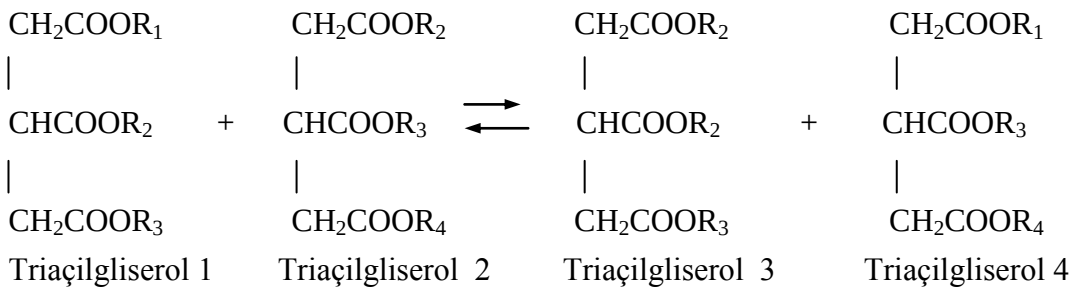


Şekil 2.2: Asidoliz reaksiyonunun denklemi

Bu reaksiyonlar yüksek sıcaklık ve asit katalizöre ihtiyaç duyarlar[17]. Triglicerid molekülleri de ester olarak düşünülebilir. Trigliceridlerin farklı yağ asitleriyle reaksiyona sokularak farklı trigliceridlere dönüştürülmesi de mümkündür.

2.6.4.2. Transesterifikasyon (Ester değişimi)

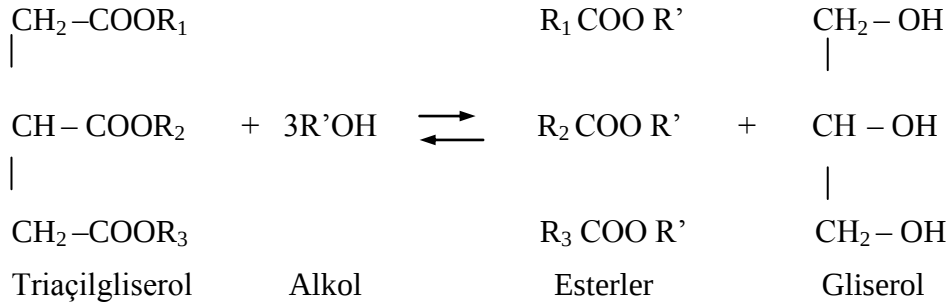
Transesterifikasyon, esterlerin alkil gruplarını değiş tokuş ederek farklı iki estere dönüştüğü reaksiyondur. Ancak bu terim literatürde sıklıkla alkoliz teriminin eşanlamlısı olarak kullanılmaktadır. Triaçilgliseroller arasındaki transesterifikasyon reaksiyonunda bir, iki veya üç açıl grubu yer değiştirebilir[17].



Şekil 2.3: Transesterifikasyon reaksiyonunun denklemi

2.6.4.3. Alkoliz

Bir ester ile bir alkol arasında gerçekleşen ve yeni bir esterin oluşumuna yol açan reaksiyonlara alkoliz reaksiyonları denir. Ester ile alkolün alkoksil grupları alkoliz reaksiyonu esnasında yer değiştirir. Bitkisel yağların alkolizinde, üç molekül alkol tek bir TAG molekülü ile reaksiyona girerek üç ester molekülü ve bir gliserol molekülü verir. Reaksiyon aşağıdaki gibi özetlenebilir[10].



Şekil 2.4: Alkoliz reaksiyonunun denklemi

Genellikle alkoliz reaksiyonlarının hızlı yürümesi için alkol fazlası ve çeşitli katalizörler kullanılır. Katalizör olarak inorganik asit ve bazlar, organik bazlar ve lipaz enzimleri kullanılmaktadır[10]. Literatürde bu tepkime transesterifikasyon olarak da anılmaktadır.

2.7. Alkoliz Reaksiyonlarında Kullanılan Katalizörler

İç esterleşme reaksiyonları için kullanılan katalizörler arasında en yaygınları inorganik asit ve bazlardır. Bu amaçla organik bazlar da kullanılmıştır. Lipaz enzimlerinin de bu reaksiyonlarda katalizör olarak kullanımı mümkündür. Nispeten yeni olmaları ve yüksek maliyetleri birer dezavantaj olsa da başka yönlerden üstünlükleri nedeniyle sanayide katalizör olarak lipazların kullanımı üzerine bir çok çalışma yapılmıştır. Ayrıca, iç esterleşme reaksiyonlarında uygulamaları yaygınlaşmamış olsa da heterojenize edilmiş organik bazlar, metal kompleksleri gibi çeşitli katalizörlerin etkileri de incelenmiştir[10,18].

2.7.1. Asitler

Biyodizel üretiminde en çok kullanılan asit katalizörler sülfürik ve sülfonik asitlerdir. Ancak diğer Brønsted asitleri de bu amaç için kullanılabilir. Asit katalizörlerin kullanımında alkil esterlerin verimi yüksektir. Ancak, reaksiyonlar

yavaştır ve 100 °C'yi aşan sıcaklıklara ve 3 saatten uzun reaksiyon sürelerine ihtiyaç duyulur. Soya yağının 30:1 alkol/yağ oranında, %1 H₂SO₄ (mol %) ile, metanol (65 °C'de), etanol 78 (°C'de) ve bütanol (117 °C'de) ile olan alkolizinin sırasıyla 50, 18 ve 3 saat sürdüğü bildirilmiştir. Ortamda su bulunursa karboksilik asit oluşumuna neden olan bir yan reaksiyona neden olduğundan asit katalizör kullanıldığında reaksiyon susuz ortamda gerçekleştirilmelidir[10].

2.7.2. Bazlar

Alkoliz reaksiyonlarında katalizör olarak baz kullanımı asitlere yeğlenmektedir. Çünkü daha kısa sürede daha yüksek dönüşüm sağladıkları gibi, daha ucuzdurlar ve daha az korozyon ve kullanım sorununa yol açarlar. Düşük miktarda kullanıldıklarında bile 30 dakikada %98 gibi çok yüksek dönüşümler sağlayabilen alkali metal alkoksitleri en etkili baz katalizörlerdir. Metal alkoksitlerin en önemli sorunu, susuz ortam gerektirmeleridir[10].

Alkali metal hidroksitleri, alkali metal alkoksitleriyle aynı alkil ester verimini sağlayabilir. Bunun için alkoksitlere nazaran daha yüksek miktarda hidroksit gerekir; ancak gereken hidroksit miktarı yine de düşük sayılır. Ancak hidroksitlerin katalizlediği alkoliz reaksiyonlarında bir miktar su oluşur ve bu su da sabun oluşumuna sebep olur[10].

Bu reaksiyonlar için potasyum karbonat da etkili bir katalizördür ve su yerine bikarbonat oluşumuna yol açtığından, potasyum karbonat kullanımı sabun oluşumuna yol açmaz[10].

Ancak bazlar, alkoliz reaksiyonlarını katalizlemek için yüksek basınç ve sıcaklığa ihtiyaç duyarlar. Bir çalışma 10 MPa basınçta ve 240 °C'de gerçekleştirilen baz katalizörlü bir metanoliz reaksiyonunu bildirmektedir[19].

2.7.3. Organik Bazlar

Alkoliz reaksiyonlarının daha ılımlı reaksiyon koşullarında gerçekleştirilebilmesi için çeşitli organik baz katalizörler geliştirilmiştir. Bu bazların bir kısmı tatmin edici olamamışsa da inorganik bazlarınkine yakın performans sergileyen organik baz katalizörler ortaya konmuştur. Bu katalizörlere örnek olarak 1,5,7-triazabisiklo[4.4.0]dek-5-en (TBD), 1,3-disikloheksil-2-n-oktilguanidin (DCOG), ve 1,2,3-trisikloheksilguanidin (TCG) gösterilebilir[10].

2.7.4. Lipazlar

Lipazlar, kolay kullanım ve depolama, organik çözücülerle birlikte kullanılabilme, seçicilik gibi avantajlara sahip olan, kabul edilebilir stabiliteye sahip, koenzime ihtiyaç duymayan hidrolitik enzimlerdir[10]. İç esterleşme reaksiyonlarında bazlara kıyasla gliserolün daha kolay geri kazanımı, reaksiyonun ortam basıncında ve düşük sıcaklıkta yürütülebilmesi gibi ek avantajlara da sahiptir[20].

Lipazların aktiviteleri, sıcaklık, immobilizasyon, çeşitli kimyasallar gibi etkenler tarafından tersinir veya tersinmez olarak etkilenebilir. Sıcaklık her enzimin aktivitesini önemli ölçüde etkileyen bir etken olduğundan enzimatik alkoliz çalışmalarında reaksiyon için uygun sıcaklık belirlenmelidir. Bazların aksine lipazlar susuz ortama ihtiyaç duymaz, hatta su varlığında etkinlikleri artış gösterir. Pizarro ve Park, kullanılmış AAT'nin in situ metanolizinin incelendiği bir çalışmada değişik su miktarlarında reaksiyon veriminin nasıl değiştiğini incelemiş ve yağa göre ağırlıkça %75'e kadar su içeriği arttıkça reaksiyon hızının da arttığı saptanmıştır[20]. Metanolün lipaz enzimlerini tersinmez bir şekilde denatüre ettiği bilinmektedir. Bu nedenle bazlar ve asitlerde olduğu gibi fazla miktarda metanol fazlası kullanılarak reaksiyon hızının yükseltilmesi mümkün değildir[12].

2.8. Literatür Araştırması

Kaieda ve çalışma arkadaşları, soya yağının metanolizini çözücüsüz ortamda gerçekleştirmiş ve reaksiyonun susuz ortamda ilerlemediğini, buna karşılık %4-30 arasında su içeren soya yağı kullanıldığında reaksiyonun ilerlediğini belirlemişlerdir. Kullandıkları *Rhizopus oryzae* lipazının (F-AP15, Amano Pharmaceutical Co.) 1,3 seçiciliği nedeniyle %66 civarında dönüşüm beklenmesine rağmen dönüşümün %90'ın üzerine çıkabildiğine dikkat çekmişlerdir. Metanolün lipaz enzimini denatüre ettiğini belirtmiş, ancak denatürasyon mekanizmasını belirtmemişlerdir[13].

Kaeida ve grubunun 2001 tarihli çalışmasında, birçok lipaz enziminin su varlığında organik çözücü olmadan metanoliz reaksiyonunu katalizleyebildiği bildirilmiştir. Denenen lipazlar arasından özellikle *Candida rugosa*, *Pseudomonas cepacia* ve *Pseudomonas fluorescense* lipazlarının metanoliz reaksiyonunu katalizlemede etkili

oldukları, ancak düşük su miktarında *Pseudomonas fluorescense* ve *Candida rugosa* lipazları ile gerçekleştirilen reaksiyonların hızlarının düştüğü belirlenmiştir. Kaieda ve arkadaşları, suyun reaksiyona olumlu etkisini, suyun metanolün lipaz enzimini denatüre etmesini önlemesine bağlamıştır[21].

Du ve çalışma grubu, metanolün lipaz enzimi üzerindeki denatürasyon etkisinin 1:1'den daha yüksek alkol:yağ oranlarında başladığını bildirmiştir. Metanolün enzimi tersinmez olarak denatüre etmesinin yarattığı sorunu ortadan kaldırmak ve reaktan fazlası kullanmayı mümkün kılmak amacıyla farklı bir açıl alıcısı ile soya yağının enzimatik iç esterleşmesini denemişlerdir. *Candida antarctica* lipazı (Novozym 435, Novo-Nordisk) ile yürüttükleri çalışmalarında ham soya yağı ile metanolün ve metil asetatın iç esterleşme reaksiyonlarını incelemişler, metil asetatın denatürasyona yol açmadığını, 1:12 yağ:metil asetat oranında (molar) çalışılabildiğini bildirmişlerdir. Metanol ile en yüksek dönüşümü mol olarak 1:1 yağ:alkol oranında elde etmişlerdir. Metanol ile 2 saat sonunda %30'a yakın bir dönüşüm elde edilmiş, 2 saatten sonra reaksiyon neredeyse durmuştur. Metil asetat ile ise 2 saat sonunda %50 civarında dönüşüm elde edilmiş, reaksiyon daha uzun süre devam etmiş ve 14 saat sonunda %90'dan yüksek bir dönüşüme ulaşılmıştır[12].

Yomi Watanabe ile çalışma grubu ham ve yağı giderilmiş soya yağının *Candida antarctica* lipazı (Novozym 435, Novo-Nordisk) ile metanolizini incelemiştir. Ham soya yağı ile metanoliz reaksiyonu gerçekleşmezken gamı giderilmiş yağ ile reaksiyon %93,8 dönüşüme kadar gerçekleşmiştir. Soya yağı gamının en önemli bileşenlerinden biri fosfolipidler olduğu için fosfolipidlerin enzimatik metanoliz reaksiyonunu inhibe edip etmediğini araştıran ekip, fosfolipidlerin metanolizi inhibe ettiğini ve %0,2 fosfolipid varlığında reaksiyona sokulan enzimin, fosfolipid yokluğunda etkinliğini geri kazandığı halde %0,5 oranında fosfolipide maruz kalan enzimin aktivitesini geri kazanamadığını gözlemişlerdir[3].

Takaaki Watanabe ve çalışma arkadaşları, dolgulu yatak cinsi bir reaktörde esterleşme yöntemi ile diaçilgliserol (DAG) üretmişlerdir. Asit olarak serbest yağ asitleri ve alkol olarak gliserol kullanılan reaksiyonda katalizör olarak 1,3-seçiciliğe sahip Lipozyme RM IM immobilize lipazı (Novo-Nordisk) kullanılmış ve 1,3-DAG sentezlenmiştir. Reaksiyon için uygun koşulları 50 °C ve 0,4 kPa vakum olarak saptamışlar, reaktörde kalma süresinin azalmasının reaktör çıkışındaki su miktarını

azaltıp dönüşümü artırdığını gözlemişlerdir. Çalışmada %70 dönüşüm elde edilmiştir[22].

Ulbert ve arkadaşları, *Candida rugosa* kökenli lipaz enziminin (Sigma) organik çözücülerdeki enantioseçiciliğini iyonik sıvılarla karşılaştırmıştır. Bir arada bulunan anyon ve katyon türlerinden oluşan iyonik sıvıların organik çözücülere göre çevreye daha az zararlı olduğu ve enzimlerin katalitik etkinliklerini iyonik sıvılarda da koruduğu bildirilmiştir. Ayrıca iyonik sıvılarla kullanılan enzimlerin tekrar kullanılmadan önce saflaştırma işlemlerinden geçmesine gerek olmadığı vurgulanmıştır[23].

Tashtoush, Al-Widyan ve Al-Jarrah, atık hayvan yağından metanoliz ve etanoliz yoluyla biyodizel üretimi ve optimizasyonu üzerine çalışmışlardır. Katalizör olarak sülfürik asidin kullanıldığı çalışmada, Irbid'deki lokantalardan toplanan hayvansal yağlardaki gam ve yiyecek parçacıkları, reaksiyondan önce filtrasyon ile giderilmiştir. Susuz etanol ile her durumda susuz metanole göre daha yüksek dönüşüm ve daha düşük viskozite gözlenmiştir. Gerek etanoliz gerekse metanolizde sıcaklığın dönüşümü etkilemediği, ancak maksimum dönüşüme ulaşma süresini kısalttığı saptanmıştır. Tashtoush ve arkadaşları, optimum sıcaklığı 50 °C, optimum reaksiyon süresini ise 2 saat olarak belirlemişlerdir. Çalışmada, hayvansal yağlardan üretilen biyodizelin, bitkisel yağlardan üretilen biyodizele göre klasik dizele daha yakın özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir[24].

Köse, Tüter ve Aksoy, birincil ve ikincil alkoller kullanarak rafine pamuk tohumu yağının alkolizini incelemiştir. *Candida antarctica* kökenli lipaz (Novozym 435, Novo-Nordisk) kullanarak çözücüsüz ortamda alkoliz reaksiyonları yürütmüşlerdir. Pamuk tohumu yağının metanolizi için 1:4 yağ:alkol oranı (molar) ve ağırlıkça yağa göre %30 oranında enzim kullanılarak 50 °C'de 7 saat sürdürülen reaksiyonun en iyi sonuçları verdiği saptanmış, bu koşullarda metanoliz reaksiyonu %91,5 oranında tamamlanmıştır. Aynı koşullarda kısa zincirli primer ve sekonder alkollerle yürütülen reaksiyonlarda dönüşüm %72 ila %94 arasında gerçekleşmiştir[25].

Soumanou ve Bornscheuer, ayçiçeği yağının enzimatik metanolizini farklı lipazlar ve organik çözücülerle denemiştir. *Pseudomonas fluorescence* lipazının (Lipase AK, Amano Pharmaceutical Co.), çözücüsüz sistemde en iyi sonuç veren lipaz olduğu saptanmıştır. Bu lipazın yanı sıra Novo-Nordisk'in iki adet immobilize lipazı,

Rhizomucor miehei kökenli Lipozyme RM IM enzimi ile *Thermomyces lanuginosus* kökenli Lipozyme TL IM lipazları denenmiştir. Organik çözücü olarak n-hekzan, siklohekzan, n-heptan, iso-oktan, aseton ve petrol eteri denenmiştir. Aseton ile diğer çözücülerle karşılaştırılamayacak kadar düşük dönüşüm elde edilirken, en yüksek dönüşümü n-hekzan ve petrol eteri vermiştir. Bazı çözücülerde farklı lipaz enzimlerinin sağladığı dönüşümler arasında oldukça belirgin farklar varken, diğerlerinde elde edilen dönüşümler birbirine oldukça yakın olmuştur[26].

Soumanou ve Bornscheuer'in aynı yıl yayınlanan bir başka çalışmasında ise yine Lipozyme RM IM ve TL IM lipazları (Novo-Nordisk) ile Amano AK (Amano Pharmaceutical Co.) isimli *Pseudomonas fluorescence* lipazı denenmiştir. Üç lipaz da çözücüsüz ortamda metanol, etanol, 1-propanol, isopropanol, 1-bütanol ve isobütanol ile pamuk tohumu yağının alkoliz reaksiyonunda katalizör olarak kullanılmıştır. Lipozyme TL IM genel olarak diğer iki lipaz kadar yüksek dönüşüm verememiş, ancak lipazların birbirlerine göre olan etkinliği de alkole bağlı olarak değişmiştir. Lipozyme RM IM, en yüksek dönüşümü 1-propanol ve 1-bütanolün kullanıldığı reaksiyonlarda sağlamış, Amano AK ise en yüksek katalitik aktiviteyi 1-propanol ve isobütanolün girdiği reaksiyonlarda göstermiştir[19].

Anastopoulos ve çalışma arkadaşları, düşük kükürtlü klasik dizel yakıtın motor aşındırma özelliklerini biyodizellerle karşılaştırmıştır. Kükürt giderme işleminin dizelin yağlama özelliğini azaltması sebebiyle kullanıldıkları motorlarda aşınmaya bağlı sorunlara yol açabilen düşük kükürtlü dizel yakıtların aşınma yara çapı (AYÇ) değerleri ölçülmüş ve dört çeşit biyodizel ile iki adet tersiyer amidin AYÇ değerleriyle karşılaştırılmıştır. Çalışmalarının sonucunda biyodizellerin aşındırma özelliklerinin piyasadaki düşük kükürtlü klasik dizel yakıtlara göre oldukça iyi olduğunu, ayrıca düşük miktarda biyodizel katkısı sayesinde düşük kükürtlü dizelin de yağlama özelliklerinin kayda değer biçimde iyileştiğini gözlemişlerdir[15].

Samukawa ve çalışma grubu, *Candida antarctica* lipazını (Novozym 435, Novo-Nordisk) metil oleatla muamele ederek etkinliğini artırmıştır. Soya yağının metanoliz reaksiyonu için kullanılan Novozyme 435'i metil oleat ve soya yağı içinde bekleterek muamele etmişler, değişen muamele sürelerinin 0,5 ve 1 saatlik reaksiyonu sonucundaki dönüşümleri nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Metil oleatla muamelenin ilk 0,5 saat boyunca etkinliği artırdığını, soya yağında muamelenin ise ilk 12 saat boyunca etkinliği artırdığını, 12-14 saat arasındaki muamelelerin ilk yarım

saatteki dönüşümleri arttırırken 1 saat sonundaki dönüşümlere bir etkisi olmadığını tespit etmişlerdir. Soya yağıyla muamelenin etkisini, immobilize enzimin içine önceden işleyen substratın daha hızlı reaksiyona yol açmasına bağlamışlardır[27].

Iso ve çalışma grubu, triolein ve aspir yağının metanol, etanol, 1-propanol ve 1-bütanol ile olan alkoliz reaksiyonlarını farklı lipazlar varlığında incelemiştir. 1-Propanol ve 1-bütanol ile aspir yağının alkolizinin çözücüsü ortamda yapılabildiğini, ancak metanoliz ve etanoliz için organik çözücüye ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca immobilize lipazların etkinliğinin serbest lipazlara göre daha fazla olduğunu ve bunun sebebinin immobilize olurken lipazların aktif bölgelerinin daha etkili bir hale gelmesi olduğunu bildirmişlerdir. Denenen lipaz enzimleri arasından en etkilisinin immobilize *Pseudomonas fluorescence* lipazı (Lipase AK, Amano Pharmaceutical Co.) olduğunu belirlemişlerdir[28].

Abreu ve çalışma arkadaşları, Brezilya'nın Savan ve Amazon bölgelerine özgü bitkisel yağların metanolizini, katalizör olarak metal kompleksleri kullanarak gerçekleştirmiştir. Andiroba, babassu, kumaru, palmiye ağacı, pikui, ve soya yağlarının metanolizi ile soya yağının etanol, 1-propanol, iso-propanol, n-bütanol, terc-bütanol ve sikloheksanol ile olan alkoliz reaksiyonları, $\text{Sn}(3\text{-hidroksi-2-metil-4-piron})_2(\text{H}_2\text{O})_2$, $\text{Pb}(3\text{-hidroksi-2-metil-4-piron})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ ve $\text{Zn}(3\text{-hidroksi-2-metil-4-piron})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ katalizörlüğünde yürütülmüştür. Her üç metal kompleksinin de katalitik aktivite sergilediği, ancak Sn ve Pb komplekslerinin Zn kompleksine göre daha aktif oldukları ve Zn kompleksinin iyi performans göstermediği halkalı alkollerde bile aktivitelerini korudukları gözlenmiştir. Genel olarak bu tip katalizörlerin kısa, düz ve doymamış yağ asitleriyle ve düz alkollerle daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir[18].

Literatürde kullanılmış aktive ağartma toprağının biyodizel olarak değerlendirilmesine ilişkin sadece iki adet yayına rastlanmıştır. Lara Pizarro ve Park, ticari bir *Rhizopus oryzae* lipazını (F-AP15, Amano Pharmaceutical Co.) kullanarak, kullanılmış ağartma toprağından ekstrakte edilen kolza, soya ve palmiye yağlarından metanoliz yoluyla biyodizel elde etmişlerdir. Ortamda bulunan suyun artışının, ağırlıkça %75 oranına varana kadar reaksiyon hızını arttırdığı saptanmıştır. 175 rpm karıştırma hızı, 1:4 yağ:alkol mol oranı ve 35 °C sıcaklıkta 96 saat sonunda %55 dönüşüm sağlanmıştır[20].

Kullanılmış ağartma toprağından (AAT) biyodizel eldesiyle ilgili ikinci yayın da Lara ve Park'a aittir. Palm yağı içeren AAT doğrudan kullanılarak, primer alkollerle palmiye yağının lipaz katalizörle in situ alkolizi incelenmiştir. En iyi sonuçların *Candida cylindracea* lipazı (Lipase OF, Meito Sangyo Co.) ile, çözücü olarak n-hekzan varlığında ve ağartma toprağı ortamdayken alındığı belirlenmiştir. 4 saat sonunda %80'e yakın dönüşüm elde edildiğı ve maksimum dönüşüm elde edildikten sonra reaksiyonda gerileme olduğu gözlenmiştir; ayrıca uzun zincirli alkollerin daha düşük dönüşüm sağladığı görülmüştür[29].

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye kökenli ayçiçeği yağının ağartılması sırasında ağartma toprağı tarafından tutulan kısmen rafine edilmiş yağın enzimatik alkoliz reaksiyonu incelenmiştir. Enzimatik alkoliz reaksiyonları, atık aktifleştirilmiş ağartma toprağından (AAAT) ekstrakte edilen yağ ile ve yağ topraktan ayrılmadan yerinde (in situ) gerçekleştirilmiş ve iki yöntem karşılaştırılmıştır. Daha sonra in situ enzimatik alkoliz reaksiyonu için uygun lipaz enzimi ve reaksiyona etki eden parametreler için uygun koşullar saptanmıştır. Ayrıca, 4 °C’de saklanan AAAT’nin stabilitesi incelenmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kullanılan AAAT, Besler Gıda San. Tic. A.Ş. tarafından sağlanmıştır ve ayçiçeği yağının rafinasyonu prosesinden çıkmıştır. Rafinasyon prosesinde ağartma toprağı olarak Bensan Aktifleştirilmiş Bentonit San. ve Tic. A.Ş. firmasının ürünü olan aktive bentonit kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan *Mucor Miehei* kökenli Lipozyme IM, *Rhizomucor miehei* kökenli Lipozyme RM IM ve *Thermomyces lanuginosa* kökenli Lipozyme TL IM immobilize lipazları, Novo-Nordisk firması tarafından hediye edilmiştir. Kullanılan diğer kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Riedel de Haen firmasının ürünüdür.

3.2. Atık Aktive Ağartma Toprağındaki Yağın Karakterizasyonu

Bu çalışmanın ilk aşamasında AAAT’nin nem miktarı ve AAAT’de adsorplanan yağ miktarı belirlenmiş, daha sonra yağın karakterizasyonu yapılmıştır. AAAT’nin yağ içeriğinin saptanması için, AAAT’de bulunan yağ, n-hekzan kullanılarak yapılan ve 6 saat süren soxhlet ekstraksiyonu ile ekstrakte edilmiş ve döner evaporatör kullanılarak çözücüsü uçurulmuştur. Yağ içeriği, (3.1) denklemine göre tayin edilmiştir.

$$\text{Yağ içeriği (\%)} = \frac{\text{Elde edilen yağın ağırlığı}}{\text{Tartılan AAAT'nin ağırlığı}} \times 100 \quad (3.1)$$

AAAT'nin yağ içeriği, %25,1 olarak belirlenmiştir.

AAAT'nin nem içeriğini belirlemek için, 5 g numune tartıldıktan sonra 105 °C'deki etüvde yarım saat boyunca kurutulmuş, daha sonra 20 dakika kadar desikatörde bekletilmiş ve tekrar tartımı alındıktan sonra işlem tekrarlanmıştır. İki tartım arasındaki fark 0,05 g'ye düşene kadar bu işlem tekrarlanmıştır. AAAT'nin nem içeriği ağırlıkça %7,4 olarak belirlenmiştir.

AAAT yağının karakterize eden özellikleri olan sabunlaşma ve asit değerleri, standart metotlarla tayin edilmiştir[30]. Yağın yağ asidi bileşimi, BF₃-Metanol kompleksi ile yağın metil esterleri hazırlanarak ve oluşan metil ester karışımı Hewlett-Packard 5890 II (Hewlett-Packard, Waldron, Almanya) gaz kromatografisi cihazı ile analiz edilerek belirlenmiştir. Gaz kromatografisi koşulları Tablo 3.1'de verilmiştir. Yağ asidi bileşimi ve diğer yağ özellikleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Gaz kromatografisi koşulları

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

(1) FID: Alev iyonizasyon dedektörü (Flame ionization detector)

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

Tablo 3.2: AAAT yağının özellikleri ve yağ asidi bileşimi

Özellikler	Değer
Asit değeri (mg KOH/g)	4,7
Sabunlaşma değeri (mg KOH/g)	186,7
Nem içeriği (% Ağırlık)	7,4
Yağ asidi bileşimi (% Ağırlık)	
C _{16:0}	12,3
C _{18:0}	2,7
C _{18:1}	27,5
C _{18:2}	57,3
Yağın ortalama molekül ağırlığı (kg/kmol)	871,1

3.3. Deney Düzeneği

Tüm reaksiyonlar, su banyosu içine yerleştirilmiş olan 250 mL hacimli, dibi yuvarlak cam balonda gerçekleştirilmiştir. Su banyosunun sıcaklığı, sıcaklık kontrollü, ısıtıcılı, manyetik karıştırıcı düzeneği (Framo-Geratechnik M22/1 5655 Franz Morad Eisenbach, Almanya) ile ± 2 °C hassasiyetle kontrol edilmiştir. Yapılan deneylerin tümünde karıştırma hızı 800 devir/dak olarak sabit tutulmuştur.

3.4. Enzimatik Alkoliz Reaksiyonu

Alkoliz reaksiyonları in situ alkoliz ve AAAT'den ekstrakte edilen yağ alkolizi olmak üzere iki farklı şekilde yürütülmüştür. AAAT'den ekstrakte edilen yağ alkolizi için kullanılan yağ, yaklaşık olarak 80 g AAAT'den 80 mL n-hekzan kullanılarak 30 °C'de 10 dakika kadar manyetik karıştırma eşliğinde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzgeç kağıdından süzölmüş ve çözücüsü döner evaporatörde giderilmiştir.

Tüm alkoliz reaksiyonlarında, substrat olarak 5 g yağ kullanılmıştır. In situ reaksiyonlarda, 5 g yağ içeren toprak miktarı, AAAT'nin yağ içeriğinden hesaplanmıştır. Buna göre in situ reaksiyonlarda 19,889 g toprak kullanılmıştır. Alkoliz reaksiyonlarında çözücü olarak n-hekzan kullanılmıştır. AAAT veya ekstrakte edilmiş yağ, metanol ve çözücü 250 mL'lik cam balona konulduktan sonra istenilen sıcaklığa gelmesi beklenmiş, daha sonra enzimin reaksiyon karışımına eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonlar 4 saat boyunca devam ettirilmiş ve saat başı yaklaşık 1 mL hacminde numuneler çekilmiştir. Numuneler 90 °C'deki bir su banyosunda 10 dakika bekletilerek enzimin inaktivasyonu sağlanmıştır.

Numunelerin analize hazırlanması için, numunelere 2,5 mL n-hekzan eklenmiş ve çalkalanmıştır. Katı partiküllerin çökmesi için kısa bir süre beklendikten sonra 1 mL su eklenmiş, iki faz ayrılana kadar beklenmiştir. Su fazına geçen gliserol ayrılmıştır. Üst (n-hekzan) fazlar, önceden susuz sodyum sülfat konulmuş şişelere alınmıştır. Numunelerin bileşimleri ince yüzey kromatografisi/alev iyonizasyon dedektörü (TLC-FID) kombine sistemi ile belirlenmiştir. Kromatografi sisteminin enjeksiyon cihazı ile 1µL'lik örnekler SIII rodlarına (silika-kuartz) enjekte edilmiş ve numunelerin yürümesi için rodlar önce 50 mL benzen, 20 mL kloroform ve 0,7 mL asetik asit içeren ilk tankta 23 dakika bekletilmiş ve polar bileşiklerin yürümesi sağlanmış, daha sonra rodlar 35 mL n-hekzan ve 35 mL benzen içeren ikinci tankta 30 dakika bekletilerek apolar bileşiklerin yürütülmesi sağlanmıştır. İki tankın da içine önceden süzgeç kağıdı yerleştirilmiş ve doygunluğa ulaşılması için 20 dakika beklenmiştir. Rodlar iki tanktan da çıkartıldıklarında önce 1 dakika dışarıda, sonra da 6 dakika 60 °C'deki etüvde (Rod Dryer TK 5 Iatron Lab. Inc., Tokyo, Japonya) bekletilmiştir. Örneklerin TLC-FID sistemindeki analizi için hidrojen gazı debisi 160 mL/dak, hava debisi 2200 mL/dak ve tarama hızı 30 s/tarama olarak ayarlanmıştır. Bu koşullar altında çalışılarak reaksiyon ürünlerinin yağ asidi esterleri (FAE), triaçilgliserol (TAG), diaçilgliserol (DAG), monoaçilgliserol (MAG) ve serbest yağ asidi (FFA) miktarları ağırlık yüzdesi olarak belirlenmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. In situ Alkoliz Reaksiyonu ile AAAT'den Ekstrakte Edilmiş Yağın Alkoliz Reaksiyonunun Karşılaştırılması

İmmobilize enzim katalizörlüğünde gerçekleştirilecek olan metanoliz reaksiyonlarının in situ (yerinde) olarak mı yoksa önceden topraktan ekstrakte edilen yağ kullanıldığında mı daha yüksek metil ester verimi sağladığının saptanması için deneyler gerçekleştirilmiştir. Literatürde AAAT'den biyodizel eldesi konusunda sadece iki yayına rastlanmıştır. Bu yayınlarda sadece in situ alkoliz reaksiyonu incelenmiştir[20,29].

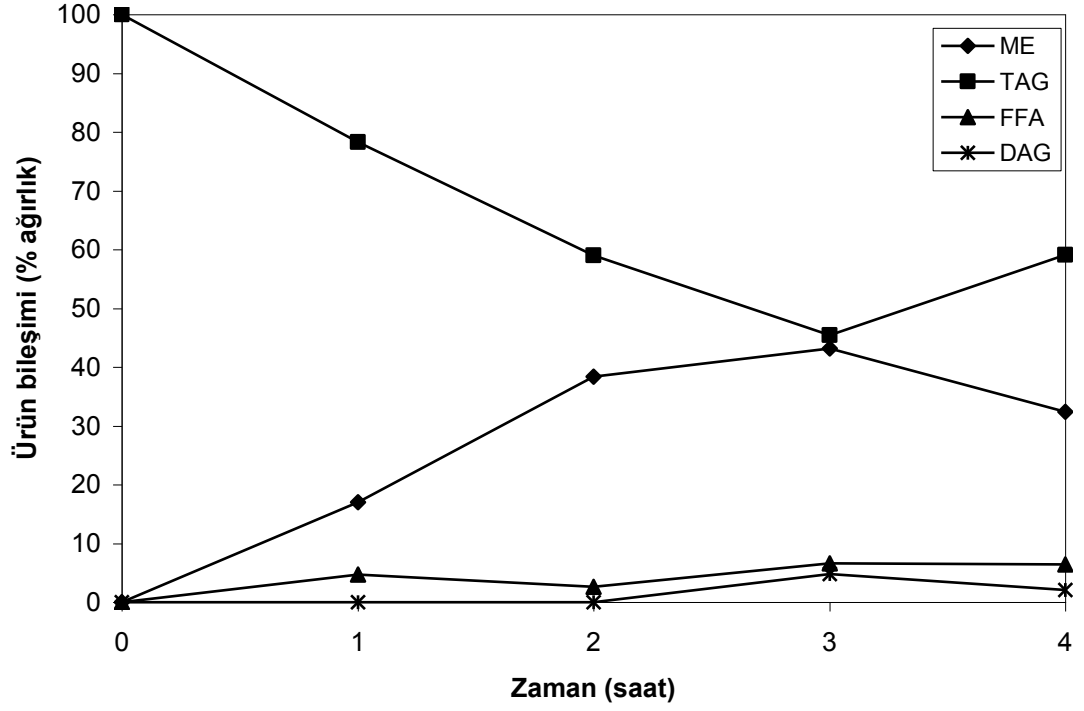
Bu çalışmada, alkoliz reaksiyonları 50 °C'de, stokiometrik yağ/alkol mol oranında, ağırlıkça yağın %10'u kadar Lipozyme IM lipazı varlığında uygun miktardaki n-hekzan içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak in situ reaksiyonda 37,5 mL, ekstrakte edilen yağ ile yapılan reaksiyonda 25 mL n-hekzan kullanılmıştır. Literatürde in situ reaksiyon hızında bir düşüş olmadan uygulanabilen en yüksek n-hekzan/AAAT oranının ağırlıkça 0,82 olduğu bildirildiğinden ilk olarak reaksiyonda bu oran kullanılmak (Hacim olarak 25 mL n-hekzan) istenmiş, ancak bu çözücü oranında reaksiyon karışımından saatlik örnek alınması imkansız olduğundan çözücü miktarı 1,5 katına çıkartılarak 37,5 mL seçilmiştir. Önceden ekstrakte edilmiş yağ ile yürütülen reaksiyonda ise 25 mL n-hekzan kullanılmıştır. Her iki durumda elde edilen yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri, Tablo 4.1'de ve ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.1 ve 4.2'de ve ayrıca Ekler bölümünde Tablo A.1 ve A.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi in situ alkoliz reaksiyonu ile elde edilen reaksiyon hızı ve verimi, yağın önceden ekstrakte edilerek kullanıldığı reaksiyona göre çok yüksektir. Bu durumun sebepleri, bu reaksiyon konusunda henüz fazla çalışma olmadığından çok iyi bilinmemektedir. Ancak, enzimatik alkoliz reaksiyonlarının hidroliz ile serbest hale geçen yağ asitlerinin esterleşmesi üzerinden yürüdüğü bilinmektedir. Literatürde, ortamda yeterli su bulunmaması durumunda su-yağ ara

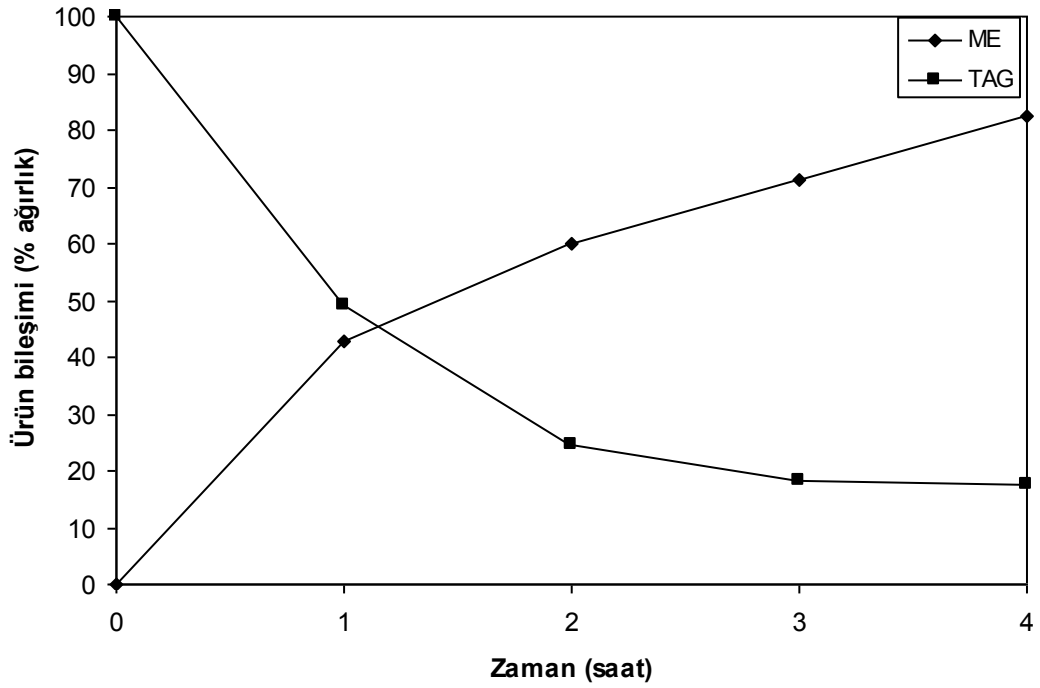
yüzeyinin reaksiyonu sınırlayan etken olabileceği belirtilmektedir[20]. AAAT yüzeyindeki yağın ince ve iyi dağılmış bir film halinde bulunduğu da ayrıca bildirilmektedir[5,31]. Bu dağılım su-yag ara yüzeyini genişleterek ve yağın enzimle etkileşimini kolaylaştırarak reaksiyonun ilerlemesini olumlu yönde etkiliyor olabilir. Ayrıca yağın AAAT'den ekstraksiyonu sırasında su içeriğinin AAAT'de kalması da ekstrakte edilmiş yağ alkolizinde yeterli su bulunmamasına yol açabilir. Ancak aktive ağartma toprağının katı asit, iyon değıştirici ve katalizör özelliklerinin de reaksiyon mekanizması üzerinde etkili olması ihtimali vardır. In situ gerçekleştirilen reaksiyonun yüksek veriminin sebebinin anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurularak daha sonraki tüm deneysel çalışmalar in situ reaksiyon üzerine yapılmıştır.

Tablo 4.1: Lipozyme IM ile katalizlenen in situ ve ekstrakte edilmiş yağ alkolizinin karşılaştırılması. (Yağ: 5 g veya 5 g yağ içeren AAAT; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yag ağırlık oranı: 0,10; sıcaklık: 50 °C; n-hekzan: in situ 37,5 mL, ekstrakte yağ ile 25 mL)

Zaman (h)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)	
	Önceden ekstrakte edilmiş yağ alkolizi	In situ alkoliz
0	0	0
1	16,99	42,86
2	35,73	60,02
3	43,21	71,13
4	32,44	82,55



Şekil 4.1: AAAT'den ekstrakte edilen yağ ile yürütülen alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 °C ; n-hekzan: 25 mL)



Şekil 4.2: In situ reaksiyonda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 °C ; n-hekzan: 37,5 mL)

4.2. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Enzim Tipinin Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında, elde az miktarda bulunan Lipozyme IM enziminin üretiminin Novo-Nordisk firması tarafından durdurulduğu öğrenilmiş ve çalışmanın bundan sonraki aşamalarında Novo-Nordisk'in diğer iki lipazı olan Lipozyme RM IM ve Lipozyme TL IM ile deneylere devam edilmiştir.

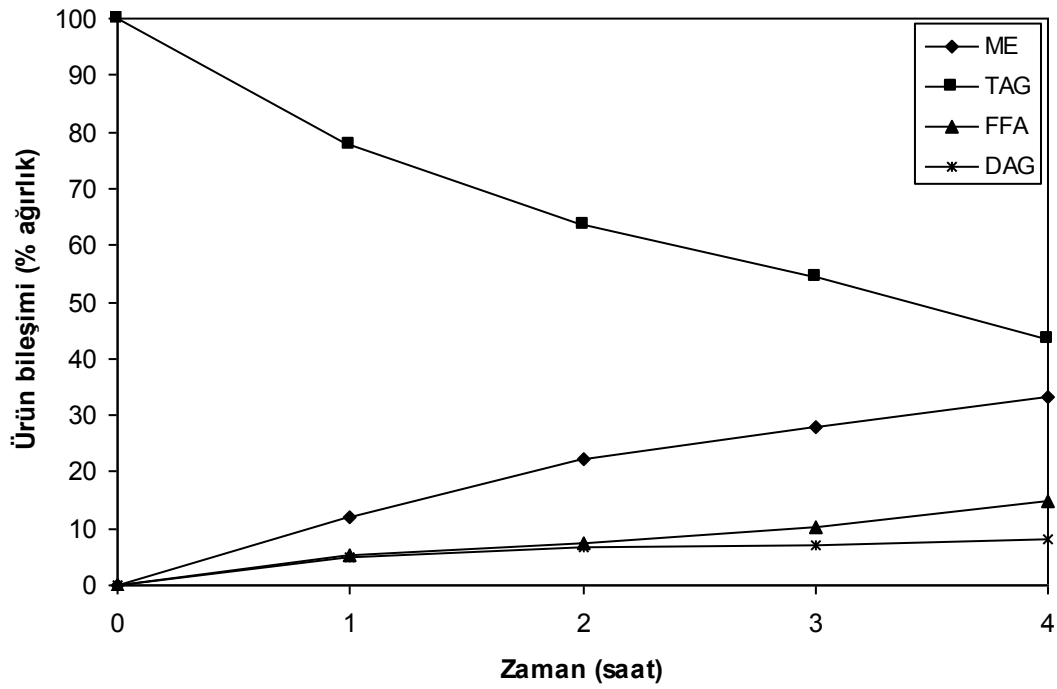
Kullanılan enzim tipinin AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyona etkisinin belirlenmesi amacıyla deneyler gerçekleştirilmiştir. In situ alkoliz reaksiyonları 40 °C'de, 1/3 yağ/metanol mol oranında, yağın ağırlıkça %10'u kadar enzim miktarında ve çözücü ortamında yürütülmüştür. Reaksiyonlarda enzim olarak, bir iyon değiştirici reçine üzerine immobilize edilmiş olan Lipozyme RM IM ve silika jel üzerine immobilize edilmiş olan Lipozyme TL IM kullanılmıştır. Alkoliz reaksiyonu sonucunda elde edilen ürünlerin yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri Tablo 4.2'de ve ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.3 ile 4.4'de ve Ekler bölümünde Tablo A.3 ile A.4.'de verilmiştir.

Tablo 4.2: Enzim tipinin in situ metanoliz reaksiyonuna etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL)

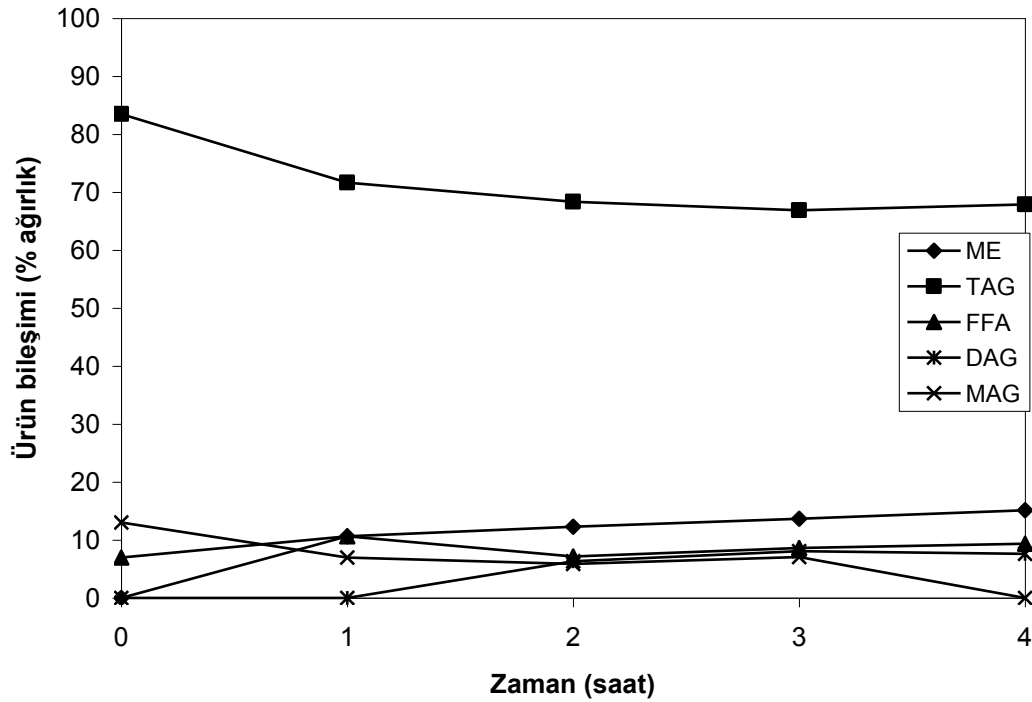
Zaman (h)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)	
	Lipozyme RM IM	Lipozyme TL IM
0	0	0
1	11,98	10,69
2	22,22	12,28
3	27,95	13,68
4	33,31	15,13

Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'deki sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, Lipozyme RM IM ve Lipozyme IM'nin, Lipozyme TL IM'ye göre AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda daha aktif enzimler olduğu görülmektedir. Lipozyme TL IM'nin Novo-Nordisk firması tarafından bildirilen enzim aktivitesi alt sınırının Lipozyme RM IM'ninkinden yüksek olmasına rağmen bu reaksiyonda gösterdiği aktivitenin düşük olmasının sebebi, muhtemelen immobilizasyon matrisi olarak silika jel kullanılmış olmasıdır. Ortamda su varlığının, bitkisel yağların lipaz enzimi ile metanolizini olumlu yönde etkilediği ve reaksiyonun hızlı yürümesi için yağ-su ara yüzeyinin yeterli genişlikte olması gerektiği bilinmektedir[20]. Silika jelin suyu

tutarak su-yağ ara yüzeyini bozmuş ve reaksiyonu yavaşlatmış olması olasıdır. Çalışmanın bundan sonraki kısmında enzim olarak Lipozyme RM IM kullanılmıştır.



Şekil 4.3: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme RM IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL)



Şekil 4.4: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme TL IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL)

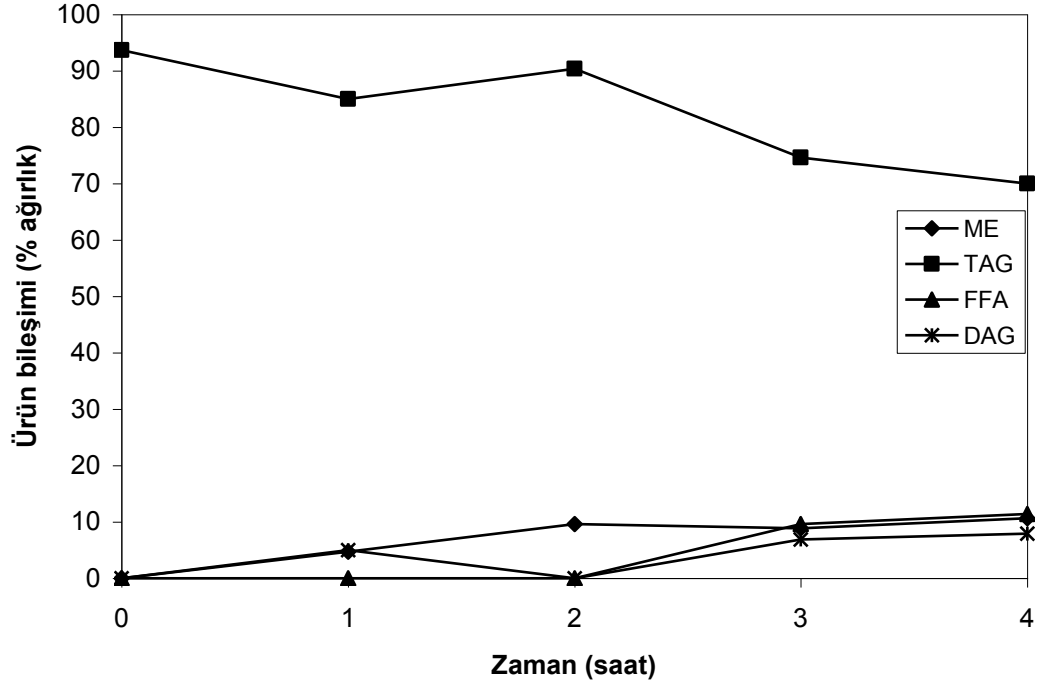
4.3. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi

Kullanılan Lipozyme RM IM miktarının in situ metanoliz reaksiyonuna olan etkisinin incelenmesi için, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20 ve 0,25 enzim/yağ ağırlık oranlarında enzim kullanılarak reaksiyonlar yürütülmüştür. Reaksiyonlar 40 °C’de ve 1/3 yağ/alkol mol oranında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yağ asidi metil ester içeriğinin zamana göre değişimi Tablo 4.3’de ve elde edilen ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.3, 4.5-4.8 ve Ekler bölümünde Tablo A.3, A.5-8’de verilmiştir.

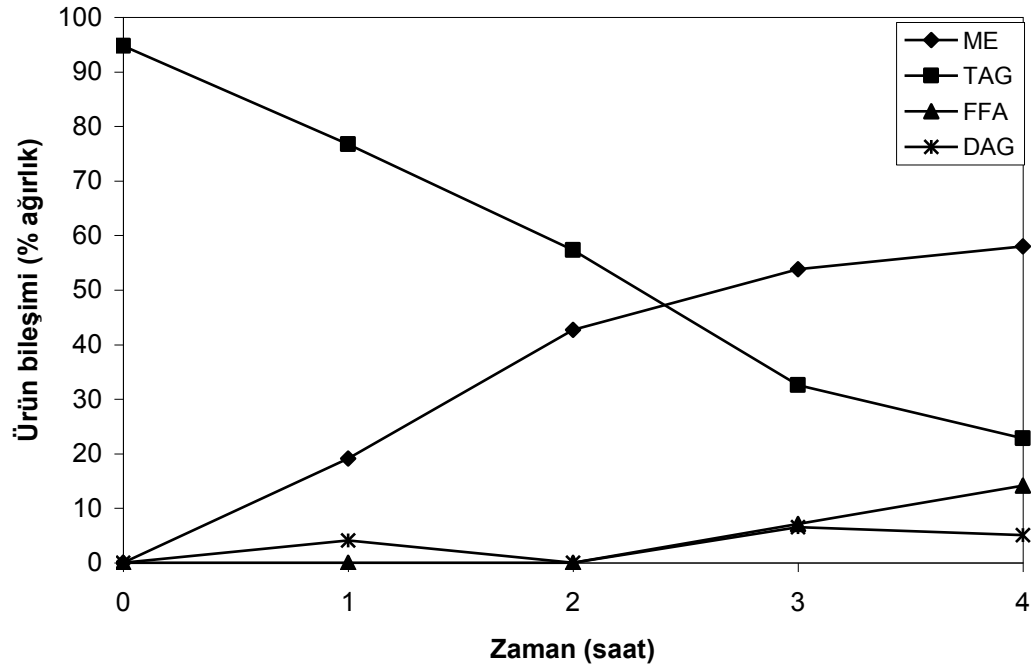
Tablo 4.3: AAAT yağının in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL)

Zaman (saat)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)				
	Enzim/Yağ 0,05	Enzim/Yağ 0,10	Enzim/Yağ 0,15	Enzim/Yağ 0,20	Enzim/Yağ 0,25
0	0	0	0	0	0
1	4,69	11,98	19,13	28,05	42,83
2	9,64	22,22	42,71	48,30	57,98
3	8,83	27,95	53,82	67,84	72,45
4	10,70	33,31	57,99	84,02	59,98

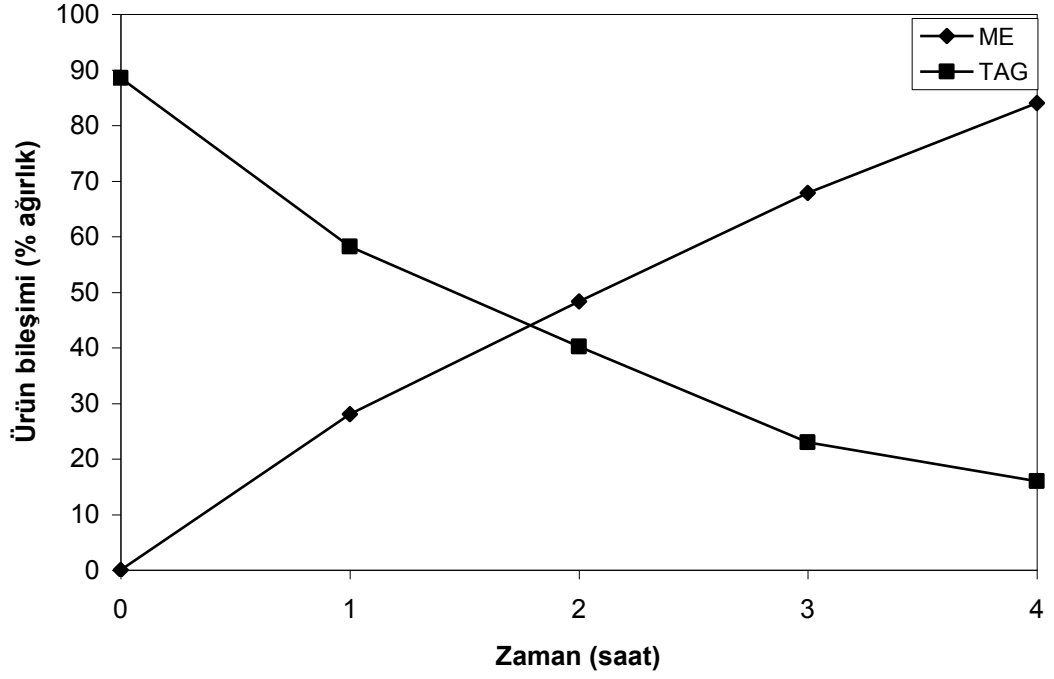
Tablo 4.3’den görüldüğü gibi enzim miktarı arttırıldıkça reaksiyon hızı da önemli ölçüde artmıştır. Ancak ağırlıkça %25 enzim/yağ oranında 4 saat sonunda elde edilen ester miktarında %20 oranında enzim kullanımına göre kayda değer bir artış meydana gelmemiştir. Enzimler oldukça pahalı katalizörler olduklarından, AAAT’nin metanolizi için en uygun enzim/yağ ağırlık oranı, %20 olarak seçilmiştir.



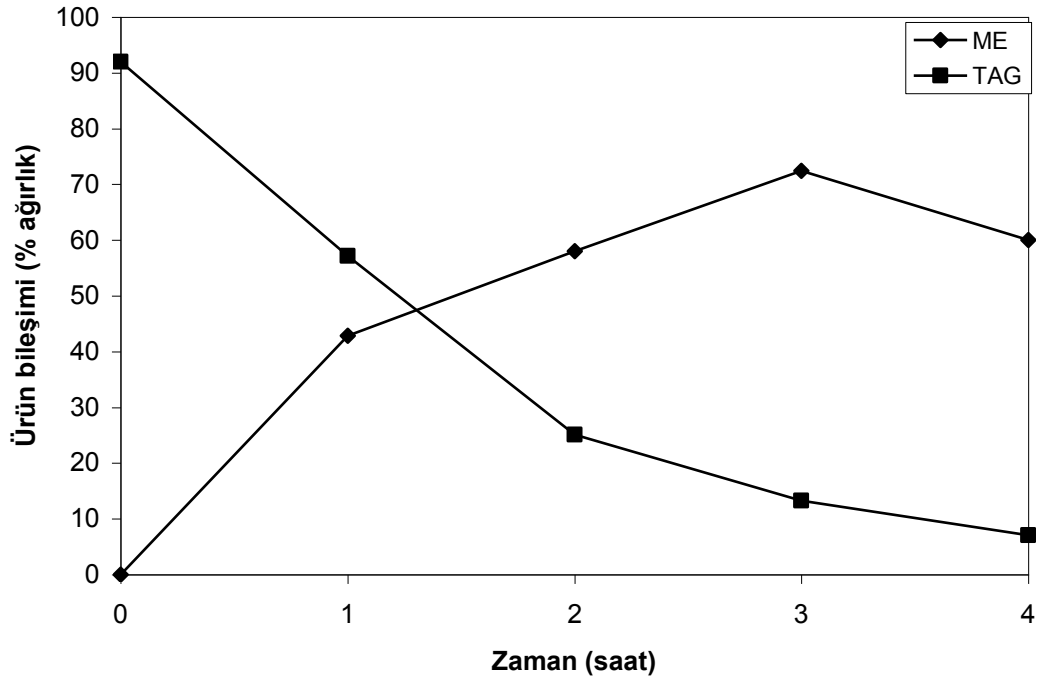
Şekil 4.5: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; **enzim/yağ ağırlık oranı: 0,05**)



Şekil 4.6: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; **enzim/yağ ağırlık oranı: 0,15**)



Şekil 4.7: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; **enzim/yağ ağırlık oranı: 0,20**)



Şekil 4.8: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; **enzim/yağ ağırlık oranı: 0,25**)

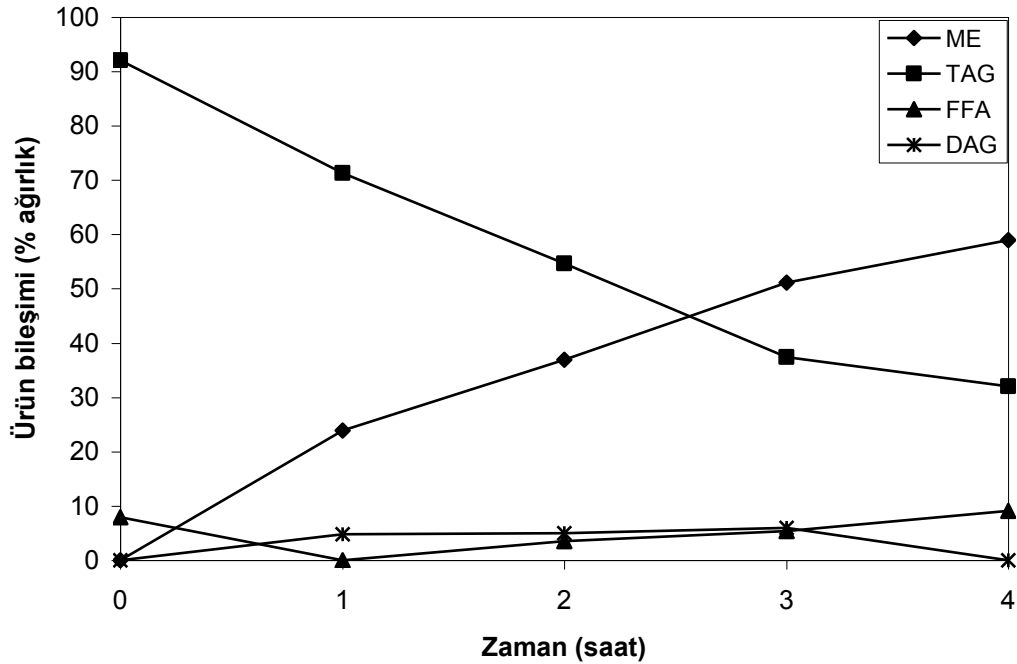
4.4. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Sıcaklığın Etkisi

Enzimatik in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklığın etkisini belirlemek üzere 30 °C, 40 °C, 50 °C ve 60 °C’de, daha önce belirlenen uygun enzim miktarı ve substrat mol oranlarında reaksiyonlar yürütülmüştür. Elde edilen yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri Tablo 4.4’de ve ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.7, 4.9-4.12 ve Ekler bölümünde Tablo A.7, A.9-11’de verilmiştir.

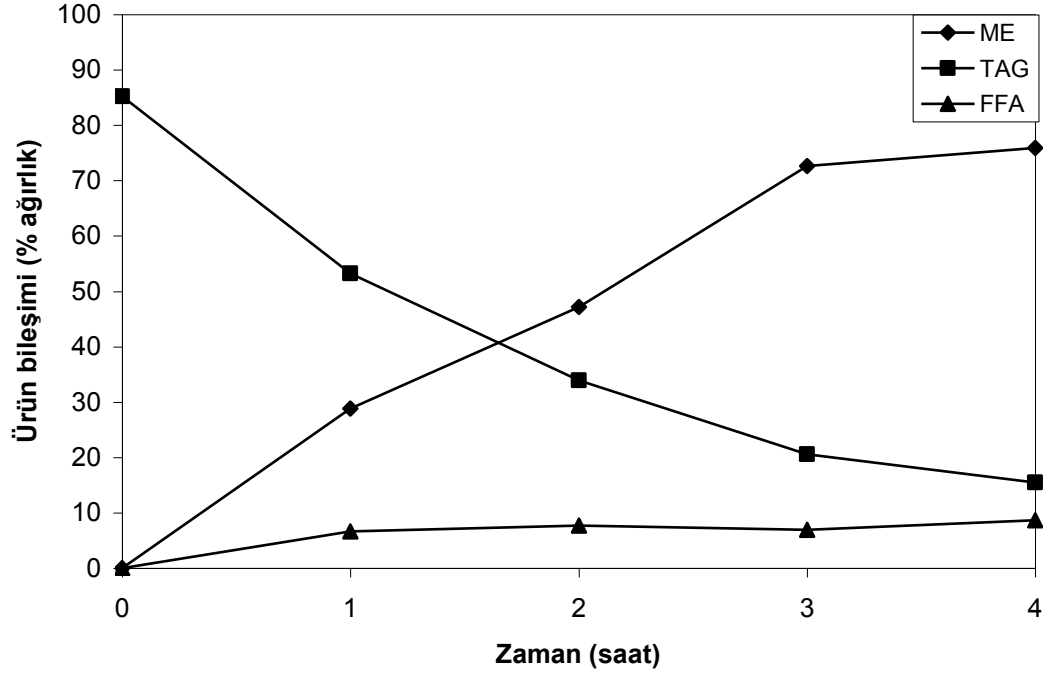
Tablo 4.4: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL;)

Zaman (saat)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)			
	30 °C	40 °C	50 °C	60 °C
0	0	0	0	0
1	23,87	28,05	28,84	26,26
2	36,88	48,30	47,21	43,70
3	51,16	67,84	72,58	48,08
4	58,92	84,02	75,92	63,06

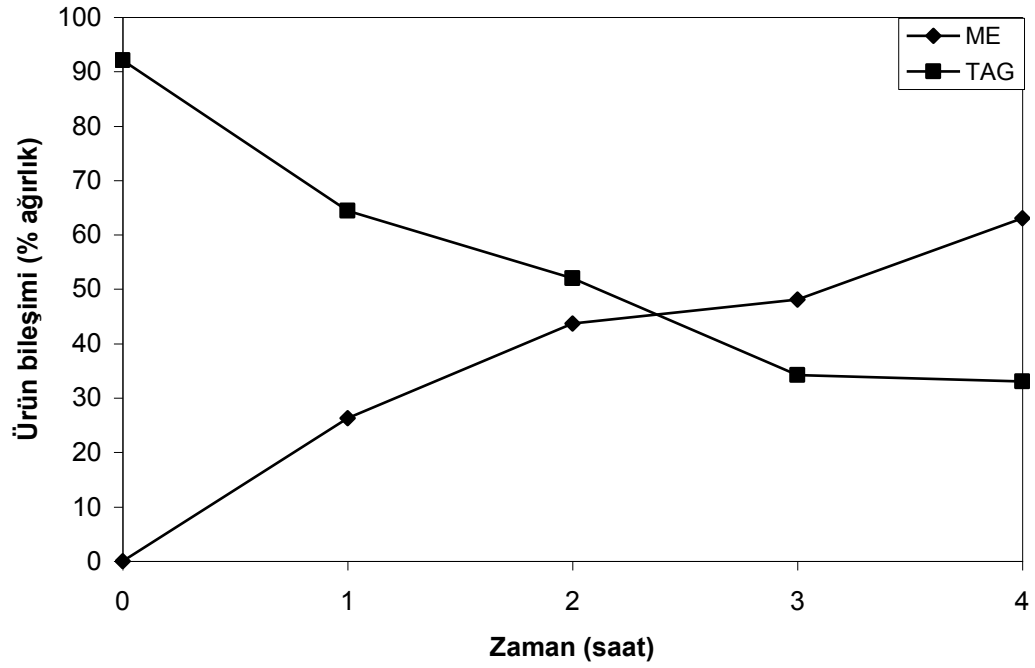
Tablo 4.4’den görüldüğü gibi en yüksek metil ester içeriği (%84,02) 40 °C’de elde edilmiştir. 40 °C’den sonra sıcaklık arttıkça elde edilen ürünlerin metil ester içerikleri düşmüştür. Bu da enzimin bu sıcaklıklarda aktivite kaybettiğini göstermektedir.



Şekil 4.9: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL; **sıcaklık: 30 °C**)



Şekil 4.10: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL; **sıcaklık: 50 °C**)



Şekil 4.11: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklık etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL; **sıcaklık: 60 °C**)

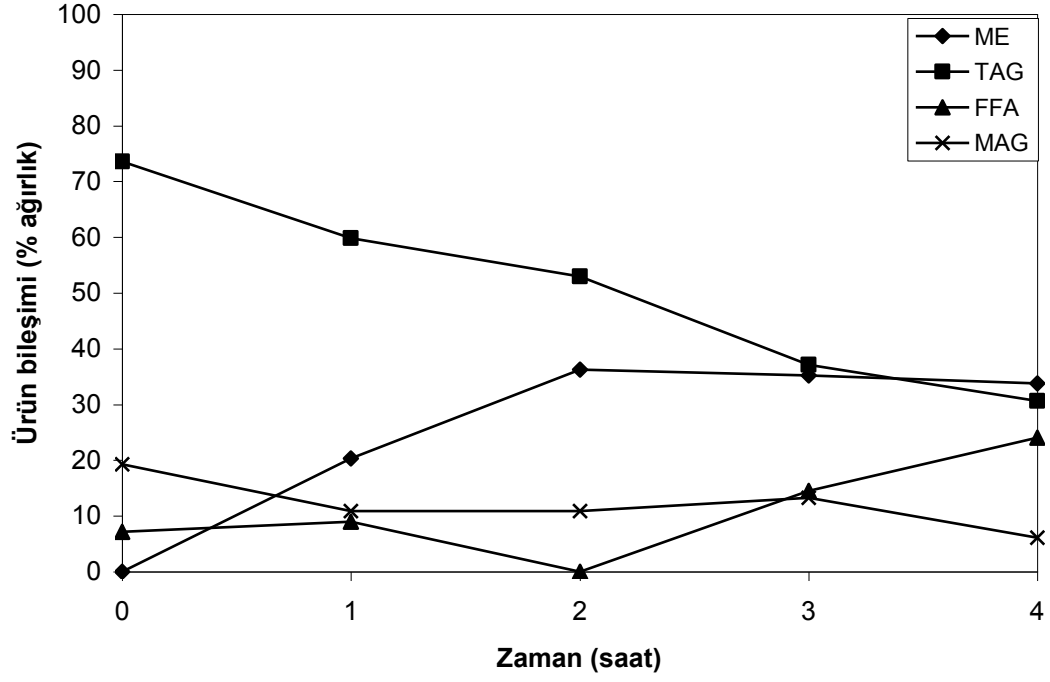
4.5. Atık Aktive Ağartma Toprağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Mol/Alkol Oranı Etkisi

Sanayide metanoliz reaksiyonları metanol fazlasıyla gerçekleştirilmektedir, ancak katalizör olarak lipaz kullanılması, metanol fazlası kullanımını sınırlamaktadır, çünkü metanol lipaz enzimlerini inhibe etmektedir[25]. Bu nedenle katalizör olarak lipaz enzimi kullanıldığında ancak az bir metanol fazlası ile reaksiyon hızında bir artış beklenebilir. Bu nedenle incelenen in situ metanoliz reaksiyonunda en uygun yağ/alkol mol oranının belirlenmesi için 1/2, 1/3 ve 1/4 yağ:alkol mol oranlarında reaksiyonlar yürütülmüştür. In situ metanoliz reaksiyonları, 0,20 enzim/yağ ağırlık oranı ile 40 °C’de, çözücü ortamında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri Tablo 4.5’de ve ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.7, 4.12 ve 4.13 ve Ekler bölümünde Tablo A.7, A.12 ve A.13’de verilmiştir.

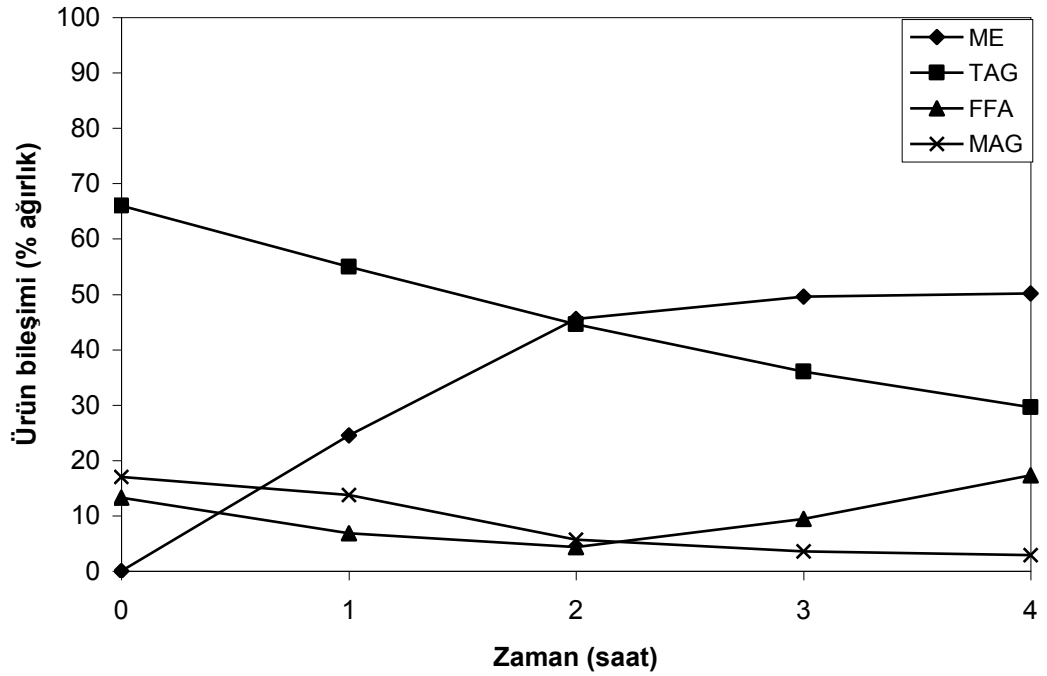
Tablo 4.5: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna mol oranının etkisi (Toprak: 19,889 g; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL;)

Zaman (saat)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)		
	1:2	1:3	1:4
0	0	0	0
1	20,32	28,05	24,52
2	36,22	48,30	45,49
3	35,17	67,84	49,61
4	33,82	84,02	50,19

Tablo 4.5 incelendiğinde, yağ/alkol mol oranı 1/2’den 1/3’e yükseltildiğinde elde edilen ürünlerin metil ester içeriklerinde önemli bir artış görülmektedir. Ancak yağ/alkol oranı 1/4’e çıktığında elde edilen metil ester miktarı düşmüştür. Bunun sebebi, fazla metanolün enzim aktivitesini olumsuz yönde etkilemesidir[25]. Bu nedenle in situ metanoliz reaksiyonu için en uygun yağ/alkol mol oranı 1/3 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.12: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Toprak: 19,889 g; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL; **yağ/alkol oranı:1/2**)



Şekil 4.13: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Toprak: 19,889 g; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL; **yağ/alkol oranı:1/4**)

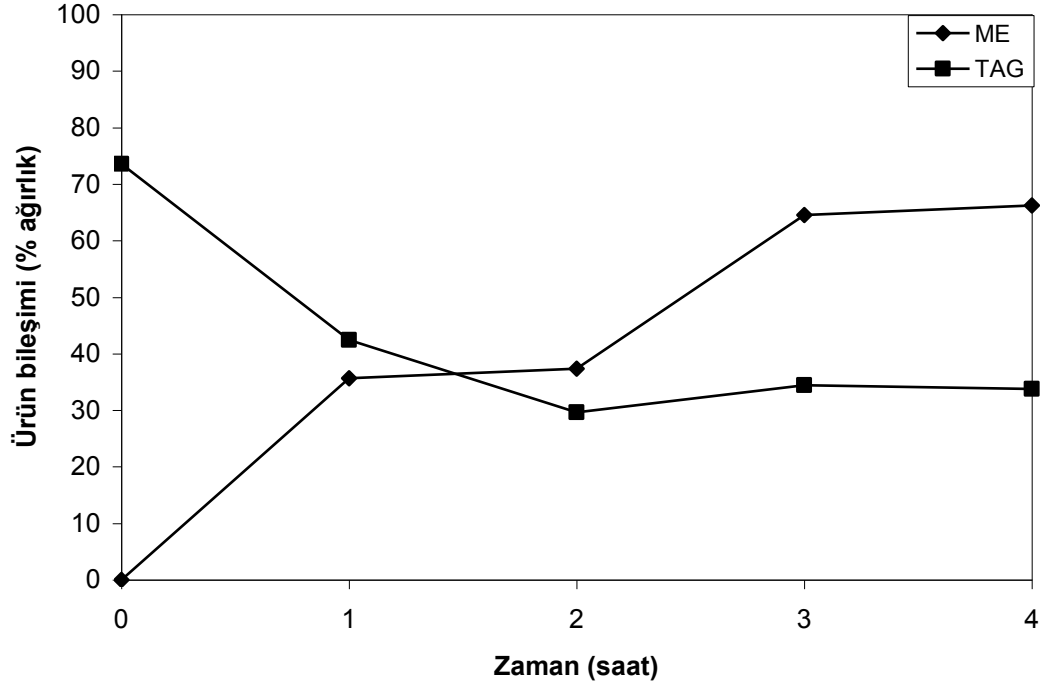
4.6. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Çözücü Tipinin Etkisi

AAAT yağının metanoliz reaksiyonuna kullanılan çözücü tipinin etkisinin incelenmesi amacıyla, reaksiyonlar, daha önce belirlenen uygun reaksiyon koşullarında n-hekzanın yanı sıra petrol eteri, siklohekzan, n-heptan ve iso-oktan ile de yürütülmüştür. Çalışmanın bu bölümü, önceki bölümlerden daha ileri bir tarihte gerçekleştirilmiştir. Bu tarihlerde AAAT yağı önemli ölçüde bozunmuştur. Bu nedenle karşılaştırmanın sağlıklı olabilmesi için, çözücü olarak n-hekzanın kullanıldığı reaksiyon da aynı koşullarda tekrarlanmıştır. Literatürde bitkisel yağların metanolizinde en yüksek metil ester veriminin n-hekzan ve petrol eteri ile elde edildiği, halkalı yapıdaki çözücülerin diğer enzimlerde n-hekzana yakın, ancak Lipozyme RM IM ile oldukça düşük metil ester verimi sağladığı, polar çözücülerin ise her durumda apolar çözücülerle karşılaştırılamayacak kadar düşük metil ester verimi sağladığı belirtilmektedir[26]. Farklı çözücü ortamlarında yürütülen reaksiyonlardan elde edilen ürünlerin yağ asidi metil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri Tablo 4.6’da ve ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.14-18 ve Ekler bölümünde Tablo A.14-18’de verilmiştir.

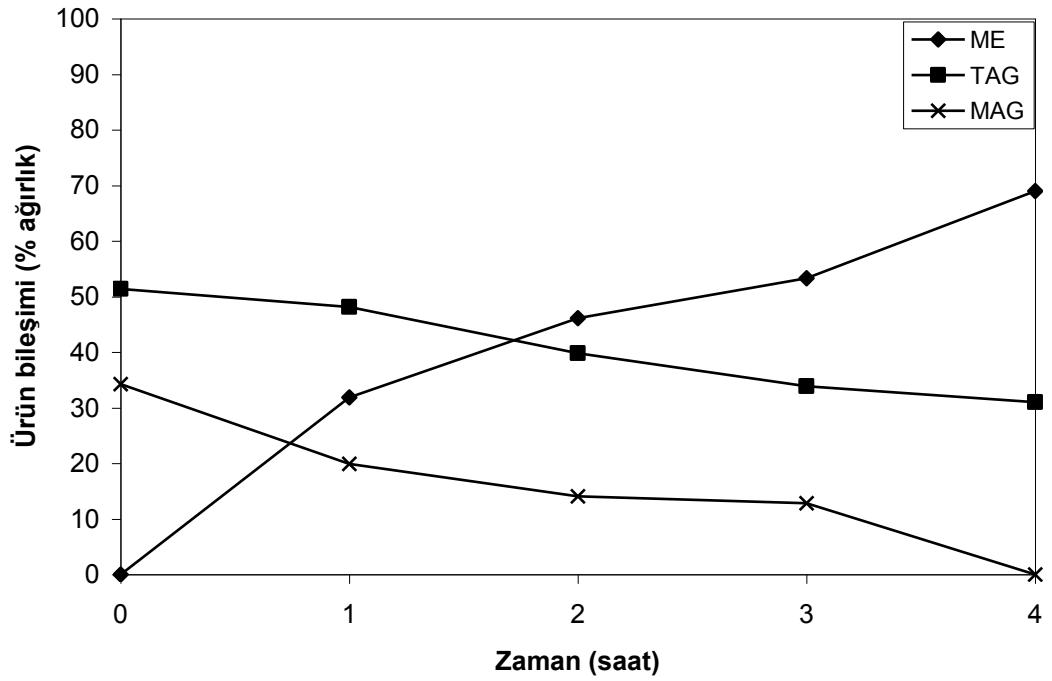
Tablo 4.6: AAAT in situ metanoliz reaksiyonuna çözücü tipinin etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; çözücü: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)				
	n-Hekzan	Petrol eteri	Siklohekzan	n-Heptan	i-Oktan
0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	35,64	31,90	20,14	31,71	41,91
2	37,38	46,13	27,83	41,80	46,83
3	64,57	53,33	37,55	52,88	58,19
4	66,24	69,02	53,51	54,33	63,22

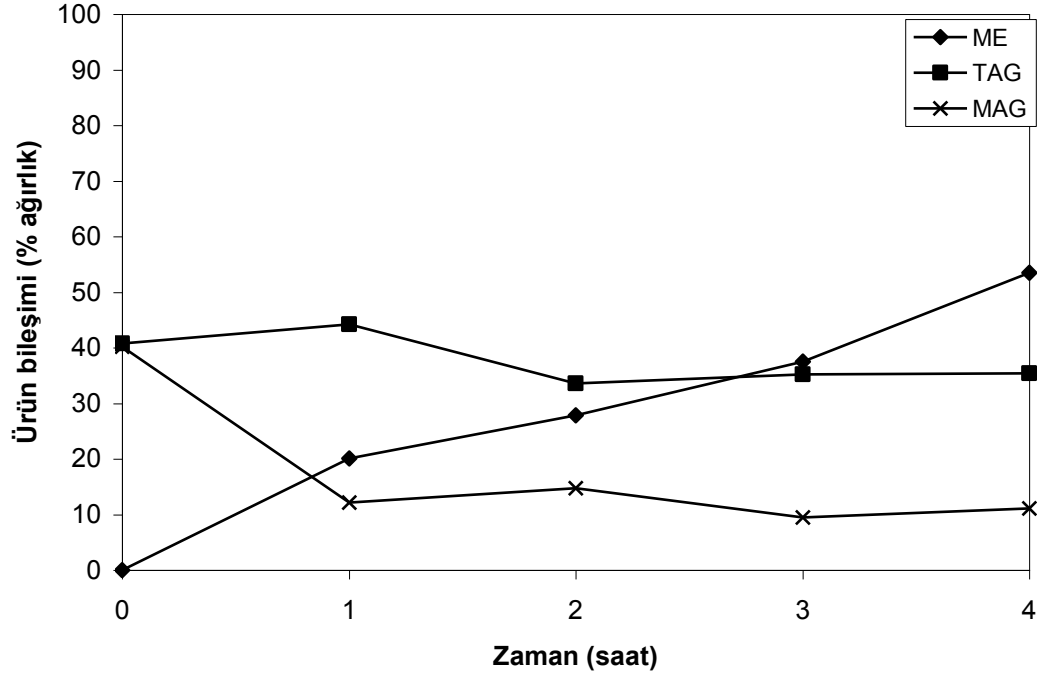
Elde edilen sonuçlar literatürle uyumludur. Petrol eteri ile n-hekzanın 4 saat sonunda yaklaşık olarak aynı metil ester verimini sağladığı görülmüştür. n-Heptan, n-hekzana göre daha düşük bir dönüşüm vermiştir. Buna karşın i-oktan, n-hekzana yakın bir metil ester verimi sağlamıştır; ancak reaksiyon hızı daha yüksektir. Denenen çözücü sayısı kesin bir vargıya ulaşılması için yeterli olmasa da n-alkanların artan karbon sayısının metil ester oluşumuna etkisinin olumsuz olduğu, bunun yanında i-alkanların aynı karbon sayılı n-alkanlara kıyasla yüksek dönüşüm ve reaksiyon hızı sağlayabileceği söylenebilir.



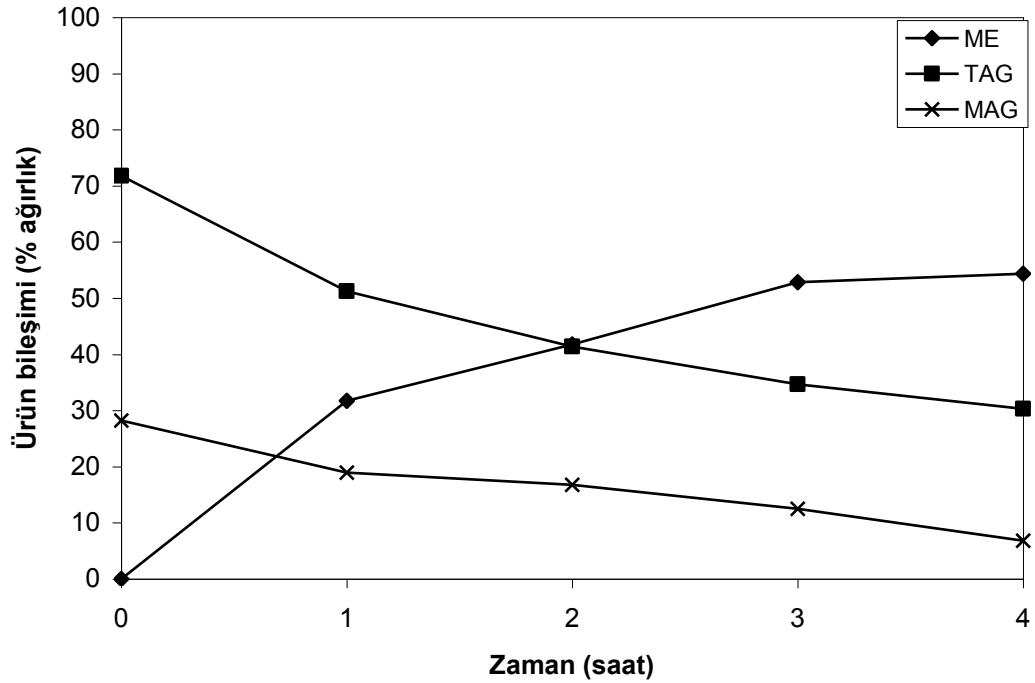
Şekil 4.14: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-hekzan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL)



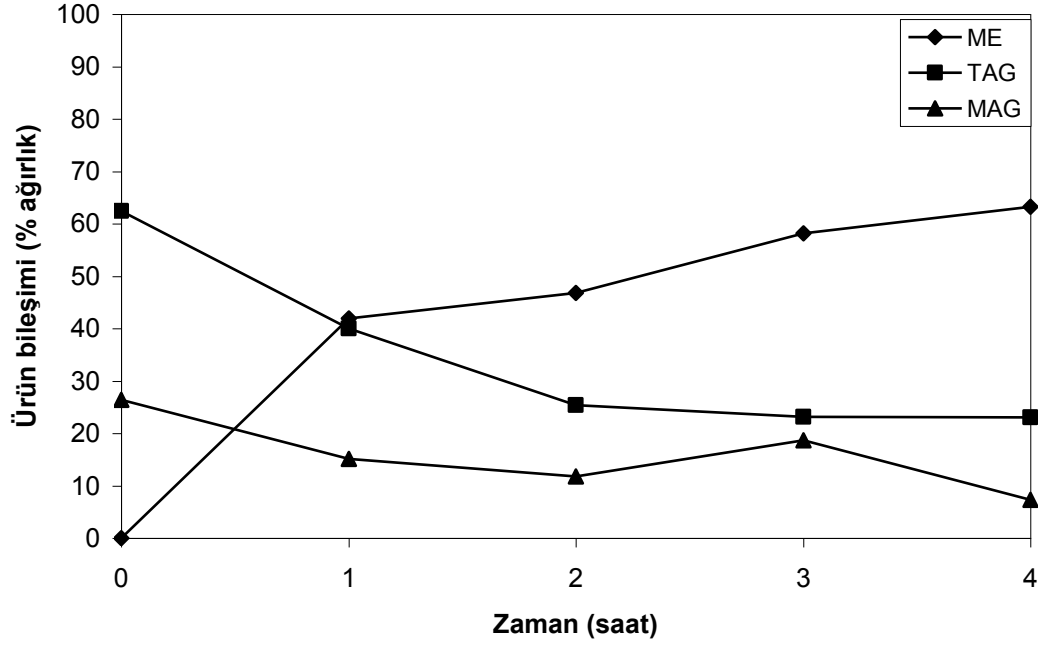
Şekil 4.15: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak petrol eteri kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; petrol eteri: 35,7 mL)



Şekil 4.16: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak sikloheksan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; petrol sikloheksan: 35,7 mL)



Şekil 4.17: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-heptan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; n-heptan: 35,7 mL)



Şekil 4.18: AAAT in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak i-oktan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; i-oktan: 35,7 mL)

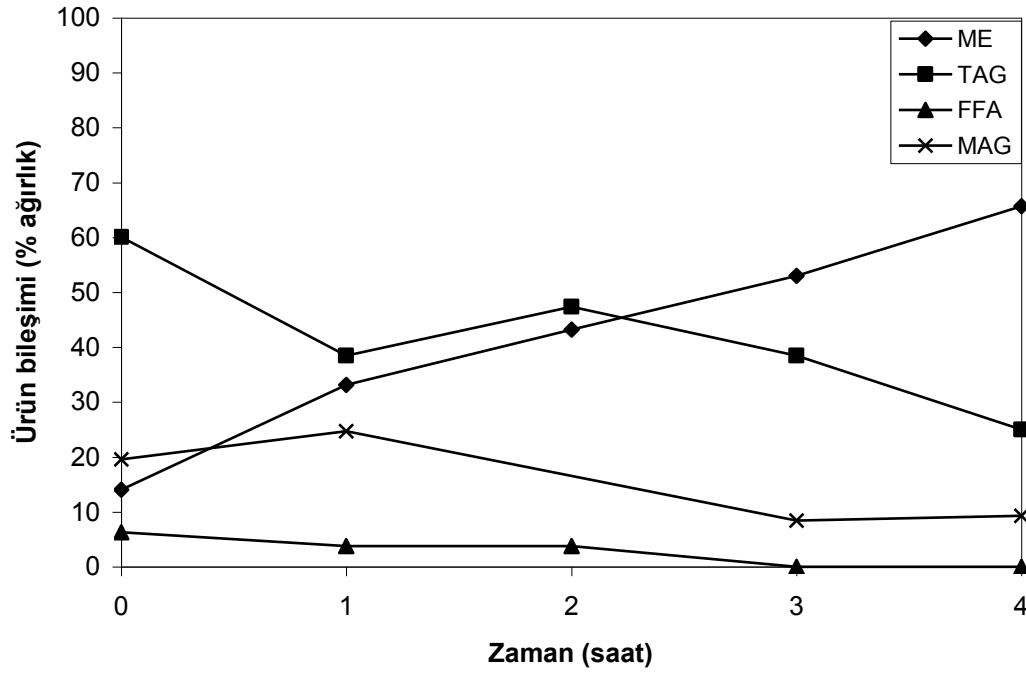
4.7. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının In Situ Metanoliz Reaksiyonuna Alkol Tipinin Etkisi

Alkol tipinin AAAT'nin alkoliz reaksiyonuna olan etkisinin incelenmesi amacıyla, metanolün yanı sıra etanol, n-amil alkol, n-bütanol ve i-bütanol ile alkoliz reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Tüm reaksiyonlar 1/3 yağ/alkol mol oranı ve 0,20 enzim/yağ ağırlık oranı ile 40 °C'de gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak 37,5 mL n-hekzan kullanılmıştır. Elde edilen ürünlerin yağ asidi alkil ester içeriklerinin zamana göre değişimleri Tablo 4.7'de ve ürün bileşimlerinin zamana göre değişimleri Şekil 4.14, 4.19-22 ve Ekler bölümünde Tablo A.14, A.19-22'de verilmiştir.

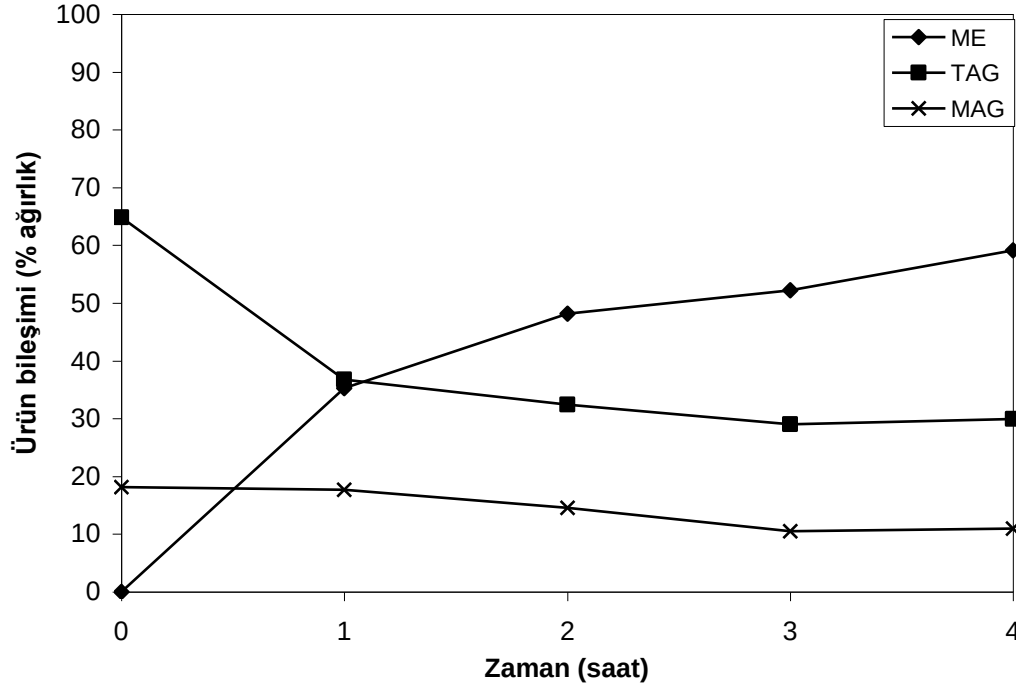
Tablo 4.7: AAAT in situ alkoliz reaksiyonuna alkol tipinin etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Yağ Asidi Metil Ester İçeriği (% Ağırlık)				
	Metanol	Etanol	n-Bütanol	i-Bütanol	n-Amil alkol
0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	35,64	33,10	35,20	0,00	49,10
2	37,38	43,20	48,10	53,20	41,14
3	64,57	53,00	52,20	65,61	66,00
4	66,24	65,70	59,00	73,53	79,00

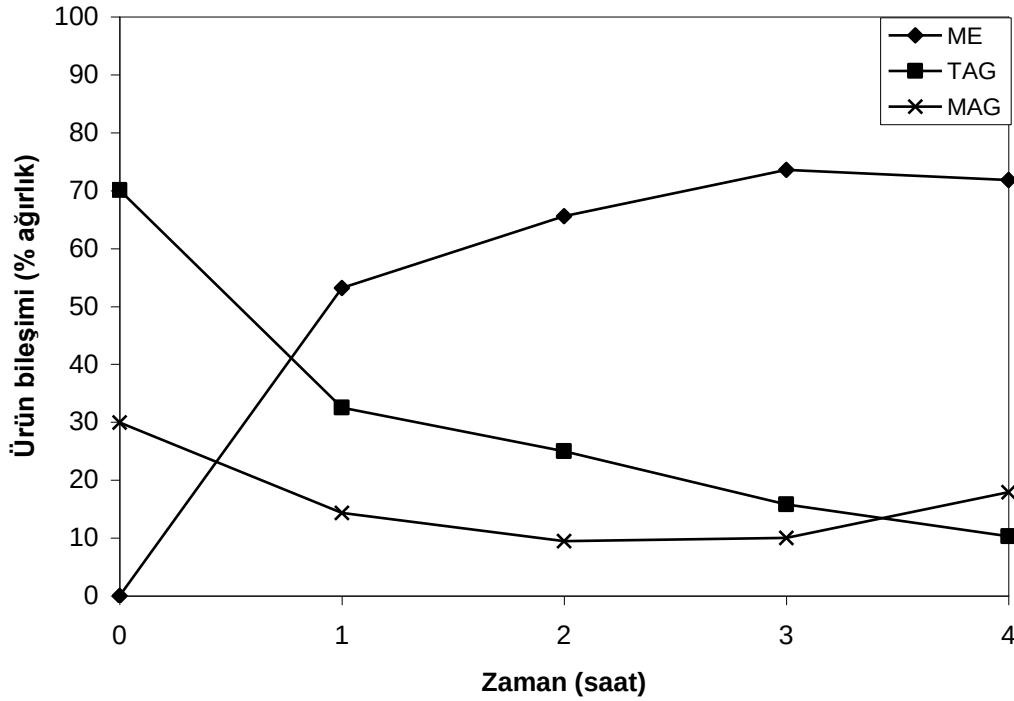
4 saat sonunda en yüksek alkil ester içeriği (%79) n-amil alkol ile elde edilmiştir, ancak ilk üç saat boyunca en yüksek alkil ester içeriği, i-bütanol kullanıldığında elde edilmiştir. Etanol ve n-bütanol ile gerçekleştirilen alkoliz reaksiyonlarında metanol ile yürütülen reaksiyona göre daha düşük metil ester verimi elde edilmiştir. Tablo 4.7’de elde edilen sonuçlara göre AAAT yağının enzimatik alkolizi reaksiyonu için en uygun alkollerin i-bütanol ve n-amil alkol olduğu söylenebilir.



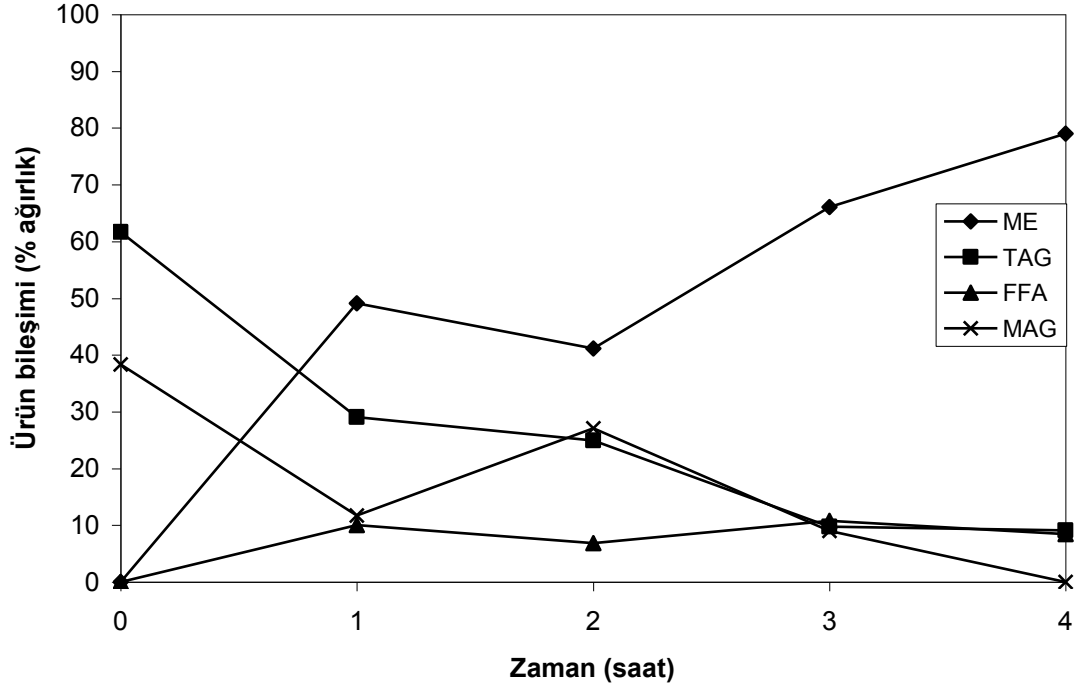
Şekil 4.19: AAAT in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak etanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL)



Şekil 4.20: AAAT in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL)



Şekil 4.21: AAAT in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak i-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL)



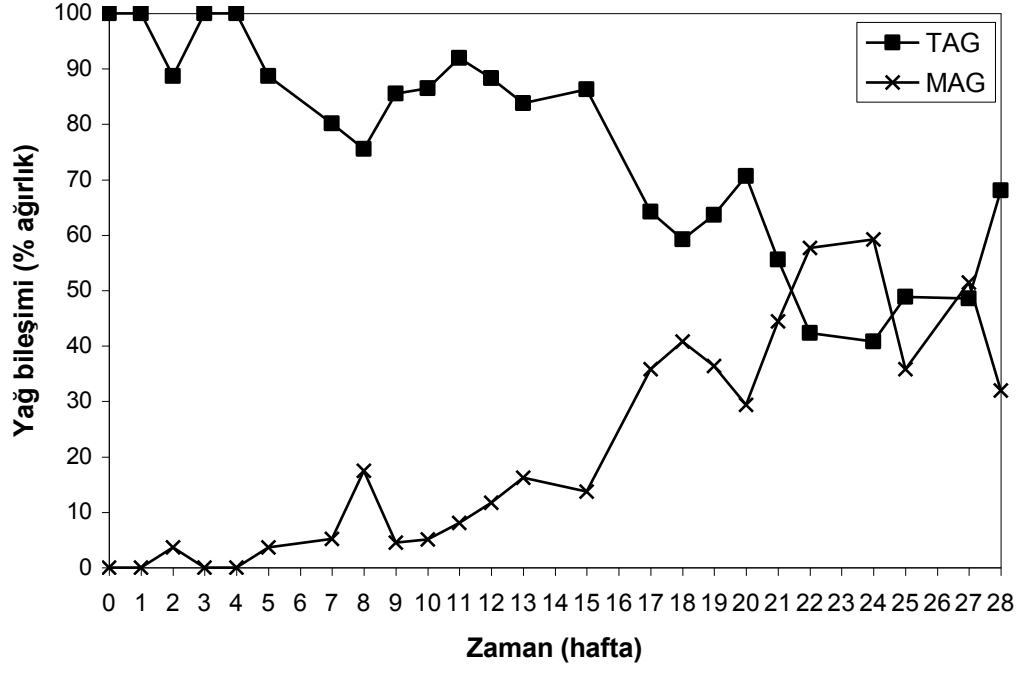
Şekil 4.22: AAAT in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-amil alkol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL)

4.8. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Bozunması

AAAT kendi kendine yanma özelliğine sahiptir. Ayrıca AAAT'nin içerdiği yağ zamanla bozunmaktadır[5]. Bu nedenle deneylerde kullanılan AAAT, kendi kendine okside olmaması ve içerdiği bileşiklerin bozunmaması için 4 °C'de saklanmıştır. Çalışma süresince, yağın stabilitesini izlemek amacıyla periyodik olarak Bölüm 3.4'de açıklanan yöntemle göre AAAT'den yağ ekstrakte edilmiş ve bileşimi, reaksiyon ürünleri bileşimlerinin incelenmesinde kullanılan kromatografi yöntemi uygulanarak analiz edilmiştir. İlk ay boyunca yağ bileşiminde önemli bir değişiklik olmamış, ancak daha sonra MAG oluşumu gözlenmeye başlanmıştır. MAG oluşumu 10. haftadan sonra hızlanmaya başlamıştır. 15. haftadan sonra ise MAG miktarında ani bir artış gözlenmiştir. Atık aktive ağartma toprağındaki yağın bozunması, Şekil 4.23'de ve Ekler bölümünde Tablo B.1.'de gösterilmiştir.

Ekstrakte edilmiş yağ alkolizi ile in situ alkolizin karşılaştırılması ve enzim seçimi deneyleri ile enzim miktarı, sıcaklık ve yağ/alkol oranının etkilerinin incelendiği deneyler ilk 12 hafta içerisinde yapılmıştır. Bu dönem içerisinde yapılan paralel deneyler, bu aşamadaki bozunmanın alkoliz reaksiyonunu etkilemediğini göstermiştir. Ancak daha ileriki tarihlerde tekrarlanan paraleller, dördüncü aydan

itibaren bozunmanın reaksiyon ürün bileşimini etkileyecek boyutlara geldiğini göstermektedir.



Şekil 4.23: 4 °C’de saklanan AAT’nin içerdği yağın bozunması

5. VARGILAR VE ÖNERİLER

Türkiye kökenli ayçiçeği yağının rafinasyonu prosesinden alınan AAAT yağının enzimatik metanolizi için en uygun koşulların belirlendiği ve bu koşullarda yürütülen metanoliz reaksiyonunun diğer alkollerle yürütülen alkoliz reaksiyonlarıyla karşılaştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır.

1. AAAT'den ekstrakte edilen yağın metanoliz reaksiyonu ile in situ reaksiyon karşılaştırılmıştır. In situ reaksiyonun daha hızlı yürüdüğü ve in situ reaksiyon ile daha yüksek metil ester verimi sağlandığı belirlenmiştir.

2. AAAT yağının in situ metanolizinde Lipozyme TL IM ve Lipozyme RM IM immobilize lipazları karşılaştırılmış ve Lipozyme RM IM ile daha yüksek metil ester verimi sağlandığı belirlenmiştir.

3. Enzim miktarı, sıcaklık ve yağ/metanol mol oranının, incelenen metanoliz reaksiyonu üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürütülen deneyler neticesinde belirlenen ve en uygun olduğu düşünülen koşullar aşağıdaki gibidir:

Enzim/yağ oranı : 0,20

Yağ/metanol mol oranı : 1/3

Sıcaklık : 40 °C

4. Atık aktive ağartma toprağı yağının, katalizör olarak Lipozyme RM IM kullanılan, 0,20 enzim/yağ oranı, 1/3 yağ/alkol oranı ve 40 °C sıcaklıkta in situ gerçekleştirilen alkolizi reaksiyonunda en yüksek metil ester veriminin n-amil alkol ve i-bütanol ile sağlandığı belirlenmiştir.

5. Atık aktive ağartma toprağı yağının bozunmaması için en geç üç ay içinde kullanılması gerektiği belirlenmiştir.

6. Atık aktive ağartma toprağı, biyodizel üretimi için uygun bir hammaddedir. Atık aktive ağartma toprağı yağının metanolizi için Lipozyme RM IM uygun bir biyokatalizördür.

7. Atık aktive ağartma toprağı yağının metanolizi sonucu elde edilen yağ asidi metil ester karışımının biyodizel olarak kullanılma potansiyelinin belirlenmesi için bu ürünün yakıt özelliklerinin belirlenmesi ve biyodizel standartlarına uygunluğunun incelenmesi gereklidir.

8. Metanolden daha yüksek yağ asitleri esteri verimi sağlamış olan n-amil alkolün ve i-bütanolün yağ asitleri esterlerinin, kullanım potansiyellerinin belirlenebilmesi için yakıt özelliklerinin incelenmesi ve yağ asitleri metil esterleri ile karşılaştırılması gerekmektedir.

9. Atık aktive ağartma toprağından ticari ölçekte biyodizel üretimi için, reaksiyon sonucu elde edilen yağ asidi metil esterlerinin reaksiyon karışımından ayrılması prosesinin geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Kurt, G.**, 1997. Ayçiçeği yağının doğrudan alternatif yakıt olarak değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [2] **Salunkhe, D.K., Chavan, J.K., Adsule, R.N., Kadam, S.S.**, 1992. World oilseeds : chemistry, technology, and utilization, Van Nostrand Reinhold, New York.
- [3] **Watanabe, Y., ve diğerleri**, 2002. Conversion of degummed soybean oil to biodiesel fuel with immobilized *Candida antarctica* lipase, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **17**, 151-155.
- [4] **Lie, R., Pettersen, J.M., Hamilton, R.J.**, 2001. Agricultural Uses of Oleochemicals, in *Oleochemical Manufacture and Applications*, pp. 199-226, Eds. Gunstone, F.D., Hamilton, R.J., Sheffield Academic Press, Sheffield.
- [5] **“Technologies for Industrial Processing of Fats and Oils” Study Group**, 2001. Bleaching of Edible Fats and Oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **103**, 505-508.
- [6] **Roberts, D.W.**, 2001. Manufacture of Anionic Surfactants, in *Oleochemical Manufacture and Applications*, pp. 199-226, Eds. Gunstone, F.D., Hamilton, R.J., Sheffield Academic Press, Sheffield.
- [7] **Bondioli, P.**, 2001. Lubricants and Hydraulic Fluids, in *Oleochemical Manufacture and Applications*, pp. 199-226, Eds. Gunstone, F.D., Hamilton, R.J., Sheffield Academic Press, Sheffield.
- [8] **Demirbaş, A.**, 2003. Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: a survey, *Energy Conversion and Management*, **44**, 2093-2109.
- [9] **Ma, F., Hanna, M.A.**, 1999. Biodiesel Production: a Review, *Bioresource Technology*, **70**, 1-15.
- [10] **Schuchardt, U., Sercheli, R., Vargas, R.M.**, 1998. Transesterification of Vegetable Oils: a Review, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **9**, 199-210.
- [11] **Fukuda, H., Kondo, A., Noda, H.**, 2001. Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **92**, 405-416.
- [12] **Du, W., ve diğerleri**, 2004. Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **30**, 125-129.
- [13] **Kaieda, M., ve diğerleri**, 1999. Biodiesel Fuel Production from Plant Oil Catalyzed by *Rhizopus oryzae* Lipase in a Water-Containing System without an organic solvent, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **88**, 627-631.

- [14] **Knothe, G., Dunn, R.O.**, 2001. Biofuels Derived from Vegetable Oils and Fats, in *Oleochemical Manufacture and Applications*, pp. 199-226, Eds. Gunstone, F.D., Hamilton, R.J., Sheffield Academic Press, Sheffield.
- [15] **Anastopoulos, G., ve diğeri**, 2001. Lubrication Properties of Low-Sulfur Diesel Fuels in the Presence of Specific Types of Fatty Acid Derivatives Lipase in a Water-Containing System without an organic solvent, *Energy and Fuels*, **15**, 106-112.
- [16] **Canadian Renewable Fuels Association**, 2005. "Biodiesel Around the World", web sayfası. www.greenfuels.org
- [17] **Kurşun, E.**, 2002. Ayçiçeği asidik yağının enzimatik esterleşmesi ile yağ asidi esterlerinin üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [18] **Abreu, F.R.**, 2004. Utilization of Metal Complexes as Catalysts in the Transesterification of Brazilian Vegetable Oils with Different Alcohols, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **209**, 29-33.
- [19] **Soumanou, M.M., Bornscheuer, U.T.**, 2003. Lipase-catalyzed alcoholysis of vegetable oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **105**, 656-660.
- [20] **Pizarro, A.V.L., Park, E.Y.**, 2003. Lipase-catalyzed production of biodiesel fuel from vegetable oils contained in waste activated bleaching earth, *Process Biochemistry*, **38**, 1077-1082.
- [21] **Kaieda, M., ve diğeri**, 2001. Effect of Methanol and Water Contents on Production of Biodiesel Fuel from Plant Oil Catalyzed by Various Lipases in a Solvent-Free System, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **91**, 12-15.
- [22] **Watanabe, T., ve diğeri**, 2005. Diacylglycerol production in a packed bed bioreactor, *Process Biochemistry*, **40**, 637-643.
- [23] **Ulbert, O., ve diğeri**, 2004. Enhanced enantioselectivity of *Candida rugosa* lipase in ionic liquids as compared to organic solvents, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **31**, 39-45.
- [24] **Tashtoush, G.M., Al-Widyan, M.I., Al-Jarrah, M.M.**, 2004. Experimental study on evaluation and optimization of conversion of waste animal fat into biodiesel, *Energy Conversion and Management*, **45**, 2697-2711.
- [25] **Köse, Ö., Tüter, M., Aksoy, H.A.**, 2002. Immobilized *Candida antarctica* lipase-catalyzed alcoholysis of cotton seed oil in a solvent-free medium, *Bioresouce Technology*, **83**, 125-129.
- [26] **Soumanou, M.M., Bornscheuer, U.T.**, 2003. Improvement in Lipase-Catalyzed Synthesis of Fatty Acid Methyl Esters from Sunflower Oil, *Enzyme and Microbial Technology*, **33**, 97-103.
- [27] **Samukawa, T., ve diğeri**, 2000. Pretreatment of Immobilized *Candida antarctica* Lipase for Biodiesel Fuel Production from Plant Oil, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **90**, 180-183.

- [28] **Iso, M. ve diğeri**, 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **16**, 53-58.
- [29] **Lara, P.V., Park, E.Y.**, 2004. Potential application of waste activated bleaching earth on the production of fatty acid alkyl esters using *Candida cylindracea* lipase in organic solvent system, *Enzyme and Microbial Technology*, **34**, 270-277.
- [30] **Cocks, L.V., Van R.C.**, 1966. Laboratory Handbook of Oil and Fat Analysis, Academic Press, London and New York.
- [31] **Ming, H., Pizarro, A.V.L., Park, E.Y.**, 2003. Application of Waste Activated Bleaching Earth Containing Rapeseed Oil on Riboflavin Production in the Culture of *Ashbya gossypii*, *Biotechnology Progress*, **19**, 410-417.

EK A.

Tablo A.1: AAAT'den ekstrakte edilen yağ ile yürütülen alkoliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Yağ: 5 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 °C ; n-hekzan: 25 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	100	0,00	0,00	0,00
1	16,99	78,26	4,75	0,00	0,00
2	35,73	59,00	5,27	0,00	0,00
3	43,21	45,43	6,57	4,79	0,00
4	32,44	59,06	6,45	2,05	0,00

Tablo A.2: In situ reaksiyonda ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 50 °C ; n-hekzan: 37,5 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	100	0,00	0,00	0,00
1	42,86	49,28	0,00	7,86	0,00
2	60,02	24,53	7,32	8,12	0,00
3	71,13	18,19	10,68	0,00	0,00
4	82,55	17,45	0,00	0,00	0,00

Tablo A.3: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme RM IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00
1	11,98±0,28	77,89±2,21	5,35±1,1	4,78±0	0,00
2	22,22±2,9	63,66±5,45	7,47±0,04	6,65±0,88	0,00
3	27,95±0,54	54,56±4,43	10,37±3,23	7,12±0	0,00
4	33,31±5,92	43,62±2,2	14,87±6,4	8,20±1,71	0,00

Tablo A.4: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda Lipozyme TL IM enzimi varlığında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,1; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	83,46±7,93	6,96±0	0,00	13,06±4,45
1	10,69±0,14	71,66±2,89	10,68±1,3	0,00	6,97±1,45
2	12,28±0,53	68,33±2,57	7,19±0,98	6,33±0,14	5,87±1,98
3	13,68±0,18	66,89±4,54	8,64±0	8,08±0,21	7,03±0,18
4	15,13±0,21	67,87±2,05	9,34±2,26	7,66±0,01	0,00

Tablo A.5: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,05)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	93,66	0,00	0,00	6,34
1	4,69	84,98	0,00	4,96	5,37
2	9,64	90,36	0,00	0,00	0,00
3	8,83	74,62	9,64	6,91	0,00
4	10,70	69,98	11,42	7,90	0,00

Tablo A.6: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,15)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	94,71	0,00	0,00	5,29
1	19,13	76,75	0,00	4,12	0,00
2	42,71	57,29	0,00	0,00	0,00
3	53,82	32,55	7,15	6,48	0,00
4	57,99	22,80	14,11	5,10	0,00

Tablo A.7: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,20)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	88,48±4,72	0,00	0,00	11,52±4,72
1	28,05±1,34	58,16±2,81	0,00	5,74±0,14	8,05±1,64
2	48,30±2,28	40,15±2,99	4,47±0,27	3,81±0,24	3,27±0,20
3	67,84±5,8	22,93±6,24	5,10±0,24	4,13±0,20	0,00
4	84,02±0	15,98±0	0,00	0,00	0,00

Tablo A.8: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna enzim miktarının etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 37,5 mL; enzim/yağ ağırlık oranı: 0,25)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	91,95	0,00	0,00	8,05
1	42,83	57,17	0,00	0,00	0,00
2	57,98	25,06	16,96	0,00	0,00
3	72,45	13,30	14,25	0,00	0,00
4	59,98	7,07	32,95	0,00	0,00

Tablo A.9: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklığın etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim: Lipozyme RM IM; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL; sıcaklık: 30 °C)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	92,11	7,89	0,00	0,00
1	23,87	71,35	0,00	4,79	0,00
2	36,88	54,64	3,51	4,97	0,00
3	51,16	37,45	5,37	6,02	0,00
4	58,92	32,01	9,07	0,00	0,00

Tablo A.10: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklığın etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim: Lipozyme RM IM; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL; sıcaklık: 50 °C)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	85,20	0,00	0,00	14,80
1	28,84	53,23	6,63	5,74	5,56
2	47,21	33,86	7,72	6,11	5,11
3	72,58	20,54	6,88	0,00	0,00
4	75,92	15,47	8,61	0,00	0,00

Tablo A.11: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna sıcaklığın etkisi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; enzim: Lipozyme RM IM; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL; sıcaklık: 60 °C)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	92,07±7,92	0,00	0,00	7,93±7,82
1	26,26±2,58	64,39±7,10	5,16±0	0,00	4,19±5,77
2	43,70±2,61	52,00±6,91	0,00	8,60±0	0,00
3	48,08±6,92	34,17±2,11	6,99±0,10	6,23±0,38	4,53±4,53
4	63,06±2,66	33,04±1,25	0,00	3,90±0	0,00

Tablo A.12: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Toprak: 19,889 g; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL; yağ/alkol oranı:1/2)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	73,54	7,17	0,00	19,29
1	20,32	59,83	9,02	0,00	10,84
2	36,22	52,95	0,00	0,00	10,83
3	35,17	37,09	14,52	0,00	13,23
4	33,82	30,62	24,06	5,42	6,09

Tablo A.13: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonuna yağ/alkol mol oranının etkisi (Toprak: 19,889 g; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; sıcaklık: 40 °C; n-hekzan: 35,7 mL; yağ/alkol oranı:1/4)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	65,95±6,69	13,26±0,43	3,79±3,78	17,00±3,33
1	24,52±2,51	54,94±2,22	6,82±0,19	0,00	13,72±0,10
2	45,49±2,06	44,55±7,91	4,34±4,30	0,00	5,62±0
3	49,61±5,34	36,00±2,18	9,45±2,57	1,43±1,34	3,52±3,02
4	50,19±1,02	29,60±3,04	17,33±4,89	0,00	2,88±2,87

Tablo A.14: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-hekzan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	73,54	7,17	0,00	19,29
1	35,64	42,43	0,00	0,00	21,93
2	37,38	29,66	0,00	0,00	32,96
3	64,57	34,43	0,00	0,00	0,00
4	66,24	33,76	0,00	0,00	0,00

Tablo A.15: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak petrol eteri kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; petrol eteri: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	51,43	9,40	0,00	34,25
1	31,90	48,17	0,00	0,00	19,93
2	46,13	39,82	0,00	0,00	14,07
3	53,33	33,85	0,00	0,00	12,82
4	69,02	30,98	0,00	0,00	0,00

Tablo A.16: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak sikloheksan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; petrol sikloheksan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	40,79	13,30	5,68	40,24
1	20,14	44,17	13,95	6,17	12,11
2	27,83	33,61	12,34	11,50	14,73
3	37,55	35,17	11,50	6,27	9,50
4	53,51	35,43	--	--	11,06

Tablo A.17: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak n-heptan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-heptan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	71,77	--	--	28,23
1	31,71	51,19	--	--	18,93
2	41,80	41,41	--	--	16,79
3	52,88	34,62	--	--	12,49
4	54,33	30,27	8,61	--	6,79

Tablo A.18: AAAT'nin in situ metanoliz reaksiyonunda çözücü olarak i-oktan kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/metanol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; i-oktan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	--	62,43	--	8,37	26,35
1	41,91	39,96	--	5,94	15,16
2	46,83	25,34	--	12,18	11,82
3	58,19	23,18	--	--	18,63
4	63,22	23,01	--	6,47	7,30

Tablo A.19: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak etanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-heksan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	14,09	60,03	6,31	--	19,58
1	33,11	38,43	3,79	--	24,66
2	43,19	47,36	3,76	5,69	--
3	53,03	38,51	--	--	8,46
4	65,71	24,96	--	--	9,34

Tablo A.20: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	64,82	0,00	0,00	18,18
1	35,23	36,75	0,00	0,00	17,72
2	48,17	32,38	0,00	0,00	14,53
3	52,20	28,96	0,00	0,00	10,54
4	59,13	29,91	0,00	0,00	10,95

Tablo A.21: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak i-bütanol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	70,10	0,00	0,00	29,90
1	53,20	32,50	0,00	0,00	14,30
2	65,61	24,95	0,00	0,00	9,44
3	73,53	15,83	0,00	0,00	10,04
4	71,78	10,30	0,00	0,00	17,92

Tablo A.22: AAAT'nin in situ alkoliz reaksiyonunda alkol olarak n-amil alkol kullanıldığında ürün bileşiminin zamana göre değişimi. (Toprak: 19,889 g; yağ/alkol mol oranı: 1/3; sıcaklık 40 °C; enzim:yağ ağırlık oranı: 0,20; n-hekzan: 35,7 mL)

Zaman (saat)	Ürün Bileşimi (% Ağırlık)				
	ME	TAG	FFA	DAG	MAG
0	0,00	61,69	0,00	0,00	38,31
1	49,14	29,07	10,05	0,00	11,74
2	41,14	24,95	6,80	0,00	27,11
3	66,04	9,73	10,78	4,48	8,98
4	79,01	9,12	8,43	3,45	0,00

EK B.**Tablo B.1:** 4 °C’de saklanan AAT’nin içerdği yağın bozunması

Zaman (hafta)	Yağ bileşimi (% ağırlık)			
	TAG	FFA	DAG	MAG
1	100	--	--	--
2	100	--	--	--
3	88,65	--	7,7	3,65
4	100	--	--	--
5	100	--	--	--
6	88,65	--	7,7	3,65
8	80,09	--	14,77	5,14
9	75,53	6,96	--	17,51
10	85,49	4,9	5,08	4,53
11	86,46	--	8,43	5,11
12	91,95	--	--	8,05
13	88,32	--	--	11,68
14	83,76	--	--	16,24
16	86,32	--	--	13,68
18	64,18	--	--	35,82
19	59,26	--	--	40,74
20	63,67	--	--	36,33
21	70,68	--	--	29,32
22	55,61	--	--	44,39
23	42,35	--	--	57,65
25	40,81	--	--	59,19
26	48,85	15,37	--	35,78
28	48,57	--	--	51,43
29	68,03	--	--	31,97

ÖZGEÇMİŞ

Aytuğ Gençoğlu, 1982 yılında İstanbul'da doğdu. 1999 yılında Beşiktaş Atatürk Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. Aynı İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü'ne girdi ve 2003 yılında buradan mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. Halen 2003 yılında girdiği İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji, Genetik ve Biyoteknoloji Yüksek Lisans Programı'nda öğrencidir.