

**ATIK AĞARTMA TOPRAĞI YAĞININ
ENZİMATİK HİDROLİZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kim. Müh. Emel ALPTEKİN
(506031028)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24 Aralık 2007
Tezin Savunulduğu Tarih : 29 Ocak 2008

Tez Danışmanı :
Diğer Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ayşe AKSOY
Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN
Doç. Dr. Beraat ÖZÇELİK

OCAK 2008

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince benden bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen ve her zaman her konuda yardımcı ve anlayışlı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY'a, çalışmam boyunca ilgi ve desteği ile yanımda olan değerli hocam Prof. Dr. Melek TÜTER'e, ayrıca çalışmamın ilk aşamalarında yardımını ve desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Dr. Sevil YÜCEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez aşamasında benden anlayışlarını ve desteklerini esirgemeyerek yanımda olan değerli iş arkadaşlarım Sayın Nilay MİDİLLİ ve Sayın Erhan TUTUNAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yaşamım boyunca her zaman olduğu gibi bu çalışmam sırasında da yanımda olan, desteklerini ve güvenlerini hissettiren değerli aileme , başta babam Ali ALPTEKİN'e ve annem Sevim ALPTEKİN'e , daima yanımda olduğunu hissettiğim ablam Özlem ALPTEKİN ERİÇ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

OCAK, 2007

Kim. Müh. Emel ALPTEKİN

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. TEORİK KISIM	2
2.1. Lipitlerin Tanım ve Sınıflandırılması	2
2.1.1. Lipitlerin Yapı Taşları	4
2.1.1.1. Yağ Asitleri	4
2.1.1.1.1. Yağ Asitlerinin Sınıflandırılması	5
2.1.1.1.2. Yağ Asitlerinin Tanım ve Sınıflandırılmaları	6
2.2. Ayçiçeği Yağı ve Bitkisel Atık Yağlar	6
2.2.1. Ayçiçeği Bitkisi	6
2.2.2. Ayçiçeği Yağı	7
2.2.3. Bitkisel Atık Yağ	9
2.3. Bitkisel Yağların Elde Edilmesi ve Rafinasyonu	9
2.3.1. Reçine Giderme	10
2.3.2. Nötralizasyon	10
2.3.3. Ağartma	10
2.3.4. Deodorizasyon	10
2.3.5. Vinterizasyon	10
2.4. Ağartma ile Yağdan Ayrılan Bileşikler	11
2.4.1. Fosfolipidler ve Glikolipidler	11
2.4.2. Kontaminantlar	11
2.4.3. Sabunlar	11
2.4.4. Oksidasyon Ürünleri	11
2.4.5. Metal İzleri	11
2.4.6. Renk Verici Bileşikler	12
2.5. Atık Aktive Ağartma Toprağının Kullanıldığı Uygulamalar	12
2.5.1. Geri Kazanımı	12
2.5.2. Ağartma Toprağının Rejenerasyonu	12
2.5.3. Toprak Kompostlaştırma ve Islahı	12
2.5.4. Çimento ve Tuğla Sanayi	13
2.5.5. Biyogaz Üretimi	13
2.5.6. Hayvan Yemi	13
2.6. Enzimler Hakkında Genel Bilgi	13
2.6.1. Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler	15
2.6.2. Enzimlerin İsimlendirilmesi	16

2.7. Yağ Reaksiyonları	17
2.7.1. Hidroliz Reaksiyonları	17
2.7.2. İç Esterleşme Reaksiyonları	19
2.8. Biyodizel	21
2.9. Literatür Araştırması	22
3.DENEYSEL ÇALIŞMA	28
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.2. Atık Aktive Ağartma Toprağı ve Adsorplanmış Yağın Karakterizasyonu	28
3.3. Deney Düzenegi	31
3.4. Enzimatik Hidroliz Reaksiyonu	31
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	33
4.1. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Hidrolizlenme Derecesine Sıcaklığın Etkisi	33
4.2. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Lipozym RM IM ile Hidrolizinde Ürün Bileşimine Sıcaklığın Etkisi	34
4.3. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Lipozym RM IM ile Hidroliz Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi	37
4.4. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Lipozym RM IM ile Hidroliz Reaksiyonunda pH'ın Etkisi	40
5. VARGILAR ve ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	43
EK A.	48
ÖZGEÇMİŞ	50

KISALTMALAR

AAT	: Aktive Ağartma Toprağı
AAAT	: Atık Aktive Ağartma Toprağı
FAME	: Serbest Asit Metil Ester (Fatty Acid Methyl Ester)
SD	: Sabunlaşma Değeri
AD	: Asit Değeri
TLC	: İnce Yüzey Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü (Flame Ionization Detector)
TAG	: Triaçilgliserol
DAG	: Diaçilgliserol
MAG	: Monoaçilgliserol

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Ayçiçek yağının yağ asidi bileşimi	8
Tablo 3.1. AAAT ve yağının özellikleri	30
Tablo 3.2. Gaz kromatografik analiz koşulları.....	31
Tablo 4.1. Sıcaklığın hidrolizlenme derecesine etkisi.....	33
Tablo A.1. 40 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su :2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL).....	48
Tablo A.2. 50 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL).....	48
Tablo A.3. 60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su :2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL).....	48
Tablo A.4. %20 enzim miktarında gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Distile su :2,5 mL; n-hekzan:7.5 mL; Sıcaklık:60 °C)	49
Tablo A.5. %25 enzim miktarı ile gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Distile su :2,5 mL; n-hekzan:7.5 mL; Sıcaklık:60 °C)	49
Tablo A.6. AAAT yağı hidroliz reaksiyonlarında pH etkisi (Sıcaklık:60 °C ; enzim miktarı: %15; tampon çözelti: 2,5 mL; n- hekzan: 7,5 mL)	49

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Hidroliz reaksiyon şeması18
Şekil 2.2.	İç esterleşme reaksiyon denklemi19
Şekil 2.3.	Transesterifikasyon reaksiyonunun denklemi20
Şekil 2.4.	Asidoliz reaksiyonunun denklemi20
Şekil 2.5.	Alkoliz reaksiyonunun denklemi21
Şekil 4.1.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda sıcaklığın hidrolizlenme derecesine etkisi(Enzim miktarı:%15(ağırlık); distile su 2,5 mL; n-hekzan: 7,5mL)33
Şekil 4.2.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL;sıcaklık: 40 °C)34
Şekil 4.3.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL ; sıcaklık: 50 °C).....35
Şekil 4.4.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL; sıcaklık: 60 °C)36
Şekil 4.5.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün serbest yağ asidi içeriğinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)36
Şekil 4.6.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün triağılglicerol içeriğinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)37
Şekil 4.7.	60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %20; distile su :2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)38
Şekil 4.8.	60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %25; distile su:2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)38
Şekil 4.9.	60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürünün serbest yağ asidi içeriğine enzim miktarı ve reaksiyon süresinin etkisi (Distile su:2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)39
Şekil 4.10.	60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürünün triağılglicerol içeriğine enzim miktarı ve reaksiyon süresinin etkisi (Distile su:2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)39

Şekil 4.11.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda TAG İçeriğinin pH etkisi (Enzim miktarı: %15; Sıcaklık: 60°C; tampon çözelti: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)40
Şekil 4.12.	AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda pH' ın ürün serbest yağ asidi içeriğine etkisi (Enzim miktarı: %15; sıcaklık: 60°C; tampon çözelti: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)41

ATIK AĞARTMA TOPRAĞI YAĞININ ENZİMATİK HİDROLİZİ

ÖZET

Endüstride yağ kullanımı çok yaygındır. Özellikle bitkisel yağlar gıda sektöründe kullanıldığı gibi kimya sanayinde de hammadde olarak önemli bir kullanım alanına sahiptir. Bitkisel yağların içerisinde çeşitli istenmeyen bileşikler bulunmaktadır. Yağlar bulundukları tohumdan mekanik veya fiziksel yöntemlerle çıkarıldıktan sonra bu yağların rafine edilmesi gerekmektedir. Rafinasyon işlemi reçine giderme, nötralizasyon, ağartma, deodorizasyon ve vinterizasyondan oluşan işlemler serisidir. Rafinasyon işlemi esnasında yağdan pigmentler, reçinemsı maddeler, klofoller, sabunlaşmayan maddeler ve vakslar gibi istenmeyen bileşikler ayrılır.

Sıvı yağ rafinasyon prosesinde bitkisel yağların %0,1-3' ü kadar kullanılan aktive ağartma toprağı (AAT) rafinasyon işlemlerinde yağların %25-40' ını adsorplayarak rafinasyon kaybına neden olur. Bu nedenle atık AAT yağ asitleri üretimi için potansiyel bir hammadde olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada, atık ağartma toprağı yağının enzimatik hidrolizi ile serbest yağ asitleri üretimi incelenmiştir. Yağ, hekzan ile atık aktive ağartma toprağından (AAAT) ekstrakte edilmiş ve *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM) lipazı kullanılarak enzimatik hidroliz reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çeşitli enzim miktarı, sıcaklık, su ve tampon çözelti içeriğinde yürütülen reaksiyonlarla hidroliz reaksiyonunun optimum koşullarının belirlenmesine çalışılmıştır.

AAT'nin yağ içeriğı %25,8, bu yağın asit ve sabunlaşma değerleri 6,1 ve 193,6 mg KOH/g yağ olarak belirlenmiştir. 1:2 su:yağ ağırlık oranında yürütülen hidroliz reaksiyonlarında, en yüksek asit içeriğinin (%69,3) 60 °C' de yağ ağırlığının %15'i kadar enzim varlığında ve 5 saatlik reaksiyon sonunda elde edildiğı saptanmıştır.

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF WASTE ACTIVATED BLEACHING EARTH OIL

SUMMARY

Vegetable oils which are used as food also can be used as a raw materials in chemical industry. Vegetable oils contain some undesired compounds. The oils must be refined after removing their covering by physical or mechanical processes. The refining processes consist of neutralization, bleaching, deodorization and degumming processes. Pigments, waxes, resins, chlorophylls and unsaponificated compounds were separated from the oils after refining processes.

Activated bleaching earth (ABE) which is used in edible oil refining process to separate the coloring compounds can be used also as raw materials for the production of oleochemicals. In general ABE adsorbs 25-40% (w/w) of vegetable oil. Therefore, waste ABE can be a potential raw material for the production of fatty acids.

In this study, the production of fatty acids from the waste ABE oil was investigated. Waste oil was extracted from waste ABE with hexane and the enzymatic hydrolysis reactions were conducted using lipase from *Rhizomucor miehei* (Lipozym RM IM). The oil content of waste ABE was 25,8, acid and saponification values of oil were 6,1 and 193,6 mg KOH/ g oil, respectively.

The effects of the reaction conditions on the waste oil hydrolysis were investigated carrying out the reactions using 1:2 water:oil ratio. The highest fatty acids contents (69,3%) were obtained at 60 °C using %15 enzyme based on oil weight after the reaction time of 5 hours.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde çok çeşitli kullanım alanına sahip olan yağların kimya sanayinde hammadde olarak kullanılması giderek önem kazanmaktadır.

Ham yağlar, bulundukları tohumlardan mekanik presleme veya çözücü ekstraksiyonu ile edilirler ve istenmeyen safsızlıklar (reçinemsiz maddeler, koku verici maddeler) içerebilirler. Bu safsızlığın giderilebilmesi için yemeklik yağ olarak tüketilecek olan bu yağların rafinasyon işlemine tabi tutulması gerekmektedir.

Sıvı yağ rafinasyon prosesinde aktive ağartma toprağı (AAT) kullanılmaktadır ve AAT, yağların ağartma işlemi için en çok kullanılan adsorbanttır. Ancak çok etkili bir adsorbant olan AAT, önemli bir miktarda atık yağı da tutmaktadır. Bu çalışmada ağartma işleminde bu şekilde kaybedilen yağın eldesi ve enzimatik hidroliz reaksiyonu ile serbest yağ asidi eldesi amaçlanmıştır. Bu sayede yağ asitleri üretimi için önemli bir hammadde kaynağının da AAT tarafından adsorbe edilen atık yağ olduğu kanısına varılmıştır.

Çalışmada atık yağın aktive ağartma toprağından ekstrakte edilmesinden sonra enzimatik hidroliz reaksiyonu altında yağ asitleri oluşumu üzerinde durulmuş ve çeşitli enzim miktarı, sıcaklık, su ve tampon çözelti ile yürütülen reaksiyonun optimum koşullarının belirlenmesine çalışılmıştır.

2. TEORİK KISIM

2.1. LİPİDLERİN TANIM VE SINIFLANDIRILMALARI

Lipidler kısaca ortak özellikleri suda çözünmemek olan organik maddeler olarak tanımlanabilirler. Özellikle bu maddelerin gliseritler, yağ asitleri, fosfatitler ve mumlar gibi sabunlaşma tepkimesi veren maddeler yanında, hidrokarbonlar, yüksek yapılı alkoller, steroller, renk maddeleri ve antioksidanlar gibi sabunlaşma tepkimesi vermeyen organik bileşikleri de, geniş bir yelpaze de içermeleri, bunların sıvı veya katı yağlar kavramı ötesinde ele alınıp, lipid kimyası kavramında incelenerek araştırılmasını zorunlu kılmıştır [1].

Bu nedenle günümüzde yağlar üzerinde, kimyasal ya da biyokimyasal yönden yapılan tüm çalışmalarda, konu daha kapsamlı olan lipid kimyası çerçevesinde ele alınmakta ve bileşimi oluşturan yapıtaşları, bu alanın öngördüğü şekilde sınıflandırılmaktadır. Ancak kimyagerler ile fizyologların bakış açılarındaki farklılık, bilim dünyasınca ortaklaşa kabul edilen bir sınıflandırmanın geliştirilmesine olanak vermemektedir [1].

Nitekim Alman bilim adamlarınca, lipid kapsamında kabul edilen bileşiklerin sınıflandırılması aşağıdaki gibi yapılmaktadır [1];

- **Basit lipidler:**
Gliseridler, mumlar, sterol esterleri ve triterpenik alkollerin esterleri.
- **Fosfor ve azot içeren lipidler:**
Gliserin fosfatidler, asetal fosfatidler ve sfingomiyelinler.
- **Bileşik lipidler :**
Sakkarolipitleri ve lipoproteinleri
- **Lipid benzeri maddeler :**
Steroller, lipovitaminler, hidrokarbonlar, pro-ve antioksidanlar ve lipokromlar

Buna karşın Anglosakson dünyasındaki sınıflandırmada, daha farklı bir yaklaşım esas alınmakta ve bilinen yağları da kapsamak kaydı ile bu sınıflandırma şekli, aşağıdaki gibi yapılmaktadır;

Basit Lipidler;

- Yağlar : Yağ asitleri ile gliserinin oluşturduğu gliseridler.
- Mumlar : Yüksek yapılı yağ asitleri ile mum alkollerinin oluşturdukları esterler.
- Renk Mumları : Polidoymamış yağ asitleri ile polidoymamış alkollerin oluşturdukları esterler.
- Sterol Esterleri : Yağ asitleri ile sterollerin oluşturdukları esterler.
- Triterpenik Alkol Esterleri : Triterpenik alkollerle yağ asitlerinin oluşturdukları esterler.

Bileşik Lipidler;

- Fosfor ve azot içeren lipidler
- Gliserofosfatitler.
 - o Ester fosfatitler.
***Lesitin**, yağ asitleri, gliserin, kolin ve fosforik asitten oluşmuştur.*
***Sefalin**, yağ asitleri, gliserin, kolamin veya serin ve fosforik asitten oluşmuştur.*
 - o Asetal fosfatidler
Yağ asitleri, yağ aldehyitleri, gliserin, kolin, kolamin veya serin ve fosforik asitten oluşmuştur.
 - o Bakteri fosfatidleri,
Gliserin, yağ asitleri, fosforik asit ve polisakkaritlerden oluşmuştur.
- Sfingomiyelinler , yağ asitleri, kolin, sfingosin ve fosforik asitten oluşmuştur.
- Şeker içeren lipidler,
 - o Serebroglukozitler, yağ asitleri, glukoz ve sfingosinden oluşmuştur.
 - o Serebrogalaktozitler, yağ asitleri, heksozlar, sfingosin ve nöraminik asitten oluşmuştur.
 - o Gangliyozitler, yağ asitleri, heksozlar, sfingosin, ve nöraminik asitten oluşmuştur.
 - o Sulfatitler, serebrositlerle sülfirik asidin verdiği esterlerdir.
 - o İnositfosfatitler, yağ asitleriyle inositfosforik asitten oluşmuştur.

- o Bakteri fosfatitleri, yağ asitleri, gliserin, fosforik asit ve polisakkaritlerden oluşmuştur.
- Protein İçeren Lipidler, değişik yapıdaki lipit ve proteinlerden oluşmuştur [1].

2.1.1. Lipidlerin Yapıtaşları

Sıvı ve katı yağların tamamına yakın bir kısmını, değişik zincir uzunluk ve yapısındaki yağ asitleri ($R-COOH$) ile, üç değerlikli bir alkol olan gliserinin [$C_3H_5(OH)_3$] verdiği ve trigliserit (triacilgliserol) denilen esterler oluşturur. Ancak bir trigliserit molekülünde gliserinden gelen gliseril kökü (C_3H_5), 41 g olmasına karşın, yağ asitlerine ait radikallerin ($R-COO\cdot$) ağırlığı, 650-970 g arasında değişmektedir. Bu durumda bir trigliserit molekülünde reaktif gruplarını, ağırlıklı olarak yağ asidi radikallerinin oluşturduğu ve nedenle de gliseritlerin, dolayısı ile yağların karakterlerini büyük ölçüde yağ asitlerinin etkiledikleri ya da belirledikleri anlaşılır [1].

2.1.1.1. Yağ Asitleri

Yağ asitleri kısaca, genellikle çift sayıda karbon atomu içeren, alifatik ve monobazik organik asitler şeklinde tanımlanabilir. Doğada bulunan ve yapıları bu güne değin açıklığa kavuşturulabilen yağ asitlerinin sayısı 200 den fazladır. Ancak bu doğal yağ asitleri yanında, bunların çeşitli kimyasal tepkimelere uğramaları sonucu, yapıları yanında fiziksel ve kimyasal özellikleri değişen farklı yağ asitleri de, yağların yapısında oluşarak bileşiminde yer alabilmektedir [1].

Bugüne kadar yapıları açıklığa kavuşturulmuş yağ asitlerinin sayısı 200 civarında olup, en az iki ve en çok yirmi altı karbon atomu içerirler. Buna karşın daha uzun zincirli yağ asitleri genellikle mumların yapısında yer almaları nedeniyle, mum asitleri olarak adlandırılırlar. Yağ asitleri, zinciri oluşturan karbon atomları arasındaki bağ sayısının birden fazla olması halinde değişik düzeylerde doymamışlık gösterirler. Ayrıca bu doymamış yağ asitleri, aynı zincir uzunluğundaki doymuş yağ asitlerine kıyasla, fiziksel ve kimyasal özellikler yönünden büyük farklılıklar ortaya koyarlar. Nitekim doymuş ve doymamış yağ asitleri, aynı sayıda karbon atomu içermeleri halinde bile, ergime ve kaynama noktaları ile optik özellikleri ve verebilecekleri değişik tepkimeler yönünden de çok büyük farklılıklar gösterirler. Bunun yanında sistematik bir sınıflandırma kapsamında incelendiğinde, doğadaki canlıların lipit dokularında halka içeren yağ asitleri ile substitüye yağ asitlerine

rastlandığı gibi, zincir yapısı dallanma gösteren izo yağ asitleri ile yapısında tek sayıda karbon atomu içeren yağ asitlerinin varlığı da saptanmıştır [1].

2.1.1.1.1. Yağ Asitlerinin İsimlendirilmeleri

Yağ asitlerinin isimlendirilmelerinde belirli sistematik ilkelere dayandırılmış yöntem esas alınır da, bunun yanında genellikle ilk olarak saptandığı kaynağın ismine veya ait olduğu familyaya veya asidi ilk bulan araştırmacının adına izafeten yapılan isimlendirme şekli de mevcuttur [1].

Bunlardan sistematik isimlendirmede, yağ asidi ile aynı sayıda karbon atomundan oluşan hidrokarbondaki karbon sayısının Latince ifadesinden türetilen sistematik ismi esas alınır ve bu ismin sonundaki **an** eki kaldırılıp, yerine alkan yağ asitlerinde **anoik asit**, alken yağ asitlerinde **enoik asit** ve alkin yağ asitlerinde **inoik asit** takısının eklenmesi ile isimlendirme tamamlanmış olur. Buna göre örneğin 6 adet karbondan oluşan bir doymuş asidin adı 6 karbonlu hidrokarbon olan **hekzan** dan hareketle, alkan grubundan olması halinde **heksanoik asit** , alken grubu olması halinde heksenoik asit ve alkin grubundan olmadı halinde ise **heksinoik asit** adını alırlar [1].

Ancak yapıdaki karbon atomu sayısı esas alınarak yapılan bu isimlendirmede, zincirdeki karbon atomları karboksil grubundan başlanarak numaralandırılır. Bu husus özellikle yağ asidinin yapıda doymamış bağ, yan dal, halka içermesi veya substitüe yapıda olması halinde büyük önem taşır. Çünkü sistematik isimlendirmede asidin molekül yapısının açıklanması da, ilke olarak benimsendiğinden, yukarıda değinilen özelliklerin karbon numarası ve kaç adet olduğu belirtilerek isimlendirilmesi gerekir. Bu açıklamalar ışığında örneğin oleik asidin sistematik adı 9-oktadesenoik asit olarak ifade edilirken, linoleik asidin sistematik adı, 9-12-oktadekadiyenoik ve linolenik asidin sistematik adı ise, 9,12,15-oktadekatriyenoik asit şeklinde söylenir [1].

Buna karşın triviyal ya da yaygın isimlendirme denilen şekilde, yukarıda değinildiği gibi, yağ asitlerinin isimlendirilmesi, eskiden ilk olarak saptandığı hayvansal veya bitkisel kaynağın ismine ya da ait olduğu familyanın adından yararlanılarak yapıldıysalar da, bugün mevcudiyetleri yeni saptanan ve yapıları açıklığa kavuşturulan yağ asitleri için, daha çok bu bilgileri ortaya koyan araştırmacıların isimleri adlandırmalar için esin kaynağı olmaktadır [1].

2.1.1.1.2. Yağ Asitlerinin Tanım ve Sınıflandırılmaları

Yağ asitleri kimyasal yapılarına göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilirler [2].

Yağ asitleri :

1. Doymuş yağ asitleri
 - a) Çift karbonlu yağ asitleri: 4-32 karbon atomludur ve en yaygın olanları 12-18 arasında karbon atomu içerir.
 - b) Tek karbonlu yağ asitleri: Nadir olarak bulunurlar. Başlıcaları hayvansal orijinli olan 15:0, 17:0, 7:0, 9:0 ve 11:0 asitleridir.
 - c) Dallanmış zincirli asitler.
2. Tekli doymamış yağ asitleri: En yaygın tekli doymamış yağ asitlerinden biri oleik asittir (18:1).
3. Çoklu doymamış yağ asitleri: Linoleik asit (18:2) ve linolenik asit (18:3) çoklu doymamış yağ asitleridir.
 - a) Konjuge çoklu doymamış yağ asitleri
 - b) İzole çoklu doymamış yağ asitleri
4. Siklik asitler
5. Sekonder grup içeren asitler
 - a) Hidroksi asitler
 - b) Epoksi asit ve keto asitler

2.2. Ayçiçek Yağı ve Bitkisel Atık Yağlar

2.2.1. Ayçiçeği Bitkisi

Yağlar doğal olarak bitkilerden veya hayvanlardan elde edilmekte olup, bitkisel yağlar kaynağı bitki orijinli olan yağlardır [3].

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan bitkisel yağların tüketiminin giderek artması bu yağların üretimine hammadde sağlayan yağ bitkilerinin önemini de ortaya koymaktadır [3].

Ülkemizde bitkisel yağ, çoğunlukla çiftçinin yakından tanıdığı ayçiçeğinden elde edilmektedir. Ayçiçeği yağ sanayinin yanı sıra kimya, kozmetik ve sabun sanayilerinin de önemli bir hammaddesidir [4].

Compositae familyasından *Helianthus annuus L.* adlı ayçiçeği (çiğdem , gündöndü) adı ile bilinmektedir. 67 çeşidi bilinen bir bitkidir. Yetişmiş bir ayçiçek bitkisi, uzun, dik, dalsız bir görünümündedir. Düz bir sapı ile yağlı tohumlarını içeren parlak sarı bir

baş kısmı vardır. Tek mevsimlik yetiştirilen bir bitkidir ve yoğun bir kökleşme gösterir. Çok hızlı büyüyen bir tür olan bu bitkinin yaprakları geniş-oval , tırtıklı kenarlara sahiptir, koyu yeşil renktedir ve asimetrik olarak dizilmişlerdir. Bitkinin baş kısmı, çoğu çeşidinde 20-30 cm çapındadır, ancak bazı türlerinde daha büyük olabilir. Kökler toprak yüzeyinden aşağıya doğru çap olarak daralır ve büyük bir kısmı yüzeye yakın bulunduğu için bitkinin toprağa güçlü bir biçimde tutunmasını azaltır. Ayçiçeği bitki gövdesi 3-6 cm çapında ve sağlam yapıdadır. Bazen gövde, tüylü, ince uzun çizgili ve 10 cm çapında olabilmektedir. Bazı türlerde gövde boyu 5 m'ye kadar çıkabilmektedir [5].

Ayçiçeği tohumu geniş, yuvarlak bir dip ve keskin bir baş kısmından oluşur. Beyazdan siyaha kadar çeşitli tonlarda olabilen bir kabuğa sahiptir. Çekirdeğin toplam ağırlığının yaklaşık olarak dörtte birini oluşturan bu kabuk siyah-beyaz çizgili veya kahverengi de olabiliyor. Kabuğun renginin koyu olması ile yağ içeriği arasında ilişki olduğu görülmüştür. Bu ilişkiye göre kabuğun renginin koyu olması yüksek bir yağ içeriğinin göstergesidir. Bununla birlikte istisna teşkil etse de birçok melez cinsin açık renkli tohumları da yüksek yağ içerebilir. Tohumun kabuğu selüloz, lignin ve pentozan içermektedir. Kabuğun hemen altında beyaz kağıt gibi ince bir tabaka mevcuttur. Genelde çekirdek olarak adlandırılan embrio, bir köke bağlı iki kotiledondan oluşmuştur. Ayçiçeği tohumu 10-25 mm uzunluğunda, 7,5-15 mm genişliğinde ve 3-75 mm kalınlığındadır. Ayçiçeği tohumu %25-48 oranında yağ içerir ve bu değerler bazen ıslah çalışmaları ile %65'e kadar çıkarılabilmektedir [4].

Ayçiçeği ülkemiz ekonomisinde yağlı tohumlu bitkiler içerisinde ilk sırayı almaktadır. Tohumları %40-50 civarında yağ içermekte olup, bitkisel yağ üretimimizin % 65'i ayçiçeğinden elde edilmektedir. %40-45 oranında elde edilen küspesi ise %30-40 oranında protein içerdiğinden değerli bir hayvan yemidir. Ayçiçeği yağında bulunan yüksek orandaki linoleik yağ asidi kurumayı çabuklaştırıcı özelliğe sahip olduğundan yağlı boya sanayinde önemli bir yere sahiptir. Ayrıca kağıt, plastik, sabun ve kozmetik ürünler yapımında da hammadde olarak kullanılmaktadır [6] .

2.2.2. Ayçiçeği Yağı

Ayçiçek tohumlarından presleme ve ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ayçiçek yağı, yüksek miktarda linoleik asit, daha az miktarda da oleik asit içeri ile tanımlanır. Yağ %15'den az oranda doymuş yağ asitlerini içerir. Ilıman iklimde yetişen ayçiçeğinin linoleik asit içeriği %55-60, oleik asit içeriği ise %25-30 iken daha sıcak

iklimlerde yetiştirilen türlerde oleik asit miktarı %65 civarına yükselir ve linoleik asit miktarı %20 seviyesine düşer. Ayçiçeği yağının yağ asidi bileşimi Tablo 2.1’de verilmiştir [5].

Tablo 2.1. Ayçiçeği Yağının Yağ Asidi Bileşimi [5].

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 türleri ve yetiştiği bölgeler, tohumun genel bileşimini ve özellikle yağ asidi bileşimini etkilemektedir. Ayçiçeği yağında düşük miktarda serbest yağ asidi, tokoferoller, steroller, pigment ve vaks bulunur. 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[5]. Tokoferol içerikleri, yetiştirme koşulları ve tohumların olgunluk derecelerine bağlı olarak farklılıklar gösterir. Rafinasyon sırasında %10-33’lük bir kayıp olmaktadır. Ayçiçek yağının fosfolipid içeriği %0,5-1 arasında değişir. Süreç sırasından, yağla beraber yaklaşık olarak yarısı ekstrakte edilmektedir [4].

Ayçiçeği yağının sterol içeriği %0,275-0,436 'dır, vaks içeriği toplam lipidlerin %1'inden daha azdır. Vakslerin yaklaşık %83'ü kabukta ,%17'si tohumu örten ince tabakada ve eser miktarda tohumda bulunmaktadır. Bu nedenle, yağın vaks içeriği kabuk giderme işleminin etkinliğine bağlıdır. Ayçiçek yağı ayrıca oksipolimer derişimini artıran ve lezzeti olumsuz etkileyen demir türevlerini içerir [5].

Ayçiçek yağı dünyadaki en lezzetli bitkisel yağlardan biridir. Linoleik asit içeriği ve yüksek doymamış yağ oranı nedeni ile beslenme açısından çok önemlidir. Ayrıca E vitamini aktivitesi gösterir ve A,D,K vitaminlerini içerir, rafinasyondan sonra yağ özelliğini bir yıl süreyle korur. 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 [3].

2.2.3. Bitkisel Atık Yağ

Bitkisel atık yağ sınıfı, rafine sanayinden çıkan soap-stock'ları, tank dibi tortuları, yağlı toprakları, kullanılmış kızartmalık yağları, çeşitli tesislerin yağ tutucularından çıkan yağları ve kullanım süresi geçmiş olan bitkisel yağları kapsamaktadır. Soap-stocklar, bitkisel ham yağların rafinasyonunda serbest yağ asitlerinin kostik ile nötralizasyonu ve yıkama sonunda ayrıştırılan yan üründür. Yağlı toprak ise yemeklik bitkisel yağ rafinasyonu sonucu ortaya çıkan yağlı topraklardır [7].

2.3. Bitkisel Yağların Elde Edilmesi ve Rafinasyonu

Bitkisel yağların içerisinde çeşitli istenmeyen bileşikler bulunmaktadır. Bulundukları tohumlardan presleme gibi mekanik veya ekstraksiyon gibi fiziksel yöntemlerle çıkartıldıktan sonra yağın rafine edilmesi gerekmektedir [6].

Tohumdan yağın eldesi, kabuk ayrılması ve ekstraksiyon aşamalarından oluşur. Kabuk ayırma, tohumların dönen bir plaka ile tohum ayırma odacığının duvarlarına çarpılması yoluyla gerçekleştirilir. Yağ elde etme işlemi ise üç şekilde gerçekleştirilir: organik bir çözücü kullanılarak (fiziksel ekstraksiyon), çekirdekleri kırarak ve presleyerek (mekanik) veya kırma ve presleme işlemi birden çok etapta gerçekleştirilirken organik çözücü de kullanılabilir (önpresleme-çözücü ekstraksiyonu). Bu yöntemler içinde en yaygın olarak kullanılanı, önpresleme-çözücü ekstraksiyonu yöntemidir [6].

Rafinasyon işlemi, yağdan her işlem esnasında farklı bileşikleri ayırmak için yapılan işlemler serisinden oluşmaktadır. Ayçiçeği yağının rafinasyonu, sırasıyla reçine

giderme, nötralizasyon, ağartma, deodorizasyon ve vinterizasyon aşamalarından oluşmaktadır. Ancak rafinasyon sırasında yağın da bir bölümü tutulmaktadır [8].

2.3.1. Reçine Giderme

Yağ içerisinde bulunan reçinemsı maddelerden olan hidrofilik fosfatidler, yağ fosforik asit veya fosfat tuzu ve %1-2 oranında su ile muamele edilerek giderilir. Bu işlemde reçinemsı yapı giderildiği için reçine giderme işlemi olarak adlandırılmıştır. Bu işlem fosfatidik bağların kopmasını sağlar ve hidrate olan fosfatidler santrifüjlenerek ayrılır. Reçine giderme, daha sonraki rafinasyon işlemlerindeki yağ kaybını azalttığı için ilk olarak yapılmaktadır [6].

2.3.2. Nötralizasyon

Yağda bulunan serbest yağ asitlerinin nötralize edilme aşaması olan nötralizasyon reçine giderme işleminden kalan fosfatidler ile pigmentler ve az miktarda bulunan diğer bileşiklerin giderilmesini de sağlar. Nötralizasyon, yağ sodyum hidroksit çözeltisi ile muamele edilerek yapılır. Karışım emülsiyonu kırmak için önce ısıtılır ve daha sonra oluşan tuz ve sabunlar ile kalan sodyum hidroksidi ayırmak için santrifüjlenir. Bu işlemden sonra yağ fazında kalan sabun ve sodyum hidroksit su ile yıkanarak giderilir [6].

2.3.3. Ağartma

Yağa istenilen rengi vermeye yönelik uygulanan ağartma işleminde yağda bulunan klorofil, karotenoidler ve pigmentler gibi istenmeyen renk veren diğer bileşikler giderilir. Bu bileşikler asitle aktive edilmiş ağartma toprağı kullanılarak yağdan ayrılır [6].

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 iyileşir. Deodorizasyon, yaklaşık 270 °C’de yağın içine vakum altında istim enjekte edilerek gerçekleştirilir. Rafinasyon aşamalarında oluşmuş olabilecek peroksitler de deodorizasyon sırasında bozunurlar [6].

2.3.5. Vinterizasyon

Yağda az miktarda bulunan doymuş triaçilgliseroller ve vakslar düşük sıcaklıklarda kristalize olurlar. Bu yapının sağlığa herhangi bir etkisi olmasa da yağa istenmeyen bir görünüm verir. Bu görünümü önlemek için yağ 6 saat boyunca 5-10 °C’de tutularak bu bileşiklerin kristalizasyonu sağlanır ve sonra da 15° C’de yağ filtre

edilerek bu kristallerin giderilmesi ile işlem sonlanır. Filtreleme işlemi, yüksek viskoziteye bağlı sorunlarının yaşanmaması için 15° C’de yapılmalıdır [9].

2.4. Ağartma ile Yağdan Ayrılan Bileşikler

2.4.1. Fosfolipid ve Glikolipidler

Ayçiçeği yağında bulunan fosfolipid ve glikolipidlerin büyük bir bölümü reçine giderme (gam giderme) aşamasında yağdan ayrılır, geri kalanların bir kısmı da nötralizasyon işleminde bozunur ve yıkama aşamasında giderilir. Kalan fosfolipid ve glikolipid varsa, ağartma sırasında yağdan ayrılır [10].

2.4.2. Kontaminantlar

Kontaminantlar, çevre yolu ile bitkisel yağlara bulaşan zirai pestisidler ve polisiklik aromatik hidrokarbonlardır(PAH). Bu bileşikler madeni yağlar ve egzoz gazlarında bulunur ve bitkisel yağlara tohumların kurutulmasında bu gazların kullanımı yoluyla veya çevre yoluyla bulaşabilirler [10].

2.4.3. Sabunlar

Nötralizasyon esnasında kalsiyum ve magnezyum sabunları da oluşur. Bu sabunların suda çözünürlüğü düşük olduğundan yıkama sırasında giderilemezler ve yağdan ağartma işlemi esnasında ayrılırlar [10].

2.4.4. Oksidasyon Ürünleri

Bitkisel yağların, yağda bulunan lipooksijenaz enzimleri aracılığıyla enzimatik olarak okside olması sonucu hidroperoksitler oluşur. Hidroperoksitlerde bozunarak ikincil oksidasyon ürünlerine (hidroksi-, keto-, epoksi-, bileşikleri) dönüşür. İkincil oksidasyon ürünleri, polariteleri sayesinde, asidik özelliğe sahip olan aktive ağartma toprağı ile (AAT) 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 [10].

2.4.5. Metal İzleri

Fosfolipidlerin nötralizasyon esnasında kısmi hidrolizi sonucu kalsiyum ve magnezyum sabunları oluşur. Buna ilaveten proses ekipmanından yağa bakır ve demir bulaşabilir. Kadmiyum ve kurşun da bitkisel yağlara sıklıkla bulaşabilen metallerdir. Deodorizasyondan önce yağın stabilitesini olumsuz etkileyen bu metallerin uzaklaştırılması gerekmektedir [10].

2.4.6. Renk Verici Bileşikler

Klorofil ve karotenoidler renk verici bileşiklerdir ve okside olmaları veya okside olmuş trigliseridlerle reaksiyona girmeleri halinde, pek iyi tanımlanamamış bileşikler ortaya çıkar. Bitkisel yağlarda rastlanabilen kirli kahverengi rengin sebebi bu bileşiklerdir [10].

2.5. 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) denklemi ile hesaplanır [10]:

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

AT saf ağartma toprağı, $W_{\text{H}_2\text{O}}$ su miktarı ve W ise gram cinsinden ağırlığı ifade etmektedir. Aktif ağartma toprağında tutulan yağ genellikle %40 civarında olup bu oran %20-30 seviyesine çekilebilir. Tutulan bu yağ aşağıdaki şekillerde değerlendirilmektedir;

2.5.1. Geri Kazanımı

Ağartma toprağında tutulan yağ ekstraksiyon yöntemi ile kısmen geri kazanılabilir. Bu işlemde organik çözücü ve süperkritik karbon dioksit kullanılmaktadır. Bu yolla kazanılan yağ prosese geri beslenerek rafinasyon kaybı azaltılabilir veya yağ düşük kaliteli bir hammadde olarak kullanılabilir [10].

2.5.2. Ağartma Toprağının Rejenerasyonu

Rejenerasyon aktif ağartma toprağının tekrar kullanımı amacı ile uygulanır. Ancak ağartma toprağı aynı zamanda filtre yardımcı maddeleri, aktif karbon, fosforlu bileşikler veya alkali içerdiği takdirde, etkili bir rejenerasyon mümkün değildir [10].

2.5.3. Toprak Kompostlaştırma ve Islahı

Kullanılmış ağartma toprağında kil dışındaki tüm maddeler tamamen biyolojik olarak bozunabilir olduğundan, nikel içermediği sürece toprak ıslahı, kompost veya gübre uygulamaları için oldukça uygundur. Kayda değer miktarda fosfat içeren kullanılmış ağartma toprağının bu amaçla kullanımı özellikle avantajlıdır [10].

2.5.4. Çimento ve Tuğla Sanayi

Ağartma toprağının kullanılabileceği alanlardan biri de 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 edilir [10].

2.5.5. Biyogaz Üretimi

Kilin üzerindeki ince yağ dağılımı nedeni ile kullanılmış ağartma toprağı 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 bitkilere ve hayvanlara geçme tehlikesi vardır[10].

2.5.6. Hayvan Yemi

Kullanılmış aktive ağartma toprağının direkt olarak hayvan yemine katkı maddesi olarak kullanılabildiğı, tavuk, sığır ve domuz yemlerine %3'e varan oranlarda kullanılmış ağartma toprağı katıldığında A vitamini yada mineral kaybı gözlenmediğı, nikel içeren kullanılmış ağartma toprağının bu amaçla kullanılmaması gerektiğı literatürde açıklanmıştır. Ancak günümüzde bu sanayi atığının hayvan yemi olarak kullanımı yasaklanmıştır [10].

2.6. Enzimler Hakkında Genel Bilgi

Organizmada metabolik olayları hızlandıran protein yapısındaki biyolojik katalizörler enzim olarak adlandırılır. Enzim proteinleri 20 çeşit doğal aminoasitten oluşan polipeptidlerdir [11,12].

Günümüzde enzimler endüstriyel sahalarda, temizlik alanı gibi günlük yaşamda, tıpta teşhis ve tedavide büyük rol oynadığı gibi kimya endüstrisinde, gıda proseslerinde, ziraatta ve hatta biyolojik savaşta enzimlerin pek çok kullanım alanı bulunmaktadır [13].

Enzimler hücrelerde ya serbest halde ya da hücre zarında bulunurlar. Enzim yapılarında genel olarak bileşimce ve ödevce farklı olan iki kısım vardır. Bunlardan biri protein yapısındaki apoenzim diğeri ise diğeri ise protein olmayan kısımdır. Her ikisine birden haloenzim denilir. Bazı enzimlerin katalitik etki gösterebilmeleri için

proteinden başka metal iyonuna yada protein olmayan vitamin gibi organik bir bileşiğe veya her ikisine de ihtiyacı vardır. Bu iyon ve bileşiklere kofaktör denir. Bunlar enzimin katalitik etkisinden, yani etki edeceği reaksiyondan sorumludur. Organik bileşik enzimin protein kısmı ile oldukça sıkı birleşmiş ve dissosiyeye olmuyorsa “prostetik grup”, pek sıkı birleşmemiş ve dissosiyeye olabiliyorsa “koenzim” adını alır. Enzimin protein kısmı olan apoenzim büyük protein moleküllerinden oluşmuş olup yapısı protein içindeki aminoasit türlerine, sayılarına ve diziliş sıralarına göre değişir [14,15].

Enzimler, biyolojik orijinden gelen, protein yapısında olan özel katalizörlerdir. Enzimler diğer katalizörlerden farklı olarak üç önemli özelliğe sahiptirler:

- 1) Enzimler reaksiyonları diğer katalizörlerden çok daha hızlı bir şekilde yürütmektedirler. Bazı enzimlerin bir dakikada milyonlarca molekülü etkilediği bilinmektedir.
- 2) Enzimler reaksiyonları özgül olarak katalize ederler: Her enzim bir reaksiyonu seçerek katalize etmektedir. Enzimlerin tek tip bir reaksiyonu spesifik olarak katalize etmelerine karşılık kimyasal katalizörler, çok çeşitli kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak görev yaparlar. Bir enzim yüzlerce farklı atomdan oluşan bir kimyasal bileşiği etkilerken, bu molekülün belirli bir bölgesini seçerek buradan bir veya iki atomu veya fonksiyonel bir grubu, molekülün ana yapısını bozmadan koparır veya ilave eder.
- 3) Enzimler biyokimyasal reaksiyonları düşük sıcaklıkta ve az enerji ile katalizlerler: Normal laboratuvar koşullarında çok yüksek sıcaklık ve fazla enerji harcamasını gerektiren bir çok kimyasal reaksiyon, enzimler sayesinde daha az enerji ile vücut sıcaklığında başarılmaktadır. Katalizörler kimyasal reaksiyonu başlatmayıp ölçülemeyecek derecede yavaş oluşan kimyasal reaksiyonların hızını arttırmaktadırlar. Enzimler, inorganik katalizörlere oranla aktivasyon enerjisini daha etkin bir şekilde düşürmektedirler. Böylece reaksiyonların daha düşük sıcaklıkta ve az enerji ile yürümelerini sağlamaktadırlar [12,13,16].

Enzimler, varlıkları ile çok yavaş ilerleyebilecek kimyasal reaksiyonların hızını arttırırlar ve substrata özgü olduklarından yan ürün oluşumunu engellerler. Asit, baz, metal ve metal oksit gibi anorganik katalizörlere kıyasla çok seçicilerdir. Enzimlerle düşük sıcaklık, pH ve basınçta çalışıldığı için yüksek enerji gereksinimine, yüksek maliyetli korozyonu önleyici ekipmana ihtiyaç yoktur. İstenmeyen yan ürün

oluşumunun engellenmesi ve ürünün saflaştırma maliyetinin düşük olmasından dolayı endüstride diğer katalizörler tercih edilir[17]. Ancak endüstriyel uygulamalarının çoğu sulu çözeltilerde gerçekleştirildiğinden katalizör olarak kullanılan serbest enzimlerin reaksiyon ortamından aktivitesini yitirmeden geri kazanılması olanak dışıdır. Reaksiyonun istenilen zamanda durdurulması için enzimin yüksek sıcaklıkta kısa zamanda tamamıyla bozundurulması veya ortama inhibitör katılması gerekir. Her iki işlem de ürünler için istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Enzimlerin pahalı katalizörler olduğu dikkate alınırsa enzimlerin geri kazanılamaması maliyeti yükselten önemli bir etkidir. Tüm bu sorunları çözebilmek ve enzimleri endüstride çekici hala getirebilmek için enzimler immobilize edilerek kullanılmaktadır. Enzimler jel, membran veya mikrokapsülleme yoluyla tutuklanarak veya adsorpsiyon, iyonik bağlanarak, kovalent çapraz bağlanarak immobilize edilirler. Isı veya çözelti etkisiyle yapısında değişiklikler yapamaz dolayısıyla serbest enzimlere göre daha stabil hale gelirler ve geri kazanımlarıyla tekrar kullanılmaları mümkün olur [18].

2.6.1 Enzim Aktivitesine Etki Eden Faktörler

Standart koşullarda, dakikada belirli bir miktardaki substratı dönüşüme uğratan enzim miktarına aktivite denir. Aktivitenin uluslararası birimi Unit'tir. Spesifik aktivite, katalitik merkez aktivitesi, moleküler aktivite ve katal da aktivite birimleridir. Aktivite tayininde absorpsiyon fotometresi, titrimetri, daha çok doku ve organlardaki enzim aktivitesini ölçmek için kullanılan florimetre, polarimetre, kolorimetre, radyometri, viskozimetri yöntemleri kullanılmaktadır [12,19,20].

Aktiviteyi etkileyen faktörleri şöyle sıralayabiliriz :

Sıcaklık: Kimyasal reaksiyonlarda olduğu gibi enzimatik reaksiyonlar da sıcaklığa bağlıdır. Reaksiyon hızı sıcaklıkla artar. Ancak belli bir sıcaklığa ulaştıktan sonra enzim inhibüsyonu başlaması ile reaksiyon hızında gerileme görülür. Sıcaklığın artışı kimyasal reaksiyonları ve enzimatik reaksiyonları farklı etkilemektedir. Enzimatik reaksiyon hızında genelde sıcaklık arttıkça daha fazla artışlar gözlenmektedir. Bitkisel kaynaklı enzimler 60-70°C, hayvansal kaynaklı enzimler 30-40°C de yüksek aktivite gösterirler [19].

pH: Her enzim için aktivitenin maksimum olduğu pH değerleri vardır ve bu değere optimum pH değeri denir. Bu değer altında ve üstünde aktivite düşer. Aşırı pH

değişiminde enzim proteininin bozunması, optimum pH bölgesi dışında koenzimin enzim proteininden ayrılması, substratın iyonizasyon ve disassiasyonunda görülen değişimler gerçekleşecektir. Enzimlerin pH aralıkları çok dardır ve genellikle 5-7 arasında değişir. pH 3'ün altında genellikle enzim aktivitesi yoktur [19].

İyon Şiddeti :İyonik şiddetin etkisi özellikle yüklü moleküllerin birbirine bağlı hareketleri ile gerçekleşen katalizlenme sırasında fark edilebilir. Yüklü substratların enzimlere bağlanması ve yüklü grupların katalitik aktif bölge içindeki hareketi ortamın iyonik kompozisyonundan etkilenir[17]. Enzim için, enzimi aktive etmek üzere koenzimin yanında bazı spesifik metal iyonlarına da ihtiyaç duyulmaktadır. Bu metalik iyonlar enzimin kararlılığını yükseltebilir. Kullanılan enzimin türüne göre, gerekli iyon konsantrasyonları değişir. Örneğin tuz konsantrasyonunun artması aktiviteyi olumsuz yönde etkiler.Toplam etkiyi anlayabilmek için iyon şiddeti faktörünü de hesaplamak gerekir [12,19,20,21].

Kofaktör: Apoenzime kovalent bağlı prostetik gruplar ve kovalent bağla bağlanmamış koenzimler enzim aktivitesine etki eden kofaktörlerdir. Metal iyonları, enzimin aktif bölgesine veya başka bir bölgesine bağlanarak aktiviteyi arttırırken bazı metal iyonları da inhibitör görevi görürler. Ag^+ , Hg^{+2} , Cu^{+2} gibi metal iyonları enzimatik reaksiyonu inhibe ederler [17].

Enzim Konsantrasyonunun Etkisi: Enzim konsantrasyonunun artması reaksiyon hızını da arttıracaktır. Fakat deneysel olarak lineer bir artış görülmeyebilir. Bunun sebebi enzimlerin içerdikleri inhibitör ve aktivatörlerin dissosiyeye olabilmeleridir [17].

Substrat Konsantrasyonunun Etkisi : Substrat konsantrasyonunu artması sabit enzim konsantrasyonunda reaksiyon hızını arttırır. Ancak belirli bir noktadan sonra substrat konsantrasyonunun artması reaksiyon hızını değiştirmez. Enzim uygulamalarını kısıtlayan bir diğer faktör de fiyattır [20].

2.6.2. Enzimlerin İsimlendirilmesi

Enzimlerin isimlendirilmesinde göz önüne alınan temel ilkeler şunlardır :

- Bütün enzimler –az ekini alırlar.
- Kendilerince katalizlenen reaksiyona uygun olarak adlandırılır ve sınıflandırılırlar.
- Birden çok reaksiyonu katalizliyorsa katalizledikleri ilk reaksiyona göre adlandırılırlar [21].

Enzimler katalizledikleri reaksiyon tipine göre 6 grupta toplanırlar :

- 1) Oksidoredüktazlar : Yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarını katalizlerler. Bunlar dehidrogenazlar, oksidazlar, oksijenazlar.
- 2) İzomerazlar : Geometrik, optik veya yapısal izomerlerin birbirlerine dönüştürülmesini katalizleyen enzimlerdir.
- 3) Liyazlar : Bir organik moleküldeki grupların hidrolitik olmayan ayrılmasını katalizlerler. Dekarboksilazlar, dehidrotazlar, karboksilazlar bu gruba girerler.
- 4) Hidrolazlar : Hidroliz reaksiyonunu katalizlerler. Esterazlar, lipazlar, peptidazlar, proteazlar, glikosidazlar bunlardandır.
- 5) Transferazlar : Keton , aldehit, açıl, azot, fosfat ve kükürt içeren grupların bir bileşikten diğerine aktarılmasını katalizlerler. Transaminazlar, transketolazlar, transfosfonazlar bu gruba girer.
- 6) Ligazlar : Sentez reaksiyonunu katalizleyen piruvat-karboksilazlar ve açıl-co-A-sentetazların örnek olabileceği enzimlerdir [22].

2.7. Yağ Reaksiyonları

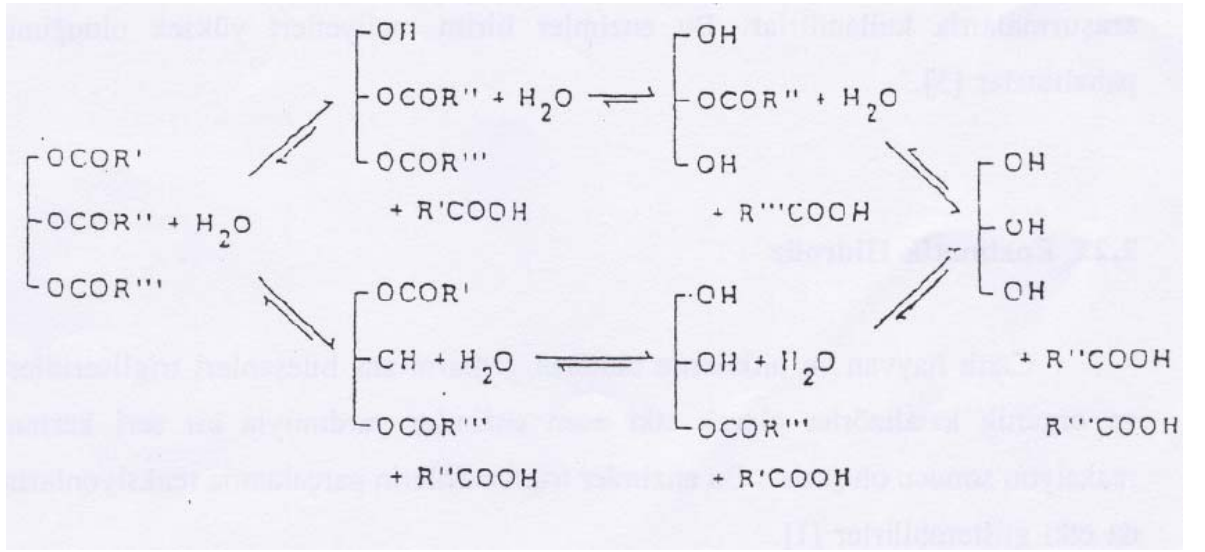
2.7.1. Hidroliz

Yağların hidrolizi, kimyasal ve enzimatik yolla olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Bitkisel yağların ana bileşeni, yağ asitlerinin gliserin ile yaptığı trigliserid esterleridir.

Yağ ile suyun reaksiyona girerek, gliserin ve üç mol yağ asidi oluşturduğu reaksiyon olarak tanımlanan hidroliz reaksiyonu 3 aşamada gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonda di ve monogliseridler de oluşmaktadır [19-23-24-25]:

- 1) İki izomerik digliserid oluşumu
- 2) 1 ve 2 monogliserid oluşumu
- 3) Gliserin oluşumu

Bu reaksiyonu aşağıdaki şekilde gösterebiliriz:



Şekil 2.1. Hidroliz Reaksiyon Şeması

Hidroliz reaksiyonu, yağ suda çözünmediği için su-yağ ara fazında gerçekleşir. Suyun yağdaki çözünürlüğü, yağın sudaki çözünürlüğünden daha fazla olduğundan, hidroliz reaksiyonu yağ fazında çözünmüş suyun etkisi ile oluşan homojen reaksiyon olarak da tanımlanabilmektedir. Bu reaksiyon oldukça kompleks bir reaksiyondur; hidroliz optimum homojenite koşullarında yani su, yağ fazında en fazla çözünürlüğe sahip olduğunda verimli olur. Reaksiyon, başlama periyodunda suyun yağdaki çözünürlüğünün az olmasından dolayı yavaştır. Daha sonra (orta periyod) reaksiyon hızlanır. Bunun nedeni suyun diğliserid ve monogliseridlerle artan bir çözünürlüğe sahip olmasıdır. Bitiş periyodunda ise reaksiyon hızı azalır. Hidroliz reaksiyonlarında katalizör, sıcaklık, basınç, su/yağ oranı, hidroliz sonucu oluşan gliserinin uzaklaştırılması gibi etkenlerin uygun seçimi yüksek bir dönüşüm sağlamak için çok önemlidir. Sıcaklık ve basıncın artması suyun yağ fazındaki çözünürlüğünü arttırdığından, reaksiyon hızının da artmasını sağlar. Mineral asitler, bazı metal oksitler, özellikle çinko ve magnezyum oksitler hidroliz reaksiyonunun hızını etkiler. Bu maddeler katalizör görevlerinin yanı sıra, reaksiyon hızını suyun yağ fazındaki emülsiyonunu ilerleterek olumlu yönde etkilerler [26].

Hidroliz reaksiyonu geri dönüşümlü bir reaksiyondur. Ortamdaki gliserin uzaklaştırılmadığı takdirde hidroliz ve esterleşmenin sürekli gerçekleştiği denge noktasına ulaşılır. Reaksiyonun tamamlanana kadar ilerlemesi için ortamdaki

gliserinin çekilmesi gerekmektedir. Hidroliz reaksiyonları kimyasal katalizör veya enzimlerin katalitik etkisi altında yürütülebilir [26].

Enzimatik hidroliz reaksiyonu, düşük sıcaklıklarda gerçekleştiğinden yağ yapısal olarak bozunmaya uğramaz ve böylece reaksiyon sonunda oldukça kaliteli ürün elde edilir. Enzimatik reaksiyon atmosferik basınç ve oda sıcaklığında gerçekleştiğinden enerji açısından da oldukça ekonomiktir [26].

2.7.2. İç Esterleşme Reaksiyonları

İnteresterifikasyon (iç esterleşme) reaksiyonları bir ester ile başka bir bileşen arasında gerçekleşen, alkoksi ve açıl gruplarının yer değiştirmesiyle karakterize edilen ve farklı bir ester oluşumu ile sonuçlanan reaksiyonlardır [27].

İnteresterifikasyon reaksiyonları, esterin bir alkolle, bir asitle veya başka bir esterle olan reaksiyonlarıdır.

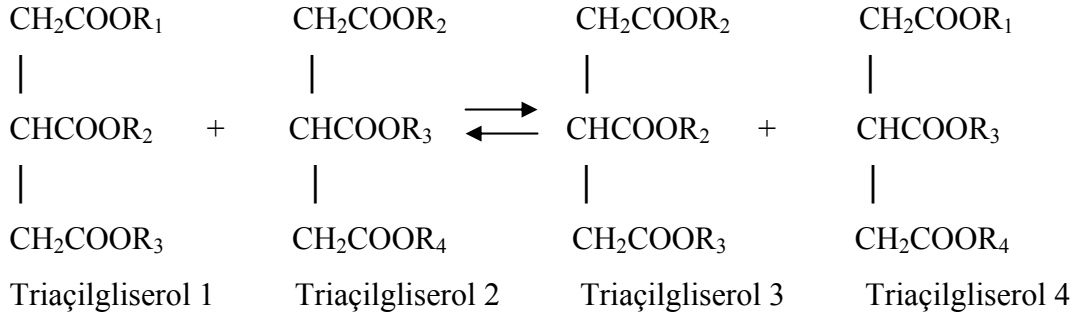


Şekil 2.2. İç Esterleştirme Reaksiyon Denklemleri

Ester alkol arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına alkoliz denir. Bu yolla üretilen dizel yakıtı biyodizel denilmektedir. Biyolojik kökenli dizel yakıtı üretiminde en çok kabul görülen yöntem alkoliz olarak bilinen transesterifikasyondur [27].

Ester ile başka bir ester arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına transesterifikasyon veya ester değişim reaksiyonu denir. Ester ile asit arasındaki iç esterleşme reaksiyonlarına ise asidoliz denilmektedir [27]. Bu reaksiyonlar bazı kaynaklarda farklı şekilde de sınıflandırılmaktadır.

Yukarıda da açıklandığı gibi transesterifikasyon reaksiyonları iki ester arasında gerçekleşen, esterlerin alkil gruplarının değişimi ile farklı iki estere dönüştüğü reaksiyonlardır. Triaçilgliseroller arasındaki transesterifikasyon reaksiyonunda bir, iki veya üç açıl grubu yer değiştirebilir [27].

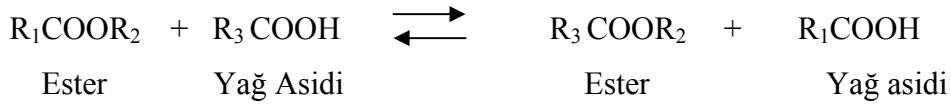


Şekil 2.3 Transesterifikasyon Reaksiyonunun Denklemi

Transesterifikasyon bir denge reaksiyonudur. Reaksiyon hızını arttırmak için asidik, bazik katalizörler ya da enzimler kullanılmaktadır. Alkali katalizörler kullanıldığında, oda sıcaklığında veya altındaki sıcaklıklarda, asit katalizörler kullanıldığında, yaklaşık 100 °C civarında, katalizör kullanılmadığında ise 250 °C civarında veya daha yüksek sıcaklıklarda çalışılmak zorunda kalınabilir [28].

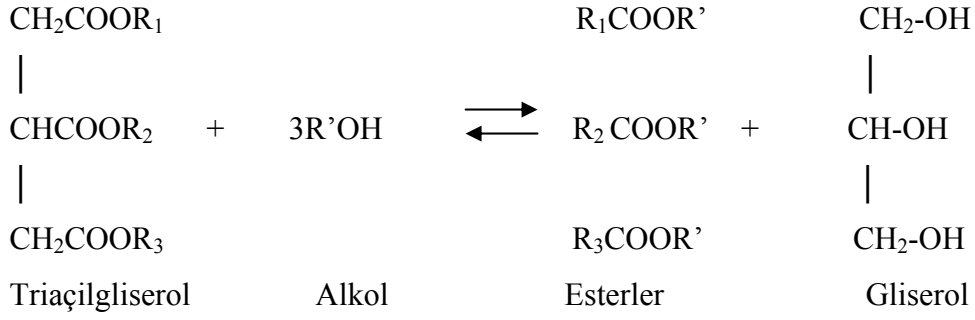
Asidoliz reaksiyonu bir asit ile esterin reaksiyonuna girmesiyle alkil gruplarının yer değiştirmesi sonucu yeni bir ester oluşmasına **asidoliz** denir. Bu reaksiyon yüksek sıcaklıklarda asit katalizör varlığında tersinir olarak gerçekleşir [27].

Reaksiyon aşağıdaki şekilde gerçekleşir :



Şekil 2.4 Asidoliz Reaksiyon Denklemi

Bölüm 2.7.2 de iç esterleşme reaksiyonları altında sınıflandırılan alkoliz reaksiyonları bazı literatürlerde transesterifikasyon olarak ta adlandırılmaktadır. Yukarıda da açıklandığı gibi alkoliz, bir alkol ile esterin reaksiyona girmesiyle alkil gruplarının yer değiştirmesi sonucu yeni bir ester oluşumunu sağlayan reaksiyondur. Ester ile alkolün alkoksil grupları alkoliz reaksiyonu esnasında yer değiştirirler. Triaçilgliserollerin alkoliz reaksiyon şeması aşağıda görülmektedir:



Şekil 2.5 Alkoliz Reaksiyonunun Denklemi

Şekilde gördüğümüz reaksiyonda üç molekül alkol tek bir TAG molekülü ile reaksiyona girerek üç ester molekülü ve bir gliserol molekülü vermiştir. Reaksiyonun ürün lehine hızlı yürümesi için alkol fazlası ve katalizörler kullanılmaktadır. Organik bazlar, inorganik asit ve bazlar ve lipaz enzimleri katalizör olarak kullanılmaktadır [29]. NaOH, KOH, sodyum metoksit, sodyum etoksit, alkoliz reaksiyonlarında kullanılan alkali katalizörlerdir. Sülfürik asit, fosforik asit ve organik asitlerde asit katalizörlerdir [27].

Alkoliz reaksiyonları hangi alkolle gerçekleştiriliyorsa, reaksiyon o alkolün adını alır. Örneğin, metanoliz ve etanoliz, metil ve etil alkollerle yürütülen reaksiyonları ifade etmektedir [30].

Endüstriyel açıdan en elverişli ve en yaygın olarak kullanılan transesterifikasyon reaksiyonu metanol gibi kısa zincirli bir alkolle gerçekleştirilen reaksiyondur. Fakat bu reaksiyonların yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmesinden ve reaksiyon ortamına homojen olarak yayılan asit ve alkali katalizörlerin ayrılmasından ve tekrar kullanılmalarının mümkün olmamasından dolayı bilim adamları katalizör olarak lipaz kullanma yoluna yönelmişlerdir [31].

2.8. Biyodizel

Monoalkil yağ asidi esterleri biyodizel olarak adlandırılır ve alternatif yakıt olarak kullanılabilir. Düşük toksitesi, biyolojik parçalanabilirliği ve yenilenebilir enerji kaynağı olması açısından biyodizelin bir çok avantajı görülmektedir.

Biyodizelin en büyük avantajı, atmosferdeki net CO₂ miktarını arttırmamasıdır. Bu durum, biyodizelde bulunan karbonun atmosferdeki CO₂ 'i kullanan bitkilerden gelmesinden kaynaklanır. Klasik dizele göre yanma gazlarının partikül, halojen, CO

ve hidrokarbon emisyonu da daha düşüktür. Ancak, biyodizelin NO_x ve aldehit emisyonları klasik dizellerinkinden daha yüksektir [32].

2.9. Literatür Araştırması

Bu bölümde literatürden seçilen bazı enzimatik hidroliz ve alkoliz çalışmaları özet olarak verilmiştir.

Minami ve Saka , yaptıkları çalışmada reaksiyon mekanizmasını açıklayabilmek için yağların hidroliz kinetiğini ve bunu takiben süperkritik metanolde serbest asidin metanol ile esterleşmesini incelemişlerdir. Hidroliz reaksiyonunda oluşan serbest asidin asit katalizör olarak görev yaptığı ve iki kademeli süperkritik metanol prosesinde de önemli bir rol oynadığı görülmüştür [33].

Shamel ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada palm yağı ve zeytin yağının asimetrik gözenekli fibre reaktörde mikrogözenek üzerine adsorbe olmuş immobilize *Mucor miehei* lipazı ile hidrolizi incelenmiştir. Reaksiyon 40 °C'de yürütülmüş ve yağ ve su fazının akış hızı 2,5 ve 3,0 mL.min.⁻¹ olarak seçilmiştir. Hidrofobik membranların (polysulfone) hidrofilik membrana oranla daha çok enzim adsorpladığı ve lipaz adsorpsiyonunun sıcaklık ile arttığı gözlenmiştir[34].

Ting ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada çitosan üzerine immobilize edilmiş lipazın soya fasülyesi yağının hidrolizine katalitik etkisi incelenmiştir. Sıcaklık, pH ve yağ/su mol oranının reaksiyona etkileri ile enzimin termal stabilitesi incelenmiştir. Optimum koşullarda yağın %88'i 5 saatte hidroliz olmuştur. Immobilize enzim 4 °C'de 30 gün aktivitesini kaybetmemiştir. Normal koşullar altında kullanılan lipaza göre immobilize enzimin daha aktif olduğu gözlemlenmiştir [35].

Rooney ve Weatherley'in yapmış oldukları çalışmada ise *Candida rugosa* mayasından elde edilen lipazın ayçiçek yağı hidrolizindeki etkisi incelenmiştir. Yağ/su mol oranı ve lipaz konsantrasyonunun reaksiyon hızı üzerine etkisi incelenmiştir. Artan enzim konsantrasyonu ile reaksiyon hızının arttığı, maksimum enzim konsantrasyonuna ulaşıldığında, enzimin reaksiyon ara yüzeyinde doygunluğa ulaştığı ve etkisinin bu aşamada ihmal edilebilir olduğu gözlemlenmiştir. 3:1 yağ/su mol oranında reaksiyonda maksimum %90 dönüşümün olduğu gözlemlenmiştir. %0,8 enzim konsantrasyonu ile 15 dakikada reaksiyonda maksimum dönüşüm görülmüştür [36].

Kiatsimkul ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada sekiz ticari enzim ile epoksidede edilmiş soya fasülyesi yağından doymuş serbest asitlerin seçimli hidrolizinde

Penicilium roquefortii, *Mucor javanicus*, *Rhizomucor miehei* ve *Pseudomonas* ‘un diepoksiaçillere karşı seçicilik gösterdiği görülmüştür. *Aspergillus niger* lipazının ise soya fasülyesi yağındaki doymuş asitleri seçici olarak hidrolize ettiği, fakat epoksi soya fasülyesi yağına seçicilik göstermediği saptanmıştır. *Penicilium commembertii* lipazının ise trigliserid substratı için inaktif olduğu görülmüştür. *Candida rugosa*’nın doymuş serbest yağ asitlerine seçiciliği epoksidede olmuş soya fasülyesi yağında artmıştır [37].

Noor ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada ise karıştırılmalı biyoreaktörde sulu fazda lipaz enzimi tarafından gerçekleştirilen palm yağı hidrolizi incelenmiştir. Yüzey aktif madde, palm yağı ve enzim miktarının hidroliz başlangıç hızına etkisi araştırılmıştır. Yüzey aktif madde eklenmesinin hidroliz hızını arttırdığı ve optimum miktarın 25mg/L olduğu görülmüştür. Optimum enzim oranı 92,5 kLUI⁻¹ bulunmuştur. Karıştırma hızı ve enzim miktarının incelendiği çalışmaya göre başlangıç hızı su fazı ve yağ arasındaki ara yüzeye ve enzim bulunan su fazına bağlıdır [38].

Bhattacharyya ve arkadaşları ticari asidik yağların *Candida cylindracea* lipazı ile hidroliz reaksiyonlarını incelemişlerdir. Ayçiçek, soya ve pirinç kepeği asidik yağlarının, nötral gliseridlerin %60‘ı kadar su ve asidik yağın %0,4 ‘ü kadar lipaz katalizörlüğünde hidroliz reaksiyonlarını inceleyen bu çalışmada hidrolizin 48 saatte tamamlandığını görmüşlerdir [22].

Dandik ve arkadaşları balıkyığının enzimatik hidroliz reaksiyonunda lipaz etkisini incelemişlerdir. Dokosahekzanoik asit (DHA) konsantrasyonu yüksek bir gliserid karışımı elde etmek için altı çeşit mikrobiyal lipaz kullanmışlar ve *Candida cylindracea* lipazının kullanıldığı ve %70 hidrolizlenme derecesinin olduğu reaksiyonlarda elde edilen gliserid karışımındaki DHA konsantrasyonunun orijinal balık yağındakinin 3 katı olduğunu belirtmişlerdir [14].

Bilyk ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, *Candida rugosa*, *Parcine pancreas* ve *Rhizomucar miehei* lipazlarını kullanarak değişik koşullarda ve çeşitli organik çözücülerin varlığında balıkyığı, soya yağı ve mısıryığının hidrolizlenmelerini incelemişlerdir. Bu çalışmada donyağı hidrolizinin oda sıcaklığı ve ılımlı karıştırma koşullarında 20 saatte, 45 °C’de ise 6 saatte tamamlandığı belirlenmiştir. *Rhizomucar* lipazı kullanılarak n-metil bütülin ortamında ve 20 °C’de gerçekleştirilen balıkyığı ve bitkisel yağların hidrolizlerinin ise 20 saatte tamamlandığı gözlenmiştir. Ayrıca

incelenen lipazlar arasında özellikle *Rhizomucor miehei* lipazının hidroliz reaksiyonlarında etkin olduğu da belirlenmiştir [15].

Piazza ve Haas'ın yapmış oldukları çalışmalarında 2,2,4-trimetil pentanın çözücü olarak kullanıldığı soya yağının hidrolizinde yağı giderilmiş ve parçalanmış yulaf tohumunu enzim kaynağı olarak kullanmışlar ve bu yöntemin soya yağından oleik asit üretimi için kullanılabileceğini ve enzimin tekrar geri kazanılabileceğini belirtmişlerdir [39].

Yapılan diğer bir çalışmada Ergen ve arkadaşları reaksiyon koşulları ve substrat konsantrasyonunun enzimatik trigliserid sentezi ve trigliserid hidroliz reaksiyonlarındaki etkilerini incelemişlerdir. Hidroliz reaksiyonunda trioleinin diolein, monoolein ve serbest aside dönüşümünde en yüksek verimin suyun reaksiyon substratı olarak kullanılması ile elde edildiğini belirtmişlerdir [22].

Soumanou ve Bornscheuer, yaptıkları çalışmada lipaz katalizli reaksiyon ile ayçiçeği yağından biyodizel üretmişlerdir. Alkoliz hızı üzerine organik çözücü etkisi araştırılmış ve petrol eteri ve n-hekzan kullanılan sistemde en yüksek dönüşüm(%80) bulunmuştur.Çözücüsüz ortamda çeşitli mikrobiyal lipazlar ile yürütülen alkoliz reaksiyonlarında en iyi dönüşüm (>90) ; yağ/metanol , mol oranı 1/ 4,5 ve 40°C olduğunda *Pseudomonas fluorescens* lipazı ile yürütülen reaksiyonlarda görülmüştür [40].

Madras ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 200 bar basınç, 200-400°C aralığında süperkritik metanol ve etanolde ayçiçeği yağının transesterleşmesi araştırılmıştır. Ayrıca biyodizel süperkritik CO₂'de enzimatik olarak sentezlenmiştir. Metanol ve etanolde tam dönüşüm görülürken CO₂ içinde sadece %30 dönüşüm gözlemlenmiştir. Biodizel sentezi 200-400°C arasında sabit mol oranında (alkol/yağ : 40) , 200 bar basınçta yürütülmüştür. Metanolün kritik sıcaklığı 240 °C , etanolün ise 243 °C dir. Bu nedenle 200 °C deki koşullar süper kritik durumu gösterir. Sıcaklık arttıkça metanolde metil estere dönüşüm %78'den % 96'ya çıkmıştır. Etanolde ise yağın çözünmesinden dolayı çok daha fazla dönüşümler gözlemlenmiştir [41].

Watanabe ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise üç basamaklı metanoliz ile gamı giderilmiş soya fasülyesi yağının yağ asidi metil esterlerine dönüşümü üzerinde incelemeler yapılmıştır. Ham , gamı giderilmiş ve rafine soya fasülyesi yağları ile gerçekleşen reaksiyon 1/3, yağ/metanol mol oranında ; ağırlıkça yağın %4'ü kadar lipaz varlığında yürütülmüştür. İlk adımda gamı giderilmiş yağ

dönüşümü 1 saatte %5,9 ve rafine yağda %11,6 bulunmuştur. Gamı giderilmiş yağ kullanılarak yapılan metanolizde reaksiyon hızı rafine yağın kullanıldığı reaksiyon hızının yarısına eşittir. Buna rağmen 6 saat sonra her iki yağda da dönüşüm % 30,5'e yükselmiştir. 2. ve 3. adımda da metanol ekleyerek yürütülen reaksiyonda ise 3. adım sonunda rafine yağ dönüşümü %95,9 gamı giderilmiş yağ dönüşümü %93,8 olarak saptanmıştır [8].

Iso ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada kısa zincirli alkol ve trigliseridler kullanarak transesterleşme reaksiyonunu incelemişlerdir. Aspir yağı triaçilgliserol olarak kullanılmış; metanol, ethanol, 1-propanol, 1- butanol kısa zincirli alkol olarak kullanılmıştır. Substrat olarak metanol kullanıldığında metanol trioleinde çözülmemiştir. Bundan dolayı reaksiyonun yürütmesi için organik çözücülere gereksinim duyulduğu ortaya çıkmıştır. Reaksiyonlar çeşitli koşullarda gerçekleştirilmiştir. İmmobilize *P. fluorescens*, *P. cepacia*, *M. javanicus*, *C. rugosa* ve *R. Niveus* lipazları eşliğinde 1-butanol ve 1-propanol varlığında gerçekleşen bu reaksiyonlarda en yüksek enzimatik aktivite 1-propanolün kullanıldığı *P. fluorescens* lipazının katalizlediği reaksiyonda gözlemlenmiştir. Ayrıca immobilize enzimlerin serbest enzimlere göre daha yüksek aktivite gösterdiği ve enzim immobilizasyonunun en büyük avantajının da enzimin tekrar kullanılabilirliği olduğu açıklanmıştır [42].

Köse ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada çözücüsüz ortamda ticari olarak Novozym 435 olarak adlandırılan *Candida antarctica* orjinli immobilize enzim kullanarak primer ve sekonder alkoller ile rafine pamuk tohumu yağının transesterleşmesini incelemişlerdir. Metanoliz için optimum koşullar ; yağ/alkol mol oranı, ¼ ; yağ ağırlığının %30'u kadar enzim; 50°C ve 7 saat reaksiyon süresi olarak saptanmıştır. Bu koşulda maksimum metil ester miktarı %91,5' tir [43].

Pizarro ve Park 'ın yapmış oldukları çalışmada ise atık ağartma toprağından ekstrakte edilen bitkisel yağ kullanılarak yağ asidi metil esterleri üretilmiştir. Çalışmada atık ağartma toprağı örneklerinden yağ ekstrakte edilmiş ve elde edilen yağların soya fasülyesi yağı, palm yağı ve kolza yağı olduğu saptanmıştır. Ekstrakte yağların sabunlaşma değeri ve toplam serbest asit miktarı rafine yağlarınkine yakın çıkmış ve dolayısı ile metil ester üretim yüzdelerinin de yakın olması beklenmiştir. Palm yağının dışındaki atık bitkisel yağların viskozitesi rafine yağlardan daha yüksek (3-5 kat) çıkmasının dönüşümü negatif yönde etkileyeceği açıklanmıştır. Metanolizin *R.oryzae* lipazı ile yüksek miktarda su varlığında yüksek bir verimle katalizlendiği

açıklanan çalışmada reaksiyon ortamındaki su miktarı %15-%100 aralığında değiştirilmiş ve su miktarı arttıkça metil ester üretiminin arttığı görülmüştür. 35 °C de 175 rpm karıştırma hızı altında 96 saat yürütülen reaksiyonda optimum koşullar su miktarı %75; yağ/metanol mol oranı, 1/4 ve 67 IU/g enzim olarak belirlenmiştir. Su miktarı arttıkça metil ester üretiminin arttığı görülmüştür [44].

Kaieda ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise soya fasulyesi yağının çeşitli organizmalardan elde edilen lipaz enzimleri kullanılarak metanolizi araştırılmıştır ve organik çözücünün kullanılmadığı su içeren sistemde bu lipazların metanolizi katalizlediği görülmüştür. Enzim tozu ve enzimin %10 'luk sulu çözeltisi hazırlanarak yapılan ve 50 saat yürütülen metanoliz reaksiyonlarında enzim etkisi incelenmiştir. Toz enzimle katalizlenen reaksiyonlarda *C.Rugosa* lipazının varlığında metil ester olmazken % 10'luk çözeltisinin bulunduğu sistemde metil ester içeriği %30,8 olmuştur. Aynı koşullarda *P.cepacia* enzim tozu ile yürütülen reaksiyonda %32, sulu çözeltisi ile yürütülen reaksiyonda ise %32,6 oranında metil ester içeriği gözlemlenmiştir [45].

Antolin ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada biyodizel elde etmek için ayçiçeği yağının transesterleşme reaksiyonu incelenmiştir. Yüksek kalitede yüksek verimle biyodizel elde etmek amacı ile reaksiyonun en önemli parametreleri olan sıcaklık, substrat oranı ve saflaştırma metodlarının optimizasyonu Taguchi metodu ile çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen ayçiçeği metil esterlerinin dizel yakıtı olarak kullanılabilirliğini belirlemek için viskozitesi, asit değeri, parlama noktası ve donma noktası incelenmiştir ve optimum koşullarda elde edilen biyodizelin fosil yakıtlara alternatif en uygun biyodizel olduğu sonucuna varılmıştır [46].

Kojima ve arkadaşlarının çalışmalarında ham yağ rafinasyonunda açığa çıkan atık ağartma toprağından yağ asidi metil esterlerinin enzimatik üretiminde fosil yakıtların çözücü olarak kullanılabilirliğini incelemişlerdir. Dizel yağında en yüksek stabiliteyi *Candida Cylindracea* lipazı göstermiştir. Dizel yağının çözücü olarak kullanıldığı çalışmada % 10 lipaz varlığında atık ağartma toprağından yaklaşık % 100 verimle yağ asidi metil esteri üretimi için 3 saatlik bir reaksiyon süresinin gerektiği saptanmıştır. Dizel yağının çözücü olarak kullanıldığı üretim yöntemi ile elde edilen yakıtın yakıt özelliklerinin Japon dizel yakıtı ile uyum gösterdiği ve diğer çözücüler kullanılarak elde edilen yağ asidi metil esterlerine göre daha düşük karbon bakiyesi özelliği gösterdiği açıklanmıştır. Dizel yağının çözücü olarak kullanıldığı bu sistem

prosesi de kolaylaştırmıştır. Çünkü çözücü ve metil ester karışımından organik çözücüyü ayırmaya gerek kalmamıştır [47].

Wang ve arkadaşları süperkritik metanol kullanarak bitkisel yağın transesterleşmesini tüp reaktörde incelemişler, methanol oranı , reaksiyon basıncı ve reaksiyon sıcaklığının yükselmesinin ürün miktarını arttırdığını açıklamışlardır. Ancak 300°C ‘nin üzerinde yağ asidi metil esterlerinin yan reaksiyonlarının arttığı ve madde kaybı olduğu gözlenmiştir. Sabit sıcaklık prosesinde reaksiyon koşulları alkol/ yağ mol oranı 40/1, reaktörde kalma süresi 25 dak., 35 mPa basınç ve 310 °C olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda, doymamış yağ asidi metil esterinin yüksek reaksiyon sıcaklığındaki yan reaksiyonundan kaynaklanan kayıptan dolayı maksimum verim %77 olmuştur. Bu problemi çözmek için aşamalı ısıtma yöntemi olan yeni bir teknoloji geliştirilmiştir. Bu yeni teknoloji ile ester oluşumu %96 dan daha fazla olabilecektir [48].

Noureddini ve arkadaşlarının çalışmalarında metanol ve etanol ile soya fasülyesi yağının enzimatik esterleşmesini incelemişlerdir. Test edilen dokuz lipazdan en yüksek alkil ester verimi *Pseudomonas Cepacia* lipazından elde edilen *Lipaz PS* lipazı göstermiştir. Hidrolize tetramethoksilane ve iso-butyltrimethoksilane ‘nin polikondenzasyonu ile hazırlanan immobilize lipaz PS kullanılarak, transesterleşme reaksiyonunda sıcaklık, enzimin termal stabilitesi, enzim miktarı ve alkol ve su derişiminin etkisi araştırılmıştır. 10 g yağın kullanıldığı transesterleşme prosesinde metanol ile yürütülen reaksiyonda optimum koşullar ; 35 °C , 1/7,5 yağ/ metanol mol oranı, 0,5g su ve 475mg lipaz olarak belirlenmiştir. Etanol ile yürütülen transesterleşme reaksiyonunda ise bu değerler sırası ile 35 °C , 1:15,2 yağ/metanol mol oranı, 0,3 g su, 475 mg lipaz olarak açıklanmıştır. Immobilize lipaz kullanıldığı sistemde enzimin serbest enzime göre daha aktif olduğu gözlenmiş ve enzim tekrar kullanıldığında çok az aktivite kaybı görülmüştür [49].

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışmada, Türkiye kökenli atık yağın ağartma toprağı ile rafinasyonu sırasında aktifleştirilmiş ağartma toprağı (AAT) tarafından tutulan yağın *Rhizomucor miehei* kökenli Lipozyme RM IM lipazı ile enzimatik hidroliz reaksiyonu ve reaksiyon koşullarının hidroliz reaksiyonuna etkileri incelenmiştir.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Ayçiçek yağının rafinasyon prosesinde kullanılmış olan atık aktifleştirilmiş ağartma toprağı (AAAT) Besler Gıda San. Tic.A.Ş. tarafından sağlanmıştır. İlgili firma tarafından verilen bilgiye göre, rafinasyon prosesinde kullanılan ağartma toprağı Bensan Aktifleştirilmiş Bentonit San. ve Tic. A.Ş. firmasının ürünü olan aktifleştirilmiş bentonittir. Çalışmada kullanılan Lipozyme RM IM lipazı Novozymes (Bagsvaerd,Denmark) firması tarafından sağlanmıştır. Deneylerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Riedel de Haen firmasının ürünleridir.

3.2. Atık Aktive Ağartma Toprağı ve Adsorplanmış Yağın Karakterizasyonu

Çalışmanın ilk aşamasında standart yöntemler kullanılarak atık aktifleştirilmiş ağartma toprağının (AAAT) nem miktarı ve AAAT 'de adsorplanan yağ miktarı tayin edilmiştir. Daha sonra AAAT de adsorplanan yağ ekstraksiyon ile kazanılarak bu yağın sabunlaşma ve asit değerleri ile yağ asidi bileşimi belirlenmiştir [50].

AAAT'nın nem içeriğini belirlemek için 5 g numune alınmış ve 105 °C 'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Kurutma işlemi için her yarım saat sonunda etüvden alınan numune 20 dakika desikatörde bekletilmiş ve sonra tartımı alınmıştır. Bu işlem, alınan iki tartım arasındaki fark 0,05 g' a düşene kadar tekrarlanmıştır.

AAAT' da adsorplanan yağın miktarı ise n- hekzanın çözücü olarak kullanıldığı soxhlet ekstraksiyonu ile belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresi 6 saat olarak alınmıştır. Çözücü fazına geçen yağ miktarı çözücünün döner evaporatörde uzaklaştırılması ile tayin edilmiştir.

AAAT' nın yağ içeriği aşağıda verilen (3.1) denklemi kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Yağ içeriği (\%)} = \frac{Yağ(g)}{AAAT(g)} \times 100 \quad (3.1)$$

AAAT yağının karakterizasyonu için standart metodlar [50] kullanılarak yağın sabunlaşma (SD) ve asit değerleri (AD) tayin edilmiştir. Asit değeri, 1 g yağı nötrale etmek için gereken potasyum hidroksidin (KOH) miligram miktarıdır. Asit değeri, yağlarda bulunan serbest yağ asitlerinin miktarını belirler. Asit değerinin tesbiti için normalitesi belli KOH çözeltisi ile fenolftalein indikatörlüğünde titrasyon yapılır ve (3.2) denklemi kullanılarak yağın asit değeri, (3.3) denklemi ile de yağda bulunan serbest yağ asitleri miktarı hesaplanır.

$$\text{Asit Değeri} = \frac{56,1 \times N \times V}{W} \quad (3.2)$$

$$\text{Serbest yağ asitleri miktarı (\%)} = \frac{V \times N \times M}{10 \times W} \quad (3.3)$$

Bu denklemlerde;

N = KOH çözeltisinin normalitesi

V = Titrasyonda kullanılan KOH çözeltisinin miktarı (mL)

W = Tartılan yağ miktarı (g)

M = Yağ asitlerinin molekül ağırlığıdır. Hesaplamalarda genellikle oleik asidin molekül ağırlığı olan 282 değeri kullanılır.

Sabunlaşma değeri (SD) 1 g yağı sabunlaştırmak için gereken KOH'ın miligram cinsinden miktarıdır. Yağın sabunlaşma indisini tayin etmek için, yağ 0,5N alkollü KOH çözeltisi ile geri soğutucu altında sabunlaştırılır. Sabunlaştırma sonunda ortamda kalan kullanılmayan KOH 'ın miktarı ise karışım 0,5N HCL ile titre edilerek (3.4) denklemi ile hesaplanır.

$$\text{Sabunlaşma Değeri} = \frac{56,1N(V_2 - V_1)}{W} \quad (3.4)$$

Bu denklemde kullanılan semboller aşağıda açıklanmıştır:

N = HCl asit çözeltisinin normalitesi

V₁ = Titrasyonda kullanılan HCL çözeltisinin miktarı (mL)

V_2 = Şahit denemede kullanılan HCL çözeltisinin miktarı (mL)

W = Tartılan yağ miktarı (g)

AAAT ve yağının karakterizasyonu için belirlenen özellikler Tablo 3.1’ de görülmektedir.

Tablo 3.1. AAAT ve Yağının Özellikleri

Özellikler	Değer
AAAT ‘nın özellikleri	
Nem içeriği (% Ağırlık)	10,4
Yağ içeriği (% Ağırlık)	25,8
AAAT yağının özellikleri	
Asit değeri (mg KOH / g yağ)	6,1
Sabunlaşma değeri (mg KOH /g yağ)	193,6
AAAT yağının yağ asidi bileşimi (% Ağırlık)	
Palmitik asit (16:0)	9,7
Linoleik asit (18:2)	46,1
Oleik asit (18:1)	32,7
Stearik (18:0)	4,7
Eikosadienoik (20:2)	1,3
Gadoleik (20:1)	1,2
Araşidik (20:0)	2,9
Beharik (22:0)	0,5
Lignoserik (24:0)	0,9

Çalışmada kullanılan atık ağartma yağı yağ asitleri bileşimi kapiler gaz kromatografisi (GC) ile saptanmıştır. Bu amaçla önce yağın metil esterleri hazırlanmış ve Hewlett-Packard 5890 Seri II (Hewlett-Packard, Waldron, Almanya) gaz kromatografi cihazına beslenmiştir. Kromatogramlarda elde edilen piklerin tanımlanmasında, 8:0, 12:0, 14:0, 16:0, 16:1, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3 ve 20:0 yağ asitlerinden ibaret standart yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-Aldrich)’nın aynı cihaz ve koşullarda yapılan analizinden elde edilmiş kromatogramı kullanılmıştır. Uygulanan kromatografik analiz koşulları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Gaz kromatografik analiz koşulları

Dedektör Tipi	FID ⁽¹⁾
Dedektör sıcaklığı (°C)	280
İnjesiyon sıcaklığı (°C)	250
Gaz hızları (mL/dak)	
Azot	1,6
Hidrojen	33
Hava	460
Dağıtma oranı	88:1
Fırın sıcaklığı	150 °C (5 dak) 150-275 °C (5 °C/dak) 275 °C (10 dak)
Kolon tipi	Kapiler kolon TRB-5 ht ⁽²⁾

(1) Alev iyonizasyon dedektörü

(2) 30m × 0,25mm, 0,1µm film kalınlığında %5 difenil ve %95 dimetil polisiloksan

3.3. Deney Düzeneği

Enzimatik hidroliz reaksiyonları, su banyosu içine yerleştirilmiş olan 100 mL hacimli dibi yuvarlak cam bir balonda yürütülmüştür. Su banyosunun sıcaklığı, ısıtıcılı, sıcaklık kontrollü manyetik karıştırıcı (Framo-Geraetetechnik M22/1 5655 Franz Morad Eisenbach, Almanya) ile ± 1 hassasiyetle kontrol edilmiştir. Deneysel çalışmalarda karıştırma hızı 450 dev/dak değerinde sabit tutulmuştur.

3.4. Enzimatik Hidroliz Reaksiyonu

Enzimatik hidroliz reaksiyonu, 5 g yağın 2,5 mL distile su ve 7,5 mL n-hekzan ile reaksiyon balonuna alınarak ısıtılması ve karışımın istenilen sıcaklığa ulaşması ile seçilen enzimin reaksiyon ortamına ilave edilmesi ile başlatılmıştır. Reaksiyonun yürüyüşü, belli zaman aralıklarında alınan numunelerin (1 mL) bileşimleri belirlenerek izlenmiştir. Reaksiyon ortamından alınan numuneler önce 90 °C’ deki su banyosunda 15 dakika bekletilerek enzimin inaktif hale geçmesi sağlanmıştır. Su banyosundan alınan numunelere 5 mL n-hekzan ve 5 mL distile su ilave edilerek su

ve yağ fazları birbirinden ayrılmıştır. n-Hekzan fazına geçen yağ fazlarını kurutmak için üzerine susuz Na₂SO₄ ilave edilmiştir. Bu numunelere daha sonra 5 mL n-hekzan ilave edilmiş ve bileşimleri İnce Yüzey Kromatografisi-Alev İyonizasyon Dedektörü (TLC-FID) kombine sistemi olan Iatroscan TH10 cihazı ile analiz edilmiştir. Bu amaçla hazırlanan numunelerden yaklaşık 1 µL alınarak SIII rodı üzerine enjekte edilmiş ve rodlar kromatografi tankında bulunan yürütücü ortamına (çözücü karışımına) daldırılmıştır. Bu analiz için yürütücü olarak petrol eteri:dietil eter:asetik asit (hacimce 35:15:1) karışımı kullanılmıştır. Üzerlerine numune enjekte edilmiş olan rodlar tankta 20 dak. bekletildikten sonra önce çekir ocak içinde 5 dak. kadar bekletilmiş, daha sonra da 50 °C'ye ısıtılmış olan etüvde 5 dak. bekletilerek çözücülerin uçması sağlanmıştır. Analize hazır olan bu rodlar daha sonra cihaza yerleştirilmiştir. Numunelerin TLC-FID sistemindeki analizi için hidrojen gazı debisi 160 mL/dak., hava debisi 2200 mL/dak. ve tarama hızı 30 sn/ tarama olarak seçilmiştir. Analiz sonuçlarından reaksiyon ürünlerinin içerdiği triağılglicerol (TAG), diağılglicerol (DAG) , monoağılglicerol (MAG) ve serbest yağ asidi (FFA) miktarları ağırlık yüzdesi olarak belirlenmiştir.

Ürünlerin serbest yağ asidi içeriklerinden asit değerleri, elde edilen asit değerlerinden de (3.5) formülü kullanılarak hidrolizlenme dereceleri hesaplanmıştır [24].

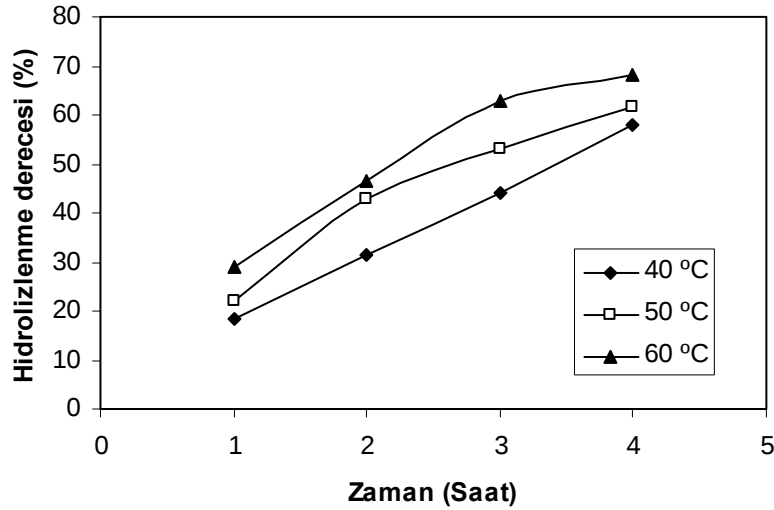
$$\text{Hidrolizlenme Derecesi} = \frac{AD_2 - AD_1}{SD - AD_1} \times 100 \quad (3.5)$$

Formuldeki AD₁ ve AD₂ sırası ile alınan örneklerin başlangıçtaki ve belirli t anındaki asit değerlerini, SD ise AAAT yağının sabunlaşma değerini göstermektedir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Hidrolizlenme Derecesine Sıcaklığın Etkisi

Atık aktive ağartma toprağı (AAAT) yağının hidroliz reaksiyonu farklı sıcaklıklarda yürütülmüş ve (3.5) formülü kullanılarak çalışılan sıcaklıklarda yağın hidrolizlenme derecesi hesaplanmıştır. 40 °C , 50 °C ve 60 °C de 5g yağ , yağın ağırlıkça % 15'i kadar enzim, 2,5 mL distile su ve 7,5 mL n-hekzan kullanılarak gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında en yüksek hidrolizlenme derecesi (%70,7) Şekil 4.1 ve Tablo 4.1'de görüldüğü gibi 60 °C' de yürütülen reaksiyonda gözlemlenmiştir.



Şekil 4.1. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda sıcaklığın hidrolizlenme derecesine etkisi (Enzim miktarı:Ağırlıkça %15 ; distile su 2,5 mL; n-hekzan: 7,5mL).

Tablo 4.1. Sıcaklığın hidrolizlenme derecesine etkisi

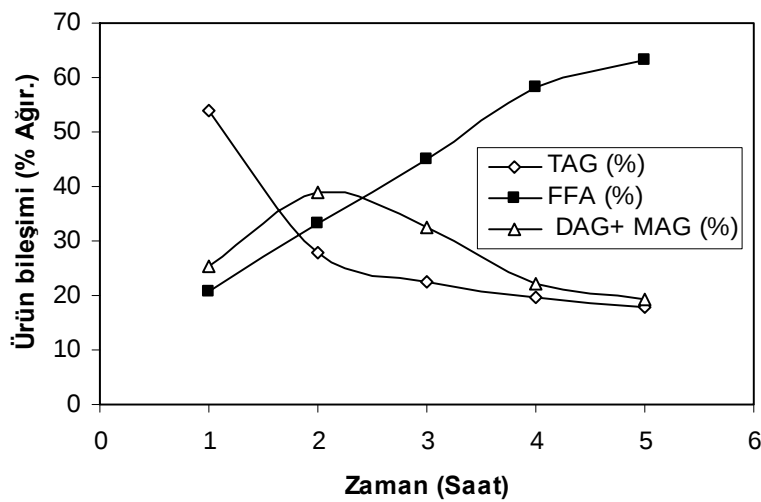
Zaman (saat)	Hidrolizlenme Derecesi (%)		
	40 °C	50 °C	60 °C
1	18,8	22,27	29,49
2	32,12	43,53	47,36
3	44,76	54,08	63,93
4	58,79	62,6	69,37
5	64,04	67,08	70,72

4.2. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Lipozym RM IM ile Hidrolizinde Ürün Bileşimine Sıcaklığın Etkisi

Enzimlerin aktivitesi üzerinde ortam sıcaklığının önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. Enzimlerin genel olarak 35-60 °C ler arasında aktivite gösterdikleri belirtilmekte ise de maksimum aktivite sıcaklığı enzim cinsine göre farklılıklar gösterir.

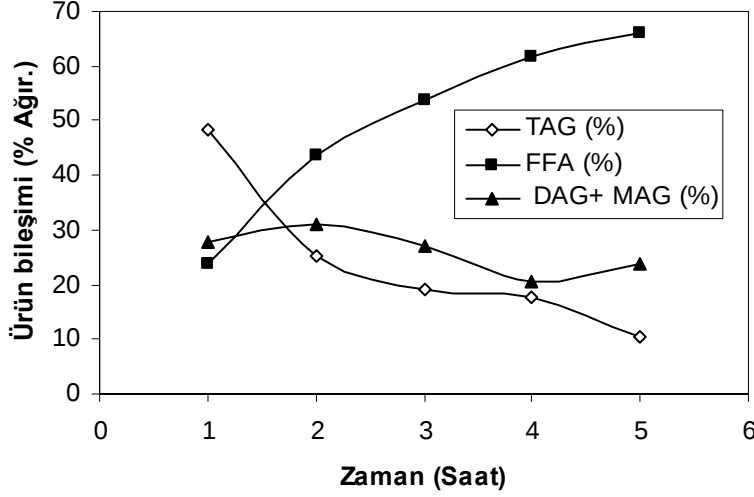
Çalışmada kullanılan Lipozym RM IM enziminin AAAT yağının hidroliz reaksiyonunda en yüksek aktivite gösterdiği sıcaklığın belirlenmesi amacı ile bölüm 4.1’ de açıklanan koşullarda yürütülen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşimlerinin reaksiyon süresine göre değişimleri ekler bölümündeki Tablo A.1. - Tablo A.3. ‘ te verilmiştir.

40 °C de yürütülen 5 saatlik deneysel çalışmada 1. saatten itibaren TAG hidrolizlenerek FFA oluşumunu sağlamıştır. Reaksiyonun ilk saati sonunda serbest yağ asidi miktarı %20,7 iken 5. saat sonunda % 63,1 değerine ulaşmıştır. Şekil 4.2 de görüldüğü gibi reaksiyonun başlangıcından reaksiyon tamamlanana kadar TAG oranında azalma gözlemlenmiştir. Reaksiyonun 5. saatte denge durumuna yaklaştığı görülmektedir. Hidroliz reaksiyonu geri dönüşlü bir reaksiyon olup 3 kademe de gerçekleşmektedir. Reaksiyonun ilk kademesinde FFA ve DAG oluşumu, 2. kademe de DAG’ın FFA ve MAG vererek hidrolizi son kademe de MAG’ın FFA’ya hidrolizi gerçekleşmektedir. Bu kademelerin her biri de geri dönüşlü reaksiyonlardır.



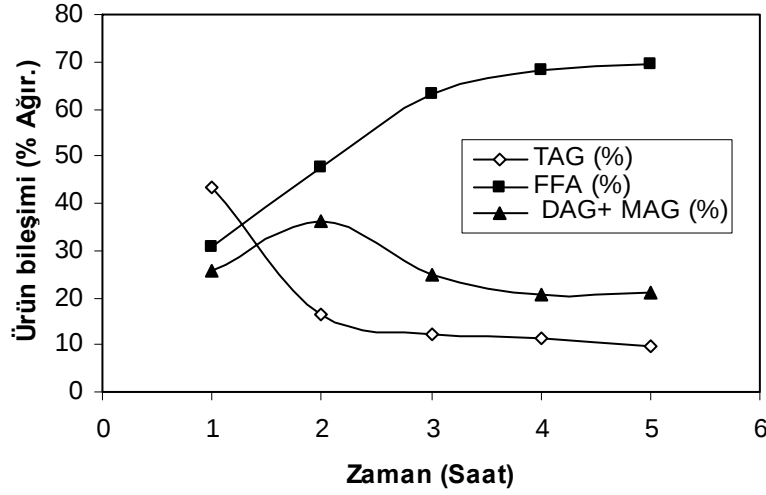
Şekil 4.2. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL; sıcaklık: 40 °C)

Ekler bölümündeki Tablo A.2.' de 50 °C' de yürütülen hidroliz reaksiyonlarında ürün bileşiminin reaksiyon süresine bağlı olarak değişim sonuçları incelendiğinde 5 saat yürütülen deneysel çalışmada reaksiyonun ilk saati sonunda serbest yağ asidi miktarı %23,9 iken 5. saat sonunda % 65,9 değerine ulaşmıştır. Şekil 4.3' te görüldüğü gibi süre arttıkça FFA miktarında artma TAG miktarında azalma gözlemlenmiştir.



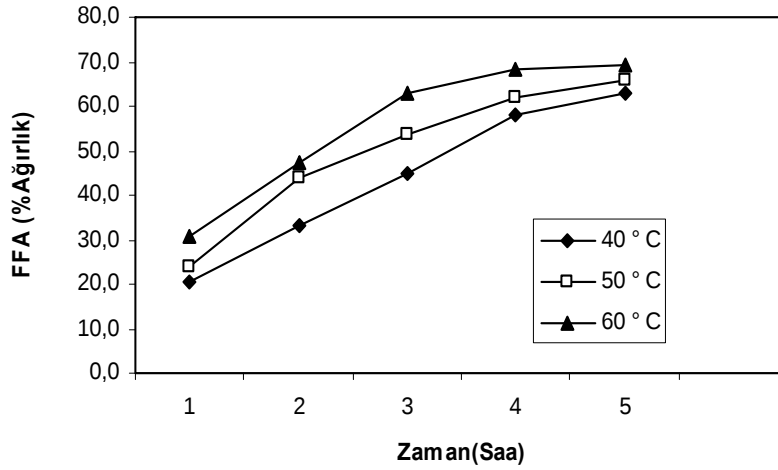
Şekil 4.3. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL ; sıcaklık: 50 °C)

60 °C de gerçekleştirilen 5 saatlik deneysel çalışmada reaksiyon ilk saati sonunda serbest yağ asidi miktarı %30,7 iken 5. saat sonunda % 69,3 değerine ulaşmıştır. Reaksiyonun 4 ve 5. saatlerine baktığımızda serbest yağ asidine dönüşümün hemen hemen dengeye ulaştığı görülmektedir. Şekil 4.4' te hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin reaksiyon süresine bağlı olarak değişimi görülmektedir.

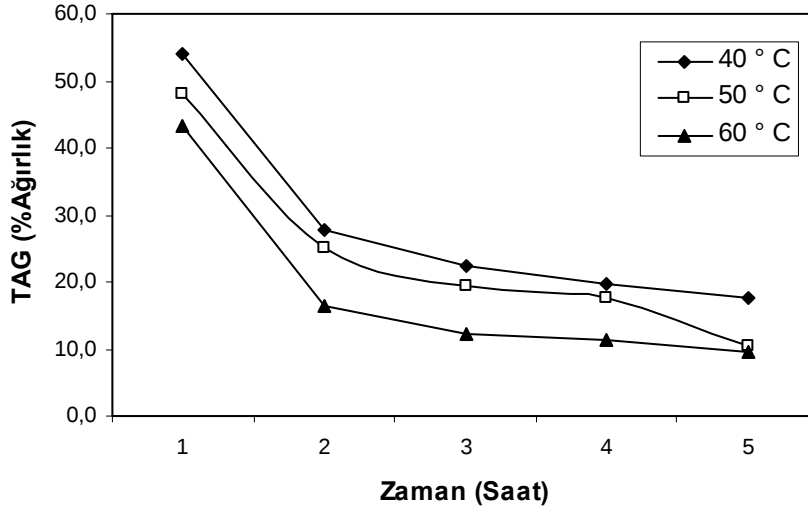


Şekil 4.4. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL; sıcaklık: 60 °C)

Şekil 4.5 ve Şekil 4.6 da AAAT yağının enzimatik reaksiyonunda ürün yağ asidi ve triaçil içeriklerinin sıcaklığa bağlı olarak reaksiyon süresine göre değişimleri karşılaştırılmalı olarak verilmiştir. Görüldüğü gibi, en yüksek serbest yağ asidi oluşumu 60 °C’ de gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar literatürle uyumludur. Enzimin aktivite gösterdiği sıcaklık aralığında sıcaklık artışı ile reaksiyon hızı artar.



Şekil 4.5. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün serbest yağ asidi içeriğinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)



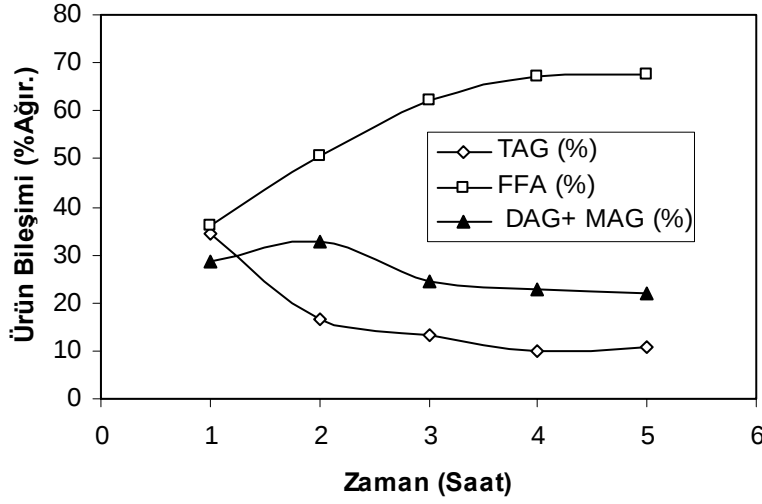
Şekil 4.6. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda ürün triaçilgliserol içeriğinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)

4.3. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Lipozym RM IM ile Hidroliz

Reaksiyonuna Enzim Miktarının Etkisi

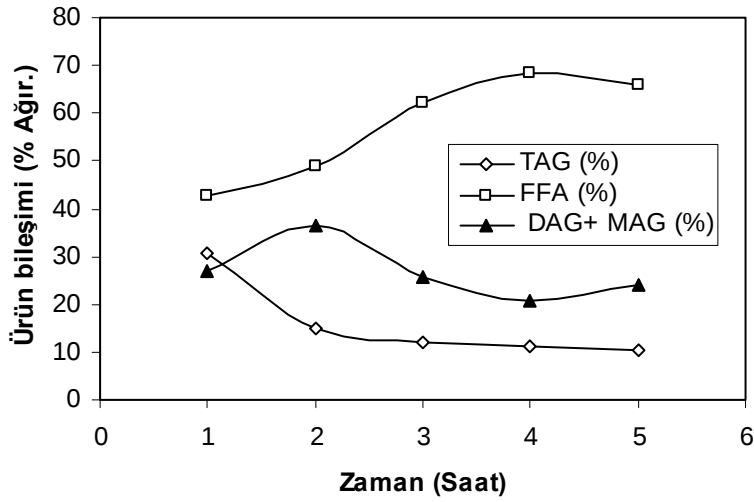
Atık aktive ağartma toprağı yağının hidroliz reaksiyonunda enzim miktarının etkisini incelemek amacıyla yürütülen reaksiyonlar 60 °C'de, 5g yağ, 2,5 mL distile su, 7,5 mL n-hekzan ve yağın %15- 25' i oranında enzim kullanılarak yürütülmüştür. Deneylerden elde edilen sonuçlar ekler bölümünde Tablo A.3, Tablo A.4 ve Tablo A.5 'da verilmiştir.

Aynı sıcaklıkta ve aynı koşullarda enzim miktarı artırıldığında reaksiyon daha hızlı gerçekleşmiş, reaksiyon başlangıcında triaçilgliserollerin serbest yağ asidine dönüşümü yüksek değerlere ulaşmıştır. Ancak reaksiyon sonunda elde edilen dönüşüm miktarı yağın %15'i kadar enzim ile gerçekleştirilen reaksiyon sonunda elde edilen dönüşüm değeri ile hemen hemen aynı kalmıştır. Bu aşamada enzim miktarını arttırmak reaksiyona hız vermiş fakat hidroliz veriminde artış sağlanamamıştır. Şekil 4.7 ve 4.8 'de de yağın %20'si ve %25 'i kadar enzim kullanılarak yürütülen hidroliz reaksiyonunda ürün bileşiminin zamana göre değişimi görülmektedir.



Şekil 4.7. 60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %20; distile su :2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

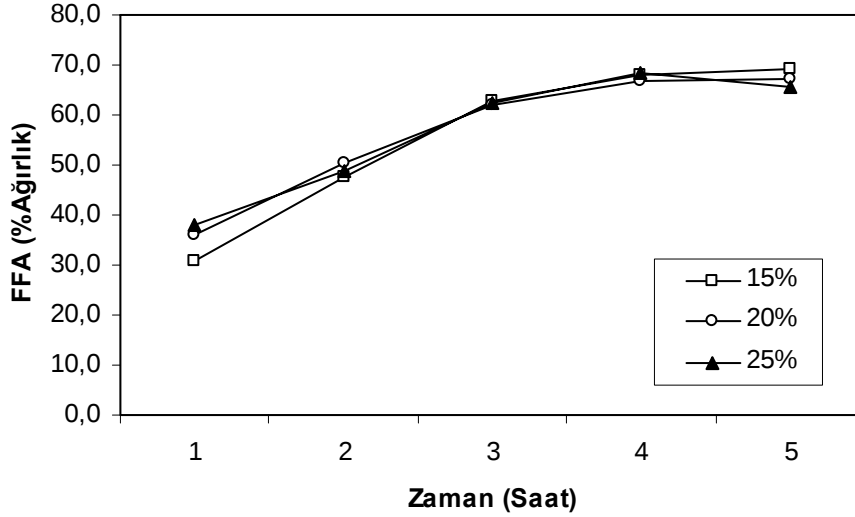
Bu reaksiyon sonuçlarına bakıldığında enzim miktarının artması ile hidroliz hızının arttığı görülmektedir ve reaksiyon 4. saatten itibaren denge durumuna yaklaştığı görülmektedir.



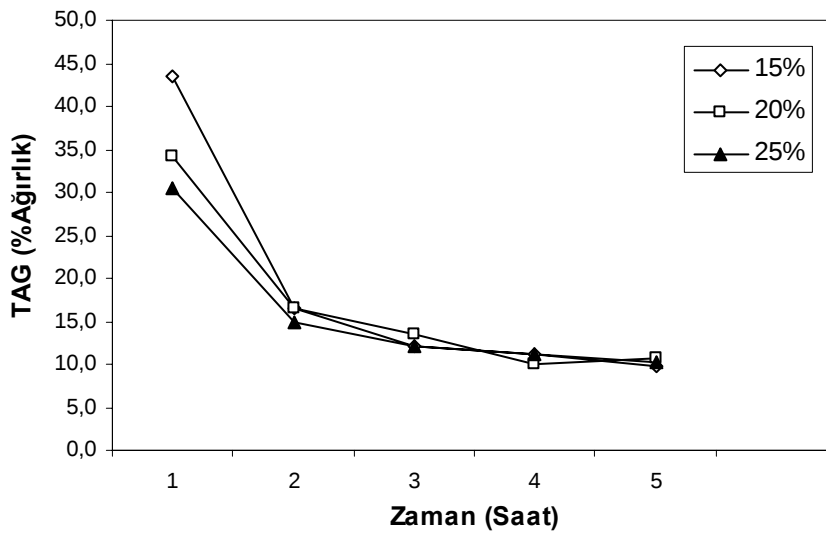
Şekil 4.8. 60 °C' de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %25; distile su:2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

Şekil 4.9 ve Şekil 4.10' da 60 °C' de farklı miktarda enzim kullanılarak yürütülen hidroliz reaksiyonlarında ürün serbest yağ asidi ve triağılgiserol içeriklerinin zaman

göre değişimleri görülmektedir. Bu grafikler incelendiğinde enzim miktarındaki artışın hidroliz reaksiyonunda önemli bir artışa neden olmadığı görülmektedir. Bu nedenle bu reaksiyon için en uygun enzim miktarı %15 olarak seçilmiş ve çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde %15 enzim miktarı ile çalışılmasının uygun olduğuna karar verilmiştir.



şekil 4.9. 60  C’ de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürünün serbest yağ asidi içeriğine enzim miktarı ve reaksiyon süresinin etkisi (Distile su:2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

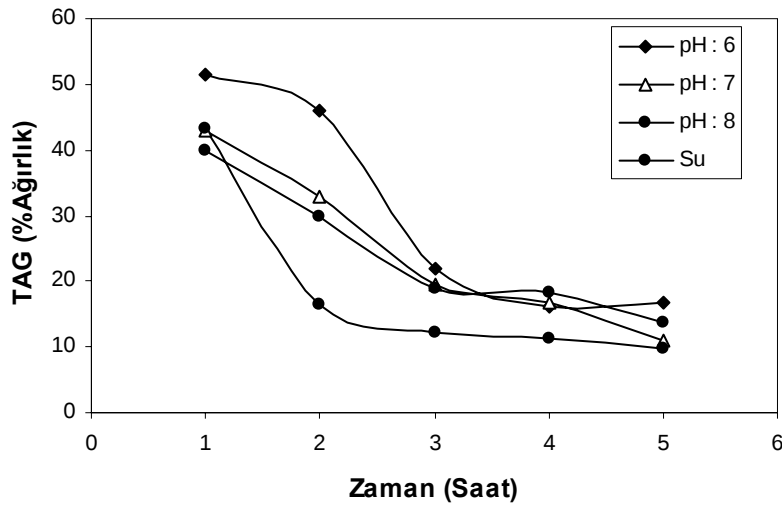


şekil 4.10. 60  C’ de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürünün triaçilgliserol içeriğine enzim miktarı ve reaksiyon süresinin etkisi (Distile su:2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

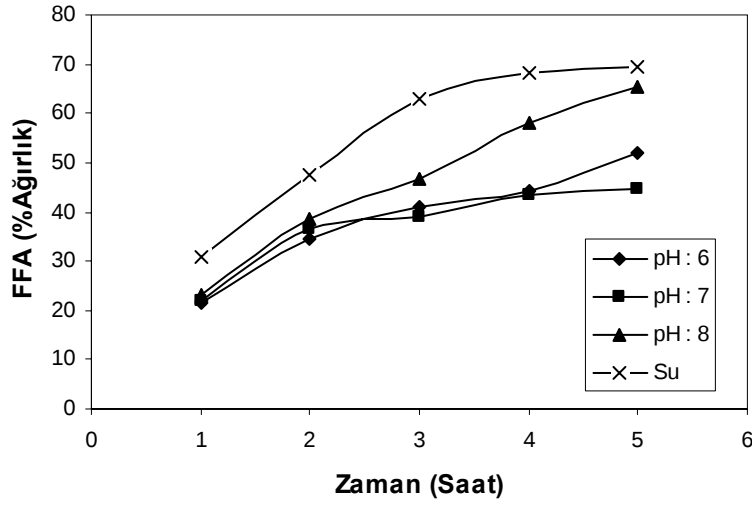
4.4. Atık Aktive Ağartma Toprağı Yağının Lipozym RM IM ile Hidroliz Reaksiyonunda pH'ın Etkisi

Enzimlerin aktivitelerine sıcaklığın olduğu kadar pH'ın da etkili olduğu ve her enzim için optimum bir pH değeri olduğu bilinmektedir. AAAT yağının Lipozym RM IM enzimi ile yürütülen hidroliz reaksiyonları, pH'ın hidroliz verimine etkisini incelemek amacı ile, pH değerleri 6,0-8,0 arasında değişen fosfat tampon çözeltiler kullanılarak tekrarlanmıştır. Tampon çözeltilerin hazırlanmasında potasyum dihidrojen posfat (1/15 mol/L) ve disodyum hidrojen fosfat (1/15 mol/L) kullanılmıştır. Reaksiyon koşulları olarak daha önce en yüksek TAG dönüşümü elde edilen koşullar seçilmiştir. Tablo A.6 ve Şekil 4.11' de tampon çözelti pH değerinin hidroliz reaksiyonuna etkisi gösterilmiştir.

Ekte verilen Tablo A.6 da görüldüğü gibi en yüksek FFA içeriği pH'ı 8 olan tampon çözelti ortamında elde edilmektedir. Bu sonuçlar, aynı miktarda distile su ile aynı koşullarda yürütülen deney sonucu ile karşılaştırıldığında (Şekil 4.12 ve Şekil 4.11) distile su ile yürütülen reaksiyonun daha hızlı gerçekleştiği ve reaksiyon sonucunda en yüksek FFA ve en düşük TAG içeriğine ulaşıldığı görülmektedir .



Şekil 4.11. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda TAG içeriğinin pH etkisi (Enzim miktarı: %15; Sıcaklık: 60°C; tampon çözelti: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)



Şekil 4.12. AAAT yağının enzimatik hidroliz reaksiyonunda pH' ın ürün serbest yağ asidi içeriğine etkisi (Enzim miktarı: %15; sıcaklık: 60°C; tampon çözelti: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)

5. VARGILAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, atık ağartma toprağı yağının hidroliz reaksiyonu Lipozme RM IM lipazı varlığında incelenmiştir. Çalışmada varılan sonuç, değerlendirme ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

1. Atık aktive ağartma toprağı (AAAT) ve yağının özelliklerini belirlemek amacı ile yapılan incelemeler sonucuna göre :

AAAT ‘ nın nem içeriğı : %10,4

AAAT ‘ nın yağ içeriğı : %25,8

AAAT yağının asit değeri : 6,1 mg KOH/g

AAAT yağının sabunlaşma değeri : 193,6 mg KOH/g olarak bulunmuştur.

AAT ‘ nın %25-40 oranında yağ tuttuğı sonucunu bu çalışmada kullanılan AAT ‘da desteklemektedir.

2. Sıcaklık, enzim miktarı, su ve tampon çözeltinin incelenen hidroliz reaksiyonu üzerine etkisini belirlemek için yürütölen deneyler neticesinde belirlenen ve en uygun olduğı düşünölen koşullar :

Sıcaklık : 60 °C

Enzim miktarı : Yağ ağırlığının % 15’ i

Reaksiyon Süresi : 5 saat olarak tespit edilmiştir.

3. Belirlenen en uygun koşullar ile yürütölen reaksiyon neticesinde elde edilen yağ asidi içeriğı % 69,3 olarak saptanmıştır.

4. Çalışmada kullanılan enzimin çalışma aralığı düşünölerek seçölen sıcaklık aralığı (40 °C - 60 °C) değıştirilerek reaksiyona etkisi incelenebilir ve farklı bir enzim ile reaksiyon sonuçlarının değışip değışmeyeceğı araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Kayahan, M.**, 2003. Yağ kimyası, ODTÜ Yayıncılık, Ankara.
- [2] **Karleskind, A., Wolff, J.**, 1996. Oils and Fats Manual, pp.69-80, Intercept Limited Andover, UK.
- [3] **Çetin, Ö.E.**, 2003. Ayçiçeğine farklı gelişme dönemlerinde uygulanan yaprak gübresinin verim ve verim değerleri üzerine etkileri, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [4] **Kurt, G.**, 1997. Ayçiçek yağının doğrudan alternatif yakıt olarak değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü., Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [5] **Solunkhe, D.K., Chavan, J.K., S.S.**,1992. World oil seeds: chemistry, technology, and utilization, Van Nostrand Reinhold, New York.
- [6] **Kadayıfçı, A.**, 1998. Ayçiçeğinin su verim ilişkisi, *Turk Journal of Agricultural*, TÜBİTAK., **24**, 137-145.
- [7] Atık yağların kontrol yönetmeliği,21/01/04 tarihli ve 25353 sayılı Resmi Gazete.
- [8] **Watanaba, Y., Shimada, Y., Tominaga, Y.**, 2002. Conversion of degummed soybean oil to biodiesel fuel with immobilized Candida antarctica lipase, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **17**, 151-155.
- [9] **Lie, R., Hamilton, R.J.**, 2001. Agricultural Uses of Oleochemicals, in Oleochemical Manufacture and Applications, pp. 199-226, Gunstone, F.D., Sheffield Academic Pres, Sheffield.
- [10] **Zschau, W.**, 2001. Bleaching of Edible Fats and Oils, *European Journal of Lipid Science and Technology*, **103**, 505-508.
- [11] **Çerçioğlu, N.**, 1995. Enzim İzolasyonu ve Katalitik Etkisinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [12] **Avcıbaşı, G. Y.**, 1991. Domuz Ciğeri ve Bezelye Tohumundan Diamin Enziminin İzolasyonu ve Saflaştırılması ve Özelliklerinin İncelenmesi, *Doktora Tezi*, İ.T.Ü, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul

- [13] **Kazan, D.**, 1997. Enzimlerin Sınıflandırılması ve Kimyası, Enzim Mühendisliğinde Temel Konular ve Uygulamalar, Lisans Üstü Yaz Okulu, Tübitak Marmara Araştırma Merkezi.
- [14] **Dandik, L., Arıoğlu, G., Aksoy, H.A.**, 1993. The Enzymatic Hydrolysis of Used Frying Oil By Native Lipase, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **42**, 119-126.
- [15] **Batuhan, F.**, 1990. Enzimolojiye Genel Bakış, *Bitirme Ödevi*, İ.T.Ü, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [16] **Palmer, T.**, 1994. Enzim Bilgisi, Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı, İstanbul.
- [17] **Piri, E.**, 2003. Ayçiçek asidik yağının Enzimatik Esterleşmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [18] **Bonnet, C., Andreescu, S., Marty, J.**, 2003. Adsorption : An Easy and Efficient Immobilization of Acetylcholinesterase on Screen_printed Electrodes, *Analytica Chimica Acta*, **481**, 209-211.
- [19] **Erdoğan, F.**, 2002. Ayçiçek Asidik Yağının Enzimatik Hidroliz Reaksiyonunun İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [20] **Atkinson, B.**, 1991. Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook 2nd Edition, pp.197-205, Stockton Pres, United States.
- [21] Ullmans Enclopadie der Technisen Chemie, 1976. 1.Auflage, Velang Chemie, Weinheim, **10-11**, 29-32.
- [22] **Tokman, N.**, 1993. Kullanılmış Kızartma Yağının Enzimatik Hidrolizinde Tohum Miktarı ve Katkı Maddelerinin Etkisi, *Bitirme Ödevi*, İ.T.Ü, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [23] **Kırayoğlu, A.**, 2001. Çörekotu Tohum Lipazının Boraj Yağının Hidroliz Reaksiyonundaki Etkisinin İncelenmesi, *Bitirme Ödevi*, İ.T.Ü, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [24] Sinai Kimya Öğrenci Çalışma Yönergeleri, 1991. 2. Baskı, İ.T.Ü, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul.
- [25] **Gardhi, N.N.**, 1997. Application of Lipase *Journal of American Oil Chemists Society*, **74**, 621-634.
- [26] **Robert, W.J.**, 1989. Fatty Acids in Industry Processes, Properties, Derivates, Applications, 51-72, Marcel Dekker, Inc., New York.

- [27] **Kurşun, E.**, 2002. Ayçiçek asidik Yağının Enzimatik Esterleşmesi ile Yağ Asidi Esterlerinin Üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. , Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [28] **Khan, A.K.**, 2002. Research into biodiesel kinetics catalyst development, *Thesis*, The University of Queensland, Australia.
- [29] **Fukuda, H., Kondo, A.Noda, H.**, 2001. Biodiesel fuel production by transesterification of oils: Review, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **92**, 405-416.
- [30] **Kirk, R.E.**, 1980. Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Ed., **9**, pp. 291-327, *Interscience Publishers a Division of John Wiley and Sons Inc.*, New York.
- [31] **Schuchardt, U., Vargas, R.M.**, 1998. Transesterification of Vegetable Oils : Review, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **9**, 199-210.
- [32] **Anastopoulos, G.**, 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 Organiz Solvent, *Energy and Fuels*, **15**, 106-112.
- [33] **Minami, E., Saka, S.**, 2006. Kinetics of hydrolysis and methyl esterification for biodiesel production in two step supercritical methanol process, *Environmental Energy Science*, **85**, 2479-2483.
- [34] **Shamel, M., Hasan, M., Al-Zuhair, S.**, 2006. Hydrolysis of palm and olive oils by immobilized lipase using hollow fibre reactor, *Taylor's University College Subang Jaya*, No. **1**, SS15/8.
- [35] **Ting, W., Tung, K.,Giridhar, R., Wu, W.**, 2006. Application of binary immobilized Candida Rugosa lipase for hydrolysis of soybean oil, *Journal of Molecular Catalyst B: Enzymatic* , **42**, 32-38.
- [36] **Rooney, D., Weatherley, L.**, 2001. The effect of reaction conditions upon lipase catalysed hydrolysis of high oleate sunflower oil in a stirred liquid reactor, *Process Chemistry*, **36**, 947-953.
- [37] **Kiatsimkul, P., Sutterlin, W., Suppes, G.**, 2006. Selective hydrolysis of epoxidized soybean oil by commercial available lipases: Effects of epoxy group on the enzymatic hydrolysis, *Journal of Molecular Catalyst B: Enzymatic* , **41**, 55-60.

- [38] Noor, I., Hasan, M., Ramachandran, K., 2003. Effect of operating variables on the hydrolysis rate of palm oil by lipase, *Process Biochemistry*, **39**, 13-20.
- [39] Markley, K.S., 1983. Fatty Acids, Part 3, p.p1996-2003, Krieger Publishing Company, Florida.
- [40] Soumanou, M.M., Bornscheuer, U.T., 2003. Improvement in lipase catalysed synthesis of fatty acid methyl esters from sunflower oil, *Enzyme and Microbial Technology*, **33**, 97-103.
- [41] Madras, G., Kolluru, C., Kumar, R., 2004. Synthesis of biodiesel in supercritical fluids, *Fuel*, **83**, 2029-2033.
- [42] Iso, M., Chen, B., Eguchi, M., Kudo, T., 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase, *Journal of Molecular Catalyst B: Enzymatic*, **16**, 53-58.
- [43] Köse, Ö., Tüter, M., Aksoy, H.A., 2002. Immobilized Candida antarctica lipase catalyzed alcoholysis of cotton seed oil in a solvent free medium, *Bioresource Technology*, **83**, 125-129.
- [44] Pizarro, A.V., Park, E.Y., 2003. Lipase catalyzed production of biodiesel fuel from vegetable oils contained in waste activated bleaching earth, *Process Biochemistry*, **38**, 1077-1082.
- [45] Kaieda, Masaru., Kondo, A., Fukuda, H., 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.
- [46] Antolin, G., Tinaut, F.V., Perez, C., 2002. Optimisation of biodiesel production by sunflower oil transesterification, *Bioresource Technology*, **83**, 111-114.
- [47] Kojima, S., Du, D., Sato, M., Park, E., 2004. Efficient production of fatty acid methyl ester from waste activated bleaching earth using diesel oil as organic solvent, *Journal of Bioscience and bioengineering*, **98**, 420-424.
- [48] He, H., Zhang, S., 2007. Continuous production of biodiesel fuel from vegetable oil using supercritical methanol process, *Fuel*, **86**, 442-447.

- [49] **Noureddini, H., Gao, X., Philkana, R.S.**, 2005. Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fuel production from soybean oil, *Bioresource Technology*, **96**, 769-777.
- [50] **Cocks, L.V., Van, R.C.**, 1966. Laboratory Handbook of Oil and Fat Analysis, Academic Pres, London and New York.

EK A.

Tablo A.1. 40 °C’ de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su :2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

Zaman (saat)	TAG (%)	FFA (%)	MAG (%)	DAG (%)	DAG + MAG(%)
1	54,1	20,7	14,29	10,96	25,25
2	27,8	33,2	14,15	24,91	39,06
3	22,5	45,01	13,22	19,26	32,48
4	19,60	58,10	1,33	20,97	22,3
5	17,66	63,08	3,64	15,62	19,26

Tablo A.2. 50 °C’ de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su: 2,5 mL; n-hekzan: 7,5 mL)

Zaman (saat)	TAG (%)	FFA (%)	MAG (%)	DAG (%)	DAG + MAG(%)
1	48,2	23,9	14,4	13,5	27,9
2	25,1	43,8	14,1	16,9	31,0
3	19,3	53,7	6,5	20,5	27,0
4	17,6	61,7	6,5	14,1	20,6
5	10,4	65,9	6,5	17,2	23,7

Tablo A.3. 60 °C’de gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Enzim miktarı: %15; distile su :2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

Zaman (saat)	TAG (%)	FFA (%)	MAG (%)	DAG (%)	DAG + MAG (%)
1	43,4	30,7	10,5	15,3	25,8
2	16,4	47,4	13,5	22,7	36,2
3	12,1	63,0	10,1	14,7	24,8
4	11,2	68,1	8,4	12,2	20,6
5	9,7	69,3	6,6	14,3	20,9

Tablo A.4. %20 enzim miktarında gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Distile su :2,5 mL; n-hekzan:7.5 mL; Sıcaklık:60 °C)

Zaman (saat)	TAG (%)	FFA (%)	MAG (%)	DAG (%)	DAG + MAG(%)
1	34,3	36,2	12,4	16,2	28,6
2	16,6	50,6	12,7	20,0	32,7
3	13,4	62,1	17,0	7,4	24,4
4	10,1	67,0	13,0	9,8	22,8
5	10,6	67,4	10,1	11,9	22,0

Tablo A.5. %25 enzim miktarı ile gerçekleştirilen hidroliz reaksiyonlarında elde edilen ürün bileşiminin zamana göre değişimi (Sıcaklık: 60 °C; distile su :2,5 mL; n-hekzan:7,5 mL)

Zaman (saat)	TAG (%)	FFA (%)	MAG (%)	DAG (%)	DAG + MAG(%)
1	30,5	42,5	7,6	19,3	26,9
2	14,9	48,9	21,6	14,7	36,3
3	12,1	62,3	8,5	17,1	25,6
4	11,1	68,2	6,1	14,5	20,6
5	10,2	65,7	10,1	13,9	24,0

Tablo A.6 . AAAT yağı hidroliz reaksiyonlarında pH etkisi (Sıcaklık:60 °C ; enzim miktarı: %15; tampon çözelti: 2,5 mL; n- hekzan: 7,5 mL)

Zaman (saat)	pH:6		pH:7		pH:8	
	FFA, %	TAG, %	FFA, %	TAG, %	FFA, %	TAG, %
1	21,7	51,6	21,9	42,9	23,2	40,0
2	34,7	45,9	36,6	32,8	38,6	30,0
3	41,1	22,0	39,1	19,5	46,7	19,0
4	44,3	16,0	43,5	16,7	57,9	18,3
5	51,8	16,7	44,7	11,1	65,2	13,7

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Konya’da doğdu. 1999 yılında Pertevniyal Lisesi’nden mezun oldu. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü’ne girdi ve 2003 yılında mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılında başladığı İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği Yüksek Lisans Programında halen öğrencidir. Aynı zamanda Protek Kimyevi Maddeler Pazarlama A.Ş firmasında Kimya Mühendisi olarak çalışmaktadır.