

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KABAK ÇEKİRDEĞİNDEN ENZİMATİK SULU EKSTRAKSİYON İLE YAĞ  
ELDESİ VE YÜZEY AKTİF MADDE KULLANIMININ YAĞ VERİMİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gözde Nur DALKIRAN**

**Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Programı**

**HAZİRAN 2014**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KABAK ÇEKİRDEĞİNDEN ENZİMATİK SULU EKSTRAKSİYON İLE YAĞ  
ELDESİ VE YÜZEY AKTİF MADDE KULLANIMININ YAĞ VERİMİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gözde Nur DALKIRAN  
(521091116)**

**Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN**

**HAZİRAN 2014**



İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 521091116 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Gözde Nur DALKIRAN**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**KABAK ÇEKİRDEĞİNDEN ENZİMATİK SULU EKSTRAKSİYON İLE YAĞ ELDESİ VE YÜZEY AKTİF MADDE KULLANIMININ YAĞ VERİMİNE ETKİSİ**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :**      **Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN**      .....

İstanbul Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :**      **Prof. Dr. Ayten KARATAŞ**      .....

İstanbul Teknik Üniversitesi

**Prof. Dr. Hale GÜRBÜZ**      .....

İstanbul Teknik Üniversitesi

**Teslim Tarihi :**      **2 Mayıs 2014**

**Savunma Tarihi :**      **5 Haziran 2014**



## **ÖNSÖZ**

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, her türlü manevi desteğini, anlayışını ve zamanını esirgmeden bana yardımcı olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN'e en derin teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda bana yol gösteren ve yardımcı olan, deneyimlerini bana aktaran Sayın hocam Prof. Dr. Melek TÜTER'e, tez çalışmalarım sırasında bana destek veren sevgili arkadaşım Kimya Mühendisi Ayça ELMAS'a teşekkürlerimi iletmek isterim.

Tüm yaşamım ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, her anımda yanımda olan sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Haziran 2014

Gözde Nur DALKIRAN  
(Moleküler Biyolog ve Genetikçi)





## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR .....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
ÖZET.....	xv
SUMMARY .....	xvii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>3</b>
2.1 Kabak ve Kabak Çekirdeği Üretimi Hakkında Bilgi .....	3
2.1.1 Kabak tarımı.....	6
2.1.2 Dünya’da ve Türkiye’de kabak üretimi .....	8
2.1.3 Kabak çekirdeğinin kullanım alanları ve sağlık etkileri .....	11
2.2 Kabak Çekirdeği Yağı Hakkında Bilgi .....	14
2.2.1 Kabak çekirdeği yağı .....	14
2.2.2 Kabak çekirdeği yağı kullanım alanları .....	16
2.3 Bitkisel Yağ Eldesi ve Rafinasyonu.....	17
2.3.1 Ön işlemler .....	17
2.3.2 Mekanik presleme yöntemiyle ham yağın üretimi.....	20
2.3.3 Solvent (çözücü) ekstraksiyonu yöntemiyle ham yağın üretimi .....	21
2.3.4 Bitkisel yağ rafinasyonu.....	21
2.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Yöntemi .....	24
2.5 Literatürde Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Üzerine Yapılmış Çalışmalar.....	27
<b>3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>31</b>
3.1 Kullanılan Hammaddeler .....	31
3.2 Yöntemler.....	32
3.2.1 Kabak çekirdeği tohumlarının öğütülmesi ve karakterizasyonu.....	32
3.2.2 Kabak çekirdeği yağının yağ asitleri bileşimlerinin belirlenmesi.....	33
3.2.3 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve ekstraksiyon veriminin hesaplanması .....	34
3.2.4 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine yüzey aktif madde katkısının etkisi .....	36
3.2.5 Kabak çekirdeği tohumlarından sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine tohum miktarı artırımının etkisi.....	37
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>39</b>
4.1 Kabak Çekirdeği Tohumlarının ve Yağının Karakterizasyonu.....	39
4.2 Kabak Çekirdeği Tohumu Yağının Yağ Asitleri Bileşimi .....	39
4.3 Kabak Çekirdeği Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde Yağ Verimine Ekstraksiyon Parametrelerinin Etkisi.....	40
4.3.1 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde pH aralığının yağ verimine etkisi .....	41
4.3.2 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde enzim miktarının yağ verimine etkisi .....	42

4.3.3 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde süre artışının yağ verimine etkisi.....	44
4.3.4 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde yüzey aktif madde ve tuz katkısının yağ verimine etkisi.....	45
4.4 Kabak Çekirdeği Tohumlarından Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde Yağ Verimine Tohum Miktarı Artırımının Etkisi .....	49
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>51</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>55</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>61</b>

## **KISALTMALAR**

**V<sub>K</sub>** : Enzimatik Yağ Verimi (Kati bakiye üzerinden)  
**V<sub>S</sub>** : Enzimatik Yağ Verimi (Sıvı fraksiyonlar üzerinden)



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1</b> : Dünyada kabak çekirdeği ekim alanı, üretim ve verim durumu .....	9
<b>Çizelge 2.2</b> : Ülkelerin yıllara göre kabak çekirdeği üretimi (1.000 ton).....	9
<b>Çizelge 2.3</b> : Türkiye’de yıllara göre kabak türlerinin üretimi (ton) .....	10
<b>Çizelge 2.4</b> : Kabak çekirdeği küspesinin bileşimi.....	12
<b>Çizelge 2.5</b> : Kabak ( <i>Cucurbita pepo</i> subsp. <i>pepo</i> var. <i>Styriaca</i> ) tohumlarından elde edilen yağların fizikokimyasal özellikleri .....	14
<b>Çizelge 2.6</b> : Kabak çekirdeği yağının bazı besin değerleri .....	15
<b>Çizelge 2.7</b> : Kabak çekirdeği yağının yağ asitleri kompozisyonu .....	16
<b>Çizelge 3.1</b> : Gaz kromatografisi analiz koşulları .....	34
<b>Çizelge 4.1</b> : Kabak çekirdeği tohumu yağının yağ asitleri bileşimi .....	40
<b>Çizelge 4.2</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi .....	41
<b>Çizelge 4.3</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarının etkisi.....	43
<b>Çizelge 4.4</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine sürenin etkisi.....	44
<b>Çizelge 4.5</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının tuz ve çeşitli yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonunda, yağ verimlerinin değişimi .....	46
<b>Çizelge 4.6</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonunda, tuz konsantrasyonunun artışıyla yağ verimlerinin değişimi .....	47
<b>Çizelge 4.7</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonunda, Triton X-100 konsantrasyonuyla yağ verimlerinin değişimi .....	48
<b>Çizelge 4.8</b> : Kabak çekirdeği tohumlarının enzim, tuz ve yüzey aktif madde karışımları ile sulu ekstraksiyonunda, dH <sub>2</sub> O ve pH 5 tampon çözeltisi ortamında yağ verimlerinin değişimi .....	49
<b>Çizelge 4.9</b> : Kabak çekirdeği tohumlarından tohum miktarı artırımı ile yağ ekstraksiyonunda, farklı yöntemlerin yağ verimine etkisi .....	50



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

<b>Şekil 2.1</b> : Türkiye’de yıllara göre kabak çekirdeği ekim alanı.....	11
<b>Şekil 3.1</b> : Soxhlet düzeneği .....	33
<b>Şekil 4.1</b> : Kabak çekirdeği tohumunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi .....	42
<b>Şekil 4.2</b> : Kabak çekirdeği tohumunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarının etkisi.....	43
<b>Şekil 4.3</b> : Kabak çekirdeği tohumunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi .....	45





# KABAK ÇEKİRDEĞİNDEN ENZİMATİK SULU EKSTRAKSİYON İLE YAĞ ELDESİ VE YÜZEY AKTİF MADDE KULLANIMININ YAĞ VERİMİNE ETKİSİ

## ÖZET

*Cucurbitaceae* familyasının yaygın türlerinden biri olan kabak çekirdeği (*Cucurbita pepo* L.), sıcak iklimlerde ve nemli bölgelerde yetişmektedir. Kabak tohumlarındaki yağ oranı %40-60 arasında değişmekte ve bu yağın %98-99'unu yağ asitleri oluşturmaktadır. Bunların %80 civarı doymamış yağ asitlerinden olan linoleik ve oleik asitten oluşmaktadır. Kabak çekirdeği gıda, ilaç, kozmetik endüstrisinde ve medikal alanlarda, yapısında bulunan antioksidan maddeler, bol miktarda E vitamini ve zengin yağ asiti içeriği ile son yıllarda ilgi çeken bir bitkisel tohum haline gelmiştir.

Bu çalışmanın amacı, bitkisel tohumlardan yağ ekstraksiyonunda geleneksel olarak kullanılan çözücü ekstraksiyonu yöntemine alternatif olabilecek, yüksek kalitede ve verimde yağ elde edilebilecek bir yöntem geliştirilmesidir. Deneylerde içerisinde %44,1 oranında yağ içeren Ukrayna orijinli kabuksuz kabak çekirdeği tohumları kullanılmıştır. Alternatif ekstraksiyon yöntemi olarak enzimatik sulu ekstraksiyon seçilmiş olup, hücre duvarını degrade etmek için proteaz enzimi eklenmiştir. Proteaz enzimi için pH, enzim miktarı ve süre açısından optimum çalışma koşulları belirlenmiştir. Sulu ekstraksiyonda, yağ verimi üzerine tuz-yüzey aktif madde ve yüzey aktif madde-enzim kombinasyonlarının etkisi de incelenmiştir. Yüzey aktif madde katkısında optimum koşulları belirlemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda tuz ve yüzey aktif madde kullanılmıştır. Daha sonra tohum miktarı artırılarak denemeler yapılmış ve yağ verimi değişimleri incelenmiştir. Bu kısımda doğrudan pipetle çekme, dekantasyon ve hekzanla ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılarak yağ verimine etkileri araştırılmıştır.

Enzimatik sulu ekstraksiyonda 0,6-1,0 mm tane boyutundaki kabak çekirdeği fraksiyonuyla çalışılmıştır. Alcalase 2.5L proteaz enzimi kullanılan deneyler 1:7 tohum:tampon çözeltisi oranında, pH 5-8 aralığında, gram tohum başına 0,25-1,0 mL enzim miktarı ile, 50°C'de, 6-24 saatlik sürelerde gerçekleştirilmiştir. Alcalase 2.5L enzimi ile belirlenen optimum koşullarda, daha sonra 100 mL sulu çözeltiliye ağırlıkça %5'lik (5 gr) NaCl ve hacimce %1'lik (1 mL) yüzey aktif madde eklenmiştir. Kullanılan yüzey aktif maddeler non-iyonik Triton X-100, Tween 60 ve Tween 80, anyonik Labso 101 ve Texapon N 70, katyonik Stepantex DC90'dır.

Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesinde proteaz ile 50°C'de optimum koşullar; pH 5'te, 0,75 mL/gr tohum enzim miktarında, 24 saat olarak tayin edilmiştir. Kabak çekirdeği yağı ekstraksiyon verimi, bu koşullarda sulu ortamdan geri kazanılan yağ miktarı üzerinden %57,2 olarak belirlenmiştir. Sulu ortama katılan yüzey aktif maddelerden ise, Triton X-100 ile daha yüksek verim elde edilmiş ve deneylere artırılan tuz miktarı (ağırlıkça %5-20) ve farklı Triton X-100 konsantrasyonları (hacimce %0,5-2) ile devam edilmiştir. Maksimum değer %1 Triton X-100 - %15 NaCl kullanıldığında %56,5'tir.

Enzimatik sulu ekstraksiyon ve yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon aşamalarında ulaşılan optimum koşullar, daha sonra enzimle beraber yüzey aktif madde kullanımında uygulanmıştır. Aynı ayrı pH 5 fosfat tampon çözeltisi ve distile su varlığında, tuz, enzim ve yüzey aktif madde kombinasyonları test edilmiştir. En yüksek verime %61,4 ile dH<sub>2</sub>O - %15 NaCl - %1 Triton X-100 - 0,75 mL/gr tohum proteaz enzimi kombinasyonunda ulaşılmıştır. pH 5 tampon çözeltisi kullanılarak aynı kombinasyon ile yakın değerlere (%60,2) ulaşılmıştır. Böylece yüzey aktif madde katkısının yağ eldesindeki olumlu etkisi belirgin şekilde görülmektedir.

Yağ verimine etkisini gözlemlemek amacıyla tohum miktarı artırılarak çalışmalar denenmiştir. Bu amaçla, 3 katı miktarda (12 gr) kabak çekirdeği tohumları kullanılarak 3 farklı yöntem denenmiştir. Yağ ekstraksiyonu için, önceki denemelerde verimin %58,7 olduğu gözlemlenen, endüstriyel anlamda yüksek maliyetli proteaz enzimi içermeyen pH 5 - %15 NaCl - %1 Triton X-100 kombinasyonu seçilmiştir. Doğrudan pipetle çekme yöntemi, dekantasyon ve hekzanla ekstraksiyon yöntemleri ile yağ verimi belirlenmiştir. Hekzanla ekstraksiyon yöntemi ile %60,4'e yükselen bir verim artışı gözlenmiş olup, tohum miktarını artırarak çalışmanın endüstriyel boyutlarda üretim açısından bir potansiyel olabileceği düşünülmektedir.

## ENZYMATIC AQUEOUS EXTRACTION OF OIL FROM PUMPKIN SEEDS AND EFFECT OF SURFACTANTS ON THE OIL YIELD

### SUMMARY

In human nutrition, lipids are essential substances like carbohydrates and proteins that have vital roles in health. Vegetable oils obtained from oil seeds have A, D, E and K vitamins that dissolve in oil and these vitamins have healthy effects on body. Vegetable oils also maintain rich fatty acid content and free fatty acids that are required for energy and cell integrity.

High amount of energy is stored in the oil seeds because of their high lipid content. While some oil seeds are consumed as food, the others are cultivated for oil production and pulp obtainment for animal feed. The production of oil seed crops has been increased depending upon non-stop growing world population and unhindered life standards. Moreover, technological developments has brought higher production levels and improvements with increasing quality and variety.

The climate and ground features of our country is convenient for many commodity agriculture. Most cultivated oil seed crops in Turkey include soybean, canola, peanut, cotton, olive, pumpkin, corn and sunflower.

*Cucurbitaceae* family has cultivated plants of the genus *Cucurbita* that belong to *Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima* and *Cucurbita moschata* species. Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), a very common member of the *Cucurbitaceae* family, grows widely in tropical, subtropical and temperate regions over the world. Thus, its seeds are cultured in many places of the world. China, India, Russia and United States of America, respectively are the countries where most of the production of pumpkin seeds is carried out. The regions of intensive cultivation in our country are Central Anatolia, Thrace and Marmara Regions. The most considerable areas where pumpkin seeds are produced are Nevşehir, Adapazarı, Kayseri, Edirne and Aksaray.

Pumpkin seeds are excellent sources of both oil and proteins. According to the variety and geographical cultivation condition of the pumpkin, it contains about %35-50 lipid, 25-40% protein, 25% carbohydrate, dietary fiber, vitamins and minerals in its seeds. Recently, pumpkin seed oil has gained attention as a potential nutraceutical with its broad range of health benefits. In our country, the pumpkin crop seeds that are used for extracting oil mostly belongs to the *Cucurbita pepo* L. species. 98-99% of the pumpkin seed oil comprise of fatty acids. About 80% of these are unsaturated fatty acids linoleic acid and oleic acid. Lately, due to its high qualified oil, pumpkin seeds became attractive in food, pharmaceutical, cosmetic industries and medical areas by its strong antioxidant activities, high vitamin E content and rich fatty acids ingredients. Hulls of the pumpkin seeds are innocuous, so they can be used in pulp production with its high protein content for animal feed.

Pumpkin seed oil have significant nutritive values and benefits for health. It is an edible oil with greenish brown color and strong smell and taste characteristics. Today, it is commonly used in Austria and Slovenia as export commodity and also in daily nutrition as salad oil. It provides the intake of both Omega 3 and Omega 6

essential fatty acids together that are needed for brain functionality and hormone metabolism. The oil is rich with regard to vitamin E, sterols and mineral elements. Tocopherols in vitamin E are good sources of antioxidants, therefore strengthen the ligaments and muscles of the organism. Also, phytosterols in the oil lower the cholesterol levels of the body. Various minerals in the oil enables it to be utilized in skin treatments by their anti-inflammatory effects and roles in enzyme activities.

Vegetable oils are mostly extracted from seeds by conventional methods such as mechanical pressing and solvent extraction. Generally *n*-hexane is used as solvent and high oil production yield is obtained. Although there is an advantage of good oil yield for the use of hexane, there occur low oil quality, high investment and management costs, and high energy requirement problems for its usage. Besides, organic solvent hexane is a toxic substance and has explosive property, it releases hazardous volatile materials to the atmosphere. Even though this traditional process for the extraction of oil is economically suitable, there are draw-backs like damage to the body and environment and quality loss of finished products which cause to search for new techniques. Thus, due to environmental safety regulations and public health risks associated with the use of hexane, alternative methods which are safe, environment-friendly, provide edible protein and qualified, highly efficient oil have been developed by researchers.

Aqueous extraction method is carried out at lower temperatures with respect to solvent-based extraction method and more qualified oil can be obtained by it. However, due to low oil efficiency, enzymes are added to the extraction medium to increase the yield and to minimize byproducts. Enzymatic aqueous extraction makes use of enzymes to degrade the cell walls with water acting like a solvent. This enables much easier oil release and refining of the oil. Aim is not only to separate cellular or fluid lipids from other constituents, proteins, polysaccharides and macromolecules, but also to preserve these lipids for further analyses. The preservation of proteins also permits the pulp to be rich in proteins. Removing the non-lipid molecules without losing some lipids is a complete challenge. By means of enzymes, these difficulties are tried to be reduced. Although cost of enzymatic extraction process is estimated to be much more than hexane extraction, this situation may be overcome by recycling of the enzymes and using immobilized enzymes to decrease enzyme cost. If the oil to be extracted has high market value, again investment cost could be compensated. Enzymatic extraction can also be supported by ultrasonication for increasing the oil efficiency. Therefore, aqueous and enzyme-assisted aqueous extraction substitute the use of solvents and lead to obtain oil with high efficiency, so there is no more need for organic solvents in extraction process.

The aim of this study is the investigation of a method intended for elimination of toxic effects, attainment of high oil yield and quality and diminished economical issues which is an alternative to conventional solvent extraction. Ukraine origin unhulled pumpkin seeds comprising 44,1% lipids are used in the experiments. Aqueous enzymatic extraction is selected as alternative extraction method and protease enzyme is used for degrading cell walls. Optimum conditions in respect to pH, enzyme amount and time for the enzyme of protease are determined. In aqueous extraction, effects of both salt-surfactant and surfactant-enzyme combinations on oil yield are examined. In the case of surfactant contribution, different concentrations of salt and surfactants are tried for exploring optimum conditions. Afterwards, scale-up trials are made to evaluate the pumpkin seed for industrial manufacture. Direct pipetting, decantation and extraction with hexane methods are compared for their contribution to the oil efficiency.

In aqueous enzymatic extraction, pumpkin seed fraction of 0,6 mm – 1,0 mm is worked with. The experiments with the use of Alcalase 2.5L protease enzyme are conducted at 50°C, pH 5-8 interval, with 1:7 seed:buffer solution ratio and 0,25-1,0 mL/g seed enzyme amount, during 6-24 hours. After the determination of optimum conditions for Alcalase 2.5L enzyme, 5% NaCl by weight (5 g) and 1% surfactant by volume (1 mL) are added to 100 mL of aqueous solution. Surfactants used in the experiments are non-ionic Triton X-100, Tween 60 and Tween 80, anionic Labsa 101 and Texapon N 70, and cationic Stepantex DC90.

Alcalase 2.5L Type-DX is a serine protease enzyme obtained from *Bacillus licheniformis* microorganisms. It has a high proteolytic activity of 2,5 AU/g (Anson Units/gram). The optimum conditions for enzyme activity are at the temperature between 55-70°C and pH 4-8 interval depending upon the substrate type.

Labsa 101 is an anionic surfactant with Linear Alkyl Benzene Sulphonic Acid chemical structure and is used in detergent industries. Texapon N 70 is also anionic and shows sodium lauryl ether sulphate property. Due to its good foaming feature, it is one of the basic surfactants in cosmetic cleansings especially in soaps and shampoos. Triton X-100 is a non-ionic detergent and possesses the hydrophilic polyethylene oxide chain. It can show effective performance in broad temperature ranges. Stepantex DC90 is a cationic surfactant ve has cleaning properties. Quaternary ammonium salt Stepantex DC90 is widely used in industrial fields. Tween 60 is a non-ionic surfactant and displays detergent activities. Tween 80 is also non-ionic and is utilized in food industries, more actively in ice-creams. Polysorbate class members Tween 60 and Tween 80 are used as emulgators that are active in emulsion stabilization. They are also used in cosmetic areas for solubilizing essential oils into water-based products.

Suitable conditions at 50°C for pumpkin seed oil extraction by aqueous enzymatic extraction method with protease enzyme are defined as pH 5, enzyme amount of 0,75 mL/g seed and duration of 24 hours. The extraction yield of pumpkin seed oil at these conditions is determined as 57,2% over oil amount recovered from aqueous medium. In surfactant based aqueous extraction, Triton X-100 has the highest yield among other surfactants. Thus the experiments are continued with the increases in salt amount (5-20% by weight) and different Triton X-100 concentrations (0,5-2% by volume). Maximum yield value when 1% Triton X-100 – 15% NaCl used is 56,5%.

Optimum conditions that are achieved during enzymatic aqueous extraction and surfactant-based aqueous extraction, are later applied in the case of usage of both enzyme and surfactant together. In the presence of pH 5 phosphate buffer solution and distilled water separately, salt, enzyme and surfactant combinations are tested. Maximum efficiency is acquired with 61,4% value at dH<sub>2</sub>O – 15% NaCl – 1% Triton X-100 – 0,75 mL/g seed protease enzyme combination. By the use of same combination at pH 5 buffer solution, a close value is reached with 60,2% oil yield. Hence, positive effect of surfactant contribution on oil extraction is clearly seen.

With the purpose of determining the effect on oil yield, scale-up trials are performed. For this purpose, three different techniques are tried with the usage of 3-fold amount (12 g) of pumpkin seeds. For oil extraction, pH 5 – 15% NaCl – 1% Triton X-100 combination which has oil yield of 58,7% on previous experiments and doesn't include high costly industrial protease enzyme is chosen. Oil efficiency is determined by direct pipetting, decantation and extraction with hexane methods. By means of extraction with hexane, there is a yield increase to 60,4% which demonstrates the potential of the large scale trials to be utilized at industrial applications for production in the future.



## 1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde temel besinler olarak protein ve karbonhidratlarla birlikte yağlar da çok büyük öneme sahiptir. Besin olarak tüketilen yağların içinde yağda eriyen A, D, E ve K vitaminleri yer almaktadır. Sağlıksal açıdan önem teşkil eden bu vitaminlerin alımı vücut için son derece gereklidir. Ayrıca bitkisel yağlar yağ asidi içeriği açısından zengin olup hücre yapısı ve enerji için gerekli olan serbest yağ asitlerini barındırmaktadırlar.

Ülkemizin iklim ve toprak koşulları birçok yağ hammaddesi tarımına elverişlidir. Tohumlarından yağ elde edilen bitkiler içinde en çok tarımı yapılanlar soya, kanola, yer fıstığı, pamuk, zeytin, kabak, mısır ve ayçiçeğidir.

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyasının *Cucurbita* cinsine dahil olan kabak bitkisi, sakızkabağı (*Cucurbita pepo*), helvacı kabağı (*Cucurbita maxima*) ve balbakabağı (*Cucurbita moschata*) çeşitlerine sahiptir. Kabak bitkisinin çekirdeğinde türe bağlı olarak %35-50 oranında yağ, %25-40 oranında protein, %25 oranında karbonhidrat, diyet lifi, vitaminler ve mineral maddeler bulunur. Ülkemizde bitkisel yağ elde etmek amacıyla tohumları kullanılan kabak bitkisi çoğunlukla *Cucurbita pepo* L. türüne aittir.

Dünyada kabak çekirdeği üretiminin en fazla yapıldığı yerler arasında sırasıyla Çin, Hindistan, Rusya ve Amerika Birleşik Devletleri yer almaktadır. Ülkemizde en yoğun olarak ekiminin yapıldığı alanlar ise İç Anadolu Bölgesi, Trakya ve Marmara Bölgesi'dir. Türkiye'de en önemli çekirdeklik kabak üretim merkezleri Nevşehir, Adapazarı, Kayseri, Edirne ve Aksaray'dır.

Kabak bitkisi yemeklik ve çerezlik olarak ikiye ayrılmaktadır. Bitkisel yağ olarak kullanılan kabak çekirdeği yağı çoğunlukla çerezlik kabaklardan elde edilmektedir. Yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde; doymamış yağ asitlerinden olan linoleik asit ve oleik asit bakımından oldukça zengin olan kabak çekirdeği yağı (%80 civarı) önemli besinsel değere sahiptir. Kabak çekirdeğindeki yağın sağlık açısından faydaları oldukça fazladır. Beyin fonksiyonu açısından gerekli olan Omega 3 ve Omega 6 esansiyel yağ asitlerini beraber almayı sağlar. Yağlar E vitamini, steroller

ve madensel elementler açısından zengindir. Kabak çekirdeği içerdiği yüksek yağ oranı ile yalnızca gıda değil, aynı zamanda ilaç ve kozmetik endüstrilerinde de hammadde olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Kabak çekirdeğinin kabuk kısmı küspe eldesinde önemli yer tutar; zararsız olduğu için hayvan yemi olarak kullanılmaktadır.

Bitkisel yağların üretiminde mekanik presleme ve solvent ekstraksiyonu gibi geleneksel yöntemler kullanılabilir. Çözücü ekstraksiyonunda çözücü olarak genellikle *n*-hekzan kullanılır. Bunun kullanımı yüksek verim eldesi avantajına rağmen düşük yağ kalitesi, yüksek yatırım ve işletme maliyeti, yüksek enerji gereksinimleri gibi dezavantajlara da sahiptir. Ayrıca organik bir çözücü olan *n*-hekzan toksik bir maddedir ve patlama özelliğine sahiptir, atmosfere zehirli uçucu madde salınımı yapar. Bu yüzden alternatif olarak çevre dostu, güvenli, yenilebilir protein ve yüksek verimde kaliteli yağ eldesi sağlayan sulu ve enzim katkılı sulu ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir.

Sulu ekstraksiyon yöntemi, solvent bazlı ekstraksiyona göre daha düşük sıcaklıkta gerçekleşir ve daha yüksek kalitede yağ elde edilir. Fakat yağ verimi yüksek olmadığı için yağ ekstraksiyon verimini arttırmak ve yan ürünleri azaltmak amacıyla ortama enzim ilave edilerek bu sorun aşılma çalışılmaktadır. Enzimatik sulu ekstraksiyon prosesi çevre ve güvenlik açısından da önemli avantaj sağlamaktadır.

Bu çalışmada, endüstriyel olarak değerlendirmek amacıyla yüksek linoleik ve oleik asit içeren kabuksuz kabak çekirdeğinden enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemiyle yağ eldesi hedeflenmiştir. Bu amaçla tohumların hücre duvarını degrade edip yağ salınımını kolaylaştıran proteaz enzimi sulu ekstraksiyon ortamına ilave edilmiş, pH, enzim miktarı ve süre parametrelerinin ekstraksiyon verimine etkileri değerlendirilmiştir. Enzimlerin maliyeti ve ticari açıdan erişilebilirliği zor olduğu için farklı bir yöntem olarak yüzey aktif madde katkısının yağ verimine etkisi incelenmiştir. Enzimatik ekstraksiyon ile belirlenen optimum koşullar esas alınarak, sulu ortama belirli konsantrasyonlarda tuz ve yüzey aktif madde eklenerek yağ verimine bakılmıştır. Ayrıca enzim ve yüzey aktif maddenin beraber kullanımının da yağ eldesine etkisi gözlemlenmiştir. Daha sonra tohum miktarı artırılarak yağ verimine etkisini incelemek amaçlanmıştır. Bu amaçla doğrudan pipetle çekme, dekantasyon ve hekzanla ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılarak yağ verimi değişimleri araştırılmıştır.



## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1 Kabak ve Kabak Çekirdeği Üretimi Hakkında Bilgi

Kabak bitkisi salatalık, kavun, acur ve karpuzla birlikte 119 cins ve 825 türden oluşan Kabakgiller, Latince adıyla (*Cucurbitaceae*) familyasına ait alt türleri oluştururlar [1]. Kabak bitkisinin dünyada ekildiği alanlar tropikal ve subtropikal coğrafyalardır [2]. Kültürü yapılan kabak bitkilerinde kromozom sayısı  $2n=40$ 'tır [3]. *Cucurbita* cinsine dahil tek senelik kültür bitkisi olan kabaklar, sakızkabağı (*Cucurbita pepo*), helvacı kabağı (*Cucurbita maxima*) ve balbakabağı (*Cucurbita moschata*) çeşitlerine sahiptir. *Cucurbitaceae* familyasına ait olan kabak türlerinin büyük çoğunluğu ülkemizde üretilmektedir. Ülkemizde yetiştirilmekte olan çekirdek kabakları, çoğunlukla *Cucurbita pepo* L. türüne dahildir, az miktarda da *Cucurbita moschata* türüne ait bal kabağı tohumları kullanılmaktadır [4].

Kabaklar yazlık, kışlık ve süs kabakları olarak sınıflandırılmaktadır. Yazlık kabaklar grubunda Sakız, Girit, Su ve Asma kabağı yer almaktadır. Çerezlik veya çekirdek kabakları genelde *Cucurbita pepo* L. botanik sınıfında yer alan yazlık kabak grubunda yer almaktadır. Kışlık kabaklar ise Bal, Kestane ve diğer iri kabaklardan oluşmaktadır. Süs kabakları dış ülkelerden ithal edilmiş olan Mis ve Parmak kabağı gibi çeşitlerdir. Bu sınıflandırmaya ek olarak kabaklar, botanik özellikleri göz önünde bulundurularak farklı şekillerde de sıralanmaktadır [5]. Yazlık ve kışlık kabaklar yemeklik olarak kullanılmalarının yanı sıra iyice olgunlaşan tohumları çıkarılarak çerezlik olarak da yaygın olarak tüketilmektedir. Yemeklik kabak yetiştiriciliğinin tarım zorluklarından dolayı çekirdeklik veya çerezlik kabak yetiştiriciliği çiftçiler için daha avantajlı görülmektedir ve iyi bir gelir kaynağıdır. Çok çeşitli türlerinin olması sebebiyle yemeklik olarak yapıldığı zaman sebze, tatlı olarak tüketildiği zaman da meyve olarak nitelendirilmektedir [6].

*C. maxima* (Helvacı kabağı, Kestane kabağı) türünün meyveleri iri ve küre şekline yakın, kabuğun üzeri dilimli veya düz, kabuk dışı sert ve meyve eti sarı-turuncu renklidir. Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Çoğunlukla tatlı yapılarak

yenilir. *C. moschata* (Bal kabağı) türünün meyveleri kalın ve silindir şeklinde, kabuğun üzeri genelde düz, etli kısım ve kabuğu turuncu renklidir. Anadolu'da az miktarda yetiştirilir. Meyve etinin kuru madde miktarı fazla olduğundan genelde tatlı, çorba ve yemek yapımında kullanılır. Fazla iri tohumlu olmayanları çekirdeklik olarak kullanılabilir. *C. pepo* L. (Sakız kabağı) türünün meyveleri uzun tombulca ve etli kısım beyazımsı renklidir. Anadolu'da bol miktarda yetiştirilir, yemeklik ve çerezlik olarak kullanılır. Yazlık kabak gurubunun çerezlik veya çekirdek kabakları *Cucurbita pepo* L. botanik sınıfı içinde yer almaktadır [7]. *C. pepo* L. türü, normalde sert ve kalın bir tohum yapısı gösterirken, *Cucurbita pepo styriaca* türüne ait kabuksuz kabak çekirdeği tohumları bunun mutant bir formu olup odunlaşmamış yapı gösterir. Bu durum 1880'lerde Avusturya-Macaristan bölgesinde kabuklu kabak çekirdeği türünde oluşan bir mutasyonla meydana gelmiştir [8]. Kabuksuz tohumlarda da bütün doku tabakaları üretilmekte; fakat ikincil dış epidermis, hypodermis ve sclenchyma tabakaları kalınlığında azalma olmaktadır. Kabuksuz tohumlar kurutulduğu zaman, dıştaki bu dokular çöker ve ince kabukluluk özelliği ortaya çıkar.

Kabağın tarihine bakıldığında, Milat'tan en az 10 bin sene öncesinden beri bilinmektedir. Yunanca kökenli 'pepon' sözcüğünden gelen kelimeyi, Fransızlar 'pompon', İngilizler de 'pumpion' olarak çevirmişlerdir. Amerikan kolonileri ile günümüz modern hali 'pumpkin'e dönüşmüştür [9]. Kabakların orijinleri hakkında çeşitli görüşler vardır. Kimi araştırmacıya göre ana yurdunun Kuzey Amerika olduğu sanılmaktadır. Bazı araştırmacılar ise birtakım kabak türlerinin anavatanının Asya olduğunu öne sürmektedirler. Bu araştırmacılar *Cucurbita pepo* L., ile *Cucurbita moshata Poir*'in orijininin Amerika, *Cucurbita maxima Duch*'ın ise Asya kökenli olduğunu belirtmektedirler. Amerika kökene sahip bu iki kabağın yabani formlarına Texas ve Florida bölgesinde rastlandığını ve M.Ö. 2000-1500 yıllarından beri de Amerika'da yetiştirilmeye başlandığını bildirmektedirler [7, 5]. Birtakım tarihçiler tarafından da anavatanının Orta Amerika, ve Milat'tan önce 7000 ile 5500 yıllarına ait kabakların da Meksika kökenli olduğu, buradan Kuzey ve Güney Amerika'ya; Amerika kıtasının keşfinden sonra da Avrupa'ya yayıldığı ileri sürülmektedir. Hatta arkeolojik kanıtlar Milat'tan 14 bin yıl önce Orta Amerika ve Meksika'da kabak tarımının yapıldığını göstermektedir [10].

Geçmişte Amerikan yerli halkları arasında kabak çekirdeği hem tıbbi amaçlı hem de besin maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmıştır. Güney Amerika'da kullanımının 14-16<sup>nci</sup> yüzyıllarda Aztek Uygarlığı'na kadar uzandığı bilinmektedir. Doğu Avrupa ve Akdeniz Bölgesi'nde (özellikle Yunanistan'da) aşçılık alanında, Hindistan ve Asya'nın farklı alanlarında ise tıbbi amaçlarla kullanıldığı anlatılır. Çekirdek kabağı tohumlarının ülkemize Yunanistan'dan geldiği, Trakya Bölgesi'nde üretiminin yaygınlaştığı ve bu yörede çerezlik kabak yetiştiriciliğinin yaklaşık 30-35 sene öncesine dayandığı tahmin edilmektedir [11].

Kabakların botanik özelliklerine bakıldığında, dış görünüşleri genel olarak 18-20 mm uzunluk ve 8-12 mm genişlikte, beyaz ve sert kabuklu, oval biçimli tanelerdir. Genç dönemde bir kazık kök etrafında 4-5 adet, oldukça yüzeysel olarak gelişen yan kökler bulunur. Yan kökler zamanla daha hızlı büyüyerek kökte saçaklanmış bir görüntü oluştururlar. Köklerin %60-70'i toprağın yaklaşık 30 cm derinliğindedir ve yanlara genişleyerek 1-1,5 metreye kadar gider. Köşe kesitli sürüngen bir yapıya sahip gövdelerinin çapları 50-100 cm olup toplu bir bitki görünümündedir. Otsu bir gövdeye sahip olmasına rağmen kuvvetlidir; üzerinde tüyler, sert dikenler ve bitkinin tutunmasına yarayan sülükleri bulunur. Gövde rengi ilk olarak yeşil, daha sonra açık yeşil veya kahverengiye döner. Bal ve kestane kabaklarında gövde toprağın üzerine yayılır ve kolları 2-3 m, hatta 5-6 m'ye kadar uzanabilir. Oldukça büyük yapraklara sahip kabak bitkisinin yaprak şekilleri oval, kalp ve beşgen olabilir. Yaprakların alt ve üst yüzeylerinde iri, kaba ve diken gibi tüyler bulunur ve yapraklar uzun bir sap ile gövdeye bağlanırlar [12]. Dişi ve erkek çiçek olmak üzere iki çeşit çiçekleri vardır. Erkek çiçekler kümeler halinde bulunur ve dişilere göre 1-2 hafta önce oluşup açarlar. Çiçekler yaprak koltuklarından tek veya 3-4 tane bir arada olarak gelişirler. Çiçek yaprakları (çanak ve taç yapraklar) tüylerle kaplıdır ve dipte birleşik olarak, uç kısmında ise sivri ve beş parçalıdır. Taç yapraklar perdelidir ve rengi açık sarıdan koyu sarıya kadar değişirken, çanak yapraklar ise yeşil renktedir. Tohum şekli yönünden çok farklılıklar olmamasına rağmen meyve şekli açısından önemli farklar görülmektedir [13]. Ortalama meyve ağırlığı 5-60 kg arasında değişiklik gösterir. Sakız kabaklarında meyveler uzun, oval ve dip kısmı şişkindir. Meyvelerin kimi taze olarak tüketileceği, kimi ise olgunlaşıp tohumluk tüketileceği için irilik ve renkleri farklıdır. Sakız kabağında meyve rengi beyaz, sarı, turuncu ve koyu yeşildir. Diğer bir tür olan balkabağı değişken meyve formları içinde uzun silindirik, yuvarlak veya

basık yuvarlak olabilmektedir. Epey iri meyveleri olup ağırlığı 5-25 kg arasında değişebilir. Meyve rengi sarı, turuncu ve sarı-turuncudur. Kestane kabağı ise, yuvarlak ve basık yuvarlak şekle sahip, kurşuni beyaz kabuklu, sarı ve sarı-turuncu etlidir. Meyveleri 10-30 kg hatta bazen 50-60 kg gelebilmektedir. Tohum özellikleri bakımından da türler arası farklılıklar gözlenmektedir. Sarı-beyaz renkte bir kabuk içinde bulunan kabak çekirdekleri yassı ve koyu yeşil renktedir. Yazlık kabakların çekirdekleri, iri olan kışlık kabak çekirdeklerine göre daha küçük ve narindir. Kabak tohumları türlerine göre renk ve dane ağırlığı bakımından çeşitlilik göstermektedir. Sakız ve girit kabağı gibi yazlık kabakların rengi beyaz ve bin dane ağırlıkları 200-400 gramdır (1 kg'da 2500-5000 adet tohum bulunur). Kestane kabağı tohumlarının bin dane ağırlığı 450-500 gramdır. Balkabaklarının tohumları yuvarlağa yakın şekilli, kurşuni ve beyaz renkli, ve bin dane ağırlığı 400-600 gramdır (1 kg'da 2000-2500 adet tohum bulunur) [14, 12].

### **2.1.1 Kabak tarımı**

Ülkemizde son yıllarda yemeklik yazlık kabak yetiştiriciliğinden çok çekirdeklik kabak yetiştiriciliği daha avantajlı görünmektedir. Ekonomik olarak üretim maliyetinin iklimsel kısıtlamalar olmadığından daha az olması, kıraç topraklarda da yetişebilmesi, taze tüketim zorunluluğu olmaması ve uzun süre depolanabilmesi ve dayanıklılığın getirdiği pazar avantajı sayesinde çekirdeklik kabak üretimi çiftçiye cazip gelmektedir. Çoğunlukla *Cucurbita pepo* L. türünün tohumları kullanılmaktadır [4].

İlk yetiştirildiği zamanlarda çekirdek kabaklarının sadece sulu ve nemli koşullarda verimli olabileceği düşünülmüşse de, sonradan çorak koşullarda da pozitif sonuçlar verdiği ve ekim nöbeti ile nadas alanlarını azaltarak üreticiye iyi bir gelir kaynağı olduğu görülmüştür. Kabaklar sert iklimlerden hoşlanmazlar çabuk zarar görürler; sıcaklık -2,-3°C'ye düştüğünde donarak ölürlür. Bu yüzden gelişme dönemlerinde ılıman, mahsule yatma dönemlerinde de çok aşırı olmayan sıcak çevre koşullarını severler. İlkbahar ve sonbahar dönemleri arasında uygun şartlarda iyi mahsul verirler. Ülkemizde kabak bitkisinin pek çok türü, zengin iklim özelliklerimiz sayesinde problemsiz bir şekilde üretilebilmektedir [15]. Kabak ışıktan hoşlanır, ışığın azalması durumunda dişi çiçek oluşumu ve meyve verimi düşer. Vejetasyon devresi yazlık kabaklarda 100 civarı, kışıklarda 180-200 gündür. Uzun süreli

kuraklıkta düzenli sulama yapılmalıdır, mantari hastalıkları önlemek için aşırı nemden de kaçınılmalıdır [12].

Kabak bitkisi her türlü toprakta yetişse de, fazla ağır ve kumlu topraklardan çok hoşlanmaz. Optimum toprak, derin, geçirgen, humus oranı fazla, iyi drene edilmiş gevşek yapılı, organik ve mineral besin maddesi zengin, orta ağır topraktır. Toprak pH'ı 6-6,5 arasında olmalıdır [16]. Alternatif olarak, embriyonel kökün büyümesi için gerekli olan zengin besin değeri olmayan topraklarda da, eğer süngerimsi tuf yapıda taşlara sahip bir toprak ise, taşlardaki gözenekler ile su tutma oranı artar ve susuz yaz aylarında dahi büyüme gösterir [15].

Kabak tohumları normal süresinde çimlenmek için %98 oranında kirlenmemiş olmalı ve %90 civarında çimlenme oranına sahip olmalıdır. Tohumlar 10-12°C'de çimlenmeye başlar, tohumlarının çimlenme ve sürüm vermesi için gerekli optimum toprak sıcaklığı ise 20-25°C'dir. Ekim zamanı toprak sıcaklığının 10°C'nin altına düşmesi durumunda, sıcaklık dalgalanmalarından dolayı tohumların çimlenme süreleri oldukça uzar. Normal koşullarda 4-8 gün içinde tohumlar çimlenir ve çimlendirme denemeleri karanlık atmosferde gerçekleştirilmelidir. Kabak tohumları çimlenme karakteristiklerini 5-10 yıla kadar korumaktadırlar [7].

Ekilecek tohumluklar tam olarak hasat olgunluğuna ulaşmış kabaklardan elde edilmiş, iri, düzgün ve parlak olmalıdır. Çekirdek içi boş, kırık, çatlak, zayıf ve küçük olmamalıdır.

Çekirdek kabağı yetiştiriciliği 6 aşamadan oluşur.

Toprak hazırlama aşamasında; ekim yapılacak toprak sonbaharda pullukla derince sürülür, böylece kış aylarından daha çok istifade edilmesi sağlanır. İlkbaharda ekim olmadan önce, su kaybını önlemek için diskaro ve kazayağı ile işlenmesi gerekir. Sonra birkaç gün beklenerek toprak havalandırılır, daha sonra tırmık çekilerek tohum yatağı hazırlığı tamamlanmış olur.

Gübreleme kısmında; sonbaharda dekar başına 3-4 ton (ton/da) hesabıyla iyi yanmış ahır gübresi kabak ekimi yapılacak tarlaya eşit miktarlarda saçılır. Temel gübreleme, ilkbaharda ekim zamanından 1-2 hafta önce 50kg/da hesabıyla (15.15.15)'lik kompoze gübrelerden biri ile yapılır. Toprakta meyvenin istenilen büyüklüğe erişmesi için yeterli besin maddeleri bulunmalıdır; kompoze gübrelerde tohumun ihtiyacı olan azot, potasyum, fosfor gibi maddeler bulunmaktadır. Gübreleme aynı

zamanda toprak sıcaklığının daha hızlı artmasını sağlayarak bitkinin erken çıkışına olanak sağlar. Üst gübrelemede ise, ikinci çapadan önce 10 kg/da hesabıyla Amonyum Nitrat veya Üre gübrelerinden biri ocaklar etrafına serpilir.

Ekim ve dikim aşamasında; ekim el ile veya makine ile yapılabilir. Genellikle ocak usulü ekim yapılır. Çukurlar 5-10 cm'lik açılır, her ocağa 2-3 adet tohum 3-4 cm derinliğe bırakılır. Dekara 0,5-0,6 kg ilaçlanmış tohum atılır. Mayıs ayı içinde don tehlikesi geçtikten sonra toprak sıcaklığı 10-12°C'yi bulduğunda ekim ve dikim yapılır. Sulu şartlarda sıra arası mesafe 80-100 cm ve sıra üzeri mesafe 40-50 cm, kıraç koşullarda sıra arası 150-200 cm ve sıra üzeri 80-100 cm olarak ekilir.

Çapalama işleminde; tohumlar çimlenip çıkışlarını tamamlayıp 2-3 yapraklı olduklarında ilk çapa yapılır. Toprak kabartılarak havalandırılır, nem oranı korunmuş ve yabancı otlar kontrol altına alınmış olur. Daha sonra 2-3 hafta aralar ile çapa yapılması bitkinin gelişmesinde ve yabancı ot mücadelesinde önemlidir. İlk çapadan sonra her ocaktaki en güçlü tohum bırakılmak suretiyle seyreltme yapılır, diğer tohumlar koparılır. Kabaklar toprak yüzeyine çıkınca elle ot alma yapılır.

Sulama işlemi; ilk meyveler çıkıncaya kadar yapılmaz. Kuraklık durumunda ise çapalamadan sonra yapılmalıdır. İlk meyve görüldükten sonra, vejetasyon süresi boyunca 15-20 gün arayla 4-5 kez damlama sulama yapılması gerekir. Hasattan bir ay önce sulama kesilir.

Olgunluk ve hasat aşaması; sonbaharda soğuklar başlamadan önce yapılır. Yapraklar tamamen solup meyve sapları kuruduktan ve kahverengileştikten sonra olgunlaştığı anlaşılır, parlaklaşmış olan meyveler koparılır. Fazla bekletilmeden meyvelerin içindeki tohumlar çıkarılmaya başlanır; bu işlem elle olabilese de makinelerle daha yaygındır. Ayıklanan tohumlar yıkanır, yapışkan kısım temizlenir ve kurutulurak kullanıma hazır hale gelir. Kurutulan çekirdekler nemsiz ambarlarda depolanır. Çekirdeği alınan kabaklar da kaba yem olarak kullanılır [16, 17, 18].

### **2.1.2 Dünya'da ve Türkiye'de kabak üretimi**

Son yıllarda kabak çekirdeği yağı tüketimi artışıyla beraber kabak tarımında da artışlar görülmüştür. Dünyadaki kabak üretimi, ekim alanı ve verim ile ilgili 2000/01-2012/13 dönemine ait istatistiksel bilgiler Çizelge 2.1'de verilmiştir. Verilere göre, Dünya'da 2000/01'den beri kabak üretim miktarı yılda 17,80-24,62 milyon ton aralığında değişmektedir ve ortalama üretim yılda 21,2 milyon tondur.

Yıllara göre ekim alanı arttığında üretim değerlerinde de artış görülmüştür. Buna bağlı olarak da verim yükselmektedir. Ancak dünyada sadece çerezlik kabak üretim değerleri hakkında istatistiksel bir değerlendirme henüz mevcut değildir.

**Çizelge 2.1 :** Dünyada kabak çekirdeği ekim alanı, üretim ve verim durumu [19].

Yıllar	Ekim Alanı (milyon ha)	Üretim (milyon ton)	Verim (ton/ha)
2000	1,45	17,80	12,27
2001	1,48	18,19	12,29
2002	1,51	18,99	12,57
2003	1,66	20,49	12,34
2004	1,64	20,67	12,60
2005	1,60	20,37	12,73
2006	1,59	21,01	13,21
2007	1,61	21,55	13,38
2008	1,62	21,85	13,49
2009	1,77	22,44	12,68
2010	1,73	23,06	13,33
2011	1,77	24,27	13,71
2012	1,79	24,62	13,75

Çizelge 2.2’de ise ülkelerin yıllara göre kabak üretimi verilmiştir.

**Çizelge 2.2 :** Ülkelerin yıllara göre kabak çekirdeği üretimi (1.000 ton) [20].

ÜLKELER	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Çin	6.250	6.300	6.450	6.665	6.905	7.000
Hindistan	3.905	4.071	4.023	4.456	4.696	4.900
Rusya	1.030	954	1.123	989	1.176	1.080
ABD	804	787	750	793	814	900
İran	707	591	675	733	951	965
Mısır	725	652	625	658	634	560
Meksika	517	486	577	522	525	565
İtalya	532	519	510	508	539	520
İspanya	373	290	310	367	393	503

Günümüzde en büyük kabak ve kabak çekirdeği üretimi Çin’de yapılmaktadır. Sonra sırasıyla Hindistan, Rusya ve Amerika Birleşik Devletleri gelmektedir. Dünyadaki kabak üretiminin %41’ini Çin, %28’ini Hindistan ve %7’sini Rusya karşılamaktadır.

Ülkemizde yemeklik yazlık kabak, son yıllarda örtü altında yapılan yetiştiricilik sayesinde kış dönemi de dahil olmak üzere bütün yıl boyunca üretilmektedir. Çizelge 2.3’de Türkiye’de yıllara göre kabak çeşitlerinin üretim değerleri gösterilmektedir. Yıllık toplam kabak üretimimiz 400-500 bin ton civarındadır; bunun yaklaşık 400 bin tonunu yazlık kabaklar oluşturmaktadır. Dünyada kabak üretiminde 10. sırada olan ülkemizde; daha karlı olması, daha az su ve gübre gerektirmesi ve düşük işgücü gereksinimi nedeniyle çekirdeklik kabak yetiştiriciliği hızla artış göstermektedir. Yılda 35 bin ton civarında gerçekleştirilen üretim potansiyeli nedeniyle de özellikle son yıllarda kabak çekirdeğinin iç ve dış ticaretteki payı da artmıştır. 2004 yılı itibariyle, çerezlik kabak üretimi ile ilgili istatistiksel veriler toplam üretim değerlendirmesine girmiştir.

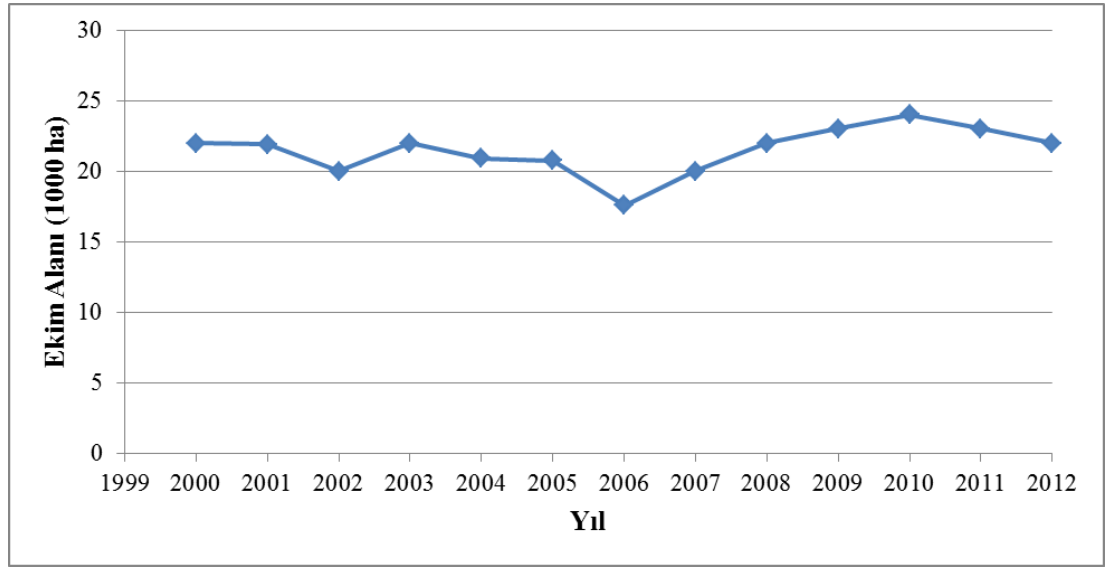
**Çizelge 2.3 :** Türkiye’de yıllara göre kabak türlerinin üretimi (ton) [21].

<b>Yıllar</b>	<b>Kabak (Sakız)</b>	<b>Balkabağı</b>	<b>Kabak (Çerezlik)</b>
2000	260.000	72.000	-
2001	305.000	80.000	-
2002	280.000	65.000	-
2003	295.000	73.000	-
2004	292.000	72.000	10.500
2005	294.000	74.000	11.500
2006	288.336	76.632	17.286
2007	267.142	70.740	31.262
2008	279.451	80.915	18.340
2009	307.419	82.552	21.971
2010	314.340	89.368	26.694
2011	317.705	93.099	32.396
2012	302.374	93.612	32.144
2013	293.709	95.076	35.586



Türkiye’de en önemli çekirdeklik kabak üretim yerleri Nevşehir, Adapazarı, Kayseri, Edirne, Aksaray, Konya, Karaman, Kırklareli ve Tekirdağ’dır [22]. Yoğun olarak yetiştirilen alanlar İç Anadolu Bölgesi, Trakya ve Marmara Bölgesi’dir. Yemeklik yazlık kabaklar ise en fazla Akdeniz, Ege ve Marmara Bölgeleri’nde, kışlık kabaklar ise Marmara, İç Anadolu ve Karadeniz Bölgeleri’nde yetiştirilmektedir.

Ülkemiz kabak çekirdeği ekim alanları son yıllarda iklim koşullarına ve uygulanan fiyat politikalarına bağlı olarak ortalama 22.000 ha’dır. Şekil 2.1’de yıllara göre değişen kabak çekirdeği ekim alanları gösterilmektedir.



Şekil 2.1: Türkiye’de yıllara göre kabak çekirdeği ekim alanı [23].

### 2.1.3 Kabak çekirdeğinin kullanım alanları ve sağlık etkileri

Kabak tohumları ülkemizde, Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde kavru olarak kuruyemiş olarak yaygın biçimde tüketilmektedir. Yemeklik ve çerezlik olarak insan beslenmesinde kullanılmasının yanı sıra, hayvan yemi olarak da kullanılmaktadır.

Kabak çekirdeği hem lezzetli, hem de yağ, protein, doymamış yağ asitleri, diyet lifi, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça zengin olduğundan değerli bir besin kaynağıdır. Tohumları yüksek kaliteli bitkisel yağ kaynağı olarak değerlendirilmektedir. İçerdiği yüksek yağ oranı sayesinde sadece gıda değil, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde de hammadde olarak kullanımı oldukça yaygındır [4]. Kabak çekirdeğinin türüne ve yetiştirildiği coğrafyaya bağlı olarak yağ içeriği %35-50, protein içeriği %25-40, karbonhidrat içeriği %25, kül miktarı %5 ve ham lif miktarı %2 civarındadır [24, 25, 26]. Yağı çıkarıldıktan sonra geriye kalan protein

unu, içerdığı yüksek protein miktarı (yaklaşık %61) dolayısıyla potansiyel yem katkı maddesi olarak kullanılabilir [27]. Kabak meyvelerinden tohumu çıkarılınca geriye kalan kabuk yaklaşık %2,7 mineraller, %1 ham yağ, %38 selüloz ve ham lif, %4,3 protein, %53 lignin ve karbonhidrat içermektedir [28]. Kabak çekirdeğinin iç kısmında rezin, sabit yağ (%40-50), steroller ve etkili madde olarak kukurbitin amino asiti bulunmaktadır. Bu amino asitin miktarı %0,5-2 arasında değişir. Çizelge 2.4'te kabak çekirdeğinin kimyasal yapısı ortalama değerleri verilmiştir [29].

**Çizelge 2.4 : Kabak çekirdeği küspesinin bileşimi.**

<b>Bileşim</b>	<b>Ortalama Değer (%)</b>
Su	5,0
Protein	28,5
Yağ	42,0
Karbonhidrat	25,0
Ham lifler	2,0
Kül	5,0

Kabak çekirdeği kuruyemiş olarak tüketilmesine ek olarak insan sağlığı açısından da önemli bir yere sahiptir ve farmasötik endüstrisinde özel ilgi görmektedir. İçerisinde bol miktarda lif bulunmaktadır; böylece kolay sindirilebilmekte ve bağırsakların çalışmasını hızlandırmaktadır. Vücutta su tutma özelliği sayesinde vücudu temizler ve tokluk hissi uyandırır. Hasta ve yaşlı kişilerin, aynı zamanda bağırsaklarında hazım problemleri çeken kişilerin de tercih etmesi gereken bir yiyecektir.

100 gram kabak çekirdeği tüketildiğinde 559 kcal enerji açığa çıkararak vücuda bol direnç sağlar. Kabak çekirdeği potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum, sodyum, demir, çinko gibi madensel elementler bakımından zengindir ve kabuğunda da demir bulunur. A, E, K ve B kompleks vitaminlerini bol miktarda bünyesinde barındırır [30]. Yüksek çinko içeriği ile kadın ve erkek verimliliği açısından önem teşkil eder. Ayrıca, çinko diyeti ve osteoporoz arasında bir korelasyon olduğu gözlenmiş ve kemik yoğunluğunun iyileştirilmesine yol açtığı görülmüştür [31]. İçerdığı yüksek orandaki K vitamini kanın pıhtılaşması için gerekli olan protrombin yapımında rol alır ve damar sertliği (ateroskleroz) tedavisinde kullanılır [32]. Kabak çekirdeği, protein yapıtaşı olan amino asit içeriği açısından, özellikle de insan vücudunda üretilmeyen esansiyel amino asitler (metiyonin, fenilalanin, triptofan... v.b.)

bakımından çok zengindir. Yağında bulunan zengin doymamış yağ asitleri, özellikle de linoleik ve oleik asitler ile kan basıncını düzenler. Omega 3 ve omega 6 bileşenleri ile de beyin fonksiyonlarını düzenlemeye, sınırları yatıştırmaya yardımcı olur. Bu bileşenler aynı zamanda hormon dengesi ve cilt sağlığında etkin olduğundan bu özelliği ile kozmetik sanayisinde öneme sahiptir.

Kabağın olgun ve taze çekirdekleri zehirli madde içermediklerinden her gün belirli miktarda tüketilerek tenya ve diğer bağırsak parazitlerini yok edici amaçla kullanılmaktadır. İçerdiği 'piperazin' maddesi ile bağırsak kurtlarını düşürücü özelliği olduğu ve eskiden bu amaçla çoğu kez kullanıldığı belirtilmektedir [33]. Kabuksuz kabak çekirdeği idrar yolları, böbrek şikayetlerine ve mesane iltihabına da iyi gelmektedir.

Kabak çekirdekleri bitki sterollerini (fitosteroller) bakımından zengin olduğundan serum kolesterol düşürücü etkisi son zamanlarda ilgi çekmektedir [34, 35]. Aynı zamanda kansere yakalanma riskini azaltıcı etkisi ile başta akciğer kanseri olmak üzere, mide, yemek borusu, mesane (idrar torbası), gırtlak ve prostat kanserlerine karşı tüketilmesi önerilmektedir [36]. Kabak tohumlarındaki proteinlerin melanom üremesini engellediği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır [37]. Bünyesindeki fitosteroller prostat büyümesini yavaşlatarak prostat kanseri hücrelerinin gelişmesini engeller ve içeriğindeki yağ bileşenleri de prostat hücre çoğalmasının tetiklenmesini engeller [38, 39].

Kabak çekirdeği içerdiği yüksek orandaki E vitamini (tokoferol) sayesinde bağ dokusunun ve kasların güçlenmesine neden olur [40]. E vitamini içerisinde bulunan alfa tokoferoller önemli bir antioksidandır. Kabak tohumları, antioksidanlarca zengin olduğundan günde 77-88 gram kabak tohumu tüketmek günlük alfa ve gama tokoferol ihtiyaçlarını sağlamak için yeterlidir ve sağlık için çok faydalıdır [41]. İçerdiği arjinin aminoasiti ve C vitamini ile nitrik oksit sentezini artırarak kalp damar sağlığını yüksek tutar. Kalp krizi riskini azaltır, aynı zamanda damarların esnekliğini arttırmaya yardımcı olur.

Balkabağının çekirdeği çıkarılmamış turuncu meyve hali, başta Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada olmak üzere diğer birçok Batılı ülkelerde yemek ve eğlence sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Dekoratif amaçla Cadılar Bayramı'nda ve turta&tatlı yapımı amacıyla Şükran Günü'nde servis edilen ve sık tüketilen bir

üründür. Kabak çekirdeği ayrıca pasta, fırıncılık, çikolata ve şekerleme endüstrisinde kullanılmaktadır. Çorba yapımında tat verici çeşni olarak ve margarin yapımında da kabak tohumlarından faydalanılmaktadır.

## 2.2 Kabak Çekirdeği Yağı Hakkında Bilgi

### 2.2.1 Kabak çekirdeği yağı

Doğal ve sağlıklı olan kabak çekirdeği yağı, kabak tohumlarından üretilir. Yeşilimsi kahverengi renkli, vitaminler ve özellikle E vitamini (tokoferol) yönünden zengindir. Tekli ve çoklu doymamış yağ oranı yüksek, doymuş yağ oranı ise düşüktür [30]. Kabak çekirdeği yağının bazı karakteristik özellikleri Çizelge 2.5'te verilmiştir.

**Çizelge 2.5 :** Kabak (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *Styriaca*) tohumlarından elde edilen yağların fizikokimyasal özellikleri [29].

Özellik	Değerler
Renk	Yeşilimsi kahverengi
Oda sıcaklığındaki durumu	Sıvı
Isı değeri	40,4 ± 0,68 MJ/kg
Özgül ağırlık (30°C)	0,9151 ± 0,0002 g/cm <sup>3</sup>
Kırılma indeksi (30°C)	1,4662 ± 0,0001
Dinamik viskozite (30°C)	93,66 ± 0,48 cP
Asit değeri	0,78 ± 0,02 mg KOH/g
Serbest yağ asidi (Oleik asit)	%0,39 ±0,01
Peroksit değeri	10,85 ± 0,62 meq O <sub>2</sub> /kg oil
İyot miktarı	104,36 ± 0,04 g I <sub>2</sub> /100 g
Sabunlaşma değeri	190,69 ± 1,40 mg KOH/g
Sabunlaşmayan madde	%5,73 ± 0,82

Kabak çekirdeği yağı yenilebilir yağlardandır; güçlü karakteristik bir tadı ve kendine özgü kokusu vardır. Zengin yağ asitleri içeriği ve insan organizmasına yararlı çeşitli küçük bileşenlere sahip olmasından dolayı yüksek besin değerli yağ grubuna girer. Uzun raf ömrüne sahip, hızlı yağ bozunmaları olmayan ve yüksek oksidatif stabilitesi bulunan endüstriyel alanda ve insan beslenmesinde etkin biçimde kullanılabilir potansiyel bir üründür.

Kabak çekirdeği yağının bazı besinsel değerleri Çizelge 2.6’da gösterilmektedir.

**Çizelge 2.6 :** Kabak çekirdeği yağının bazı besin değerleri [42].

Besinsel enerji	2,339 kJ (559 kcal)
Total Yağ	100 g
Doymuş yağ asidi	18 g
Mono-doymamış yağ asidi	26,6 g
Çoklu-doymamış yağ asidi	53,3 g
$\alpha$ -tocopherol	2,7-7,5 mg
$\delta$ -tocopherol	3,53-110,97 mg
$\gamma$ -tocopherol	7,49-49,28 mg
K vitamini	7,3 $\mu$ g

Kabak tohumlarındaki yağ oranı %40-60 arasında değişmektedir. Bu yağın %98-99’unu yağ asitleri oluşturur. Baskın yağ asitleri; doymamış yağ asitlerinden Linoleik asit (%60,8’e kadar) ve Oleik asit (%46,9’a kadar), doymuş yağ asitlerinden Palmitik asit (%14,5’e kadar) ve Stearik asittir (%7,4’e kadar). Total yağ asiti içeriğinin yaklaşık %98’ini bu 4 yağ kapsar, bunların %80 civarı doymamış yağlardan oluşur. Mono-doymamış yağ asidinin çoklu-doymamış yağ asidine oranı 0,60-0,75 arasındadır [43, 44]. Yağ asiti bileşimi bitkinin yetiştiği bölge, varyete, iklim, olgunluk durumu gibi çeşitli faktörlere göre değişmektedir [43]. Kabak çekirdeği yağının değişik bileşenlerde yağ asitleri vardır. Bunlar Çizelge 2.7’de ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

**Çizelge 2.7 :** Kabak çekirdeği yağının yağ asitleri kompozisyonu [42].

<b>Yağ Asidi</b>	<b>Değerler</b>
Miristik asit (C14:0)	%0,09-0,27
Palmitik asit (C16:0)	%12,6-18,4
Palmitoleik asit (C16:1)	%0,12-0,52
Stearik asit (C18:0)	%5,1-8,5
Oleik asit (C18:1)	%17,0-39,5
Linoleik asit (C18:2)	%18,1-62,8
Linolenik asit (C18:3)	%0,34-0,82
Araşidik asit (C20:0)	%0,26-1,12
Gadoleik asit (C20:1)	%0-0,17
Behenik asit (C22:0)	%0,12-0,58

### **2.2.2 Kabak çekirdeği yağı kullanım alanları**

Kabak çekirdeği, içerdiği kaliteli yağlardan ve doymamış yağ asitlerinden dolayı yağlık tohum seçimi açısından iyi bir tercihtir. Buna karşın, tohumlarında yüksek miktarda protein oluşu, tüm esansiyel aminoasitleri içermesi ve karbonhidrat sağlamasından dolayı elde edilen yağ verimi pek yüksek olmamaktadır. Fakat tüm besin değerlerini içermesi sayesinde iyi bir enerji kaynağıdır.

Kabak çekirdeği yağı günümüzde Avusturya ve Slovenya'da önemli bir ihracat hammaddesidir ve ciddi ekonomik değere sahiptir. Avusturya'nın geleneksel yiyeceklerinden biri olarak Avrupa Birliği tarafından korunmaktadır [45]. Kabak çekirdeği yağının üretim verileri istatistiksel olarak bulunmamaktadır. Yayınlanan bir rapora göre, Avusturya'da 2003 yılında 1,5 milyon litre kabak çekirdeği yağı üretimi olmuştur [46]. Bazı Güneydoğu Avrupa ülkelerinde, özellikle Avusturya, Slovenya, Hırvatistan ve Macaristan'da, uzun zamandır salata yağı olarak, Afrika ve Orta Doğu'daki bazı ülkelerde ise yemeklik yağ olarak kullanılmaktadır [47].

Kabak tohumlarındaki yağlar, beyin işlevi ve hormon metabolizması için gerekli olan Omega 3 ve Omega 6 esansiyel yağ asitlerini birlikte almayı sağlar. Yağlar E vitamini, steroller, omega 6 ve omega 9 açısından zengin olduğundan, kozmetik sanayisinde kremlerde ve cilt tedavisinde kullanılmaktadır. İçerdiği zengin çinko elementinin pek çok enzim aktivitesinde rol alması ve diğer minerallerin de antienflamatuar özelliği sayesinde aynı zamanda yanık tedavisinde, akne problemlerinde, yaşlanmayı geciktirici kremlerde ve masaj yağı olarak kullanım alanı mevcuttur [11].

Kabak çekirdeği yağ asiti metil esterleri, Yunanistan'da düşük maliyetli biyodizel üretmek için alternatif hammadde olarak kullanım amaçlı denenmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Üretilen biyodizelin ölçülen tüm özellikleri şu anki kalite gerekliliklerini karşılamış, fakat bu üretime büyük ölçekte ulaşılabilmemesinin zor olduğu belirtilmiştir [48].

### **2.3 Bitkisel Yağ Eldesi ve Rafinasyonu**

Bitkisel yağ üretimi amacıyla kullanılan yağlık tohumlardaki mevcut yağ miktarı, yetiştirilmeleri sırasında kullanılan gübreleme, sulama, hastalık ve yabancı madde mücadelesi, bakımı gibi tarımsal yöntemlere, tohumların sahip oldukları botanik özelliklere ve iklim şartlarına göre değişiklikler göstermektedir. Aynı şekilde, tohumdaki yağ çıkarıldıktan sonra yan ürün olarak elde edilen küspe miktarı da bu faktörlerle farklılıklar gösterebilir. Bitkisel tohumlardan yağ eldesinde, ön işlemleri takiben, genellikle mekanik presleme veya solvent (çözücü) ekstraksiyonu yöntemiyle ham yağın üretimi gerçekleştirilir.

#### **2.3.1 Ön işlemler**

Yağlı tohumlardan yağ eldesine başlamadan önce tohumlar birtakım ön işlemlerden geçirilir. Ön işlemleri genel olarak; tohumların temizlenmesi, tohumun yapısal farklılığından dolayı uygulanması gereken bazı işlemler ve uygulanacak yağ alma yönteminin gerektirdiği hazırlıklar oluşturmaktadır.

Ön işlemler; tohumların temizlenmesi, pamuk tohumu için linterleme, tohumların nemlendirilmesi, kabuk kırma ve ayırma, pulcuk haline getirme ve kavurma olarak sayılabilir.

Tohumların temizlenmesi; insanların tüketimi amacıyla bitkisel kaynaklı gıdaların işlenmesinde ilk aşamadır. Hammadde çoğu zaman değişik oranlarda taş, toprak, sap, kum ve metal parçaları, bitkisel kalıntılar vb. yabancı maddeler içerir. Ham yağlar rafine edilerek tüketime sunulabilir bile, ham yağın verim ve kalitesini korumak, rafinasyonu sırasında oluşacak kayıpları minimuma indirmek ve makinelere zarar vermemek açısından hammaddenin yağa işlenmeden önce temizlenmesi gerekir [49].

Yağlı tohumlardaki yabancı maddeler, etkili bir temizlik sağlamak için irilik, şekil, yoğunluk ve mıknatıslık özelliklerinden faydalanarak çalışan sistemler kullanılarak uzaklaştırılmaktadır. Küçük, orta, büyük ölçeklerde pek çok teknolojik yaklaşım bulunmaktadır. Temizlemede kullanılan başlıca sistemler; elekler, triyörler, pnömatik (havalı) ayırıcılar, mıknatıs sistemi, linterleme makineleri (pamuk tohumunu liflerden ayırmak için) ve fırçalama makineleridir [50, 51]. Elekler; irilik esasına göre ayırma, triyörler; şekil farklılıkları baz alınarak ayırma, pnömatik ayırıcılar; yoğunluk farkından faydalanarak ayırma, mıknatıs sistemi; yağlı tohumlar içinde bulunması muhtemel olan ve tesislerde yer alan makinelere zarar verme olasılığı bulunan metal parçalarını mıknatıslık özelliğinden yola çıkarak ayırmada kullanılır.

Tohumların nemlendirilmesi; kabuk kırma ve ayırma, pulcuklandırma, kavurma gibi diğer ön işlemlerin daha kolay uygulanabilmesi için önemlidir. Tohumun nem oranının %16-18 arası olması gerekmektedir. Bu sebeple yağlı tohumların istenilen nem derecesine getirilebilmeleri için şu şekilde nemlendirilmeleri gerekmektedir [50]:

- Homojen bir dağılım sağlamak için tohuma verilen su püskürtme şeklinde olmalıdır.
- Tohumun suyla temas süresi mümkün olduğunca uzun tutulmalıdır. Eğer yığılma zedelenmiş tohum miktarı fazla değilse bu süre 3-4 gün olabilir.
- Nemlendirmeden sonra tohumun yüzeyinde su kalmamalıdır.
- Nemlendirilmiş tohumlar çabuk bozulacağı için hemen yağa işlenmelidir.

Nem miktarı doğru ayarlanmadığı takdirde fazla nem ekipmanlara zarar verebilir ve tohumların küflenmesine zemin hazırlar.

Kabuk kırma ve ayırma; yağlı tohumlardan kabukların uzaklaştırılmasında uygulanan iki kademeli işlemdir. Kabuğun, %1 yağ içermesi ve protein içeriğinin ise



çok düşük olması nedeniyle tohumdan uzaklaştırılması gerekir. Aksi takdirde kabuğun dış yüzeyleri iç dane ile uzun süre temas eder ve iç daneden kabuğa yağ migrasyonu olur. Presleme esnasında kabuk tarafından emilen bu yağın geri kazanılamaması nedeniyle yağ kaybına ve pres kapasitesinin düşmesine, çözücü ekstraksiyonu sırasında kabuğun renk, tat ve koku maddeleri de çözüldüğünden yağın kalitesinin bozulmasına ve rafinasyonunun zorlaşmasına neden olduğundan kabuk kırma ve ayırma işlemi önem teşkil etmektedir. Bu sayede kalite ve verim kaybının azalması sağlanır. Tonlarca tohumun işlendiği ve çeşide göre tohumlardaki kabuğun %20-40 arasında değiştiği düşünülürse, bu yağ kaybının ne kadar önemli olduğu görülmektedir [49]. Ayrıca küspe kalitesi için de kabukların uzaklaştırılması gereklidir.

Yabancı maddelerden arındırılıp temizlenen tohumlar santrifüj çarpma yöntemi kullanılarak özel kırıcılar ile kırılırlar. Setlerle ve çentiklerle kaplı, silindirik sabit bir gövde içinde dakikada 600-650 devirle dönen paletlerden oluşan bir tambur bulunmaktadır. Tambur üstten gelen tohumları cidara savurarak çarptırır. Kırma işlemi cidar ile tamburun mesafesi ayarlanarak yapılır. Çarpma neticesinde tohumların bir kısmı bütün, bir kısmı parçalanmış halde kabuklarından ayrılır. Kabuk soyma makineleri yağlı tohumların özelliğine göre düzenlenmiştir. Pamuk, kabak çekirdeği, ayçiçeği ve yerfıstığı gibi esnek kabuklarla kaplı yağlı tohumların kabuklarının soyulmasında bar ve disk kabuk soyucular kullanılır. Keten tohumu, kolza ve susam gibi çok küçük hacimli yağlı tohumlarda ise kabuk soyma işlemi çok zor olduğundan uygulanmaz [51].

Kırılan kabukların iç danelerden (badem) ayrılması için karışım düz elekten geçirilerek parçalanmış, ufalanmış iç ve kabuklar ayrılır. Eleğin orta kısmına yerleştirilmiş sistemle de iri kabuklar hava akımıyla emilir. Ufalanmış içlerin bir kısmı kabukla sürüklenerek kayıplara neden olur; bu da işletme randımanını düşürür. Bu nedenle ikisinin birbirine karışmamasına özen gösterilmesi gerekir [51]. Genelde kabukların tamamının alınması istenmez. Presleme işleminde kabuklar yardımcı olur ve ayrılan kabuklar yan ürün olarak satılır. Kimi zaman ise kabuk presleme kapasitesi düşürür ve olumsuz etki yaratır. Bu nedenle farklı tohumların farklı kabuk özellikleri dikkate alındığında her iki görüş de doğru sayılabilmektedir.

Tohum içinin (badem) ezilmesi aşamasında; yağı hapseden hücre ve dokular parçalanarak yağın kendiliğinden dışarı akışı sağlanır. Yağlı tohumlarda yağ

zerrecikleri hücre sitoplazması içinde olduğundan, dışarı çıkabilmeleri için tohum içinin mümkün olduğunca küçük parçalara ezilmesi gerekmektedir. Pulcuklandırma işlemiyle hem boyut küçültülmesi yapılmış ve hücre içindeki yağ partiküllerinin dışarıya sızma alanı genişletilmiş, hem de yağ çıkışına karşı tohum yapısının gösterdiği direnç azaltılmış olur. Özellikle çözücü ekstraksiyonunda çözücünün içe difüzyonu kolaylaşmakta, böylece ekstraksiyon hızı da artmaktadır [50].

Tohumların kavrulması işlemi; yağlı tohumların yağ verimlerini artırmak ve küspenin daha iyi değerlendirilmesini sağlamak için gereklidir. Kavurma işleminde sıcaklığın etkisiyle yağın viskozitesi azaltılıp, akıcılığı artırılır. Hücre duvarında yer alan proteinler ısıyla denatüre olup sonra agregasyonları gerçekleşince, hücre içindeki yağ moleküllerinin hücreden kolayca çıkması sağlanır. Küfler ve bakteriler de kavurma işlemiyle öldürülmüş olur. Sıcaklığın etkisiyle ezilen tohum esneklik kazanır ve preslemenin etkinliği artırılır [52].

Tohumdaki su oranı %7-8'den %4-4,5'a düşürülür. Kavurma işlemi küçük tesislerde doğrudan ateşle ısıtılan tek katlı tavalarda, büyük ve modern işletmelerde ise 4-5 katlı tavalarda yapılmaktadır. Tavalarda içindeki tohum önce 15-20 dakika ısıtılır ve üzerine su buharı veya sıcak su püskürtülerek nemi %16-18'e çıkartılır. Tohum sıcaklığı 80-90°C' ye çıkarılarak kavurma işlemine geçilir; 20-30 dakika kavrulan tohumun proteinleri koagüle edilmiş olur. Daha sonra 110-115°C sıcaklıkta nem oranı % 4-4,5' a düşürülür, pres veya ekstraktöre sevk edilir [53].

### **2.3.2 Mekanik presleme yöntemiyle ham yağın üretimi**

Mekanik presleme işlemi; basınç uygulayarak katı-sıvı faz ayırımı yöntemi olarak ifade edilebilir. Presleme yöntemi, ısı işlem uygulanma durumuna göre soğuk ve sıcak presleme olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Genellikle yağ oranı %20'den daha düşük olan yağlı tohumların ham yağa işlenmesinde mekanik presleme yöntemi kullanılabilir. Presle çıkarılan yağların yemeklik kaliteleri ekstraksiyonla elde edilene göre daha yüksek olmakla birlikte verimi düşüktür; küspede %2,5-6 oranında yağ kalır. Halbuki ekstraksiyon yöntemi ile küspede kalan yağ %0,5'e kadar düşürülmektedir.

Tohumun sertliği arttıkça yağı çıkarmak için gereken basınç artar ve fazla ısı açığa çıkar. Soğuk preslemede dışarıdan bir ısı aktarımı söz konusu değildir. Ezilmiş madde doğrudan doğruya basılır ve bu yöntemle en iyi kalitede zeytin yağı ve hint yağı elde

edilir. Sıcak preslemede verim daha yüksek olsa da, istenmeyen yabancı maddeler ve serbest yağ asitleri yağa karışmaktadır. Fakat genellikle ısıtılmış maddenin prese gönderildiği sıcak presleme metodu kullanılır [54].

Mekanik presleme işlemi sonucu esas ürün olarak ham yağ, yan ürün olarak yağı alınmış küspe elde edilmektedir. Mekanik presleme işleminde kesikli çalışan hidrolik presler, sürekli vidalı presler ve döner presler kullanılabilir [50, 52].

### **2.3.3 Solvent (çözücü) ekstraksiyonu yöntemiyle ham yağın üretimi**

Solvent ekstraksiyonunun temeli, yağın içinde çözüldüğü bir organik çözücü ile yağlı tohumla işlemler uygulayıp yağın çözücüye geçmesini sağlamaktır. Genel olarak belli bir tane büyüklüğüne öğütülmüş tohumlar organik bir çözücü ile temas ettirilir, yağın çözücüye geçmesi sağlanır. Sonra çözücü süzülerek ayrılıp uçurulur ve geriye ham yağ kalır. Pres yöntemine göre üstünlüğü; küspede en fazla %1 oranında yağ kalır ve çoğunlukla %0,5 civarında olmaktadır. Bu yöntemi kullanarak yağ elde etme özellikle yağ miktarı düşük olan soya ve çığıt gibi yağlı tohumlarda kullanılmaktadır.

Solvent ekstraksiyonu yönteminde çözücü, çözünen maddeden kolayca ayrılabilen yapıda olmalıdır; bu nedenle düşük kaynama noktasına sahip ve kaynama sıcaklığı aralığı dar olan çözücülerin kullanılması tercih edilir. Birçok organik madde yağ çözücüsü olarak kullanılmakla birlikte günümüzde Türkiye’de ve dünyada en yaygın olarak kullanılan çözücü, kaynama noktası 64-68°C olan heksandır [52].

### **2.3.4 Bitkisel yağ rafinasyonu**

Rafinasyon işlemi, berrak ve yenilebilir tatta yağ elde etmek için ham yağda bulunan ve istenmeyen tüm maddelerin yağdan uzaklaştırılması olarak tanımlanabilir. Ham yağlar ne kadar özenli ve temiz elde edilirse edilsin mutlaka rafine edilmelidir. Çünkü tüketici açık renkli, berrak, kokusuz ve serbest asit değeri belli bir seviyede olan yağ satın almak ister. Rafine edilmeden tüketilen tek bitkisel yağ, iyi kalite zeytinlerden elde edilen zeytin yağıdır. Asit değeri 3’ün üstü olan kötü vasıflı zeytin yağları da rafine edilir. Bunlara rağmen, Türkiye’nin bazı kırsal kesimlerinde ayçiçeği, susam, haşhaş vb. hammaddelerden elde edilen yağlar yerel halk tarafından rafine edilmeden tüketilebilmektedir. Müsilaj giderme, asit giderme, ağartma, koku giderme ve vinterizasyon işlemleri bitkisel yağ rafinasyonunun aşamalarıdır [49].

Müsilaj giderme (degumming) işleminde; hidroklorik asit ve fosforik asit kullanılır. Fosfatitlerce zengin olan (%1-2,5) yağlık tohumlarda müsilaj giderme rafinasyonda kayıplar olmaması açısından önemlidir. Türkiye’de bugün en çok, sodyum klorür veya pirofosfatın %40-65’lik çözeltisi kullanılır. Bu çözeltiden ham yağa %2-3 oranında eklenir ve yağ karıştırılarak 40-50°C’ye kadar ısıtılır. İşlem sonunda çöken sulu tabaka (hidrolasyon çamuru) santrifüjlenerek yağdan ayrılır. Yapışkan maddeler bir elektrolit aracılığıyla pıhtılaştırılırken, fosfatidler gibi diğer zamksı maddeler su ve sıcaklık yardımıyla hidrotasyon sonucu çöktürülür. Bu esnada yağın içindeki mineral maddeler ve bazı yabancı maddeler de çöken bu maddelerle birlikte yağdan uzaklaştırılır. Müsilaj maddeleri lesitin eldesinde kullanılmaktadır [55].

Yağ sanayisinde asitlik giderme (nötralizasyon) işlemi; yaygın biçimde serbest asitlerin bazlarla nötralizasyonu olarak uygulanmaktadır. Kuru ve yaş olarak yapılmaktadır. Yağdaki serbest yağ asitleri sodyum hidroksit (NaOH) ile muamele edilince, yağda erimeyen sabun meydana gelerek çöker. Asit karakterde olan diğer bazı maddeler ile sabun tarafından absorbe edilen birçok madde de beraberinde çöker. Bu proses için kontinü veya diskontinü yöntemler kullanılabilir ve kullanılacak baz miktarı bir ön deneme ile kararlaştırılabilir. Ayrıca fiziksel nötralizasyon olarak adlandırılan, serbest yağ asitlerinin yüksek derecede vakumda damıtılarak yağdan ayrılması işlemi de uygulanmaktadır. Diskontinü sistemlerde genellikle 10-12 ton ağırlığında, ısıtıcı buhar helezonları, karıştırma paletleri ve baz çözeltisi püskürten sistemlerle donatılmış nötralize kazanlar kullanılır. Kullanılacak NaOH miktarı, serbest asitliğin 7’de 1’i olarak hesaplanır. Fakat bazın bir kısmının nötr yağ ile reaksiyona girme ihtimalinden dolayı hesaplanan miktarın %10 fazlası kullanılır.

Asit giderme kayıpları, yabancı maddelerin cins ve miktarlarına, serbest yağ asitleri miktarına göre farklılık gösterir. Fosfatidlerin az olması kaybı azaltır. Kakao, palm, kara ve deniz hayvanları yağlarında serbest yağ asitlerinin 1,5 katı, pamuk ve soyada 3 katı, asiditesi düşük yağlarda ise serbest yağ asitlerinin 5-10 katı yağ kaybolur. Yemeklik, kızartmalık, margarin yapılacak yağlarda asitlik giderilmezse serbest yağ asitleri duman çıkararak yanar [55].

Yağ endüstrisinde ağartma (renk giderme, bleaching) işleminde; ham yağın doğal yapısında içerdiği ve tohumun yağa işlenmesi sırasında oluşan renk maddeleri uzaklaştırılır. Bu amaçla Tonsil, Bentonit gibi çeşitli isimlerle satılan ve sanayide

“ağartma toprağı” genel adı ile bilinen adsorbant maddeler kullanılır. Ağartma toprağının ne kadar kullanılacağı yağın rengine, toprağın aktivitesine bağı olarak değışir. Son zamanlarda ağartma amacıyla, sülfürik veya hidroklorik asitle muamele edilip aktif hale getirilen diğere topraklar da kullanılmaktadır. Ayrıca özellikle kırmızı, mavi ve yeşil renklerin adsorbsiyonunda aktif kömür kullanılmaktadır. Aktif kömür, pahalı oluşu ve fazla yağ emmesi sebebiyle tek başına kullanılmaz.

Ağartma işlemi kontinü (kesintisiz) olarak yapılabildiğı gibi ülkemizde de kullanılan diskontinü sistemle de yapılabilmektedir. 25-30 tonluk kazanlar kullanılır ve içlerinde ısıtıcı serpantin ve karıştırıcı bulunur. Yağın sıcaklığı 70-80°C’ye çıkarılır, toprak konulur, sonra sıcaklık 90-100°C’ye çıkarılır. Toprağın ilave edilmesi esnasında kazanlardaki karıştırıcılar çalıştırılarak bir süspansiyon elde edilir. Isıtma tamamlandıktan sonra 15-20 dakika daha karıştırmaya devam edilir. Daha sonra yağ, presli filtrelerden geçirilerek süzülür. Bu aşamada yağ kaybı en fazla eklenen toprak miktarı kadar olmaktadır. Süzme işleminden sonra kazana önce basınçlı hava verilerek serbest yağlar, sonra basınçlı buhar verilerek de toprağın adsorbe ettiği yağlar alınır. Bu işlemler sırasında oksidasyonu önlemek amacıyla vakum da yapılır [55].

Koku giderme (deodorizasyon) aşamasının amacı; istenmeyen tat ve koku maddelerinin yağdan uzaklaştırılmasıdır. Koku alma işlemi, yağın tat ve kokusunu bozan bazı uçucu maddeleri, su buharı ile yağdan ayırmak şeklinde tanımlanabilir. Koku alma; kurutma ve gazları uçurma, ısıtma, koku alma, soğutma, boşaltma işlemlerinden oluşur. Yağlarda koku alma işlemi kontinü ve diskontinü olarak yapılır; ülkemizde daha çok diskontinü yöntem uygulanmaktadır. Kokusu giderilecek yağ kazana alınır. Kazana alttan buhar verilerek sıcaklık, 3-5 mm’lik vakumda 180-240°C’ye çıkarılır. Bu yolla aynı zamanda yağ karıştırılmış olur, yağda istenmeyen koku maddeleri buharla birlikte uzaklaştırılmış olur. Kokusu giderilmiş yağ yüksek vakum altında 100°C’ye soğutulur, sonra plakalı soğutuculara gönderilerek sıcaklık 30-50°C’ye düşürülür. Oksidasyonu önlemek amacıyla da, 1 kg yağa 50 mg sitrik asit çözeltisi verilmelidir.

Vinterizasyon (soğuklatma) yemeklik yağlara uygulanan bir işlemdir. Yağların içinde bulunan doymuş trigliseritlerin; özellikle de stearinlerin, 8-10°C’de donarak yağı bulandırmalarına engel olmak amacıyla yapılır. Bu işlem genellikle ayçiçeğı, çiğit ve mısırözü gibi yağlara uygulanır. Rafinasyonu biten yağ kristalizatörlere

sevk edilir ve istenilen kristalizasyon sıcaklığına kadar (0-10°C civarı) soğutulur. Böylece yağlarda bulunan ve yüksek sıcaklıkta eriyen trigliseritler (genelde stearinler) ile vakslar (mumlar) ayrılır. Böylelikle yağın oda sıcaklığında kristalleşmeler sonucu bulanması önlenmiş olur. Ayırma işleminden sonra yağ soğutulmuş filtrelerden geçirilerek berrak kısım alınır. Vinterizasyonun başarılı olabilmesi için yağın mutlaka diğer rafinasyon aşamalarından geçmiş olması lazımdır. Aksi takdirde ortamdaki serbest asitlik, yapışkan maddeler ve renk maddeleri kristalizasyonu zorlaştırır [55].

## **2.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Yöntemi**

Yağlık tohumlardan yağ eldesinde günümüzde en yaygın kullanılan yöntem çözücü ekstraksiyonu yöntemidir. Kullanılan çözücünün çok büyük çoğunluğu uçurularak geri kazanılmasına rağmen, güvenlik ve çevresel kirlilikle ilgili endişeler devam etmektedir. Organik çözücülerin kullanılması güvenlik açısından sorun teşkil ettiğinden çözücü olarak su kullanımı denenmiş, ancak ilk denemeler düşük yağ verimi dolayısıyla başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Buna rağmen çevresel açıdan daha güvenilir bir yöntem olduğu için sulu ekstraksiyon çalışmalarına devam edilmektedir. Aynı zamanda diğer yenilenebilir çözücülere (alkol ve süperkritik akışkanlar) göre su kullanımı, en ekonomik olarak toksik çözücülerin yerine iyi bir alternatiftir [56, 57]. Ayrıca sulu ekstraksiyon yöntemiyle yağ ekstrakte edilebildiği gibi protein de ekstrakte edilebilmektedir. Yangın ve patlama tehlikesi de içermediğinden mekanik presleme ve geleneksel çözücü ekstraksiyonu yöntemlerine göre avantajlı görünmektedir.

Bitkilerin hücre duvarı temel olarak pektik bileşenler, selüloz, hemiselüloz ve ligninden oluşmaktadır ve kofulları içerisinde yağ barındırırlar [58]. Enzimler hücre duvarını parçalayarak hücre zarının yağ geçirgenliğini artırır ve yağ çıkışını sağlarlar. Bu durum hücre içerisindeki komponentlerin daha kolay salınımına imkan sağlamaktadır. Böylece yağın ekstraksiyon verimi, hücre duvarına etkiyen enzimlerin hidrolitik müdahalesi ile artırılabilir [59]. Öğütülmüş tohuma enzimle müdahale ederek hücre duvarı yıkımı ve bazı lifli maddelerin parçalanması sağlanır. Bu sayede su ile ekstraksiyon işlemi kolaylaşır. Proteaz, amilaz, selülaz, hemiselülaz ve pektinaz gibi enzimler bitkisel yağ ekstraksiyonunda etkin şekilde kullanılabilirler. Enzimler ayrı ayrı işleme tabi tutulabileceği gibi, enzim karışımları da yağ verimini

ve protein alımını artırmak için kullanılabilirler. Proteolitik enzimler yağ bileşenlerini çevreleyen lipofilik proteinler olan oleozinleri hidrolize etmekte, böylece oleozinlerin yüzey aktiviteleri azalmakta ve yağ ayrımı gerçekleşmektedir [58, 60].

Enzimatik sulu ekstraksiyon prosesinde yağ verimi ve ürün kalitesine birçok faktör etki eder. Enzimin işlevini gerçekleştirmesi için, ekstraksiyon koşullarının enzimin tavsiye edilen kullanımına uygun olması gerekir. Birçok araştırmacı tarafından bildirilen ekstraksiyonu etkileyen başlıca faktörler; enzim bileşimi ve konsantrasyonu, yağlı partikül boyutu, tampon çözelti pH'ı, katı-sıvı oranı, çalkalama hızı, sıcaklık ve inkübasyon zamanıdır [61].

Enzimatik sulu ekstraksiyonda izlenen adımlar genelde yağ elde edilecek tohumun öğütülmesi, sulu tampon çözeltisiyle karıştırılması, enzimle inkübasyonu, katı ve sıvı fazların santrifüjle birbirlerinden ayrılması ve sıvı fazdan yağın elde edilmesidir. Ekstraksiyon sonrası çıkan yağı alabilmek için birçok araştırmada santrifüj kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Genelde ekstraksiyon sonrasında karışımlar santrifüj edilince yağ, krema, sulu ve katı faz tabakaları olmak üzere toplam dört faza ayrılırlar. Karşılaşılan en büyük zorluklardan birisi oluşan emülsiyonun yağ verimini düşürmesidir. Emülsiyon giderme, sulu ve enzimatik ekstraksiyonun uygulanabilirliğini belirler. Bu yüzden ekstraksiyon sırasında emülsiyon oluşursa, yağı ayırmak için emülsiyon kırılmalıdır. Emülsiyonlar n-hekzan yardımıyla ekstrakte edilebileceği gibi, dondurma-eritme gibi yöntemlerle de kırılabilir [61]. Yağın ayrılması için ekstraksiyon karışımına sıcak su eklenerek sıcak suda yağ yüzdürülebilir. Bu işlemde emülsiyon tabakası üst yüzeye çıkar, oradan alınır ve biraz kaynatılarak emülsiyon kırılır, son olarak yağ tabakası dekante edilir. İşlemin temeli, emülsiyondaki yağ küreciklerinin birleşerek daha büyük damlacıklar oluşturmasına ve böylece santrifüjde kolay ayrılmasına dayanır [61].

Enzimatik sulu ekstraksiyon ve solvent bazlı ekstraksiyon proseslerinin çözücü kullanımı, ekonomik maliyet, ürün kalitesi, yağ verimi, ürün ve çevreye olan etkileri açısından birçok avantaj ve dezavantajları vardır. Sulu enzimatik ekstraksiyon; çözücü ekstraksiyonu yerine kullanılan çevresel açıdan zararsız bir prostestir, dolayısıyla çevre dostudur. Yanıcılık ve patlayıcılık gibi güvenlik sorunları yoktur, hava kirletici olarak atmosfere uçucu organik bileşik salınımı yapmaz [62]. Farklı tohumlarla çalışılabilmesi açısından esnek bir çözümdür. İlimli işletme koşulları kimi

zaman rafine edilmeyi gerektirmeyen yağ eldesini ve zehirsiz gıda üretimini mümkün kılar [57]. Çözücü ekstraksiyonunun yüksek ilk yatırım maliyeti vardır; sulu ekstraksiyon ile işlem maliyeti ve enerji gereksiniminin düşmesi sağlanabilir. Ayrıca bu yöntem yağlı tohumlardan aynı anda yağ ve protein elde edilmesine imkan sağlamaktadır.

Enzimatik sulu ekstraksiyonla elde edilen yağın kalitesinin yüksek olduğu araştırmalarda ortaya konmuştur. Denemeler enzimatik sulu ekstraksiyon ile edilen ham yağın renginin endüstriyel yöntem olan çözücü ekstraksiyonu ile edilen yağın renginden daha açık olduğunu göstermiştir [63]. Başka bir araştırmada enzimatik sulu ekstraksiyon ve hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağların arasında serbest yağ asidi, peroksit ve diğer oksidasyon değerleri açısından fark olmadığı da gözlemlenmiştir [61]. Enzimatik ekstraksiyon ile düşük fosfatid içerikli, oldukça kararlı ve daha düşük seviyede renkli madde içeren ürünler elde edilebilmektedir. Bu sayede saflaştırma için daha az ağartma toprağına ihtiyaç duyulmaktadır. Geleneksel çözücü ekstraksiyonu yönteminde glukosinolat, tanin, sinapın ve fitik asit gibi maddeler yağın içinde kalır. Enzimatik sulu ekstraksiyonda ise bu istenmeyen maddeler yağın içinde oldukça düşük bulunur. Bu proses ile bazı toksin maddelerin ve besleyici olmayan bileşimlerin yağdan uzaklaştırılması sağlanabilir. Detoksisteye gerek kalmadan yüksek kalitede yağ çıkar [64].

Diğer yandan, enzimatik sulu ekstraksiyon yönteminin başlıca dezavantajları düşük yağ verimi, önemli miktarda atıksu üretmesi, yağ eldesi aşamalarının daha komplike olması, yağları alabilmek için gerekli olan uzun proses süreleri ve ticari olarak enzimlerin bulunabilme zorluğudur. Düşük verim sorununa çare olarak enzim katkılı sulu ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmektedir. Daha önce bahsedildiği gibi, ekstraksiyon verimi hücre duvarını degrade eden enzimlerin hidrolitik etkisi ile artırılabilir [58]. Atıksu oluşumunu ve enerji tüketimini azaltmak için, ekstraksiyonda kullanılan su geri kazanılabilir ve tekrar kullanılabilir duruma getirilmelidir. Suyun sirkülasyonu sayesinde enzimin geri kazanılması da enzim maliyetini azaltabilir. Ancak enzimin geri kazanılması ve tekrar kullanılabilmesi için işlem esnasında enzim aktivitesinin önemli oranda azalmamış olması gerekir [61, 64].

Enzimatik sulu ekstraksiyon metodunun ekonomikliğinin incelendiği bir çalışmada çözücü ekstraksiyonu tesislerine göre bu prosesin tesis kurulum maliyeti daha yüksek



bulunmuştur. Ancak bu çalışma, eğer piyasa değeri yüksek bir yağ eldesi söz konusu ise enzimatik ekstraksiyon prosesinin, endüstriyel olan çözücü yöntemiyle kolaylıkla rekabet edebileceğini ve eğer immobilize enzimler ile çalışılırsa enzim maliyetinin oldukça düşürülebileceğini ifade etmektedir [65].

## **2.5 Literatürde Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Üzerine Yapılmış Çalışmalar**

Literatürde enzimatik sulu ekstraksiyon metodu ile çeşitli enzimler kullanarak farklı bitkilerden ve yağlı tohumlardan yağ eldesi üzerine yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır.

Hou ve arkadaşları, çalışmalarında susam yağının sulu ekstraksiyonunda hidrolitik enzimlerin kullanımının verimi artırıcı etkisini göstermişlerdir. Optimum proses koşullarına pH 7'de, 50°C'de, 80 rpm'de, 3 saat çalkalamayla ulaşılmıştır. 6.000 U/g selülaz, 400 U/g tripsin ve 250 U/g papain enzim kompleksi kullanıldığında verim %87,58'e ulaşmıştır [66].

Rosenthal ve arkadaşları, soya tohumlarından yağ ve protein eldesinde proteaz (Alkalaz) enzimi kullanımının verimi nasıl etkilediğini sorgulamıştır. Alkalaz enzimiyle protein verimi %66,2, yağ verimi ise %58,7 olarak bildirilmiştir. Selülaz, hemiselülaz ve pektinazla karşılaştırıldığında, proteazın daha yüksek verim sağladığı görülmüştür [65].

Latif ve Anwar, enzimatik ekstraksiyonun ayçiçek yağı verimine etkilerini inceledikleri çalışmada Protex 7L, Alcalase 2.4L, Viscozyme L, Natuzyme ve Kemyzme enzimlerini kullanmışlardır. Enzimsiz sulu ekstraksiyonda elde edilen verim %18,3 iken, enzim destekli sulu ekstraksiyonda ulaşılan yağ verimi %26,6 ile %39,7 arasında değişmiştir. En yüksek verime ise %45,5 ile çözücü ekstraksiyonuyla ulaşılmıştır. Enzimatik sulu ekstraksiyon ile elde edilen en yüksek verim %39,7 ile Viscozyme L ile olurken, en düşük enzimatik ekstraksiyon verimi ise %20,63 ile Alcalase 2.4L ile olmuştur. Protex 7L %4,3 ile en yüksek protein verimini göstermiştir [57].

Jiang ve arkadaşları, çalışmalarında yerfistiğinden enzimatik ekstraksiyonla yağ ve protein eldesini incelemiştir. Alcalase 2.4L enzimi ile optimum proses koşulları; hidroliz sıcaklığı 60°C, pH 5, tohum-su oranı 1:5 (ağ/hacim), enzim miktarı %1,5 (ağ/ağ) ve hidroliz zamanı 5 saat olarak tespit edilmiştir. Bu koşullar altında yağ ve

protein hidrolizat verimleri sırasıyla %79,32 ve %71,38 olarak belirlenmiştir. AS1398 enzimi kullanıldığında verimler sırasıyla %91,98 ve %88,21'e yükselmiştir [67].

Nyam bir araştırmasında, Kalahari kavun çekirdeği yağının fizikokimyasal özelliklerini çözücü ekstraksiyonu ve sulu enzimatik ekstraksiyon sonuçlarını kıyaslayarak incelemiştir. Flavourzyme 1000L ve Nötraz 0,8L enzimlerini kullanmıştır. Bu enzimler ile sırasıyla %71,6 ve %68,6 yağ verimi elde etmiştir. Tohumlardan sulu enzimatik yöntemle ve petrol eteri çözücüsüyle ekstrakte edilmiş yağların bileşimleri ve özellikleri arasında belirgin fark bulunmadığı ifade edilmiştir. Ekstrakte edilen yağların erime noktaları -18,7 °C ve -17,5 °C arasında olup yakın değerlerde olduğu ve aynı zamanda fenolik asit değerlerinin de yakın olduğu gözlemlenmiştir. Enzimatik sulu ekstraksiyonla elde edilen yağın renginin, çözücü ekstraksiyonu metodu elde edilen yağa göre renginin daha açık sarı olduğu saptanmıştır [68].

Latif ve arkadaşları başka bir çalışmada, kanola yağı ve proteinlerinin enzimatik sulu ekstraksiyonunu araştırmışlardır. Protex 7L, Multifect Pectinex FE, Multifect CX13L ve Natuzyne enzimleri kullanılarak yapılan sulu ekstraksiyon sonucu yağ verimi %22,2 ile %26 arasında bulunmuştur. Enzimsiz sulu ekstraksiyonda ise bu değer %16,48'dir. Ayrıca geleneksel çözücü ekstraksiyonu ve enzimatik sulu ekstraksiyon ile elde edilen kanola yağlarının fizikokimyasal özellikleri karşılaştırılmıştır. Enzimatik yöntemle elde edilen yağın serbest yağ asidi içeriği, peroksit değeri, renk ve tokoferol (alfa, gama ve delta) konsantrasyonlarında farklılıklar olmakla birlikte iyod değeri, kırılma indisi, yoğunluk, saponifikasyon değeri ve yağ asidi bileşimlerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. Enzim bazlı yağın kalitesinin çözücü bazlı yağdan daha iyi olduğu saptanmıştır [69].

Dominguez ve arkadaşları, enzimatik ekstraksiyonda inkübasyon zamanının yağ veriminde öneminin büyük olduğunu ve soya yağı için en uygun sürenin 6 saat olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca enzim-yağlı tohum oranı ve nem miktarının da yağ veriminde etkili olduğunu vurgulamışlardır. Tanecik boyutunun 1 mm'den küçük olması, enzimin hücre duvarına daha rahat ulaşması açısından yağ verimini arttırıcı bir etken olarak bildirilmiştir. Çalışma sırasında %50-70 nem oranı (soya-su oranı 1:1-1:2) maksimum yağ verimine ulaştırmıştır. Selülaz ve hemiselülaz enzim karışımı kullanımı verimi %44'e kadar artırmıştır [64].

Chabrand ve Glatz, endopeptidaz enzim destekli ekstraksiyon ile elde edilen soya yağının sadece küçük bir kısmının serbest yağ oluşuna ve büyük çoğunluğunun krema tabakasında emülsiyon oluşturmasına yönelik emülsiyon kırma çalışmaları yapmışlardır. Proteaz ve fosfolipaz ekleme ve pH 4,5'te asidifikasyon sağlama şeklinde demülsifikasyon müdahaleleri ile emülgatörleri hedef alarak krema tabakasını serbest yağa çevirmeyi amaçlamışlardır. Sonuçlara göre; asidifikasyon yöntemi yağ verimini %2'den %83'e çıkarmıştır. 2-aşamalı alkalik endopeptidaz enzimli demülsifikasyon prosesi yağ eldesini %95'e yükseltmiştir. pH 4,5'te lipofosfolipaz ile muamele sonrasında emülsiyonun tamamen serbest yağa dönüştüğü gözlenmiştir [70].

Caetano ve çalışma arkadaşları, ayçiçek yağı eldesinde enzimatik sulu ekstraksiyon ve termoplastik çekme (ekstrüzyon) uygulamasının birlikte kullanımının yağ verimini arttırdığını belirtmişlerdir. Ekstraksiyon prosesi için seçilen koşullar: 70°C, 4 saat, ekstrüzyon dönüş hızı 180 rpm, seyreltme oranı 1:5 ve enzim miktarı %0,3 (ağ/ağ)'tür. Ekstrüzyon müdahalesi yağ verimini yaklaşık %54 arttırmıştır ve laboratuvar enzimlerinin kullanımı ticari enzimlere göre daha etkili olmuştur. Enzimatik sulu ekstraksiyonda erişilen maksimum yağ verimi, E122-V2000 laboratuvar enzimi ile %82 ve ticari enzim ile ise %70'tir [71].

Shah ve çalışma arkadaşları, *Jatropha curcas* L. ağacının tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ve ultrasonikasyon yöntemini kombine ederek yağ ekstrakte etmişlerdir. Ekstraksiyondan önce ön işlem olarak 10 dakika, pH 9'da yapılan ultrasonikasyonla sulu ekstraksiyon verimi %67 olarak bulunmuştur. pH 9'da 5 dakika ultrasonikasyon uygulanıp ardından alkali proteaz (Protizyme) enzimiyle muamele neticesinde ekstraksiyon verimi %74'e çıkmıştır. Ayrıca ultrasonikasyon uygulamasının proses zamanını 18 saatten 6 saate düşürdüğü gözlemlenmiştir [72].

Literatürde kabak çekirdeğinden yağ eldesinde enzimatik sulu ekstraksiyonun denendiği bir çalışma bulunmaktadır. Jiao ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada balkabağı tohumlarından mikrodalga destekli sulu enzimatik yağ ekstraksiyonu denenmiş; yağın fizikokimyasal özellikleri, yağ asidi bileşenleri ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Selüloz, pektinaz ve proteaz enzimlerinden oluşan enzim kokteylinin yağ çıkarmada en etkili olduğu gözlemlenmiştir. %1,4 enzim (ağ/ağ) konsantrasyonu, 44°C sıcaklık, 66 dakika süre ve 419 W radyasyon miktarında en yüksek yağ verimine ulaşılmıştır (%64,17).

Geleneksel Soxhlet ekstraksiyonuyla elde edilen yağ ile enzimatik sulu ekstraksiyonla elde edilen yağın arasında fizikokimyasal özellikler açısından fark görülmemiş olup, ikinci yağın oksidasyon stabilitesi daha yüksek çıkmıştır. Yine bu yağın linoleik asit içeriği (%57,33), Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen yağdan (%53,72) daha yüksektir. Ayrıca antioksidan aktivitesinin de daha güçlü olduğu gösterilmiştir [73].

Bu çalışmada ise, Ukrayna'da yetiştirilen mutant bir form olan kabuksuz kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve yüzey aktif madde kullanımının verime etkisi incelenmektedir.

### 3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

#### 3.1 Kullanılan Hammaddeler

Bu çalışmada Ukrayna'da yetiştirilmiş, İstanbul Eminönü Mısır Çarşısı'ndan temin edilen, 2012 hasat dönemine ait kabuksuz kabak çekirdeği (*Cucurbita pepo* L. var. *Styriaca*) tohumları kullanılmıştır. Tohumlar buzdolabı koşullarında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik ekstraksiyon ile yağ eldesi deneylerinde proteaz olarak Alcalase 2.5L Type-DX ticari enzimi kullanılmıştır. Bu enzimler sıvı olarak Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark) firmasından temin edilmiştir.

Alcalase 2,5L Type-DX enzimi; *Bacillus licheniformis* mikroorganizmalarından elde edilen özgül olmayan serin tipi bir proteazdır. Proteolitik aktivitesi 2,5 AU/gr (Anson Units/gram) olan yüksek aktiviteye sahip bir enzimdir. Enzimin aktif olduğu optimum koşullar; sıcaklık 55-70°C ve substrat tipine bağlı olarak pH 4-8 aralığıdır.

Potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ) ve disodyum hidrojen fosfat ( $Na_2HPO_4$ ) kimyasalları ile ayrı ayrı 1/15 mol/L stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözeltileri belirli oranlarda karıştırılarak farklı pH'larda fosfat tampon çözeltileri oluşturulmuştur.

Yapılan sulu ekstraksiyonlarda, yüzey aktif maddeleri olarak Triton X-100, Labsa 101, Tween 60, Tween 80, Stepantex DC90 ve Texapon N 70 kullanılmıştır. Jel kıvamındaki bu yüzey aktif maddeler Cognis Deutschland GmbH & Co. firması tarafından tedarik edilmiştir. Labsa 101 Lineer Alkil Benzen Sülfonik Asit kimyasal yapısında anyonik bir yüzey aktif maddedir ve deterjan sanayiinde kullanılmaktadır. Texapon N 70 maddesi de anyoniktir ve sodyum loril eter sülfat özelliği gösterir. İyi köpürme karakteristiğinden dolayı kozmetik temizleyicilerde özellikle sabun ve şampuanlarda temel yüzey aktif maddelerden biri olarak kullanılmaktadır. Triton X-100 non-iyonik bir deterjan olup hidrofilik polietilen oksit zincirine sahiptir. Geniş sıcaklık aralıklarında etkili performans gösterebilmektedir. Stepantex DC90 ise kationik bir yüzey aktif maddedir ve temizleyici özelliğe sahiptir. Dördüncül

amonyum tuzu olan Stepantex DC90 endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. Tween 60, bir çeşit non-iyonik yüzey aktif maddesi olup deterjan özelliği gösterir. Tween 80 de non-iyoniktir ve gıda sektöründe özellikle dondurmada aktif olarak kullanılmaktadır. Polisorbat sınıfında olan Tween 60 ve Tween 80, emülgatör görevi görüp emülsiyon stabilizasyonunda etkindirler. Kozmetik sektöründe esansiyel yağları su-bazlı ürünlere çözündürmekte kullanılmaktadırlar.

Çalışmalar sırasında enzimler ve elenmiş tohumlar buzdolabında saklanmıştır. Enzim aktivitelerinin bozulmaması için enzimler tüplere inkübasyondan hemen önce eklenmiştir. Kullanılan kimyasallar Merck Chemical Co. tarafından temin edilmiş olup bu reaktifler en yüksek saflık değerindedir ve analitik kullanım amaçlıdır. Tuz olarak iyotlu sofrata tuzu (NaCl) ve ayrıca tüm deneylerde distile su kullanılmıştır.

## **3.2 Yöntemler**

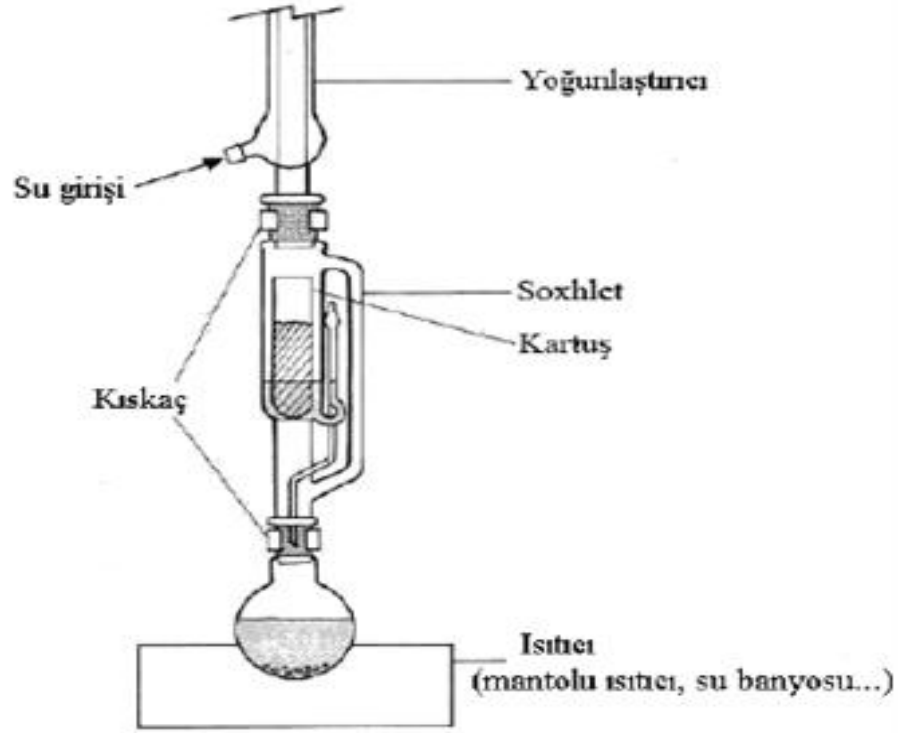
### **3.2.1 Kabak çekirdeği tohumlarının öğütülmesi ve karakterizasyonu**

Tohumlara homojenizasyon, ultrasonikasyon, ekstrüzyon, rendeleme, sıcak su banyosunda inkübasyon (hidrotermal ön işlem) ve 105°C’de fırında kurutma gibi ön işlemler uygulanmamıştır.

Tohumlar kahve değirmeninde öğütüldükten sonra eleklerden geçirilmiş ve tane boyutu 0,6-1,0 mm olan fraksiyonlar deneylerde kullanılmıştır. Kabak çekirdeği tohumlarının yağ içerikleri AOCS standartlarına göre belirlenmiştir [74].

Tohum fraksiyonlarının yağ içeriklerinin saptanmasında kullanılan Soxhlet düzeneği Şekil 3.1’deki gibidir. Tane boyutu 0,6-1,0 mm olan fraksiyonlarda Soxhlet düzeneği ile yağ içeriğine bakılmış ve deneylerde bu boyutlardaki tohumlarla çalışılmıştır. Yapılan tüm deneyler paralel olarak yürütülmüş olup ikişer kez tekrarlanmıştır. Bulunan yağ verim değerleri iki sonucun ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Değerleri yakın çıkmayan paralel deneyler bir daha tekrarlanmıştır. Deneylerde ölçü birimleri, ölçülen her bir maddenin bulunduğu fiziksel hale göre belirlenmiştir. Konsantrasyonu % olarak belirtilen madde eğer katı haldeyse ağırlıkça ‘gram’, sıvı haldeyse hacimce ‘ml’ cinsinden ölçülür.

Tohumun yağ içeriğinin belirlenmesi için 18 gr öğütülmüş tohum Soxhlet cihazının ekstraktör bölümüne kartuş içinde yerleştirilmiş ve ilk sifon zamanından sonra 6 saat



**Şekil 3.1** : Soxhlet düzeneği [75].

boyunca hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon bittikten sonra içinde yağ bulunan hekzan çözeltisi darası belli balona alınmış ve hekzan döner buharlaştırıcıda (Laborata 4000-efficient Heidolph, USA) 95°C’de uçurulmuştur. İşlem sonucunda balon tekrar tartılmış ve aradaki ölçüm farkından, elde edilen yağ miktarı üzerinden tohumun yağ içeriği hesaplanmıştır.

### **3.2.2 Kabak çekirdeği yağının yağ asitleri bileşimlerinin belirlenmesi**

Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen kabak çekirdeği yağının yağ asidi bileşimlerini saptayabilmek için yağ asitleri öncelikle  $BF_3$  ile metanollü ortamda ısıl işlem ile metil esterleri haline dönüştürülmüştür. Daha sonra bu metil esterlerinin yağ asidi bileşimi Hewlett-Packard 5890 II (Hewlett-Packard, Waldron/Almanya) gaz kromatografî cihazı ile belirlenmiştir. Uygulanan kromatografîk analiz koşulları Çizelge 3.1’ de verilmiştir.

0,8  $\mu$ L hacmindeki numune enjektör iğnesiyle dağıtma oranı 1:88 olan ayırma modunda enjekte edilmiştir. Kromatogramda oluşan yağ pikleri, piklerin alıkonma zamanları ve aynı koşullarda analiz edilen standart metil esterlerinin alıkonma zamanlarının karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir.

**Çizelge 3.1 : Gaz kromatografisi analiz koşulları.**

Dedektör tipi	FID <sup>(1)</sup>
Dedektör sıcaklığı, °C	280
İnjeksiyon sıcaklığı, °C	250
Gaz hızları (mL/dak)	
Azot	1,6
Hidrojen	33
Hava	460
Dağıtma oranı	88:1
Fırın sıcaklığı	
	150°C (5 dk)
	150-275°C (5°C/dk )
	275°C (10 dak)
Kolon tipi	Kapiler kolon HP-INNOWAX <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Alev iyonizasyon dedektörü

<sup>(2)</sup> 30 m x 0,32 mm, 0,5µm film kalınlığında polietilen glikol (PEG)

### **3.2.3 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve ekstraksiyon veriminin hesaplanması**

Bu araştırmada, yüksek miktarda linoleik ve oleik asit içeren kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesinde pH, süre ve enzim miktarının yağ verimine etkisi incelenmiştir. Ekstraksiyon deneylerinde kullanılan çalışma prosedürü Moreu ve arkadaşlarının uyguladıkları yöntemin modifiye edilmiş halidir [76].

Deneylerde 4 gr kabak çekirdeği tohumu, 50 mL'lik polikarbonat falkon santrifüj tüplerine konulmuştur. Tüplere tohum:tampon çözelti oranı 1:7 (ağ/hac) olacak şekilde (yaklaşık 30 mL) istenilen pH değerindeki fosfat tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Her bir tüpe daha sonra belli miktarda proteaz enzimi eklenmiş ve tüpler



çalkalayıcı su banyosuna beher içinde yerleştirilmiştir. Tüplerin 50°C’de, 200 rpm hızında, belirlenen süre boyunca çalkalanarak inkübasyonu sağlanmıştır.

Çalkalama işlemi bittikten sonra tüpler 90°C’de sıcak su banyosunda 15 dk bekletilerek enzimler inaktif hale getirilmiştir. Sonra tüpler santrifüj cihazına (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) dengeli şekilde yerleştirilmiş ve 4000 rpm’de 1 saat boyunca santrifüj edilmiştir.

Santrifüjlenen karışımlarda 4 faz gözlenmiştir. Fazlar yukarıdan aşağı sıralandığında; en üstte serbest yağ fazı, altında kremamsı yağ-su emülsiyon fazı, ardından berrak olmayan sulu faz ve en dipte ise küspe olarak isimlendirilen katı faz bulunmaktadır.

Enzimatik sulu ekstraksiyon denemelerinde karşılaşılan en büyük zorluk; enzimatik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan hidroliz ürünleri (protein, selüloz, hemiselüloz, pektin gibi moleküllerin hidroliz ürünleri) ile sulu ortama geçen yağ molekülleri arasında emülsiyon oluşmasıdır. Dolayısıyla yağın tamamının serbest halde yüzeyde toplanması güçleşmektedir. Oluşan emülsiyon yağ kaybına neden olmaktadır ve kırılması kolay değildir. Bu nedenle bu çalışmada yağ verimi aşağıda açıklanan yöntemle göre belirlenmiştir.

**Çözücü vasıtasıyla sıvı fazlardan geri kazanılan yağ üzerinden yağ veriminin (V<sub>S</sub>) hesaplanması:** Bu metotta çözücü kullanımı sadece tayin amaçlıdır ve yağ kaybı ile verimin düşmemesi içindir. Santrifüj tüpündeki katı kısım hariç diğer 3 faz, içerisinde çözücü (50 mL hekzan) bulunan 1. ayırma hunisine aktarılır. Tüpte yağ kalmasını önlemek amacıyla 10 mL hekzan ile tüpte yıkama yapılır ve yıkama çözeltisi de 1. ayırma hunisine eklenir. Bir miktar çalkalandıktan sonra fazların ayrılması beklenir. Oluşan fazlar altta sulu faz ve üstte hekzan fazıdır. Sulu faz 1. ayırma hunisinden beher aracılığıyla alınarak içerisinde 50 mL hekzan bulunan 2. ayırma hunisine aktarılır. Karışım iyice çalkalanır, fazların ayrılması beklenir. Alttaki sıvı faz behere alınır, üstteki hekzan fazı tekrar 1. ayırma hunisine aktarılır. 2. ayırma hunisine tekrar hekzan ekleyerek sulu fazın hekzan ile ekstraksiyonu aynı şekilde 2-3 defa daha tekrarlanır. 1. ayırma hunisinde toplanan hekzan fazları yaklaşık 100 mL distile su ile yıkanır; alta inen su fazı ayırma hunisinden ayrı bir behere alındıktan sonra kalan hekzan fazına sodyum sülfat tuzu (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) eklenerek sabunsu yapılar katılaştırılır. Daha sonra bu hekzan fazı darası belli balona alınır. Balon döner buharlaştırıcıya yerleştirilir. Hekzanın buharlaştırılma işlemi atmosfere

açık olarak 90-95°C’de yapılır. Balon içerisinde kalan az miktarda hekzanı uçurmak için sistem atmosfere kapatılarak vakum uygulanır. İşlemler sonunda balonda kalan yağ miktarı tartılarak aşağıdaki formülle  $V_s$  verimi hesaplanır.

$$V_s (\%) = (Y_s/Y_b) \times 100 \quad (3.1)$$

$Y_s$  = Sıvı fazlardan çözücü ile geri kazanılan yağ miktarı, gram;

$Y_b$  = Kullanılan tohumların içerdiği başlangıç yağ miktarı, gram.

### **3.2.4 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine yüzey aktif madde katkısının etkisi**

Solvent ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan hekzan; toksisitesi güçlü, çevre kirliliği yaratan, patlama tehlikesi olan güvenli olmayan bir çözücüdür. Enzimatik sulu ekstraksiyon yönteminde gerekli olan enzimlerin de maliyetli olması ve zor bulunabilmesinden dolayı yağ eldesinde alternatif bir yöntem ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Geliştirilen yöntemlerden biri de yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon yöntemidir. Bu proseste, farklı konsantrasyonlarda yüzey aktif madde ve tuz içeren sulu çözeltiler ile ekstraksiyonlar yürütülmektedir.

Çalışmanın bu bölümünde, Labsa 101, Triton X-100, Tween 60, Tween 80, Stepantex DC90 ve Texapon N 70 yüzey aktif maddeleri ile sulu ekstraksiyon denemeleri yapılmıştır. Enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde en yüksek yağ veriminin gerçekleştirildiği çalışma koşulları esas alınarak iki seri ekstraksiyon daha yapılmıştır. Birinci seride deneyler çeşitli oranlarda yüzey aktif madde ve tuz içeren sulu çözeltiler ile yürütülmüştür. Yüzey aktif madde ve tuz yüzdesinin verime olan etkileri değerlendirilmiştir. İkinci seri ekstraksiyonda ise ayrı ayrı su ve belirlenen pH’teki tampon çözeltisi varlığında enzim ve yüzey aktif maddenin birlikte kullanımı denenmiştir. Her iki ekstraksiyon sonucunun birbirleri üzerine olan etkileri de incelenmiştir.

Yüzey aktif madde eklenerek yapılan sulu ekstraksiyon denemelerinde Bölüm 3.2.3’te açıklanan çalışma prosedürüne ve verim hesaplama eşitliklerine aynen uyulmuştur.

### **3.2.5 Kabak çekirdeği tohumlarından sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine tohum miktarı artırımının etkisi**

Çalışmanın son aşamasında ağırlık olarak 3 katı miktarda (12 gr) tohum kullanarak falkon tüpler yerine balonlarda denemeler yapılmış, tohum miktarı artırımının yağ verimine etkileri incelenmiştir.

Tohum miktarının artırıldığı çalışmada 3 ayrı yöntem uygulanmıştır. Önceki denemelerde verimin yüksek olduğu gözlemlenen bir kombinasyon sečilip, daha yüksek tohum miktarı kullanılarak yađ verimine etkisi test edilmiştir. Birinci yöntem olan doğrudan pipetle çekmede, tohumlar belirlenen koşulda balon iğerisinde inkübe edildikten sonra falkon tüplere ayrılarak santrifüj edilir. Boř beher ve iğerinde boř Pasteur pipetin darası alınır. Her bir falkon tüpün yüzeyinde biriken yağlı tabaka Pasteur pipet aracılığıyla doğrudan çekilerek behere aktarılır; pipette yađ kalma ihtimaline karşın beher ve iğerindeki pipet birlikte tartılır. Darası çıkarılıp yađ verimi hesaplanır.

İkinci metot olan dekantasyonda, tohumlar aynı şekilde balonda inkübe edildikten sonra yine falkonlara ayrılıp santrifüj edilir. Darası alınmış bir behere falkonların yüzeyindeki yağlar doğrudan dekante edilerek dökülür. Darası çıkarılıp beherde kalan yağ miktarı ölçülerek verim hesaplanır.

Üçüncü işlem olan hekzanla ekstraksiyonda, yine tohumlar balona konularak aynı koşullarda inkübasyonu sağlanır ve santrifüj edilir. Devamında Bölüm 3.2.3'te açıklanan sulu ekstraksiyon prosedürü uygulanır. Prosedürden tek farkı, ekstraksiyon aşamasında tüm falkonlardaki sıvı fazların tek bir ayırma hunisinde toplanmasıdır. Başlangıç hekzan miktarı tohum miktarıyla orantılı olarak artırılarak ekstraksiyon işlemi uygulanır. Darası alınmış balondaki hekzan uğerularak balonda kalan bakiye yağ üzerinden verim belirlenir.



## **4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA**

### **4.1 Kabak Çekirdeği Tohumlarının ve Yağının Karakterizasyonu**

0,6-1,0 mm tane büyüklüğündeki öğütülmüş kabuksuz kabak çekirdeği tohumlarının yağ içeriği, Soxhlet ekstraktörü kullanılarak standart çalışma yöntemine göre %44,1 olarak belirlenmiştir. Bu değer literatürde kabak çekirdeği tohumlarıyla yapılan çalışmalarda verilen değerler ile uyum göstermektedir. Tohumların içerdiği yağ miktarı ve diğer özellikler kabak çekirdeği türü, iklim koşulları, çekirdeklerin hasat zamanı ve ekstraksiyon koşulları gibi etkenlere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir.

### **4.2 Kabak Çekirdeği Tohumu Yağının Yağ Asitleri Bileşimi**

Deneylerde kullanılan kabak çekirdeği tohumlarının yağ asidi bileşimleri Bölüm 3.2'de anlatılan yöntemle göre gaz kromatografi cihazı kullanımıyla bulunmuştur. Çizelge 4.1'de kabak çekirdeğinden elde edilen yağın yağ asidi bileşenleri gösterilmektedir. Sonuçlara bakıldığında, kullanılan kabak çekirdeği yağı doymamış yağ asitlerinden olan linoleik asitçe zengindir ve bileşimin %46'sını kapsar. Fazla miktarda bulunan diğer yağ asidi ise yaklaşık %34 içeriğiyle oleik asittir. Bu iki doymamış yağ asidi, yağ asitleri bileşenlerinin %80'ini kapsamaktadırlar. Ayrıca doymuş yağ asitlerinden palmitik asit ve stearik asit de kabak çekirdeği yağında diğer baskın ve önemli yağ asitleridir.

**Çizelge 4.1 : Kabak çekirdeği tohumu yağının yağ asitleri bileşimi.**

Yağ Asitleri	Yağ Asitleri Bileşimi (%)
Miristik asit (C14:0)	%0,12
Palmitik asit (C16:0)	%12,9
Palmitoleik asit (C16:1)	%0,32
Stearik asit (C18:0)	%5,1
Oleik asit (C18:1)	%33,8
Linoleik asit (C18:2)	%46,03
Linolenik asit (C18:3)	%0,54
Araşidik asit (C20:0)	%0,78
Gadoleik asit (C20:1)	%0,06
Behenik asit (C22:0)	%0,35

### **4.3 Kabak Çekirdeği Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde Yağ Verimine Ekstraksiyon Parametrelerinin Etkisi**

Bu çalışmanın ilk bölümünde, proteaz enzimi katkılı sulu ekstraksiyon yöntemi ile kabak çekirdeği tohumlarından yağ eldesi üzerine çalışılmıştır. Yağ ekstraksiyon verimine pH, enzim miktarı ve inkübasyon süresi değişkenlerinin etkileri incelenmiştir. İkinci bölümde ise ekstraksiyon ortamına katılan tuz ve yüzey aktif maddenin yağ verimine olan etkileri araştırılmıştır.

Literatürde benzer çalışmalarda inkübasyon sıcaklığı saptanmasında 30, 40, 50 ve 60°C’de deneyler yapılmıştır. Yapılan bu deneylerde en yüksek yağ verimi 50°C civarındaki inkübasyon sıcaklığında elde edilmiştir. Daha yüksek sıcaklıklarda (60°C) yağ veriminde azalma görülmüştür. Jovanovic ve arkadaşları [77] ile Sharma ve arkadaşları [78] bu durumun enzimlerin sıcaklık artınca inaktive olmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Aynı şekilde Moreau ve arkadaşları da

çalışmalarında birçok ticari enzim için 50°C'nin optimum çalışma sıcaklığı olduğunu, ayrıca 1:7 tohum:tampon çözeltisi oranının ekstraksiyon deneyleri için uygun bir çalışma koşulu olduğunu bildirmişlerdir [75].

Ekstraksiyon deneylerinde, 1:7 (ağ/hac) tohum:tampon çözelti oranında çalışılmış, enzimatik ekstraksiyon çalışmaları proteaz enzimi için optimum koşulları belirlemek amacıyla 50°C'de, 6-24 saat inkübasyon süresinde, pH 5-8 aralıklarındaki tampon çözeltisi ile ve gram tohum başına 0,25-1,0 mL enzim miktarı kullanılarak yürütülmüştür.

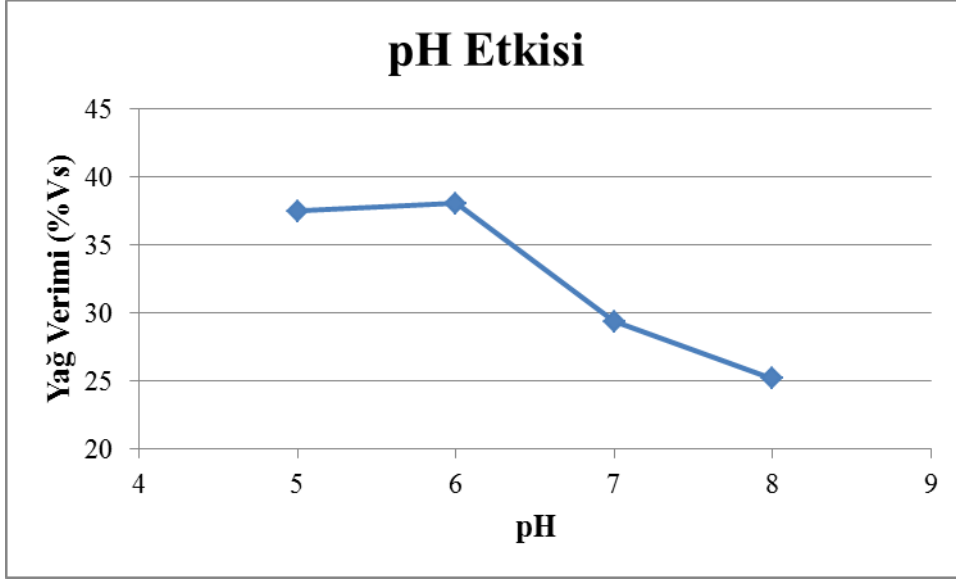
#### **4.3.1 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde pH aralığının yağ verimine etkisi**

Deneyleerde ilk olarak proteaz enziminin aktivite gösterdiği optimum pH değerini belirlemek amaçlanmıştır. Bu amaçla pH 5-8 değerlerinde, 0,5 mL/g tohum enzim miktarında, 6 saat süreli ekstraksiyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.2'de ekstraksiyon verim değerlerinin pH ile değişimi gösterilmektedir.

**Çizelge 4.2** : Kabak çekirdeği tohumlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi (50°C, 6 saat inkübasyon süresi, 0,50 mL enzim/g tohum).

<b>Tampon çözeltisi pH değeri</b>	<b>Yağ verimi (%Vs)</b>
5	37,5
6	38,1
7	29,4
8	25,2

Çizelge 4.2'de verilen verilere göre, pH 5-8 aralığında yağ verimi %25,2-38,1 arasında değişmektedir. Farklı pH aralıklarının yağ verimine etkileri arasında birtakım farklılıklar görülmektedir. Şekil 4.1'de proteaz enzimi ile 6 saat süren ekstraksiyon sürecinde meydana gelen yağ verimlerinin pH ile değişimi daha net olarak görülmektedir.



**Şekil 4.1** : Kabak çekirdeği tohumunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi (50°C, 6 saat, 0,50 mL enzim/g tohum).

Görüldüğü üzere, pH 5 ve pH 6'daki verim değerleri birbirine çok yakındır. pH 5'te verim %37,5 iken pH 6'da %38,1'dir. Fakat pH 7'de hızlı bir düşüş gözlenmiştir. Bundan sonraki aşamada enzim miktarının ekstraksiyon verimine olan etkisi incelenirken hem pH 5'te hem de pH 6'da deneme yapılmasına karar verilmiştir.

#### **4.3.2 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde enzim miktarının yağ verimine etkisi**

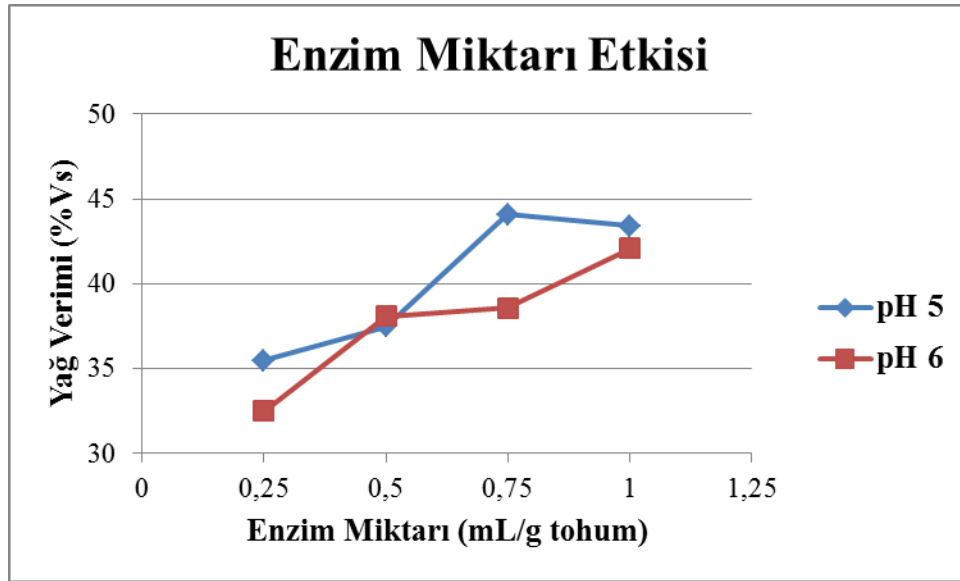
Çalışmanın bu kısmında proteaz enziminin aktivite gösterdiği optimum enzim miktarını belirlemek hedeflenmiştir. pH 5 ve pH 6 verim değerleri 0,5 mL/g tohum enzim miktarında birbirine yakın çıktığı için, ekstraksiyon verimlerinin enzim miktarı ile değişimi her iki pH değeri için de incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir. Şekil 4.2'de ise pH 5 ve pH 6'da yağ veriminin enzim miktarı ile değişim grafiği gösterilmiştir.

Şekil 4.2'ye bakıldığında, gram tohum başına enzim miktarı 0,25 mL değerinden 0,50 mL değerine yükseldiğinde her iki pH ortamında verim değerinin arttığı, 0,75 mL değerine kadar da artmaya devam ettiği görülmüştür. 0,50 mL'de iki pH da çok yakın değerlere ulaşmış olsa da, miktar arttıkça elde edilen değerler pH 5'te daha yüksek görünmektedir. 0,75 mL'den 1,0 mL'ye yükseldiğinde ise pH 5'te düşüş görülüp pH 6'da yükselme olmasına rağmen pH 5'teki değer hala daha yüksektir. pH 5'te en yüksek ekstraksiyon verimi 0,75 mL/g tohum enzim miktarı ile %44,1 iken



**Çizelge 4.3** : Kabak çekirdeği tohumlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarının etkisi (50°C, 6 saat inkübasyon süresi).

Enzim miktarı (mL/g tohum)	Yağ Verimi (%Vs)	
	pH 5	pH 6
0,25	35,5	32,5
0,50	37,5	38,1
0,75	44,1	38,6
1,00	43,4	42,1



**Şekil 4.2** : Kabak çekirdeği tohumunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarının etkisi (50°C, 6 saat).

pH 6'da en yüksek verim 1,0 mL/g tohum enzim miktarında %42,1 olarak ölçülmüştür. Bu verilerden pH 5'te daha iyi sonuçlar alınabileceği anlaşılmıştır. Bundan sonra süre artışıyla enzim aktivitesini daha uzun süre sağlayıp yağ salınımını artırarak daha yüksek verim elde edilebileceği düşüncesiyle, daha uzun sürelerde ekstraksiyon yapılmasına karar verilmiştir.

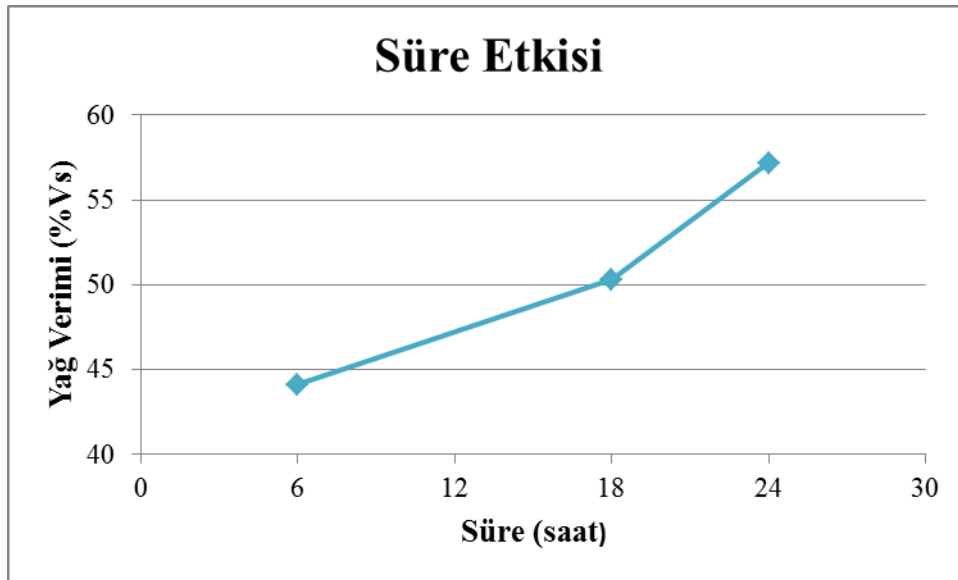
### 4.3.3 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde süre artışının yağ verimine etkisi

Deneylerin bu aşamasında proteaz enzimi ile pH 5'te, 0,75 mL/g tohum enzim miktarında, 6, 18, 24 saatlik sürelerde ekstraksiyonlar yürütülmüştür. Ekstraksiyonda yağ veriminde süre faktörü ile elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te verilmiştir.

**Çizelge 4.4 :** Kabak çekirdeği tohumlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine sürenin etkisi (50°C, pH 5, 0,75 mL enzim/g tohum).

Süre (saat)	Yağ Verimi (%Vs)
6	44,1
18	50,3
24	57,2

pH 5 ortamında çalışıldığında, süre arttıkça ekstraksiyon veriminin de arttığı gözlemlenmiştir. 0,75 mL/g tohum enzim miktarında 18 saat sonunda %50,3 verim elde edilirken, sürenin 24 saate uzatılması ile verim %57,2 değerine ulaşmıştır. Süre ile beraber verim artışı Şekil 4.3'te daha iyi anlaşılmaktadır.



**Şekil 4.3 :** Kabak çekirdeği tohumunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi (50°C, pH 5, 0,75 mL/g tohum enzim miktarı).

Sonuç olarak, proteaz enzimi ile pH 5'te, 0,75 mL/g tohum enzim miktarı ile 24 saatlik bir ekstraksiyon sonucunda %57,2 verim ile yağ elde edilebilmiştir.

#### **4.3.4 Kabak çekirdeği tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde yüzey aktif madde ve tuz katkısının yağ verimine etkisi**

Çalışmanın ikinci kısmında, ekstraksiyon ortamına yüzey aktif madde ve tuz eklenmesinin ekstraksiyon verimi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Enzimatik sulu ekstraksiyon deneylerinde ulaşılan optimum koşullar yüzey aktif madde kullanımında da uygulanmıştır. Enzimatik ekstraksiyonda olduğu gibi, santrifüj aşamasını takiben sulu fazlar hekzan ile ekstrakte edilmiş ve %Vs yağ verimleri hesaplanmıştır.

Yüzey aktif maddeler olarak Labsa 101, Tween 60, Tween 80, Triton X-100, Stepantex DC90 ve Texapon N 70 kullanılmıştır. İlk kısımda, kullanılan yüzey aktif madde konsantrasyonu hacimce %1 ve tuz konsantrasyonu ağırlıkça %5 olarak alınarak enzimsiz, sulu ortamda ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. Sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmektedir.

**Çizelge 4.5 :** Kabak çekirdeği tohumlarının tuz ve çeşitli yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonunda, yağ verimlerinin değişimi (50°C, 24 saat, %1 yüzey aktif madde, %5 NaCl).

<b>Ekstraksiyon Ortamı</b>	<b>Yağ Verimi (%Vs)</b>
Triton X-100 + NaCl	41,2
Labsa 101 + NaCl	40,1
Tween 80 + NaCl	38,2
Tween 60 + NaCl	36,3
Stepantex DC90 + NaCl	33,6
Texapon N 70 + NaCl	24,8

Sonuçlara bakıldığında, en yüksek verim Triton X-100 ile %41,2 olarak belirlenmiştir. Bu değeri, Labsa 101 %40,1 ve Tween 80 %38,2 yağ verimi ile takip etmektedir. Değerler birbirlerine çok yakın olduğu için, tuz konsantrasyonunun

belirlendiği işlemde 3 yzey aktif madde birlikte test edilmiştir. Bu amaçla Triton X-100, Labsa 101 ve Tween 80 konsantrasyonları %1 olarak sabit tutularak tuz konsantrasyonu artırılmıştır. Elde edilen değerler izelge 4.6’da verilmektedir.

**Çizelge 4.6 :** Kabak ekirdeği tohumlarının yzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonunda, tuz konsantrasyonunun artışıyla yağ verimlerinin değişimi (50°C, 24 saat, %1 yzey aktif madde).

Ekstraksiyon Ortamı	NaCl Konsantrasyonu (%)	Yağ Verimi (%Vs)
<b>Tween 80</b>	10	46,2
	15	48,7
	20	49,8
<b>Labsa 101</b>	10	43,1
	15	39,2
	20	40,2
<b>Triton X-100</b>	10	45,4
	15	56,5
	20	54,7

Görüldüğü gibi, tuz konsantrasyonundaki artış Tween 80 içeren ortamdaki yağ veriminde önemli bir değişim yaratmamıştır; yağ verimi %46,2 ile %49,8 arasında değişmektedir. Ulaşılan en yüksek verim %49,8’dir. Labsa 101’de %10 tuz miktarından itibaren artan tuz konsantrasyonuyla düşüşler gözlenmiştir. En yüksek yağ verimine %10 NaCl konsantrasyonunda %43,1 ile ulaşılmıştır. Triton X-100’e bakıldığında ise, tuz arttırıldığça verimde önemli bir artış gözlenmiştir. %15 NaCl katkısı ile elde edilen %56,5 sulu ekstraksiyon verimi, neredeyse proteaz katkısı ile elde edilen verim olan %57,2’ye yaklaşmıştır. Böylece deneylere Triton X-100 yzey aktif maddesi ile devam edilmesine karar verilmiştir.

Yzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonda optimum koşullar belirlenirken son olarak tuz konsantrasyonu sabit tutularak farklı konsantrasyonlarda Triton X-100

miktarlarının yağ verimine etkisi incelenmiştir. Ulaşılan verimler Çizelge 4.7’de belirtilmektedir.

**Çizelge 4.7 :** Kabak çekirdeği tohumlarının yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyonunda, Triton X-100 konsantrasyonu ile yağ verimlerinin değişimi (50°C, 24 saat, %15 NaCl).

<b>Triton X-100 Konsantrasyonu (%)</b>	<b>Yağ Verimi (%Vs)</b>
0,5	54,1
1,0	56,5
1,5	43,5
2,0	38,6

Sonuçlar incelendiğinde, %1 Triton X-100 ile %56,5 verim elde ederek maksimum değere ulaşılmış ve yüzey aktif madde miktarının artışıyla yağ veriminde hızlı bir düşüş gözlenmiştir. Yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon deneylerinde sonuç olarak, %15 NaCl kullanarak %1 Triton X-100 miktarında 24 saatte %56,5 verime ulaşılmıştır. Deneylerin devamında, enzim ve yüzey aktif maddenin birlikte kullanımının yağ verimine etkisini ölçmek amacıyla %15 NaCl konsantrasyonu, %1 Triton X-100, 0,75 mL/g tohum proteaz miktarları baz alınarak, enzimli ve enzimsiz olarak, ayrı ayrı pH 5 tampon çözeltisi ve distile su varlığında 24 saatlik ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. Sonuçlar Çizelge 4.8’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.8’deki sonuçlara göre; distile su içeren ekstraksiyon ortamında, tuz olmadan sadece Triton X-100 kullanıldığında verimin %29,3 ile çok düşük olduğu görülmüştür. Yüzey aktif maddelerin tuz varlığında daha iyi çalıştığı düşünülünce bu beklenen bir sonuçtur. Çünkü ortamdaki tuz miktarının azalması ile yüklü baş grupları arasındaki itmenin ve dolayısıyla misel oluşturmak için gerekli enerjinin artması yüzey geriliminde artmaya neden olmaktadır. Proteaz+tuz kombinasyonunun yağ verimi ile sadece proteaz kullanılarak elde edilen yağ verimi kıyaslandığında önemli bir fark görülmemiştir. Triton X-100’ün NaCl veya proteaz ile kullanımı sırasıyla %56,5 ve %56,8 değerleri ile neredeyse aynı verime ulaştırmıştır. Distile su ortamındaki en yüksek değere ise, Triton X-100 - NaCl ortamına proteaz ilavesi ile erişilerek verim %56,5’ten %61,4’e yükselmiştir.

**Çizelge 4.8 :** Kabak çekirdeği tohumlarının enzim, tuz ve yüzey aktif madde karışımları ile sulu ekstraksiyonunda, dH<sub>2</sub>O ve pH 5 tampon çözeltisi ortamında yağ verimlerinin değişimi (50°C, 24 saat, pH 5, 0,75 mL proteaz/g tohum, %1 Triton X-100, %15 NaCl).

Ekstraksiyon Ortamı	Yağ Verimi (%Vs)	
	dH <sub>2</sub> O	pH 5
Proteaz	53,7	57,2
Proteaz + NaCl	51,2	52,4
Triton X-100	29,3	43,6
Triton X-100 + NaCl	56,5	58,7
Triton X-100 + Proteaz	56,8	56,1
Triton X-100 + Proteaz + NaCl	61,4	60,2

pH 5 tampon çözeltisi içeren ekstraksiyon ortamında, tuz olmaksızın sadece Triton X-100 kullanımında %43,6'lık bir verime ulaşılmıştır. Bu değer su ile ulaşılan verimden (%29,3) fazla olmasının sebebi içeriğindeki fosfat çözeltileridir. Proteaz enzimi tuz ile kullanıldığında tıpkı su ortamında olduğu gibi yağ veriminde düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlardan, ortamda tuz olunca proteaz aktivitesinde düşüş gözlemlendiği söylenebilir. pH 5 ortamında Triton X-100 ile NaCl beraber kullanıldığında %58,7'lik verime ulaşılmıştır. Bu değer hem distile su ortamındaki Triton X-100 ve NaCl kullanılarak elde edilen verimden (%56,5) daha yüksek, hem de enzimatik sulu ekstraksiyon ile pH 5 ortamında proteaz enzimi kullanımıyla elde edilen verimden (%57,2) daha yüksektir. Böylece sadece tuz ve yüzey aktif madde katkılarıyla enzimatik sulu ekstraksiyon deneylerinden daha yüksek verime ulaşılabileceği gösterilmiştir. pH 5 tampon çözeltisi ortamındaki en yüksek değere ise, Triton X-100 - NaCl ortamına proteaz ilavesi ile ulaşılarak verim %58,7'den %60,2'ye yükselmiştir.

Sonuç olarak, en yüksek sonuçlar distile su ortamında Triton X-100, tuz ve proteaz enziminin birlikte kullanımı ile %61,4 yağ verimine ulaşılarak elde edilmiştir. pH 5 fosfat tampon çözeltisi varlığında da aynı kombinasyon ile yakın değerlere

ulaşmıştır (%60,2). Böylece yüzey aktif madde ve enzim aynı zamanda kullanıldığında en yüksek verimlere ulaşıldığı görülmüştür.

#### **4.4 Kabak Çekirdeği Tohumlarından Sulu Ekstraksiyon ile Yağ Eldesinde Yağ Verimine Tohum Miktarı Artırımının Etkisi**

Çalışmanın son kısmında, yağ verimine etkisini belirlemek amacıyla tohum miktarının artırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Böylece gelecekte pilot tesis öncesi çalışma önerileri geliştirilmesine katkıda bulunmuş olunacaktır. Yağ ekstraksiyonu uygulamak için, önceki çalışmalarda hem yüksek verim elde edilen (%58,7), hem de yüksek maliyete sahip enzimlerin kullanılmadığı pH 5 çözeltisi - %15 NaCl - %1 Triton X-100 kombinasyonu seçilerek yağ verimleri incelenmiştir. Doğrudan pipetle çekme, dekantasyon ve hekzanla ekstraksiyon yöntemleri ile belirlenen yağ verimleri Çizelge 4.9'da gösterilmektedir.

**Çizelge 4.9** : Kabak çekirdeği tohumlarından tohum miktarı artırımı ile yağ ekstraksiyonunda, farklı yöntemlerin yağ verimine etkisi.

<b>Uygulanan Yöntem</b>	<b>Yağ Verimi (%Vs)</b>
Doğrudan pipetle çekme	41,3
Dekantasyon	24,5
Hekzanla ekstraksiyon	60,4

Sonuçlara bakıldığında, pipetle çekme ve dekantasyon metotlarında pek iyi verimler alınamamıştır. Doğrudan pipetle çekmede verimin düşük olması normaldir; çünkü hem falkonun yüzeyinde hala birtakım yağlar kalmakta, hem de Pasteur pipetin içine sadece yağ değil bir miktar sıvı faz da karışabilmektedir. Dekantasyon yönteminde de verim düşük olabilmektedir; sıvı fazda hala alınamayan yağlar kalabilmektedir. En tutarlı sonuçlara hekzanla ekstraksiyon ile ulaşılmış olup, verimin %58,7'den %60,4'e çıktığı gözlenmiştir. Verimdeki yükseliş henüz az olarak görünse de, daha büyük miktarlarda çalışılırsa kayıplar daha az olabilir, daha yüksek verimler elde edilebilir. Böylelikle tohum miktarının artırılması ile potansiyel bir durumun söz konusu olabileceği ve kabak çekirdeğinden enzim kullanmaksızın sadece tuz ve yüzey aktif madde katkısı ile sulu ekstraksiyon yapılarak yüksek verimde yağ elde edilebileceği düşünülmektedir.





## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı; insan sağlığı için faydalı yağ asidi bileşimine sahip kabak çekirdeğinden yağ ekstraksiyonudur. Çevre dostu, ekonomik, insan sağlığına zarar vermeyen bir yöntem kullanarak yüksek verimde kaliteli yağ elde etmek amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, kabak çekirdeği tohumlarından enzim, tuz-yüzey aktif madde ve tuz-enzim-yüzey aktif madde katkıları ile sulu ekstraksiyon yöntemi uygulanarak yağ çıkarılmıştır. Enzimatik sulu ekstraksiyonda, yağ ekstraksiyon verimine pH, enzim miktarı ve süre parametrelerinin etkileri incelenmiş, en yüksek verimle yağ eldesi koşulları belirlenmiştir. Daha sonra tohum miktarı artırılıp birtakım çalışmalar denenerek yağ verimine etkisi incelenmiştir.

Deneyleerin ilk bölümünde, enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemiyle proteaz enzimi kullanımının yağ verimine etkisi incelenmiştir. Ulaşılan optimum pH, enzim miktarı ve süre sırasıyla 5, 0,75 mL/gr tohum ve 24 saat olarak belirlenmiştir. Bu şartlar altında elde edilen verim %57,2'dir.

Çalışmanın devamında, sulu ekstraksiyon ortamına Labsa 101, Tween 60, Tween 80, Triton X-100, Stepantex DC90 ve Texapon N 70 yüzey aktif maddeleri eklenerek yağ verimindeki etkileri araştırılmıştır. Ağırlıkça %5 NaCl ve hacimce %1 yüzey aktif madde içeren sulu çözeltiler ile yapılan ekstraksiyonlar sonucunda en yüksek verim Triton X-100 ile elde edilmiştir. Daha sonra ekstraksiyon verimine farklı konsantrasyonlardaki Triton X-100 ve tuz miktarlarının etkileri test edilmiştir. Triton X-100 ilavesi %0,5-2 oranında ve NaCl katkısı da %5-20 arasında uygulanmıştır. dH<sub>2</sub>O, %15 NaCl tuzu ve %1 Triton X-100 katkılı ekstraksiyon çözeltisi ile %56,5 verim elde edilmiştir.

Enzimatik sulu ekstraksiyon ve yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon deneylelerinde ulaşılan optimum koşullarda, enzim ve tuz-yüzey aktif maddenin birlikte kullanımını ayrı ayrı hem distile su hem de pH 5 tampon çözeltisi varlığında yürütülmüştür. En yüksek verime %61,4 ile dH<sub>2</sub>O, %15 NaCl, %1 Triton X-100, 0,75 mL/g tohum proteaz enzim kombinasyonu ile ulaşılmıştır. Aynı kombinasyonun pH 5 tampon çözeltisi ile yağ verimi de %60,2 ile yaklaşık bir değerdedir.

Elde edilen sonuçlar, enzim kullanmaksızın sadece tuz-yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon ile de enzimatik ekstraksiyon ile ulaşılan verime ulaşılabileceğini göstermektedir. Hatta % 15 NaCl - % 1 Triton X-100'ün distile su yerine pH 5 tampon çözeltisi ile beraber kullanımı enzimatik ekstraksiyondan daha iyi sonuç vermiştir (%58,7). Enzim ile birlikte tuz-yüzey aktif madde kullanımı ise doğrudan yağ verimini artırıcı etki göstermiştir.

En son aşamada, endüstriyel olarak değerlendirme amacıyla tohum miktarının artırıldığı bir çalışma yapılmış ve yağ verimleri incelenmiştir. Yağ ekstraksiyonu için hem yağ veriminin yüksek olduğu (%58,7), hem de yüksek maliyete sahip enzimlerin kullanılmadığı pH 5 çözeltisi - %15 NaCl - %1 Triton X-100 kombinasyonu seçilerek bu çalışma koşulları uygulanmıştır. Doğrudan pipetle çekme, dekantasyon ve hekzanla ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen yağ verimleri karşılaştırılmıştır. Doğrudan pipetle çekmede verim düşüktür; çünkü hem santrifüj tüpünün yüzeyinde hala alınamayan yağlar kalmakta, hem de pipetin içine sadece yağ değil bir miktar sıvı faz da karışabilmektedir. Aynı şekilde dekantasyonda da verim düşük olabilmekte; dekantasyon işleminden sonra sıvı fazın yüzeyinde hala istenen yağlar kalabilmektedir. Bu iki metotta da deneylerde kullanılan santrifüj cihazı yetersiz kaldığından, her ne kadar balon içinde inkübasyonları sağlanmış olsa da devamında tekrar 50 mL'lik falkon tüplere bölünerek ayrı ayrı santrifüj edilmektedirler. Büyük sanayi tipi santrifüjlerde ayrı tüplere bölünmeden santrifüj edilerek kayıpların azaltılması mümkündür. Beklenildiği üzere ilk iki metot tutarlı sonuçlar vermese de, hekzanla ekstraksiyon ile bu verimin %58,7'den %60,4'e çıktığı görülmüştür. Bu noktada küçük bir verim artışı gözlenmiş olsa da, daha fazla tohum miktarıyla çalışılırsa potansiyel bir durumun söz konusu olabileceği ve kabak çekirdeğinden enzim kullanmaksızın sadece tuz ve yüzey aktif madde katkısı ile sulu ekstraksiyon yapılarak yüksek verimde yağ elde edilebileceği ön görülmektedir. Ekstraksiyon deneylerinde aslında tane boyutu küçüldükçe yağ verimi artar, fakat endüstriyel olarak değerlendirmek amaçlandığı için enerji gereksinimlerini düşürmek amacıyla belirli boyutlardaki tohumların kullanılması gerekmektedir.

İleriye yönelik çalışmalarda yağ salınımını artırmak için farklı enzimler denenerek hücre duvarını daha iyi degrade edebilecek olanlar veya enzim kokteylleri kullanılabilir. Daha ucuz ve kolay üretilen mikroorganizmalardan elde edilecek çeşitli enzimler ve enzim karışımları denenebilir. Rendeleme, ekstrüzyon, hidrotermal

işlem gibi çeşitli ön işlemler uygulanarak yağ verimi artırılabilir. Eğer ekstraksiyon sırasında emülsiyon oluşursa, yağı alabilmek için emülsiyon kırılmalıdır. Emülsiyonu ortadan kaldırmak için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Hekzanlı ekstraksiyonla ayırma, ısıtma, dondurma, asidifikasyon, sofr tuzu ekleme, sodyum sülfat filtrasyonu, buzda ultrasonik banyo emülsiyon kırma yöntemlerinden bazılarıdır. Ayrıca, yağ verimini maksimuma çıkarmak için yeni yöntemler geliştirilebilir.

Enzimatik ve yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon yöntemleri çevre, insan sağlığı ve güvenlik açısından önem arz etmektedir. Bu sayede zararlı çözücülerin kullanımı ortadan kalkmaktadır. Yağ eldesi aşamalarını kolaylaştırmak, prosesi endüstriyel açıdan daha cazip hale getirmek ve ticari potansiyelini değerlendirebilmek için pilot tesis araştırmaları yapılmalıdır. Bu çalışmada, tohum miktarını artırarak bir deneme yapılmış olup bu yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Enzim maliyeti ve düşük yağ eldesi enzimatik ekstraksiyon teknolojisini benimsemeye engel oluşturabilecek başlıca sebeplerdir. Enzim üretim süreçlerinde ilerleme oldukça maliyetinin düşmesi ve temin edilebilirliği arttıkça uygulanabilir bir teknoloji haline gelmesi beklenmektedir.

Enzim maliyetleri açısından bakıldığında yüzey aktif madde kullanımı oldukça avantajlı olabilecek konumdadır. Farklı yüzey aktif maddelerin kullanımıyla daha yüksek verimler elde edilebilir. Ancak yüzey aktif maddenin yağın kalitesine olan etkisinin ve endüstride uygulanabilirliğinin daha detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] **Lebeda, A., Widrlechner, M.P., Staub, J., Ezura, H., Zalapa, J. ve Kristkova, E.,**(2006).Cucurbits(Cucurbitaceae;*Cucumis* spp., *Cucurbita* spp., *Citrullus*spp.), Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Series, Vegetable Crops, CRC Press, **3**, Ch. 8, 271–376.
- [2] **Fokou, E., Achu, M.B., Kansci, G., Ponka, R., Fosto, M., Tchiengang, C. ve Tchouanguep, F.M.** (2009). Chemical Properties of Some *Cucurbitaceae* Oils from Cameroun, *Pakistan Journal of Nutrition*, **8**(9), 1325-1334.
- [3] **Arumuganathan, K. ve Earle, E.** (1991). Nuclear DNA content of some important plant species, *Plant Mol Biol Rep.*, **9**(3), 208-218.
- [4] **Yanmaz, R. ve Düzeltir, B.** (2003). Çekirdek kabağı yetiştiriciliği, *Ekin Dergisi Yayınları*, **26**, 22-24.
- [5] **Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ.** (2000). Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, *Ege Üniversitesi Yayınları*, İzmir.
- [6] **Yanmaz, R.** (1995). Çekirdek kabağı yetiştiriciliği, *Ziraat Mühendisleri Eğitim Seminer Notu*, 7 s.
- [7] **Bahçecilik, Kabak Yetiştiriciliği** (2009). Milli Eğitim Bakanlığı, *Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP)*, Ankara.
- [8] **Zraidi, A., Pachner, M. ve Lelley, T.** (2003). On the genetics and histology of the hull-less character of Styrian oil-pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, **26**, 57-61.
- [9] **Wolford, R. ve Banks, D.** (2008). Pumpkins and More, *University of Illinois Extension*, USA.
- [10] **Bombardelli, E., Morazzoni, P.** (1997). *Cucurbita pepo* L., *Fitoterapia*, **4**, 68.
- [11] **Düzeltir, B. Yanmaz, R.** (2004). Kabak çekirdeğinin (*Cucurbita pepo* L.) besin değeri ve sanayide kullanım olanakları, *Popüler Bilim Dergisi*, **II**(125), 19-24.
- [12] **Şeniz, V., Sivritepe, Ö., Özgür, M. ve Özer, H.** (1995). Sebzeçilik, *Anadolu Üniversitesi Yayınları*, Ünite 10, 205-209, Eskişehir.
- [13] **Toprakkarıştıran, G.** (1997). Çekirdek kabaklarında seleksiyon ıslahı: 1. döl kademesinin elde edilmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, *Yüksek Lisans Tezi*, 34 s., Ankara.
- [14] **Ağaoğlu Y.S. ve Çelik, H.** (1997). Genel Bahçe Bitkileri, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, Ankara.

- [15] **Url-1** <<http://www.izmitilcetarim.gov.tr/kabak-yetitircilii.html>>, alındığı tarih: 16.03.2014.
- [16] **Yağlık Kabak Yetiştiriciliği** (2011). T.C. Sakarya Valiliği, *İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Yayınları*, Sakarya.
- [17] **Kabak Yetiştiriciliği** (t.y). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, *Çankırı İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Yayınları*, Çankırı.
- [18] **Çekirdeklik Kabak Yetiştiriciliği** (t.y.). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, *Kırıkkale İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Yayınları*, Kırıkkale.
- [19] **Url-2** <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>>, alındığı tarih: 17.03.2014.
- [20] **Url-3** <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>, alındığı tarih: 17.03.2014.
- [21] **Url-4** <<http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>>, alındığı tarih: 17.03.2014.
- [22] **Haciseferoğulları, H. ve Sonmete, M.H.** (2010). Kabak Çekirdeği Harman Makinesinin Performansının Belirlenmesi, *Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, **24**(3), 69-74.
- [23] **Url5** <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>> alındığı tarih: 17.03.2014.
- [24] **Abak, K., Sarı, N. ve Çetiner, B.** (1997). Changes of protein, fat content and fatty acid composition in naked pumpkin seeds influenced by sowing time, *Acta Hort. (ISHS)*, **492**, 187-192.
- [25] **Jacks, T.J., Hensarling, T.P. ve Yatsu, L.Y.** (1972). Cucurbit seeds: I. Characterizations and uses of oil and proteins. A review. *Econ. Bot.*, **26**, 135-141.
- [26] **Alfawaz, M.A.** (2004). Chemical Composition and Oil Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Seed Kernels, *Food Sci. & Agric. Res. Center, King Saud Univ. Press*, **129**, 5-18.
- [27] **Lazos, E.S.** (1992). Certain functional properties of defatted pumpkin seed flour, *Plant Foods Hum. Nutr.*, **42**, 257-273.
- [28] **Teotia, M.S., Ramakrishna, P., Berry, S.K., Kaur, S.** (1989). Some engineering properties of pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds, *Journal of Food Engineering*, 153-162.
- [29] **Ardabili, A.G., Farhoosh, R. ve Khodaparast, M.H.** (2011). Chemical Composition and Physicochemical Properties of Pumpkin Seeds (*Cucurbita pepo* Subsp. *pepo* Var. *Styriaca*) Grown in Iran, *J. Agr. Sci. Tech.*, **13**, 1053-1063.
- [30] **Seeds, pumpkin and squash seed kernel, dried, National Nutrient Database for Standard Reference, Basic Report: 12014.** (2009). Agricultural Research Service United States Department of Agriculture.
- [31] **Hyun, T., Barrett-Connor, E., Milne, D.** (2004). Zinc intakes and plasma concentrations in men with osteoporosis: the Rancho Bernardo Study, *Am J Clin Nutr.*, **80**(3):715-721.

- [32] **Damon, M., Zhang, Z. N., Haytowitz, B. D. ve Booth, S.L.** (2005). Phylloquinone (vitamin K1) content of vegetables, *Journal of Food Composition and Analysis*, **18**, 751.
- [33] **Elisha, E.E., Twaij, H.A.A., Ali, N.M., Tarish, J.H., Al-omari, M.M., and Karim, S.** (1987). The Anthelmintic Activity of Some Iraqi Plants of the Cucurbitaceae, *Journal of Crude Drug Research*, **25**(3), 153-157.
- [34] **Miettinen, T.A., Puska, P., Gylling, H., Vanhanen, H., ve Vartiainen, E.** (1995). Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic Population, *NewEngland Journal of Medicine*, **16**, 1308–1312.
- [35] **Jones, P.J., Raeini-Sarjaz, M., Ntanos, F.Y., Vanstone, C.A., Feng, J.Y., ve Parsons, W.E.** (2000). Modulation of plasma lipid levels and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters, *Journal of Lipid Research*, **41**, 697–705.
- [36] **Huang, X.E., Hirose, K., Wakai, K., Matsuo, K., Ito, H., Xiang, J., Takezaki, T., ve Tajima, K.** (2004). Comparison of lifestyle risk factors by family history for gastric, breast, lung and colorectal cancer, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **5**(4), 419–427.
- [37] **Caili, F., Huan, S., Quanhong, L.** (2006). A Review on Pharmacological Activities and Utilization Technologies of Pumpkin, *Plant Foods for Human Nutrition*, **61**, 73-80.
- [38] **Abdel-Rahman, M.K.** (2006). Effect of Pumpkin Seed (*Cucurbita pepo* L.) Diets on Benign Prostatic Hyperplasia (BPH): Chemical and Morphometric Evaluation in Rats, *World Journal of Chemistry*, **1**(1): 33-40.
- [39] **Stevens, L.J.** (1994). Pumpkin seeds help the prostate stay healthy, *British Journal of Cancer*, **70**(2), 330-334.
- [40] **Murkovic, M., Hillebrand, A., Winkler, J., ve Pfannhauser, W.** (1996). Variability of vitamin E content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.), *European Food Research and Technology*, **202**, 275–278.
- [41] **Gilbert, O., Fruhwirth, A.H.** (2007). Seeds and oil of the Styrian oil pumpkin: Components and biological activities, *EUR. J. Lipid Sci. Technol.*, **109**, 1128-1140.
- [42] **Stevenson, D.G., Eller, F.J., Wang, L., Jane, J., Wang, T., Inglett, G.E.** (2007). Oil and Tocopherol Content and Composition of Pumpkin Seed Oil in 12 Cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 4005–4013.
- [43] **Murković, M., Hillebrand, A., Winkler, J., Leitner, E., ve Pfannhauser, W.** (1996). Variability of fatty acid content in pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* L.), *Eur. Food Res. Technol.*, **203**, 216–219.
- [44] **Nakić, S.N., Rade, D., Kevin, D., Štrucelj, D., Mokrovčak, Z., ve Bartolić, M.** (2006). Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of *Cucurbita pepo* L., *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **108**, 936–943.

- [45] **Joebstl, D., Bandoniene, D., Meisel, T., ve Chatzistathis, S.** (2010). Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis, *Food Chem.*, **123**, 1303–1309.
- [46] **Krautgartner, R.** (2004). USDA Foreign Agricultural Service, GAIN (Global Agriculture Information Network) Report, Pumpkin Seed Oil-The "Green Gold of Styria", an Austrian Specialty.
- [47] **Wenzl, T., Prettnner, E., Schweiger, K., ve Wagner, F.S.** (2002). An Improved Method to Discover Adulteration of Styrian Pumpkin Seed Oil, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **53**, 193–202.
- [48] **Schinas, P., Karavalakis, G., Davaris, C., Anastopoulos, G., Karonis, D., Zannikos F., Stournas S., Lois, E.** (2009). Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil as an alternative feedstock for the production of biodiesel in Greece, *Biomass. Bioenerg.*, **33**, 44–49.
- [49] **Kayahan, M.** (2005). Yemeklik Yag Rafinasyon Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:10, Ankara.
- [50] **Kayahan, M.** (2004). Yağlı Tohumlardan Ham Yag Üretim Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:7, Ankara
- [51] **Nas, S., Gökalp, H.Y., Ünsal, M.** (2001). Bitkisel Yag Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları, Yayın No:005, Denizli.
- [52] **Gümüşkesen, A.S.**, (1999). Bitkisel yağ teknolojisi. Bitkisel Yağ Sanayicileri Derneği, 5: 59, İzmir.
- [53] **Ergönül, B., Günc, P.** (2003). Tüketilebilir Bitkisel Sıvı Yag Üretim Hattında HACCP Sisteminin Uygulanması. 3. Gıda Mühendisligi Kongresi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitapları, 311-320, Ankara.
- [54] **Kurki, A., Bachmann, J. ve Hill, H.** (2008): NCAT Oilseed Processing for Small Scale Producers, *Attra*.
- [55] **Kesim, M.** (1995). Gıda Teknolojisi, *Anadolu Üniversitesi Yayınları*, 21 s., Eskişehir.
- [56] **Ghodsvali, A., Khodaparast, H., Hosein, M.H., Diosady, Levente, L.** (2009). Aqueous Extraction of Virgin Olive Oil Using Industrial Enzymes, *Food Res. Int.l*, **42**, 171-175.
- [57] **Latif, S. and Anwar, F.** (2009). Effect of Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality, *J Am Oil Chem Soc*, **86**, 393-400.
- [58] **Ramadan, M. F., Moersel, J., Moersel T.** (2009). Oil extractability from enzymatically treated goldenberry (*Physalis peruviana L.*) pomace: range of operational variables, *International Journal of Food Science and Technology*, **44**, 435-444.
- [59] **De Moura, J. M. L. N., Campbell, K., Mahfuz, A., Jung, S., Glatz, C.E., ve Johnson, I.** (2008). Enzyme-assisted Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybeans and Cream De-emulsification, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **85**, 985-995.



- [60] **Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjan, K.** (1996). Aqueous and enzymatic process for edible oil extraction, *Enzyme Microb Technol.*, **19**, 402–420.
- [61] **Dunford, N.T., Dunford, H.B.** (2004). Nutritionally Enhanced Edible Oil Processing, *AOCS Publishing*, Ch. 5.
- [62] **DTM**, (2002). Dış Ticaret Müsteşarlığı, Değişik Kayıtlar, Ankara.
- [63] **Abdulkarim, S.M., Long, K., Lai, O.M., Muhammad, S.K.S., Ghazali, H.M.** (2005). Some physico-chemical properties of Moringa oleifera seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods, *Food Chemistry*, **93**(2), 253-263.
- [64] **Dominguez, H., Nunez, M.J., ve Lema, J.M.** (1993). Oil Extractability from Enzymatically Treated Soybean and Sunflower: Range of Operational Variables, *Food Chem.*, **46**, 277–284.
- [65] **Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjan, K., Gilmour, S., ve Trinca, L.** (2001). Combined Effect of Operational Variables and Enzyme Activity on Aqueous Enzymatic Extraction of Oil and Protein from Soybean, *Enzyme Microb. Technol.*, **28**, 499–509.
- [66] **Hou, L.X., Shang, X.L., Wang, X., Liu, J.** (2013). Application of enzyme in aqueous extraction of sesame oil, *European Food Research and Technology*, **236**(6), 1027-1030.
- [67] **Jiang, L., Hua, D., Wang, Z., ve Xu, S.** (2009). Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates, *Food Sci. Technol.*, **14**, 533-540.
- [68] **Nyam, K.L.** (2009). Physicochemical properties of Kalahari melon seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods, *Int. J. Food Sci.*, **44**, 694-701.
- [69] **Latif, S., Diosady, L.L. ve Anwar, F.** (2008). Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from canola (*Brassica napus* L.) seeds, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **110**, 887-892.
- [70] **Chabrand, R.M., Glatz, C.E.** (2009). Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour, *Enzyme and Microbial Technology*, **45**, 28–35.
- [71] **Caetano, M.F., Couri, S., Freitas, S.P.** (2002). Enzymatic aqueous extraction of sunflower oil from extruded kernels, *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, **79**, 165-169.
- [72] **Shah, S., Sharma, A., Gupta, M.N.** (2005). Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction, *Bioresource Technology*, **96**, 121-123.
- [73] **Jiao, J., Li, Z., Gai, Q., Li, X., Wei, F., Fu, Y., ve Ma, W.** (2014). Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities, *Food Chemistry*, **147**, 17-24.

- [74] **American Oil Chemists' Society (AOCS)** (1997). Official and recommended practices of the American Oil Chemists Society, 5th edn., *AOCS Press*, Champaign.
- [75] **Url-6** <<http://www.campbell.edu/faculty/jung/>>, alındığı tarih: 25.03.2014.
- [76] **Moreau, R.A., Johnston, D.B., Powell, M.J., ve Hicks, K.B.** (2006). A Comparison of Commercial Enzymes for the Aqueous Enzymatic Extraction of Corn Oil from Corn Germ, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **11**, 1071-1075.
- [77] **Jovanovic, K.P., Vrbaski, Z., Milovanovic, M.** (1997). Aqueous-enzymatic extraction of plum kernel oil, *Fett Lipid*, **99**(12), 433-435.
- [78] **Sharma, A., Khare, S.K., ve Gupta, M.N.** (2002). Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Peanut Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **79**, 215-218.

## ÖZGEÇMİŞ



**Ad Soyad** : Gözde Nur DALKIRAN  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Ankara, 1988  
**Adres** : Oyakkent 1. Etap Sit. A18 Blok D:30 Başakşehir/İST.  
**E-posta** : gozdedalkiran@gmail.com  
**Lisans** : Boğaziçi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü