



**GREYFURT KABUĞUNDAN MİKRODALGA
DESTEKLİ PEKTİN EKSTRAKSİYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

NEDRA TEKTAŞ TAŞAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
Prof. Dr. Özlem AKPINAR
Haziran - 2018
Her hakkı saklıdır**

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GREYFURT KABUĞUNDAN MİKRODALGA
DESTEKLİ PEKTİN EKSTRAKSİYONU VE
KARAKTERİZASYONU

NEDRA TEKTAŞ TAŞAN

TOKAT
Haziran – 2018

Her hakkı saklıdır

Nedra TEKTAŞ TAŞAN tarafından hazırlanan “**Greylfurt Kabuğundan Mikrodalga Destekli Pektin Ekstraksiyonu ve Karakterizasyonu**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 26 HAZİRAN 2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. Özlem AKPINAR
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Serdal SABANCI
Munzur Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TOKATLI
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

ONAY

Prof. Dr. Ebubekir ALTUNTAŞ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

09/07/2018

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

NEDRA TEKTAŞ TAŞAN

Haziran 2018

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GREYFURT KABUĞUNDAN MİKRODALGA DESTEKLİ PEKTİN EKSTRAKSİYONU VE KARAKTERİZASYONU

NEDRA TEKTAŞ TAŞAN

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Özlem AKPINAR)

Bu çalışmada kurutulmuş greyfurt kabuğundan mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektin elde edilmiş ve elde edilen pektinin özellikleri klasik yöntemle elde edilen pektinle karşılaştırılmıştır. Her iki ekstraksiyon yöntemi pektin verimi için optimize edilmiş, optimizasyon için yanıt yüzey yöntemi ve Box–Behnken tasarımı kullanılmıştır. Ayrıca elde edilen pektinler kayısı marmelatı üretiminde kullanılmış, üretilen marmelatlarında fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları klasik yöntem için 80°C’de, 30 ml/g sıvı katı oranı, 3 sa, pH 1; mikrodalga destekli ekstraksiyon için, 30 ml/g, 90 s, pH 1 olarak belirlenmiştir. Verimler sırası ile %35.95 ve 21.88 olarak bulunmuştur. Elde edilen pektinlerin yüksek esterleşme derecesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Pektinlerde FT-IR analizi yapılmış, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin, klasik yöntemle elde edilen pektin ile karşılaştırılmış ve yapıları benzer bulunmuştur. Duyuşal açıdan mikrodalga ile elde edilen pektin ile üretilen marmelat klasik yöntemle elde edilen pektin ile üretilmiş marmelattan daha üstün bulunmuştur.

2018, 80 Sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: Asit, Ekstraksiyon, Greyfurt, Mikrodalga

ABSTRACT

MASTER THESIS

MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF PECTIN FROM GRAPEFRUIT PEEL

NEDRA TEKTAŞ TAŞAN

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

SUPERVISOR: Prof. Dr. Özlem AKPINAR

In this study, pectin was obtained from dried grapefruit peels by microwave assisted extraction, and the properties of pectin were compared to pectin obtained by conventional extraction. Both extraction methods were optimized for pectin yield with response surface method and Box-Behnken design was used. In addition, the obtained pectins were used in the production of apricot marmalade, and their physicochemical and sensory properties were investigated. Optimum extraction conditions for the conventional extraction at 80°C were determined as 30 ml/g of the liquid solid ratio, 3 h and pH 1; for microwave assisted extraction were determined as 30 ml/g, 90 s and pH 1. The yields for both pectin were found to be 35.95% and 21.88%, respectively. It was determined that the pectins obtained by both methods had high degree of esterification. FT-IR analysis was performed for both pectins. Pectin obtained by microwave assisted extraction was compared with pectin obtained by the conventional method and their structures were found to be similar to each others. It was found that marmalade produced with pectin obtained by microwave assisted extraction had better sensory properties than that with produced with pectin obtained by conventional extraction.

2018, 80 Page

KEY WORDS: Acid, Extraction, Grapefruit, Microwave, Pectin

ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanması sırasında yardımlarından dolayı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özlem AKPINAR'a; Gıda Mühendisliği Bölümü hocalarından Sayın Doç. Dr. Cemal KAYA, Sayın Ali CİNGÖZ ve Sayın Mehmet GÜLDANE'ye, tezimin değerlendirilmesinde değerli katkılarını sunan juri üyeleri Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TOKATLI ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Serdal SABANCI'ya, bu süreçte bana her türlü destek olan eşime ve aileme çok teşekkür ederim.

Nedra TEKTAŞ TAŞAN

Haziran 2018

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Pektin ve Yapısı	3
2.1.1. Pektinin fiziksel özellikleri	5
2.1.2. Pektinin kimyasal özellikleri	6
2.1.3. Pektinin jelleşmesi	7
2.2. Pektin Üretimi.....	10
2.2.1. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile pektin üretimi	11
2.2.2. Enzim destekli ekstraksiyon ile pektin üretimi	12
2.2.3. Subkritik su (sıvı) ekstraksiyonu ile pektin üretimi	14
2.2.4. Ultrases destekli ekstraksiyon ile pektin üretimi	16
2.2.5. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektin üretimi.....	18
2.3. Pektinin Kullanım Alanları	21
2.3.1. Pektinin gıda sanayisinde kullanımı	21
2.3.3. Pektinin kozmetik, kâğıt ve tekstil sanayisinde kullanımı.....	23
2.4. Greyfurt Kabukları.....	23
2.5. Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology-RSM).....	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM	27
3.1. Materyal	27
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Pektinin klasik yöntemle ekstraksiyonu	27
3.2.2. Pektinin mikrodalga ile ekstraksiyonu.....	28
3.2.3. Deneysel tasarım ve yanıt yüzey yöntemi ile ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu	28

3.2.4. Marmelat üretimi	30
3.2.5. Duyusal analiz.....	31
3.2.6. Pektinin soğuk ve sıcak suda çözünürlüğü	31
3.2.7. Pektinin sıcak ve soğuk alkalide (NaOH) çözünürlüğü.....	31
3.2.9. Pektinin metoksil içeriği	32
3.2.10. Pektinin anhidronik asit analizi.....	32
3.2.11. Pektinin esterleşme derecesi	33
3.2.12. Pektinin üronik asit içeriği.....	33
3.2.13. Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi	33
3.2.14. Nem içeriği	34
3.2.15. Kül içeriği	34
3.2.16. Toplam şeker tayini	34
3.2.17. Protein tayini.....	35
3.2.18. Marmelatta indirgen şeker tayini	35
3.2.19. Marmelatta asitlik tayini	35
3.3. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1. Pektinin Mikrodalga Yöntemi ile Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	37
4.2. Pektinin Klasik Yöntemle Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	44
4.3. Ekstrakte Edilen Pektinlerde Nem, Kül, Toplam Şeker, Protein Tayini ...	52
4.4. Pektinlerin Çözünürlüğü	53
4.5. Pektinlerin Eşdeğer Ağırlık, Metoksil ve Esterleşme Derecesi, Anhidronik Asit ve Galakturonik Asit Miktarları	54
4.6. Pektinde FT-IR Analizi.....	57
4.7. Ekstrakte Edilen Pektinlerden Marmelat Üretimi.....	60
4.8. Marmelatların Duyusal Değerlendirmesi.....	64
5. SONUÇ	66
6. KAYNAKLAR	68
7. EKLER	75
EK I. Üronik Asit Yönteminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	76

EK II. Bradford Metodunda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	77
EK III. DNS Çözeltilerinin Hazırlanması	78
EK IV. Toplam Şeker Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	79



SİMGELER ve KISALTMALAR

Kısaltma	Açıklama
AUA	Anhidronik asit
BB	Box-Behnken
BSA	Bovin Serum Albumin
DNS	Dinitrosalisilik asit
EA	Eküvalent ağırlık
FAO	Food and Agriculture Organization
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
HCl	Hidroklorik asit
KBr	Potasyum Bromür
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
$(\text{NH}_4)\text{C}_2\text{O}_4$	Amonyum Okzalat
RSM	Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Primer hücre çeperi modelinde pektinin yeri.....	3
Şekil 2.2. Pektin molekülünün yapısı.....	5
Şekil 2.3. Pektinin hidrojen bağlarıyla oluşturduğu sabit jel mekanizması.....	9
Şekil 2.4. Isıtma modelleri.....	19
Şekil 4.1. Proses değişkenlerinin mikrodalga ile pektin ekstraksiyonu verimine Etkisi.....	42
Şekil 4.2. Model yeterliliği için tanımlayıcı grafikler (mikrodalga destekli ekstraksiyon).....	43
Şekil 4.3. Proses değişkenlerinin klasik ekstraksiyon verimine etkisi.....	49
Şekil 4.4. Model yeterliliği için tanımlayıcı grafikler (klasik ekstraksiyon).....	50
Şekil 4.5. Mikrodalga destekli ekstrakte edilmiş pektininin FT-IR spektrumu....	58
Şekil 4.6. Klasik yöntemle ekstrakte edilmiş pektininin FT-IR spektrumu.....	59
Şekil 4.7. FT-IR spektrumdan elde edilen pektinlerin esterleşme dereceleri.....	60

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Bazı sebze ve meyvelerdeki ham pektinin özellikleri	6
Çizelge 2.2. Farklı esterleşme derecelerinde pektinlerin jelleşme süreleri.....	8
Çizelge 2.3. Bazı meyve sebzelerin pektin içerikleri.....	10
Çizelge 3.1. Mikrodalga destekli ekstraksiyon için denenen bağımsız değişkenlerin değerleri.....	29
Çizelge 3.2. Klasik ekstraksiyon için denenen bağımsız değişkenlerin değerleri.....	29
Çizelge 3.3. Kayısı marmelatı üretim reçetesi.....	30
Çizelge 3.4. Panelistlere dağıtılan duyusal değerlendirme formu.....	31
Çizelge 4.1. Deneysel tasarım ve greyfurt kabuğundan mikrodalga destekli ekstraksiyonla elde edilen pektin verimleri.....	38
Çizelge 4.2. Greyfurt kabuklarında mikrodalga destekli ekstraksiyonda elde edilen pektin verimlerinin ANOVA çizelgesi.....	40
Çizelge 4.3. Optimum ekstraksiyon koşullarında mikrodalga ekstraksiyonda elde edilen deneysel ve tahmini pektin verimleri.....	44
Çizelge 4.4. Deneysel tasarım ve greyfurt kabuklarından klasik ekstraksiyonla elde edilen pektin verimleri.....	45
Çizelge 4.5. Greyfurt kabuklarında klasik ekstraksiyonda elde edilen pektin verimlerinin ANOVA Çizelgesi.....	47
Çizelge 4.6. Optimum ekstraksiyon koşullarında klasik ekstraksiyonda elde edilen deneysel ve tahmini pektin verimleri.....	51
Çizelge 4.7. Pektin örneklerinde nem, kül, toplam şeker ve protein miktarları.....	53
Çizelge 4.8. Pektinlerin çözünürlüğü.....	54
Çizelge 4.9. Pektin örneklerinde eşdeğer ağırlık, metoksil, esterleşme derecesi, anhidronik asit ve galakturonik asit miktarları.....	57
Çizelge 4.10. Marmelatların nem, kül, briks, pH, titrasyon asitliği.....	62
Çizelge 4.11. Marmelatların toplam şeker, indirgen şeker, protein miktarı.....	64
Çizelge 4.12. Duyusal değerlendirme.....	65

1. GİRİŞ

Meyvelerde bulunan pektik bileşenler ilk kez 1790 yılında Fransız kimyager Louis Nicolas Vauquelin tarafından tespit edilmiş ve 1825 yılında Fransız kimyager Henri Braconnot tarafından izole edilmiştir. Jelleşme özelliğini vurgulamak amacıyla Yunancada pıhtılaştırıcı, katılaştırıcı anlamına gelen “pectos” kelimesinden yola çıkarak pektik asit olarak tanımlanmıştır. Pektin jelleştirici ve stabilize edici olarak kullanılan, yüksek değerli fonksiyonel gıda maddesi, hücre duvarının multifonksiyonel bileşenidir (Shi ve ark., 1998; Guillotin, 2005; Srivastava ve Malviya, 2011; Georgiev ve ark., 2012). Pektik maddeler bitkilerin hücre zarlarında ve hücre aralarında bulunan koloidal kompleks asidik heteropolisakkaritlerdir ve pektinin kimyasal yapısı ve miktarı, bulunduğu bölgeye, bitkiden bitkiye olgunlaşma dönemine göre değişiklik göstermektedir. Olgunlaşma sırasında meyvenin yumuşayan bölgelerinde pektin, pektinaz ve pektin esteraz enzimleri tarafından parçalanmaktadır (Srivastava ve Malviya, 2011).

Genel olarak pektin, farklı oranlarda esterleşme derecesine sahip, farklı nötralizasyon derecesinde suda çözünen ve uygun koşullar altında şeker ve asitle jel oluşturan maddedir. Büyük oranda anhidrogalakturonik asit birimlerinden oluşan karmaşık, koloidal karbonhidrat türevleridir ve yüksek su tutma kapasitesine sahiptirler. Pektin bitkisel kaynaklı bir stabilizördür, her meyve sebze farklı nitelikte ve miktarlarda bulunur. Sebze ve meyvelerde pektin miktarı ortalama %0.51 düzeyindedir. Elma posası, narenciye kabukları, ayçiçeği tablası, şeker pancarı küspesi gibi tarımsal endüstri atıkları önemli miktarda pektin içermektedirler (Arslan, 1994).

Pektin üretiminde daha çok yaygın kullanılan metod, pektinin kaynağından asitlendirilmiş su ile ekstraksiyonu, takiben etanol ile çöktürülmesidir (Wang ve ark. 2007). Klasik olarak kullanılan bu yöntem çok uzun zaman almaktadır. Son yıllarda mikrodalga destekli pektin ekstraksiyonu; ekstraksiyon için daha kısa süreye ve daha az çözücüye ihtiyaç duyması, yüksek ekstraksiyon verimi, düşük maliyeti ve ürün kalitesinin daha yüksek olması gibi avantajları nedeniyle klasik yöntem alternatif bir yöntem olarak araştırılmaktadır. Mikrodalga ekstraksiyon ile pektin ekstraksiyonu

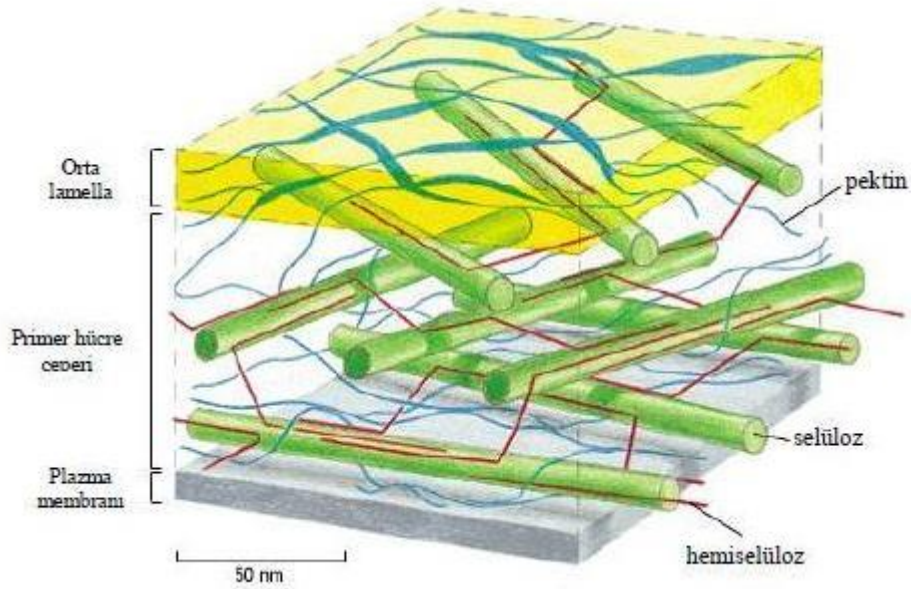
sırasında; mikrodalga enerjisi ile hücre duvar matriksinin gevşemesi hızla artmakta, solventin bitki matrisine penetrasyonu artmakta ve mikrodalga ısınmada etkisiyle pektinin ekstraksiyonu kolaylaşmaktadır (Cellat, 2011; Adetunji ve ark., 2017).

Yapılan araştırmalarda mikrodalgada uygulanan güç 420 W'dan yüksek olduğunda, verimin azaldığı tespit edildiğinden, bu çalışmada greylurt kabuklarında düşük mikrodalga gücünde, kısa sürede, yüksek verimle pektin üretimi için ekstraksiyon koşullarını (ışınlama süresi, pH ve katı-sıvı oranı) optimize edilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda klasik yöntemle üretilen pektinle ekstraksiyon koşulları karşılaştırılmış ve her iki yöntemle üretilen pektini karakterize edilerek, elde edilen pektinlerin, gıda uygulamalarına uygunluğu araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Pektin ve Yapısı

Pektin, bitkisel dokuların hücre duvarları ve hücreler arası bölgelerde doğal olarak bulunan yapısal bir heteropolisakkarittir. Bitkinin büyümesi ve gelişmesinde önemli rol oynar ve bitkiye mekaniksel bir dayanıklılık sağlar (Bagherian ve ark., 2011; Liang ve ark. 2012; Torralbo ve ark., 2012; Gunning ve ark., 2013; Guo ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2013). Hemiselüloz ve selüloz gibi diğer polisakkaritlerle birlikte bitkilerin birincil hücre duvarında bulunmaktadır (Stephen ve ark., 2006; Buggenhout ve ark., 2009). Pektinin hücre duvarındaki yeri Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Primer hücre çeperi modelinde pektinin yeri (Anonim 2017).

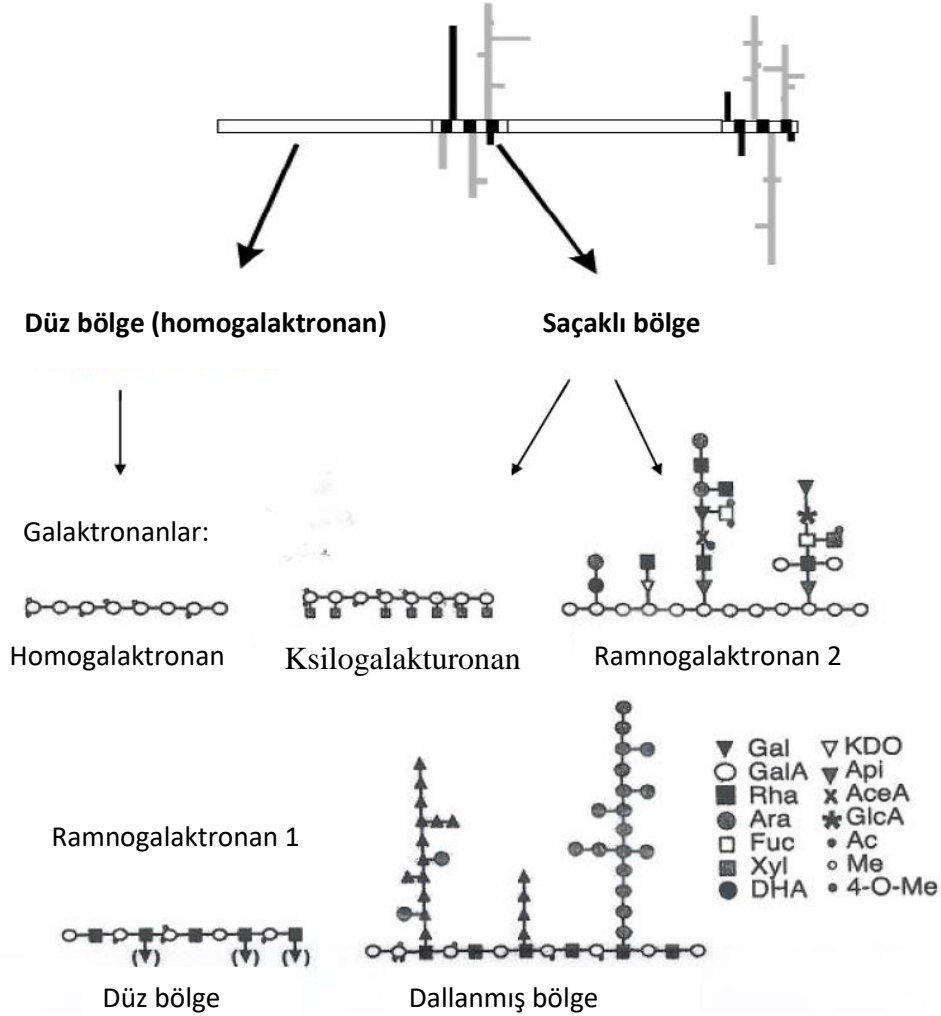
Pektik maddeler, pektinik asit, pektin, pektik asit ve bunların tuzlarını içeren maddelerini de içeren geniş bir kavramdır. Çoğunlukla, genel olarak tümü için de pektin sözcüğü kullanılabilir. Pektik maddeler grubunda yer alan bileşikler şunlardır:

- Pektik asit (poligalakturonik asit): Esterleşmemiş galakturonik asit birimlerinden oluşan zincirdir. Asit formdadır ve suda çözünmez, kısmi nötralizasyon işleminden sonra suda çözünür ve kalsiyumla jel oluşturur.

- Pektat: Poligalakturonik asidin nötral veya asidik halde tuzudur. Az sayıda metoksil grubu içerir (Na-pektat suda çözünür, ancak Ca-pektat suda çözünmez).
- Pektin: Metil alkol içinde esterleşen, poligalakturonik asittir. Esterleşme derecesi ve polimerizasyon derecesine bağlı olarak özellikleri değişiklik gösterir.
- Pektinat: Pektinin tuzudur, molekülde metoksil grupları da bulunabilir.
- Protopektin: Pektin zincirleri, birbirlerine esterleşmemiş $-COOH$ grupları üzerinden metal iyonu (Mg, Ca) ile bağlanmıştır. Sınırlı sayıda fosforik asit üzerinden ester köprüsü de içeren doğal pektindir. Suda çözünmez, kısmi hidrolizi ile pektin ve pektinik asit oluşur.
- Pektin türevleri: Asetil vb. gibi özel grupların bağlandığı pektindir (Maraş ve ark., 2004).

Pektin heteropolisakkariti, α -D-galakturonik asit moleküllerinin α -1.4-glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmasıyla oluşan bir polimerdir. Molekülde doğrusal poligalakturonik asit, ana zincirinde α -1,2-glikozidik bağlarla bağlanmış dağınık bir şekilde yer alan ramnoz molekülleri yer almaktadır. Bu sebepten pektin molekülünde düz (smooth) ve saçaklı (hairy) bölgeler bulunmaktadır (Fidalgo ve ark., 2016). Pektin molekülünün yapısında; ramnogalakturonan I, ramnogalakturonan II, ksilogalakturonan ve temel bileşen olan homogalakturon olmak üzere dört temel birim bulunmaktadır (Şekil 2.2) (Yang ve ark., 2013). Homogalakturonan α -(1-4) D-galakturonik asit birimlerinin bağlanması ile uzun lineer poligalakturonik zincirinden oluşmaktadır (Belitz ve ark., 2004; Cameron ve ark., 2008; Ngouémozong ve ark., 2012; Torralbo ve ark., 2012). Homogalakturonan (düz bölge) pektin molekülünün temelini oluşturmakta ve bazı bitkilerde bu yapıda karboksil ($-COOH$) grupları, metil esterlenmiş ($-COOCH_3$) ya da asetillenmiştir (Yuliarti, 2011). Ramnogalakturonan I (dallanmış bölge) bölgesinde lineer zincir, tekrar eden galakturonik asit (GalA) ve ramnoz (Rha) moleküllerinin bağlanması ile oluşmuştur ve arabınan, galaktan ve arabınagalaktan gibi nötral şekerlerden meydana gelen yan zincirleri bulunmaktadır (Willats ve ark., 2006; Yuliarti, 2011; Torralbo ve ark., 2012). Ramnogalakturonan II ise, lineer zincir homogalakturonan molekülünden oluşmakta ve bu bölgedeki yan zincirleri ramnoz, apioz, frukoz gibi moleküllerden oluşturmaktadır. Ksilogalakturonan homogalakturonan

zinciri ile ksiloz yan zincirlerinden oluşmaktadır (Willats ve ark., 2006; Yuliarti, 2011). Pektinin galakturonik asit ünitelerinden bir kısmı metanol ile esterleşmiştir. Metanol ile esterleşmiş galakturonik asit miktarı %50'nin altında ise düşük esterleşme dereceli pektin, %50'nin üzerinde ise yüksek esterleşme dereceli pektin şeklinde değerlendirme yapılmaktadır (Arslan, 1994).



Şekil.2.2. Pektin molekülünün yapısı (Vorangen ve ark., 2001).

2.1.1. Pektinin fiziksel özellikleri

Saf pektin açık renklidir ve suda çözünür. Formamit, dimetil sülfoksit, dimetil formamit ve sıcak gliserol haricinde, organik çözücülerde çözünmez. Çözünürlüğü molekül ağırlığı ve esterleşme derecesi ile ters orantılıdır. Pektin, tamamen çözünürse, en yüksek jel gücü veya viskoziteyi gösterebilir. Pektinin sulu çözeltilerine; metanol, etanol,

propanol veya aseton gibi çözücüler, Cu^{+2} ve Al^{+3} gibi çok değerlikli kasyonlar, setiltrimetil amonyum bromür, polietilenimin gibi polimerler ve kazein gibi bazı proteinler ilave ederek pektini çöktürebilmek mümkündür (Arslan, 1994; Yıldırım, 2013).

Pektinin erime noktası yoktur, ısıtma sonucu bozunur ve kömürleşir. Ortalama molekül ağırlığı; pektin türüne, hazırlama yöntemine, ölçme yöntemine bağlı olarak 30000-300000 dalton arasında değişir. Molekül ağırlığı ve nötralizasyon derecesinin artması ile pektinde viskozite artar (Arslan, 1994; Yıldırım, 2013). Pektin çözeltisinin viskozitesi, sıcaklık artışı ile azalırken, konsantrasyon artışı ile artmaktadır; ancak sıcaklığın viskoziteye etkisi, konsantrasyonun etkisinden daha fazladır. Viskoziteyi etkileyen diğer parametreler ise; esterleşme derecesi, molekül ağırlığı, elektrolit konsantrasyonu, pH ve çözücü konsantrasyonudur (Shi ve ark., 1998; Kar ve Arslan, 1999). Pektin çözeltileri polimerizasyon derecesine (molekül ağırlığına) bağlı olarak yüksek optik çevirme açısına sahiptir. D-galakturonik asidin spesifik rotasyonu $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 51.9^\circ$ pektinin spesifik rotasyonu ise yaklaşık olarak $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 230^\circ$ dir. Çizelge 2.1' de bazı sebze ve meyvelerin içerdikleri ham pektinin özellikleri sunulmuştur (Arslan, 1994).

Çizelge 2.1. Bazı sebze ve meyvelerdeki ham pektinin özellikleri (Arslan, 1994).

Ürün adı	Galakturonik asit %	Esterleşme derecesi %	Spesifik rotasyon	Viskozite (ml/g)
Ayçiçeği	71.7	38.7	+ 227°	340
Elma	87.1	62.5	+ 253°	600
Turunçgil	72.9	67	+ 215°	500
Şekerpancarı	68.5	54.8	+ 215°	174

2.1.2. Pektinin kimyasal özellikleri

Pektin'in sulu çözeltileri asidiktir, çünkü yapılarında serbest karboksil grupları bulunur ve %0.5-1' lik çözeltisinin pH değeri 3.2 ile 3.4 arasındadır. Pektin sıcak asit çözeltisi ile muamele edildiğinde, metil ester grupları ve glikozidik bağları hidroliz olarak galakturonik asitler oluşur. Düşük sıcaklıkta, asitler glikozid bağlarının hidrolizinden

ziyade metil ester gruplarını hidroliz ederken, sıcaklık artışı ile glikozid bağlarını hidrolize eder ve pektinin molekül ağırlığının düşmesine neden olur. Uygun asit konsantrasyonu ile pektin desterifikasyona tabi tutulabilir ve düşük metoksilli pektinler hazırlanabilir (Arslan, 1994; Yıldırım, 2013).

Kuru toz haline getirilmiş pektin, suya eklendiğinde hidratlaşma eğilimi gösterir ve çok hızlı bir şekilde kümeler oluşturur. Pektinin tek değerlikli katyon tuzları çözelti içinde yüksek iyonlaşır ve iyonik değişimin sağladığı itme kuvveti molekülün uzun bir form almasını sağlar. Ayrıca karboksilat iyonları arasındaki bu itme polimer zincirlerinin kümeleşmesini önler. Böylelikle her bir polisakkarit zinciri ve her bir karboksil grubu hidrate edilmiş olur. Düşük pH'larda, karboksilat gruplarının iyonlaşması bastırılır ve bu da hidrasyonun azalmasına neden olur. Azalmış iyonizasyon sonucu, artık polisakkarit molekülleri birbirini itmez ve birleşip jel oluştururlar (Thakur ve ark., 1997).

Çözünmeyen pektik maddeler aynı zamanda katyon değiştirici görevi görürler ve Ca^{+2} iyonu ve Zn^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+3} gibi ağır metal iyonları için çok seçimlidir. Pektinler $KMnO_4$, Cl_2 , H_2O_2 , Fe^{+2} / H_2O_2 , oksijen veya su varlığında askorbik asit gibi oksidasyon ajanları ve radyasyon ile de bozunabilir (Arslan, 1994).

2.1.3. Pektinin jelleşmesi

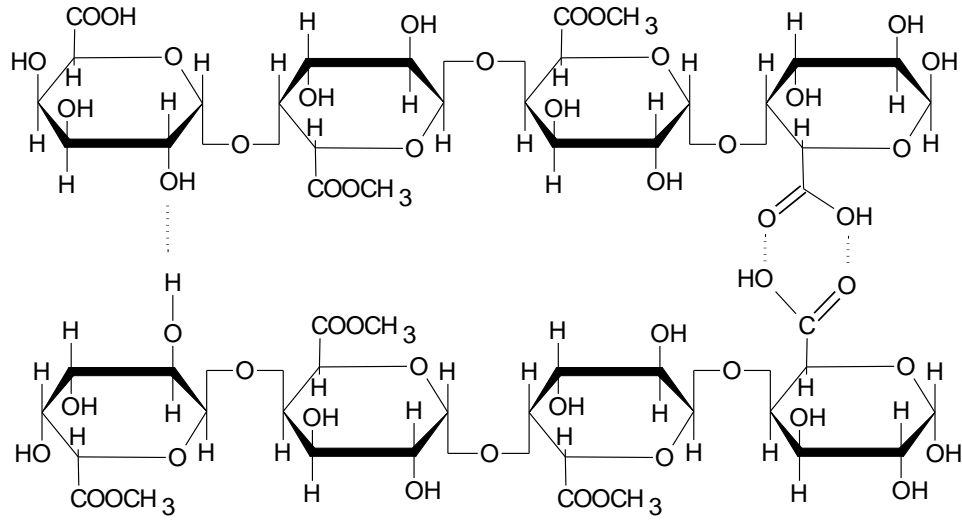
Pektinler; galakturonik asit zincir boylarının karboksil gruplarının metil grupları ile esterleşme derecelerinin ve uygulanan ekstraksiyon yöntemlerinin farklı oluşuna göre şeker ve asitler ile farklı jel meydana getirme özelliği gösterirler (Arslan, 1994). Pektinin metoksil derecesi bitkinin çeşidine ve meyvenin olgunlaşma süresine göre çeşitlilik göstermektedir (Cemeroğlu, 2004; Guillotin, 2005; Yuliarti, 2011). Yüksek metoksilli pektinin esterleşme derecesi %50'den daha fazla, düşük metoksilli pektinin esterleşme derecesi %50'den daha azdır. Pektinin jelleşme hızı esterleşme derecesine bağlıdır ve esterleşme derecesi arttıkça jelleşme hızı da artmaktadır (Çizelge 2.2). Jelleşme hızı ürünün tekstürünü etkileyen önemli bir parametredir (Arslan, 1994; Shi ve ark., 1998; Belitz ve ark., 2004; BeMiller, 2007).

Çizelge 2.2. Farklı esterleşme derecelerinde pektinlerin jelleşme süreleri (Belitz ve ark., 2004)

Pektin Çeşidi	Esterleşme Derecesi %	Jelleşme Süresi (sn)
Hızlı jelleşen	72-75	20-70
Normal	68-71	100-135
Yavaş jelleşen	62-22	180-250

Yüksek metoksilli pektinin jel oluşturması için yüksek miktarda şeker (%50'den daha fazla) ve asit bulunmalıdır. Asitliği arttırılan pektin çözeltilerinde, karboksil grupları yüksüz hale gelir. Böylelikle yükünü kaybeden polimer moleküllerinin, bir bölümü birbirleriyle interaksiyona geçerek birleşme noktaları oluştururlar (Şekil 2.3). Serbest karboksil grupları ile komşu moleküllerin karboksil grupları arasında veya hidroksil grupları ile komşu moleküllerin arasında meydana gelen hidrojen bağları jel oluşumunu sağlamaktadır. Birleşme bölgeleri sayesinde polimer zincirleri üç boyutlu bir ağ yapıya dönüşür ve bünyesinde suyu tutuklar. Yüksek şeker konsantrasyonu (yüzde 55' ten fazla) ağ yapıyı oluşturan birleşme bölgelerinin oluşumuna destekleyici etki yapar. Çünkü şeker molekülleri pektin zincirlerini hidrate eden suyun bir kısmını absorbe ederek zincirlerin çözünmesi zorlaştırır (Saldamlı, 2005).

Düşük metoksilli pektinler, düşük şeker konsantrasyonlarında, çok değerlikli katyonlar (Ca^{+2} , Mg^{+2} gibi) ile jel oluştururlar. Çok değerlikli katyonlar, bir pektinat zincirinden bir karboksil ile birleşebilir. Ayrıca komşu bir pektinat zincirinden bir karboksil ile de birleşebilir ve bu şekilde jel oluşturur. Sıcaklık, düşük metoksilli pektin jelinin oluşumunda önemli bir faktördür (Arslan, 1994). Jelleşmeyi sağlayan ve pektin zincirleri arasında çapraz bağlar oluşturan bu divalent katyonların konsantrasyonu artarsa, jelleşme sıcaklığı ve jel dayanıklılığı yani direnci artar (Saldamlı, 2005).



Şekil. 2.3. Pektinin hidrojen bağlarıyla oluşturduğu sabit jel mekanizması (Hamm, 1963)

Yüksek molekül ağırlıklı pektinler daha iyi jel oluştururlar. Düşük molekül ağırlıklı pektininin jel yapma yeteneği azdır ve yüksek oranda asetil grupları içerdiklerinden, jel oluşumunda bir engelleme yaratırlar. Bu nedenle ekstraksiyonu, deasetilasyona neden olan kuvvetli asidik koşullarda yapılır. Asetil gruplarının kısmi asit hidrolizi de pektinin jelleşme gücünü düzeltmektedir (Arslan, 1994).

Yüksek metoksilli pektinler hızlı jelleşirler ve 88 °C’de jel oluşturmaya başlarlar. Bu tip pektinler, yüksek sıcaklıklarda dolum yapılan, ambalajlanan ürünlere kullanılır. Ayrıca, meyve parçalarının bulunduğu ürünlere (reçellerde) hızlı jelleşen pektin kullanılmalıdır. Böylece meyve parçacıkları tepede toplanma olanağı bulmadan jel oluşmakta ve parçacıklar tüm ürüne dağılmış durumda kalabilmektedir. Düşük metoksilli pektinler ise yavaş jelleşirler. 55-65°C’ de jel oluşturmaya başlarlar. Bu tip pektinler, ürün pişirilip bir miktar soğutulduktan sonra ambalajlandığı durumlarda kullanılmalıdır. Vakumda pişirilen ürünlere de yavaş jelleşen pektin kullanılarak, jelleşmenin gerçekleşmesinden önce üründeki hava kabarcıklarının çıkması için yeterli süre bırakılmış olur. Düşük metoksilli pektinler yavaş jelleştiğinden ve jel oluşumu için şekere ihtiyaç duymadığından dolayı daha çok diyabetikler için hazırlanacak ürünlere yaygın olarak kullanılmaktadır (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

2.2. Pektin Üretimi

Pektin, bitkisel dokuların çoğunda bulunur fakat üretime değecek miktarda tüm bitkilerde bulunmaz. Bitkilerin bazılarında ise pektin yeterli düzeyde bulunsa da üretilen pektin nitelikleri bu alanda kullanılmaya elverişli olmayabilir (Çizelge 2.3). Yani pektinin üretilmesi için üretilen bitkiden alınacak pektinin hem kaliteli olması hem de veriminin yüksek olması gerekir. Bu özellikler göz önüne alınarak en önemli pektin hammaddeleri meyve suyu işletme artıklarından elde edilen elma posası ve turunçgil kabukları ile ayçiçeği tablası ve şeker pancarı küspesidir. Hem kaliteli olması, veriminin yüksek olması, hem de yaygın bulunması nedeniyle dünya pektin üretiminde hammadde olarak çoğunlukla turunçgil kabukları kullanılmaktadır (Yıldırım, 2013).

Çizelge 2.3. Bazı meyve sebzelerin pektin içerikleri (Evranoz, 1985)

Ürün adı	Toplam pektik maddeler (KM de %)
Patates	2.5
Havuç	10
Siyah Turp	15
Domates	3
Elma	4-7
Elma Posası	15-20
Ayçiçeği Tablaları	25
Narenciye Kabukları	20-40
Şeker Pancarı Küspesi	15-20

Ticari pektin üretiminde çoğunlukla meyve suyu fabrikalarının artığı olan portakal, greylort veya limon kabukları kullanılır ve kullanım amacına göre toz halde ve sıvı halde üretilir. Pektin ekstraksiyonu için birçok yöntem kullanılmaktadır. Hammaddesi ne olursa olsun pektin üretiminde temel üretim adımları vardır. Öncelikle hammadde öğütülür ve böylece hammaddeki pektin zayıf asit çözeltisinde ısıtılarak çözünür hale getirilerek ekstrakte edilir, ekstraktan elde edilen pektin alkol ile çöktürülür, süzülür, yıkanır, kurutulur, öğütülür ve standardize edilir (Yıldırım, 2013).

Bununla beraber, daha ekonomik, daha kısa sürede, çevreyle dost, daha kaliteli pektin üretimi yöntemlerinin geliştirilmesi için sürekli araştırmalar yapılmaktadır (Adetunji ve ark., 2017).

2.2.1. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile pektin üretimi

Günümüzde en çok kullanılan pektin ekstraksiyon metodu asitle gerçekleştirilen klasik ekstraksiyon yöntemidir (Guo ve ark., 2013). Klasik ekstraksiyon yönteminde proses kütle transferi mekanizmasına dayanmaktadır. Ekstraksiyon işlemine tabi tutulacak bitki öncelikle kurutulur, öğütülür böylelikle yüzey alanı artırılmış olur. Öğütülen bitki materyaline asitlendirilmiş su (pH 1.5-3.6 ayarlı su) eklenerek ve 70-80-90 °C' de, genellikle 1-3 saat arasında ekstraksiyon gerçekleştirilir. Ekstrakte edilen pektin, alkol çözeltisi ile çöktürülür, süzülür, alkol ile yıkandıktan sonra kurutulur, öğütülerek toz pektin elde edilir.

Kütle transferi prensibi ile oluşturulan bu yöntem; sıcaklık, zaman, viskozite, özütleyici, pH gibi pek çok faktörden etkilenir. Şimdiye kadar, klasik yöntem ile farklı asitler kullanılarak farklı hammaddelerden pektin üretimi incelenmiştir. Torralbo ve ark. (2012), lobeira meyvesinden (*Solanum lycocarpum*) nitrik asit kullanarak elde ettiklerin pektinlerin özelliklerini ticari pektin ile kıyaslamışlardır. Yaptıkları çalışmada ürettikleri pektinlerin ticari pektine göre daha yüksek metoksil derecesi, daha düşük viskozite ve molekül ağırlığına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Liang ve ark. (2012), yapmış oldukları çalışmada incir sarmaşığı (*Ficus pumila*) çekirdeklerinden su (H₂O), amonyum okzalat [(NH₄)C₂O₄] ve hidroklorik asit (HCl) kullanarak pektin ekstrakte etmişler ve ürettikleri pektinin özelliklerini ve verimlerini incelemişlerdir. Ekstraksiyon koşullarının pektinin yalnızca verimi ve biyokimyasal özellikleri üzerinde etkili olmadığını, bununla birlikte pektinin jelleşme özelliğini de etkilediğini belirtmişlerdir. Ekstraksiyon sonucunda metoksil dereceleri ölçülen pektinlerin her birinde düşük metoksilli pektin elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Klasik yöntemin en önemli dezavantajı ekstraksiyon için uzun süreye ihtiyaç duyulmasıdır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde ekstraksiyonda en çok kullanılan asitlerin hidroklorik, sülfürik ve nitrik asit olduğu görülmektedir. Asitle ekstraksiyon yöntemi ekonomik açıdan avantajlı olarak düşünülmesine rağmen uygulama sırasında açığa çıkabilecek zararlı bileşenlerden dolayı çevresel problemlere neden olmaktadır. Ayrıca yüksek sıcaklık ve asit pektinin kimyasal yapısını etkileyebilir. Bu bağlamda gıda işlemede kullanılan zararlı kimyasalların kullanımının azaltılması veya tamamen üretimden uzaklaştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Hem insan sağlığına hem de çevreye zararı olmayan, yüksek verimde ve kaliteli pektin eldesini sağlayan ayrıca klasik metodlardan daha kısa sürede tamamlanarak enerji tüketimini azaltan pektin ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Min ve ark., 2011).

2.2.2. Enzim destekli ekstraksiyon ile pektin üretimi

Solvent-bazlı ekstraksiyon prosesi ürünlerinde istenmeyen, ancak önlenemeyen eser miktardaki kimyasallar olabilmektedir. Bu dezavantajı gidermek amacıyla geliştirilen bir yöntem de enzim destekli ekstraksiyondur (Puri ve ark., 2012). Enzimatik pektin izolasyonunun ilk adımı, bitki materyallerinde arzu edilen polimerlerin enzim uygulamaları ile serbest bırakılmasıdır. Açığa çıkan polimer asit klasik yöntemde kullanılan asit ekstraksiyonda elde edilen pektine göre daha yüksek molekül ağırlığına sahiptir (Adetunji ve ark., 2017). Pektin enzimatik ekstraksiyonunda iki yaklaşım bulunmaktadır, bunlar:

(i) Pektini degrade eden enzimlerin kullanımı ile pektinin izolasyonu

(ii) Bitki hücresi duvarını yıkabilen selülozlar, amilazlar ve hemiselülozlar, arabanazlar gibi enzimler ile pektinin izolasyonudur (Adetunji ve ark., 2017).

Enzim destekli ekstraksiyonda ikinci yaklaşım daha yaygın olsada, birinci yaklaşımın örnekleri, pektin metil esteraz enzimi ile yüksek metoksilli pektin kaynaklarından düşük metoksilli pektin üretimi proseslerinde görülmektedir. İkinci yaklaşımda ise selülozlar, hemiselülozlar ve proteazlar genellikle pektin-olmayan bitki hücre duvarı bileşenlerindeki hidrolitik faaliyeti gerçekleştirmek için kullanılmaktadır; ancak bunun için hem seçilen enzimlerin katalitik faaliyetinin hem de bunların enzim destekli

ekstraksiyon için kullanımındaki optimum koşulların iyi bilinmesi gerekmektedir (Ptichkina ve ark., 2008; Puri ve ark., 2012).

Enzimatik yöntemde pektin ekstrakte edilecek maddenin ön işlemlere tabi tutulması gerekmektedir. Böylece enzimin, pektin izole edilecek hücrelere daha kolay erişimi sağlanır. Bu yöntem enzim kompozisyonu ve konsantrasyonu, hidroliz süresi, pH, iyonik kuvveti, solvent-biyokütle oranı ve daha az ölçüde substratın nem içeriği pektin verimi ve özelliklerini etkilemektedir (Adetunji ve ark., 2017).

Enzim destekli ekstraksiyon çevre açısından güvenli bir metoddur. Klasik yöntemde kullanılan asite göre daha az atık sorunu ortaya çıkarır, çevre açısından zararlı bileşikler üretmez, enzimler organik materyellerdir ve seçici olduklarından ekstrakte edilen polisakkaritlerin yapısal nitelikleri ve işlevsel özelliklerini daha iyi korumaktadır. Fiziksel tekniklerdeki belirli ön-uygulama adımlarına (örneğin, şekerlerin ve renk pigmentlerinin uzaklaştırılması) olan ihtiyacı da azaltır ve işlem boyunca az miktarda çözeltiler kullanılır (Adetunji ve ark., 2017).

Enzimler ile pektin üretiminin endüstriyel kullanıma geçilmesinde, bazı faktörlerden dolayı ilerleme kaydedilememiştir. Bunlardan ilki, enzimlerin maliyetidir. Farklı enzimlerin, sıcaklık ve gıda varlığı gibi değişen çevresel koşullara karşın tepkileri farklı olduğu için prosesinin ölçeklendirmesi zor olmaktadır ve ekstraksiyon süresi klasik yöntemde göre de daha uzundur (Adetunji ve ark., 2017).

Sakai ve Okushima (1980), mandalina kabuğundan protopektinaz enzimi ile pektin elde etmiş ve elde edilen polimerin yüksek molekül ağırlığına sahip olduğunu bulmuştur. Ptichkina ve ark. (2008), gri kabaktan (*Cucurbita pepo*) ticari enzimlerle (selülaz ve pektinaz) 3 saat gibi bir sürede %1 (w/v) enzim konsantrasyonu ile pektini izole etmişler ve ekstraksiyon süresinde kısılmanın verimi azalttığını bildirmişlerdir (Wikiera ve ark., 2016). Jeong ve ark. (2014), yağı alınmış kolza tohumu kekinden iki ticari enzimin (Celluclast® 1.5L ve Alcalase®) farklı oranları ile pektin izole etmişler, 1:4 celluclast-alcalase oranının sabit pH ve sıcaklıkta en iyi randımanı sağladığını (%6.85) bildirmişlerdir. Bu şekilde esterleşme derecesi <%50 pektin elde edilmiştir (Adetunji ve

ark., 2017). Yan ürünlerin değerlendirilmesi amacıyla yapılmış olan bir çalışmada, elma posasından kimyasal ve enzimatik yöntemler kullanılarak pektin ekstrakte edilmiş ve elde edilen pektinlerin kimyasal, yapısal ve reolojik özelliklerini incelenmiştir. Kimyasal yöntemde elde edilen pektinin galakturonik asit içeriği ve veriminin daha yüksek olduğunu tespit edilmiş; ancak esterleşme dereceleri incelendiğinde, enzimatik yöntem kullanılarak elde edilen pektinin esterleşme derecesinin (%69) kimyasal yöntem ile elde edilen pektinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Min ve ark., 2011).

2.2.3. Subkritik su (sıvı) ekstraksiyonu ile pektin üretimi

Subkritik su; bir değişim evresi olmadan normal kaynama noktasından daha yüksek sıcaklıklara ulaşabilen, yüksek basınçta sıvı sudur. Basınçlı sıcak su ekstraksiyonu olarak da bilinir (Adetunji ve ark., 2017). Subkritik suyun sıcaklığı 100–374°C arasındadır. Ekstra yüksek basınç sayesinde, solvent yüksek sıcaklıklara rağmen sıvı halde bulunmakta, yüksek basınç ve sıcaklık uygulaması sonucu suyun özellikleri önemli ölçüde değişmektedir (Cellat, 2011; Büyüktuncel, 2013).

Subkritik su ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonundan farklıdır. Subkritik su ekstraksiyonu, ısısız olarak kararsız analitler için uygun değilken, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ısısız olarak kararsız analitler için de uygundur. Subkritik su ekstraksiyon sıvısı kritik altı halde iken, süperkritik akışkan ekstraksiyonda kritik üstü haldedir. Subkritik sistemde solvent su veya sıvı iken, diğerinde akışkan gaz ve sıvı hal arasında tek bir faz halinde bulunur. Subkritik sistemde solvent basınç ve sıcaklık değişimi ile hal değiştirmez, yani sıvılaştırma veya buharlaşma olmaz. Subkritik ekstraksiyonda örnek katı veya sıvı olabilir ve örnek yelpazesi süperkritik akışkan ekstraksiyonuna göre daha geniştir (Büyüktuncel, 2013).

Subkritik akışkan ekstraksiyonunda ekstraksiyon esnasında uygulanan yüksek sıcaklık verim ve seçiciliği etkileyen kritik faktörlerden biridir. Ekstrakte edilecek maddeden maksimum verim elde edilmesi için; farklı basınç ve sıcaklıklar kullanılarak o maddeye uygun optimum şartlar belirlenmektedir. Yükseltmiş sıcaklık; van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve dipol çekim gibi, analit-örnek matriksi etkileşimlerinin

bozulmasına yardımcı olur ve ekstraksiyon kinetiğini hızlandırarak ekstraksiyon verimini artırır. Benzer moleküller arasındaki kohezyon (aynı türdeki moleküllerin birbirini çekmesini sağlayan elektriksel kuvvet) ve farklı moleküller arasındaki adhezyon kuvvetlerinin (aynı cins moleküllerin birbirine elektriksel çekim kuvvetiyle tutunması) üstesinden gelinmesine yardımcı olur. Böylelikle geri bırakma (desorpsiyon) süreci için gerekli, aktivasyon enerjisi azalır. Çözünenin ve matriksin yüzey gerilimini, yüksek sıcaklık nedeniyle düşer. Solventin yüzey geriliminde meydana gelen azalma, solvent kavitesinin kolaylıkla oluşmasını sağlar. Analitler solventte daha hızlı çözünür, solventin viskozitesi azaldığından matriksin içine girmesi kolaylaşır. Sıcaklık, güçlü analit ve matriks etkileşimlerinin bozulmasını sağlayarak difüzyon hızını artırır ve daha hızlı ekstraksiyonlar gerçekleşir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonun başlıca avantajı, ekstraksiyon için gerekli solvent miktarını önemli ölçüde azaltmasıdır ve ekstraksiyon sürecinin hızını artıran yüksek difüzyona sahip sıvıların proseste kullanılmasıdır. Ekstraksiyon, yüksek basınç sayesinde, solventin atmosferik kaynama noktasının üstündeki bir sıcaklıkta gerçekleştirilir. Ekstra yüksek sıcaklığın etkisi ile analitlerin yayılma gücü ve çözünürlüğü artmaktadır. Bu şekilde ekstraksiyon daha hızlı ve daha etkin hale gelmektedir. Solventin analite ulaşmasını engelleyen, matrikste bulunan hava kabarcıkları sebebiyle oluşabilecek problemler, yüksek basınç sayesinde kontrol altına alınmaktadır (Cellat, 2011; Büyüktuncel, 2013). Bu yöntemde; yüksek kalitede ekstrakt elde edildiği gibi, ekstraksiyon sonunda filtrasyon gerektirmemektedir. Su gibi güvenli bir çözücünün kullanılması ise ayrıca gıda ve farmakolojik uygulamalar açısından avantajlıdır (Adetunji ve ark., 2017); ancak ısısal kararlı olmayan örnekler için uygun değildir (Cellat, 2011; Büyüktuncel, 2013).

Subkritik sistemlerde; ekstraksiyon süresi, seçilen solvent, solventi hacmi ve örnek miktarı ekstraksiyon verimini etkileyen değişkenlerdir. Örneğin bileşiminin (su içeriği, partikül boyutu ve heterojenite gibi) yanında, kurutma, öğütme gibi örnek ön hazırlama teknikleri de sonucu etkileyebilir (Büyüktuncel, 2013). Ekstraksiyon sırasında, pektin zincirinin hidrolizi olabilmesi, proses koşullarının kontrol edilebilirliğinin zor olması, verimin ekstraksiyonun yapılacağı matrikse bağımlı olması, yüksek proses maliyeti ise pektin üretimi açısından dezavantajlarıdır (Adetunji ve ark., 2017).

Ueno ve ark. (2008), sarı mandalınadan (*Citrus junos*) subkritik akışkan ekstaksiyonu ile pektin ekstrakte etmiş, 160°C’ de ekstaksiyon hızının arttığını bulmuştur. Wang ve ark. (2014), mandalina kabuğu ve elma ezmesinde subkritik akışkan ekstaksiyonu ile optimizasyon çalışmaları yapmış; mandalınada maksimum verimi (%21.95) 120 °C’de, elmada ise (%16.68) 150 °C’de elde etmiştir (Adetunji ve ark., 2017). Guo ve ark. (2012), yapmış oldukları çalışmada klasik ısıtma, mikrodalga ve ultra yüksek basınç ekstaksiyon yöntemlerini kullanarak portakal kabuklarından pektin ekstrakte etmişlerdir. Ekstaksiyon veriminin ultra yüksek basınç ekstaksiyon yönteminde diğer yöntemlere göre daha yüksek olduğunu ve elde edilen pektininin daha iyi fizikokimyasal, reolojik ve jelleşme özelliği gösterdiğini belirtmişlerdir. Ultra yüksek basınç ekstaksiyon yönteminin zaman kazandıran, çevre dostu özellikleri nedeniyle de ekstaksiyonda kullanılabilir etkili bir yöntem olduğunu vurgulamışlardır.

2.2.4. Ultrases destekli ekstaksiyon ile pektin üretimi

İnsan kulağı işitme aralığı 1-16 khz arasındadır ve 20 khz frekanslı ses dalgaları ultrases olarak adlandırılmaktadır. Sıvı bir ortamda bu dalgalar genişleme döngüsü olan büyüyen kabarcıklar oluşturur. Bu olay, kavitasyon olarak adlandırılır (Adetunji ve ark., 2017; Büyüktuncel, 2013). Ultrases esnasında oluşan kavitasyon, sıvı ortam içerisinde çok sayıda ufak kabarcık üreterek, katıların mekanik olarak sarsılmasına neden olur ve bunun sonucunda partiküllerin kopmasını sağlar. Ses dalgaları; katı örnek ile solvent arasında analitin ekstaksiyonu ile sonuçlanan etkin bir temas sağlar. Katı örneklerde ekstaksiyonu sağlarken, sıvı örneklerde, homojenizasyonu ve emülsiyonu desteklemek amacıyla da kullanılabilir (Bayraktaroğlu ve Obuz, 2006).

Ultrases destekli ekstaksiyon sisteminde ultrasonik prop ve ultrasonik banyo sistemi olarak adlandırılan iki sistem vardır. Ultrasonik banyo daha ucuz bir sistemdir ve ayrıca prop sistemine göre, aynı anda daha çok sayıda örnek ekstrakte edilebilir, bu nedenle daha yaygın kullanılmaktadır; ancak, ultrasonik banyoyu ekstaksiyon prosesi açısından kısıtlayan iki dezavantaj vardır;

- a) ultrases enerjisinin düzensiz yayılması ve
- b) zamanla gücün azalması ve sonuçta tedarik edilen enerjinin kısmen boşa harcanmış olmasıdır (Adetunji ve ark., 2017).

Ultrasonik proplarda ise, bu durumun zıttı olarak enerji daha etkili sıvı kavitasyonu sağlamak için, özel örnek bölgelerinde odaklanabilir. Böylelikle enerji tasarrufu ve enerjinin homojen dağılımı sağlanmış olur. Laboratuvar ölçekli pektin ekstraksiyon çalışmalarında, prop üniteleri daha çok popülerdir (Adetunji ve ark., 2017); fakat ultrasonik uçların pahalı, kullanım ömürlerinin kısa olması ve daha az sayıda örnek ekstrakte edilmesi başlıca dezavantajlarıdır (Büyüktünel, 2013).

Ultrases destekli ekstraksiyonda; çözücü biyokütle oranı, sıcaklık, basınç, frekans ve sonikasyon zamanı gibi faktörler ekstraksiyon verimini etkileyen faktörlerdir (Adetunji ve ark., 2017). Ayrıca kullanılacak bitkinin karakteristik özellikleri (nem içeriği, partikül boyutu) solvent miktarı ve içeriği (asit, baz özelliği vs.) oldukça etkilidir (Adetunji ve ark., 2017). Ekstrasyon süresi kısadır, çünkü ultrasesin etkisi, solventin dokuların içerisine difüzyonunu hızlandırır. Daha hızlı ısı kütle transferi ve düşük çözücü kullanımı sağlar. Ultrases ile hücre duvarını parçaladığından hücre içi bileşen, çözücü solvente kolaylıkla geçebilir. Ayrıca bu işlemde, enerji tüketimi düşüktür ve daha etkili karıştırma, düşük ekstraksiyon sıcaklığı, seçici bir ekstraksiyon, küçük ekipman boyutu, daha hızlı çalışma, proses işlemine daha hızlı tepki verme, klasik ekstraksiyon aşamalarında kullanılan bazı proses aşamalarının eliminizasyonu ve verim artışı gibi avantajları vardır (Adetunji ve ark., 2017). Bununla birlikte, ultrases destekli ekstraksiyon pahalı bir sistemdir ve verim kullanılan materyallere göre değişken olup, her zaman iyi sonuç vermeyebilir. Gelişen teknoloji ile ultrasesin birçok alanda kullanılmaya başlanmasına rağmen, gıda endüstrisinde ek maliyet getirmesi nedeniyle kullanımının yaygınlaşması için hala geliştirilmesine ihtiyaç vardır (Adetunji ve ark., 2017).

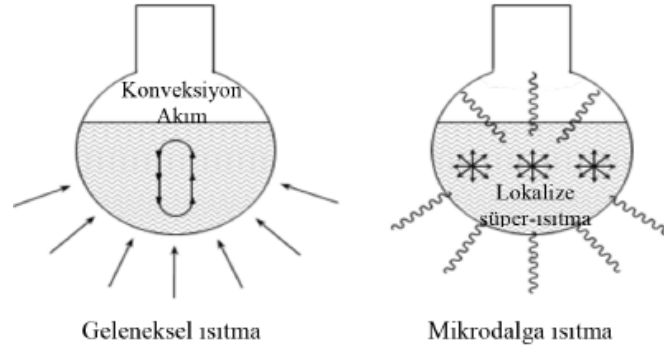
Bagherian ve ark. (2011), greyfurt kabuğundan ultrases destekli ekstraksiyon ile pektin üretmiş ve en önemli faktörün zaman ve kullanılan sıcaklık olduğunu açıklamıştır. Ayrıca proseste devamlı ultrases uygulamasına göre, aralıklı ultrases uygulamasının

daha yüksek verim sağladığını belirtmişlerdir. Moorthy ve ark. (2015), nar kabuğundan ultrases destekli ekstraksiyon ile optimizasyon çalışması yapmış; optimum katı sıvı oranını 1:17.52 g/ml, optimum pH'yı 1.27, optimum zamanı 28.31 dakika, optimum sıcaklığı ise 61.9°C belirlemişler ve bu koşullar altında yapılan ekstraksiyonda, verimi %24.05 olarak bulmuşlardır. Wang ve ark. (2015), greylift kabuğundan klasik ekstraksiyon ile ultrases destekli ekstraksiyonu karşılaştırmış; ultrases ekstraksiyonun pektin verimini %16 arttırdığı ve ekstraksiyon zamanını da %38 kısalttığını tespit etmişlerdir. Bu ekstraksiyon sonunda daha iyi renk kalitesinde pektin eldesinin sağlandığını, ayrıca mikroyapıların sıcaklıktan daha az etkilenecek kimyasal yapısının da korunduğunu belirtmişlerdir.

2.2.5. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektin üretimi

Mikrodalgalar 0.3–300 GHz aralığında değişen elektromanyetik dalgalardır ve son yıllarda ekstraksiyon için oldukça yaygın olarak kullanılmaya başlanan ve araştırmalarında yoğunlaştığı, aynı zamanda diğer yöntemlere göre pek çok avantajı olan bir yöntemdir. Daha kısa zaman ve daha az çözücü ile ekstraksiyonu gerçekleştirmesi, yüksek verimi, düşük maliyette daha kaliteli ürün elde edilmesi gibi avantajları bulunmaktadır (Cellat, 2011).

Mikrodalga teknolojisi ile ısıtma sistemi, ısıtılacak örneğe derinlemesine nüfuz edebilen elektromanyetik enerji formunda olması nedeniyle klasik ısıtmadan farklıdır. Klasik ısıtmada taşınım ve yayılma gibi standart ısı transfer mekanizmaları ile numune ısıtır. Mikrodalga sistemi ise ortam ısıtılmaksızın sadece numune matrisine odaklı, seçimlidir ve numunenin çok daha hızlı ısınabilmesi avantajına sahiptir (Şekil 2.4) (Mahesar ve ark., 2008; Önel, 2010).



Şekil 2.4. Isıtma modelleri (Büyüktuncel, 2013)

Mikrodalga destekli ekstraksiyonda ısıtma prosesi, iyonik iletkenlik ve dipol dönüşü olmak üzere iki ilkeye dayanmaktadır (Mahesar ve ark., 2008; Öno, 2010). İyonik iletim, mikrodalga ile üretilen elektrik alanının etkisi altındaki yük taşıyıcılarının elektroforetik göçünü ifade eder. Dipol molekülleri aynı alanda elektrik alanını takip etmeye çalıştıklarında dipol dönüşü meydana gelir. Böylece polarize olmuş moleküller bir düzene girmiş olur (Mahesar ve ark., 2008). Mikrodalgaların meydana getirdiği bu iki etkinin sonucunda moleküller harekete geçer, pektinin mikrodalga enerjisi ile hücre duvar matriksinin gevşemesi ve solventin bitki matrisine penetrasyonu artar, ısınmada etkisiyle pektinin ekstraksiyonu gerçekleşir. Polar moleküller ve iyonik türlerin varlığında, mikrodalga enerjisi daha hızlı bir şekilde yayılmaktadır (Cellat, 2011; Adetunji ve ark., 2017). Mikrodalga destekli ekstraksiyonda mikrodalga gücü, çözücünün içeriği, bitki materyali, ekstraksiyon süresi, sıcaklığı, pH ve örnek ağırlığı ekstraksiyon verimini etkileyen önemli parametrelerdir (Thirugnanasambandham ve ark., 2015).

Mikrodalga ekstraksiyonun yüksek verimle sonuçlanması için en önemli parametrelerden biri uygun solvent seçimidir. Solventin seçiminde mikrodalga ısıtmasını absorplaması, matriksin solvent ile etkileşimi ve solvent içerisinde analitin çözünürlüğü göz önüne alınmalıdır. Solventin dipol momentini büyüdükçe, mikrodalga etkisi ile daha hızlı ısınacaktır. Dipol momentini düşük bir solvent kullanılacaksa, ısınmayı hızlandırmak için dipol momentini yüksek solventlerle belli oranda karıştırılması gerekmektedir (Büyüktuncel, 2013).

Kapalı kap sistemi ve açık kap sistemi olarak iki tip mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi kullanılabilir. Kapalı sistemde hücrelerin ışınlanması eş zamanlı olurken, açık sistemde kaplar sıralı olarak ışınlanır. Açık sistemde atmosfer basıncı nedeniyle kaynama noktası sabit ve sınırlı olur. Kapalı sistemde basınç faktörü kullanılarak sıcaklık istenen düzeye yükseltilebilir. Bu sistem uçucu bileşikler gibi kayba uğrayabilecek bileşenler için uygundur. Kapalı sistemlerde işlem güvenliği için sıcaklığın düşmesi beklendikten sonra kap açılmalıdır (Büyüktuncel, 2013).

Mikrodalga destekli ekstraksiyonun en önemli avantajı kısa zamanda uygulanabilmesidir. Örneğin, klasik ekstraksiyon için 20 saatten fazla zamana ihtiyaç varken mikrodalgada birkaç dakika yeterli olabilmektedir. Subkritik akışkan ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında mikrodalga sistemin aparatları hem daha basit hem de ucuzdur. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda materyallerin kılcal gözeneklere su absorblama kapasitesini artırarak, düşük miktarda çözücüye gereksinim duymaktadır (Maran ve ark., 2013).

Wang ve ark. (2007), elma posasından mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişler ve verimi 0.315 g/2 g (kurutulmuş elma posası) olarak bulmuştur. Maran ve ark. (2013), portakal kabuğundan mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektin ekstraksiyonu optimizasyonunda; optimum mikrodalga gücünü 420 W, zamanı 169 saniye, katı sıvı oranı ise 0.059 olarak tespit etmişler, bu koşullarda yapılan ekstraksiyonda maximum verimi %19.24 olarak bulmuşlardır. Li ve ark. (2012), şeker pancarı posasında mikrodalga ile ekstraksiyon metodu kullanarak pektin ekstraksiyonunda pH, süre (dakika), mikrodalga gücü (W) gibi değişkenlerin tamamının verim üzerinde önemli düzeyde etkili olduğunu belirlemişlerdir. Bütün değişkenler için verimin en yüksek olduğu optimum koşulların 152.63 W, 3.53 dakika, pH 1.57 olduğunu bildirmişlerdir. Ortalama molekül ağırlığında ise, en etkili parametrenin ise pH olduğunu vurgulamışlardır.

Pektinin mikrodalga ile ekstraksiyonu birçok araştırmacı tarafından incelenmiş olsada, sonuçta ürün gıda uygulamasında kullanılacaksa, işlemde yine de verime ve sağlığa daha fazla odaklanması gerekmektedir (Adetunji ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda

mikrodalga da uygulanan gücün 420 W'dan daha yüksek olduğunda, verimin azaldığı tespit edilmiştir (Maran ve ark., 2015). Ayrıca mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektinin ekstraksiyonu sırasında, diğer polisakaritlerin ekstrakte edilebilme riski olduğunu rapor etmişlerdir. Bu nedenle, mevcut yöntemin iyileştirilmesi gerekmektedir.

2.3. Pektinin Kullanım Alanları

Pektin (E 440) bir gıda katkı maddesi olarak kullanımı gıda endüstrisinde çok yaygındır. Kıvam verici ve jelleştirici olarak gıda, kozmetik, ilaç sanayinde ve tıbbi işlemlerde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Arslan ve Aşan, 1993).

2.3.1. Pektinin gıda sanayisinde kullanımı

Pektin jel yapıcı, kıvam verici, emülgatör ve stabilizör özelliğinden dolayı meyve ve sebze sularında, reçellerde, pasta jölelerinde, marmelatlar, şekerlemelerde, meyveli krema ve süt ürünlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Marmelat, jöle ve meyve suyu endüstrisinde, dondurma, balık konservesi, mayonez ve sosların üretiminde 1-5 g/kg kadar, eritme peyniri üretiminde ise 8 g/kg dolaylarında yüksek esterleşme derecesine sahip pektin kullanılmaktadır (Yıldırım, 2013). Düşük metoksilli pektinlerin şekersiz ortamlarda jel oluşturabilmeleri nedeniyle, özellikle et ve balık ürünlerinde kullanımı için önemlidir. Yavaş sertleşen pektinler şeker endüstrisinde, hızlı sertleşen pektinler ise genellikle reçellerde kullanılmaktadırlar (Gürbüz ve Tekinşen, 1993). Reçel marmelat ve jöle yapımında kullanılan pektin; pürüzsüz ve düzgün bir jel yapısı sağlaması, su salmasının az olması, parlak bir görünüm kazandırması, ürün içinde homojen dağılması, ürün içinde meyve parçalarının belirli bir oranda dağılımını sağlaması, ürünün doğal tadını bozmaması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Herbstreith ve Fox, 2017). Meyvede bulunan pektin miktarının istenen jel yapısının oluşmasını sağlamada yeterli olmaması nedeniyle, reçel ve marmelat yapımında ürüne ek olarak pektin ilave edilmektedir. Pektin ilavesiyle üründe istenen kıvam sağlanabilir. Bu kıvama ulaşmak için şeker kullanılacak olursa, istenen kıvama ulaşmak yerine, üründe şekerlenme meydana gelebilmektedir (Cemeroğlu, 2004).

Pektin süt ürünlerinde stabilizör olarak kullanılmaktadır. Düşük pH'lı süt ürünlerinde kazein ile kompleks oluşturur (Arslan ve Aan, 1993) ve bu özelliği sayesinde yoğurdun yapısını düzeltir (Yıldırım, 2013). %0.2 miktarında düşük metoksilli pektin kullanımı ile fermentasyon sırasında oluşan doğal yapıkanlık artar ve yoğurdun sabit bir yapı kazanması sağlanır. Daha fazla miktarda pektin kullanılması durumunda, vizkozitede artış meydana gelmekte ve yoğurt kumsu bir yapı kazanmaktadır. Sütün doğal pH'sında kazein miselleri üniform kolloidal süspansiyon halinde, negatif yüke sahiptir ve bu miseller birbirini iterler. Yoğurt yapımında pH drldğinde, kazein izoelektrik noktasında (pH=4.6) koagüle olur ve bu pH da kazein miselleri pozitif yükle yüklenir. Bu aşamada yoğurda pektin ilave edildiğinde, düşük pH değerlerinde pektin molekülleri negatif yüklü olduğundan, pozitif yüklü kazein miselleri ile arasında karşılıklı etkileşim olur ve stabil bir kompleks oluşur. Böylece pektinin koruyucu kolloid etkisi ile kazein misellerinin çökmesi önlenerek yoğurdun uzun süre dayanması sağlanır (Gürbüz ve Tekinen, 1993).

Şekerleme endüstrisinde kullanılan pektin ekerlemeye elastik yapı sağlaması, meyvenin doğal tadını güçlendirmesi ve düzgün, parlak bir yapı sağlaması nedeniyle kullanılmaktadır (Kar ve Arslan, 1999; Herbstreith ve Fox, 2017). Pektin, ketçap ve sosların özel kıvamının sağlanmasında; özellikle mayonezin su tutma kapasitesini ve tekstürünü geliştirmede kullanılır (Kar ve Arslan, 1999; Willats ve ark., 2006; Herbstreith ve Fox, 2017). Fırıncılık rnlerinde bayatlamayı geciktirmek için kullanılır. Paketleme malzemesi olarak pektinat filmleri halinde ürün kalitesini arttırmak için kullanılır (Anonim, 2016). Pektin, bazı fırcılık ürünlerinde dolgu olarak kullanılacak meyveler hazırlanırken kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan yüksek metoksilli pektin jelinin yapısı ısı ile değimeyeceğinden meyvenin dolgudan sızmasını ve ürünün deformasyonunu önlemekte, dolgunun meyve tadını korumasını ve düzgün bir görünüme sahip olmasını sağlamaktadır (Herbstreith ve Fox, 2017).

2.3.2. Pektinin ilaç sanayisinde kullanımı

İlaç endüstrisinde pektin, ishali iyileştirmek için üretilen bazı ilaçların bileşiminde de kullanılmaktadır. Yatıtırıcı ve yara iyileştirici özelliği bulunmaktadır. Kanseri

hücrelerindeki büyüme ve gelişmeyi azaltıcı etkisi vardır. Pektin ince bağırsaktan sindirilmeden geçer diyet lifi görevi görür ve kandaki kolesterol oranını düşürmeye yardımcı olur. Safra ve yiyeceklerden kolesterol emiliminin azalmasına yol açarak, bağırsak içerisinde viskoziteyi artırır. Kalın bağırsakta ve kolonda mikroorganizmalar pektini parçalar, fermente ederek, sağlık üzerinde olumlu etkisi olduğu bilinen kısa zincirli yağ asitlerini ortaya çıkarır (Maraş ve ark., 2004; Srivastava ve Malviya, 2011). Yapılmış olan bir çalışmada, deney hayvanlarının diyetine greyfurt pektini eklenerek kan değerleri incelenmiş ve diyetine pektin eklenmemiş grupta toplam kolesterol değerini 249 mg/dl, diyetine pektin eklenmiş grupta ise 168 mg/dl olarak tespit ettiklerini belirtmişlerdir (Baekey ve ark., 1988).

2.3.3 Pektinin kozmetik, kâğıt ve tekstil sanayisinde kullanımı

Pektinin su-yağ emülsiyonlarında emülsiyon tutucu ve ince bir tabaka haline getirilebilme özelliğinden dolayı kozmetik alanındaki ürünlerin doğal yapılarının sağlanmasında, kâğıt ve tekstil sanayilerinde kullanılmaktadır (Srivastava ve Malviya, 2011). Tekstil sektöründe pektin, karboksimetil selüloz içeren alginat elyafı üretiminde kullanılmaktadır. Sodyum alginat, karboksimetil selüloz ve yüksek metoksilli pektinle hazırlanan karışımın elyaf üretim sıvısı içine eklenmesi ile alginat elyafının emiş kapasitesi artırılarak iyon değişimi kolaylaştırılır. Bu şekilde oldukça emici ve dokusuz yüzeyler elde edilebilir (Küçükçapraz ve ark., 2016).

2.4. Greyfurt Kabukları

Greyfurt (*Citrus paradisi*), sedef otugiller (*Rutaceae*) familyasından olup, 1750'li yıllarda Jamaika'da ortaya çıkmış doğal hibrid bir meyvedir. Jamaika'nın yerli tatlı portakalının yanında yetiştirilmek üzere, Kaptan Shaddock tarafından Güney Asya'dan getirilen bir pomelo türüdür. Bu tür, yerli tatlı portakal ile tozlaşmaya girerek 3. bir tür olan greyfurtu ortaya çıkarmış ve Jamaika'dan tüm dünyaya yayılmıştır. Greyfurt üretimi en fazla Çin Halk Cumhuriyeti'ndedir. Ülkemiz dünya greyfurt üretiminin %5'ini oluşturmaktadır (Anonim 2016). FAO (2015) verilerine göre Dünya turunçgil üretiminde; Türkiye (104 bin hektar alanda 3.6 milyon ton üretim) 6. sırada yer

almaktadır. Ülkemizde, özellikle Akdeniz ve Ege Bölgeleri'nde yetiştirilmektedir (Anonim 2018).

Sonbaharda olgunlaşan greyfurt meyvesi, kalın kabuklu ve çeşitlerine göre sarı, kırmızı ya da pembe etlidir. Çeşitlerine göre adlandırılması şu şekildedir:

- Star Ruby: Meyve eti ve kabuğu kırmızıdır. Çok sık ve çalı gibi bir dal yapısına sahip olması meyvenin büyümesini engellediğinden yetiştirilmesi oldukça zordur.
- Flame: Renkli, düzgün yuvarlak meyveli, ince pürüzsüz kabuklu bir greyfurt çeşitidir. Diğer çeşitlere göre meyve suyu miktarı daha fazladır. Kabuk rengi Star Ruby'den koyudur; bununla beraber Star Ruby gibi soğuğa duyarlı değildir.
- Henderson: Star Ruby'ye benzer ama verimi daha yüksektir ve ekolojik şartlara uyumu daha iyidir. Meyvesi ve kabuğu diğer türlere göre daha koyudur. Diğer türlere göre daha erken hasat edilir. Tadı ve görüntüsü sayesinde taze tüketime daha elverişli bir türdür.
- Ray Ruby: Şekerli, renkli bir greyfurt çeşididir. Meyvesi Star Ruby'den biraz daha şekerli ve daha koyu renklidir.
- Rio Red: Ağaçları güçlü, meyvesi az çekirdeklidir ve kabuğu zor soyulur.
- Ruby Red: Dünyada en çok üretimi yapılan çeşididir. Meyvesi pembe renkli, meyve suyu beyazdır. Ağaçta uzun süre kalabilir, 4 ay süreyle depolanabilir. Verimi istikrarlı ve yüksek olduğundan ülkemizde çok yetiştirilen bir türdür.
- Marsh Seedless: Beyaz renklidir, verimi yüksektir; ancak ülkemizde çok yetiştirilmez (Anonim 2018).

Greyfurt kabukları kuru madde bazında %20-30 oranında pektin içermektedir ve elma posasından elde edilen pektine göre turunçgil kabuğundan elde edilen pektin daha açık renkli ve görsel açıdan daha kalitelidir. Güzel ve Akpınar (2017) tarafından çeşitli turunçgiller üzerinde yapılan pektin ekstraksiyonu çalışmasında, en yüksek verime %22.09 ile greyfurt kabuğunun sahip olduğu tespit edilmiştir. Bagherian ve ark. (2011), yaptıkları bir çalışmada asit, mikrodalga ve ultrases ile ekstraksiyon yöntemlerini greyfurttan pektin ekstraksiyonunda kullanmışlar. En yüksek verimi 900 W gücünde ve

6 dakika süresinde, %27.81 olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada yine greyfurt kabuğundan pektin üretilmiş, ultrases destekli ekstraksiyon ile 70°C’de 20 dakikada %17.92 verim elde edilmiştir. Wang ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada çalışmada 66.71 °C, 27.95 dakikada %27.34 verimle pektin üretilmiştir.

2.5. Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology-RSM)

Yanıt yüzey yöntemi, 1951 yılında Box ve Wilson tarafından geliştirilmiş olup “proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntem” olarak tanımlanmaktadır (Myers ve Montgomery, 1995). Amacı; deneyler için gerekli olan zaman, emek, maliyet gereksinimini en aza indirgeyerek optimum deney koşullarını elde etmek ve çalışılan konuya ilişkin bir matematiksel formülasyon gerçekleştirmektir (Değirmecioglu ve Yazgi, 2006). Yanıt yüzey yöntemi, sistemin yanıtı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılır. Bağımsız değişkenler, prosesi etkileyen parametrelerdir, yanıtlar ise bağımlı değişkenlerdir. Yanıtların izohips eğrilerinin üst üste yerleştirilmesi veya istenilen hedefe ulaşma fonksiyonu veya lineer olmayan programlama yöntemleri kullanılarak optimum noktalar belirlenir. Yanıt yüzey yöntemi; eleme denemeleri, bölge araştırması ve işlemin veya ürünün optimizasyonu olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. Eleme denemeleri, daha az sayıda ve daha verimli deneme yapılmasına olanak sağlarken, bölge araştırması eleme denemelerinde elde edilen bağımsız değişkenlerin sistem yanıtında oluşturdukları değerlerin, optimum noktaya yakın sonuçlar verip vermediğini belirlemektedir. Optimum noktaya yaklaşıldığında optimizasyon aşaması başlar, gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli bir eğrilik gösterir ve tahminlenmesinde lineer olmayan modeller, ikinci dereceden polinomial modeller, üssel modeller veya eksponensiyel modeller kullanılmaktadır. Uygun model, optimum noktanın tahminlenmesinde kullanılır (Koç ve Ertekin, 2009; Baş, 2010). Deneme desenlerinin oluşturulmasında aşağıda sıralanan iki farklı tasarım kullanılmaktadır.

1. Box-Wilson merkez esaslı bileşik tasarım (CCD) modeli bir merkez noktalı tam ya da kısmi 2^k faktoriyel dağılımını içerir. Yıldız noktasını, bir faktör olarak tasarım daima 2 kez içerir. 3 tipi bulunmaktadır:

- a) İlgili alanını dıştan çevreleyen tasarım (CCC); tüm deney alanında yüksek tahminleme yapılmasını sağlar ve her faktör için 5 seviyeye ihtiyaç vardır.
- b) İlgili alanını içten çevreleyen tasarım (CCD); belirli faktör limitlerinde tam ya da kısmi faktöriyel tasarım yaratır ve her faktör için 5 seviyeye ihtiyaç vardır.
- c) Yüz merkezli tasarım (CCF); her faktör için 3 seviyeye ihtiyaç vardır.

2. Box-Behnken tasarım (BB) tam ya da kısmi faktöriyel tasarım içermeyen en az işlem gerektiren tasarımdır ve her faktör için 3 seviyeye ihtiyaç vardır (Değirmecioğlu ve Yazgı, 2006).

Şimdiye kadar yanıt yüzey yöntemi pektin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için pek çok çalışmada kullanılmıştır. Moorthy ve ark. (2016) tarafından nar kabuğundan pektin ekstrakte edilen çalışmada sıvı katı oranı (1:10-1:20 g/ml), pH (1-2), ekstraksiyon zamanı (15-35 dakika) ve ekstraksiyon sıcaklığı (50–70°C) bağımsız değişkenler olarak alınmış, verime ulaşmak için 29 deney yapılmış, en yüksek verim %23.87 olarak bulunmuştur. Mosayebi ve Yazdi (2015) tarafından, kurutulmuş karaduttan mikrodalga ile pektin ekstraksiyonunda Box-Wilson yüz merkezli dizayn (CCF) yöntemi ile 20 deney yapılmıştır. Bağımsız değişkenler olarak ekstraksiyon zamanı (10-20-30 dakika), mikrodalga gücü (300-600-900 W), sıvı katı oranı (15-22.5-30 ml/g) kullanılmış, en yüksek verim 900 W, 20 dakika, 22.5 ml/g koşullarında % 14.47 olarak bulunmuştur. Maran ve Parakash (2014) tarafından papaya meyvesinin kabuğundan mikrodalga ile pektin ekstrakte edilen çalışmada; ekstraksiyon zamanı (20-100-180 sn), mikrodalga gücü (320-480-640 W), sıvı katı oranı (5-15-25 ml/g), pH (1-2-3) bağımsız değişkenler olarak kullanılmış, 29 deney yapılmış, bu deney sonuçlarından elde edilen verimlere göre optimum koşullar belirlenmiştir. En yüksek verim 512 W, 140 sn, 15 ml/g, pH 1.8 koşullarında %25.41 olarak bulunmuştur. Hosseini ve ark. (2016) tarafından ekşi portakal kabuğundan mikrodalga ile pektin ekstraksiyonu yapılmış ve bu çalışmada Box–Behnken yanıt yüzey yöntemi kullanılmış, bağımsız değişkenler ekstraksiyon zamanı (1-2-3 dak.), mikrodalga gücü (300-500-700 W) ve pH (1.5-2.25-3) olarak belirlenmiştir. En yüksek verim 700 W, 3 dak, pH 1.5 koşullarında %29.1 olarak bulunmuştur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Greyfurt kabukları yerel marketlerden temin edilen greyfurtlardan (ruby red) elde edilmiştir. Kabuklar doğrayıcı vasıtasıyla parçalanıp, oda sıcaklığında kurutulup, öğütüldükten sonra kullanılıncaya kadar +4 °C' de depolanmıştır.

Ticari pektin örneği Tito (Yantai Andre Pectin Co. Ltd., Çin) firmasından alınmıştır. Kullanılan bütün kimyasallar Sigma (Sigma Chemical Company, MO, USA), Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ya da Alfa Aesar (Alfa Aesar GmbH & Co KG, Germany) firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Pektinin klasik yöntemle ekstraksiyonu

Pektin klasik ekstraksiyon prosedürü Whistler ve BeMiller, (1973)'e göre gerçekleştirilmiştir. Öğütülen greyfurt kabukları (1 g), payreks şişelerde (100 ml) farklı hacimlerde (20-30-40 ml) ve farklı pH' lara (1-1.5-2) ayarlı asidik su (asitli suların pH' ları sülfürik asitle ayarlanmıştır) ile karıştırılmış, 80°C'ye ayarlı karıştırılmalı su banyosunda (Memmert WB 22, Almanya) pektinler farklı sürelerde (1-2-3 saat) ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen pektini çöktürmek amacıyla %96' lık etil alkol ile ilave edilmiş ve +4°C' de buzdolabında 24 saat bekletilmiştir. 24 saat sonunda pektin filtrasyonla izole edilmiş ve %96' lık etil alkol ile 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra etüvide 45 °C' de kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra pektin öğütülerek toz pektin elde edilmiştir. Pektin verimi aşağıdaki formülle bulunmuştur.

$$\text{Verim}=(m_0/m)\times 100 \quad (3.1)$$

m_0 = g cinsinden kurutulmuş pektinin ağırlığı

m = g cinsinden kurutulmuş greyfurt kabuklarının ağırlığı

3.2.2. Pektinin mikrodalga ile ekstraksiyonu

Pektin mikrodalga ekstraksiyonu Wang ve ark. (2007)'e göre gerçekleştirilmiştir. Evsel mikrodalga fırın kullanılmıştır (Arçelik MD 554, Türkiye). Öğütülen greyfurt kabukları (1 g), payreks şişelerde (100 ml) farklı hacimlerde (20-30-40 ml) ve farklı pH'lara (1-1.5-2) ayarlı asidik su (asitli suların pH'ları sülfürik asitle ayarlanmıştır) ile karıştırılmış, 360 W mikrodalga gücüne ayarlı mikrodalga fırınında pektinler farklı sürelerde (30-60-90 s) ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen pektini çöktürmek amacıyla %96'lık etil alkol ile ilave edilmiş ve +4°C' de buzdolabında 24 saat bekletilmiştir. 24 saat sonunda pektin filtrasyonla izole edilmiş ve %96'lık etil alkol ile 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra etüvde 45°C' de kurutulmuştur. Pektin verimi aşağıdaki formülle bulunmuştur.

$$\text{Verim}=(m_0/m)\times 100 \quad (3.2)$$

m_0 = g cinsinden kurutulmuş pektinin ağırlığı

m = g cinsinden kurutulmuş greyfurt kabuklarının ağırlığı

3.2.3. Deneysel tasarım ve yanıt yüzey yöntemi ile ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu

Her iki ekstraksiyon yöntemi için de optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Klasik yöntemle pektin ekstraksiyonunda bağımsız değişkenlerin değer aralıklarının seçiminde literatür taraması sonuçlarından yararlanılmıştır, ekstraksiyon atık/solvent oranı (20-40 ml/g), süre (1-3 saat) ve solvent pH'sı (1-1.5) bakımından optimize edilmiştir. Mikrodalga ile pektin ekstraksiyonunda, bağımsız değişkenlerin değer aralıklarının seçiminde literatür taraması ve ön denemelerin sonuçlarından yararlanılmıştır, ekstraksiyon atık/solvent oranı (20-40 ml/g), süre (30-90 saniye) ve solvent pH'sı (1-1.5) bakımından optimize edilmiştir. Optimizasyon için bir yanıt yüzey yöntemi olan üç değişkenli ve üç seviyeli Box–Behnken tasarımı kullanılmıştır ve detaylar aşağıda çözülmüştür.

Bağımsız değişkenler: atık/solvent oranı, süre, solvent pH'sı

Bağımlı değişken: Pektin verimi

Çizelge 3.1. Mikrodalga destekli ekstraksiyon için denenen bağımsız değişkenlerin değerleri

Bağımsız Değişkenler		-1	0	+1
Süre (saniye)	X ₁	30	60	90
pH	X ₂	1.0	1.5	2.0
SK oranı (ml/g)	X ₃	20	30	40

Çizelge 3.2. Klasik ekstraksiyon için denenen bağımsız değişkenlerin değerleri

Bağımsız Değişkenler		-1	0	+1
Süre (saat)	X ₁	1	2	3
pH	X ₂	1.0	1.5	2.0
SK oranı (ml/g)	X ₃	20	30	40

Pektin veriminin maksimum olduğu koşullar optimum hidrolizasyon koşulları olarak seçilmiştir. Optimum koşullar için seçilen model aşağıdaki eşitlikte (Eşitlik 3.3) açıklanmıştır:

$$Y=b_0+b_1X_1+b_2X_2+b_3X_3+b_{11}X_1+b_{22}X_2+b_{33}X_3+b_{12}X_1X_2+b_{13}X_1X_3+b_{23}X_2X_3 \quad (3.3)$$

Eşitlikte 1 de Y bağımlı değişkenleri b_0 sabit, b_1 , b_2 ve b_3 lineer terimleri, b_{11} , b_{22} ve b_{33} kuadratik terimleri ve X_1 , X_2 ve X_3 bağımsız değişkenleri temsil etmektedir. Design-Expert V7 (Stat-Ease Inc., Minneapolis) programı elde edilen dataların regresyon ve grafiksel analizi için kullanılmıştır. Fischer's testi model eşitliğini elde etmek için Student's t-test regresyon katsayılarının istatistiksel önemini bulmak için kullanılmıştır.

3.2.4. Marmelat üretimi

Optimum ekstraksiyon koşulları belirlenen pektinlerin büyük ölçekte üretimleri yapıldıktan sonra, gıdalardaki etkilerini incelemek için kayısı marmelatı üretiminde kullanılmıştır. Marmelat üretimi; “Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği”ne göre yapılmıştır (Yurdağül, 2007). Kullanılmış olan reçete aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.3. Kayısı marmelatı üretim reçetesi

Meyve veya pulp	1000 g
Şeker	1200 g (10.75 g pektin ile karıştırılacak 43g şeker dahildir.)
Pektin	10.75 g (43 g şekerle karıştırılarak kullanılmıştır)
Sitrik asit çözeltisi (%25'lik)	13.30 ml
Su	200 ml

Öncelikle kayısı ezilip pulp haline getirilmiştir. Hazırlanan meyve pulpu içinde manyetik karıştırıcı bulunan temiz bir behere aktarılmış; dibi tutmaması ve homojen bir yapı elde edilebilmesi için şeker ilave edilerek, karıştırmalı ısıtıcıda ısıtılmıştır. Kaynama başladıktan sonra dijital refraktometre (Hanna HI 96801, Almanya) ile briksi ölçülmüştür. Briks %60'a ulaşıncaya içine 43 g şeker ilave edilmiş pektin eklenmiştir (ilave edilen şeker marmelat hazırlama formülünde belirtilen 1200 g şeker içerisinden tartılarak alınmıştır). Pektin çözülene kadar bir iki dakika kadar daha kaynatılmış ve sitrik asit çözeltisi eklenip, birkaç dakika daha kaynatılmıştır. Üretilen kayısı marmelatı, porsiyonlara bölünmüştür. Numuneler soğuduktan sonra kapların ağzı kapatılarak ve üzerlerine örnek kodları yazılarak panelistlerin tadım yapmaları için hazırlanmıştır.

3.2.5. Duyusal analiz

Hazırlanan marmelat örnekleri 15 katılımcı ile, 9-aralıklı hedonik test ile duyusal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada renk, kıvam, tat ve lezzet ve koku özellikleri değerlendirilmiştir. Örneklerinin konulduğu plastik kaplar rastgele seçilen 3 basamaklı sayılarla kodlanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Panelistlere dağıtılan duyusal değerlendirme formu

	Renk	Kıvam	Koku	Tat lezzet	Genel beğeni
682					
426					
350					
350: Ticari, 426: Klasik, 682: Mikrodalga					
10-9.....	Çok İyi				
8.....	İyi				
7.....	Orta				
6.....	Kötü				
5-4-3-2-1.....	Çok Kötü				

3.2.6. Pektinin soğuk ve sıcak suda çözünürlüğü

0.25 g pektin 10 ml %95' lik etanol karıştırılarak ve üzerine 50 ml destile su eklenip kuvvetlice çalkalanmıştır. Pektinin soğuk suda çözünüp çözülmediğine bakılmıştır. Karışım 85-95 °C' de 15 dakika süre ile çalkalanarak ısıtılmış ve 15 dakika sonunda çözünüp çözünmediğine bakılmıştır (Fishman ve ark., 1984).

3.2.7. Pektinin sıcak ve soğuk alkalide (NaOH) çözünürlüğü

0.25 g pektin 10 ml %95' lik etanol karıştırılıp ve üzerine 50 ml destile su eklenip kuvvetlice çalkalanmıştır. Pektin çözeltilisinden 5 ml alınmıştır. Üzerine 1 ml 0.1 N sodyum hidroksit (NaOH) eklenmiştir. Pektinin soğuk alkalide çözünüp çözünmediğine

bakılmıştır. Karışım 85-90 °C' de 15 dak süre ile çalkalanarak ısıtılmış ve 15 dakika sonunda çözünüp çözülmediğine bakılmıştır (Fishman ve ark., 1984).

3.2.8. Pektinde eküvalent (eşdeğer) ağırlık

0.5 g pektin 5 ml etanol ile ıslatılmış ve üzerine 1 g sodyum klorür eklenmiş 100 ml destile su ve birkaç damla fenol kırmızısı eklenmiştir. Çözelti 0,1 N sodyum hidroksit ile pembe renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir (Aina, 2012). Eküvalent ağırlık aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$EA = (\text{Örnek ağırlığı (g)} \times 1000) / (\text{NaOH sarfiyat (ml)} \times \text{Normalite NaOH}) \quad (3.4)$$

3.2.9. Pektinin metoksil içeriği

0.5 g pektin 5 ml etanol ile ıslatılıp ve üzerine 1 g sodyum klorür eklenmiş 100 ml destile su ve birkaç damla fenol kırmızısı eklenmiştir. Bu solüsyona 0.25 N NaOH çözeltisinden 25 ml eklenip ve çalkalandıktan sonra, oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Sonra 25 ml 0.25 N HCl çözeltisi eklenip ve 0.1 N NaOH çözeltisi ile dönüm noktasına gelene dek titre edilmiştir (Aina, 2012). Metoksil içeriği aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Metoksil içeriği} = [\text{NaOH sarfiyat (ml)} \times \text{Normalite NaOH} \times 31 \times 100] / [\text{örnek ağırlığı (mg)}] \quad (3.5)$$

3.2.10. Pektinin anhidronik asit analizi

Pektinin anhidronik asiti eküvalent ağırlık ve metoksil içeriği değerleri kullanılarak aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır (Azad ve ark., 2014).

$$\% \text{ AUA} = [(176 \times 0.1Z \times 100) / (W \times 1000)] + [(176 \times 0.1Y \times 100) / (W \times 1000)] \quad (3.6)$$

Z= eküvalent ağırlıkta kullanılan NaOH sarfiyat (ml)

Y= metoksil içeriği belirlemede kullanılan NaOH sarfiyat (ml)

W=örnek ağırlığı (g)

3.2.11. Pektinin esterleşme derecesi

Esterleşme derecesi eküvalent ağırlık ve metoksil içeriği değerleri kullanılarak aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır (Azad ve ark., 2014).

$$\% \text{ DE} = [(176 \times \% \text{ MeO}) / (31 \times \% \text{ AUA})] \times 100 \quad (3.7)$$

3.2.12. Pektinin üronik asit içeriği

Örneklerin üronik asit içeriği m-hidroksidifenil metodu ile D-galakturonik asit standardı kullanarak belirlenmiştir (Melton ve Smith, 2001). Örnekler (0.005 g) 2 ml konsantre sülfürik asit ile 20 dakika karıştırıldıktan sonra hacmi 10 ml'ye su ile tamamlanmış ve 10 dakika 2000xg'de santrifüj edilmiştir. Sıvı kısımdan 400 µl alınarak 40 µl 4 M sulfamik asit/potasyum sulfamat çözeltisi (pH 1.6) ile karıştırılarak, üzerlerine sülfürik asit içinde hazırlanmış 2.4 ml 75 mM sodyum tetraborat eklenmiş, su banyosu içinde 20 dakika kaynatılmıştır. Oda sıcaklığına kadar soğutulan örneklere, 80 µl m-hidroksidifenol çözeltisi eklenmiş, 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra absorbanansı spektrofotometrede 525 nm'de okunmuştur. Üronik asit tayininde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı EK I'de verilmiştir.

3.2.13. Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi

Üretilen pektinin yapısı FT-IR (Fourier Transformed Infrared) spektroskopi sistemi kullanılarak infrared spektrumu ile karakterize edilmiştir. Pektinler ayrı ayrı olmak kaydıyla KBr ile basınç altında preslenerek pellet haline dönüştürülmüştür. Bu pelletlerin 400-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında spektrumları alınmıştır. Aynı zamanda pektin örneklerinin esterifikasyon derecesi (DE) serbest karboksil gruplarının (1630 cm⁻¹) ve esterleşmiş grupların (1740 cm⁻¹) pik alan değerleri ile aşağıdaki bağıntı kullanılarak da hesaplanmıştır (Pappas ve ark., 2004).

$$\text{DE} = 124.7 \times R + 2.2013, \quad R = [A_{1740} / (A_{1740} + A_{1630})] \times 100 \quad (3.8)$$

Bu bağıntıda A_{1740} ve A_{1630} metil esterlenmiş ve metil esterlenmemiş karboksil gruplarının sırasıyla 1740 cm^{-1} ve 1630 cm^{-1} 'de bantların absorbans yoğunluklarını ifade etmektedir.

3.2.14. Nem içeriği

Örnek kabı etüvde $100-105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de sabit ağırlığa gelmesi sağlanmıştır. 0.5 g örnek (pektin, marmelat) içerisine konulmuş ve $100-105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Aşağıdaki eşitlikle % nem hesaplanmıştır (AOAC, 2005).

$$\% \text{ nem} = (\text{kayıp ağırlık} / \text{örnek ağırlığı}) \times 100 \quad (3.9)$$

3.2.15. Kül içeriği

0.5 g pektin ve 1 g marmelat örnekleri kuru porselen kaba tartılmıştır. Pektin ve marmelat örnekleri iki ayrı grup olarak $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de 4-6 saat kül fırınında açık gri kül rengi elde edilene kadar yakılmıştır. Aşağıdaki eşitliğe göre hesaplama yapılmıştır (AOAC, 2005).

$$\% \text{ kül} = (\text{atık ağırlığı} / \text{örnek ağırlığı}) \times 100 \quad (3.10)$$

3.2.16. Toplam şeker tayini

Fenol sülfirik asit metodu ile glikoz standardı kullanılarak belirlenmiştir (Dubois ve ark., 1956). 10 mg pektin tartılmış ve tartılan örneğe 5 ml su ilave edilmiştir, üzerine 200 μl 0.1 N NaOH eklenmiştir. Analiz için stok çözelti hazırlanmıştır. Oluşan çözeltilerden boş tüpe 100 μl örnek alınarak, 50 μl %80 lik fenol çözeltilerinden eklenmiştir. Üzerine 2 ml konsantre sülfirik asit eklendikten sonra 10 dakika bekleyip, 490 nm'de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur. Marmelatlarda toplam şeker tayini için, 2 g örnek tartılmış ve 50 ml saf su ile tamamlanarak analiz için stok çözelti hazırlanmıştır. Gerekli seyreltmelerden sonra çözeltilerden 100 μl alınıp, 900 μl su ile tamamlanmıştır. Oluşan çözeltilerden tekrar 100 μl alınıp, 900 μl su ile tamamlanmıştır. Bu çözeltilerden de 50 μl alınıp, 50 μl su ile tamamlanarak marmelat çözeltilerinden 100 μl örnek alınmıştır. Üzerine 50 μl %80 lik fenol çözeltilerinden eklenmiştir. Üzerine 2 ml konsantre sülfirik

asit eklendikten sonra 10 dakika bekleyip, 490 nm' de spektrofotometrede absorbansı okunmuştur.

3.2.17. Protein tayini

Protein Bradford metodu ile Bovin Serum Albumin (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir (Bradford, 1976). Pektinde protein tayini için, 10 mg pektin örneği tartılmış üzerine 5 ml su konulmuştur. 200 µl 0.1 N NaOH eklenmiş ve 2 dakika kaynatılmıştır. Kaynatılan çözeltiler vortekslendikten sonra kapaklı tüplere boşaltılmıştır. Böylelikle analiz için stok pektin çözeltisi hazırlanmıştır. Marmelatta protein tayini için, 2 g örnek tartılmış ve 50 ml saf su ile tamamlanarak analiz için stok marmelat çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden 0.5 ml örnek alınıp, 5 ml Bradford çözeltisi karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra spektrofotometrede 595 nm'de absorbansı okunmuştur. Bradford metodunda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı EK II'de verilmiştir.

3.2.18. Marmelatta indirgen şeker tayini

İndirgen şeker Dinitrosalisilikasit (DNS) metodu ile glikoz standardı kullanılarak belirlenmiştir (Miller, 1959). 2 g alınan örneklerin hacmi 50 ml'ye tamamlanmıştır. 100 µl örnek, 900 µl su ile tamamlanmıştır. Örneklerden, 1ml alınarak üzerine 1.5 ml DNS çözeltisi eklenmiş ve karıştırıcı ile örnekler homojen hale getirilmiştir. 100 °C sıcaklıkta 5 dakika kaynatıldıktan sonra, örnekler buz banyosu yardımıyla oda sıcaklığına soğutulmuş ve oluşan renk glikoz standardına karşılık, spektrofotometrede 560 nm'de okunmuştur. DNS çözeltisinin hazırlanması EK III' de verilmiştir.

3.2.19. Marmelatta asitlik tayini

Asitlik Rangana (1986)' da anlatılan şekilde titrasyon ile belirlenmiştir. 5 g marmelat alınarak ve destile su ile 100 ml balon jöjeye tamamlanmıştır. Hazırlanan solüsyondan erlene 5 ml alınarak üzerine birkaç damla fenol kırmızısı eklenmiştir. 0.1 N' lik NaOH ile titre edilmiştir. Açık pembe renk görülünce titrasyon sona erdirilmiştir. 15 saniyeden

sonra hala renk sabit olduğunda titre değeri kaydedilmiştir. Kaydedilen değer kullanılarak aşağıdaki eşitliğe göre hesaplama yapılmıştır.

$$\% \text{Asitlik} = \frac{\text{titre} \cdot N_{\text{NaOH}} \cdot \text{tamamlanan hacim} \cdot \text{ekivalent ağırlık (sitrik asit cinsinden)} \cdot 100}{\text{örnek hacmi} \cdot \text{örnek ağırlığı} \cdot 1000} \quad (3.11)$$

3.3. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama + standart sapma olarak verilmiştir. SPSS istatistiksel bilgisayar programı sonuçları analiz etmek amacıyla kullanılmıştır (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Deneylede bulunan değerler, %95 güven aralığında, Duncan testi ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Pektinin Mikrodalga Yöntemi ile Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Pektin üretiminde daha yaygın kullanılan metod, pektin kaynağı bitkiden asitlendirilmiş su ile ekstraksiyonu sonrasında etanol ile çöktürülmesidir (Wang ve ark., 2007). Kullanılan klasik yöntem çok uzun zaman almaktadır. Son yıllarda kullanılmaya başlanan mikrodalga destekli pektin ekstraksiyonunda; ekstraksiyon için daha kısa süreye ve daha az çözücüye ihtiyaç duyulur. Ayrıca daha yüksek kaliteli ürün, yüksek ekstraksiyon verimi, düşük maliyet gibi avantajları sayesinde klasik yöntem alternatif ve daha üstün bir yöntem olarak görülmektedir (Cellat, 2011; Adetunji ve ark., 2017). Mikrodalga destekli ekstraksiyon daha kaliteli ve kolay ekstraksiyon sağladığından bu çalışmada mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi tercih edilmiştir. Yapılan araştırmalarda mikrodalgada uygulanan güç 420 W'dan yüksek olduğunda, verimin azaldığı tespit edildiğinden (Maran ve ark., 2015), ekstraksiyon koşulları düşük mikrodalga gücünde optimize edilmiştir.

Mikrodalga yöntemi ile pektin ekstrakte etmek amacıyla yerel marketlerden alınan greyfurtların kabukları kurutularak öğütülmüştür. Öğütülen greyfurt kabukları farklı sıvı/katı (20-30-40 ml/g) oranlarında farklı pH'lara (1-1.5-2) ayarlı asidik su ile karıştırılarak, 360 W mikrodalga gücüne ayarlı, evsel mikrodalga fırında farklı sürelerde (30-60-90 saniye) ekstrakte edilmiştir. Bağımsız değişkenler X_1 süre (saniye), X_2 pH, X_3 sıvı katı oranı (ml/g); ve deneysel veri aralığı Materyal ve Yöntem bölümünde Çizelge 3.1'de verilmiştir. Bağımlı değişken Y pektin verimi (%) Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Deneysel tasarım ve greyfurt kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin verimleri

Deneysel numarası	Süre (saniye)	pH	SK oranı (ml/g)	Pektin Verimi	
				Deneysel	Tahmini
1	60	1.5	30	7.75	7.88
2	60	1.5	30	7.40	7.88
3	60	2.0	20	6.43	6.01
4	90	1.5	20	12.48	12.98
5	60	1.0	20	13.38	13.35
6	60	1.5	30	7.59	7.88
7	60	1.5	30	9.51	7.88
8	30	1.0	30	11.08	11.16
9	90	1.0	30	21.88	21.41
10	30	1.5	20	5.19	5.14
11	60	1.5	30	7.16	7.88
12	60	1.0	40	14.42	14.83
13	30	1.5	40	6.32	5.83
14	30	2.0	30	4.97	5.44
15	90	2.0	30	14.09	14.01
16	90	1.5	40	16.75	16.80
17	60	2.0	40	9.02	9.05

Optimum koşulların elde edilmesi için yapılan denemelerde en yüksek verim pH 1’de, 30 ml/g sıvı katı oranında, 90 saniyede yapılan ekstraksiyonda %21.88 olarak bulunmuştur. En düşük verim ise pH 2’de, 30 ml/g sıvı katı oranında, 30 saniyede yapılan ekstraksiyonda %4.97 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). pH 2’deki verimlerin pH 1 ve pH 1.5 verimlerine göre daha düşük olduğu görülmektedir. pH ve sıvı katı oranı sabit kaldığında 30 saniyede verim %11.08 (deney 8), 90 saniyede ise verim %21.88’dir. Bu durum ekstraksiyon süresinin verim üzerinde önemli derecede etkisi olduğunu göstermektedir.

Sonuçlar denenen koşullarda pektin veriminin farklı olduğunu gösterdiğinden, elde edilen verilerin optimize edilmesi gerekmektedir. Mikrodalga ile greyfurt kabuklarından pektinin optimizasyonu için bağımsız değişkenler ve deneysel veri aralığı Çizelge 4.1 de sunulmuştur. Kodlanmış değişkenlere göre kuadratik model Eşitlik 4.1’de gösterilmiştir. Y verim, süre (X_1), pH (X_2) ve sıvı katı oranı (X_3) fonksiyonu olarak verilmiştir.

$$Y = 7.88 + 4.70X_1 - 3.28X_2 + 1.13X_3 - 0.42X_{12} + 0.78X_{22} + 0.39X_{32} + 2.25X_1X_2 + 2.87X_1X_3 + 0.05X_2X_3 \quad (4.1)$$

Greyfurt kabuğundan mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin verimi ANOVA ile değerlendirilerek; Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Pektin verimi için regrasyon katsayısı 0.99 olarak bulunmuştur, model uyum eksikliği göstermemiş ($p < 0.05$) ve regresyon %95 güven aralığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. R^2 ’nin (0.99) yüksek değeri, Adj R^2 (0.97) değeri, Pred R^2 (0.92) değerleri modelin, yanıt ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiyi sergilemekte ve modelin önemini doğrulamaktadır (Maran ve ark., 2013). Düşük varyans katsayısı (8.02) ve standart sapmanın 0.83 olması, deneylerin yüksek derecede hassasiyetini ve güvenilirliğini göstermektedir. Yanıt için yeterli tahminleme (Adeq Precision-sinyal/gürültü oranının) değerinin 4’ten büyük olması, model hassasiyetinin yeterliliğini gösterir. Bu değer yapılan çalışmada 26.13 çıkmış olup, geliştirilen modelin en uygun olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.2. Greyfurt kabuklarında mikrodalga destekli ekstraksiyonda elde edilen pektin verimlerinin ANOVA Çizelgesi

Kaynak	Tahmini Katsayı	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Standart sapma	Karelerin ortalaması	F-değeri	P-değeri
Model	7.88	336.68	9		37.41	54.60	< 0.0001
X ₁	4.70	177.08	1	0.37	177.08	258.47	< 0.0001
X ₂	-3.28	86.05	1	0.29	86.05	125.60	< 0.0001
X ₃	1.13	10.21	1	0.29	10.21	14.90	0.0062
X ₁ X ₂	-0.42	0.70	1	0.29	0.70	1.03	0.35
X ₁ X ₃	0.78	2.46	1	0.41	2.46	3.59	0.10
X ₂ X ₃	0.39	0.60	1	0.41	0.60	0.88	0.38
X ₁ ²	2.25	21.29	1	0.41	21.29	31.08	0.0008
X ₂ ²	2.87	34.78	1	0.40	34.78	50.76	0.0002
X ₃ ²	0.05	0.01	1	0.40	0.01	0.02	0.90
Residual		4.80	7		0.69		
Uyum eksikliği		1.29	3		0.43	0.49	0.71
Saf hata		3.50	4		0.88		
Toplam		341.48	16				

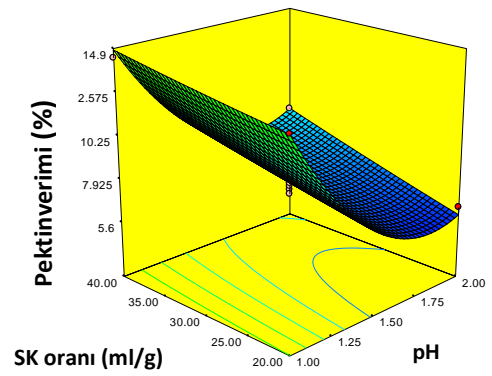
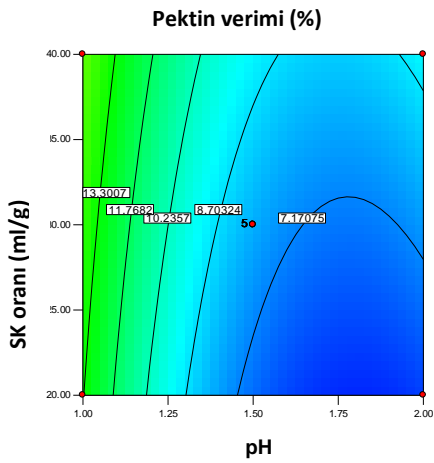
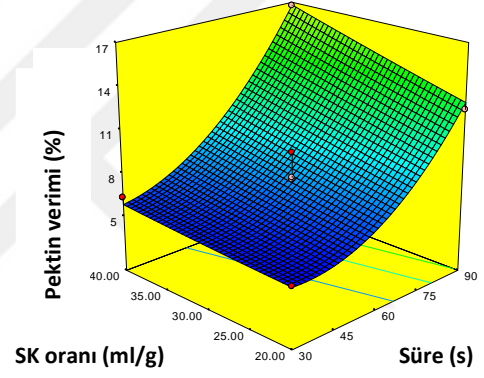
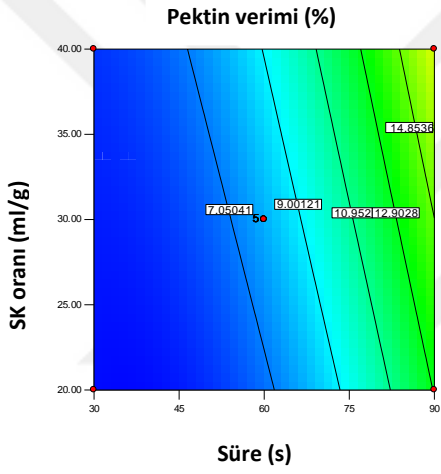
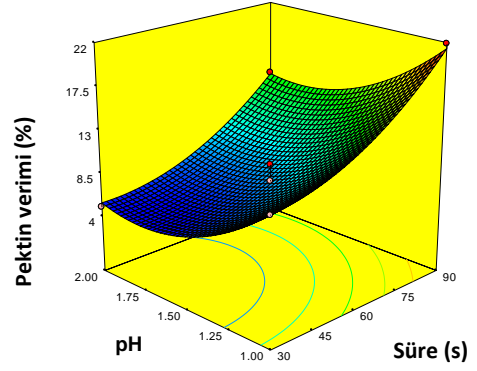
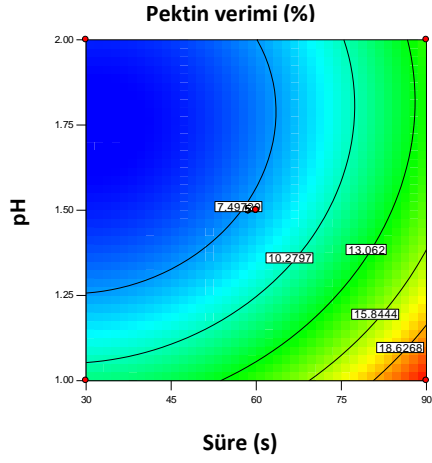
R²: 0.99, Adj R²: 0.97, Pred R²: 0.92, Adeq Precision : 25.6, C.V.% : 8.02, Std. Dev. : 0.83, PRESS : 26.13

Şekil 4.1’de greyfurt kabuklarından mikrodalga ile ekstrakte edilen pektin verimi üzerine sıcaklık, süre ve sıvı/katı oranı etkisini gösteren, verimi tahmin etmede kullanılan yanıt yüzey ve kontur grafikleri görülmektedir. 360 W sabit mikrodalga gücünde sıvı katı oranı 30 ml/g olduğunda, maksimum pektin verimi 90 saniye ve pH 1 de %21; pH 1.5 olduğunda maksimum pektin verimi, sıvı katı oranı 40 süre 90 saniye olduğunda %17; süre 60 saniye olduğunda ise maksimum pektin verimi pH 1 ve sıvı/katı oranı 40 ml/g olduğunda %15 olarak tespit edilmiştir.

Pektin verimi süre artışı ile artmakta, pH artışı ile azalmakta, sıvı/katı oranı ile artmaktadır. Ekstraksiyon süresi ekstraksiyonu etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. En yüksek verimi elde etmek için en uygun süreyi seçmek gerekir. Elde edilen

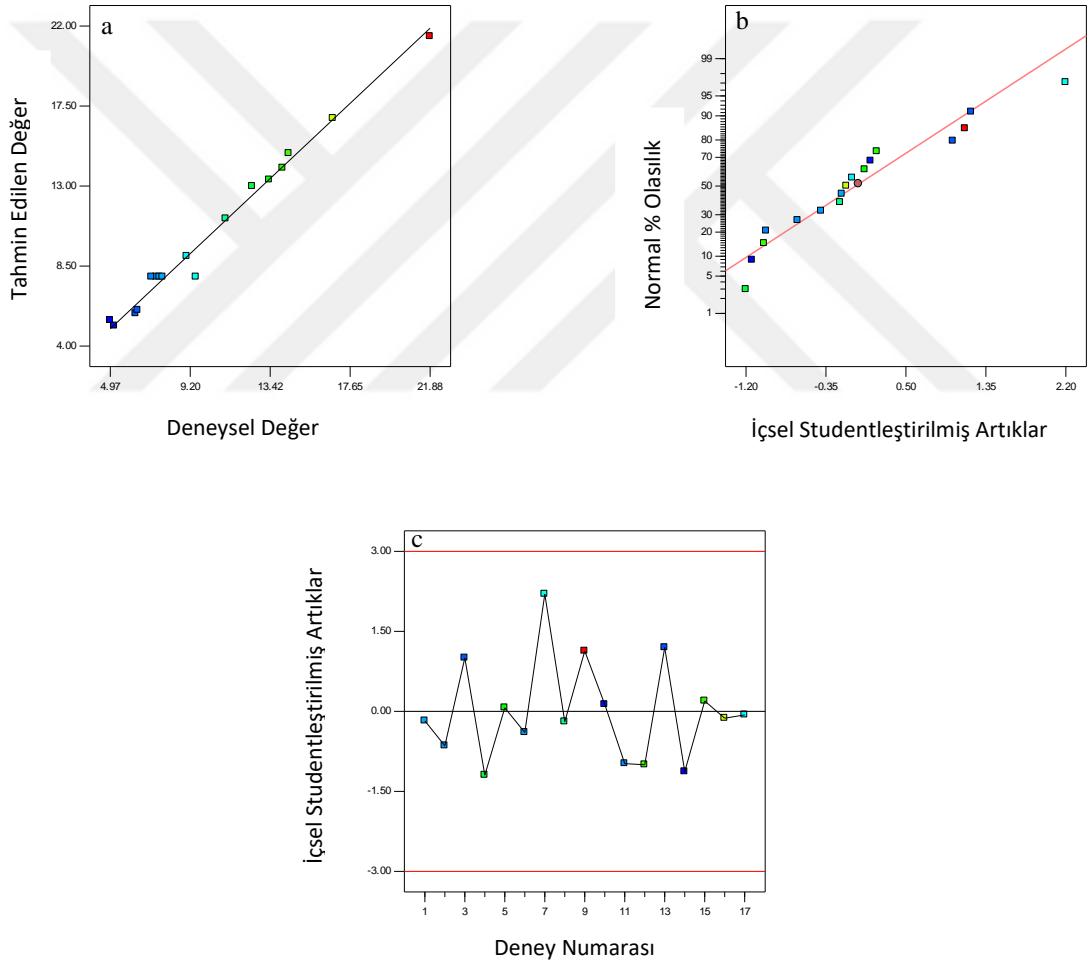
sonuçlardan, şekildeki grafiklerde görüldüğü üzere, süre 30 saniyeden 90 saniyeye doğru arttıkça sıvı katı oranına da bağlı olarak ekstraksiyon veriminin arttığı gözlenmiştir. Bununla beraber, ekstraksiyon sisteminde mikrodalga enerjisinin soğurulması ekstraksiyon sıvısının termal birikimi arttırmakta ve aşırı zaman maruziyetinde, pektin bozunmasına neden olabilmektedir (Maran ve ark., 2013). Chen ve ark. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada mikrodalga ışınlama süresinin 125 saniyeyi aştığında verimin yavaşça azaldığı gözlemlenmiştir.

Şekil 4.1'deki grafiklerden pH değerinin pH 2'den pH 1'e doğru düşmesiyle, diğer faktörlerde bağlı olarak verimin arttığı gözlenmiştir. Düşük pH değerindeki ekstraksiyon çözeltisi çözünmeyen pektine daha kolay ulaşır ve pektini çözünür pektin haline getirerek geri dönüşümünü sağlar. Ekstraksiyon verimi, sıvı katı oranından büyük ölçüde etkilenmektedir. En yüksek verim 30 ml/g oranında elde edilmiş olup 20 ml/g oranına doğru verimde görülen düşüş, 40 ml/g oranındaki verim azalmasından daha fazla tespit edilmiştir. Sıvı katı oranının artması ile ekstraksiyon hacmi artış göstermekte ve haddinden fazla şişen bitki materyali mikrodalgaları doğrudan daha rahat absorbe etmektedir. Hücre duvarlarının parçalanmasıyla pektinin çevredeki ortama kolayca bırakılmasını sağlar ve bu durum verim artışına yol açmaktadır. Katı sıvı oranı belirli bir seviyenin üzerine çıktığında solüsyon doymuş hale gelir ve bu durum kütle aktarım hızını negatif etkiler ve penetrasyon engellenmiş olur, bu durum da verim azalmasına sebep olmaktadır (Guo ve ark., 2012; Maran ve ark., 2013).



Şekil 4.1. Proses değişkenlerinin mikrodalga destekli pektin ekstraksiyonu verimine etkisi

Model yeterliliği, çeşitli etkileyici faktörler ile araştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.2 'de gösterilmiştir ve veriler (Şekil 4.2 a ve 4.2 b) incelendiğinde varyanstan çok büyük sapmalar olmadığı görülmektedir. Sonuçlar, deneyler ile tahmin edilen veriler arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Tüm data noktaları belirli sınırlar içinde kalmakta olup, kalıntı değerler düşüktür ve modeldeki bütün veriler limit (± 3) içinde çıkmıştır (Şekil 4.2 c). Dolayısıyla Şekil 4.2 'de gözlenen eğilimler, geliştirilen modelin hassas olduğunu ve deneysel verileri tahmin etme kabiliyetinin olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2. Model yeterliliği için tanımlayıcı grafikler (mikrodalga destekli ekstraksiyon)

Pektin veriminin yüksek olması için program tarafından önerilen veriler arasından, optimum şartlar olarak pH 1, 30 ml/g sıvı katı oranı, 90 saniye olarak seçilmiştir. Seçilen optimum koşullarda üç tekerrürlü halde yapılan ekstraksiyon sonunda üretilen pektin verimi Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Optimizasyon için kullanılan istatistik programı (Design Expert) tarafından önerilen optimum ekstraksiyon koşullarlarında yapılan deneylerden bulunan pektin verimi ve program tarafından tahmin edilen veriler (Çizelge 4.3) ile karşılaştırıldığında, pektin verimi tahmin edilen değere oldukça yakın bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Optimum mikrodalga destekli ekstraksiyon koşullarında elde edilen deneysel ve tahmini pektin verimleri

Süre (Saniye)	pH	Sıvı/katı (ml/g)	Verim (Deneysel) (%)	Verim (Tahmin) (%)
90	1	30	20.93±2.33	21.42

4.2. Pektinin Klasik Yöntemle Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Greyfurt kabuklarından klasik yöntemle de pektin ekstrakte edilmiş ve ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Öğütülen greyfurt kabukları farklı sıvı/katı (20-30-40 ml/g) oranlarında, farklı pH'lara (1-1.5-2) ayarlı asidik su ile karıştırılarak, 80°C'ye ayarlı karıştırılmalı su banyosunda farklı sürelerde (1-2-3 saat) ekstrakte edilmiştir. Bağımsız değişkenler X_1 süre (saat), X_2 pH, X_3 sıvı katı oranı (ml/g); bağımsız değişkenler ve deneysel veri aralığı Materyal ve Yöntem bölümünde Çizelge 3.2’de verilmiştir. Bağımlı değişken Y pektin verimi (%) Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Deneysel tasarım ve greyfurt kabuklarından klasik ekstraksiyonla elde edilen pektin verimleri

Deneysel numarası	Süre (saat)	pH	SK oranı (ml/g)	Pektin Verimi	
				Deneysel	Tahmini
1	3	1.5	20	16.94	17.48
2	1	1.0	30	26.88	28.14
3	2	1.5	30	20.03	21.13
4	2	1.5	30	19.98	21.13
5	2	1.5	30	22.85	21.13
6	2	2.0	40	23.45	23.49
7	2	2.0	20	9.09	9.82
8	3	1.5	40	27.62	28.85
9	2	1.5	30	20.40	21.13
10	1	1.5	40	26.36	25.82
11	2	1.5	30	22.40	21.13
12	3	1.0	30	35.95	35.45
13	1	1.5	20	15.56	14.33
14	3	2.0	30	19.84	18.57
15	2	1.0	20	24.75	24.72
16	2	1.0	40	34.63	33.90
17	1	2.0	30	19.20	19.71

En yüksek verim pH 1’de, 30 ml/g sıvı katı oranında, 3 saatte yapılan ekstraksiyonda %35.95 bulunmuştur. En düşük verim pH 2’de, 20 ml/g sıvı katı oranında, 2 saatte yapılan ekstraksiyonda % 9.09 bulunmuştur (Çizelge 4.4). En düşük verimin ise pH 2’de elde edildiği görülmektedir. 6 ve 7 no’lu deneylerde sabit süre ve pH değerlerinde tek değişkenin sıvı katı oranı olduğu durumda (pH 2’de, 2 saatte); 40 ml/g sıvı katı oranında verim %23.45 iken, 20 ml/g sıvı katı oranında verim %9.09 bulunmuştur. Sıvı katı oranının artması ile ekstraksiyon hacmi artmakta, difüzyon kuralına göre şişen hücreler, sıcaklığı daha rahat absorbe edebilmekte ve bunun sonucunda verim artışı gerçekleşmektedir (Maran ve ark., 2013). Düşük pH, uzun süre ve 30 ml/g sıvı katı oranı ile bitkinin hücre duvarı dejenerasyonunu sağlamış ve daha fazla pektin salınımını sağlamış ve böylece verim yükselmiştir.

Yapılan optimizasyon çalışmalarında elde edilen kodlanmış değişkenlere göre kuadratik model Eşitlik 4.2’de gösterilmiştir. Y verim, süre (X_1), pH (X_2) ve sıvı katı oranı (X_3) fonksiyonu olarak verilmiştir.

$$Y = 21.13 + 1.54X_1 - 6.33X_2 + 5.71X_3 - 2.11X_{12} - 0.31X_{22} + 1.12X_{32} + 1.49X_1X_2 + 2.85X_1X_3 - 1X_2X_3 \quad (4.2)$$

Greyfurt kabuğundan klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektin verimi ANOVA ile değerlendirilerek; sonuçlar Çizelge 4.5’te sunulmuştur. Pektin verimi için regresyon katsayısı 0.98 olarak bulunmuştur. Modelde uyum eksikliği göstermemiştir ($p < 0.05$). Regresyon %95 güven aralığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. R^2 0.98, Adj R^2 0.95, Pred R^2 0.79 olarak tespit edilmiştir. Varyans (6.66) ve standart sapma (1.51) deneylerin yüksek derecede hassasiyetini ve iyi güvenilirliğini göstermiştir. Yanıt için yeterli tahminleme (Adeq Precision-sinyal/gürültü oranının > 4) değerinin 22.1 çıkması, bu geliştirilen modelin en uygun olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.5. Greyfurt kabuklarında klasik ekstraksiyonda elde edilen pektin verimlerinin ANOVA Çizelgesi

Kaynak	Tahmini Katsayı	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Standart Sapma	Karelerin ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	21.13	671.40	9	0.68	74.60	32.65	< 0.0001
X ₁	1.54	19.06	1	0.53	19.06	8.34	0.0234
X ₂	-6.33	320.35	1	0.53	320.35	140.21	< 0.0001
X ₃	5.71	261.22	1	0.53	261.22	114.32	< 0.0001
X ₁ X ₂	-2.11	17.81	1	0.76	17.81	7.80	0.0268
X ₁ X ₃	-0.031	3.863E-003	1	0.76	3.863E-003	1.691E-003	0.9684
X ₂ X ₃	1.12	5.04	1	0.76	5.04	2.20	0.1812
X ₁ ²	1.49	9.32	1	0.74	9.32	4.08	0.0832
X ₂ ²	2.85	34.15	1	0.74	34.15	14.95	0.0062
X ₃ ²	-1.00	4.22	1	0.74	4.22	1.85	0.2164
Residual	1.54	15.99	7		2.28		
Uyum eksikliği	-6.33	8.37	3		2.79	1.46	0.3506
Saf hata	5.71	7.62	4		1.91		
Toplam	-2.11	687.40	16		74.60	32.65	< 0.0001

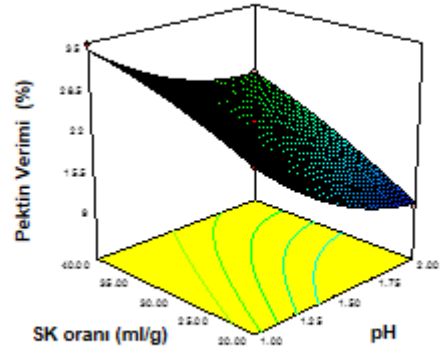
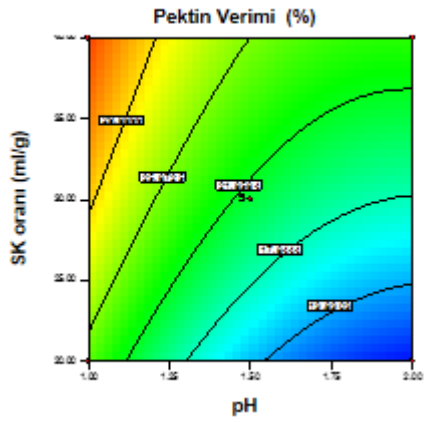
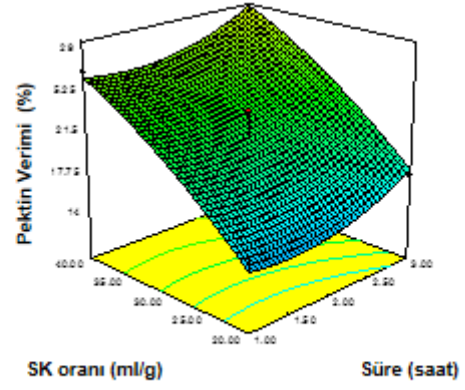
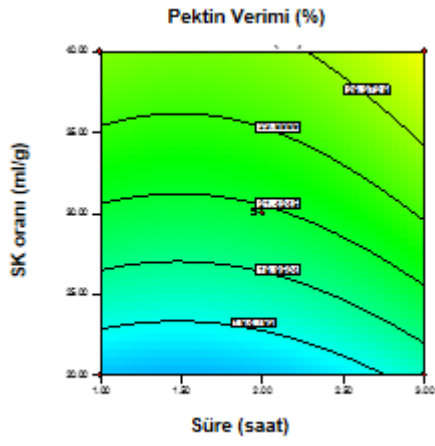
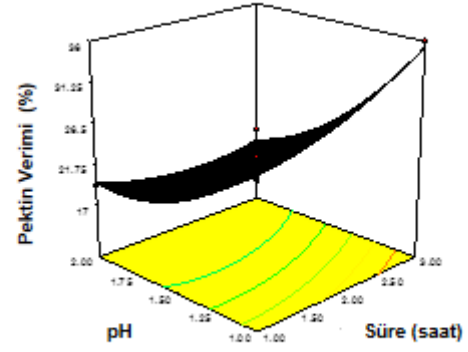
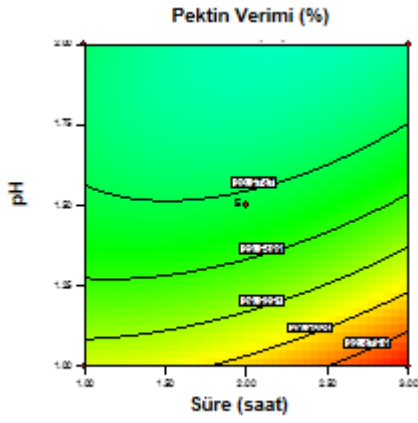
R²:0.98, Adj R²: 0.95, Pred R²: 0.79, Adeq Precision : 22.1, C.V.% : 6.66, Std. Dev, : 1.51, PRESS : 146

Şekil 4.3’de greyfurt kabuklarından klasik yöntem ile ekstrakte edilen pektin verimi üzerine sıcaklık, süre ve sıvı/katı oranı etkisini gösteren, verimi tahmin etmede kullanılan yanıt yüzey ve kontur grafikleri görülmektedir. Maksimum pektin verimi 80°C sabit sıcaklıkta, sıvı katı oranı 30 ml/g olduğunda, 3 saatte ve pH 1’de %35.95; pH 1.5’de sıvı katı oranı 40 ml/g, süre 3 saat olduğunda verim %27.62; süre 2 saatte sabit tutulduğunda maksimum pektin verimi pH 1 ve sıvı katı oranı 40 ml/g’da %34.63

olarak tespit edilmiştir. Verim süre artışı ile artarken, pH artışı ile azalmakta, sıvı katı oranı ile artmaktadır.

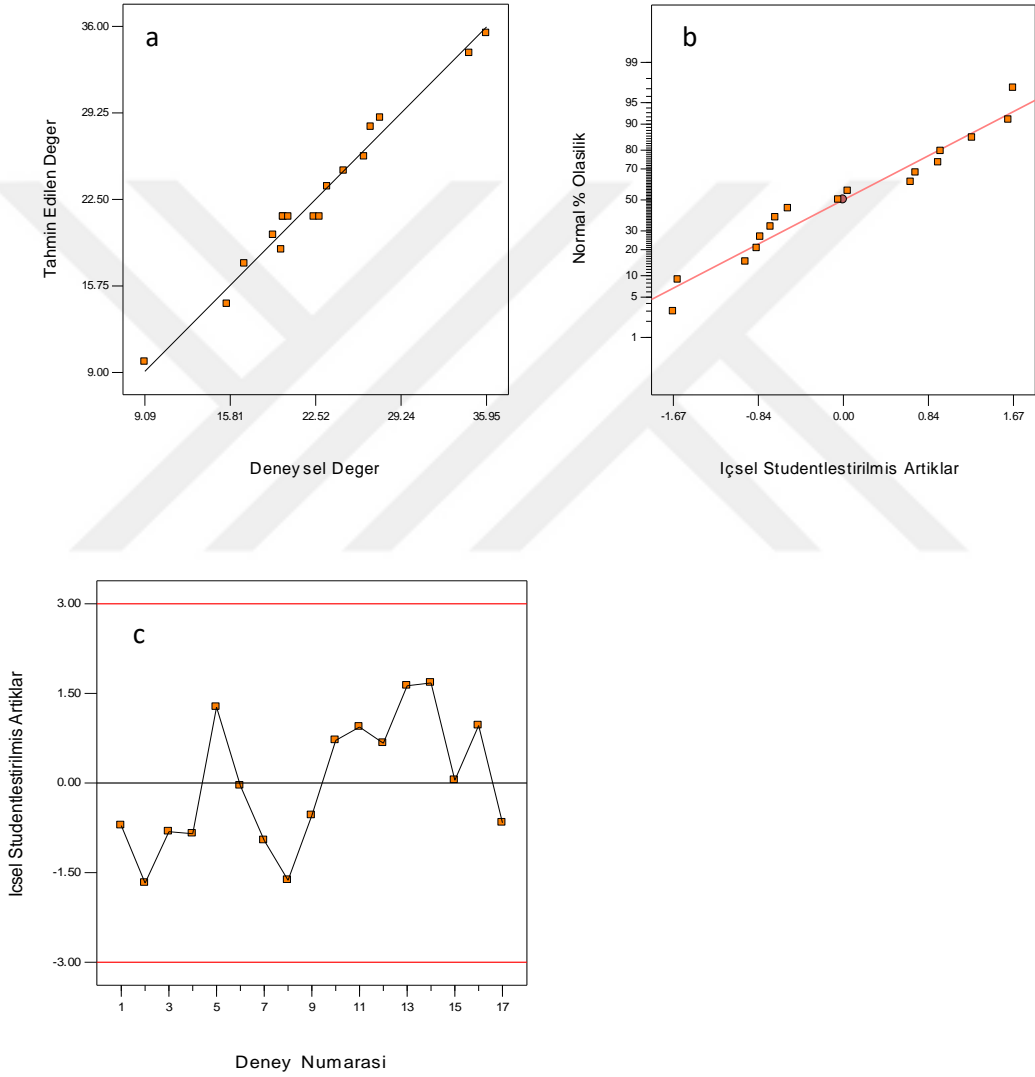
Klasik yöntemde de ekstraksiyon süresi ekstraksiyon verimini önemli derecede etkilemektedir. Şekil 4.3'de grafiklerde görüldüğü üzere en yüksek verim 3 saat süreyle yapılan ekstraksiyonda alınmıştır. Süre 1 saatten 3 saate arttığında sıvı katı oranına da bağlı olarak ekstraksiyon veriminin arttığı gözlenmiştir. Solventin bitki matrisine nüfuz etmesi ve hücre duvarının parçalanması ile, mikro kabarcıklar çökmüştür. Bunun sonucunda mikro jetler oluşmuş ve bu şekilde ekstraksiyon performansı artmıştır. Bu olay Fick'in, solid matrix (bitki matrisi) içindeki çözünen madde konsantrasyonları ile bulk solüsyon (solvent) arasındaki çözünmeyi ifade eden difüzyonun ikinci kanunu ile açıklanabilir (Moorthy ve ark., 2015).

Şekil 4.3'deki grafiklerde pH değerinin pH 2'den pH 1'e doğru düşmesiyle, diğer faktörlerde bağlı olarak verimin arttığı gözlenmiştir. Sıvı katı oranı, ekstraksiyon verimini büyük ölçüde etkilemektedir. En yüksek verim 30 ml/g sıvı katı oranında elde edilmiştir. 20 ml/g sıvı katı oranında verimde görülen düşüş 40 ml/g sıvı katı oranında gözlenen verim düşmesinden daha fazladır. Sıvı katı oranının artması ekstraksiyon hacminin artışı sağlar. Böylelikle bitki materyali haddinden fazla şişer ve sıcaklığı daha rahat absorbe eder pektin daha kolay çözünerek ekstrakte edilen solvente geçer. Bunun sonucunda verim artışı olur. Katı sıvı oranı belirlenen optimum düzeyin üzerine çıktığında solüsyon doymuş hale gelir. Bu durumdan kütle aktarım hızı negatif etkilenir ve penetrasyon engellenmiş olduğundan verim azalmasına sebep olur (Maran ve ark., 2013).



Şekil 4.3. Proses değişkenlerinin klasik ekstraksiyonla elde edilen pektin verimine etkisi

Sonuçlar, deneyler ile tahmin edilen veriler arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Şekil 4.4 a ve Şekil 4.4 b). Tüm data noktaları belirli sınırlar (± 3) içindedir. Kalıntı değerler düşüktür ve modeldeki bütün veriler limit içinde çıkmıştır (Şekil 4.4 c). Dolayısıyla Şekil 4.4'de gözlenen eğilimler, geliştirilen modelin hassas olduğunu ve deneysel verileri tahmin etme kabiliyetinin olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. Model yeterliliği için tanımlayıcı grafikler (klasik ekstraksiyon)

Pektin veriminin yüksek olması için optimum şartlar, program tarafından önerilen veriler arasından, pH 1, 30 ml/g sıvı katı oranı, 3 saat olarak seçilmiştir. Çizelge 4.6’da optimum koşullarda üç tekerrürlü halde yapılan ekstraksiyon sırasında üretilen pektin verimi gösterilmiştir. Optimizasyon için kullanılan istatistik programı (Design Expert) tarafından önerilen optimum ekstraksiyon koşullarlarında yapılan deneylerden bulunan pektin verimi program tarafından tahmin edilen veriler ile karşılaştırılmıştır. Pektin verimi tahmin edilen değerden daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Optimum klasik ekstraksiyon koşullarında elde edilen deneysel ve tahmini pektin verimleri

Süre (Saat)	pH	Sıvı/katı (ml/g)	Verim (Deneysel) (%)	Verim (Tahmin) (%)
3	1	30	38.88±1.53	35.45

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile klasik ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırıldığında klasik ekstraksiyonda verimin daha yüksek olmasına rağmen yüksek sıcaklık, ekstrakte edilen maddelerin kimyasal yapısını etkileyebileceğinden klasik ekstraksiyon daha yüksek verime rağmen dezavantajlı durumda olabilir. Ayrıca iki ekstraksiyon yöntemi arasındaki zaman farkı, verim farkını tolere edebilecek düzeydedir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda maximum verim 90 saniyede elde edilirken, klasik ekstraksiyonda maximum verim 3 saatte olup, harcanan süre, mikrodalga ile ekstraksiyon süresinin 120 katıdır. Klasik ekstraksiyon süre zarfında kullanılacak enerjinin maliyeti ve ekstraksiyon için harcanan zaman gibi faktörler göz önüne alındığında mikrodalga destekli ekstraksiyon daha avantajlı olarak görülmektedir

4.3. Ekstrakte Edilen Pektinlerde Nem, Kül, Toplam Şeker, Protein Tayini

Mikrodalga ve klasik ekstraksiyon ile optimum koşullarda üretilen pektinler analiz edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.7’de sunulmuştur. Pektinlerin nemleri sırasıyla %26.85 ve %27.3, ticari pektinin nem değeri ise %3.96 olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstrakte edilmiş ve klasik yöntemle ekstrakte edilmiş pektinler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmezken ticari pektin farkı önemlidir. Ekstraksiyon tekniklerinin farklı olmasının örneklerin nem içeriğini etkilediği düşünülmüştür. Daha önceki çalışmalarda Oğuz (2015), limon posasından kimyasal yöntemle elde ettiği pektinde nem miktarını %7.6 olarak tespit etmiştir. Norazelina ve ark. (2012) tarafından yapılan araştırmada dragon meyvesinden pektin ekstrakte etmişler ve elde ettikleri pektinlerin nem miktarını %11.13 olarak tespit etmişlerdir.

Kül miktarı gıdalarda mineral maddenin göstergesi olup, düşük kül içeriği pektinin safsızlığını gösteren önemli bir kriterdir (Güzel ve Akpınar, 2017). Kül miktarı ne kadar düşük çıkarsa analizi yapılan materyal o derece saftır. Çizelge 4.7’de kül oranının pektin örneklerinde klasik ekstraksiyon için %7.56, mikrodalga destekli ekstraksiyon için %9.44 ve ticari pektin için %14.57 olarak tespit edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstrakte edilmiş ve klasik yöntemle ekstrakte edilmiş pektinler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmezken ticari pektin farkı önemlidir. Yapılan çalışmadaki kül değerlerinin ticari pektine göre daha düşük çıkması üretilen pektinin referans pektine göre daha kaliteli olduğunun göstergesidir. Güzel ve Akpınar (2017) tarafından çeşitli turunçgil kabukları üzerinde yapılan çalışmada greyfurt kabuğu pektininin kül miktarı %1.17 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen pektininin, literatür çalışmaları sonuçlarında elde edilen pektinlere göre safsızlık oranının biraz yüksek olduğu tespit edilmiş olup, bu farklılığın ekstraksiyon tekniklerinin ve kullanılan asitin farklılığından ileri geldiği düşünülmüştür. Diğer çalışmalar incelendiğinde Sato ve ark. (2011), elma posasından klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektinde, kül oranını %2.03 olarak tespit etmişlerdir. Oliveira ve ark. (2018) tarafından mango kabuğundan HCI ile klasik ekstraksiyondan elde edilen pektinde kül değeri %1 olarak tespit edilmiştir. Norazelina ve ark. (2012) tarafından yapılan araştırmada dragon meyvesinden pektin

ekstrakte etmişler ve elde ettikleri pektinlerin kül miktarını %11.95 olarak tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere pektin örneklerinde toplam şeker miktarları klasik ekstraksiyon için 1.029 mg/mg, mikrodalga destekli ekstraksiyon için 0.547 mg/mg ve ticari pektin için 0.545 mg/mg olarak tespit edilmiştir. Protein miktarı klasik ekstraksiyon pektininde 23.5 mg/g (%2.35), mikrodalga destekli ekstraksiyon pektininde 32.5 mg/g (%3.25) olarak tespit edilmiştir. Ticari pektinde proteine rastlanmamıştır. Pektin hammaddesi ve üretimi bakımından protein içermesi beklenen bir madde değildir. Safsızlıktan ötürü eser miktarda protein içeren örnekler ortaya çıkabilir. Wikiera ve ark. (2016) tarafından elma püresinde endo-xylanase enzimi ile yapılan enzimatik ekstraksiyonda ortalama protein %3 bulunmuştur. Sato ve ark. (2011), elma posasından klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektinde, %3.8 protein tespit etmişlerdir. Oliveira ve ark. (2018) tarafından mango kabuğundan HCl ile klasik ekstraksiyondan elde edilen pektinde %2.1 protein tespit edilmiştir. Sonuçlar literatür sonuçları ile uygunluk göstermiştir.

Çizelge 4.7. Pektin örneklerinde nem, kül, toplam şeker ve protein miktarları

Pektin	Nem (%)	Kül (%)	Toplam şeker (mg/mg)	Protein (mg/g)
Ticari	3.96±0.27 ^b	14.57±0.38 ^a	0.54±0.08 ^b	0.00±0.00 ^b
Klasik	27.30±0.42 ^a	7.56±0.30 ^b	1.03±0.24 ^a	23.50±11.96 ^{ab}
Mikrodalga	26.85±0.14 ^a	9.44±1.58 ^b	0.55±0.20 ^b	32.50±17.31 ^a

Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. a, b, c Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (p<0.05)

4.4. Pektinlerin Çözünürlüğü

Pektinin suda çözünürlüğü polimerizasyon derecelerine, metoksil gruplarının sayısına ve dağılımına bağlıdır. Pektinin molekül ağırlığı azaldıkça, esterleşmiş karboksil gruplarının varlığı ve sıcaklık ile çözünürlük artmaktadır. Çözelti pH’sı ve konsantrasyonun azalmasıyla pektin çözünürlüğü azalmaktadır (Thakur ve ark., 1997). Çizelge 4.8’de ifade edildiği üzere, pektin soğuk suda çözünmemiş, sıcak suda ve soğuk

alkalide ise kısmen çözülmüştür. Sıcak alkalide pektin partikülleri görülmemiş, tamamen çözüldüğü saptanmıştır.

Çizelge 4.8. Pektinlerin çözünürlüğü

Pektin	Soğuk su	Sıcak Su	Soğuk alkali	Sıcak Alkali
Ticari	Hayır	Kısmen	Kısmen	Evet
Klasik	Hayır	Kısmen	Kısmen	Evet
Mikrodalga	Hayır	Kısmen	Kısmen	Evet

4.5. Pektinlerin Eşdeğer Ağırlık, Metoksil ve Esterleşme Derecesi, Anhidronik Asit ve Galakturonik Asit Miktarları

Eşdeğer ağırlık, pektinde anhidronik asit içeriğini hesaplamak için kullanılan bir değerdir. Eşdeğer ağırlık, belirli bir reaksiyonda bir başka maddenin rastgele sabit bir miktarı ile tam olarak reaksiyona giren veya birleşen değerine eşit olan madde miktarıdır. Maddeler stokiometrik veya kimyasal olarak eşdeğer oranlarda birbirleriyle reaksiyona girerler. Eşdeğer ağırlık değerleri klasik ekstraksiyon için 325 mg, mikrodalga destekli ekstraksiyon için 355.5 mg, ticari pektin için 689 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.9). Eşdeğer ağırlık değeri ticari pektinle ve literatür çalışmalarında bulunan değerler ile kıyaslandığında beklenenden biraz düşük çıkmıştır. Khan ve ark. (2014) tarafından greylift kabuğu ile yapılan bir çalışmada 80°C’de yapılan klasik pektin ekstraksiyonunda eşdeğer ağırlık değeri pH 1’de 962.5 mg, pH 1.5’ te 1012.5 mg çıkmıştır. Kumar ve Chauhanm (2010) tarafından greylift kabuğu ile yaptıkları bir çalışmada, greylift kabuğu pektininin eşdeğer ağırlığı 953 mg olarak tespit edilmiştir. Ahmmed (2013) tarafından jackfruit meyvesinin kabuğundan elde edilen pektinin eşdeğer ağırlık değeri 475.74 mg olarak tespit edilmiştir.

Metoksil içeriği pektin molekülündeki hangi karboksilik grupların var olduğunu açıklayarak pektin sınıflandırmasını sağlayan önemli bir moleküler endekstir (Khan ve ark., 2014). Yapılan bu çalışmada yüzde metoksil değerleri mikrodalga destekli ekstraksiyon pektini için %12.93, klasik ekstraksiyon pektini için %13.43, ticari pektin için % 4.98 bulunmuştur (Çizelge 4.9). Ticari pektine göre metoksil değerlerinin yüksek

çıkması; üretilen pektinin jelleşme gücünün yüksek, dolayısıyla ticari pektinden daha üstün özellikte olduğunun göstergesidir. Klasik ve mikrodalga destekli yöntemle elde edilen pektinler yüksek metoksilli pektindir ve aralarındaki istatistiksel fark önemli değilken, ticari pektinde önemlidir. Bulunan değerler standart literatür çalışmaları ile de uygunluk göstermektedir. Khan ve ark. (2014) tarafından greyfurt kabuğu ile yapılan bir çalışmada % metoksil değeri 80°C’de; pH 1’ de %12.2, pH 1.5’ te %11.78 çıkmıştır. Sato ve ark. (2011), elma posasından klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektinde, metoksil değeri %6.46 olarak tespit edilmiştir. Azad ve ark. (2014) tarafından olgunlaşmamış limon posasından pektin üretiminde yapılan klasik ekstraksiyon çalışmasında metoksil içeriği % 10.25 bulunmuştur. Sonuçlar literatür çalışmaları ile uyumludur.

Anhidronik asit içeriği; pektinin saflığını, esterleşme derecesini, hangi ürün üretiminde (şekerleme, marmelat, reçel vs.) kullanılmaya uygun yapıda olduğunun belirlenmesi açısından önemli bir parametredir (Castillo ve ark., 2014). Ekstrakte edilen pektinin saflığını belirleyen anhidronik asit içeriği gıda kodeksine göre %65’ ten daha düşük olmamalıdır (Food Chemical Codex, 1996). AUA içeriği %65’in altında ise bu durum proteinlerin varlığına bağlı safsızlıklardan, nişasta şekerlerden kaynaklanıyor olabilir (Norazolina ve ark., 2012). Pektin örneklerinde tespit edilen % AUA değerleri klasik ekstraksiyon için %127.5, mikrodalga destekli ekstraksiyon için %123.5, ticari pektin için %51.93 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). Bu çalışmada bulunan AUA değeri, ticari pektine göre oldukça yüksek çıkmıştır. Bulunan değerler %65 değerinin üzerinde olduğundan standarda uygundur. Ayrıca Moon ve ark. (1982) tarafından nareciyeden ekstrakte edilen pektinlerde yapılan bir çalışmada AUA değeri %98.4 bulunmuştur. Bu literatür değeri, yapılan bu çalışmada bulunan yüksek AUA değerini destekler niteliktedir. Daha önceki çalışmalar incelendiğinde Castillo ve ark. (2014), muz kabuğu pektini ile ticari turunçgil pektinin karşılaştırırken %74.29 olarak tespit etmişlerdir. Sato ve ark. (2011), elma posasından klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektinde, AUA içeriği %50.82 olarak tespit edilmiştir.

Esterleşme derecesi; esterleşmiş karboksil gruplarının toplam karboksil gruplarına oranı esterleşme derecesi olarak ifade edilir. Pektin molekülündeki her 100 galakturonik asit

ünitesinin esterleşmiş olanlarının miktarı pektinin esterleşme derecesini vermektedir. Pektinin metoksil derecesi bitkinin çeşidine ve meyvenin olgunlaşma süresine göre çeşitlilik göstermektedir (Cemeroğlu, 2004; Guillotin, 2005; Yuliarti, 2011). Pektinlerin yüksek metoksilli ve düşük metoksilli olarak ayrılmasını belirleyen faktörlerden biri pektin molekülünün karboksil gruplarının esterleşme derecesidir. Bu çalışmada esterleşme derecesi klasik ekstraksiyon pektini için %59.07, mikrodalga destekli ekstraksiyon pektini için %60.90, ticari pektin için %54.43 olarak bulunmuştur. (Çizelge 8.9). Esterleşme derecesi analizi sonuçlarına göre, elde edilen pektinlerin tümü yüksek metoksilli pektindir. Güzel ve Akpınar (2017), çeşitli turunçgiller üzerinde yaptıkları çalışmada greyluft kabuğu pektininin esterleşme derecesini %73.28 olarak tespit etmişlerdir. Bagherian ve ark. (2011) tarafından yine greyluft kabuğunda yapılan bir çalışmada 80°C’de klasik ekstraksiyonda %75.34, 900 W gücünde mikrodalga destekli ekstraksiyonda ise % 74.8 olarak bulunmuştur. Sato ve ark. (2011), elma posasından klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektinde esterleşme derecesi %72.29 olarak tespit edilmiştir. Pasandide ve ark. (2017) turunçgil kabuklarından elde edilen pektinde esterleşme derecesi %77.2 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatür çalışmaları ile de uygunluk göstermektedir.

Galakturonik asit içeriği, pektin çeşidini belirlemede önemli bir parametredir. Pektinin jelleşme gücünü etkiler (Arslan, 1994). Klasik ekstraksiyon pektini için %18.25, mikrodalga destekli ekstraksiyon pektini için %20.40 ticari pektin için %26.35 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). İstatiksel olarak pektinler arasında galakturonik asit içeriği bakımından fark önemli görülmemiştir. Galakturonik asit içeriği meyvenin yapısına, olgunluğuna, pektinin ekstrakte edilme yöntemine, ekstraksiyon pH’sına ve ekstraksiyon sıcaklığına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Literatür çalışmaları incelendiğinde, Kaya ve ark., (2014) tarafından greyluft kabuğundan çeşitli asitler kullanılarak yapılan klasik ekstraksiyon sonucu galakturonik asit miktarları greyluft kabuğu pektini için %25.91, portakal kabuğu pektini için %24.08, limon kabuğu pektini için %24.33 olarak bulunmuştur. Bulunan sonuçlar literatür çalışmaları ile uyumluluk göstermektedir. Leong ve ark. (2016), jackfruit meyvesinden klasik ekstraksiyon ile ekstrakte ettiği pektinde galakturonik asit içeriğini %79.95 olarak tespit etmişlerdir. Jafari ve ark. (2017) tarafından havuç posasından klasik ekstraksiyon ile ekstrakte

edilen pektinde galaktronik asit içeriğini %75.5 olarak tespit edilmiştir. Oliveira ve ark. (2018) tarafından mango kabuğundan HCl ile klasik ekstraksiyondan elde edilen pektinde galaktronik asit içeriği %66.9 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Pektin örneklerinde eşdeğer ağırlık, metoksil, esterleşme derecesi, anhidronik asit ve galakturonik asit miktarları

Pektin	Eşdeğer ağırlık (mg)	Metoksil (%)	Anhidronik asit (%)	Esterleşme derecesi (%)	Galakturonik asit (%)
Ticari	689±56.56 ^a	4.98±0.28 ^b	51.93±1.61 ^c	54.43±4.37 ^b	26.35±0.07 ^a
Klasik	325±4.24 ^b	13.43±0.50 ^a	127.5±0.70 ^a	59.06±1.02 ^{ab}	18.25±6.86 ^a
Mikrodalga	355.5±9.19 ^b	12.93±0.37 ^a	123.5±0.70 ^b	60.90±1.47 ^a	20.40±0.28 ^a

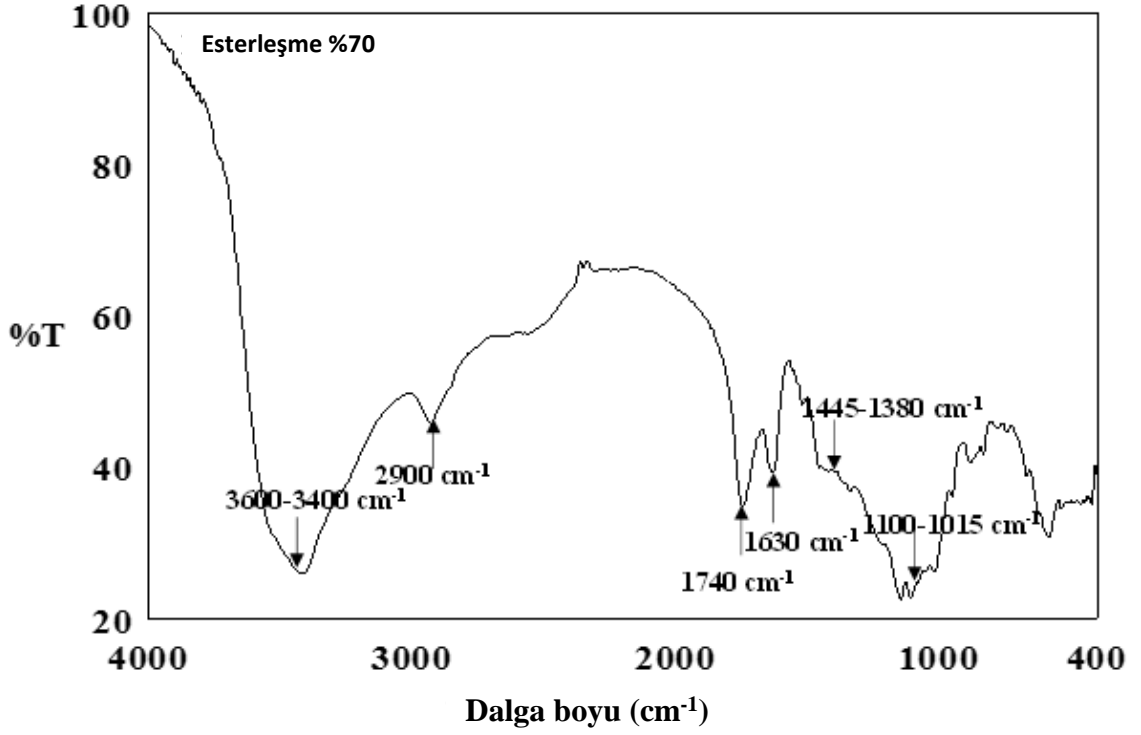
*Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. a, b, c Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (p<0.05)

4.6. Pektinde FT-IR Analizi

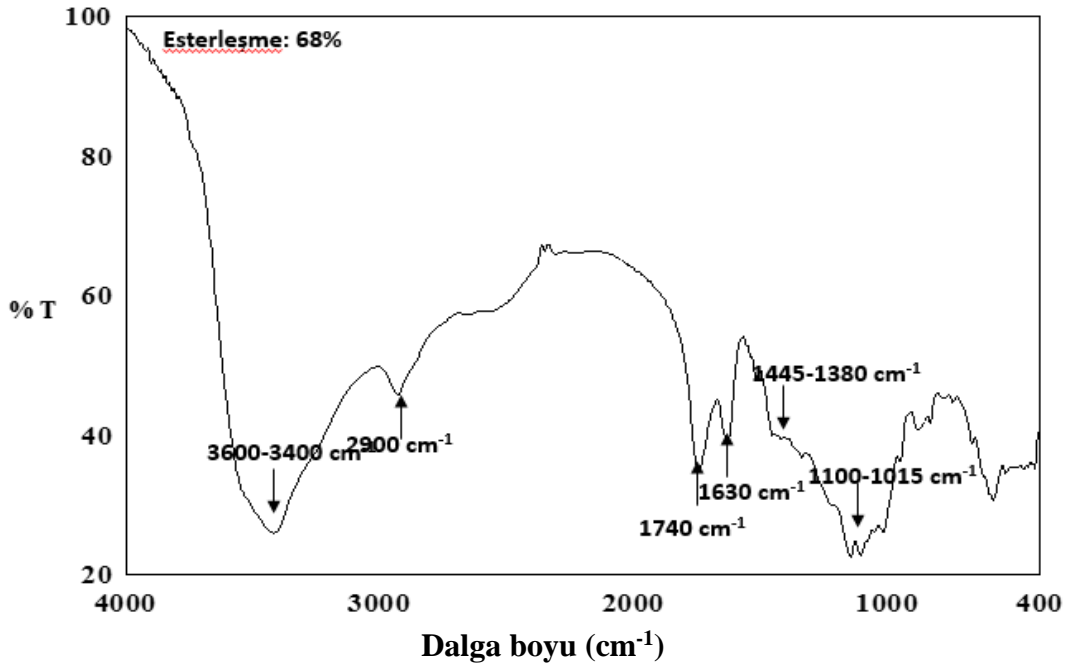
Mikrodalga destekli ekstrakte edilen pektinin FT-IR spektrumu şekil 4.5’de verilmiş olup sonuçlar klasik yöntemle elde edilen pektin örneğinin FT-IR spektrumu (Şekil 4.6) ile karşılaştırılmıştır. Bu yöntem ile organik bileşiklerin yapılarındaki fonksiyonel gruplar, yapıdaki bağların durumu ve bağlanma yerleri belirlenmektedir.

IR spekturumları pektin örneklerinde bulunan grupların karakteristik piklerini içermektedir. 800 ve 1200 cm^{-1} dalga aralığında bulunan pikler karbonhidratlar için parmak izi bölgesidir ve her polisakkarit için spesifiktir (Güzel ve Akpınar, 2017). 3600-3400 cm^{-1} de assosiyel olmamış O-H pikleri bulunmakta, bunlar polihidroksi bileşiklerde görülen karakteristik piklerdir. 2900 cm^{-1} ’deki absorpsiyon galakturonik asidin metil esterleri olan -CH, -CH₂ ve -CH₃ gerilmelerine ait olup, 1740 cm^{-1} pik ise asetil (COCH₃) gruplarından ileri gelen C=O gerilmesidir. 1630 cm^{-1} de bulunan pik -OH gerilme titreşim bandını, 1380-1445 cm^{-1} de bulunan pikler ise -CH₃ grubunun varlığını göstermektedir. 1015-1100 cm^{-1} bantlar C-O eğilme veya gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Güzel ve Akpınar, 2017). Şekil 4.5 mikrodalga

destekli ekstraksiyonla elde edilen pektinin FT-IR spektrumunu göstermekte olup, spektrum pektine ait karakteristik piklere sahiptir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin klasik yöntemle elde edilen pektin ile karşılaştırılmış ve yapılar benzer bulunmuştur.

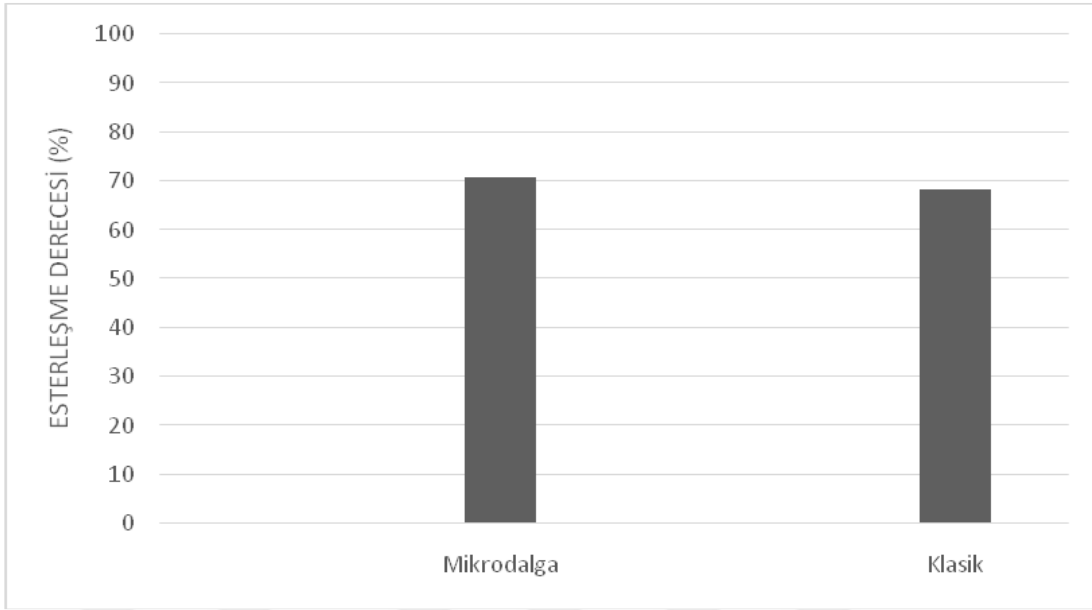


Şekil 4.5. Mikrodalga destekli ekstrakte edilmiş pektininin FT-IR spektrumu



Şekil 4.6. Klasik yöntemle ekstrakte edilmiş pektininin FT-IR spektrumu

Pektin örneklerinin FT-IR spektrumunda bulunan 1740 cm⁻¹'deki 1630 cm⁻¹'den piklerin alanları ile de esterifikasyon dereceleri hesaplanmış ve esterifikasyon dereceleri de Şekil 4.7'de grafikte sunulmuştur. Esterleşme dereceleri mikrodalga destekli ekstraksiyon pektininde %70.69, klasik ekstraksiyon pektininde %68.16 olarak bulunmuştur. Sonuçlar her iki pektininde yüksek esterifikasyona (DE>50) sahip olduğunu göstermektedir ve titrasyon yönteminde bulunan sonuçlarla da uyumludur. En yüksek esterleşme derecesi mikrodalga destekli ekstraksiyon pektininde tespit edilmesi, en yüksek jelleşme gücünün bu pektinde olduğunu gösterir.



Şekil 4.7. FT-IR spektrumdan elde edilen pektinlerin esterleşme dereceleri

4.7. Ekstrakte Edilen Pektinlerden Marmelat Üretimi

Optimum ekstraksiyon koşulları belirlenen pektinlerin büyük ölçekte üretimleri yapıldıktan sonra, gıdalardaki etkilerini incelemek için kayısı marmelatı üretiminde kullanılmıştır. Kayısı marmelatlarında nem tayini yapılmış, nem değerleri klasik ekstraksiyon pektinli marmelat için %39.33, mikrodalga destekli ekstraksiyon pektinli marmelat için %37.90, ticari pektinli marmelat için %37.13 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.10). Kayısı marmelatlarında kül tayinini sonucunda klasik ekstraksiyon marmelatı için %0.22, mikrodalga destekli ekstraksiyon marmelatı için %0.20, ticari marmelat için %0.13 olarak tespit edilmiştir. En düşük kül içeriği ticari marmelatta bulunurken, bunu mikrodalga destekli ekstraksiyon marmelatı izlemektedir. Bu sonuç mikrodalga destekli ekstraksiyon üretilen pektinin, klasik ekstraksiyon ile elde edilenden daha saf olduğunu göstermektedir. Bulunan değer literatür çalışmaları ile de uygunluk göstermektedir. Ahmmed (2013) yaptığı çalışmada portakal jelinde kül miktarını %0.43 olarak tespit etmiştir. Yurdagül (2007) yaptığı çalışmada %75 erik, %25 kayısı pulplarında karıştırarak elde ettiği meyve pulplarından yapılan marmelatın kül değerini %0.23 olarak tespit etmiştir. Masmoudi ve ark. (2008) limondan pektin

üretmişler ve ürettikleri pektin ile hurma jeli yapmışlar. Yapılan hurma jelinin kül içeriğini %2.68 olarak tespit etmişlerdir.

Toplam kuru maddenin suda çözünen kısmı suda çözünür kuru maddeyi oluşturur, briks ya da refraktometre değeri olarak adlandırılır. Fruktoz, glukoz olmak üzere şekerler ve sitrik asit, malik asit, tartarik asit gibi organik asitler suda çözünür kuru maddeyi oluşturur. Suda çözünür kuru madde hem üretimde hem de kalite kontrolde önemli bir ölçüttür. Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliği'nde geleneksel marmelatla kuru madde içeriğinin %55'ten daha az olmaması gerektiği belirtilmiştir. Üretilen marmelatların briks değerleri klasik ekstraksiyon marmelatı için %60.67, mikrodalga destekli ekstraksiyon marmelatı için %62.30, ticari marmelatı için %61.20 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.10). Khan ve ark. (2014) tarafından greyfurt kabuğundan üretilmiş pektin ile elma jeli yapılmış, elma jelinde briks ölçüldüğünde, ortalama değer %66.99 olarak tespit edilmiştir. Ahmmed (2013) tarafından jackfruit meyvesinden elde edilen pektin ile yapılan portakal jelinin briksi %65.5, ananas jelinin briksi %67.5 olarak bulunmuştur. Yurdagül (2007) yaptığı çalışmada erik, şeftali, kayısı pulplarını karıştırarak yaptığı marmelatla briks değerini %55.2 olarak tespit etmiştir. Abid ve ark. (2018) tarafından nar kabuğundan elde edilmiş ticari pektin kullanılarak nar jeli yapılmış, nar jelinin briksi %49.7-59.4 arasında tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatür ve tebliğdeki standartlar ile uyumludur.

Pektin ağını oluşturan lifler belirli pH sınırlarında esneklik kazanmaktadır ve iyi bir jel oluşturmaktadır (Cemeroğlu, 2004). pH değerleri klasik yöntemle üretilen pektin marmelatı için 3.12, mikrodalga destekli yöntemle üretilen pektin marmelatı için 3.14, ticari pektin marmelatı için ise 3.56 olarak ölçülmüştür. Klasik ve mikrodalga destekli elde edilen pektin marmelatları arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık görülmemektedir. Reçel, Jöle, Marmelat ve Tatlandırılmış Kestane Püresi Tebliğinde, reçel, marmelat, jöle gibi ürünlerde iyi bir jel oluşumu için gerekli pH derecesinin 2.8-3.5 olması gerektiği belirtilmiştir. Khan ve ark. (2014) tarafından yapılan araştırmada elma jelinde 5 hafta boyunca pH ölçülmüş, ortalama pH değeri 3.37 olarak tespit edilmiştir. 5 hafta boyunca pH'ın düştüğü gözlemlenmiştir. Bu sonuçtan depolama sürecinde asitliğin arttığı anlaşılmıştır. Abid ve ark. (2018) tarafından nar kabuğundan

elde edilmiş ticari pektin kullanılarak nar jeli yapılmış, jelin ortalama pH değerleri 2.88-3.11 arasında değişmekte olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen pH değerlerinin standartlara uygun olduğu ve literatür çalışmalarına paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Titrasyon asitliği gıdadaki toplam asit miktarının göstergesidir. Pektin üretimi için hammadde greyfurt kabuğu olduğundan titrasyon asitliği sitrik asit cinsinden hesaplanmıştır. Marmelat yapımı için kullanılan kayısının meyve asidi de titrasyon asitliği miktarını etkilemektedir. Çizelge 4.10'da görüldüğü üzere % titrasyon asitliği klasik yöntemle üretilen pektin marmelatı için %0.67, mikrodalga destekli yöntemle üretilen pektin marmelatı için %0.89, ticari pektin marmelatı için %0.60 olarak ölçülmüştür. En yüksek titrasyon asitliği mikrodalga ile ekstrakte edilen pektinli marmelatta bulunmuştur. Khan ve ark. (2014) tarafından yapılan araştırmada greyfurt pektininden üretilmiş elma jelinde titrasyon asitliği %0.72 olarak bulunmuştur. Yurdagül (2007) yaptığı çalışmada erik, şeftali, kayısı pulplarını karıştırarak yaptığı marmelatta titrasyon asitliğini %0.65 olarak tespit etmiştir. Sonuç olarak bulunan değerler birbirleriyle ve literatür çalışmaları ile uygunluk ve paralellik göstermiştir.

Çizelge 4.10. Marmelatların nem, kül, briks, pH, titrasyon asitliği

Pektin	Nem (%)	Kül (%)	Briks (%)	pH	Titrasyon asitliği (%)
Ticari	37.13±0.21 ^c	0.13±0,02 ^b	61.20±0.46 ^b	3.56±0.04 ^a	0.60±0.15 ^b
Klasik	39.33±0.06 ^a	0,22±0,03 ^a	60.67±0.35 ^b	3.12±0.02 ^b	0.67±0.15 ^{ab}
Mikrodalga	37.90±0.10 ^b	0,20±0,02 ^a	62.30±0.30 ^a	3.14±0.05 ^b	0.89±0.13 ^a

Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. a, b, c Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (p<0.05)

Ektstakte edilen pektinlerle yapılan marmelatların toplam şeker değeri Çizelge 4.11'de sunulmuştur. Toplam şeker tayini marmelatta bulunan karbonhidratlar ve dışardan katılan tüm şeker miktarını ölçen bir yöntemdir. Çizelgeden görüldüğü üzere 934.27-997.09 mg/g arasında değişmektedir. En yüksek değer 997.09 mg/g (%99.71) olarak

ticari pektin marmelatında bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin marmelatında %93.43 ve klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektin marmelatında %94.10 değerleri tespit edilmiştir. Pulpun toplam şeker miktarı 185.80 mg/g (%18.58) olarak bulunmuştur. Pulpun dışarıdan şeker ilavesi olmadığından, sadece kayısının doğasında bulunan şeker olduğundan marmelatlardaki şeker değerine göre çok daha düşük çıkması beklenen bir sonuçtur.

Çizelge 4.11’de marmelatların indirgen şeker değerleri de verilmiş olup 65-78.57 mg/g aralığında değişmektedir. En yüksek indirgen şeker değeri %7.86 olarak klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektin marmelatında bulunmuştur. Bunu %7.02 değerinde bulunan mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin marmelatı izlemektedir. Bu çalışmada üretilen pektinlerle yapılan marmelatlar için tespit edilen indirgen şeker değerleri, ticari pektin ile yapılan marmelatın indirgen şeker değerinden daha yüksek çıkmıştır, fakat standarda ve literatür çalışmalarına göre düşük çıkmıştır. Ahmed (2013) tarafından jackfruit meyvesinden elde edilen pektin ile yapılan portakal ve ananas jelinde indirgen şeker miktarları sırasıyla %28.46 ve %27.35 olarak bulunmuştur.

Marmelatların protein miktarları Çizelge 4.11’de görüldüğü üzere oldukça düşük çıkmıştır. Değerler 0.11-0.64 mg/g arasında değişmektedir. En yüksek değer 0.53 mg/g olarak kayısı pulpunda çıkmıştır (klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektin marmelatı hariç). Tespit edilen proteinin kayısıdan gelen protein olduğu düşünülmektedir. İstatiksel olarak tüm örnekler arasında benzerlik görülmektedir.

Çizelge 4.11. Marmelatların toplam şeker, indirgen şeker, protein miktarı

Pektin	Toplam şeker (mg/g)	% T.Ş.	İndirgen şeker (mg/g)	% İ.Ş.	Protein (mg/g)
Ticari	997.09±19.67 ^a	99.71	65.00±0.17 ^b	6.50	0.36±0.03 ^{ab}
Klasik	940.95±36.56 ^a	94.10	78.57±2.95 ^a	7.86	0.64±0.42 ^a
Mikrodalga	934.27±51.26 ^a	93.43	70.23±3.59 ^b	7.02	0.11±0.04 ^b
Pulp	185.80±22.91 ^b	18.58	28.47±3.18 ^c	2.85	0.53±0.04 ^a

Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. a, b, c Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistikolarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (p<0.05)

4.8. Marmelatların Duyusal Değerlendirmesi

Marmelatların duyusal değerlendirme formu Materyal ve Metod kısmında Çizelge 3.4'de sunulmuştur. 15 panelist, 9-aralıklı hedonik test ile duyusal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada renk, kıvam, tat ve lezzet ve koku özellikleri değerlendirilmiştir. Çizelge 4.12'de duyusal değerlendirme sonuçları verilmiştir. Sunum ve görsel beğeni bakımından renk oldukça önemli bir parametredir. Marmelatların renk puanları 5.53-8.47 aralığında değişmektedir. Renk analizinde en beğenilen renk 8.47 puan ile ticari pektin ile yapılan marmelatlar olmuştur, bunu mikrodalga destekli ekstrakte edilmiş pektin ile üretilen marmelatlar 7.46 puan ile izlemiştir. Panelistlerce istatikselsel olarak mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ticari pektin ile elde edilen pektinlerin marmelatlarında fark önemli görülmezken, klasik ekstraksiyon ile üretilen marmelatlarda önemli görülmüştür.

Kıvam için verilen puanlar 6.46-7.33 arasında değişmektedir. Kıvamı en beğenilen örnek 7.33 puan ile ticari pektin marmelatıdır. Ticari pektini 6.60 puan ile klasik ekstraksiyon ve 6.46 puan ile mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin marmelatı izlemektedir. Mikrodalga destekli ve klasik yöntem arasında çok önemli bir puan farkı görülmemektedir. Kıvama ve lezzete etki eden faktörler; pişirme süresi, pulp içerisindeki kayısının olgunluğu, içerisindeki şeker miktarı, eklenen şeker miktarıdır. Tat-lezzet bakımından değerlendirmede, değerlendirme puanları 6-7.80 arasında değişmektedir. 7.80 puan ile en beğenilen ticari pektinle üretilmiş marmelatıdır. Bunu

6.80 puan ile mikrodalga destekli ekstraksiyon pektin ile üretilen marmelatı izlemektedir (Çizelge 4.12). Genel beğeni puanı 5.93-7.93 arasında değişmektedir. Ticari pektinle üretilen marmelatları, 7.20 puan ile mikrodalga destekli ekstraksiyon pektini ile üretilen marmelatlar izlemektedir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Duyusal değerlendirme

Pektin	Renk	Kıvam	Koku	Tat-lezzet	Genel beğeni
Ticari	8.47±0.64 ^a	7.33±1.18 ^a	7.53±1.41 ^a	7.80±1.27 ^a	7.93±0.88 ^a
Klasik	5,53±2.03 ^b	6.60±1.96 ^a	6.07±1.44 ^b	6.00±2.17 ^b	5.93±2.12 ^b
Mikrodalga	7.53±0.92 ^a	6.46± 1.80 ^a	7.00± 1.61 ^{ab}	6.80±1.37 ^{ab}	7.20±1.61 ^a

Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. a, b, c Aynı sütunda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (p<0.05)

Mikrodalga teknolojisi sayesinde mikrodalga destekli ekstraksiyonda klasik ekstraksiyon pektinine göre, esterleşme derecesi ve galakturonik asit miktarı daha yüksek pektin elde edilmiştir. Bu durum jelleşmeyi arttırdığı gibi daha üstün, daha kıvamlı, tat lezzet ve görsel bakımdan da daha kaliteli bir marmelat elde edilmesine sebebiyet vermiştir. Mikrodalga destekli ekstrakte edilmiş pektin ile yapılan marmelatın üstün özellikleri, panelistler tarafından duyusal olarak da kanıtlanmıştır. Duyusal analiz sonuçları, fizikokimyasal analiz sonuçlarını destekler niteliktedir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, mikrodalga destekli yöntem ile greyfurt kabuğundan pektin ekstrakte edilmiş, sonuçlar klasik yöntemle ekstrakte edilen pektinle karşılaştırılmıştır. Hem mikrodalga destekli hemde klasik yöntemle pektin ekstraksiyonu için ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Klasik ekstraksiyonda optimum koşullar pH 1, 30 ml/g sıvı katı oranı, 3 saat olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda ekstraksiyon verimi %35.95 bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda optimum koşullar pH 1, 30 ml/g sıvı katı oranı, 90 saniye olarak belirlenmiş ve verim %21.88 bulunmuştur.

Mikrodalga destekli yöntemle ekstrakte edilen pektin fizikokimyasal özellikleri bakımından, klasik yöntemle ekstrakte edilen pektine üstünlük göstermiştir. Ayrıca iki ekstraksiyon yöntemi arasındaki zaman farkı verim farkını tolere edebilecek düzeydedir. Klasik ekstraksiyon için harcanan sürenin, mikrodalga destekli ekstraksiyon süresinin 120 katı olması, kullanılan elektriksel gücün maliyeti de göz önüne alındığında, mikrodalga destekli ekstraksiyon daha avantajlı olarak görülmektedir. Ayrıca her iki yöntemle elde edilen pektinlerin FT-IR analizi yapılmış sonuçların birbiriyle uyumlu ve literatür ile tutarlı olduğu gözlenmiştir.

Klasik yöntem ile mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi ile elde edilen pektinler kayısı marmelatı üretiminde kullanılmıştır. Üretilen kayısı marmelatlarının fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri incelendiğinde, fizikokimyasal ve duyuşal özellikler bakımından da mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektinle üretilen marmelat, klasik olarak ekstrakte edilen pektin ile üretilen marmelata göre daha iyi bulunmuştur.

Literatürde mikrodalga destekli ekstraksiyon çalışmaları sınırlı sayıdadır. Bu çalışma ile greyfurt kabuklarında düşük mikrodalga gücünde, kısa sürede, yüksek verimle, duyuşal ve diğer özellikleri bakımından iyi kalitede pektin elde edilebileceği gösterilmiştir ve çalışma sonuçları bu konudaki literatürdeki boşlukları doldurmuştur. Elde edilen pektin yüksek metoksilli pektin olduğundan gıda endüstrisinde; özellikle reçel, marmelat, şekerleme endüstrisinde kullanılabilir olacağı gösterilmiştir. Gıda uygulamasına

uygunluğunun araştırılması amacıyla elde edilen pektin, marmelat üretiminde kullanılarak üründe etkisi incelenmiş, böylelikle bu konuda ki teknolojik eksiklikler de tamamlanmıştır. Gelecekte sonuçlar ticarileştiğinde, mikrodalga destekli ekstraksiyonla pektin üretiminde üretim maliyetlerinin düşebileceğinden ekonomik olarak da pektin üreticilerine bir katkı sağlayacaktır.



6. KAYNAKLAR

- Abid, M., Yaich, H., Hidouri, H., Attia, H. ve Ayadi, M. A., 2018. Effect of substituted gelling agents from pomegranate peel on colour, textural and sensory properties of pomegranate jam. *Food Chemistry* 239, 1047–1054.
- Adetunji, L.R., Adekunle, A., Orsat, V. ve Raghavan, V., 2017. Advances in pectin production proses using novel extraction techniques. *Food Hydrocolloids*, 62, 239-250.
- Ahmed, R., 2013. Extraction, Characterization and Utilization of Pectin From Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) Waste. (Yüksek Lisans Tezi), Department of Food Technology and Rural Industries Bangladesh Agricultural University Mymensingh.
- Aina, A. O., Mustapha M, Barau O. A, Mamman, Amina Z., Hauwa H., M. S. U. ve Yagana B. A., 2012. Extraction and characterization of pectin from peels of lemon, grape fruit and sweet orange. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 3 (6), 259-262.
- Anonim, 2018. http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:sjD3M5cNgWYl:www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Greyfurt%2520Yeti%25C5%259Ftiricili%25C4%259Fi.pdf+&cd=2&hl=tr&ct=clnk&gl=tr (07.03.2018).
- Anonim,2017.<http://tekstilkutuphane.blogspot.com.tr/2012/12/tekstil-liflerinde-bitkisel-hucre-duvar.html> (06.05.2017).
- Anonim,2016.<http://www.kimyasanal.com/konugoster.php?yazi=5xajqgpuzr> (12.10.2016).
- AOAC 2005: The Association of Analytical Communities. Official Methods of Analysis. 15th Edn, Washington D.C.
- Arslan, N., 1994. Pektinin fizikokimyasal özellikleri, üretimi ve gıdalarda kullanımı. *Gıda dergisi* 19 (3), 187-192.
- Arslan, N. ve Aşan T., 1993. Şeker Pancarı Küspesinden Pektin İzolasyonu. Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü. *Gıda dergisi* 18 (2), 117-120.
- Azad, A. K. M., Ali, M. A., Sorifa Akter Mst., Jaur, Md., R. ve Ahmed, M. 2014. Isolation and characterization of pectin extracted from lemon pomace during ripening. *Journal of Food and Nutrition Sciences*; 2 (2): 30-35.
- Baekey, P.A., Cerda, J. J., Burgin, C. W., Robbins, F. L., Rice, B. A. ve Baumgartner, T. G., 1988. Grapefruit Pectin Inhibits Hypercholesterolemia and Atherosclerosis in Miniature Swine. *Clinical Cardiology*, 11, 595-600.
- Bagherian, H., Zokaee, A., F., Fouladitajar, A. ve Mohtashamy, M., 2011. Comparisons between conventional, microwave and ultrasound assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50 (11-12), 1237-1243.
- Baş, C., 2010. Cevap Yüzey Tasarımları ve Sinir Ağları Yaklaşımı. (Doktora Tezi), İstatistik Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Bayraktaroglu, G. ve Obuz E., 2006. Ultrasound Yönteminin İlkeleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu.
- Belitz, H.D., Grosch, W. ve Schieberle, P., 2004. *Food Chemistry*. Springer Verlag, 1070 p, Germany.

- BeMiller, J. N., 2007. Carbonhydrate Chemistry for Food Scientists. AACC Press, 389 p, USA.
- Bradford, M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-dye Binding. Anal. Biochem, 72, 248-254.
- Buggenhout, S. V., Sila, D. N., Duvetter, T., Loey, A. V. ve Hendrickx, M., 2009. Pectins in Processed Fruits and Vegetables: Part III-Texture Engineering. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 8, 105-117.
- Büyüktuncel, E., 2013. Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, Cilt 32, Sayı 2, 209-242.
- Cameron, R. G., Luzio G. A., Goodner, K. ve Williams, M. A. K., 2008. Demethylation of a Model Homogalacturonan with a Salt-independent Pectin Methylesterase from Citrus: I. Effect of pH on Demethylated Block Size, Block Number and Enzyme Mode of Action. Carbohydrate Polymers, 71, 287-299.
- Castillo-Israel, K. A. T., Baguio, S. F., Diasanta, M. D. B., Lizardo, R. C. M., Dizon, E. I. ve Mejico, M. I. F., 2014. Extraction and characterization of pectin from Saba banana [*Musa 'saba (Musa acuminata x Musa balbisiana)*] peel wastes: A preliminary study. Food Science Cluster, College of Agriculture, University of the Philippines Los Baños, Laguna, Philippines.
- Cellat, K., 2011. Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşenlerinin Ekstrakte Edilmesi ve İçeriklerinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Kimya Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi Adana.
- Cemeroğlu B., ve Acar J., 1986. Meyve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No:6, Ankara.
- Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Başkent Klîşe Matbaacılık, 670 s, Ankara.
- Chen, Y., Xie, M. Y. ve Gong, X. F. 2007. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. Journal of FoodEngineering, 81, 162–170.
- Değirmecioglu, A. ve Yazgi, A. 2006. Tepki Yüzeyleri Metodolojisi “Optimizasyon Esaslı Çalışmalara İlişkin Teorik Esaslar ve Tarımsal Mekanizasyon Uygulamaları”. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarım Makineleri Bölümü. Tarım Makineleri Bilimi Dergisi, 2 (2), 111-115.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. ve Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry, 28, 350-356.
- Evranuz, Ö., 1985. Ayçiçeği Tablasından Pektin Eldesinde Pektin Kalitesini Etkileyen Faktörler ve Konu ile İlgili Teknolojik Öneriler. Tubitak MBEDE, Beslenme ve gıda teknolojisi bölümü, yayın no: 92.
- FAO, 2015. Citrus Fruit Statics, [http://www.fao.org/search/en/?cx=018170620143701104933%3Aqq82jsfba7w&q=GRAPEFRU%C4%B0T&cof=FORID%3A9&siteurl=www.fao.org%2Fthemes%2Fen%2F&ref=www.fao.org%2Fhome%2Fen%2F&ss=9711j8821917j18.\(01.03.2018\)](http://www.fao.org/search/en/?cx=018170620143701104933%3Aqq82jsfba7w&q=GRAPEFRU%C4%B0T&cof=FORID%3A9&siteurl=www.fao.org%2Fthemes%2Fen%2F&ref=www.fao.org%2Fhome%2Fen%2F&ss=9711j8821917j18.(01.03.2018))
- Food Chemical Codex. 1996. IV monographs. Washington DC: National Academy Press.pp 283.
- Fidalgo, A., Ciriminna, R., Carnaroglio, D., Tamburino, A., Cravotto, G., Grillo, G., Ilharco, L. ve Pagliaro, M., 2016. ACS Sustainable Chem. Eng. Eco-Friendly

- Extraction of Pectin and Essential Oils from Orange and Lemon Peels, 4, 2243-2244.
- Fishman, M. L., Pifer, P. E., Barford, R. A. ve Donar, K. W. 1984: Studies of pectin solution properties by high performance exclusion chromatography. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 32 (2), 372-378.
- Georgiev, Y., Ognyanov, M., Yanakieva, I., Kussovski, V. ve Kratchanova M., 2012. Isolation, Characterization and Modification of Citrus Pectins. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 1 (3), 223-233.
- Guillot, S.E., 2005. Studies on The Intra- and Intermolecular Distributions of Substituents in Commercial Pectins. (Ph D Thesis), Wageningen University, 155 p, The Netherlands.
- Gunning, A. P., Pin, C., Morris ve V. J., 2013. Galectin 3- β -galactobiose Interactions. *Carbohydrate Polymers*, 92, 529-533.
- Guo, X., Han, M., Xi, H., Rao, L., Liao, X., Hu, X. ve Wu, J., 2012. Extraction of Pectin from Navel Orange Peel Assisted by Ultra-High Pressure, Microwave or Traditional Heating: A Comparison. *Carbohydrate Polymers*, 441-448.
- Guo, X., Zhao, W., Pang, X., Liao, X., Hu, X. ve Wu, J., 2013. Emulsion Stabilizing Properties of Pectins Extracted by High Hydrostatic Pressure, High-speed Shearing Homogenization and Traditional Thermal Methods: A Comparative Study. *Food Hydrocolloids*, In press.
- Gürbüz, Ü. ve Tekinşen O. C., 1993. Besin Endüstrisinde Kullanılan Stabilizörler ve Emülgatörler, *Türk Veteriner Hekimler Dergisi*, 5 (2), 39-43.
- Güzel, M. ve Akpınar Ö., 2017. Turunçgil Kabuklarından Elde Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması, *Akademik Gıda* 15 (1), 17-28.
- Hamm, R., 1963. The Water Imbibing Power of Foods. In 'Recent Advances in Food Science-3' Eds. Leitch. J.M. ve Dhodes. D. N., London, 218-229.
- Herbstreith ve Fox Corporate Group, 2017. Informative Literature Brochures; The Specialist For Pectin, Jams, Jellies and Marmalades, From Fruits to Pectin, Confectionery, Gum and Jelly Products, Fruit Preparations for Baked Products, Acidified Milk Products and Protein Stabilization, Yoghurt Fruit Preparations. Germany. <http://www.herbstreith-fox.de/en/corporate-group.html>- (05.03.2017).
- Hosseini, S., Khodaiyan, F. ve Yarmand, M. 2016. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sourorange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers* 140, 59–65.
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiaini, H. ve Hosseini, S. S., 2017. Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers* 157, 1315–1322.
- Jeong, H. S., Kim, H. Y., Ahn, S. H., Oh, S. C., Yang, I., ve Choi, I.G., 2014. Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for extraction of pectin from rapeseed cake (*Brassica napus* L.) using commercial enzymes. *Food Chemistry*, 157, 332-338.
- Kar, F., Arslan, N., 1999. Characterization of Orange Peel Pectin and Effect of Sugars, L-ascorbic acid, Ammonium Persulfate, Salts on Viscosity of Orange Peel Pectin Solutions. *Carbohydrate Polymers*, 40, 285-291.
- Kaya, M., Sousa, A. G., Crépeau M. J., Sørensen, S. O., Ralet ve M. C., 2014. Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions:

- influence of acid type and pH of extraction, Part Of a Special Issue On Plant Cell Walls, *Annals of Botany*.
- Khan, A. A., Butt, M. S., Randhawa, M. A., Karim, R., Sultan, M. T. ve Ahmed, W., 2014. Extraction and characterization of pectin from grapefruit (Duncan cultivar) and its utilization as gelling agent. *International Food Research Journal* 21 (6), 2195-2199.
- Koç B. ve Ertekin, F. K., 2009. Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir.
- Kumar, A. ve Chauhan, G. S., 2010. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. *Carbohydrate Polymers* 82, 454-459.
- Küçükçapraz, Ö. D., Üçgül, İ. ve Elibüyük, U., 2016. Alginatlar ve Tekstilde Lif Uygulamaları. *Journal of Phoenix, Anka e-Dergi, Cilt 1/Sayı 1*. Isparta.
- Leong, C. M., Noranizan, M. A., Kharidah, M. ve Choo, W. S., 2016. Physicochemical properties of pectin extracted from jackfruit and chempedak fruit rinds using various acids. *International Food Research Journal* 23(3), 973-978.
- Li, D., Jia, X., Wei, Z. ve Liu, Z., 2012. Box–Behnken Experimental Design for Investigation of Microwave-assisted Extracted Sugar Beet Pulp Pectin. *Carbohydrate Polymers*, 88, 342–346.
- Liang, R. H., Chen, J., Liu, W., Liu C. M., Yu, W., Yuan, M. ve Zhou, X.Q., 2012. Extraction, Characterization and Spontaneous Gel-forming Property of Pectin from Creeping Fig (*Ficus pumila* Linn.) Seeds. *Carbohydrate Polymers*, 87, 76-83.
- Mahesar, S. A., Sherazi, S. T. H., Abro, K., Kandhro, A., Bhangar, M. I., Van de Voort, F. R. ve Sedman, J. 2008. Application of microwave heating for the fast extraction of fat content from the poultry feeds. *Talanta*, 75, 1240–1244.
- Maran, J., Thirugnanasambandham, K., Sivakumar, V. ve Sridhar, R., 2013. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate polymers* 97, 703-709.
- Maran, J. P. Prakash ve K. A., 2014. Process variables influence on microwave assisted extraction of pectin from waste *Carcia papaya L.* peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 202–206.
- Maran, P., Swathi, K., Jeevitha, P., Jayalakshmi, J. ve Ashvini, G., 2015. Microwave-assisted extraction of pectic polysaccharide from waste mango peel. *Carbohydrate Polymers*, Volume 123 June 2015, Pages 67-71.
- Maraş, M., Çavuşoğlu, K., Aksöz E. ve Kırındı T., 2004. Pektin, poligalakturonik asit ve liyofilize pektinaz enziminin yapısal analizi. *İtü dergisi/c fen bilimleri Cilt:2, Sayı:1*, 3-10.
- Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., Robert, C., Paquot, M., Blecker, C. ve Attia, H., 2008. Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* 74, 185–192.
- Melton, L.D. ve Smith B.G., 2001. Determination of the Uronic Acid Content of the Plant Cell Walls Using a Colorimetric Assay, *Current Protocols Current in Food Analytical Chemistry*, Unit E3.3.

- Miller, G. L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Min, B., Lim, J., Ko, S., Lee, K.G., Lee, S.H. ve Lee, S., 2011. Environmentally Friendly Preparation of Pectins from Agricultural Byproducts and Their Structural/Rheological Characterization. *Biosource Technology*, 102, 3855-3860.
- Moon, J.S., Sohn, K.H. ve Lee, M.H. 1982. The Content and Chemical and Physical Properties of the Pectin in Tangerine Peel. Department of Food and Nutrition, Yonsei University, Seoul 120.
- Moorthy, I. G., Maran, J. P., Surya, S. M., Naganyashree, S. ve Shivamathi, C. S., 2015. Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72(0), 1323-1328.
- Mosayebi, V. ve Yazdi, F. T., 2015. Optimization of microwave assisted extraction (MAE) of pectin from black mulberry (*Morus nigra L.*) pomace. *Journal of Food and Bioprocess Engineering (JFBE)*, 34-48.
- Myers R. H. ve Montgomery D. C., 1995. *Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York.
- Ngouémazong, D. E., Tengweh, F. F., Fraeye, I., Duvetter, T., Cardinaels, R., Loey, A. V., Moldenaers, P. ve Hendrickx, M., 2012. Effect of Demethylesterification on Network Development and Nature of Ca⁺² PectinGels: Towards Understanding Structure-Function Relations of Pectin. *Food Hydrocolloids*, 26, 89-98.
- Norazelina, S. M., Nazarrudin, R., Norizah, M. H. ve Zainudin M., 2012. Extraction and characterization of pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrrhizus*) using various extraction conditions. *Malaysia: Sains Malaysiana* 41(1), 41-45.
- Oğuz, M., 2015. Limon Posasında Kimyasal ve Enzimatik Yöntemle Pektin Eldesinin Optimizasyonu. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı. Adana.
- Oliveira, A. N., Paula, D. A., Oliveira, E. B., Saraiva, S. H., Stringheta, P. C. ve Ramos, A. M., 2018. Optimization of pectin extraction from Ubá mango peel through surface response methodology. *International Journal of Biological Macromolecules* 113, 395-402.
- Önol, K., 2010. Üretim Metalurjisinde Mikrodalga Uygulamaları, Yıldız Teknik Üniversitesi Teknik Yazı, 21-26.
- Pappas, C. S., Malovikova, A., Hromadkova, Z., Tarantilis, P. A., Ebringerova, A. ve Polissiou, M., 2004. Determination of the degree of esterification of pectinates with decyl and benzyl ester groups by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and curve-fitting deconvolution method. *Carbohydrate Polymers* 56(4), 465-469.
- Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z. E. ve Hosseini, S. S., 2017. Optimization of aqueous pectin extraction from *Citrus medica* peel. *Carbohydrate Polymers*, 178, 27-33.
- Ptichkina, N. M., Markina, O. A. ve Romyantseva, G. N., 2008. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food Hydrocolloids*, 22 (1), 192-195.

- Puri, M., Sharma, D. ve Barrow, C. J., 2012. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30 (1), 37-44.
- Rangana S., 1986. *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable product*, second edition. Tata McGraw-Hill publications, New Delhi.
- Sakai, T. ve M. Okushima., 1980. Microbial production of pectin from citrus peel. *Applied and Environmental Microbiology*, 39 (4), 908-12.
- Saldamlı, İ., 2005. Gıda kimyası. Hacettepe Üniversitesi yayınları 2. Baskı, 117-119.
- Sato, M. F., Rigoni, D. C., Canteri, M. H. G., Petkowicz, C.L.O., Nogueira, A. ve Wosiacki, G., 2011. Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars, *Maringá*, 33(3), 383-389.
- Shi, J., Mazza, G. ve Maguer, M. L., 1998. *Functional Foods*. CRC Press, 409 p, Florida.
- Srivastava, P. ve Malviya R., 2011. Sources of Pectin, extraction and its applications in pharmaceutical Industry- An Overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources* Vol. 2(1), pp. 10-18.
- Stephen, A. M., Phillips, G. O. ve Williams, P. A., 2006. *Food Polysaccharides and Their Application*. CRC Press, 733 p, USA.
- Torralbo, D. F., Batista, K. A., Di-Medeiros, M. C.B. ve Fernandes, K. A., 2012. Extraction and Partial Characterization of *Solanum lycocarpum* Pectin. *Food Hydrocolloids*, 27, 378-383.
- Thakur, B. R., Singh, R.K., Handa, A. K. ve Rao, M. A., 1997. Chemistry and uses of pectin, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37:1, 47-73.
- Thirugnanasambandham, K. ve Sivakumar, V., 2015. Application of D-optimal design to extract the pectin from limebagasse using microwave green irradiation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1351–1357.
- Ueno, H., Tanaka, M., Hosino, M., Sasaki, M., ve Goto, M., 2008. Extraction of valuable compounds from the flavedo of *Citrus junos* using subcritical water. *Separation and Purification Technology*, 62(3), 513-516.
- Vorangen, F., Beldman, G. ve Schols, H., 2001. Cell-wall polysaccharides: structural, chemical and analytical aspect. In B. V. McCleary and L. Prosky (Eds), *Advanced Dietary Fibre Technology*, pp. 379. Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z. ve Ding, T., 2015. Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chemistry*, 178 (0), 106-114.
- Wang, X., Chen, Q., ve Lü, X., 2014. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. *Food Hydrocolloids*, 38 (0), 129-137.
- Wang, S., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., ve Hu, X., 2007. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78 (2), 693-700.
- Whistler R. L. ve BeMiller J. N., 1973. *Industrial Gums Polysaccharides and their Derivatives*. Elsevier, New York.
- Wikiera, A., Mika, M., Janiszewska, A. ve Stodolak, B., 2016. Endo-xylanase and Endo-cellulase Assisted Extraction of Pectin From Apple Pomace, *Carbohydrate Polimers*, 142, 199-205.
- Willats, W. G. T., Knox, J. P. ve Mikkelsen, J. D., 2006. Pectin: New Insights Into an Old Polymer are Starting to Gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 97-104.

- Yang, Y., Zhang, G., Hong, Y., Gu, Z. ve Fang, F., 2013. Calcium Cation Triggers and Accelerates the Gelation of High Methoxy Pectin. *Food Hydrocolloids*, 32, 228-234.
- Yıldırım, E., 2013. Pektin nedir, fizikokimyasal özellikleri nelerdir. *İnovatif kimya dergisi*, Sayı 3, 30-35.
- Yuliarti, O., 2011. Isolation and Characterisation and Functional Properties of Pectin from Gold Kiwifruit (*Actinidia chinensis* cv. HORT16A). (PhD thesis), Massey University, 287 p, New Zeland.
- Yurdagül E., 2007. Erik Bazlı Karışık Meyveli Geleneksel Marmelat Üretimi Üzerine Bir Araştırma. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Zhang, L., Ye, X., Ding, T., Sun, X., Xu, Y. ve Liu, D., 2013. Ultrasound Effects on the Degradation Kinetics, Structure and Rheological Properties of Apple Pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20 (1), 222- 231.



7. EKLER

EK I. Üronik Asit Yönteminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

EK II. Bradford Metodunda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

EK III. DNS Çözeltisinin Hazırlanması

EK IV. Toplam Şeker Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması



EK I. Üronik Asit Yönteminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

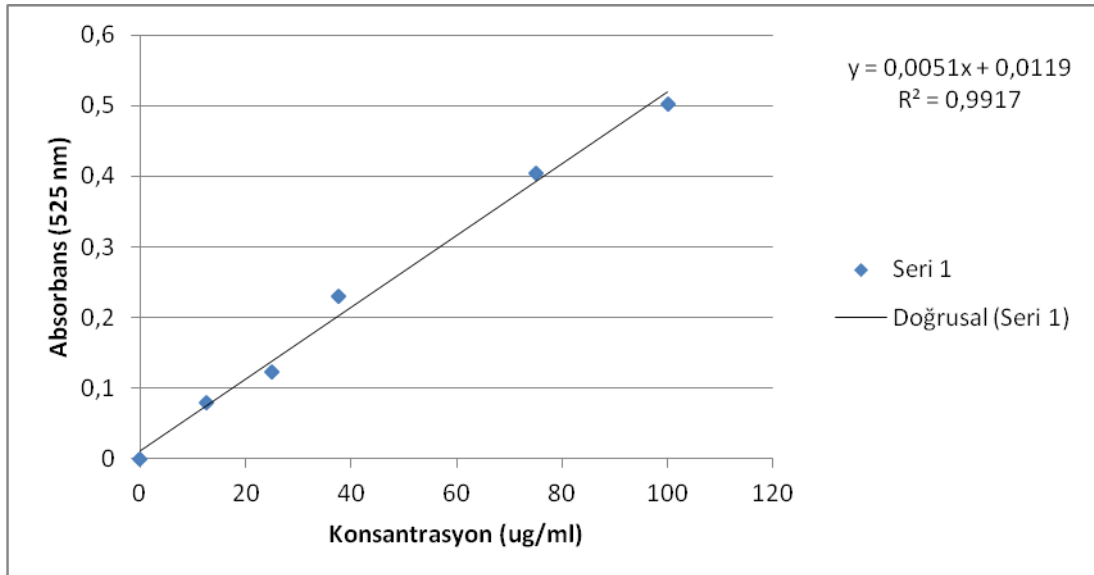
%0.5 NaOH Çözeltisi: 0.5 g kadar NaOH tartılır ve bir miktar su ile manyetik karıştırıcıda çözdürülerek hacmi 100 ml' ye tamamlanır.

m-hidroksidifenil Çözeltisi: 0.15 g kadar 3-fenilfenole 80 mL %0.5 NaOH çözeltisi eklenir ve hacmi 100 ml' ye %0.5 NaOH çözeltisi ile tamamlanır.

75 mM Sodyumtetraborat Çözeltisi: 1.501 g kadar sodyumtetraborata 90 ml konsantre sülfürik asit eklenir ve manyetik karıştırıcıda çözdürülerek hacmi 100 ml' ye asitle tamamlanır.

4 M Sülfamik asit/Potasyum Sülfamat Çözeltisi: 38.84 g kadar sülfamik aside 50 mlsaf su eklenir. Doygun KOH yavaş yavaş eklenerek pH 1.6' ya ayarlanır ve hacmi 100ml' ye doygun KOH ile tamamlanır.

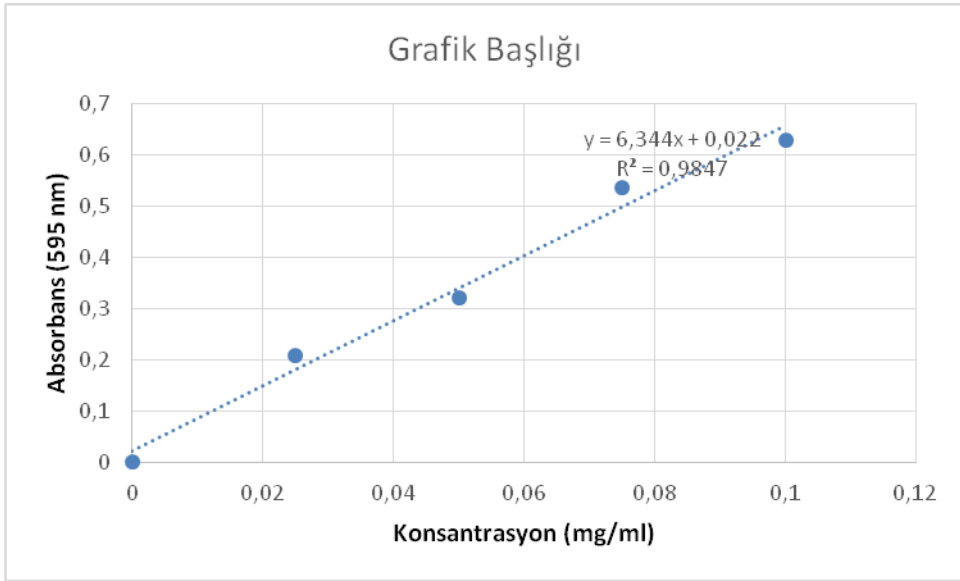
Galaktronik Asit Kurve Grafiği



EK II. Bradford Metodunda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

50 ml %95 etil alkol, 100 ml ortofosforik asit, 100 mg brilliant blue hazırlanmıştır. 200 ml'ye saf su ile getirilerek bu çözeltilerden 25 ml alınmış, 100 ml saf su eklenerek 125 ml bradford çözeltisi hazırlanmıştır. Koyu renkli kapaklı şişede buzdolabında saklanmıştır.

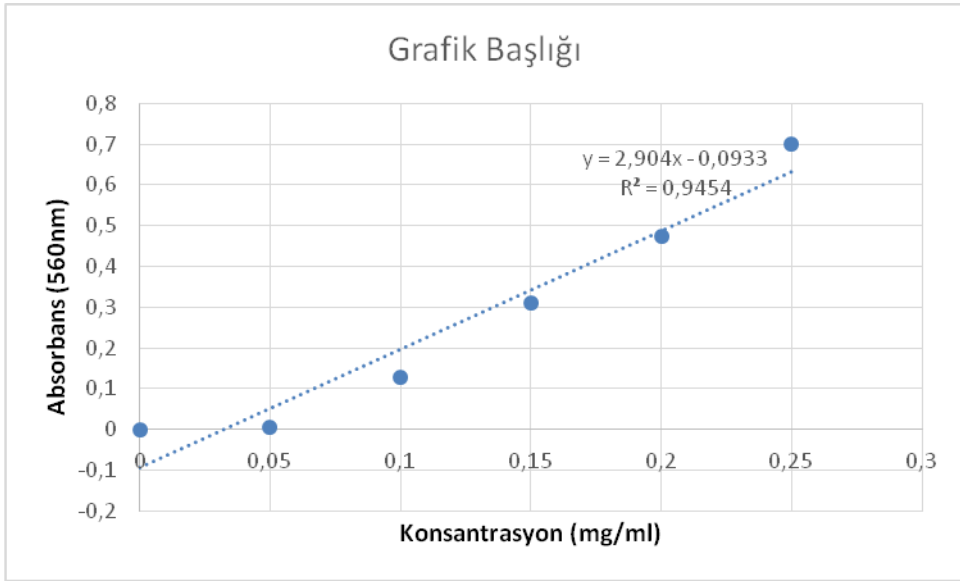
BSA Kurve Grafiği:



EK III. DNS Çözeltisinin Hazırlanması

DNS Çözeltisi: 5 g dinitrosalisilik asit, 1 g fenol, 0.25 g sodyum sülfid, 5 g sodyum hidroksit, önce 400 ml saf su içinde çözündürülür, sonra hacmi 500 ml tamamlanır. Standart olarak 2.5 mg/ml konsantrasyonda glikoz kullanılmıştır.

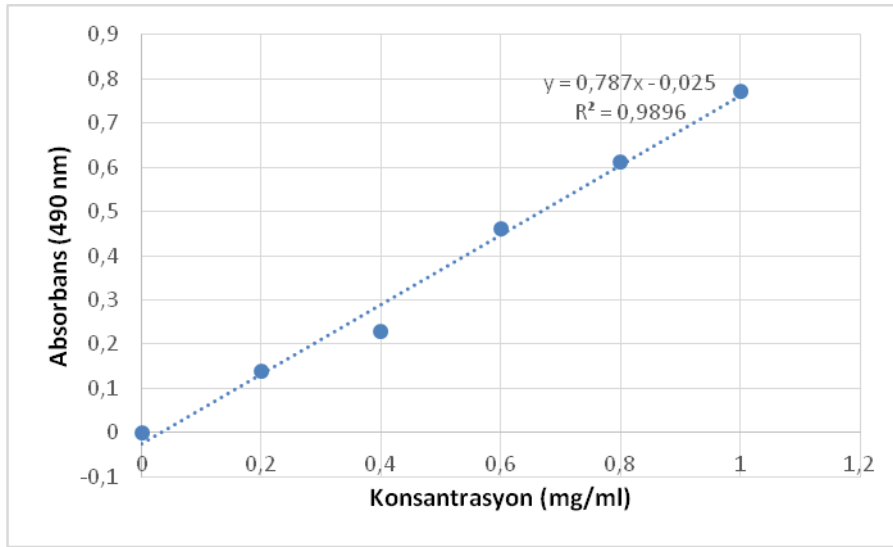
Glikoz Kurve Grafiği:



EK IV. Toplam Şeker Tayininde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

%80'lik Fenol Çözeltisi: 80 g fenol 100 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır.

1 mg/ml D-Glikoz Çözeltisi: 100 mg D-Glikoz 100 ml saf suda çözündürülmüştür.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı: Nedra TEKTAŞ TAŞAN

Doğum Tarihi ve Yeri: 06.07.1984- AMASYA

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce (orta), Almanca (başlangıç)

e-posta: nedratektas@yahoo.com

Öğrenim Durumu

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Gıda Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2004-2008
Yüksek Lisans	Gıda Mühendisliği	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2013-

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2008-2009	Karaman- Saray Bisküvi	Üretim Mühendisi
2009-2010	Amasya 15. Kolordu Komutanlığı	İstihdamı Zorunlu Personel
2011-2012	Amasya Üniversitesi Aşçılık Bölümü	Öğretim Görevlisi
2012-2013	Amasya- Göylezzet Projesi	İstihdamı Zorunlu Personel
2013-2015	Amasya Göynücek SYDV	Büro Görevlisi
2015-	İstanbul Ataşehir SYDV	Büro Görevlisi

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler:

1. TEKTAŞ NEDRA, AKPINAR ÖZLEM (2017). Optimization of Microwave Extraction of Pectin From Grapefruit Peel. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (Özet Bildiri/Sözlü Sunum).