

Şeker Pancarı Posasından Elde Edilen Pektinin Modifiye Edilerek Karakterize Edilmesi, Moleküler ve Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi[†]

Mustafa Tahsin Yılmaz^{1,*} Aslı Muslu¹ Enes Dertli² Ömer Said Toker¹

¹Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya ve Metalürji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,
Davutpaşa Kampüsü, 34210, İstanbul, Türkiye

²Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,
Bayburt, Türkiye

* Sorumlu yazar: mtyilmaz@yildiz.edu.tr

Geliş Tarihi (Received): 17.01.2016

Kabul Tarihi (Accepted): 23.02.2016

Şeker sanayisinin önemli artıklarından olan şeker pancarı posasından optimum şartlarda (pH, süre ve sıcaklık) pektin elde edilmiştir. Sonraki aşamada pektin pektinaz enzimi kullanılarak modifiye edilmiştir. Modifikasyonun pektinin yapısal özelliklerine etkisini gözlemleyebilmek için fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analizler gerçekleştirilmiştir. FT-IR analizinde pektinin spesifik bölgesi olan ve kalitesini belirleyen 1600-1800 cm⁻¹ bantlarına bakılmıştır. HPLC analizinde ise galakturonik asit içeriğine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde modifiye edilen pektinin galakturonik asit içeriğinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Belirtilen bu analizlere ilave olarak elde edilen pektinlerin akış davranışları da belirlenmiştir. Modifiye edilen pektinin akış özelliklerinin değiştiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: şeker pancarı posası, pektin, modifikasyon, reoloji, optimizasyon

[†]Bu çalışmanın bir bölümü "Gıda Atıklarından Geri Kazanılan Modifiye Pektinin Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi" isimli Yüksek Lisans tezinden türetilmiştir.

Rheological and Molecular Characterization of Modified Pectin from Sugar Beet Meal

The pectin was produced from sugar beet pulp, one of the significant waste of sugar industry, at optimum conditions (pH, time and temperature). Then, the modification was carried out using pectinase. FT-IR (Fourier transform infrared spectroscopy) and HPLC (high performance liquid chromatography) analysis were performed to characterize the differences between modified and unmodified pectin. FT-IR analysis revealed the specific regions of pectin and 1600-1800 cm⁻¹ bands. Galacturonic acid content was analyzed by HPLC. The obtained results revealed that the modified pectin had higher galacturonic acid content. In addition, flow properties of the modified pectin was also determined. The flow characteristics of modified pectin was observed to change.

Keywords: sugar beet meal, pectin, modification, rheology, optimization

Giriş

Meyve ve sebzelerin yapısında bulunan, kompleks kolloidal polisakkarit olan pektinler genel olarak tüm genç bitkilerin hücre duvarlarında ve hücre aralarında bulunur. Bitkiler olgunlaştıkça yapısında bulunan pektin miktarı giderek azalmaktadır. Bazı bitkisel hücreler tek tabakalı bir duvarla çevrili olduğu halde bazılarının duvarı üç tabakadan meydana gelmektedir. İç ve dış tabakalar arasında kalan ve orta lamella olarak adlandırılan bölge pektik maddelerden oluşmaktadır.

Aynı zamanda pektin, hücreleri birbirine bağlayarak bitki hücreleri arasında doğal harç maddesi olarak görev yapmaktadır (Saldamlı, 1985; Alimardani-Theuil ve ark., 2011). Pektik maddeler hücre çekirdeğinin bölünmesiyle oluşmaktadır. Pektin bulunduran zar hücreyi ikiye böler ve bölünme devam ederken selülozik zarlar orta lamella pektik maddelere dönüşür. Her meyve ve sebzede farklı miktarda bulunan pektinler bitkisel kaynaklı stabilizatörlerdir (Gee ve ark., 1958; Gregory, 1986; Gürbüz ve Tekinşen, 1993; Keskin, 1981).

Pektik maddeler hidroliz edildiklerinde galakturonik asit ve metanol açığa çıkmaktadır. Bunlar D-galakturonik asit veya D-galakturonik asidin metil esterinden oluşan polisakaritlerdir. Bir üronik asit olan D-galakturonik asit, D-galaktozun son alkol grubunun yükseltgenmesiyle oluşur. α -1-4 glikozidik bağları, pektik maddeleri oluşturan D-galakturonik asitleri birbirine bağlayarak düz bir zincir meydana getirirler. Pektinler, D-galakturonik asit birimlerine ilave olarak yapısında diğer şekerleri de içermektedir. D-galaktoz, L-arabinoz ve L-ramnoz pektin yapısında en yaygın olarak bulunan şekerlerdir. Bu şekerler pektin molekülüne kovalent bağlarla bağlanmıştır (Goodban ve ark., 1958; Klavons ve Benett, 1986; Cemeroglu ve Acar, 1986; Saldamlı, 1985; Thibault, 1983).

Anhidrogalakturonik asit ünitelerinden oluşan pektinin, sahip olduğu yüksek su tutma kapasitesi yapısında bulunan karmaşık ve koloidal karbonhidrat türevlerinden kaynaklanmaktadır. Pektik maddelerin molekül ağırlığı 30000-300000 Da arasında değişmektedir. Aynı zamanda pektinin yapısında 300-1000 galakturonik asit ünitesi bulunmaktadır (Lee, 1938).

Pektinin ana zincirini oluşturan galakturonik asitlerin karboksil grupları, metil gruplarıyla kısmen esterleşmiş, kısmen katyonlarla nötrleşmiş ya da serbest halde bulunabilirler (McComb ve McCready, 1957; Alimardani-Theil, 2011).

Amerikan Kimya Derneği'ne göre pektik maddeler dört ana gruba ayrılmaktadır: i.) protopektinler, ii.) pektik asitler, iii.) pektinik asitler ve iv.) pektinler. Pektinler, pektinik asit ve pektik asit suda kısmen çözünürken protopektinler suda çözünmemektedir (Alkorta ve ark., 1987; Willants ve ark., 2001).

Pektik maddelerin birbirinden farkı polimer zincirinde yer alan galakturonik asit birimlerinin kimyasal niteliklerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Pektik asit; metil ester grubu içermeyen poligalakturonik asitlerden oluşmaktadır. Pektik asitin tuzuna pektat denilmektedir. Pektinik asit; bazı karboksil gruplarının metil grupları ile esterleşmesi sonucu meydana gelmiştir (Kilara, 1982). Bunların tuzlarına da pektinat denir. Pektinik asitler; asit, şeker ve metoksil değeri düşük olanlarda metal iyonu ilavesiyle jel meydana getirirler. Pektin; değişik oranlarda metil ester grubu bulunduran, şeker ve asitle uygun koşullarda jel yapabilen ve

suda çözünebilen pektinik asitlere denir. Protopektin; bitkilerde bulunan ve soğuk suda çözünmeyen fakat sıcak su, asit veya tuz çözeltileri ile yapıdan ekstrakte olan pektik maddelerdir. Protopektin bitkisel hücrenin birinci duvarında zengin miktarda bulunur. Pektik maddeler, meyvelerin olgunlaşması sırasında kimyasal değişikliğe uğramaktadır. Olgunlaşma ilerledikçe pektinik asit pektik aside hidrolize olmaktadır. Bundan dolayı aşırı olgun meyvelerden üretilen reçel ve marmelatlarda zayıf bir jel yapısı oluşmaktadır (Whitaker ve ark., 1984; Yiğit, 1975; McCready, 1966).

Pektinler esterleşme derecesine göre ikiye ayrılmaktadır. Bunlardan esterleşme yüzdesi %50 den az olanlar kalsiyum varlığında jel meydana getirirken, esterleşme yüzdesi %50 den yüksek olanlar asit ve şekerle jel meydana getirirler (Dickinson ve ark., 2003). Ticari pektin üretimi meyve suyu üretim artışı olan elma ve portakal posalarından ya da şeker üretim atığı olan şeker pancarı posasından yapılmaktadır. Elma ve portakal pektinleri jelleştirici, inceltici yada stabilize edici özelliğe sahiptir. Şeker pancarı pektininin zayıf jel oluşturma özelliği vardır fakat bu pektinin emülsifiye etme özelliği yüksektir.

Pektin, meyve ve sebzelerin tüketilmesi ile vücuda alınan doğal bir diyet bileşendir. Pektinin sağlık üzerinde yararlı etkileri vardır. Sağlık üzerine olan etkisi sahip olduğu diyet lifinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Pektin ince bağırsakta çok az sindirilmektedir ve kalın bağırsakta kolon bakterileri tarafından fermente edilmektedir. Pektin, bu fonksiyonundan dolayı prebiyotik etkiye sahiptir.

Buchholt ve ark., (2004)'ün yapmış olduğu bir çalışmada şeker pancarı posasından elde edilen pektin modifiye edilmiş ve modifiye edilen pektin karakterize edilmiştir. Oosterveld ve ark., (2002)'nin yapmış olduğu bir çalışmada da şeker pancarı pektini çeşitli enzimlerle modifiye edilmiştir. Değişik modifikasyon yöntemlerinin pektinin kimyasal yapısı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Ülkemizde kullanılan pektinin çok büyük bir kısmı yurt dışından ithal edilmektedir. Pektinin bitkisel kaynaklı bir katkı maddesi olduğu düşünüldüğünde yurt dışından ithal edilmesi ülkemiz açısından tezat bir durumu ortaya çıkarmaktadır. Çünkü bilindiği gibi ülkemiz meyve ve sebze açısından oldukça zengindir. Ülkemizde üretilen meyve ve sebzeler, taze olarak tüketildiği

gibi büyük bir kısmı da çeşitli ürünlere işlenmektedir. Meyve ve sebzelerin çeşitli ürünlere işlenmesi sırasında birçok artık ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bu artıkların geri kazanımı ülkemiz ekonomisi açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada gıda endüstrisinin önemli artıklarından olan şeker pancarı posasından optimum şartlarda pektin elde edilmiştir. Elde edilen pektin enzimatik yolla modifiye edilerek; pektin ve türevinin karakterizasyonu yapılmış olup, reolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır.

Materyal ve Metod

Materyal

Şeker pancarı posası, Konya şeker fabrikasından satın alınmıştır. Analizlerde pektinaz (*Aspergillus aculeatus*, SIGMA-ALDRICH), selüloz (*Trichoderma reesei* ATCC SIGMA), D-(+)-Galakturonik asid monohidrat (FLUKA) kullanılmıştır.

Metod

Pektin veriminin optimize edilmesi

Pektin üretim şartları, yanıt yüzey metodu kullanılarak pektin verimi dikkate alınarak optimize edilmiştir. Bu amaç için 3 faktörlü (pH,

sıcaklık ve süre) deneme dizaynı kullanılmıştır. Deneme dizaynında pH 1,2-1,8 aralığında; sıcaklık 70-90 °C'de ve süre 2-5 saat aralığında değişmiştir. Bu üç faktörün çeşitli kombinasyonlarından oluşan 15 deneme noktası, Çizelge 1'de gösterilmiştir. Optimizasyon Design Expert programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçların modellenmesinde modifiye model kullanılmış olup backward elimination yöntemiyle önemsiz bulunan terimler modelden çıkarılmıştır. Elde edilen modellere ait 3D grafikler, Design Expert yazılımı kullanılarak elde edilmiştir.

Şeker pancarı posasından pektin eldesi

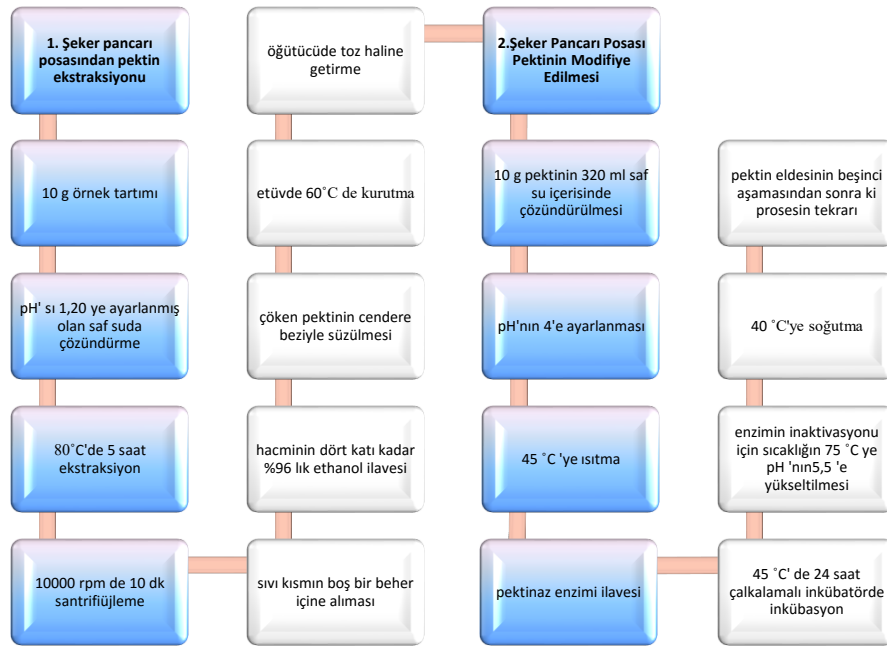
Pektin ekstraksiyonu, Kliemann ve ark., (2009)'un uyguladıkları metot temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu metotta bazı değişiklikler yapılmıştır. Şeker pancarı posası 60°C de bir gece bekletilerek kurutulmuştur. Yanıt yüzey metodu kullanılarak yapılan optimizasyonda en yüksek verim sağlayan faktörler (pH, Sıcaklık, Süre) belirlenerek pektin eldesi gerçekleştirilmiştir. pH'sı 1,20'e ayarlanmış distile suya 1:25 oranı elde edilecek şekilde posa eklenecek manyetik karıştırıcıda (IKA C-MAG HS 7, Almanya) 80°C ye ısıtılıp 5 saat ekstraksiyon yapılmıştır.

Çizelge 1. Şeker pancarı posasından pektinin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan Box-Behnken deneme dizaynı

Table 1. Box-Behnken experimental design used for the optimization of extraction process of pectin from sugar beat meal

Runs	Kodlu değerler			Gerçek Değerler			Sonuçlar
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	Verim(%)
1	0	0	0	80,00	3,50	1,50	7,18
2	-1	1	0	70,00	5,00	1,50	6,18
3	0	0	0	80,00	3,50	1,50	8,10
4	-1	-1	0	70,00	2,00	1,50	4,42
5	0	0	0	80,00	3,50	1,50	7,26
6	1	0	1	90,00	3,50	1,80	5,10
7	0	-1	1	80,00	2,00	1,80	3,49
8	-1	0	1	70,00	3,50	1,80	4,60
9	0	-1	-1	80,00	2,00	1,20	11,4
10	1	0	-1	90,00	3,50	1,20	18,6
11	1	-1	0	90,00	2,00	1,50	9,97
12	-1	0	-1	70,00	3,50	1,20	8,43
13	1	1	0	90,00	5,00	1,50	11,5
14	0	1	1	80,00	5,00	1,80	5,72
15	0	1	-1	80,00	5,00	1,20	19,6

X₁, Sıcaklık (°C); X₂, Süre (saat); X₃ pH



Şekil 1. Şeker pancarı posası pektini ve şeker pancarı posası modifiye pektini eldesi akım şeması

Figure 1. Flow chart indicating the steps for production sugar beet meal pectin and modified sugar beet meal pectin

Ekstrakt 40°C ye soğutulduktan sonra 10.000 rpm de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süzüntü kısmı boş bir beherin içine alınarak hacminin dört katı kadar %96'lık etil alkol ilave edilmiştir. Çöken pektin cendere beziyle süzülükten sonra %96'lık ethanol ile yıkanmıştır. Daha sonra 60°C de etüvde bir gece bekletilerek kurutulup öğütücüde toz haline getirilmiştir. Pektin eldesi akım şeması Şekil 1'de verilmiştir.

Pektinin karakterizasyonu

Pektin ve türevlerinin FT-IR analizinin yapılması

Analizler, ATR-FTIR spektrofotometre (Bruker) ile gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerin her biri havaya göre background alınarak yapılmıştır. Çözünürlük değeri 4 cm⁻¹'dir. Numuneye ilişkin ölçümler cihazın sahip olduğu kütüphaneye kontrol edilmiş olup çıkan sonuçlar pektin ile eşleştirilmiştir.

Pektin ve türevlerinin galakturonik asit içeriğinin belirlenmesi

Pektinlerde bulunan galakturonik asit miktarı Monsoor ve ark., (2001)'in tarafından uygulanan metotta bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. 12 ml 0,1 N NaOH a 30 mg pektin

ilave edilip 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Ardından karışımın pH'sı 0,1 N NaOH ile 4,2 ye ayarlanıp 1 mg pektinaz enzimi ve 25 mg selüloz enzimi ilave edilmiştir. Enzimatik aktivite için ağzı kapalı olan cam şişe alüminyum folyo ile sarılarak karanlık ortam oluşturulmuş olup çalkalamalı inkübatörde 55 °C de 25 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra önce örnekler kaba filtre kağıdıyla ardından 0,45 µl filtre ile süzülüp HPLC'de (HPLC-RID-10A, Shimadzu, Japonya) galakturonik asit içeriği belirlenmiştir. Analizde C18 kolon (partikül boyutu 5 µm) ve PDA (fotodiyot) dedektör kullanılmıştır. Mobil faz olarak kullanılan ultra saf suyun pH'sı 0,1 N HCl ile 2,2 ye ayarlanmıştır. Akış hızı 0,6 ml/min olarak ayarlanmış olup, dalga sayısı 200 nm olarak belirlenmiştir.

Pektinin enzimatik yolla modifiye edilmesi

Pektinin modifiye edilmesi için, Bucholt ve ark., (2004)'ün uyguladıkları metot temel alınmış olup bu metotta bazı değişiklikler yapılmıştır. 10 g pektin 320 ml saf suda çözündürülmüştür. Örneğin pH'sı %5 lik NaOH ile 4,2 ye ayarlanmıştır. 80 µl pektinaz enzimi ilave edilerek 45°C de manyetik karıştırıcıda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonra enzim inaktivasyonu için sıcaklık 75°C'ye ve pH 5,5'e yükseltilmiştir.

Karışımın sıcaklığı 40 °C'ye düşürüldükten sonra karışım hacminin dört katı kadar etanol ilave edilerek pektin çöktürülmüştür. Daha sonra cendere bezi yada kaba filtre yardımıyla süzülen modifiye pektin 60 °C'de bir gece bekletilerek kurutulmuştur. Pektin modifikasyonunun akış şeması Şekil 1'de verilmiştir.

Pektin ve türevlerinin reolojik özelliklerinin belirlenmesi

Örneklerin Hazırlanması

pH sı 0,1 N HCl ile 3 e getirilmiş 100 ml saf suyun içerisine 3 g örnek ve 10 g şeker yavaş yavaş ilave edilerek manyetik karıştırıcı yardımıyla hızlıca karıştırılarak ısıtılmıştır. Karışım kaynadıktan sonra 30 g daha şeker ilave edilip tekrar kaynaması beklenmiştir. Daha sonra soğuk manyetik karıştırıcı üzerine alınmış olup 1 saat homojen olarak karışması sağlanmıştır.

Yatışkan faz reolojik analizi

%3 lük pektin solüsyonlarının analizi kesme kontrollü ve peltier sistemli bir reometre (Anton Paar, MCR 302, Austria) kullanılarak belirlenmiştir. Sabit kesme analizleri 1-100 s⁻¹ kesme hızı aralığında 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. Prob olarak PP50 kullanılmıştır. Elde edilen reolojik verilerin, şeker pancarı posası pektinin determinasyon katsayısı (R²) Herschel-Bulkley model (Eşitlik 1) ile hesaplanmış olup şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektininin R² determinasyon katsayısı Oswald de Waele modeli (Eşitlik 2) ile hesaplanmıştır.

Herschel-Bulkley model:

$$\sigma = \sigma_0 + K(\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

Burada σ kayma gerilimini (Pa), σ_0 akma gerilimini (Pa), K kıvam katsayısını (Pa sⁿ),

$\dot{\gamma}$ kesme hızını (s⁻¹) ve n akış davranış indeksini ifade etmektedir.

Oswald de Waele model:

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (2)$$

Burada σ kayma gerilimini (Pa), K kıvam katsayısını (Pa sⁿ), $\dot{\gamma}$ kesme hızını (s⁻¹) ve n akış davranış indeksini ifade etmektedir.

Daha sonra örneklerin, 50 s⁻¹ kesme hızında 0–70 °C aralığında viskozitenin sıcaklığa bağlı değişimi belirlenmiştir. Ürünlerin görünür viskozite değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi Arrhenius model (Eşitlik 3) ile tanımlanmıştır.

$$H_{70} = \eta_0 e^{(E_a/R(T+273.2))} \quad (3)$$

Burada; η_{70} görünür viskozite (Pa s), E_a aktivasyon enerjisi (kJ mol⁻¹), R evrensel gaz sabiti (kJ mol⁻¹K⁻¹) ve T ise mutlak sıcaklıktır (K).

Frekans Tarama Testi

Frekans tarama testi analizini gerçekleştirmek için pektin solüsyonları 0,1-100 Pa aralığında ve 25 °C de sabit 10 rad/s açısal hızda strese maruz bırakılmış ve örneklerde meydana gelen deformasyon incelenmiştir. Böylelikle örnekler ait doğrusal vizkoelastik bölge belirlenerek frekans tarama testinin gerçekleştirildiği strain (gerilim) değeri tespit edilmiştir.

Bu test 25 °C'de 0,1-100 rad/s aralığında, %0,5 strain değerinde gerçekleştirilmiştir. Örnekler ait G' elastik modül, G'' viskoz modül, G^* kompleks modül ve η^* kompleks viskozite değerleri belirlenmiştir.

Elde edilen viskoelastik model parametreleri, Power law model (Eşitlik 4-6) kullanılarak modellenmiştir.

Power-law model:

$$G' = K'(\omega)^{n'} \quad (4)$$

$$G'' = K''(\omega)^{n''} \quad (5)$$

$$\eta^* = K^*(\omega)^{n^*-1} \quad (6)$$

Vizkoelastik parametrelerin sıcaklığa bağlı değişimini belirleyebilmek için % 1 strain 0–70 °C aralığında sıcaklık tarama testi gerçekleştirilmiştir. Sonuçların modellenmesi için eşitlik 3 kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Pektin veriminin optimizasyonu

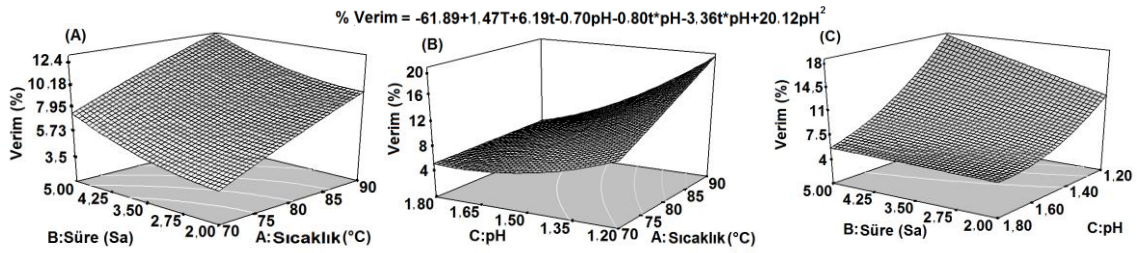
Uygulanan 3 faktörlü 15 deneme noktalı deneme dizaynının (Çizelge 1) sonucunda en yüksek verim 80 °C de pH 1,20 de 5 saatte yapılan ekstraksiyonda % 19,63 (100 g kurutulmuş şeker pancarı posasında) olarak bulunmuştur. En düşük verim ise 80 °C de pH 1,8 de 2 saatlik ekstraksiyon sonucunda % 3,49 şeklinde bulunmuştur. Yanıt yüzey modelinde uygulanan modifiye modelin

0,01 anlamlılık düzeyinde % 96 uyumlu olduğu bulunmuştur. Elde edilen model eşitliğine göre sıcaklık ve süre arttıkça ve pH düştükçe pektin ekstraksiyon verimi artmaktadır (Şekil 2). Yapı ve ark., (2007)'nin yapmış olduğu çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur. Sıcaklık, süre ve pH'nın verim üzerine olan etkilerinin üç boyutlu çizimleri Şekil 2'de verilmiştir.

Moleküler karakterizasyon

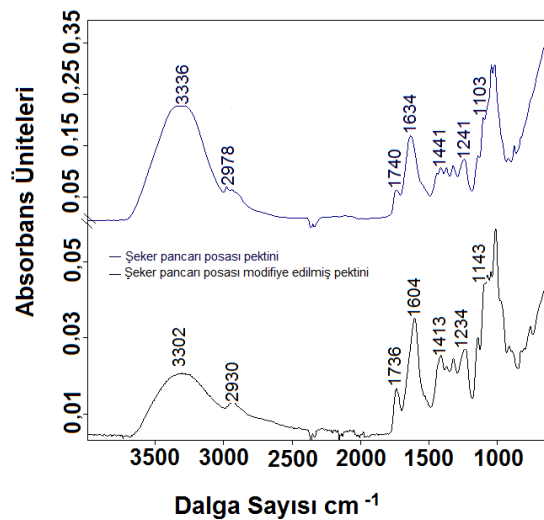
Şekil 3'de şeker pancarı posası pektini ve modifiye pektinlerine ait FT-IR spektrumları yer almaktadır. 1000-1150 cm^{-1} arası C-OH ve C-O-H gruplarını göstermektedir. 1100-1200 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon bantları, pektinin halka yapısında bulunun C-C ve R-O-R eter gruplarını göstermektedir. 1600-1800 cm^{-1} arasındaki bölge pektinin spesifik bölgesi olup pektinin

tanımlanmasında ve kalitesinin belirlenmesinde kullanılan bölgedir. 1643 cm^{-1} ve 1742 cm^{-1} bantları pektinin serbest ve esterleşmiş karboksil gruplarını göstermektedir. 2930 cm^{-1} bantı galakturonik asitin yapısında bulunan metil esterlerin metil grubunu göstermektedir. 3421 cm^{-1} pektinde bulunan hidroksil gruplarını göstermektedir (Lin ve ark., 2010). Şeker pancarı posası pektini ve şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektini arasında meydana gelen farklılıklar FT-IR analizi ile gözlemlenmiştir. Modifikasyon sonrasında şeker pancarı posası pektini ve şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektinin dalga sayıları sırasıyla; hidroksil gruplarının dalga sayısı 3336 cm^{-1} den 3302 cm^{-1} e, ester gruplarının dalga sayısı 2978 cm^{-1} den 2930 cm^{-1} e, 1740 cm^{-1} ve 1634 cm^{-1} esterleşmiş karboksil gruplarının dalga boyları ise sırasıyla 1736 cm^{-1} ve 1604 cm^{-1} şeklinde değişim göstermiştir.



Şekil 2. Sıcaklık, pH ve sürenin pektin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi

Figure 2. Effect of temperature, pH and time on pectin extraction yield



Şekil 3. Şeker pancarı posası pektin ile modifiye şeker pancarı pektinine ait FT-IR spektrumu

Figure 3. FT-IR spectrum for sugar beet meal pectin and modified sugar beet meal pectin

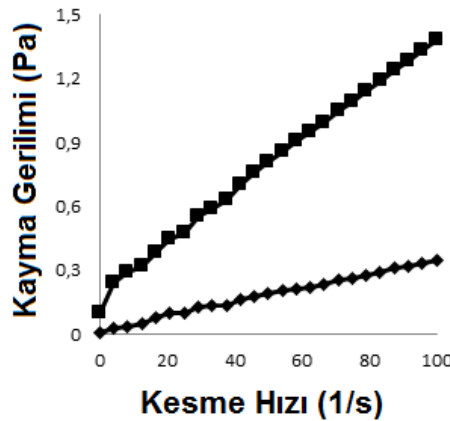
Galakturonik asit miktarı

Galakturonik asit içeriği şeker pancarı posası pektinin de 356,109 mg/g kuru pektin, şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektininde ise 413,66 mg/g toz pektin şeklinde bulunmuştur. Galakturonik asit içeriği Uçan ve ark., (2012)'nin yapmış olduğu çalışmada ki galakturonik asit içeriğine uygun bulunmuştur. Buchholt ve ark., (2004)'ün yapmış olduğu çalışmada; şeker pancarı posasının galakturonik asit içeriğini 548 mg/g kuru pektin, modifiye şeker pancarı posasının pektin içeriğini ise 567 mg/g kuru pektin şeklinde bulmuşlardır. Galakturonik asit içeriği modifikasyon sırasında artış göstermektedir.

Yatışkan faz reolojik özellikleri

% 3'lük pektin solüsyonlarında yapılan analizden elde edilen sonuca göre kesme hızına karşılık elde edilen kesme basıncı grafiği, pektinlere ait akışın non-newtonyan olduğunu göstermektedir (Şekil 4). Benzer sonuçlar Raj ve ark., (2012) tarafından da belirtilmiştir. Şeker pancarı posası pektininin sonuçları Herschel-Bulkley modele (Eşitlik 1) göre hesaplanmış olup R^2 (determinasyon katsayısı) 0,9994 şeklinde bulunmuştur. Şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektinin de sonuçları Oswald de Waele model (Eşitlik 2) ile hesaplanmış olup R^2 (determinasyon katsayısı) 0,9964 olarak bulunmuştur. Şeker pancarı posası pektinin K , τ_0

(Pa) ve n değerleri sırasıyla 0,11 (Pa.sⁿ), 0,02 (Pa), 0,85 bulunmuş olup şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektininde K ve n değerleri sırasıyla 0,0065 (Pa.sⁿ), 0,8732 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 2). n değerinin 1'den küçük olması da Non-Newtonyan akış davranışının göstergesidir (Raj ve ark., 2012). Yani kesme hızı arttıkça örneklerin viskozitesi azalmaktadır. Uçan ve Akyıldız (2012)'in yapmış olduğu çalışmada pektin metil esteraz enziminin pektin zincirindeki metoksil gruplarını ayırarak pektinin esterleşme derecesini düşürerek yüksek metoksilli pektini düşük metoksilli pektine dönüştürdüğü ifade edilmiştir. Reaksiyon ilerledikçe zincirdeki metoksil grupları temizlenerek pektin poligalakturonik aside dönüşmektedir. Aynı çalışmada modifikasyon sırasında pektin metil esteraz enzimi pektini su eşliğinde pektinik asit ve metanole parçalamaktadır. Ayrıca, Maraş ve ark., (2004)'ün yapmış olduğu çalışmaya göre; pektinazlar substrattaki glikozidik bağları kopararak çözeltinin viskozitesini hızlı bir şekilde düşürmüştür. Aynı çalışmada; glikozidik bağlarının % 2 kadarının hidrolize olmasıyla viskozite % 50 oranında düşmektedir. Schmelter ve ark., (2002)'nin yapmış olduğu çalışmada; ticari elma ve portakal pektinin modifiye edildikten sonra viskozitelerinde düşme olduğu gözlemlenmiştir. Pektinin reolojik özellikleri asetillenme derecesi ve yan zincirlerinin uzunluğuna göre değişmektedir (Matthew ve ark., 1990).



Şekil 4. Şeker pancarı posası ve şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektini 25 °C'deki akış davranışını (modifiye şeker pancarı posası pektini, şeker pancarı posası pektini)

Figure 4. Flow behavior of sugar beet meal pectin and modified sugar beet meal pectin at 25 °C (◆modified sugar beet meal pectin, ■ sugar beet meal pectin)

Çizelge 2. Şeker pancarı pektin ekstraksiyonuna yönelik oluşturulan modele ait F ve serbestlik derecesi (SD) değerleri

Table 2. F and standard deviation (SD) values for the experimental model set up for pectin extraction from sugar beet meal

Regresyon	SD	F değeri
Model	6	36,31**
X_1	1	39,62**
X_2	1	16,30*
X_3	1	131,24**
$X_1 * X_3$	1	15,93*
$X_2 * X_3$	1	6,33*
X_3^2	1	8,43*
Residual	8	
Uyum eksikliği	6	7,04
Pure Hata	2	
Toplam	14	

X_1 , Sıcaklık ($^{\circ}C$); X_2 , Süre (saat); X_3 pH
* $p < 0,01$ ** $p < 0,01$

Çizelge 3. Pektin örneklerine ait Herschel Bulkley, Oswald de Waele ve Arrhenius model parametreleri

Table 3. Herschel Bulkley, Oswald de Waele ve Arrhenius model parameters for the pectin samples

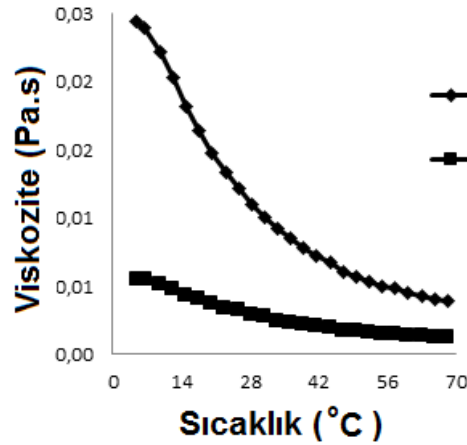
Örnek Adı	Şeker pancarı pektin	Modifiye Şeker
Model	Herschel Bulkley	Oswald de Waele
K (Pa.s ⁿ)	0,1188	0,0065
τ_0 (Pa)	0,0251	
n	0,8572	0,8732
R^2	0,9994	0,9964
Model	Arrhenius	Arrhenius
E_a (kJ/mol)	25,3295	20,1826
A°	5×10^{-8}	9×10^{-8}
R^2	0,9947	0,9947

Sıcaklık tarama testinde, sıcaklık arttıkça şeker pancarı posası pektinin ve şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektinin viskozitesi sıcaklık arttıkça düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 5). Elde edilen veriler Arrhenius modele (Eşitlik 3) uyarlanmış olup R^2 determinasyon katsayısı her iki analiz sonucunda da 0,9947 bulunmuştur. E_a (kJ/mol) değeri sırasıyla 25,239 ve 20,1826 olarak bulunmuş olup A° değeri de sırasıyla 5×10^{-8} ve 9×10^{-8} olarak bulunmuştur.

Vizkoelastik özellikler

% 3 lük şeker pancarı posası pektini kullanılarak hazırlanan solüsyonun viskoelastik özelliği frekans tarama testinde % 0.5 strain altında ölçülmüş olup

G' ve G'' değerlerinin frekansa bağlı değişimi Şekil 6'da verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda elde edilen veriler Power-law modele (Eşitlik 4-6) uyarlanmıştır. $K' > K''$ olduğu için pektinin elastik özelliği daha baskın bulunmuştur. Şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektin solüsyonunun viskozitesinde yüksek oranda düşme görüldüğünden dolayı vizkoelastik özellikleri gözlemlenmemiştir. Şeker pancarı posası pektin solüsyonunun R^2 determinasyon katsayısı G' , G'' ve G^* değerlerinde sırasıyla 0,9835, 0,9920 ve 0,9996 şeklinde bulunmuştur. K değerleri sırasıyla 1,0800, 0,4975, 3,5650 olarak bulunmuş olup η değerleri ise sırasıyla 0,2500, 0,2525 ve 0,1997 şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4).



Şekil 5. Şeker pancarı posası pektini ve Şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektini şeker pancarı posası pektininin görünür viskozite değerinin (η_{70}) sıcaklıkla değişimi. (■ modifiye şeker pancarı posası pektini, ◆ şeker pancarı posası pektini)

Figure 5. Changes in apparent viscosity (η_{70}) values of sugar beet meal pectin and modified sugar beet meal pectin at different temperature values (■ modified sugar beet meal pectin, ◆ sugar beet meal pectin)

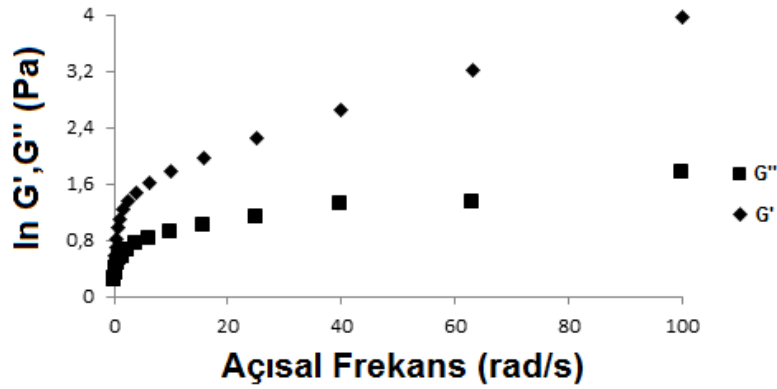
Sıcaklık tarama testi sonuçları Arrhenius modeline (Eşitlik 3) uyarlanmış ve gerekli model parametreleri hesaplanmıştır. Sıcaklığın artmasıyla elastik özellik de azalmaktadır (Şekil 7). Bu modele göre şeker pancarı posası pektininin G' ve G'' sonuçları için R^2 değeri sırasıyla 0,9831 ve 0,9910

şeklinde bulunmuştur. Aktivasyon enerjisi yine G' ve G'' sonuçları için sırasıyla (E_a') ' 28.3825, E_a'' 29.3920 şeklinde bulunmuştur. $A^{0'}$, $A^{0''}$ değeri ise sırasıyla 45×10^{-7} , $54 \cdot 10^{-7}$ şeklinde bulunmuştur (Çizelge 4).

Çizelge 4. Pektin örneklerine ait vizkoelastik parametrelere ait sonuçlar

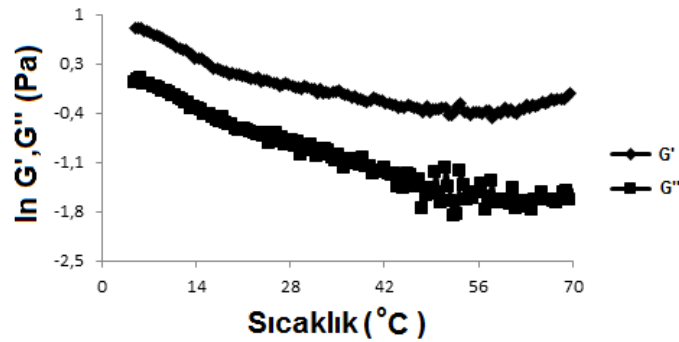
Table 4. Viscoelastic parameters of pectin samples

Model	Örnek adı	
Power-law	Şeker pancarı posası pektini	
$G' = K' (\omega)^{n'}$	k'	1,0800
	n'	0,2500
	R^2	0,9835
$G'' = K'' (\omega)^{n''}$	k''	0,4975
	n''	0,2525
	R^2	0,9920
$\eta^* = K^* (\omega)^{n^*-1}$	k^*	3,5650
	n^*	0,1997
	R^2	0,9996
Arrhenius model		
	$E_a' (kj/mol)$	28,3825
	$A^{0'}$	45×10^{-7}
	R^2	0,9831
	$E_a'' (kj/mol)$	29,392
	$A^{0''}$	56×10^{-7}
	R^2	0,9910



Şekil 6. Şeker pancarı posası pektininin G' ve G'' değerleri

Figure 6. G' ve G'' values of sugar beet meal pectin



Şekil 7. Şeker pancarı posası pektininin G' ve G'' değerlerinin sıcaklıkla değişimi

Figure 7. G' ve G'' values of sugar beet meal pectin at different temperature values

Sonuç

Şeker sanayisinin önemli atığı olan şeker pancarı posasından optimum pH, sıcaklık ve sürede pektin eldesi gerçekleştirilmiştir. 80 °C de pH 1,20'de 5 saatte yapılan ekstraksiyonda %19,63 (kurutulmuş şeker pancarı posası) oranında pektin elde edilmiştir. Daha sonra elde edilen pektini karakterize etmek için FT-IR' da pektinin spesifik bölgesi olan, tanımlanmasında ve kalitesinin belirlenmesinde kullanılan bölgelere bakılmıştır. 1643 cm^{-1} ve 1742 cm^{-1} bantları pektinin serbest ve esterleşmiş karboksil gruplarını, 2930 cm^{-1} bantı galakturonik asitin yapısında bulunan metil esterlerin metil grubunu, 3421 cm^{-1} pektinde bulunan hidroksil gruplarını göstermektedir. Daha sonra pektinaz enzimiyle pektinde modifikasyon gerçekleştirilerek yukarıdaki verilen gruplarda meydana gelen değişimler gözlemlenmiştir. Ayrıca galakturonik asit yapısında meydana gelen değişim de HPLC ile belirlenmiştir.

Modifikasyondan sonra galakturonik asit miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar galakturonik asit içeriği şeker pancarı posası pektinin de 356,109 mg/g toz pektin ve şeker pancarı posası modifiye edilmiş pektininde ise 413,66 mg/g toz pektin şeklinde bulunmuştur. Karakterizasyon çalışmalarına ilave olarak kontrol ve modifiye pektinin yatışkan faz, frekans tarama özellikleri ve görünür viskozite ve G' ve G'' değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi incelenmiştir. Modifiye edilen pektinde enzim ester bağlarını parçaladığı için modifiye edilmemiş pektine göre viskozitesinde düşme görülmüş olup akış davranışı değişmiştir.

Teşekkür

Bu araştırmanın yürütülmesinde TARIMSAL ARAŞTIRMALAR VE POLİTİKALAR GENEL MÜDÜRLÜĞÜ'ne proje desteklerinden dolayı teşekkür ederiz (TAGEM-14/ARGE/22).

Kaynaklar

- Alkorta, I., C. Garbisu, M.J. Llama and J.L. Serra, 1997. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochem.* 33(1):21-28.
- Alimardani-Theuil, P., A. Gainvors-Claisse and F. Duchiron, 2011. Yeasts: An attractive source of pectinases-from gene expression to potential applications: a review. *Process Biochem.* 46: 1525-1537.
- Buchholt, H., T.M.I.E. Christensen, B. Fallesen, C.M. Ralet and J.F. Thibault, 2004. Preparation and properties of enzymatically and chemically modified sugar beet pectins. *Carbohydrate polymers* 58: 149-161.
- Cemeroğlu, B ve J. Acar, 1986. Meyve ve Sebza İşleme Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın no: 6, Ankara.
- Dickinson, E., 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food hydrocolloid*, 17 (1): 25-39.
- Gee, M., E.A. McComb, and R.M. McCready, 1958. A method for the Characterization of Pectin in Some Fruit and Sugar-Beet Marce. *Food Research.* 23: 341-349.
- Gregory, D.J.H., 1986. The Functional Properties of Pectin in Various Food Systems, in *Interaction of Food Components*. Elsevier Applied Science Publishers, London. 211-240.
- Gürbüz, Ü ve O.C. Tekinşen, 1993. Besin Endüstrisinde Kullanılan Stabilizatörler ve Emülgatörler. *Türk Vet. Hek. Dergisi.* 5(2): 39-43.
- Goodban, A.E and H.S. Owens, 1958. Isolation and Properties of Sugar Beet Araban. *Journal of the American Society Sugar Beet Tecnology.* 2: 129-132.
- Kilara, A., 1982. Enzymes and their uses in the processed apple industry: a review. *Process Biochem.* 17 (4): 35-41.
- Keskin, H., 1981. Besin Kimyası Cilt 1, İstanbul Üni, Yayın no: 2888.
- Klavons, J.A and R.D. Benett, 1986. Determination of Methanol Using Alcohol Oksidase and its Application to Methyl Ester Content Of Pectins. *J.Agric. Food Chem.*34:597-599.
- Kliemann, E., D.N.K. Simas, R.E. Amante, E.S. Prudencio, F.R. Teofilo, M.M.C. Ferreira and R.D.M.C. Amboni, 2009. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit pell(*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. *International Journal of Food Science and tecnology.* 44: 476-483.
- Lee, F. A., 1938. *Basic Food Chemistry* 2th Edition, New York, The Avi Publishing Company.
- Lin, L., J. Cao, J. Huang, Y. Cai and J. Yao, 2010. Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology.* 101: 3268-3273.
- Maraş, M., K. Çavuşoğlu, E. Aksöz ve T. Kırındı, 2004. Pektin, poligalakturonik asit ve liyofilize pektinaz enziminin yapısal analizi. *ITU dergisi.* 2(1): 3-10.
- McComb, E.A and R.M. McCready, 1957. Determination of Acetyl in Pectin and Aetylated Corbohydrate Polymers. *Anal.Chem.* 29: 819-821.
- Monsoor, M.A., U. Kalapathy and A. Proctor, 2001. Determination of polygalacturonic acid content in pectin extracts by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 74: 233-238
- McCready, R.M., 1966. Polysaccharides of Sugar Beet Pulp, A Review of Their Chemistry. *Journal American Sugar Beet Teknology.* 14: 261-270.
- Matthew, J.A., S.J. Howson, M.H.J. Keenan and P.S. Belton, 1990. Improvement of the gelation properties of sugar beet pectin following treatment with an enzyme preparation derived from *aspergillus niger* – comparison with a chemical modification. *Carbohydrate Polymers.* 12: 295-306
- Oosterveld, A., G. Beldman and A.G.J. Voragen, 2002. Enzymatic modification of pectin polysaccharides obtained from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers* 48: 73-81.
- Sundar Raj, S.A.A., S. Rubila, R. Jayabalan and T.V. Ranganathan, 2012. A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses. *Open access scientific reports* 550: 1-2
- Saldamlı, I., 1985. Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler. Ankara.
- Schmelter, T., R. Wientjes, R. Vreeker and W. Klaffke, 2002. Enzymatic modifications of pectins and the impact on their rheological properties. *Carbohydrate Polymers.* 47: 99-108
- Thibault, J.F., 1983. Enzimatic degradation and β -elimination of the pectic Substances in Cherry Fruits. *Phytochemistry.* 22(7): 1567-1571.
- Uçan, F ve A. Akyıldız, 2012. Meyve Suyu Sanayiinde Enzimatik uygulamalar. *Gıda* 37 (6): 363-370
- Yiğit, V., 1975. Türkiye'de Çeşitli Hammaddelerde Bulunan Pektin Miktarları ve Pektin Üretimi Olanakları. *Tübitak MBEAE Beslenme ve Gıda Tek. Bölümü*, Yayın no: 7.
- Yapo, B.M., C. Robert, I. Etienne, B. Wathelet and M. Paquot, 2007. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry* 100: 1356-1364
- Whitaker, J.R., 1984. Pectic Substances, Pectic Enzymes and Haze Formation in Fruit Juices, *Enzyme and Microb. Technol.* 6(8): 341-349.
- Willants, W.G., L. Mc Cartney, W. Mackie and J.P. Knox, 2001. Pectin: cell biology and structural prospects for functional analysis, *Plant Molecular Biology*, 47:1-2, 9-27.