

Portakal Posasından Modifiye Pektin Eldesi ve Optimizasyonu, Kompozisyonel ve Yatışkan Faz Özelliklerinin Karakterizasyonu

Mustafa Tahsin YILMAZ^{1,*} Aslı MUSLU² Salih KARASU¹ Fatih BOZKURT¹ Enes DERTLİ³

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

²İstanbul Gelişim Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, Aşçılık Programı, İstanbul, Türkiye

³Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bayburt, Türkiye

*Sorumlu yazar: mtyilmaz@yildiz.edu.tr

Geliş Tarihi (Received): 10.08.2016

Kabul Tarihi (Accepted): 03.12.2016

Meyve suyu sanayisinin önemli artıklarından olan portakal posasından optimum şartlarda (pH, süre ve sıcaklık) pektin elde edilip pektinaz enzimi ile modifiye edilmiştir. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak yapılan analizlerde, modifikasyonun pektinin yapısal özelliklerine etkisi gözlemlenmiştir. Pektinin spesifik bölgesi olan ve kalitesini belirleyen 1600-1800 cm⁻¹ bantlarına FT-IR ile, galakturonik asit içeriğine de HPLC ile bakılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde portakal posası pektininin (PPP) galakturonik asit içeriği 406,44 mg/g toz pektin, portakal posası modifiye pektininin (PPMP) ise 465,34 mg/g toz pektin şeklinde bulunmuştur. Belirtilen bu analizlere ilave olarak elde edilen pektinlerin akış davranışları reolojik analizler ile belirlenmiştir. Modifiye edilen pektinin viskozite ve viskoelastik özelliklerinin değiştiği görülmüştür. PPP nin kıvam katsayısı 0,0559 Pa.sⁿ, PPMP nin 0,0046 Pa.sⁿ olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: portakal posası, pektin, modifikasyon, reoloji, optimizasyon

Optimization of Pectin Extraction from Orange Pulp and Characterization of Compositional and Steady Shear Properties

Pectin, which is one of the most important wastes of fruit juice industry, was extracted from orange pulp at optimum conditions (pH, time and temperature) and modified using pectinase. The effect of modification on the structural properties of pectin was monitored using Fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR) and high performance liquid chromatography (HPLC) analyses. The bands at 1600-1800 cm⁻¹ which indicate the specific region and quality of pectin were detected using FTIR while galacturonic acid content was determined using HPLC. The results showed that the galacturonic acid content of pectin from orange pulp was determined to be 406.44 mg/g powder pectin while that of the modified pectin from the orange pulp was determined to be 465.34 mg/g powder pectin. In addition, flow properties of the pectin samples were determined using rheological analysis. The viscosity and viscoelastic properties of the modified pectin samples were revealed to be different from those of non-modified pectin samples. The consistency index values of unmodified and modified pectin samples were determined to be 0.0559 Pa.sⁿ and 0.0046 Pa.sⁿ, respectively.

Key Words: orange pulp, pectin, modification, rheology, optimization

Giriş

Pektin kompleks polisakarit olup yeşil olmayan bitkilerin hücre duvarından Ekstrakte edilmektedir (Ridley ve ark., 2001). Pektinin büyük bir kısmı D-galakturonik asit (GaLA) ünitelerinden oluşmaktadır (Mukhiddinov ve ark., 2000). Galakturonik asit üniteleri birbirine α -(1-4) glikozidik bağıyla bağlanmaktadır (Mohare ve ark., 2013). Pektin yaklaşık 1000 şeker ünitesi içermektedir. Pektinin ortalama molekül ağırlığı 50.000-150.000 Da arasındadır. Molekül ağırlığının bu farklılığı örneklerden ve yapılarının farklılığında ve örneklerin elde edilmiş yöntemlerinin

farklılığından kaynaklanmaktadır (Rolin 1993; Novosel'skaya ve ark., 2000; Mukhiddinov ve ark., 2000; DeVries ve ark., 1986).

Pektinler deesterifikasyon derecesine göre düşük metoksilli ve yüksek metoksilli pektin olarak ikiye ayrılırlar. Ticari HM (yüksek metoksilli) pektinlerin genellikle deesterifikasyon derecesi %60-75 arasıdayken bu oran LM (düşük metoksilli) pektinlerde %20-40 arasındadır. Bu iki grup pektinin jel mekanizmaları birbirinden farklıdır. HM pektinin jel oluşturabilmesi için az miktarda pektin ve dar bir pH aralığı gerekmektedir. pH 3'lerde jel meydana getirir. HM pektin jelleri

sıcaklıkla bozulabilir. Genellikle HM pektinler sıcak suda çözünür ve çözelti içerisinde topaklaşmayı önlemek için şeker gibi çözücü ajan kullanılır. LM pektinlerin jel oluşturması için kalsiyum gibi ortamda iki değerlikli iyonlara ihtiyaçları vardır. LM pektinler HM pektinler gibi pH'ya karşı duyarlı değildirler (Rolin 1993; Novosel'skaya ve ark., 2000; Mukhiddinov ve ark., 2000; DeVries ve ark., 1986).

Pektin molekülünde ki farklılıklar; esterleşme derecesi, poligalakturonik asit zinciri boyunca metil ester gruplarının dağılım şekli, polimerizasyon derecesi (molekül ağırlığı) ve pektin molekülüne bağlı nötral şekerlerin cins ve miktarından kaynaklanmaktadır (McCready 1966; Klavons ve Benett 1986; Rombouts ve Thibault 1986; Thibault 1983; Kujwski ve Tuszyński, 1967). Uygun konsantrasyonlarda çözüldürülmüş pektin solüsyonları newtonian özellik gösteriyorken genel olarak pektinler non-newtonian akış gösterip pseudoplastik davranış gösterirler. Viskozite çözünürlük ve jelleşme genellikle birbiriyle ilgilidir (Paoletti 1986).

Bucholt, ve ark., (2004)'ün yapmış olduğu çalışmada; şeker pancarı pektinin yapısında meydana gelen özellikleri incelemek için kimyasal ve enzimatik yollarla modifiye edilmiştir.

Oosterveld ve ark., (2002)'nin yaptığı çalışmada şeker pancarı pektinin gerçek viskozite, görünür viskozitesi, molekül ağırlığı ve polarize ışığı döndürme yarıçapı özelliklerindeki değişim incelemek için çeşitli enzimlerle modifiye edilmiştir.

Einhorn-Stoll ve ark., (2015)'in yapmış olduğu çalışmada turunçgil pektinin fizikokimyasal özellikleri ve modifikasyonuna asit ve enzimatik demetiloksilasyonun etkisi araştırılmıştır.

Gıda sanayinde jelleştirici, kalınlaştırıcı, stabilize ve emülsifiye edici ajan olarak birçok ürünün formülasyonunda önemli bir bileşen olarak yer alan pektinin büyük bir kısmı yurt dışından ithal edilmektedir. bitkisel kaynaklı bir katkı maddesi olan pektinin , yurt dışından ithal edilmesi ülkemiz açısından tezat bir durumdur. Çünkü ülkemiz meyve ve sebze açısından oldukça zengin olup 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 portakal posasından optimum şartlarda pektin elde edilmiştir. Elde edilen pektin enzimatik yolla modifiye edilerek; pektin ve türevinin karakterizasyonu yapılmış olup, reolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler gözlemlenmiştir

Materyal ve Metot

Materyal

Portakallar İstanbul'da yerel bir marketten satın alınmıştır. Analizlerde Pektinaz (from *Aspergillus aculeatus*, (sıgma-aldrich), Selülaz (Trichoderma reesei atcc sıgma), D-(+)-Galakturonik asid monohidrat (fluka) kullanılmıştır.

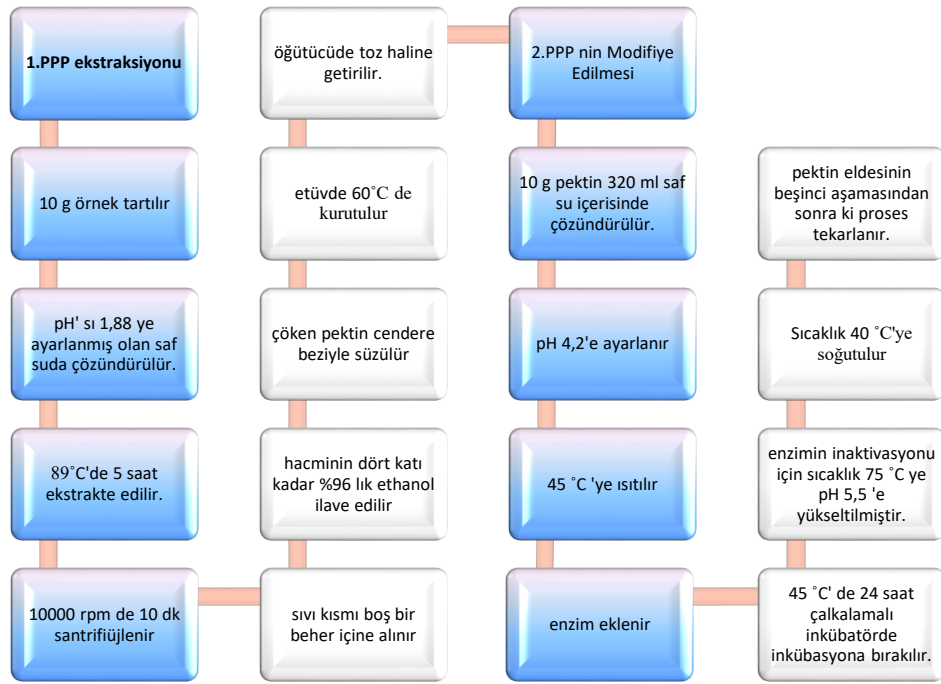
Metot

Pektin Veriminin Optimize Edilmesi

Yanıt yüzeyi metodu kullanılarak pektin veriminin optimizasyon şartları belirlenmiştir. Bu amaçla pH, sıcaklık ve süre olmak üzere 3 faktörlü deneme dizaynı kullanılmıştır. Oluşturulan deneme dizaynında pH 1,5-6 sıcaklık 30-90 °C'de ve süre 0,5-5 saat aralığında alınmıştır. Çizelge 1' de, bu üç faktörün çeşitli kombinasyonlarından oluşan 16 deneme noktası gösterilmiştir. Design Expert programı kullanılarak optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Modified model sonuçların modellenmesinde kullanılıp, backward elimination yöntemiyle önemsiz terimler oluşturulan modelden atılmıştır. Design expert yazılımı kullanılarak, elde edilen modellere ait 3D grafikleri çizilmiştir.

Portakal Posasından Pektin Eldesi

Pektin ekstraksiyonu, Kliemann ve ark., (2009)'un uyguladıkları metot referans alınarak yapılmıştır. Bu metotta bazı modifikasyonlar yapılmıştır. Portakal posasının kuruması için 1 gece 60°C de bekletilmiştir. En yüksek verim sağlayan faktörler (pH, Sıcaklık, Süre) yanıt yüzeyi metodu kullanılarak belirlenmiştir. Distile suyun pH sı 1,88 e ayarlanıp 1:25 oranı elde edilecek şekilde posa eklenerek manyetik karıştırıcıda (IKA C-MAG HS 7, Almanya) 89 °C ye ısıtılıp 5 saat ekstraksiyon yapılmıştır. 40°C ye soğutulan ekstrakt, 10.000 rpm de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Boş bir beherin içine süzüntü kısmı alınarak hacminin dört katı kadar %96'lık etil alkol ilave edilmiştir. Cendere bezi yardımıyla çöken pektin süzülüp %96'lık etil alkol ile yıkanmıştır. Son olarak 60°C de etüvde bir gece bekletilerek kurutulup öğütücüde toz haline getirilmiştir. Şekil 1'de pektin eldesi akım şeması verilmiştir.



Şekil 1. PPP ve PPMP üretim akım şeması

Figure 1. Flow chart indicating the steps for production OPP and OPMP

Pektinin Karakterizasyonu

Pektin ve türevlerinin FT-IR analizinin yapılması

Pektinin kimyasal gruplarını belirleyebilmek için ATR- FT-IR spektrofotometresi (Bruker,Almanya) kullanılmıştır. Ölçümlere başlamadan önce havaya göre background alınmış olup çözünürlük değeri 4 cm^{-1} 'dir. Örneğe ilişkin ölçümler cihazın sahip olduğu kütüphaneye kontrol edilip 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 değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. 30 mg pektin 12 ml 0,1 M NaOH a ilave edilip 120 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karışımın pH'sını 4,2 yapmak için 0,1 N HCl ilave edilmiştir. Ardından 1 mg pektinaz enzimi ve 25 mg selüloz enzimi ilave edilmiştir. Enzimatik aktivite için çalkalamalı inkübatörde, ağzı kapalı olan cam şişe alüminyum folyo ile sarılarak karanlık ortam oluşturulup $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 25 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyondan sonra analiz sırasında kolonun tıkanmasını önlemek için önce örnekler kaba filtre kağıdıyla süzülüp ardından $0,45\text{ }\mu\text{l}$ filtre ile süzümüştür. HPLC'de (HPLC-RID-10A, Shimadzu, Japonya) galakturonik

asit içeriği belirlenmiş olup analiz PDA (fotodiyot) dedektör ve C18 kolon (partikül boyutu $5\text{ }\mu\text{m}$) kullanılarak yapılmıştır. Ultra saf suyun pH'sı 0,1 N HCl ile 2,2 ye ayarlanıp mobil faz olarak kullanılmıştır. Dalga boyu 200 nm olarak belirlenmiş olup, akış hızı $0,6\text{ ml/min}$ olarak ayarlanmıştır.

Pektinin enzimatik yolla modifiye edilmesi

Pektinin modifiye edilmesi, Buchholt ve ark., (2004)'ün uyguladıkları metot baz alınmış olup bu metotta bazı modifikasyonlar yapılmıştır. 320 ml saf suda 10 g pektin çözündürülmüştür. $\%5$ lik NaOH kullanılarak örneğin pH'sı $4,2$ ye ayarlanmıştır. Ardından $80\text{ }\mu\text{l}$ pektinaz enzimi ilave edilerek $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ de manyetik karıştırıcıda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Enzim inaktivasyonu için 24 saat sonra sıcaklık $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye ve pH $5,5$ 'e yükseltilmiştir. Karışımın sıcaklığı $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ye düşürüldükten sonra pektini çöktürmek için hacminin dört katı kadar ethanol ilave edilmiştir. Ardından cendere bezi ya da kaba filtre yardımıyla süzülen modifiye pektin $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ de bir gece bekletilerek kurutulmuştur. Şekil 1'de Pektin modifikasyonunun akış şeması verilmiştir.

Pektin ve türevlerinin reolojik özelliklerinin belirlenmesi

Elde edilen kontrol ve modifiye pektinlerin reolojik özellikleri sabit kesme analizi, frekans taraması analizi ve bunların sıcaklık tarama analizi yapılmıştır.

Örneklerin hazırlanması

0,1 N HCl ile pH'si 3'e ayarlanmış 100 ml saf suyun içerisine 3 g örnek ve 10 g şeker yavaş yavaş ilave edilerek çözündürülmüştür. Manyetik karıştırıcı yardımıyla hızlıca karıştırılarak ısıtılmıştır. Daha sonra 30 g şeker kaynamış olan karışımın içine yavaş yavaş ilave edilip tekrar kaynaması beklenmiştir. Ardından soğuk manyetik karıştırıcıda 1 saat homojen olarak karışması sağlanmıştır.

Yatışkan faz reolojik özellikler

Peltier sistemli ve kesme kontrollü reometre (Anton Paar, MCR 302, Avusturya) kullanılarak %3 lük pektin solüsyonlarının analizi yapılmıştır. Sabit kesme analizleri 25°C de 1-100 s⁻¹ kesme hızı aralığında gerçekleştirilmiş olup analizlerde PP50 prob kullanılmıştır. Elde edilen reolojik verilerin R² determinasyon katsayısı Herschel-Bulkley ve Oswald de Waele model 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.

Viskozitenin sıcaklığa bağlı değişimini belirlemek için 50 s⁻¹ kesme hızında 0–70 °C aralığında analizler gerçekleştirilmiştir. Örneğin görünür vizkozite değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi Arrhenius model (Eşitlik 2) ile tanımlanmıştır.

$$\eta_{70} = \eta_0 e^{(E_a/R(T+273.2))} \quad (2)$$

burada η_{70} görünür vizkozite (Pa s), η_0 Arrhenius eşitliği sabiti (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

Pektin solüsyonlarında frekans tarama testi analizini gerçekleştirmek için örneklere ait doğrusal viskoelastik bölge belirlenerek strain (gerilim) değeri tespit edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla örnek 25°C de 0,1-100 Pa aralığında ve sabit 10 rad/s açısal hızda strese maruz bırakılmış olup örneklerde meydana gelen deformasyon incelenmiştir. Böylelikle uygun strain değeri tespit edilmiştir.

Frekans tarama testi 25°C'de 0,1-100 rad/s aralığında, %0,5 strain değerinde gerçekleştirilmiş olup örneklere ait G' elastik modül, G'' viskoz modül, η^* kompleks viskozite değerleri belirlenmiştir

Elde edilen viskoelastik model parametreleri, Power law model kullanılarak modellenmiştir.

Power-law model:

$$G' = K'(\omega)^{n'} \quad (3)$$

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

$$\eta^* = K^*(\omega)^{n^*-1} \quad (5)$$

Viskoelastik parametrelerin sıcaklığa bağlı değişimini belirleyebilmek için % 1 strain 0–70 °C aralığında sıcaklık tarama testi gerçekleştirilmiştir. Sonuçların modellenmesi için Eşitlik 2 kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Pektin veriminin optimizasyonu

Uygulanan 16 deneme noktalı ve 3 faktörlü deneme dizaynı (Çizelge 1) sonucunda en yüksek verim 89 °C de pH 1,88 de 5 saatte yapılan ekstraksiyonda % 28,44 (100 g kurutulmuş portakal posasında), en düşük verim ise 50 °C de pH 5 de 2 saatlik ekstraksiyon sonucunda % 0,58 olarak bulunmuştur. Yanıt yüzey modelinde uygulanan modified modelin 0,01 anlamlılık düzeyinde % 97 uyumlu olduğu hesaplanmıştır. Şekil 2 de verilen model eşitliğine göre sıcaklık ve süre arttıkça ve pH düştükçe pektin ekstraksiyon verimi artmaktadır. Yapo ve ark. (2007)'nin yapmış olduğu çalışma da da benzer sonuçlar bulunmuştur. Şekil 2'de Sıcaklık, süre ve pH'nın verim üzerine olan etkilerinin üç boyutlu çizimleri verilmiştir.

Çizelge 1. PPP ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda kullanılan Box-Behnken deneme dizaynı

Table 1. Box-Behnken experimental design used for the optimization of extraction process of pectin from orange pulp

Denem	Kod Faktörleri			Gerçek Faktörler			Sonuçlar
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	Verim(%)
1	0	0	0	60,00	2,75	3,75	3,28
2	0	1	1	60,00	5,00	6,00	4,65
3	0	0	0	60,00	2,75	3,75	3,40
4	-1	0	1	30,00	2,75	6,00	3,93
5	1	0	1	90,00	2,75	6,00	8,13
6	1	1	0	90,00	5,00	3,75	15,19
7	0	-1	1	60,00	0,50	6,00	0,67
8	0	1	-1	60,00	5,00	1,50	21,52
9	-1	-1	0	30,00	0,50	3,75	2,54
10	1	-1	0	90,00	0,50	3,75	12,53
11	1	0	-1	90,00	2,75	1,50	28,17
12	-1	1	0	30,00	5,00	3,75	4,28
13	-1	0	-1	30,00	2,75	1,50	9,89
14	0	0	0	60,00	2,75	3,75	4,72
15	0	-1	-1	60,00	0,50	1,50	11,96
16	0	0	0	60,00	2,75	3,75	3,28

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

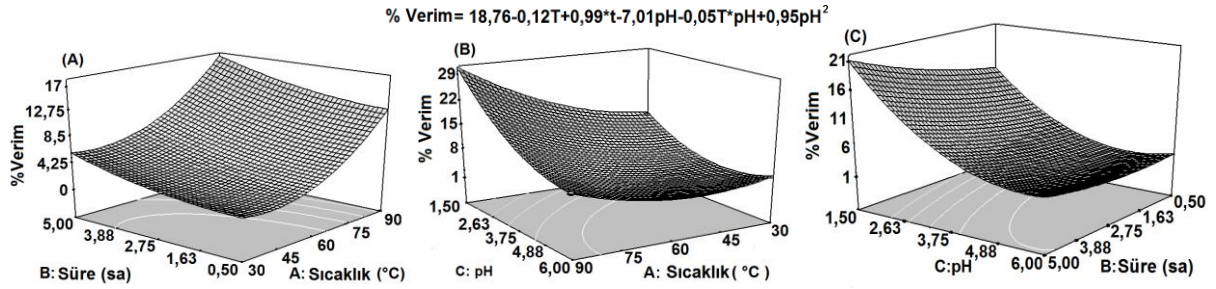
Çizelge 2. PPP ekstraksiyonuna yönelik oluşturulan modele ait F ve serbestlik derecesi (SD) değerleri

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

Regresyon	df	f değeri
Model	9	45,07**
X ₁	1	77,49**
X ₂	1	13,25*
X ₃	1	120,60**
X ₁ *X ₃	1	16,36*
X ₁ ²	1	17,24*
X ₃ ²	1	28,41**
residual	3,04	
Lack of Fit	6	5,99
Pure Error	2	
Cor Total	14	

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

*P<0,01 **P>0,01

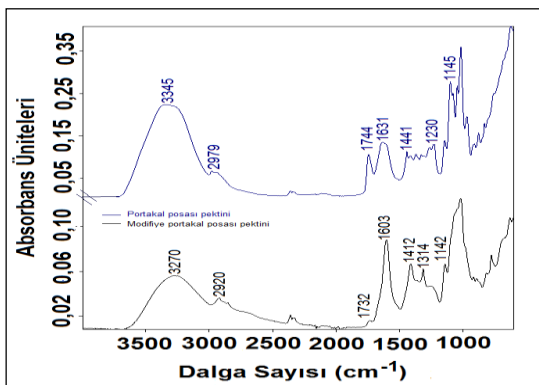


Şekil 2. Sıcaklık, pH ve sürenin pektin ekstraksiyon verimine etkisi

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

Moleküler karakterizasyon

PPP ni ve PPMP nin FT-IR spektrumları Şekil 3'de gösterilmiştir. 1000-1150 cm^{-1} arası C-OH ve C-O-H gruplarını, 1100-1200 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon bantları; pektinin halka yapısında bulunun C-C ve R-O-R ether gruplarını göstermektedir. pektinin spesifik bölgesi olan pektinin tanımlanmasında ve kalitesinin belirlenmesinde kullanılan bölge 1600-1800 cm^{-1} arasındadır. 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} bantı ise pektinde bulunan hidroksil gruplarını göstermektedir (Lin ve ark., 2010). PPP ve PPMP ni arasında meydana gelen farklılıklar FT-IR analizi ile gözlemlenmiştir. Modifikasyon sonrasında pektin ve modifiye pektinin dalga boyları sırasıyla; hidroksil gruplarının dalga boyu 3345 cm^{-1} den 3270 cm^{-1} , ester gruplarının dalga boyu 2979 cm^{-1} den 2920 cm^{-1} ye, 1744 cm^{-1} ve 1732 cm^{-1} esterleşmiş karboksil gruplarının dalga boyları ise sırasıyla 1631 cm^{-1} ve 1603 cm^{-1} olarak değişim göstermiştir.



Şekil 3. PPP ile PPMP'ne ait FT-IR spektrum

Figure 3. FT-IR spectrum for OPP and OPMP

Galakturonik asit miktarı

Galakturonik asit içeriği PPP in de 406,44 mg/g toz pektin, PPMP in de ise 465,34 mg/g toz pektin olarak bulunmuştur. Yapılan çalışma 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 enzimatik modifikasyon sırasında artış göstermektedir.

Yatışkan faz reolojik özellikleri

Pektinin % 3'lük çözeltilerinde yapılan reolojik analizden elde edilen sonuca göre, pektinin akışının non-newtonian olduğunu kesme hızına karşılık elde edilen kesme gerilimi grafiği göstermektedir (Şekil 4). Raj ve ark., (2012) de yaptığı çalışmada benzer sonuçlar bulunmuştur. PPP ve PPMP in sonuçlarının hesaplanmasında Herschel-Bulkley model (Eşitlik 1) kullanılmış olup, R^2 (determinasyon katsayısı) ikisinde de 0,99 olarak bulunmuştur. PPP in K , τ_0 (Pa) ve n değerleri sırasıyla 0,06 $\text{Pa} \cdot \text{s}^n$, 0,1 (Pa), 0,84 olarak, PPMP in de K , τ_0 (Pa) ve n değerleri ise sırasıyla 0,01 $\text{Pa} \cdot \text{s}^n$, 0,01 pa, 0,93 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3). Akış davranış değerinin birden küçük olması akışın NonNewtonian akış olduğunun göstergesidir (Raj ve ark., 2012). Bu akışın özelliği örneğin viskozitesinin artan kesme hızı ile düştüğünü ifade etmektedir. Uçan ve Akyıldız (2012)'nin yapmış olduğu çalışmada pektin metil esteraz enziminin pektin zincirindeki metoksil gruplarını ayırmasından dolayı pektinin esterleşme derecesini azaltmaktadır. Bunun sonucunda, yüksek metoksilli pektinin düşük metoksilli pektine dönüştürdüğü ifade edilmiştir. Reaksiyon devam ettikçe zincirdeki metoksil grupları temizlenerek pektin poligalakturonik aside

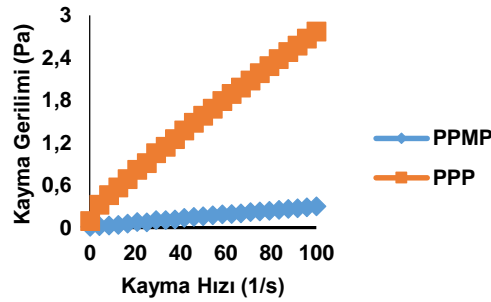
çevrilmektedir. Çalışmanın devamında, modifikasyon sırasında pektin metil esteraz enzimi pektini su eşliğinde pektinik asit ve metanole ayırmaktadır. Ayrıca, Maraş ve ark., (2004)'de yapmış olduğu çalışmaya göre; pektinazlar substrattaki glikozidik bağlarını kopararak çözeltinin viskozitesini hızlı bir şekilde azaltmakta olup glikozidik bağlarının % 2 kadarının hidrolize olmasıyla viskozite % 50 oranında düşmektedir. Schmelter ve ark., (2002)'de 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).

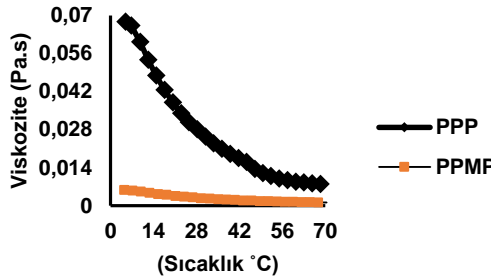
Sıcaklık tarama testinde, sıcaklık arttıkça PPP in ve PPMP in viskozitesinin düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 5). Elde edilen veriler Arrhenius modele (Eşitlik 2) uyarlanmış olup R^2 determinasyon katsayısı iki örnekte de 0,99 olarak hesaplanmıştır. E_a (kJ/mol) değeri sırasıyla 27,46 ve 19,17 bulunmuş olup A° değeri de sırasıyla 4×10^{-8} ve 6×10^{-6} olarak bulunmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Pektin örneklerine ait Herschel Bulkley ve Arrhenius model parametreleri
Table 3. Herschel Bulkley and Arrhenius model parameters for the pectin samples

Örnek Adı	PPP	PPMP
Model	Hershel Bulkley	
K (Pa.s ⁿ)	0,06	0,01
τ_0 (Pa)	0,10	0,01
n	0,84	0,93
R^2	0,99	0,99
Model	Arrhenius	Arrhenius
E_a (kJ/mol)	27,46	19,17
A°	4×10^{-8}	6×10^{-6}
R^2	0,99	0,99



Şekil 4. PPP ve PPMP 25 °C'deki akış davranışı (◆PPMP, ■PPP)
Figure 4. Flow behavior of OPP and OPMP at 25 °C (◆OPMP, ■OPP)



Şekil 5. PPP ve PPMP görünür viskozite değerinin (η_{70}) sıcaklıkla değişimi. (■PPMP, ◆PPP)
Figure 5. Changes in apparent viscosity (η_{70}) values of OPP and OPMP at different temperature values (■OPMP, ◆OPP)

Viskoelastik Özellikler

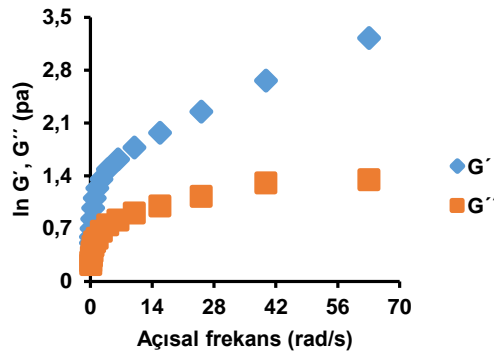
PPP örneğinin % 3 lük hazırlanan solüsyonunun viskoelastik özelliği, frekans tarama testinde % 0.5 strain (gerilim) altında ölçülmüştür. Şekil 6'da G' ve G'' değerlerinin frekansa bağlı değişimi gösterilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen dotalar Power-law model ile (Eşitlik 3-5) hesaplanmış olup, bulunan değerler de $K' > K''$ olduğu için pektinin elastik özelliği daha baskın bulunmuştur. Modifiye edilen portakal posası pektininin viskozitesinde yüksek oranda düşme görüldüğünden dolayı viskoelastik özellikleri gözlemlenmemiştir. PPP in R^2 determinasyon katsayısı G', G'' ve η^* değerlerinde sırasıyla 0,94,

0,97 ve 0,99 olarak, K değerleri sırasıyla 1,65, 1,18, 2,51, η değerleri ise sırasıyla 0,42, 0,28 ve 0,15 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4).

Sıcaklık tarama testi sonuçları Arrhenius modeline (Eşitlik 2) uyarlanmış ve gerekli model parametreleri hesaplanmıştır. Sıcaklığın artmasıyla elastik özellik de azalmaktadır (Şekil 7). Bu modele göre PPP in G' ve G'' sonuçları için R^2 değeri sırasıyla 0,97 ve 0,98 olarak bulunmuştur. Aktivasyon enerjisi yine G' ve G'' sonuçları için sırasıyla (E_a') 27,64, E_a'' 26,93 olup, $A^{0'}$, $A^{0''}$ değeri ise sırasıyla 54×10^{-7} , 5×10^{-6} olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4).

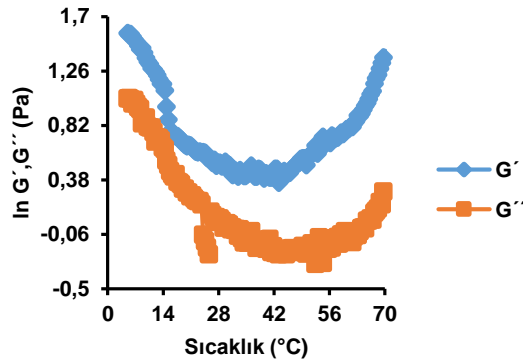
Çizelge 4. Pektin örneklerine ait viskoelastik parametrelere ait sonuçlar
Table 4. Viscoelastic parameters of pectin samples

Model	Örnek adı	
Power-law	PPP	
$G' = K' (\omega)^{n'}$	k'	1,65
	n'	0,42
	R^2	0,94
$G'' = K'' (\omega)^{n''}$	k''	1,18
	n''	0,28
	R^2	0,97
$\eta^* = K^* (\omega)^{n^* - 1}$	k^*	2,51
	n^*	0,15
	R^*	0,99
Arrhenius model		
	$E_a' (kj/mol)$	27,64
	$A^{0'}$	54×10^{-7}
	R^2	0,97
	$E_a'' (kj/mol)$	26,93
	$A^{0''}$	5×10^{-6}
	R^2	0,98



Şekil 6. PPP G' ve G'' değerleri

Figure 6. G' ve G'' values of OPP



Şekil 7. PPP G' ve G'' değerlerinin sıcaklıkla değişimi

Figure 7. G' ve G'' values of OPP at different temperature values

Sonuç

Meyve suyu sanayisinin önemli artışı olan portakal posasından optimum pH, sıcaklık ve sürede pektin eldesi yapılmıştır. 89 °C de pH 1,88 de 5 saatte yapılan ekstraksiyonda % 28,44 (100 g kurutulmuş portakal posasında) oranında pektin eldesi yapılmıştır. Pektini karakterize etmek için daha sonra ki aşamada 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} bantı ise pektinde bulunan hidroksil gruplarını göstermektedir. Pektinin modifikasyonunun gerçekleştirilmesi için pektinaz enzimi ile muamele edilmiş ve yukarıdaki verilen gruplarda meydana gelen değişimler gözlemlenmiştir. HPLC ile galakturonik asit yapısında meydana gelen değişim belirlenmiş olup modifikasyondan sonra galakturonik asit miktarının arttığı tespit

edilmiştir. Galakturonik asit içeriği PPP nin de 406,44 mg/ g toz pektin ve PPMP nin de ise 465,34 mg/g toz pektin olarak 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. PPMP ninde, enzim ester bağlarını parçaladığı için modifiye edilmemiş pektine göre viskozitesinde düşme görülmüştür.

Teşekkür

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

Kaynaklar

Buchholt, H., T.M.I.E. Christensen, B. Fallesen, C.M. Ralet, J.F. Thibault, 2004. Preparation and properties

- of enzymatically and chemically modified sugar beet pectins. *Carbohydrate polymers*. 58: 149-161.
- DeVries J.A, M. Hansen, J. Sørderberg and P.E. Glahn, J.K. Pedersen, 1986. Distribution of methoxyl groups in pectins. *Carbohydrate polymers*. 6: 165-176.
- Einhorn-Stoll U., H. Kastner, T. Hecht, A. Zimathies, S. Drusch, 2015. Modification and physico-chemical properties of citrus pectin- Influence of enzymatic and acidic demethoxylation. *Food Hydrocolloids*. 51: 338-345.
- Kliemann, E., D.N.K. Simas, R.E. Amante, E.S. Prudencio, F.R. Teofilo, M.M.C. Ferreira, R.D.M.C. Amboni, 2009. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. *International Journal of Food Science and technology*. 44: 476-483
- Klavons, J.A. and R.D. Benett, 1986. Determination of Methanol Using Alcohol Oxidase and its Application to Methyl Ester Content Of Pectins, *J.Agric.Food Chemistry*. 34:597-599.
- Kujwski, M. and T. Tuszyński, 1967. A Comparison of Some Methods for the Determination of Methoxyl Groups in Commercial Pectin Preparations, *Die Nahrung*, 31 (3): 233-238.
- Lin, L., J. Cao, J. Huang, Y. Cai, J. Yao, 2010. Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology*. 101: 3268-3273.
- McCready, R.M. 1966. Polysaccharides of Sugar Beet Pulp, A Review of Their Chemistry. *Journal American Sugar Beet Technology*. 14, 261-270.
- Monsoor, M.A., U. Kalapathy, A. Proctor, 2001. Determination of polygalacturonic acid content in pectin extracts by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*. 74: 233-238
- Maraş, M., K. Çavuşoğlu, E. Aksöz, T. Kırındı, 2004. Pektin, poligalakturonik asit ve liyofilize pektinaz enziminin yapısal analizi itü dergisi/c cilt:2, 1: 3-10.
- Mukhiddinov, Z.K, D.K. Khalikov, F.T. Abdusamiev, C.C. Avloev 2000. Isolation and structural characterization of a pectin homo and ramnogalacturonan. *Talanta*. 53: 171-176
- Mohare, Y.S., A.S. Pratapwar, D.M. Sakarkar, A. Sheikh 2013. Natural polymers used in sustained drug delivery systems. *American Journal of Pharm Research*. 3 (6): 4238-4261
- Matthew, J.A., S.J. Howson, M.H.J. Keenan, 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.
- Novosel'skaya, I.L, N.L. Voropaeva, S. Semenova, S.S.H. Rashidova 2000. Trends in the science and applications of pectins. *Chem Nat Compd*. 36: 1-10.
- Oosterveld, A., G. Beldman, A.G.J., Voragen, 2002. Enzymatic modification of pectin polysaccharides obtained from sugar beet pectin. *Carbohydrate Polymers*. 48: 73-81
- Rombouts, F.M. and J.F., Thibault (a) 1986. Enzymic and Chemical Degradation and the Fine Structure of Pectins from Sugar Beet Pulp. *Carbohydrate Research*. 154:189-203.
- Paoletti, S., 1986. In *Chemistry and function of pectins*, eds. M.L. Fishman and J.J. Jen. (Washington DC: American Chemical Society).
- Rolin, C., 1993. Pectin. In *Industrial gums*. Whistler RL, BeMiller JN (eds), (3rd edn), New York: Academic Press.
- B.L. Ridley, M.A. O'Neil, D. Mohnen (2001) "Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signalling *Phytochemistry*", 57 : 929-967
- Uçan, F., A. Akyıldız, 2012. Meyve Suyu Sanayiinde Enzimatik uygulamalar. *Gıda* 37 (6): 363-370.
- Sundar Raj, S.A.A., R., Rubilajayabalan, 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.
- Schmelter, T., R. Wientjes, R. Vreeker, W. Klaffke, 2002. Enzymatic modifications of pectins and the impact on their rheological properties. *Carbohydrate Polymers*. 47: 99-108
- Yapo, B.M., C. Robert, I. Etienne, B. Wathelet, M. Paquot, 2007. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry* 100: 1356-13.