



Microwave Assisted Extraction of Pectin from Grapefruit Peel and Optimization of Extraction Conditions

Nedra Tektaş Taşan^{1,a}, Özlem Akpınar^{1,b,*}

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Tokat Gaziosmanpaşa University, 60000 Tokat, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 25/02/2020 Accepted : 14/05/2020</p> <p><i>Keywords:</i> Acid Extraction Grapefruit Microwave Pectin Food waste</p>	<p>In this study, pectin was obtained from dried grapefruit peels by microwave assisted extraction and the extraction conditions were optimized for pectin yield. Response surface method was used for the optimization and optimum extraction conditions were determined as 30 ml/g solvent solid ratio, 90 s and pH 1. The yield of pectin extracted at these conditions was found to be 20.93% and the properties of the extracted pectin were compared to pectin obtained by conventional extraction. 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 determined that the pectin obtained had high degree of esterification.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(7): 1528-1535, 2020

Greyfurt Kabuklarından Mikrodalga Destekli Pektin Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 25/02/2020 Kabul : 14/05/2020</p> <p><i>Anahtar Kelimeler:</i> Asit Ekstraksiyon Greyfurt Mikrodalga Gıda atıkları</p>	<p>Bu çalışmada kurutulmuş greyfurt kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ile pektin elde edilmiş ve ekstraksiyon koşulları pektin verimi için optimize edilmiştir. Optimizasyon için yanıt yüzey yöntemi kullanılmış ve optimum ekstraksiyon koşulları 30 ml/g, solvent katı oranı 90 s ve pH 1 olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyonda verim %20,93 olarak bulunmuş olup, elde edilen pektinin özellikleri klasik yöntemle elde edilen pektinle karşılaştırılmıştır. Pektinlerde FT-IR analizi yapılmış, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen pektin, klasik yöntemle elde edilen pektin ile karşılaştırılmış ve yapıları benzer bulunmuştur. Elde edilen pektinin yüksek esterleşme derecesine sahip olduğu tespit edilmiştir.</p>

^a nedratektas@yahoo.com

^b <https://orcid.org/0000-0002-1216-3013>

^b ozlem.akpinar@gop.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0001-6593-8495>



Giriş

Pektin, bitkisel dokuların hücre duvarları ve hücreler arası bölgelerde doğal olarak bulunan yapısal bir heteropolisakarittir. Farklı oranda metil ya da asetil grupları ile esterleşmiş, α -1,4-glikozidik bağlarla birbirlerine bağlı galakturonik asit ana zincirinden ve bu zince α -1,2-glikozidik bağlarla dağınık bir şekilde bağlı ramnoz moleküllerinden oluşmaktadır (Yuliarti, 2011, Fidalgo ve ark., 2016).

Pektinler; galakturonik asit zincirinde bulunan karboksil gruplarının metil grupları ile esterleşme derecelerine göre şeker ve asit ile jel meydana getirme özelliğine sahip olup (Arslan, 1994), esterleşme derecesine göre yüksek ve düşük metoksilli pektin olmak üzere ikiye ayrılır. Pektinin esterleşme derecesi bitkinin çeşidine ve meyvenin olgunlaşma süresine göre çeşitlilik göstermektedir (Cemeroğlu, 2004; Guillotin, 2005; Yuliarti, 2011).

Pektin, bitkisel dokuların çoğunda bulunur; fakat üretime degecek miktarda tüm bitkilerde bulunmaz. Bitkilerin bazılarında ise pektin yeterli düzeyde bulunsa da, üretilen pektin nitelikleri her alanda kullanılmaya elverişli olmayabilir. Bu özellikler göz önüne alındığında, en önemli pektin hammaddeleri meyve suyu işletme artıklarından elde edilen elma posası ve turuncgil kabukları ile ayçiçeği tablası ve şeker pancarı küspesidir (Yıldırım, 2013).

Hammaddesi ne olursa olsun, pektinin temel üretim adımları; pektinin çözünür hale getirilerek ekstraksiyonu, ekstrakte elde edilen pektinin alkol ile çöktürülmesi, yıkanması ve kurutulmasından oluşur (Yıldırım, 2013). Pektinin, hammaddeden sıcaklık ve asitin etkisiyle çözünür hale getirilerek ekstrakte edilmesi olarak bilinen klasik ekstraksiyon (KE) günümüzde en yaygın olarak kullanılan yöntemdir (Guo ve ark., 2012). Bununla beraber, bu yöntemde kullanılan yüksek sıcaklık ve uzun süre nedeniyle hem yüksek enerji girdisine ihtiyaç duymakta, hem de pektinin depolimerizasyonuna, verim ve kalitede de azalmaya neden olabilmekte, ayrıca kullanılan asite ve miktarına bağımlı olarak çevresel problemleri de beraberinde getirmektedir. Bu nedenle daha düşük sıcaklıklarda, daha kısa sürede ve yüksek verim ve kaliteye pektin izolasyonu sağlayacak yöntemler (mikrodalga, ultrasonik, sub-kritik su ve enzimatik ekstraksiyon gibi) geliştirilmeye çalışılmaktadır (Min ve ark., 2011).

Mikrodalga ile ekstraksiyon yaygın olarak kullanılmaya başlanan ve araştırmalarında yoğunlaştığı, aynı zamanda diğer yöntemlere göre daha az çözücü gerektirmesi, ekstraksiyon süresinin kısaltması, düşük enerji gereksinimi gibi avantajları olan bir yöntemdir (Cellat, 2011). Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) ile pektinin izolasyonunda mikrodalga enerjisi ile hücre duvarının gevşemesi hızla artmakta, solventin bitki matriksine penetrasyonu artmakta ve ısınma etkisiyle pektinin ekstraksiyonu sağlamaktadır (Cellat, 2011; Hosseini ve ark., 2016; Adetunji ve ark., 2017). Pektinin mikrodalga ile ekstraksiyonu birçok araştırmacı tarafından incelenmiş olsada, sonuçta ürün gıda uygulamasında kullanılacaksa, işlemde yine de verime ve saflığa daha fazla odaklanılması gerekmektedir (Adetunji ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda mikrodalga da uygulanan gücün 420 W'dan daha yüksek olduğunda, verimin azaldığı ve ekstraksiyon esnasında pektin ile beraber diğer polisakaritlerin de ekstrakte edilebilme riski olduğunu

rapor edilmiştir (Maran ve ark., 2015). Bu nedenle, mevcut yöntemin iyileştirilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada greylift kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) ile kısa sürede, yüksek verimle pektin üretimi araştırılmıştır. Ülkemiz greylift üretiminde 249 185 (TUİK, 2019) tonla, dünyada 7. sırada yer almaktadır (Anonim, 2019). Greylift kabukları kuru madde bazında %20-30 oranında pektin içermekte ve diğer trunçgil kabuklarından elde edilen pektinlere göre daha kısa yan zincirler içerir ve rhamnogalakturonan I omurgası bakımından zengindir, ayrıca elma posasından elde edilen pektine göre daha açık renkli olup görsel açıdan daha kalitelidir (Kaya ve ark., 2014). Çalışmanın amacı; düşük mikrodalga gücünde, kısa sürede, yüksek verimle pektin üretimi için ekstraksiyon koşullarının (ışınlama süresi, pH ve solvent-katı oranı) optimize edilmesidir. Optimum koşullarda elde edilen pektin fizikokimyasal özellikleri bakımından karakterize edilerek, özellikleri klasik ekstraksiyonla (KE) üretilen pektinle özellikleri karşılaştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

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

Pektinin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonu

Pektin mikrodalga destekli ekstraksiyonu Wang ve ark. (2007)'e göre evsel mikrodalga fırın kullanılarak (Arçelik MD 554, Türkiye) gerçekleştirilmiştir. Greylift 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.

$$\text{Verim} = (m_o/m) \times 100$$

$$m_o = \text{pektin (g)}$$

$$m = \text{greylift kabukları (g)}$$

MDE ile elde edilen pektinin özelliklerini kıyaslamak için KE ile de pektin ekstrakte edilmiştir (Whistler ve BeMiller, 1973). Greylift kabukları 1:30 g/ml oranında pH 1'e ayarlı asidik su (pH sülfürik asitle ayarlanmıştır) ile karıştırılmış, 80°C'ye ayarlı karıştırılmalı su banyosunda (Mommert WB 22, Almanya) 3 saat süre ile pektin ekstrakte edilmiş, %96'lık etil alkol ile çöktürülmüş, +4°C'de 24 saat sonunda pektin filtrasyonla izole edilmiş, etil alkol yıkanmış ve 45°C'de kurutulmuştur.

Deneyel Tasarım ve Yanıt Yüzey Yöntemi ile Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

MDE ile pektin ekstraksiyonu, solvent/katı (SK) oranı (20-40 ml/g greyfurt kabuğu), 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 çikartılmıştır. Pektin veriminin maksimum olduğu koşullar optimum ekstraksiyon koşulları olarak seçilmiş ve seçilen model aşağıdaki eşitlikte açıklanmıştır:

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

Eşitlikte Y bağımlı değişkeni, b_0 ise sabiti göstermekte olup, b_1 , b_2 ve b_3 lineer terimleri, b_{11} , b_{22} ve b_{33} kuadratik terimleri, b_{12} , b_{23} ve b_{13} interaksiyon katsayılarını ve X_1 , X_2 ve X_3 bağımsız değişkenleri temsil etmektedir. Design-Expert V7 (Stat-Ease Inc., Minneapolis) programı regresyon ve grafiksel analizi için, Fischer's testi model eşitliğini elde etmek için ve Student's t-testi regresyon katsayılarının istatistiksel önemini bulmak için kullanılmıştır.

Pektinin Fizikokimyasal Özellikleri

Pektinlerin nem ve kül içerikleri gravimetrik olarak (AOAC, 2005), protein içerikleri ise Bradford yöntemi ile Bovin Serum Albumin (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir (Bradford, 1976).

Eküvalent ağırlık (EA) için pektin (0,5 g) 5 ml etanol ile ısıtılarak üzerine 1 g sodyum klorür eklenmiş ve 100 ml destile su ve birkaç damla fenol kırmızısı eşliğinde 0,1 N sodyum hidroksit ile pembe renk elde edinceye kadar titre edilmiştir (Aina, 2012). EA aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

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

Metoksil içeriği (MEO) için 0,5 g pektin 5 ml etanol ile ısıtılıp 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, anhidronik asit (AUA) içeriği ve esterleşme dereceleri (DE) aşağıda verilen eşitliklerle hesaplanmıştır.

$$MEO\% = \frac{\text{NaOH sarfiyat (ml)} \times \text{Normalite NaOH} \times 31 \times 100}{\text{Örnek ağırlığı (mg)}}$$

$$AUA(\%) = \frac{176 \times 0,1Z \times 100}{W \times 1000} + \frac{76 \times 0,1Y \times 100}{W \times 1000}$$

Z= eküvalent ağırlıkta kullanılan NaOH sarfiyatı (ml)

Y= metoksil içeriği belirlemede kullanılan NaOH sarfiyatı (ml)

W=örnek ağırlığı (g)

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

Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spektroskopisi

Pektin yapısı FT-IR (Fourier Transformed Infrared) spektroskopi sistemi (Jasco FT/IR-430 spectrophotometer, Japonya) kullanılarak 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında incelenmiştir. Aynı zamanda esterifikasyon derecesi (DE) serbest karboksil gruplarına (1630 cm^{-1}) ve esterleşmiş gruplarına (1740 cm^{-1}) ait piklerin alanları ile aşağıdaki formülle de hesaplanmıştır (Pappas ve ark., 2004). Burda A_{1740} ve A_{1630} metil esterlenmiş ve esterlenmemiş karboksil gruplarının absorbanlarını ifade etmektedir.

$$DE (\%) = 124,7 \times R + 2,2013$$

$$R = [A_{1740} / (A_{1740} + A_{1630})] \times 100$$

İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. SPSS istatistiksel bilgisayar programı (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) ile deneylerde bulunan değerler, %95 güven aralığında, Student t-testi ile değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Pektinin Mikrodalga Yöntemi ile Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Mikrodalga yöntemi ile pektin ekstrakte etmek amacıyla greyfurt kabukları farklı solvent/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 solvent/katı oranı (ml/g); ve deneysel veri aralığı Materyal ve Yöntem bölümünde Çizelge 1'de verilmiştir. Bağımlı değişken Y pektin verimi (%) Çizelge 2'de verilmiştir.

Yapılan deneylerde en yüksek verim pH 1'de, 30 ml/g solvent/katı oranında, 90 saniyede yapılan ekstraksiyonda %21,88 olarak bulunmuştur. En düşük verim ise pH 2'de, 30 ml/g solvent/katı oranında, 30 saniyede yapılan ekstraksiyonda %4,97 olarak bulunmuştur (Çizelge 2). pH 2'deki verimlerin pH 1 ve pH 1,5 verimlerine göre daha düşük olduğu görülmektedir. pH ve solvent/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.

Mikrodalga ile greyfurt kabuklarından 17 farklı koşulda pektin elde edilerek, ekstraksiyon koşulları pektin verimi bakımından optimize edilmiştir ve kodlanmış değişkenlere göre kuadratik model aşağıdaki eşitlikte gösterilmiştir. Eşitlikte Y verim, süre (X_1), pH (X_2) ve solvent/katı oranı (X_3) fonksiyonu olarak verilmiştir.

$$Y = 7,88 + 4,70X_1 - 3,28X_2 + 1,13X_3 - 0,42X_1^2 + 0,78X_2^2 + 0,39X_3^2 + 2,25X_1X_2 + 2,87X_1X_3 + 0,05X_2X_3$$

Farklı koşullarda elde edilen pektin verimleri ANOVA ile değerlendirilmiş; model uyum eksikliği göstermemiş ($P < 0,05$), regresyon katsayısı 0,99 olarak ve %95 güven aralığında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Yüksek

R^2 (0,99) değeri, Adj R^2 (0,97) ve Pred R^2 (0,92) değerleri modelin önemini doğrulamakta (Maran ve ark., 2013), düşük varyans katsayısı (8,02) ve standart sapma (0,83) deneylerin yüksek derecede hassasiyetini ve güvenilirliğini göstermektedir. Yanıt için yeterli tahminleme (Adeq Precision-sinyal/gürültü oranının) değeri 26,13 olarak bulunmuş, bu değer 4'den büyük olması, model hassasiyetinin yeterliliğini göstermiştir (Çizelge 3).

Resim 1'de greylift 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, solvent/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, Resimdeki grafiklerde görüldüğü üzere, süre 30 saniyeden 90 saniyeye doğru arttıkça solvent/katı oranına da bağlı olarak ekstraksiyon veriminin arttığı gözlenmiştir. Bununla beraber, ekstraksiyon sisteminde mikrodalga enerjisinin soğurulması ekstraksiyon sıvısının termal birikimi arttırmakta ve aşırı zaman maruziyetide, 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.

Resim 1'deki grafiklerden pH değerinin 2'den 1'e düşmesiyle, verimin arttığı gözlenmiştir. Düşük pH değerindeki ekstraksiyon çözeltisi, pektinin çözünürlüğünü artırarak ekstraksiyonu kolaylaştırır. Verim, solvent/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, verim azalmasına sebep olur (Guo ve ark., 2012; Maran ve ark., 2013).

Model yeterliliği ve doğruluğu; Resim 2'de sunulan gerçek değere karşı çizilen tahmini değer, içsel studentleştirilmiş artıklara karşı çizilen normal % olasılık ve deney numarasına karşı çizilen içsel studentleştirilmiş artıklar diyagnostik eğrileri ile de değerlendirilmiştir. Sonuçlar, deneyler ile tahmin edilen veriler arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Resim 2a). Normal % olasılık eğrisinin normal bir dağılım göstermesi, bir sapma olmaması, kalıntı değerlerinin düşük ve modeldeki bütün verilerin limit (± 3) içinde olması (Resim 2b ve c) geliştirilen modelin uygunluğunu doğrulamaktadır.

Çizelge 1. MDE için denenen bağımsız değişkenlerin değerleri

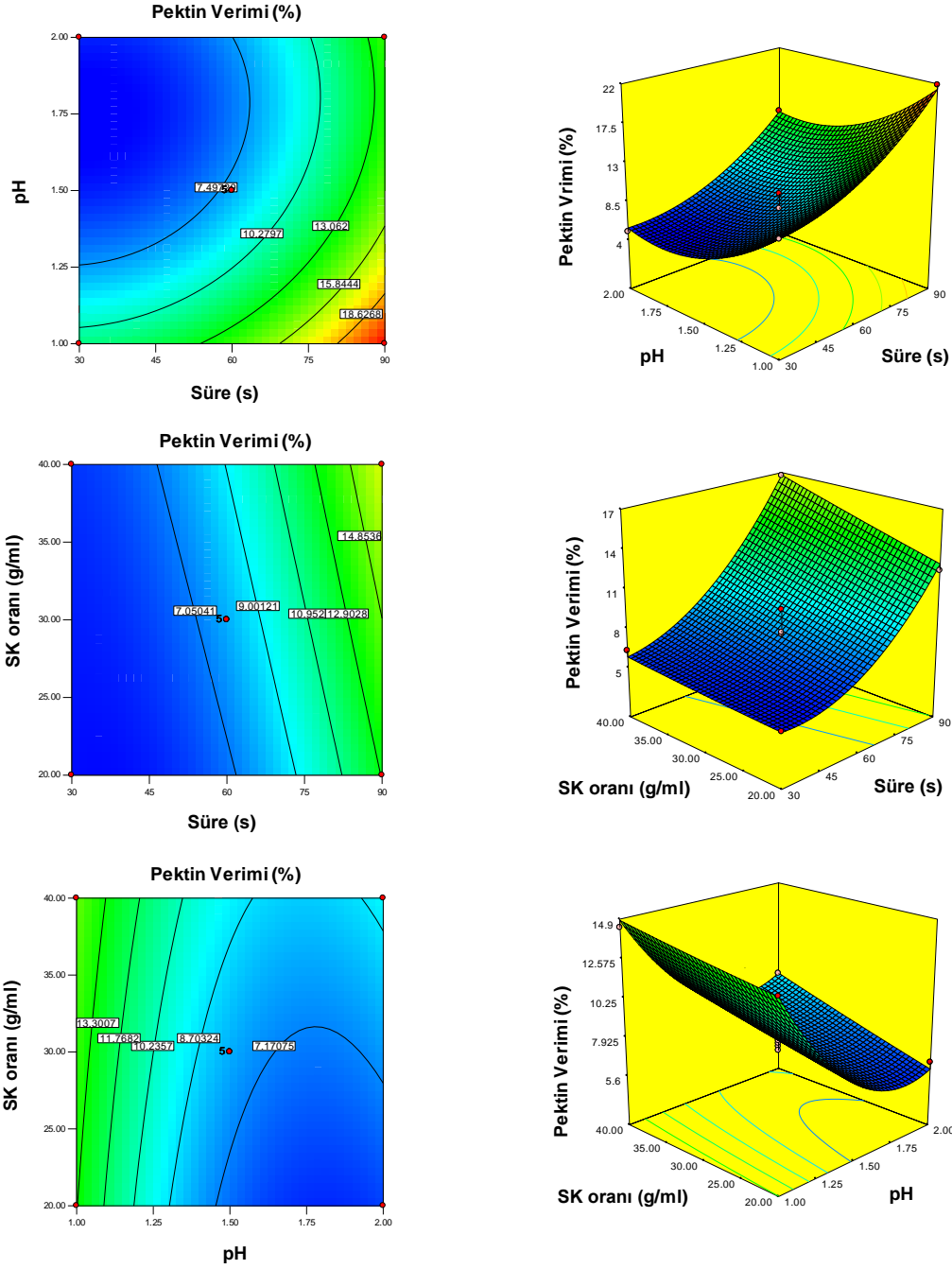
Table 1. Experimental levels of independent variables used for microwave assisted extraction

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

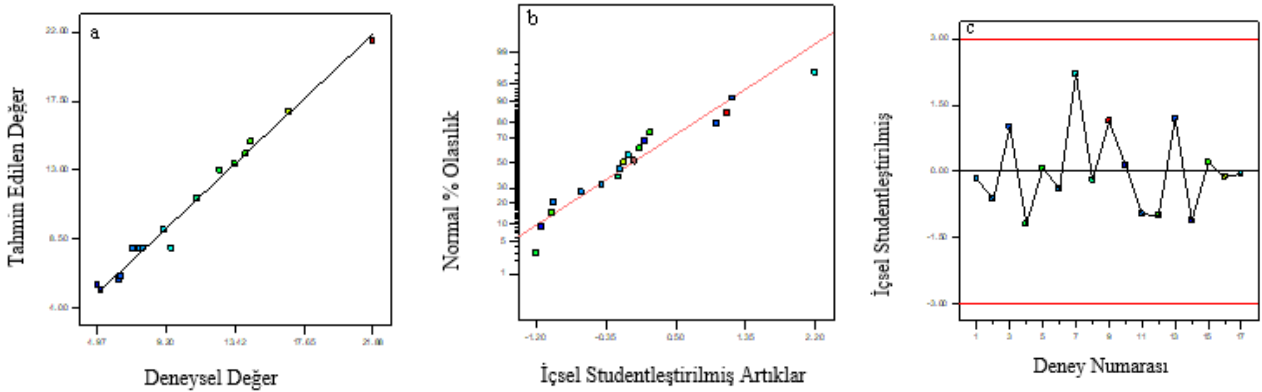
Çizelge 2. Deneysel tasarım ve greylift kabuklarından MDE ile elde edilen pektin verimleri

Table 2. Experimental design and pectin yields obtained with microwave assisted extraction from grapefruit peels

Deney 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



Resim 1. Bağımsız değişkenlerinin pektin verimine etkisinin gösteren yanıt yüzey grafikleri
 Figure 1. Response surface graphs showing the effect of independent variables on pectin yield



Resim 2. Model yeterliliği grafikleri
 Figure 2. Plots for the model adequacy

Pektin veriminin yüksek olması için program tarafından önerilen veriler arasından, optimum şartlar olarak pH 1, 30 ml/g solvent/katı oranı, 90 saniye olarak seçilmiştir. Seçilen optimum koşullarda üç tekerrürlü halde yapılan ekstraksiyon sonunda üretilen pektin verimi %20,93±2,33 olarak bulunmuştur ve optimizasyon için kullanılan istatistik programı (Design Expert) tarafından önerilen optimum ekstraksiyon koşullarlarında edilen veriler (Çizelge 4) ile uyum içinde olduğu tespit edilmiştir. Daha önceki MDE ile pektin ekstraksiyonu çalışmaları incelendiğinde; %21,23-26,27 verim ile greyfurt kabuklarından (450-900 W) (Bagherian ve ark., 2011), %16 verim ile elma posasından (Wang ve ark., 2007), %19,24 verim ile portakal kabuklarından (420 W, 169 saniye ve 0,059 katı sıvı oranı (Maran ve ark., 2013), %7,53-12,67 verim ile muz kabuklarından (300-900 W ve 2,75 dakika) (Swamy ve ark., 2017) pektinler elde edilmiştir.

Pektinin Fizikokimyasal Özellikleri

MDE ile optimum koşullarda üretilen pektin özellikleri klasik ekstraksiyonla elde edilen pektinle karşılaştırmalı olarak Çizelge 5’de sunulmuştur. MDE ile elde edilen pektinin kül, nem ve protein miktarı KE ile elde edilen pektine benzer bulunmuştur. Düşük kül içeriği pektinin safsızlığını gösteren önemli bir kriterdir (Güzel ve Akpınar, 2017). Pektinin protein içermesi beklenmez; ancak safsızlıklardan ötürü eser miktarda protein içerebilir. Daha önceki bazı çalışmalarda da ekstrakte edilen pektinlerde protein saptanmıştır; örneğin Sato ve ark. (2011), elma posasından klasik ekstraksiyon ile elde edilen pektinde, %3,8 protein, Oliveira ve ark. (2018) mango kabuğundan klasik ekstraksiyondan ile elde edilen pektinde %2,1 protein tespit etmişlerdir. Sonuçlar literatür sonuçları ile uygunluk göstermiştir.

MDE ile elde edilen pektinin yüksek metoksilli pektin olduğu bulunmuştur, eşdeğer ağırlığı, metoksil içeriği ve esterleşme derecesi klasik yöntemle elde edilen pektine benzer, anhidronik asit derecesi ise klasik yöntemle elde edilen pektinden düşük belirlenmiştir. EA, pektinin toplam galakturonik asit içeriği olup kullanılan pH ve ekstraksiyon

çözücüsüne bağlıdır. Daha önceki çalışmalar incelendiğinde EA jackfruit meyvesinin kabuğundan elde edilen pektinde 475,7 (Ahmmed, 2013), kavun kabuğunda elde edilen pektinde 384,5 (Liev ve ark. 2014), ve klasik ekstraksiyonla pH 1,5 da greyfurt kabuğundan elde edilen pektinde 1012,5 (Khan ve ark., 2014) olarak bulunmuştur. EA literatür çalışmalarında bulunan değerler ile kıyaslandığında beklenenden biraz düşük çıkmıştır. EAnın düşük değeri, pektinin düşük pH’da pektinin de polimerizasyonundan kaynaklanmaktadır. MEO içeriği pektinin jel oluşturma kapasitesi bakımından önemli bir moleküler endekstir (Khan ve ark., 2014). Greyfurt kabuğu ile yapılan bir çalışma da MEO değeri %12,2 (Khan ve ark., 2014), limon posası ile yapılan bir başka çalışmada MEO değeri % 10,3 bulunmuştur (Azad ve ark., 2014). Sonuçlar literatür çalışmaları ile uyumludur. Bulunan değerler standart literatür çalışmaları ile de uygunluk göstermektedir. AUA içeriği; pektinin saflığını göstermekte olup (Castillo ve ark., 2014), Gıda Kodeksine göre %65 den az olmamalıdır (Food Chemical Codex, 1996). Bu çalışmada her iki yöntemle elde edilen pektinlerde AUA değeri %65 den büyüktür. 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 turuncgil 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.

Pektinin suda çözünürlüğü polimerizasyon derecelerine, metoksil gruplarının sayısına ve dağılımına bağlıdır. Çizelge 5’de ifade edildiği üzere, MDE ve KE pektinlerin çözünürlükleri birbirlerine benzer bulunmuştur. Pektinler soğuk suda çözünmemiş, sıcak suda ve soğuk alkalide ise kısmen çözülmüştür. Sıcak alkalide pektin partikülleri görülmemiş, tamamen çözüldüğü saptanmıştır.

Çizelge 3. Greyfurt kabuklarından MDE ile elde edilen pektin verimlerinin ANOVA Tablosu

Table 3. ANOVA Table for pectin yields obtained with microwave assisted extraction from grapefruit peels

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

Çizelge 4. Optimum MDE koşullarında elde edilen deneysel ve tahmini pektin verimleri

Table 4. Experimental and estimated pectin yields obtained under optimum microwave assisted extraction conditions

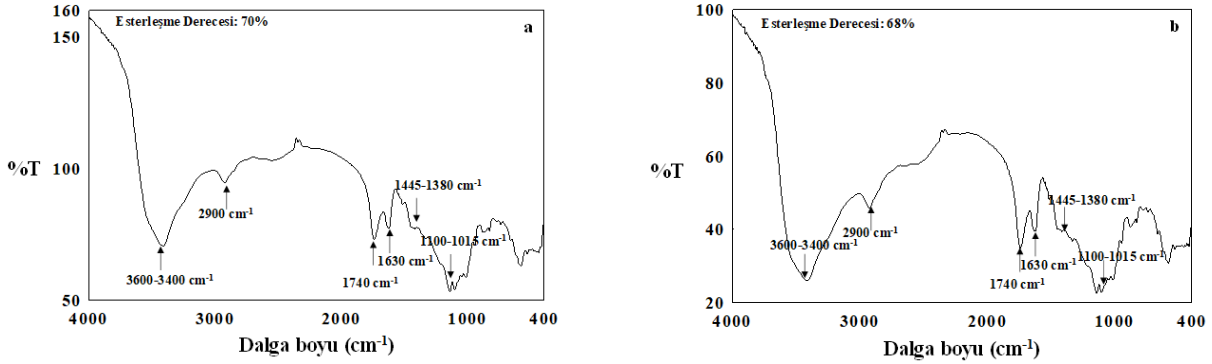
Süre (Saniye)	pH	Solvent/katı (ml/g)	Verim (Deneysel) (%)	Verim (Tahmini) (%)
90	1	30	20,93±2,33	21,42

Çizelge 5. Pektinlerin fizikokimyasal özellikleri

Table 5. Physicochemical properties of pectin

Fizikokimyasal özellik	MDE	KE
Nem (%)	26,83±0,15 ^a	27,27±0,42 ^a
Kül (%)	9,44±1,58 ^a	7,56±0,30 ^b
EA	355,50±9,19 ^a	325,00±4,24 ^a
MEO (%)	12,93±0,38 ^a	13,43±0,50 ^a
DE (%)	60,90±1,47 ^a	59,1±1,02 ^a
AUA (%)	123,50±0,71 ^b	127,50±0,71 ^a
Protein (g/g)	0,03±0,02 ^a	0,02±0,01 ^a
Soğuk ve sıcak suda çözünürlüğü	-/+	-/+
Soğuk ve sıcak alkalide çözünürlüğü	+ / ++	+ / ++

-:Çözünmedi, +:Kısmen çözündü, ++: Çözündü, Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. ^{a, b} Aynı satırda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistik olarak Student's t-testine göre birbirinden farklıdır (P<0,05)



Resim 3. MDE (a) ve KE (b) ile elde edilmiş pektinlerin FT-IR spektrumu

Figure 3. FTIR spectra of microwave assisted extracted pectin (a) and conventionally extracted pectin (b)

FT-IR Analizi

FT-IR spektroskopisi ile organik bileşiklerin yapılarındaki fonksiyonel gruplar, bağların durumu ve yerleri belirlenmektedir. 800 ve 1200 cm^{-1} dalga aralığında bulunan pikler karbonhidratlar için parmak izi bölgesi olarak adlandırılan bölgedir, 3600-3400 cm^{-1} de asosiyel olmamış O-H piklerine ait olup bunlar polihidroksi bileşiklerde görülen karakteristik piklerdir. 2900 cm^{-1} 'deki absorbanş galakturonik asidin metil esterleri olan -CH₃, -CH₂ ve -CH₃ gerilmeleridir, 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 (Ferreira ve ark., 2001; Güzel ve Akpınar, 2019). MDE ile elde edilen pektinin FT-IR spektrumu Resim 3a'da verilmiş olup sonuçlar KE ile elde edilen pektinin FT-IR spektrumu (Resim 3b) ile karşılaştırılmıştır. Resim 3a'dan görüleceği üzere MDE ile elde edilen pektinin FT-IR spektrumunu, pektine ait karakteristik piklere sahiptir ve spektrumu KE ile elde edilen pektine benzerdir.

Pektinlerin FT-IR spektrumunda bulunan 1740 cm^{-1} 'deki 1630 cm^{-1} 'den piklerin alanları ile de esterifikasyon dereceleri hesaplanmış ve Resim 3a ve b'de spektrum üzerinde sunulmuştur. Esterleşme dereceleri MDE pektininde %70, KE pektininde %68 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 pektininde olduğunu gösterir.

Sonuç

Bu çalışmada, mikrodalga destekli yöntem ile greyfurt kabuğundan pektin ekstraksiyon koşulları optimize edilmiş ve optimum koşullarda elde edilen pektinin fizikokimyasal özellikleri klasik yöntemle ekstrakte edilen pektinle karşılaştırılmıştır. MDE ile pektin ekstraksiyonu için optimum koşullar pH 1, 30 ml/g solvent/katı oranı, 90 saniye olarak belirlenmiş ve verim %20,93 bulunmuştur. 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. MDE ile elde edilen pektinin fizikokimyasal özellikleri ve FT-IR spektrumu KE ile elde edilen pektine benzer bulunmuştur.

Literatürde mikrodalga destekli ekstraksiyon çalışmaları sınırlı sayıdadır. Bu çalışma ile greyfurt kabuklarında düşük mikrodalga gücünde, kısa sürede, yüksek verimle pektin elde edilebileceği gösterilmiştir ve

elde edilen pektin yüksek metoksilli pektin olduğundan gıda endüstrisinde özellikle reçel, marmelat, şekerleme endüstrisinde kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Gelecekte sonuçlar ticarileştiğinde, mikrodalga destekli ekstraksiyonla pektin üretiminde üretim maliyetlerinin düşebileceğinden ekonomik olarak da pektin üreticilerine bir katkı sağlayacaktır.

Kaynaklar

- Adetunji LR, Adekunle A, Orsat V, 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 VO, Mustapha MB, Mamman OA, Zakari A, Haruna H, Hauwa HSU, Yagana BA. 2013. Extraction and characterization of pectin from peels of lemon, grape fruit and sweet orange. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3: 259-262.
- Anonim. 2019, <https://www.atlasbig.com/en-us/countries-grapefruit-production> (29.11.2019)
- 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*, 19: 187-192.
- Azad AKM, Ali MA, Sorifa AM, Jaur MR, Ahmed M. 2014. Isolation and characterization of pectin extracted from lemon pomace during ripening. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2: 30-35.
- Bradford MM. 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.
- Castillo-Israel KAT, Baguio SF, Diasanta MDB, Lizardo RCM, Dizon EI, Mejico MIF. 2015. Extraction and characterization of pectin from Saba banana [*Musa 'saba (Musa acuminata x Musa balbisiana)*] peel wastes: A preliminary study. *International Food Research Journal*, 22: 202-207.
- 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. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Başkent Klişe Matbaacılık, 670 s, Ankara.
- Chen Y, Xie MY, Gong XF. 2007. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. *Journal of Food Engineering*, 81: 162-170.
- Ferreira D, Barros A, Coimbra MA, Delgadillo I. 2001. Use of FT-IR spectroscopy to follow the effect of the processing in cell wall polysaccharide extracts of the sun dried pear. *Carbohydrate Polymers*, 45: 175-182.
- 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, Pagliaro M. 2016. Eco-friendly extraction of pectin and essential oils from orange and lemon peels. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 4: 2243-2244.
- Guillot SE. 2005. Studies on The Intra- and Intermolecular Distributions of Substituents in Commercial Pectins. (Ph D Thesis), Wageningen University, 155 p, The Netherlands.
- Guo X, Han M, Xi H, Rao L, Liao X, Hu, X, Wu J. 2012. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultrahigh pressure, microwave or traditional heating: a comparison. *Carbohydrate Polymers*, 88:441-448.
- Guo X, Zhao W, Pang X, Liao X, Hu X, Wu J. 2014. Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 35: 217-225.
- Güzel M, Akpınar Ö. 2017. Turunçgil kabuklarından elde edilen pektinlerin karakterizasyonu ve karşılaştırılması. *Akademik Gıda*, 15: 17-28.
- Hosseini S, Khodaiyan F, Yarmand M. 2016. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sourorange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 140: 59-65.
- Liew SQ, Chin NL, Yusof YA, Sowndhararajan K. 2015. Comparison of acidic and enzymatic pectin extraction from passion fruit peels and its gel properties. *Journal of Food Process Engineering*, 39: 501-511.
- Liew SQ, Teoh WH, Tan CK, Yusoff R, Ngoh GC. 2018. Subcritical water extraction of low methoxyl pectin from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116:128-135.
- Kaya M, Sousa AG, Cre'peau MJ, Sørensen SO, Ralet MC. 2014. Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: influence of acid type and pH of extraction. *Annals of Botany*, 114: 1319-1326.
- Khan AA, Butt MS, Randhawa MA, Karim R, Sultan MT, Ahmed W. 2014. Extraction and characterization of pectin from grapefruit (Duncan cultivar) and its utilization as gelling agent. *International Food Research Journal*, 21: 2195-2199.
- Maran J, Thirugnanasambandham K, Sivakumar V, Sridhar R. 2013. Optmization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate polymers*, 97: 703-709.
- Min B, Lim J, Ko S, Lee KG, Lee SH, 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.
- Oliveira AN, Paula DA, Oliveira EB, Saraiva SH, Stringheta PC, Ramos A M. 2018. Optimization of pectin extraction from Ubá mango peel through surface response methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113: 395-402.
- Sato MF, Rigoni DC, Canteri MHG, Petkowicz CLO, Nogueira A, Wosiacki G. 2011. Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars. *Acta Scientiarum: Agronomy*, 33: 383-389.
- Swamy GJ, Muthukumarappan K. 2017. Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chemistry*, 220: 108-114.
- TUİK. 2019. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (20.02.2020)
- 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 RL, BeMiller JN. 1973. Industrial Gums Polysaccharides and their Derivatives. *Gum Polysaccharides and Their Derivatives*, Ed: Roy. L. Whistler, Akademik Press. New York, 429 p.
- Yıldırım E. 2013. Pektin nedir, fizikokimyasal özellikleri nelerdir. *İnovatif Kimya Dergisi*, 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.