

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

SICAK ASİT VE ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON
YÖNTEMLERİ İLE BARBUNYA FASULYESİ (*PHASEOLUS*
***VULGARIS L. VAR. PINTO*) KABUKLARINDAN PEKTİN**
EKSTRAKSİYONU VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VUGAR HAJIYEV

DENİZLİ, KASIM - 2023

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI



SICAK ASİT VE ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON
YÖNTEMLERİ İLE BARBUNYA FASULYESİ (*PHASEOLUS
VULGARIS L. VAR. PINTO*) KABUKLARINDAN PEKTİN
EKSTRAKSİYONU VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VUGAR HAJIYEV

DENİZLİ, KASIM - 2023

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından 2022FEBE043 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

VUGAR HAJIYEV

ÖZET

**SICAK ASİT VE ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON
YÖNTEMLERİ İLE BARBUNYA FASULYESİ (*PHASEOLUS VULGARIS*
L. VAR. PINTO) KABUKLARINDAN PEKTİN EKSTRAKSİYONU VE
KARAKTERİZASYONU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
VUGAR HAJIYEV
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. ERDAL UĞUZDOĞAN)**

DENİZLİ, KASIM-2023

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, sıcak asit ekstraksiyonu (SAE) ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemleriyle barbunya fasulyesi kabuklarından pektin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu çalışılmıştır. Ekstraksiyonlarda katı-sıvı oranı 1/30 (g/mL) olarak sabit tutulmuş, farklı sıcaklıklarda ve farklı sürelerde ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Çalışmada organik asitlerin (CH₃COOH, C₆H₈O₇), inorganik asitlerin (H₂SO₄, HCl) seyreltik çözeltileri ve su ekstraktant olarak kullanılmıştır. UDE ile en yüksek pektin verimi %29,63 değerindeyken SAE ile bu değer %26,05 olarak bulunmuştur. Pektinlerin karakterizasyonu için esterleşme derecesi (ED), metoksil içeriği (Mİ), eşdeğer ağırlığı (EA), galakturonik asit (Gal-A) içeriği gibi fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Bazı ekstrakte edilen pektinlerin FTIR ve termal analizleri yapılarak ticari pektin ile karşılaştırılmıştır. Gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ekstrakte pektinlerin hepsi yüksek esterli pektin sınıfına girmektedir. Pektinlerin metoksil içerikleri ED değerleri ile paralel şekilde değişmektedir. Ticari pektinin EA değeri ile karşılaştırıldığında inorganik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerde bu değer daha yüksekken organik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerde daha düşüktür. SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A içeriği sıcaklık ve süre arttıkça artarken, UDE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerde azalmıştır. Ekstrakte edilen pektin örneklerinin FTIR spektrumları ve termal davranışlarının ticari pektininkine benzer olduğu gözlemlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Pektin, barbunya kabuğu, sıcak asit ekstraksiyonu, ultrasonik destekli ekstraksiyon, termal analiz.

ABSTRACT

EXTRACTION OF PECTIN FROM PINTO BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS. L. VAR. PINTO*) HUSK WASTE WITH HOT ACID AND ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION METHODS

MSC THESIS

VUGAR HAJIYEV

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMICAL ENGINEERING

(SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. ERDAL UĞUZDOĞAN)

DENİZLİ, NOVEMBER 2023

In this master thesis study, extraction and characterization of pectin from pinto bean husks by hot acid extraction (HAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) methods were studied. The solid-liquid ratio was kept constant as 1/30 (g/mL) and extractions were carried out at different temperatures and for different times. In the study, dilute solutions of organic acids (CH_3COOH , $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), inorganic acids (H_2SO_4 , HCl) and water were used as extractants. The highest pectin yield was 29.63% with UAE and 26.05% with HAE. For the characterization of pectins, physicochemical properties such as degree of esterification (DE), methoxyl content (MeO), equivalent weight (EW), galacturonic acid (Gal-A) content were determined. FTIR and thermal analyses of some extracted pectins were performed and compared with commercial pectin. All the pectins obtained from the extractions were classified as high ester pectin. The methoxyl content of the pectins varies in parallel with their DE values. When compared with the EW value of commercial pectin, this value is higher in pectins extracted with inorganic acids and lower in pectins extracted with organic acids. Gal-A content of pectins extracted by HAE method increased with increasing temperature and time, while it decreased in pectins extracted by UAE method. The FTIR spectra and thermal behavior of the extracted pectin samples were similar to those of commercial pectin.

KEYWORDS: Pectin, Pinto bean husk, hot acid extraction, ultrasonic assisted extraction, thermal analysis

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Pektin ve Yapısı.....	5
2.2 Pektinin Tarihçesi.....	8
2.3 Pektin Üretimi	8
2.4 Pektinin Kullanım Alanları.....	9
2.5 Pektin Ekstraksiyon Yöntemleri.....	11
2.5.1 Sıcak Asit Ekstraksiyonu (SAE).....	12
2.5.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE)	13
2.5.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon.....	14
2.5.4 Enzimatik Destekli Ekstraksiyon.....	15
2.5.5 Kritik Altı Su Ekstraksiyon.....	16
2.6 Barbunya Fasulyesi	17
2.7 Pektin Ekstraksiyonu Çalışmalarına Örnekler	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1 Materyal.....	22
3.2 Pektin Ekstraksiyonu	23
3.3 Barbunya Fasulyesi Kabuğunun ve Ekstrakte Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu	26
3.3.1 Elek Analizi	26
3.3.2 Pektin Verimi	27
3.3.3 pH Ölçümü.....	27
3.3.4 Barbunya Fasulyesi Kabuğunun ve Pektinlerin Yüzde Nem ve Kül İçeriğinin Belirlenmesi	28
3.3.5 Pektinlerin Esterleşme Derecesi ve Metoksil İçeriğinin Belirlenmesi	29
3.3.6 Pektinlerin Eşdeğer Ağırlığının Belirlenmesi.....	30
3.3.7 Galakturonik Asit İçeriğinin Belirlenmesi.....	30
3.3.8 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi.....	31
3.3.9 Ekstrate Edilen Pektinlerin Termal Analizi	31
4. BULGULAR	33
4.1 Elek Analizi	33
4.2 Barbunya Fasulyesi Kabuğu ve Ekstrakte Edilen Pektinlerin Yüzde Nem-Kül İçeriği	33
4.3 SAE ve UDE Yöntemleriyle Ekstrate Edilen Pektin Verimleri	36
4.4 Ekstrate Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu	42
4.4.1 Esterleşme Derecesi ve Metoksil İçeriği Değerleri	42
4.4.2 Eşdeğer Ağırlık Değerleri	47

4.4.3	Galakturonik Asit İçeriği (Gal-A).....	49
4.4.4	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi Analizi.....	54
4.4.5	Termal Analiz	55
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	58
6.	KAYNAKLAR.....	61
7.	EKLER.....	79
	EK A Pektin verimleri	79
	EK B Galakturonik asit içeriğini belirlenmesi	80
	EK C Barbunya Kabuğunun DSC analizi	81
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	82



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Bitki hücre duvarındaki yapısal organizasyon modeli (çizgiler) ve pektin ekstraksiyonu sırasında reaktifin (oklar) maruz kalma yönleri (Lepilova ve diğ. 2023).....	5
Şekil 2.2: Pektin molekülünün kimyasal yapısı (Zdunek ve diğ.2021).	6
Şekil 2.3: (A) Ca kasyonu varlığında DEP çapraz bağlanması ve yumurta kutusu modeli, (B) YEP hidrojen ve metil ester bağları ile hidrofobik etkileşimin şematik gösterimi (Zdunek ve diğ. 2021)...	8
Şekil 2.4: Pektin satışlarının sektörel dağılımı (Mevlâna Kalk. Aj. 2021).	9
Şekil 2.5: Çalاکالمalı su banyosu cihazı.....	13
Şekil 2.6: UDE yönteminde ultrasonik su banyosu (A) ve prob sistemlerinin (B) şematik gösterimi (González-González ve diğ. 2017, Hussain ve diğ. 2020).....	14
Şekil 2.7: Mikrodalgalı destekli ekstraksiyon için fırının şematik gösterimi (Silva ve diğ. 2019).	15
Şekil 2.8: Enzimatik destekli ekstraksiyon için şematik diyagram (Casas ve diğ. 2017).	16
Şekil 2.9: Kritik altı su ekstraksiyonu şematik diyagramı (Sarılalan, 2018).....	17
Şekil 2.10: Barbunya fasulyesi; (A) kabuk, (B) tohum.....	18
Şekil 3.1: Öğütölmemiş ve öğütölmüş barbunya fasulyesi kabuklarının görünümü.	22
Şekil 3.2: SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonunda kullanılan çalkalamalı su banyosu.	24
Şekil 3.3: UDE yöntemiyle pektin ekstraksiyonunda kullanılan ultrasonik su banyosu.	25
Şekil 3.4: Barbunya fasulyesi kabuğundan SAE ve UDE ile pektin ekstraksiyonu aşamaları.	26
Şekil 3.5: Elek analizi cihazı.	27
Şekil 4.1: Öğütölmüş barbunya kabuklarının elek analizi sonuçları.....	33
Şekil 4.2: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektin verimleri: A: SAE-80 °C, B: SAE-90 °C, C: UDE-80 °C, D: UDE 90 °C.....	38
Şekil 4.3: Farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin FTIR spektrumları (A) SAE, (B) UDE.	54
Şekil 4.4: Farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin TGA analizi (A) SAE (B) UDE.....	56
Şekil 4.5: Farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin DSC analizi (A) SAE, (B) UDE.....	57
Şekil 7.1: Galakturonik asit içeriğini belirlemek için kullanılan kalibrasyon eğrisi.	80
Şekil 7.2: Galakturonik asit içeriğini belirlemek için kullanılan 0-200 µg/mL aralığında standart D-galakturonik asit çözeltileri.	80
Şekil 7.3: Barbunya kabuğunun DSC analiz sonucu.	81

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1: Barbunya fasulyesi kabuğu ve ekstrakte edilen bazı pektinlerin % nem-kül içeriği	34
Tablo 4.2: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin ED ve Mİ değerleri.....	43
Tablo 4.3: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin EA değerleri	48
Tablo 4.4: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A içeriği.....	52
Tablo 7.1: Barbunya fasulyesi kabuklarından SAE yöntemi ile ekstrakte edilmiş pektin verimleri	79
Tablo 7.2: Barbunya fasulyesi kabuklarından UDE yöntemi ile ekstrakte edilmiş pektin verimleri	79

SEMBOL LİSTESİ

AA	:	Asetik Asit (CH ₃ COOH)
AB	:	Avrupa Birliği
CA	:	Sitrik Asit (C ₆ H ₈ O ₇)
DEP	:	Düşük Esterli Pektin
dk.	:	Dakika
DSC	:	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EA	:	Eşdeğer Ağırlık
ED	:	Esterleşme Derecesi
FAO	:	Gıda ve Tarım Örgütü
FTIR	:	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	:	Gram
Gal-A	:	Galakturonik Asit İçeriği
GHz	:	Gigahertz
IPPA	:	Uluslararası Pektin Üreticiler Birliği
SAE	:	Sıcak Asit Ekstraksiyon
HCl	:	Hidroklorik Asit
HG	:	Homogalakturonan
H₂SO₄	:	Sülfürik Asit
kHz	:	Kilohertz
kJ	:	Kilojoule
M	:	Molarite
MHz	:	Megahertz
Mİ	:	Metoksil İçeriği
N	:	Normalite
NaCl	:	Sodyum Klorür
NaOH	:	Sodyum Hidroksit
nm	:	Nanometre
RG I	:	Ramnogalakturonan I
RG II	:	Ramnogalakturonan II
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı
TGA	:	Termogravimetrik Analiz
TP	:	Ticari Pektin
TÜBİTAK:	:	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
UDE	:	Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon
W	:	Watt
YEP	:	Yüksek Esterli Pektin
XGA	:	Ksilogalakturonan
µg	:	Mikrogram

ÖNSÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışmasında tez konusunun belirlenmesinde, planlanmasında, çalışmanın yürütülmesinde desteğini esirgemeyen ve 2018 yılından itibaren eğitim-öğretim hayatımda bilgi ve tecrübesini bana aktaran, birlikte çalışmak için bana şans veren ve beraber çalışmaktan şeref ve memnuniyet duyduğum değerli tez danışmanım Doç. Dr. Erdal UĞUZDOĞAN hocama en içten şükranlarımı sunuyorum.

Çalışmanın bazı aşamalarında verdiği laboratuvar desteğinden dolayı Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Seher ARSLAN ve tezdeki grafiklerin oluşturulmasında bilgi ve tecrübelerine başvurduğum Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Adem ÜKTE hocalarıma çok teşekkür ederim.

Kimya Mühendisliği bölüm hocalarıma ve laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinatörlüğüne 2022FEBE043 numaralı projeye verdikleri destekten dolayı teşekkür ediyorum.

2013 yılından bu yana tüm kararlarıma saygı duyup, arkamda duran, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her koşulda yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışmamı 2023 yılında kaybettiğim babama ithaf ediyorum.
Uyuduğun yer cennet olsun...

1. GİRİŞ

İnsanların yaşamlarını sürdürebilmesi için elzem olan gıda tüketimi ve gıdaların işlenmesi sonucu ortaya çıkan tarımsal atıkların (kabuk, yaprak, çekirdek, sap vb.) değerlendirilmesi; nüfus artışı ve küresel bir sorun olan iklim değişikliğinin kötü bir sonucu olan kaynak kısıtlılığı sebebiyle gün geçtikçe daha da önemli hale gelmektedir. Kırsal alanlarda daha çok hayvan yemi olarak ya da toprağı zenginleştirmek için gübre olarak değerlendirilen tarımsal atıklar (meyve sebze atıkları) şehirlerde ise daha çok çöp toplama alanlarında depolanarak bertaraf edilmektedir. Bu atıkların çevreye geliş güzel şekilde atılması ekosistemde toksik organik bileşiklerin birikmesine, sera gazlarının oluşmasına ve anaerobik ayrışmaya yol açarak çevresel sorunlara neden olabilmektedir. İnsan yaşamında beslenme ve benzeri zaruri ihtiyaçlardan olan bitkisel orjinli kıt kaynakların daha etkin şekilde kullanılması vazgeçilemez bir zorunluluktur. Bu sebeple bu kaynakların israf edilmeden kullanımı ve kullanım sırasında açığa çıkan atıkların değerlendirilmesi büyük önem arz etmektedir. Olumsuz çevresel etkilerden ve maddi kayıplara sebep olması nedeniyle dünyada ve Türkiye'de atıkların azaltılması veya değerlendirilmesi için birçok proje yürütülmektedir. Günümüzde çevrenin korunması, gıda güvenliği ve kaynakların sürdürülebilirliği konularını hedef alan Bileşmiş Milletler 2030 yılına kadar küresel tarımsal-endüstriyel atığın %50'sini azaltmak amacıyla sürdürülebilir kalkınma hedefi programını uygulamaktadır. Ayrıca küresel ve ulusal sürdürülebilir hedefler arasında atıkların değerlendirilmesine yönelik sıfır atık projesi gibi projelerin uygulanması da çevresel ve ekonomik katkılar sağlamaktadır. Bu ve benzeri projeler; bitkisel kaynaklı ve diğer atıklardan dögüsel ekonomiye dayalı teknoloji ve stratejinin geliştirilmesi ile çok fazla katma değer sağlayan endüstriyel kimyasalların üretilmesine ve atık değerlendirme yöntemlerinin geliştirilmesine katkılar sunmaktadır. Günümüzde bu tür atıkların daha değerli ürünlere dönüştürülerek değerlendirilmesine yönelik bilimsel çalışmaların önemi ve sayısı gittikçe artmaktadır. Bitkisel kaynaklı organik atıklar bol bulunabilmesi, ucuz olması, yenilenebilir olması, biyobozunur olması ve toksik olmaması gibi bazı sahip oldukları avantajlar sebebiyle; yalıtım malzemesi, adsorbent, kapasitör, aktif karbon olarak ve daha birçok farklı amaçlar için çeşitli materyallere dönüştürülerek değerlendirilebilmektedir. Pektin

bitkisel kaynaklardan ve onların atıklarından üretilerek başta gıda olmak üzere çeşitli endüstrilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Pektin üretimi; tarımsal atıkların değerlendirilmesi veya değerli bir ürüne dönüştürülmesi yöntemlerinden biridir.

Pektin meyve ve sebzelerin hücre duvarında yaygın olarak bulunur. Pektin meyve ve sebzelerin kabuk, posa, çekirdek, yaprak ve sap kısımlarında bulunmaktadır. Pektin, değişik miktarlarda metil ester grupları ile D- α -(1,4) galakturonik asitten oluşan karmaşık ve uyarlanabilir bir heteropolisakkarittir (Kamal ve diğ. 2023). Karmaşık bir yapıya sahip olan pektin; gıda, şekerleme, süt, ilaç ve kozmetik gibi çeşitli endüstrilerde geniş uygulama alanı olan ve küresel pazarda büyük önemi olan bir biyopolimerdir (Atalay ve diğ. 2018). Pektin, hidrojel tipi yapıların oluşmasına yol açan esnek polimer zincirleri oluşturabilen bir makromolekül olarak da adlandırılabilir (Cortés-Camargo ve diğ. 2023). Ayrıca, pektin hücre yapışmasını veya ayrılmasını kolaylaştırmasının yanında hücre büyümesini ve şeklini modüle edebilen bir yapıştırıcı görevi de icra etmektedir (Ciriminna ve diğ. 2022). Bu biyopolimer, benzer amaca yönelik sentetik malzemelerle karşılaştırıldığında; toksik olmaması, daha iyi jelleşme özelliği, hidrofilik yapısı, biyoyumluluk ve biyobozunurluk özellikleri gibi belli avantajlara sahiptir (Chen ve diğ. 2023).

Avrupa Birliği ürün kodu E 440 olan pektin (E 440); gıda, beslenme, kozmetik, ilaç ve sağlık sektöründe jelleştirici, stabilizatör, kıvamlaştırıcı ve emülgatör olarak çeşitli amaçlarla kullanılabilen bir katkı maddesidir (May 1990, Umoren ve Eduok 2016; Morales Contreras ve diğ. 2018). Reçellerde jelleştirici; şekerlemelerde, içeceklerde ve süt ürünlerinde stabilizatör; salata soslarında ve dondurmada emülsifiye edici ajan, et ürünlerinde yağ yerine geçen katkı maddesi olarak da pektin kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten pektinin; ilaç ve tıp alanlarında kanın kolesterol ve glikoz düzeyini düşürücü, kanser önleyici, bağışıklık sistemini geliştirici, ilaç formülasyonlarında bağlayıcı özelliklerinden dolayı bahsedilen endüstrilerde de farklı amaçlar için de kullanımı söz konusudur (Abid ve diğ. 2016, Grassino ve diğ. 2018, Umoren ve Eduok 2016, Pasandide ve diğ. 2017, Raji ve diğ. 2017 Baldino ve diğ. 2018). Ayrıca, pektin gıda hidrokolloidlerinde stabilizatör ve gıda bileşenlerinin enkapsülasyonunda taşıyıcı olarak kullanılabilir (Grassino ve diğ. 2018, Mungure ve diğ. 2018). Pektinin sahip olduğu eşsiz özelliklerinden kaynaklanan bu

geniş kullanım olanakları ona olan talebi gün geçtikçe artırmaktadır (Raji ve diğ. 2017, Atalay ve diğ. 2018).

Pektin; farklı meyve ve sebze atıklarının ham madde olarak kullanılmasıyla, çeşitli ekstraksiyon teknikleri ve farklı ekstraksiyon koşullarında ekstrakte edilebilmektedir. Ekstrakte edilen pektin verimleri ve kalitesinin belirlenmesinde önemli olan fizikokimyasal özellikleri birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Lara-Espinoza ve diğ. 2018). Bu faktörlerden bazılarında, ham madde türü, ham maddenin olgunluk derecesi, ham maddenin saklanma koşulları, pektinin ekstraksiyon koşulları (katı-sıvı oranı (w/v), asit türü, pH, sıcaklık) ve kullanılan ekstraksiyon yöntemleri örnek olarak verilebilir (Atalay ve diğ. 2018). Farklı fizikokimyasal özelliklere sahip pektinlerin kullanım alanları da farklılık gösterebilmektedir. Pektinin jel oluşum özelliğine molekül ağırlığı ve esterleşme derecesi önemli ölçüde etki etmektedir (Işık 2022). Çeşitli bitki kaynaklarından farklı ekstraksiyon koşulları ve yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinler farklı molekül ağırlığına ve esterleşme derecesine sahip olduğundan jel oluşturma kabiliyetleri de birbirinden farklıdır (May 1990).

Pektin ekstraksiyon yöntemlerinden sıcak asit ekstraksiyon yöntemi (SAE) en eski ve en yaygın olarak kullanılan bir ekstraksiyon yöntemidir. Sıcak asit ekstraksiyon yönteminin kullanılan çözücülerin çevreye zararlı etkisi ve maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajlarının giderilmesi amacıyla pektin ekstraksiyonunda farklı ekstraksiyon tekniklerinin denenmesi ve geliştirilmesine yönelik çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir. Bu çalışmalarda aynı zamanda pektin veriminin artırılması ve pektinin fizikokimyasal özelliklerinin iyileştirilmesi ile daha kaliteli pektin ekstrakte edilmesi de amaçlanmaktadır. Pektin ekstraksiyonunda, sıcak asit ekstraksiyonuna alternatif olarak çalışılan ekstraksiyon tekniklerinden bazılarında; ultrasonik destekli (Minjares-Fuentes ve diğ. 2014), mikrodalga destekli (Bagherian ve diğ. 2011), enzimatik destekli (Atalay ve diğ. 2018) ve kritik altı su (Muñoz-Almagro ve diğ. 2019) gibi farklı ekstraksiyon yöntemleri örnek olarak gösterilebilir.

Dünyada halihazırda pek çok hastalıkların beslenme kaynaklı olması sebebiyle tüketicilerin daha sağlıklı ve kaliteli bir beslenme konusunda dikkatli ve seçici olma gerekliliği her geçen gün daha da önem arz etmektedir. Etin pahalı olduğu gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerde; önemli bir protein, vitamin, karbonhidrat, lif ve mineral kaynağı olan baklagiller insanlar tarafından yaygın olarak tüketilmektedir (Njoroge ve

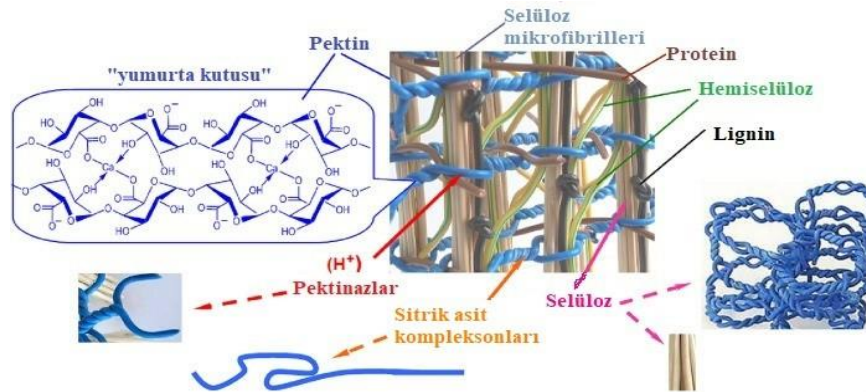
diğ. 2014). Baklagiller ailesine ait otsu bir bitki çeşidi olan barbunya fasulyesi, (*Phaseolus vulgaris L Var. Pinto*) Fabaceae familyasına ait ılıman iklim koşullarında yetişen sebze türlerinden biridir (Boyacı 2021). İklimsel koşullara bağlı olarak yıllık değişen barbunya fasulyesi üretimi Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2019 yılı verilerine göre 89860 ton olarak gerçekleşmiştir. Barbunya fasulyesinin özellikle gıda olarak tüketilmesi sonucu yenmeyen kısım olarak ortaya çıkan kabuk kısmı yaş bazda kütlece yaklaşık %47'sini oluşturmaktadır. Barbunya fasulyesi kabuğu atıklarından farklı alanlarda birçok çalışma mevcut olsa bile pektin ekstraksiyonuna yönelik çalışmalar sınırlı sayıda bulunmaktadır (Kamarudin ve diğ. 2016).

Bu yüksek lisans tez çalışmasında, barbunya fasulyesinin kabuklarının ham madde olarak kullanılması ile biyobozunur polimer olan ve pek çok sektörde farklı amaçlar için kullanılan pektinin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu çalışılmıştır. Çalışmada ekstraksiyonlar, sıcak asit ekstraksiyonu (SAE) ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyonlarda su, organik ve inorganik asitlerin seyreltik çözeltileri ekstraktant olarak kullanılarak, iki farklı ekstraksiyon sıcaklığında, 1/30 katı sıvı oranı (g/mL) oranında ve dört farklı ekstraksiyon sürelerinde barbunya fasulyesi kabuklarından pektin ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin verimleri karşılaştırılarak hangi ekstraksiyon yöntemi ve şartlarında daha yüksek pektin verimi elde edilebileceği belirlenmiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin karakterizasyonunda; esterleşme derecesi (ED), metoksil içeriği (Mİ), eşdeğer ağırlıkları (EA), galakturonik asit içeriği (Gal-A) gibi fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Ekstrakte edilen bazı pektinlerin FTIR spektrumları alınarak ticari pektinin spektrumları ile benzerlikleri belirlenmiştir. Ayrıca ekstrakte edilen bazı pektinlerin termal analizleri de (TGA ve DSC) yapılmıştır. Bahsedilen analizler turunçgil kabuklarından ekstrakte edilen ticari pektin için de yapılmış ve çalışmada ekstrakte edilen pektinlerin sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Pektin ve Yapısı

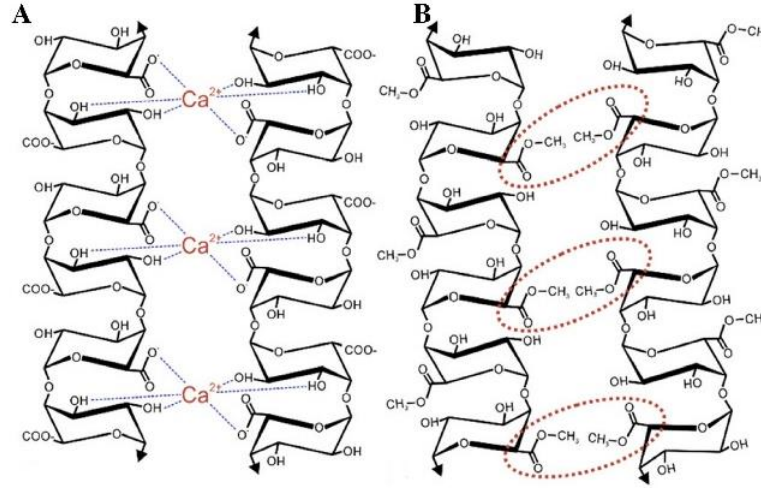
Pektin, temel olarak doğrusal D- α -(1,4) anhidro-galakturonik asit polimerlerinde oluşan karmaşık bir koloidal polimerik karbondihidratır (Ziari ve diğ. 2010). Ayrıca, pektin metil ester içeriği farklılık gösterebilen, uygun koşullarda şeker ve asitle jelimsi bir yapı oluşturan kompleks bir polisakkarittir (Muslu 2016). Pektin yapısının aydınlatılması; bitki büyümesi ve gelişmesi, meyvelerin olgunlaşması, gıda işleme ve besinsel lif kaynağı olarak rolünün anlaşılması açısından önemlidir (Thakur ve diğ.1997). Ayrıca, pektin yapısı ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterebilir (Ropartz ve Ralet 2020). Diğer polisakkaritler gibi pektinler de hem polimoleküler hem de polidispers yapıya sahiptir, yani hem moleküler ağırlık hem de kimyasal yapı açısından değişiklik göstermektedir (Thakur ve diğ. 1997). Bitki hücre duvarı; pektinler, selülozlar, hemiselülozlar, fenolik bileşikler, proteinler, düşük molar kütleli çözünen maddeler ve sudan oluşan bir matris içinde gömülü selüloz mikro fibrillerinden oluşmaktadır. Selüloz, sertlik ve yırtılmaya karşı direnç gösterirken, pektin ve hemiselüloz esneme becerisi kazandırır (Christiaens ve diğ. 2016). Bitki hücre duvarındaki yapısal organizasyon modeli Şekil 2.1'de gösterilmektedir. En yüksek pektin konsantrasyonu orta lamelde görülmekte ve hücre duvarındaki pektin, birincil hücre duvarından plazma zarına doğru kademeli bir şekilde azalmaktadır (Thakur ve diğ. 1997). Pektin yüksek yapılı bitkilerde üçte bir oranında bulunabilirken basit yapılı bitkilerde ise çok az miktarda bulunmaktadır (Srivastava ve Malviya 2011).



Şekil 2.1: Bitki hücre duvarındaki yapısal organizasyon modeli (çizgiler) ve pektin ekstraksiyonu sırasında reaktifin (oklar) maruz kalma yönleri (Lepilova ve diğ. 2023).

oluşturulmasında bazı nadir şekerlerin (2-O-metil fukoz, aserik asit, 2-O-metil ksiloz, 2-keto-3-deoksi-D-likso heptulosarik asit ve 2-keto-3-deoksi-D-manno oktulasonik) rol oynadığı tespit edilmiştir. Nadir olarak ifade edilen ksilogalakturonan pektin türü, çoğunlukla bitkilerin yalnızca üreme dokularında bulunmaktadır (Roy ve diğ. 2023). Apiogalakturonan (AG), nadiren belirtilen bir diğer pektin türüdür ve O-2 veya O-3 pozisyonlarında D-Apiofuroz'un yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. Apiogalakturonan, monosakkarit veya disakkarit apioduranosil ilave edilmiş homogalakturonan yapılarıdır (Beukema ve diğ. 2020). Bu pektin türü, sucul monokotlar gibi bitkilerde bulunmaktadır (Roy ve diğ. 2023).

Pektin sınıflandırmasında önemli bir özellik olan esterleşme derecesi, pektinin yapısındaki esterleşmiş karboksil gruplarının toplam karboksil gruplarına oranıdır (Atalay ve diğ. 2018). Esterleşme derecesine göre pektinler; düşük esterli (DEP, ED <%50) ve yüksek esterli (YEP, ED ≥%50) olarak sınıflandırılırlar ve bunlar farklı mekanizmalarla jelleşir (Çopur ve Dönmez 1992). Düşük esterli pektinler şeker içeriğinden bağımsız jeller üretir, pH değerine daha az duyarlıdır ve jelleşme için kontrollü miktarda kalsiyum veya diğer iki değerlikli katyonların varlığını gerektirir (Zdunek ve diğ. 2021, Sundar Raj ve diğ. 2012). Şekil 2.3 A'da görüldüğü gibi, Ca²⁺ katyonlarına bağlı olarak DEP, iki homogalakturonan zincirinin çapraz bağlanması ile yumurta kutusu modelini oluşturur (Zdunek ve diğ. 2021). Nem ve ısıya karşı kimyasal olarak DEP daha kararlıdır. Bunun nedeni, yüksek esterli pektinlerin nemli ortamda deesterleşme eğilimi göstermesidir (Thakur ve diğ. 1997). Şekil 2.3.B'de görüldüğü gibi, yüksek esterli pektinin (YEP) zincirler arası etkileşimi, komşu galakturonik asit birimlerinden meydana gelen moleküller arası hidrojen bağları ve metil esterler arasındaki hidrofobik bağlanma ile stabil hale gelmektedir (Zdunek ve diğ. 2021). YEP'in jel oluşturma yeteneği düşük pH'ta gerçekleşir çünkü pektinin anyonik özelliği ve karboksilik grupların protonlanması, zincirler boyunca ve zincirler arasındaki elektrostatik itmeyi azaltmakta ve bu koşullar altında jel oluşumunu desteklemektedir (Zdunek ve diğ. 2021). Başka bir deyişle, YEP 2-5 pH aralığında (asidik) ve yüksek şeker konsantrasyonunda jelleşir (Şen ve diğ. 2021). Jelin sertleşme hızına göre pektinler hızlı, orta ve yavaş sertleşen olarak üçe ayrılır (Thakur ve diğ. 1997).



Şekil 2.3: (A) Ca katyonu varlığında DEP çapraz bağlanması ve yumurta kutusu modeli, (B) YEP hidrojen ve metil ester bağları ile hidrofobik etkileşimin şematik gösterimi (Zdunek ve diğ. 2021).

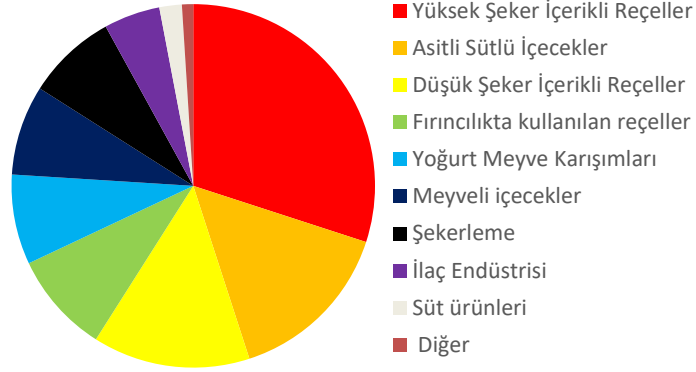
2.2 Pektinin Tarihiçesi

Pektinin tarihsel gelişimine bakıldığında, 1700'lerde Fransız kimyager Louis Nicolas Vaquelin'in meyve ve sebzeler üzerinde yaptığı araştırma sonucunda, meyve ve sebzelerin jel yapabilme özelliğini keşfettiği bilinmektedir (Keleş 2019). Pektin kelimesi Yunanca'da 'Pektikos' kelimesinden türetilmiştir ve pelteleştirici, pıhtılaştırıcı, katılaştırıcı ve sertleştirici anlamlarına gelmektedir (Sarı ve Birlik 2020). Pektinin yapısal özellikleri 1825 yılında kimyager Henri Braconnot tarafından açıklanmıştır (Martău ve diğ. 2019). 1941 yılında Fransa'da ilk büyük ölçekli protopektin, turunçgil kabuğu ve elma posasından geleneksel sıcak asit ekstraksiyonu yöntemi ile üretilmiştir. Bu yöntemde yüksek sıcaklıkta (70-80°C) seyreltik mineral asit kullanılarak uzun süreli hidroliz gerçekleştirilmiştir (Cirimina ve diğ.2022).

2.3 Pektin Üretimi

Meyveler, sebzeler ve diğer bitki bazlı gıdalar, insanların sağlığı için çeşitli diyet bileşenleri içerir ve biyoaktif fitokimyasallar açısından zengindir (Dranca ve Oroians 2018). Çoğu bitkinin yapısında pektin bulunmaktadır. Dünyada ticari pektin turunçgil posasından (%85,5), elma posasından (%14,0) ve şeker pancarı posasından (%0,5) elde edilmektedir (Şen ve diğ. 2021). Ayva kabuğu (Fırat ve Kaymak-Ertekin

2020), karpuz kabuğu (Hartati ve Subekti 2015), havuç posası (Jafari ve diğ. 2017), domates kabuğu (Grassino ve diğ. 2016), antep fıstığı kabuğu (Barış 2020) vb. meyve ve sebze atıklarından pektin üretimi için alternatif ham madde kaynağı sağlanması amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır. Şekil 2.4'teki pektin satışlarının sektörel dağılımlarından da anlaşılacağı gibi pektin; jelleştirici, emülgatör, stabilizatör ve kıvam arttırıcı olarak birçok farklı sektörde farklı amaçlar için kullanılmaktadır.



Şekil 2.4: Pektin satışlarının sektörel dağılımı (Mevlâna Kalk. Aj. 2021).

Pektinin ilk patenti 1913 yılında Amerika'da alınmış ve 110 yıldır gıda sektöründe kullanılmaktadır. Ülkemizde farklı sektörlerde farklı amaçlar için yaygın olarak kullanılan pektinin Türkiye'de henüz üretimi yoktur. Kayseri Şeker Fabrikasında 2016 yılında TÜBİTAK desteği ile şeker pancarı posasından ticari pektin üretimi amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Laboratuvarında yapılan testlerin sonuçlarının iyi çıkmasıyla beraber iç pazardaki firmalara gönderilen pektin numunelerinden olumlu sonuç alındığı belirtilmektedir (Mevlâna Kalkınma Ajansı). Ülkemiz için ihtiyaç duyulan pektin ithalat yoluyla karşılanmakta ve en fazla pektin ithalatı ise Almanya'dan gerçekleştirilmektedir. TÜİK verilerine göre 2021 yılına göre %16,35 oranında bir artış ile 2022 yılında yaklaşık 797 ton pektin ithalatı gerçekleşmiştir (TÜİK).

2.4 Pektinin Kullanım Alanları

Petrol ve türevlerinden petrokimyasal süreçlerle üretilen sentetik plastikler, yenilenemeyen malzeme olduğu için çevre kirliliğine ve doğal kaynakların tükenmesine neden olmaktadır. Her alanda kullanımı hızlı şekilde artan bu sentetik

plastikler biyolojik olarak bozunmadığı ve çok küçük bir kısmı geri dönüştürülebildiği için fazla miktarda atık birikimine yol açarak ciddi çevresel sorunlar oluşturmaktadır (Roy ve diğ. 2023). Biyobozunur yapıda olan ve farklı süreçlerden geçirilerek sentetik plastiklere alternatif olarak kullanılmaya da başlanan pektin geniş uygulama alanıyla (gıda, sağlık, ilaç, kozmetik ve tekstil endüstrileri) küresel biyopolimer pazarında büyük öneme sahiptir. Pektin doğal gıda bileşeni olarak kabul edilmekte ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'ne göre güvenli gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir (Martau ve diğ. 2019).

Gıda sektörünün çeşitli alanlarında; jelleştirme, kıvamlaştırıcı, parlaklık verme, emülgatör, stabilizatör özelliklerinden faydalanmak amacıyla katkı maddesi olarak pektin yaygın şekilde kullanılmaktadır. Emülsiyonlar, süt, krema, hamur işleri, tatlılar gibi birçok gıda ürünleri termodinamik olarak kararsız sistemlerdir ve pektin, su içinde yağ emülsiyonlarını stabilize etme özelliğinden dolayı tercih edilmektedir (Zoghi ve diğ. 2021). Süt endüstrisinde asitlendirilmiş süt ürünlerinde bir stabilize edici madde olarak da pektin kullanılmaktadır (Chandel ve diğ. 2022). Dondurulmuş gıda ürünlerinde buz kristallerinin büyümesini engelleyerek ürünlerin kalitesini koruma özelliğine sahip olan pektin gıda endüstrisinin bu alanında da kullanılabilir (Zoghi ve diğ. 2023).

Doğal bir koruyucu madde olan pektin; biyouyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve toksik olmaması nedeniyle farmasötik, kozmetik, sağlık, biyomedikal endüstrisi gibi alanlarda farklı amaçlar için kullanılabilir (Ghai ve diğ. 2012). İnsanlar için diyet lifi görevi görebilen pektin ince bağırsakta sindirilmeyen sadece kolonda mikrobiyot tarafından parçalanabilmektedir. Pektin, sindirim sisteminde jel oluşturmak suretiyle sindirimi yavaşlatarak hızlı sindirim sorunu yaşayan Dumping sendromlu hastalarda faydalı olabilmektedir (Leclere ve diğ. 2013). Ayrıca yapılan bir araştırmanın sonucuna göre pektinlerin; kolesterol metabolizmasını düzenleme, lipaz aktivitesini inhibe etme, kanser hücresi büyümesini ve metastazı engelleme yeteneklerine sahip olduğu ve bağırsak florasını düzenleyerek bağırsak sağlığını iyileştirebildiği görülmüştür (Li ve diğ. 2019).

Pektin doğal bir koyulaştırıcı özelliği, sahip olduğu farklı kimyasal özellikler ve basit işlemlerle kazandırılabilen özelliklerinden dolayı tekstil sektöründe kullanılmaktadır. Özellikle pamuk, polyester ve poliakrilik kumaşların baskı

işlemlerinde tercih edilmektedir (Ebrahim ve diğ. 2023). Yapılan bir çalışmada sentetik kumaşlar için çevresel açıdan sürdürülebilir bir terbiye işlemi geliştirilmiş ve bu işlemde koruyucu kaplama olarak pektin kullanılmıştır. Bu sayede terbiye sırasında ortama salınan mikro plastik miktarı azaltılmıştır (De Falco ve diğ. 2018).

Sanayinin gelişmesiyle birlikte endüstriyel atık su salınımı, sulardaki kirlilik çeşitliliği ve miktarı artmaktadır. Bazı endüstri atık sularında arsenik, bakır, cıva, nikel, kobalt ve krom gibi çeşitli ağır metal iyonları bulunmaktadır. Bu ağır metal iyonları insan sağlığı için oldukça tehlikelidir. Bu atık sulardaki ağır metallerin giderilmesinde toksik olmaması, düşük maliyeti, kolay bulunabilirliği, en önemlisi de ağır metal iyonlarını adsorplama yeteneğine sahip olması sebebiyle pektin tabanlı hidrojeller tercih edilebilmektedir (Wang ve diğ. 2019).

2.5 Pektin Ekstraksiyon Yöntemleri

Pektin ekstraksiyonu bitki kaynağı ile çözücü arasında kütle transferi işlemi olarak tanımlanabilir (Roy ve diğ. 2023). Pektin ekstraksiyonunda temel işlemler şunlardır: Ham maddenin öğütülerek yüzey alanının artırılması, etüvde neminin alınması, ekstraksiyon işlemi sırasında katı ve sıvı fazların birbiri ile temas ederek katı içindeki pektinin kütle transferi yoluyla sıvı faza geçmesi, sıvı fazda bulunan pektinin etil alkol ile çöktürülmesi, ekstrakte edilen pektinin etil alkol ile yıkanması, pektinin oda sıcaklığında kurutulması, öğütülmesi ve etiketlenip karakterizasyon için dolapta 4°C'de bekletilmesi olarak sıralanmaktadır (Akçay 2021). Günümüzde pektin ekstraksiyonu için çok çeşitli ekstraksiyon teknikleri kullanılmaktadır. Pektin verimine ve fiziksel özelliklerine etki eden önemli parametrelerden birinin ekstraksiyon metodu olması sebebiyle ekstrakte edilecek pektinin verimini ve kalitesini artırmak için farklı tekniklerle pektin ekstraksiyonları gerçekleştirilmektedir. Bu ekstraksiyon tekniklerinden bazılarına; geleneksel sıcak asit, ultrasonik destekli, mikrodalga destekli, enzimatik ve kritik altı su ekstraksiyon yöntemleri örnek olarak verilebilir.

2.5.1 Sıcak Asit Ekstraksiyonu (SAE)

Pektin ekstraksiyonunda başvurulan en eski yöntem olduğu için geleneksel sıcak asit ekstraksiyon yöntemi olarak da adlandırılan bu yöntem pektin ekstraksiyonunda yaygın şekilde kullanılmaktadır (Kamberoğlu ve diğ. 2022). Bu yöntemde ekstraksiyon genellikle yüksek sıcaklıkta asidik ortamlarla gerçekleştirilmektedir. Bu ekstraksiyon şartları da bitki yapısındaki pektinin daha kolay ve hızlı şekilde çözücüye geçmesine izin vererek pektin veriminde artışa imkân sağlamaktadır. İşlemdeki ısı uygulamasının bitki hücre duvarında yıkıcı etkisi; çözücü difüzyonunu ve bitkinin yapısındaki pektin ekstraksiyonunu kolaylaştırmaktadır. (Picot-Allain ve diğ. 2022). SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonu genellikle düşük pH'lı (1,5-3,0) ekstraksiyon ortamını sağlayan asitlerin seyreltik çözeltilerinin çözücü olarak kullanılmasıyla, 70-80-90 °C gibi yüksek sıcaklıklarda ve farklı ekstraksiyon sürelerinde gerçekleştirilmektedir. Ekstraktant olarak; hidroklorik asit (HCl), sülfürik asit (H₂SO₄), nitrik asit (HNO₃) vb. gibi mineral asit çözeltileri yanı sıra sitrik asit (C₆H₈O₇), asetik asit (CH₃COOH) vb. gibi organik asitlerin farklı derişimlerdeki sulu çözeltileri kullanılmaktadır. Gerçekleştirilecek ekstraksiyonlarda kullanılan ekstraktant türlerinin pektin veriminde ve özelliklerinde farklı etikleri vardır. Örneğin ekstraktant ortamı olarak belli avantajlara sahip organik asitler kullanıldığında bunlar genellikle mineral asitlere kıyasla daha düşük hidrolize etme yeteneği nedeniyle daha düşük pektin verimleri vermektedir (Atalay ve diğ. 2018, Picot-Allain ve diğ. 2022.). Pektin ekstraksiyonunda SAE yönteminin basit ve etkin olması gibi avantajları bulunurken; kullanılan asidik ekstraksiyon ortamının sebep olabileceği çevre kirliliği, uzun ekstraksiyon süresi ve yüksek enerji tüketimi nedeniyle yüksek maliyet gibi dezavantajlara sahiptir (Perussello ve diğ. 2017). Bu yöntemdeki ekstraksiyon işlemlerinde yaygın şekilde çalkalamalı su banyosu kullanılmaktadır. Bu cihaza ait bir fotoğraf Şekil 2.5'te verilmiştir. SAE yönteminin bahsedilen dezavantajlarından dolayı yeni ekstraksiyon yöntemlerinin pektin verimliliği ve özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için çalışmalar devam etmektedir (Picot-Allain ve diğ. 2022).



Şekil 2.5: Çalıklalı su banyosu cihazı.

2.5.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE)

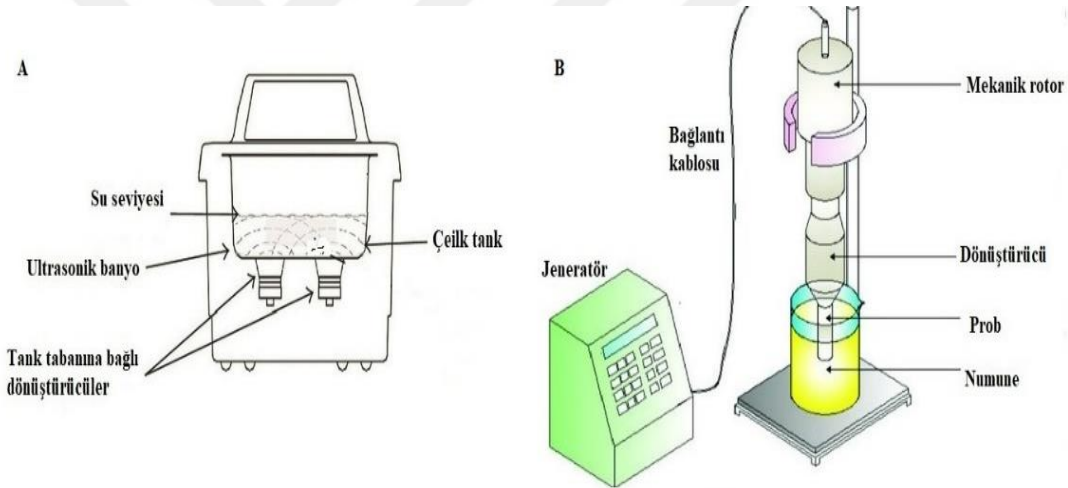
Ultrason 20. yy. başlarında hastalık teşhisinde kullanılırken, günümüzde elektrokimya, gıda teknolojileri, kimyasal sentez, yüzey temizleme, arıtma ve nanoteknoloji gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Syeitkhajy 2017). İnsanın duyamayacağı 1-16 kHz aralığındaki ve 20 kHz'in üstündeki seslere ultra ses denilmektedir (Taşan 2018). UDE termal yaklaşımlara ek olarak akustik kavitasyon ile kütle transferini artırmayı hedefleyen bir yöntemdir. (Dedebaş ve diğ. 2021).

Ultrason sıvı örneklerde homojenizasyonu ve emülsiyonu desteklemek için kullanılırken, katı örneklerde ise ekstraksiyon için kullanılmaktadır (Taşan 2018). Ultrasonik destekli ekstraksiyon ultrasonik banyo ya da ultrasonik prob (uç) olmak üzere iki tür cihaz kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Her iki cihazın sistemi ultrason gücü kaynağı olarak bilinen bir dönüştürücüye bağlıdır. Ultrasonik reaktörlerin çoğunda yaygın olarak piezoelektrik dönüştürücüler kullanılmaktadır. Ultrasonik banyo; farklı hacimlerde paslanmaz çelik bir tanktan oluşur ve bir veya daha fazla ultrasonik dönüştürücü bulundurur. Ekstraksiyon işlemi yanında farklı işlemler için de en yaygın olarak kullanılan bir ultrasonik cihaz türüdür (Chermat ve diğ. 2017).

Pektin ekstraksiyonunda katı matris, ultrasonik banyoda tank duvarının dışına tutturulmuş dönüştürücünün boyutuna bağlı olarak genellikle bir veya daha fazla dönüştürücüye sahip olan bir tanktaki çözücü içinde dağıtılmaktadır. Ultrasonik probda ise dönüştürücüye bağlı olan prob direkt numuneye daldırılır ve ultrasonik

dalgalar numuneye yayılarak katı matris içindeki biyoaktif bileşenlerin çözücüye geçmesini sağlamaktadır (Ling ve diğ. 2023).

Ultrasonik su banyosu ve prob tipi ultrason ekipmanlarının şematik gösterimleri Şekil 2.6 A ve B'de verilmiştir. Ultrasonik su banyosunun avantajlarına daha ucuz olması, aynı anda çok sayıda ekstraksiyon işleminin yapılabilmesi ve kullanım kolaylığı sayılabilir. Kullanılan gücün bir kısmının boşa harcanması ve ultrason enerjisinin düzensiz yayılması gibi dezavantajları vardır. Ultrasonik prob tipi cihazlarda ise probun doğrudan numuneye daldırılarak enerjinin numunenin her tarafına eşit şekilde dağılması ve verimli kavitasyon etkisinin oluşturulması gibi avantajları öne çıkmaktadır. Bu cihazlardaki dezavantajlar ise prob ucu maliyetinin yüksek olması, kullanım ömrünün kısa olması ve daha az sayıda numunenin ekstrakte edilebilmesi olarak sayılabilir (Taşan 2018, Kumar ve diğ. 2021).



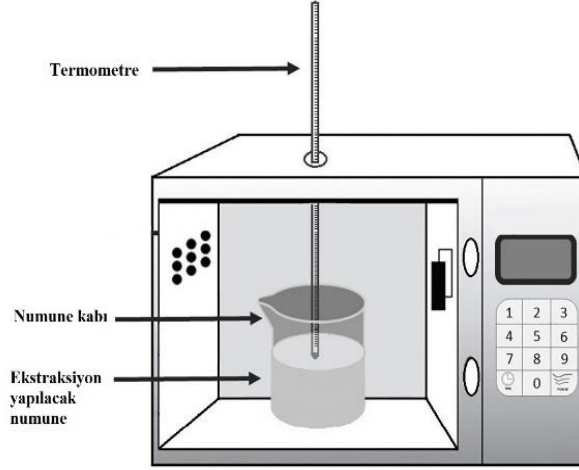
Şekil 2.6: UDE yönteminde ultrasonik su banyosu (A) ve prob sistemlerinin (B) şematik gösterimi (González-González ve diğ. 2017, Hussain ve diğ. 2020).

UDE yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen pektin ekstraksiyonlarında; işlem süresinin daha kısa olabilmesi, ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak pektin veriminin ve kalitesinin artırılabilmesi ve enerji tüketiminin azaltılabilmesi gibi avantajlar nedeniyle bu yöntem tercih edilebilmektedir (Picot-Allain ve diğ. 2022).

2.5.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalga 300 MHz ile 300 GHz arasında değişen frekansta iyonize etmeyen elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalgalar; gıda maddelerinin kurutulması, çeşitli

atıkların ve yan ürünlerin işlenmesi, mikroorganizmaların inaktivasyonu gibi işlemlerde kullanılmaktadır (Marić ve diğ. 2018, Keleş 2019). Mikrodalga fırınlar 2450 MHz frekansta çalışır ve enerji tüketimi 600 ile 700 Watt arasında değişmektedir. Bu da yüksek derecede ısının saniyeler içinde oluşması anlamına gelmektedir (Syeithajy 2017). Şekil 2.7’de mikrodalga fırının şematik resmi verilmektedir.



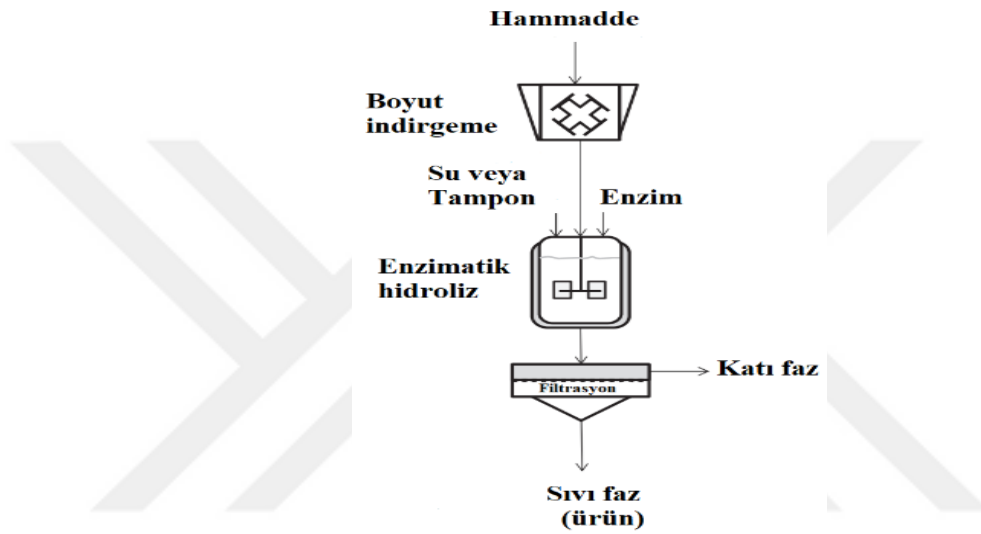
Şekil 2.7: Mikrodalga destekli ekstraksiyon için fırının şematik gösterimi (Silva ve diğ. 2019).

Mikrodalga destekli ekstraksiyonda mikrodalga tarafından üretilen ısı ile hücre duvarı bozularak biyoaktif bileşen olan pektin ekstrakte edilmektedir (Marić ve diğ. 2018). Bu yöntemle pektinin verimi ve özellikleri; çözücü türü, çözücünün pH değeri, mikrodalga gücü, sıcaklık, zaman gibi parametrelerden etkilenmektedir (Mao ve diğ. 2023). Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin ekstraksiyon süresini kısaltılması, çözücü kullanımının az ve ısı dağılımının her tarafa eşit bir şekilde dağılması gibi avantajları bulunmaktadır (Atalay ve diğ. 2018).

2.5.4 Enzimatik Destekli Ekstraksiyon

Pektin ekstraksiyon için başvurulan yöntemlerinden bir diğeri de şematik diyagramı Şekil 2.8’de verilen enzimatik destekli ekstraksiyon yöntemidir. Bu yöntemde en fazla selülaz, proteaz, hemiselülaz, alkalaz, ksilaz, poligalakturonaz, α -amilaz, β -glukozidaz, endopoligalakturonaz ve pektin esteraz enzimleri kullanılmaktadır. Enzimatik destekli ekstraksiyonda pektin verimi; partikül boyu, pH değeri, ekstraksiyon süresi, sıcaklık, kullanılan enzim türü ve enzim konsantrasyonuna bağlıdır (Marić ve diğ.2018). Bu ekstraksiyon yönteminin avantajları düşük sıcaklıkta

ve düşük enerji tüketimiyle ekstraksiyonun gerçekleştirilebilmesi ve ekstraksiyon sonucu oluşan atıkların nötralizasyonu için başka bir ek adıma ihtiyaç duyulmamasıdır (Atalay ve diğ. 2018). Yöntemin dezavantajları ise kullanılan enzimlerin oldukça pahalı olması ve laboratuvar ortamında kullanılmasıdır (Marić ve diğ. 2018). Enzimatik destekli ekstraksiyon yöntemi ve geleneksel asit ekstraksiyon yöntemi beraber kullanıldığında; pektin ekstraksiyonu için az miktarda çözücü kullanılması, ekstraksiyon süresinin azalması ve daha yüksek pektin veriminin elde edilmesi gibi olumlu sonuçlar alınabilmektedir (Atalay ve diğ. 2018).

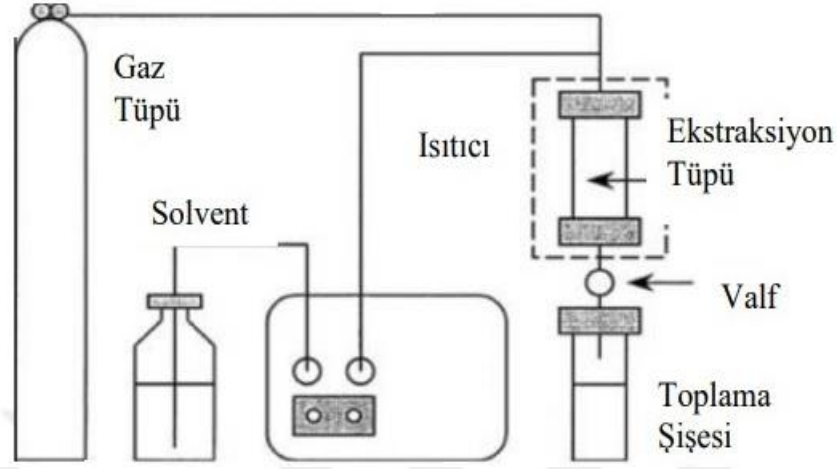


Şekil 2.8: Enzimatik destekli ekstraksiyon için şematik diyagram (Casas ve diğ. 2017).

2.5.5 Kritik Altı Su Ekstraksiyon

Ekstraksiyondan temizliğe kadar çeşitli uygulamalarda kullanılan su yüksek sıcaklıkta kaynayabilme özelliği ve yüksek polariteye sahip olması sayesinde eşsiz bir çözücüdür (Basak ve Annapure 2022). Yeni ve yeşil bir ekstraksiyon yöntemi olan kritik altı su ekstraksiyonu; basınçlı sıcak su, aşırı ısıtılmış su gibi literatürde farklı isimlerde anılmaktadır (Kanmaz ve Ova 2014). Kritik altı su, suyun kritik noktası olan 374.15 °C sıcaklık ve 22.1 MPa basınç değerlerinin altındaki sıvı hali olarak tanımlanmaktadır. Suyun sıvı halde kalabilmesi için su basıncı buhar basıncından fazla olmalıdır (Basak ve Annapure 2022). Bu ekstraksiyon yöntemi ile biyoaktif bileşik elde etmek için pilot ölçeklerde veya basınçlı çözügen ekstraksiyonu sistemlerinde yapılmaktadır. Şekil 2.9'da şematik diyagramı verilen kritik altı su ekstraksiyon

yönteminde ekstraksiyon parametreleri; ham madde partikül boyutu, zaman, sıcaklık, akış hızı ve basınç olarak sıralanmaktadır (Kanmaz ve Ova 2014).

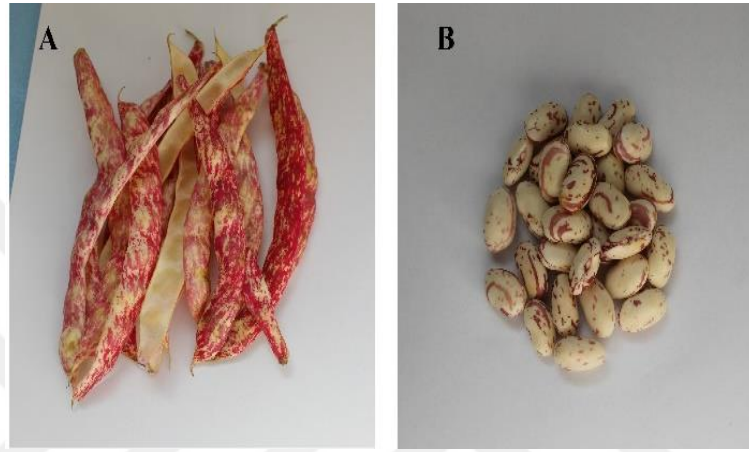


Şekil 2.9: Kritik altı su ekstraksiyonu şematik diyagramı (Sarılın, 2018).

2.6 Barbunya Fasulyesi

Barbunya fasulyesi (*Phaseolus Vulgaris*. L. Var. Pinto), Fabaceae ailesine ait ve ılıman iklim koşullarında yetişen bir sebze türüdür. Kökeni Orta ve Güney Amerika'dır ve fasulyenin farklı bir çeşididir. Barbunya fasulyesi, diyet lifi ve nişasta açısından zengin olup, fenolik bileşikler, lektinler ve enzim inhibitörleri gibi bir dizi biyoaktif madde içermektedir (Güneş ve diğ. 2021). Gıda olarak tüketilen barbunya fasulyesi; potasyum, fosfor, kalsiyum, demir ve C vitamini gibi mineraller bakımından zengindir (Aslankara 2013). Barbunya fasulyesi iç kabuğundan ayrıldığında mineral madde miktarında azalma olduğu gibi, pişirme esnasında minerallerin pişirme suyuna karışarak mineral miktarını düşürmektedir (Aslankara 2013). İspanyolca'da "pinto" kelimesi "boyalı" anlamına gelir ve kırmızımsı kahverengi beneklerle kaplı bej arka planına atıfta bulunur. Barbunya fasulyesinin iç kısımlarında oluşan taneler sofralık, dondurulmuş gıda, konserve ve kuru barbunya olarak tüketilmektedir (Balkaya ve Odabaş 2004). Kabuğu ise taşralarda genellikle hayvan yemi olarak kullanırken şehirlerde daha çok çöpe veya toprağa atık olarak atılmaktadır. TÜİK verilerine göre Türkiye'de 2021'de 76245 ton barbunya hasadı gerçekleştirilirken, 2022'de ise 75961 ton barbunya hasadı gerçekleştirilmiştir (TÜİK).

Barbunya fasulyesi kabuğunun değerlendirilmesine yönelik olarak literatürde; bitkisel protein konsantresi üretimi ve karakterizasyonu (Kızılalp ve Dirim 2019), nişastaca zengin toz eldesi ve kek üretiminde kullanılabilirliği (Boyacı 2021), koyunlar için hayvan yemi olarak değerlendirilmesi (Villalobos ve diğ. 2010), aktif karbon üretiminde kullanılması (Derici 2021), boyar madde içeren atık sular için biyosorbent olarak kullanılması (Gürlenkaya 2022) ve antioksidan elde edilmesi (Cao ve diğ. 2010) gibi çalışmalar bulunmaktadır.



Şekil 2.10: Barbunya fasulyesi; (A) kabuk, (B) tohum.

2.7 Pektin Ekstraksiyonu Çalışmalarına Örnekler

Kamarudin ve Gan (2016), barbunya fasulyesi kabuklarından SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Ekstraksiyon için sitrat-fosfat tampon çözeltisi kullanmış ve katı-sıvı oranını 1/50 (g/mL) değerine sabitlemiştir. Farklı pH değerlerinde (pH:2-4-6), farklı sıcaklıklarda (50°C, 60°C, 70°C) ve farklı sürelerde (1, 3, 5 saat) ekstraksiyon işlemlerini gerçekleştirmişlerdir. En yüksek pektin verimini pH 2 değerinde, 70°C sıcaklıkta ve ekstraksiyon süresinin 3 saat olduğu ekstraksiyon koşullarında %38,5 olarak bulmuşlardır. Ayrıca, barbunya kabuğu atıklarından ekstrakte edilen pektin, yüksek derecede polimerizasyona sahip ve oldukça dallanmış bir heteropolisakarittir. Ekstrakte edilen pektin örneklerinin FTIR analizleri örneklerin yapılarının ticari pektine benzer olduğunu doğrulanmıştır.

Olivera ve diğ. (2016) muz kabuklarından pektin ekstraksiyonunu sitrik asidi ekstraktant olarak kullanarak su banyosunda gerçekleştirmişlerdir. Merkezi bir kompozit tasarım kullanarak pH değerini (2,0-4,5), ekstraksiyon sıcaklığını (70-90°C)

ve ekstraksiyon süresini (120-140 dk.) değiştirerek ekstraksiyon şartlarının pektin özelliklerinden olan esterleşme derecesi (ED) ve galakturonik asit içeriği (Gal-A) üzerindeki etkilerini gözlemlemişlerdir. Ekstrakte edilen pektinlerin ED ve Gal-A içeriği FTIR spektrumlarından faydalanılarak belirlenmiştir. pH 2,7 değerinde, 83°C ve 190 dakikalık ekstraksiyon süresinde en yüksek Gal-A (%86) değerine ulaşılmıştır. Ekstraksiyon sonuçları incelendiğinde, yüksek sıcaklık ve düşük pH'ta pektin veriminin arttığı ancak ED'nin azaldığı tespit edilmiştir.

Fazio ve diğ. (2020) üç farklı olgunlaşma aşamasındaki bakla kabuklarından pektin ekstraksiyonu için CA kullanarak çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Ekstraksiyonda katı sıvı oranı 1/20 (g/mL), ekstraksiyon süresi 60 dakika ve ekstraksiyon sıcaklığı 90 °C'deki ekstraksiyon şartlarında deneylerini yapmışlardır. Ekstraksiyonlarda pektin verimi %8,70 ile %17,20 arasında değişmiş ve bakla kabuklarının olgunlaşması derecesinin artmasıyla pektin verimi düşmüştür. Pektinlerin ED hem titrimetrik yöntemle hem de FTIR yöntemiyle belirlenmiştir. Pektinlerin ED değerlerinin %42,9 ve %44,1 arasında değiştiği belirtilmiş ve pektinlerin titrimetrik yöntemi ile belirlenen ED değerlerinin enstrümantal yöntemle belirlenenlere göre biraz düşük olduğu bildirilmiştir.

Monsoor (2005) soya fasulyesi kabuklarından pektin ekstraksiyonunda kurutma yöntemlerinin; pektinin özelliklerine etkisini belirlemek amacıyla çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışmada 0,05 M HCl çözeltisi ekstraksiyon ortamında, katı-sıvı oranı 1/10 (g/mL) olarak, 90 °C ekstraksiyon sıcaklığı ve 60 dakika ekstraksiyon süresi koşullarında pektin ekstrakte edilmiştir. Çalışmada üretilen pektin örneklerinin kurutma işlemi vakumlu fırında, püskürterek ve dondurarak kurutma olmak üzere üç farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Kurutma yönteminin pektin verimi üzerine etkisine bakıldığında; vakum fırınında ve dondurularak kurutulan pektinlerin veriminde bir farkın olmadığı, ancak püskürterek kurutmada verimin diğer yöntemlere göre oldukça düşük olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada, kurutma işleminin ekstrakte edilen pektinin yapısı ve bileşimi üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı ancak fiziksel görünümü üzerinde önemli bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Şen ve diğ. (2022) sarımsak atıklarından organik ve mineral asit karışımları kullanarak 1/30 (g/mL) katı sıvı oranı ile 90 °C'de ve 90 dakikalık ekstraksiyon süresinde pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Organik ve inorganik asit

karışımlarının pektin verimine ve özelliklerine etkisi yapılan çalışmada araştırılmıştır. Ekstraktant olarak HCl-H₂SO₄ karışım çözeltisi kullanıldığına maksimum pektin veriminin %22,40 olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir.

Kameroğlu ve diğ. (2022) kuşburnu meyvesi ve atıklarından SAE ile ekstrakte edilen pektinlerin verimine ve özelliklerine farklı ekstraksiyon koşullarının etkisini araştırmışlardır. Asit türü (HCl, CA), sıcaklık (70, 80 ve 90 °C), süre (60 dk., 90 dk. ve 120dk.) ve katı sıvı oranı (1/12.5, 1/25, 1/50) gibi farklı ekstraksiyon koşullarında çalışmalarını yapmışlardır. Kuşburnu meyvesi için pektin verimleri %8,35 ile %13,08 arasında değişirken atıklarından ekstrakte edilen pektin verimleri %8,78 ile %12,08 arasında değişmiştir. HCl çözeltisi ile sıcaklığın 90 °C'den 70 °C'ye düşmesinin pektin veriminde artışa, CA çözeltisiyle gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ise sıcaklığın düşmesinin verimde düşüşe sebep olduğunu gözlemlemişlerdir. Ekstraksiyon süresinin 60 dakikadan 90 dakikaya çıkarılmasının pektin verimini artırdığını 120 dakikaya çıkarıldığında ise pektin verimini düşüğünü tespit etmişlerdir.

Ke ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada diken kabağında UDE yönteminde ultrasonik su banyosu kullanarak pektin ekstrakte etmişler ve onun reolojik davranışıyla beraber karakterizasyonunu araştırmışlardır. HCl kullanılarak ekstraksiyon sıcaklığının (50, 60, 70, 80°C), katı-sıvı oranının (20, 30, 40, 50, 60 g/mL) ve sürenin (20 dk, 30 dk, 40 dk, 50 dk, 60 dk.) verim üzerindeki etkileri değerlendirilip, optimum şartlar altında ekstrakte pektinlerin yapısal özellikleri belirlenmiştir. Optimize edilmiş ekstraksiyon şartlarında (1/50 katı sıvı oranı, 70 °C sıcaklıkta ve 40 dk.) en yüksek %6,59 pektin verimine ulaşmışlardır. Pektin ekstraksiyonunda sıcaklığın 60°C'den 70°C'ye yükseltilmesinin pektin verimini artırdığını belirlemişlerdir. Katı-sıvı oranına bakıldığında 1/50 değerinden daha düşük değerlerin pektin veriminde düşüşe yol açtığı gözlemlenmiştir. Bu; katı madde ile ekstraksiyon çözeltisi arasındaki dinamik dengeden kaynaklanabilir. Ultrason süresi 30 dakikadan 40 dakikaya çıkarıldığında verimin arttığı görülmüştür. Ultrason süresinin 40 dakikadan daha uzun olması pektin veriminde bir düşüşe neden olmuştur. Bu durum, ekstraksiyonun erken aşamasında ultrasonik kaviteasyonun ham maddenin genişlemesini ve hidrasyonun hızlandırmasından kaynaklanabileceği rapor edilmiştir.

Minjares-Fuentes ve diğ. (2014) tarafından yapılan çalışmada UDE yöntemi ile CA çözeltisi kullanarak üzüm posasından pektin ekstrakte etmişlerdir. Maksimum

pektin verimi için ekstraksiyon şartlarını (pH:2,0, 60 dk. ve 75 °C) belirlemişler ve bu şartlarda pektin verimi %32,3 olarak gerçekleşmiştir. Pektin verimi %3,2-%32,3 arasında değişirken ortalama molekül ağırlığı 110 kDa-205 kDa ve ED değerleri %20,1-%62,1 arasında değişmektedir. Ayrıca optimum koşullardaki verimin aynı koşullarda SAE ile ekstrakte edilen pektin veriminden %20 daha yüksek olduğunu ve UDE ile ekstrakte edilen pektinlerin daha yüksek molekül ağırlıklarına sahip olduğunu çalışma sonucu olarak rapor edilmiştir.

Chan ve Choo (2013) kakao kabuğu atıklarından SAE ile pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişler. Çalışmada; pH 2,5, CA ile, 1/25 (g/mL) katı sıvı oranı, 95 °C sıcaklıkta ve 180 dakikadaki ekstraksiyon şartlarında en yüksek pektin verimi %7,62 olarak gerçekleşmiştir. HCl çözeltisi kullanılarak ekstraksiyon sıcaklığı 50°C'den 95°C'ye çıkarıldığında pektin veriminin arttığı gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin artırılmasının da pektin verimini yükselttiği görülmüştür. Ekstrakte edilen pektinlerin genellikle düşük metoksilli pektinler olduğu ve Gal-A içeriklerinin ise %31,19-%65,20 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir.

Yang ve diğ. (2018) patates kabuklarından farklı organik ve inorganik asit çözeltilerini kullanılarak SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Öncelikle patates kabuklarının kararmasının ve nişasta kalıntılarını önlemek için %0,05 sodyum bisülfid çözeltisi eklenmiş ve 60 °C'de bir gece kurutulup öğütülmüştür. HCl, H₂SO₄, AA ve CA çözeltilerini pH değerlerini 2,04'e ayarlayarak, 90 °C sıcaklıkta ve 60 dk. ekstraksiyon süresinde ekstraksiyonları gerçekleştirmişlerdir. Pektin verimlerine bakıldığında en yüksek verim CA kullanılarak ekstrakte edilen pektinlerde %14,34 olarak bulunmuştur. Sitrik asidin diğer asitlere göre pektin veriminin yüksek olması şelat oluşturma özelliğinden kaynakladığını açıklamış ve patates kabuklarından ekstrakte pektinlerin emülsifiye gıda ürünlerinde potansiyel bir emülgatör olarak faydalanılabileceği sonucuna varmışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Pektin ekstraksiyonunda ham madde olarak kullanılacak barbunya fasulyesi kabukları yerel üreticilerden temin edilmiştir. Kabukların içindeki yaprak, dal parçası gibi yabancı maddeler ayıklandıktan sonra belli bir süre (3-5 gün) gün ışığında ön kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutulan barbunya fasulyesi kabukları, gerçekleştirilecek pektin ekstraksiyonu işleminin daha hızlı ve etkin şekilde gerçekleşmesi amacıyla değirmende (Retsch S/S Cross Beater Hammer Mill Sk1, Almanya) boyut küçültme amacıyla öğütülmüştür. Boyut küçültme işlemi sonrası toz haline getirilmiş olan kabuklar etüvde 50 °C sıcaklıkta ikinci kez kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Ham madde olarak kullanılacak kabuklar; pektin ekstraksiyonu işleminde ve diğer analiz işlemlerinde kullanılıncaya kadar mikrobiyal bozunmanın önlenmesi amacıyla vakumlu plastik torbalara konarak 4°C sıcaklıkta buzdolabında tutulmuştur. Pektin ekstraksiyonunda kullanılan kuru barbunya fasulyesi kabuklarının öğütülmemiş ve öğütülmüş hallerini gösteren fotoğraf Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1: Öğütülmemiş ve öğütülmüş barbunya fasulyesi kabuklarının görünümü.

Ekstraksiyon deneylerinde kullanılan asetik asit (CH_3COOH) Riedel-de Haen (ABD), sülfürik asit (H_2SO_4) Isolab (Almanya), sitrik asit ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), hidroklorik asit (HCl) ve mutlak etil alkol (%99) Merck (Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin karakterizasyon deneyleriyle belirlenecek pektinin fizikokimyasal özelliklerini karşılaştırmak amacıyla kullanılacak olan ticari pektin Sigma Aldrich

(ABD), karakterizasyon deneylerinde ihtiyaç duyulan 3-fenilfenol ($C_6H_5C_6H_4OH$), D-Galakturonik asit monohidrat ($C_6H_{10}O_7H_2O$), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum tetraborat ($Na_2B_4O_7$) ve sodyum klorür (NaCl) gibi kimyasallar da Sigma Aldrich (ABD) firmasından temin edilmiştir. Barbunya kabuğundan pektin ekstraksiyonu çalışmalarında pektinin saflaştırılması için yıkama işleminde kullanılan teknik etil alkol (C_2H_5OH , %96 saflıkta) Apeks (Türkiye) firmasından satın alınmıştır. Deneysel çalışmalar sırasındaki saf su ihtiyacı TKA-Pacific-UP/UPW (Almanya) marka saf su cihazından sağlanmıştır.

Deneysel çalışmalarda analitik tartımlar SHIMADZU ATX224R (Japonya) markalı terazide gerçekleştirilmiştir. Pektinlerin toplanması ve safsızlıklarının giderilmesi için yapılan yıkamalarda çöktürme işlemi için Hermle Z 206 A (Almanya) markalı santrifüj cihazı kullanılmıştır. Pektinlerin karakterizasyonu için yapılan analizlerde Velp (İtalya) markalı manyetik karıştırıcı ve aynı markalı vorteks cihazı kullanılmıştır. Ekstrakte edilen pektinlerin FTIR analizi için Thermo Fisher Scientific-Nicolet/iS50 (ADT), DSC analizi için TA Instruments Q20 DSC (ABD) ve TGA analizi için ise TA Instruments SDT Q600 (ABD) markalı cihazlar kullanılmıştır.

3.2 Pektin Ekstraksiyonu

Pektin ekstraksiyonları sıcak asit ekstraksiyon (SAE) ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) olmak üzere iki farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Her iki yöntemle gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda çözücü olarak saf su, organik asit olarak; asetik asit (AA), sitrik asit (CA) ve inorganik asit olarak; sülfürik asit (H_2SO_4), hidroklorik asitin (HCl) 0,1 N derişimdeki çözeltileri kullanılmıştır. Ekstraksiyon şartlarından olan katı sıvı oranı yapılan ön deneme çalışmaları dikkate alınarak gerçekleştirilen bütün ekstraksiyon deneylerinde 1/30 (g/mL) değerinde sabit tutulmuştur. Ekstraksiyonlar 80 °C ve 90 °C olmak üzere iki farklı sıcaklık ve 7,5, 15, 30 ve 90 dk. olmak üzere dört farklı ekstraksiyon sürelerinde gerçekleştirilmiştir.

SAE yöntemi ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ilk olarak kurutulmuş ve öğütülmüş olan barbunya fasulyesi kabukları ve çalışılacak asit çözeltileri cam reaktörlerde bir araya getirilmiştir. Sonrasında reaktörler çalkalamalı su banyosuna (Termal-H11900, Türkiye) yerleştirilerek çalışılacak olan sıcaklık ve sürelerde

ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. SAE yönteminde kullanılan çalkalamalı su banyosunun fotoğrafı Şekil 3.2’de gösterilmektedir.

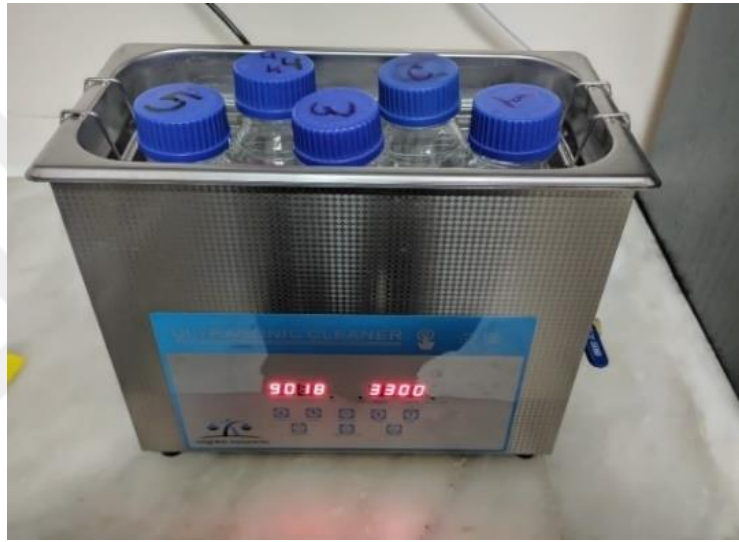


Şekil 3.2: SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonunda kullanılan çalkalamalı su banyosu.

Çalışılan ekstraksiyon koşullarında ekstraksiyonun tamamlanmasının ardından kaba süzgeç kâğıdı ile süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem ile yapısındaki pektini çözücüye ekstrakte edilmiş barbunya kabukları ile pektin içeren çözücünün ayrılması sağlanmıştır. Süzme sonrası süzöntü içindeki ekstrakte edilen pektinin çöktürülmesi amacıyla süzöntünün iki katı hacmi kadar teknik etil alkol ilave edilmiştir. Karışımdaki pektinin jel halinde çökme işleminin tamamlanması için karışım 4 °C sıcaklığındaki buzdolabında 12 saat bekletilmiştir. Belirtilen sürenin ardından jel halindeki pektin kaba süzgeç kâğıdı kullanılarak ikinci bir süzme işlemi ile çözücünden ayrılmıştır. Belirtilen işlem basamakları sonrasında ekstrakte edilen jel halindeki ham pektindeki safsızlıkların giderilmesi amacıyla yıkama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Jel halindeki ham pektinin yıkama işlemi teknik etil alkol ve santrifüj cihazı kullanılarak yapılmıştır. Yıkama; falkon tüplere (50mL) belli hacimlerde dağıtılan jel halindeki pektinlerin üzerine teknik etil alkol ilave edilerek yaklaşık 5 dakika bagetle karıştırmanın ardından 8000 rpm dönüş hızında 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutularak yapılmıştır. Ham pektinin içindeki safsızlıkların tam olarak giderilmesi için işlemler süpernatant renksiz olana kadar ardışık şekilde yaklaşık 4 kez tekrarlanmıştır. Yıkamalar sonrası safsızlıkları giderilen jel halindeki ekstrakte pektinler petri kaplarına toplanarak oda sıcaklığında kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Kurutma işlemi sırasında belli zaman aralıkları ile tartım işlemleri gerçekleştirilmiştir. Sabit tartıma gelen pektinlerin sabit tartım verisi ve ekstraksiyon sırasında kullanılan

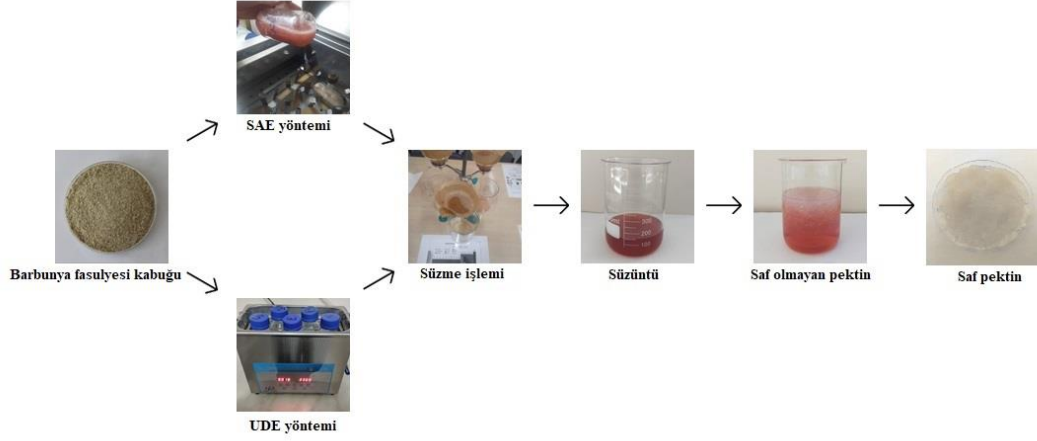
barbunya kabuğunun tartım verisi kullanılarak ekstrakte edilen pektin verimleri hesaplanmıştır. Verim değerlerinin belirlenmesi sonrası ekstrakte edilen pektinler karakterizasyon çalışmalarındaki diğer analizler için havanda toz haline getirilerek vakumlu kaplarda buzdolabında muhafaza edilmiştir.

UDE yöntemindeki tüm ekstraksiyon deneyleri; 40 kHz frekans, 180 W ultrasonik güç ve 150 W ısıtma gücü özelliklerine sahip Weightlab WF-UD6 (Çin) marka ultrasonik su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Pektin ekstraksiyonu için kullanılan ultrasonik su banyosunun fotoğrafı Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3: UDE yöntemiyle pektin ekstraksiyonunda kullanılan ultrasonik su banyosu.

UDE yönteminde gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda öğütülmüş barbunya fasulyesi kabukları ve farklı asit çözeltileri; SAE ekstraksiyon yönteminden farklı olarak mavi kapaklı payreks şişelerde (250 mL) bir araya getirilmiştir. Sonrasında ultrasonik su banyosunda 40 kHz frekansta belirlenen ekstraksiyon şartlarında (zaman ve sıcaklık gibi) ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. UDE yöntemi ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonrasında ekstrakte edilen ham pektine uygulanan işlem basamakları SAE yönteminde ayrıntıları verilen işlem basamakları ile bire bir paralel şekilde uygulanmıştır. Her iki yöntemle gerçekleştirilen ekstraksiyonlardaki işlem basamakları Şekil 3.4'te görülmektedir.



Şekil 3.4: Barbunya fasulyesi kabuğundan SAE ve UDE ile pektin ekstraksiyonu aşamaları.

3.3 Barbunya Fasulyesi Kabuğunun ve Ekstrakte Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu

3.3.1 Elek Analizi

Pektin ekstraksiyonlarında özellikle pektin verimi değerlerine etki eden parametrelerden biri partikül boyutudur. Yürütülen çalışma kapsamında ham madde partikül boyutunun pektin verimine etkisinin incelenmesi çalışması bulunmamaktadır. Fakat kütle ortalamalı partikül boyutunun belirlenmesinin literatürde diğer çalışma sonuçları ile karşılaştırılmasında kolaylık sağlayacağı düşünülmüştür. Bu amaçla barbunya kabuklarının kurutularak değirmende öğütülmesi sonrasında partikül boyutunun belirlenmesi için elek analizi işlemi gerçekleştirilmiştir. Elek analizinde Şekil 3.5'te fotoğrafı verilen Fritsch Analysette 3 Spartan (Almanya) markalı cihaz kullanılmıştır. Bu cihazda elek açıklığı 63-850 µm değerleri arasında değişen 8 adet elek kullanılarak elek analizi gerçekleştirilmiştir. Elek analizindeki veriler kullanılarak Fellows (2017) tarafından önerilen aşağıdaki 3.1 numaralı eşitlik kullanılarak öğütülen barbunya kabuğunun kütle ortalama partikül çapı hesaplanmıştır.

$$d_m = \frac{\sum d}{\sum m} \quad (3.1)$$

Verilen eşitlikte; d_m : partikülün kütle ortalamalı çapını (µm); d : ortalama çapı (µm) ifade ederken, m : elek üzerinde tutulan (g) kütleyi ifade etmektedir.



Şekil 3.5: Elek analizi cihazı.

3.3.2 Pektin Verimi

Barbunya kabuklarından ekstrakte edilen pektin verimleri aşağıdaki 3.2 numaralı denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% Verim = \frac{PA (g)}{HA (g)} \times 100 \quad (3.2)$$

Burada PA ekstrakte edilmiş pektin ağırlığını, HA ise ekstraksiyonda kullanılan öğütülmüş kuru barbunya kabuğu ağırlığını göstermektedir.

3.3.3 pH Ölçümü

Pektin ekstraksiyonlarında ekstraksiyon ortamının pH değeri; özellikle pektin verimine ve ekstrakte pektinlerin fizikokimyasal özelliklerine etki eden önemli

parametrelerden biridir. Barbunya kabuklarından pektin ekstraksiyonu çalışmasında pH ölçümleri Hanna-HI 83141 (ABD) markalı pH metre ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.4 Barbunya Fasulyesi Kabuğunun ve Pektinlerin Yüzde Nem ve Kül İçeriğinin Belirlenmesi

Pektin ekstraksiyonu için kullanılan barbunya kabuklarının ve ekstrakte edilen bazı pektinlerin nem ve kül içerikleri Resmi Analitik Kimyacılar Derneğinin standartlaştırılmış yöntemiyle analiz edildi (AOAC, 2000). Bu yöntemde kısaca; ilk olarak kuru ve boş kroze 105 °C sıcaklıkta JSR JSON-100 (Kore) markalı etüvde 3 saat bekletilir. Sonrasında desikatöre alınarak oda sıcaklığına soğutulur ve boş ağırlığı belirlenir (M). Krozeye yaklaşık 3 g öğütülmüş numunenin ilave edilmesinin ardından ikinci bir tartım alınır (M₁). Tartımın ardından numune içeren kroze 105°C sıcaklıkta etüvde 3 saat bekletilir. Süre sonunda krozenin desikatörde oda sıcaklığına gelmesi sağlanarak tekrar bir tartım alınır (M₂). Numunelerinin % nem içeriği analiz sırasında alınan tartım değerleri kullanılarak denklem 3.3 yardımıyla hesaplanır.

$$\%Nem = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (3.3)$$

Kül analizindeki işlem basamakları ise kısaca; analiz için kullanılacak porselen krozelerin yüzeyindeki kirliliklerin yakılması için krozeler yaklaşık 12 saat 550 °C Protherm PLF 110/8 (Almanya) markalı kül fırınında tutulur. Desikatörde soğutulan krozenin tartımları hassas şekilde alınır (A). Krozelere analizi yapılacak numuneden yaklaşık 3 gram ilave edilerek ikinci tartım alınır (A₁). Numune içeren krozeler tekrar aynı kül fırınına yerleştirilir ve yaklaşık 12 saat 550 °C sıcaklıkta yakma işlemi gerçekleştirilir. Yakma işlemi sonrasında desikatörde soğutulan krozelerin son tartım işlemi gerçekleştirilir (A₂). Tartım işlemleri sırasında not edilen değerler kullanılarak denklem 3.4 yardımı ile numunelerin yüzde kül içerikleri belirlenir.

$$\%Kül = \frac{A_2 - A}{A_1 - A} \times 100 \quad (3.4)$$

3.3.5 Pektinlerin Esterleşme Derecesi ve Metoksil İçeriğinin Belirlenmesi

Pektindeki metoksilenmiş gruplar onun sulu çözeltilerinin ve jellerinin özelliklerini belirleyen önemli parametrelerdendir. Metoksi grupları aynı zamanda pektinin sudaki çözünürlüğüne, jelleşme gücüne ve ağır metal iyonlarını soğurma kabiliyetine de etki etmektedir. Pektindeki metoksi gruplarının içeriği esterleşme derecesi (ED) ve metoksi gruplarının sayısı ile karakterize edilir. Esterleşme derecesi de toplam karboksil grup sayısı başına esterlenmiş karboksil gruplarının sayısıdır. Esterleşme derecesine göre pektin $DE < \%50$ düşük esterli pektin (DEP) ve $DE > \%50$ yüksek esterli pektin (YEP) olarak ikiye ayrılır. Barbunya kabuklarından ekstrakte edilen pektinleri ED değerleri Bocek ve arkadaşları (2001) tarafından geliştirilen potansiyometrik titrasyon yönteminde küçük modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Kuru pektinin 200 mg'lık miktarı tartılarak bir erlene alınır ve çözünmesini kolaylaştırmak amacıyla birkaç damla mutlak etil alkol ile ıslatılır. Pektin içeren erlene 40 °C sıcaklıktaki 20 mL saf su ilave edilerek pektinin tam çözünmesi için 2 saat 200 rpm dönüş hızında çözelti karıştırılır. Sonrasında birkaç damla fenolftalein indikatörü damlatılan çözelti 0,1 N NaOH çözeltisiyle çözeltinin rengi pembeye dönüşünceye kadar titre edilir. Titrasyon sonunda sarf olunan NaOH çözeltisinin hacmi S_1 olarak kaydedilir. Nötralize olan çözeltiye 0,1N NaOH çözeltisinden 10 mL ilave edilerek pektinin esterleşmiş karboksilik asit gruplarının sabunlaşması için çözelti aynı dönüş hızda 2 saat tekrar karıştırılır. Karıştırma süresinin sonunda çözeltiye 10 mL HCl çözeltisi (0,1 N) ilave edilir. Son olarak çözeltideki HCl'in aşırısı için çözeltiye birkaç damla aynı indikatör damlatılarak 0,1N NaOH çözeltisiyle renk dönüşümü gerçekleşinceye kadar tekrar titrasyon gerçekleştirilir. İkinci titrasyonda sarfedilen NaOH çözeltisinin hacmi S_2 olarak kaydedilir. Titrasyonlarda sarfedilen 0,1 N NaOH hacimleri kullanılarak ED denklem 3.5 kullanılarak hesaplanır.

$$ED = \frac{S_2}{S_1 + S_2} \times 100 \quad (3.5)$$

Barbunya kabuklarından ekstrakte edilmiş pektinlerin metoksil içeriği (Mİ) değerleri esterleşme dereceleri değerlerinden faydalanılarak denklem 3.6 kullanılarak belirlenir. Denklemdeki 31 metoksilin molekül ağırlığını (OCH_3), 176 ise üronik asidin bir biriminin molekül ağırlığını ifade etmektedir.

$$MI = \frac{ED \times 31 \times 100}{176 + (ED \times 14)} \quad (3.6)$$

3.3.6 Pektinlerin Eşdeğer Ağırlığının Belirlenmesi

Eşdeğer ağırlık, pektin moleküllerindeki esterleşmemiş galakturonik asit içeriğinin bir göstergesidir. Ranganna (1986) tarafından geliştirilen titrimetrik yöntemde küçük değişiklikler yapılarak çalışmadaki pektinlerin eşdeğer ağırlıkları belirlenmiştir. Yöntemde toz haline getirilmiş pektin örneklerinden yaklaşık 0,3 g (W) tartılarak erlene aktarılır ve üzerine 3 mL mutlak etanol ilave edilerek ısıtılır. Erlendeki numuneye NaCl (%1 w/v) çözeltisinden 60 mL ilave edilir ve numune çözününceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Numunenin çözündüğünden emin olduktan sonra çözeltiliye 4 damla fenol kırmızısı indikatörü damlatılır. Son olarak çözelti deestirifikasyondan sakınmak için dikkatli ve yavaş bir şekilde 0,1 N NaOH ile rengi pembe olana kadar titre edilir. Titrasyon işleminin dönüm noktasındaki NaOH sarfiyatı not edilir (V, mL). Eşdeğer ağırlıklar 3.7 denklemi kullanılarak belirlenir.

$$EA = \frac{W \times 1000}{V \times N_{NaOH}} \quad (3.7)$$

3.3.7 Galakturonik Asit İçeriğinin Belirlenmesi

Pektinin karakterizasyonunda önemli fizikokimyasal özelliklerinden bir diğeri galakturonik asit (Gal-A) içeriğidir. Barbunya kabuğundan ekstrakte edilen pektinlerin ve ticari pektinin Gal-A içeriği Blumenkrantz ve Asboe-Hansen (1973) tarafından geliştirilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Yöntemde 200 µg/mL pektin içeren çözeltiliden 1 mL çekilerek tüpe alınır ve üzerine 0,0125 M sodyum tetraborat içeren 6 mL H₂SO₄ ilave edilir. Çözeltiyi içeren tüpler su-buz banyosunda soğutulur ve karışım vortekslenerek homojen hale getirilir. Reaksiyonun tamamlanması için tüplere 100 °C sıcaklıkta 5 dk. ısıtma işlemi uygulanır. Sonrasında tüpler tekrar su-buz banyosunda soğutulduktan sonra %0,15'lik meta-hidroksidifenil reaktifi içeren %0,5 NaOH çözeltisinden 20 µL ilave edilir. Tüpler 5 dk. süre ile vortekslenerek homojen hale gelen çözeltinin absorbansları 520 nm dalga boyunda

spektrofotometrede okunur. Okunan absorbans değerleri ile pektinlerin Gal-A değeri daha önce galakturonik asit çözeltileriyle (0-200 µg/mL) oluşturulan kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak belirlenir (EKLER B).

3.3.8 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

FTIR spektrometresi ile maddenin yapısındaki atomların arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekans değerlerine karşılık gelen karakteristik absorpsiyon pikleri belirlenir. Karakteristik frekanslardaki absorpsiyon bantlarına dayanarak bir molekül içindeki spesifik fonksiyonel gruplar da FTIR spektroskopisi ile tanımlanır. Söz konusu yöntem organik ve inorganik bileşiklerin karakterize edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Pektinlerin ana yapılarından olan hidroksil, metil, karbonil, eter ve esterleşmemiş ve esterleşmiş karboksil gibi fonksiyonel gruplar FTIR Spektroskopisi ile analiz edilmektedir. SAE ve UDE yöntemleri ile barbunya fasulyesi kabuklarından ekstrakte edilen bazı pektinlerin ve ticari pektinin FTIR spektrumları çekilmiştir. Pektin örneklerin FTIR spektrumları elmas ATR yöntemi ile Thermo Fisher Scientific-Nicolet/iS50 (ABD) marka infrared spektrofotometrede; oda sıcaklığında, 4 cm⁻¹ çözünürlükte, kızıl ötesi (IR) bölgesi olan 400 cm⁻¹- 4000 cm⁻¹ arasında kaydedilmiştir.

3.3.9 Ekstrate Edilen Pektinlerin Termal Analizi

Termal analiz; bir madde veya malzemenin fiziksel özelliğinin, kontrollü bir sıcaklık programı uygulanarak sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü teknikleri kapsar. Kütle kaybı, yapısal değişiklikler, konformasyonel değişiklikler, durum değişiklikleri, kimyasal reaksiyon, bozulma vb. gibi ısının malzemeler üzerindeki etkileri çok fazladır. Bu analizde; ağırlık değişiklikleri termogravimetrimin (TGA) temelini oluştururken, enerji değişikliklerinin ölçümü diferansiyel taramalı kalorimetrimin (DSC) temelini oluşturur. Termogravimetri bir numunenin ağırlık kaybı veya artışı hakkında bilgi verir. Diferansiyel taramalı kalorimetri ise reaksiyon veya fiziksel değişimlerdeki ısı değişimi hakkında bilgi sağlayarak değişimin endotermik mi yoksa ekzotermik mi olduğunu gösterir (Ruano ve diğ. 2019).

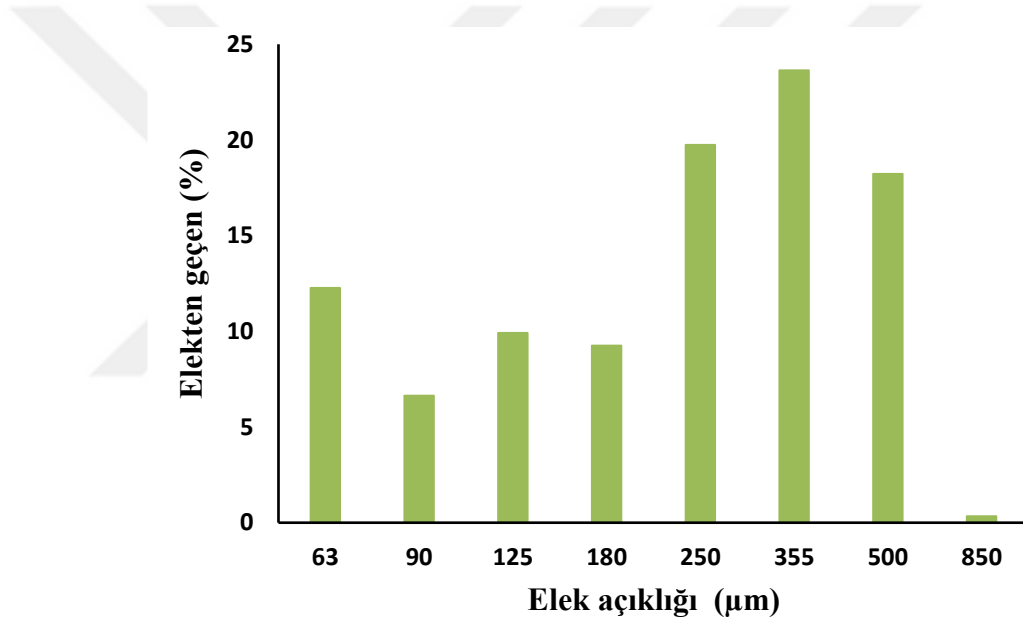
Bazı pektin örneklerinin ve ticari pektinin termal analizi, Khatkar ve diğ. (2013) tarafından uygulanan yöntemde küçük değişiklikler yapılarak termogravimetrik (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) teknikleriyle gerçekleştirildi. Pektin numunelerinin TGA ölçümleri TGA SDT Q600 TA Instruments (ABD) markalı cihazda yapılmıştır. Bu ölçümlerde ısı kararlılığın belirlenmesi amacıyla 12 mg pektin örneği kullanılmıştır. Düzenli olarak sağlanan 50 mL/dk. azot gazı akış hızı ve 10°C/dk. ısıtma hızı şartlarında 30-640 °C sıcaklık aralığında pektin örneklerinin TGA ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen bazı pektinlerin ve ticari pektinin DSC ölçümleri Q200 TA Instrument (ABD) markalı diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak yapılmıştır. DSC analizinde; az miktardaki kurutulmuş toz halindeki pektin numunesinin (3 mg) alüminyum tavaya tartılmasının ardından tava hemen hava geçirmez şekilde kapatılarak DSC cihazına yerleştirilmiştir. Bu sırada boş bir alüminyum tava da referans olarak kullanılmıştır. Pektin numunelerin DSC ölçümleri; 50 mL/dk. bir akış hızındaki azot ortamında 10°C/dk. ısıtma hızı şartlarında alınmıştır. Ölçümler 30 °C-300 °C arasında değişen bir sıcaklıkta ve sabit sıcaklık artışıyla gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada; barbunya fasulyesi kabuklarından SAE ve UDE yöntemleriyle farklı ekstraktantlarla, 90 °C sıcaklıkta ve 90 dakika ekstraksiyon süresinde ekstrakte edilen pektinlerin termal analiz çalışması yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Elek Analizi

Pektin ekstraksiyonunda ham madde olarak kullanılan kurutulmuş öğütülen barbunya fasulyesi kabuklarının partikül boyutlarının belirlenmesi amacıyla elek analizi gerçekleştirilmiş ve bu analizdeki sonuçlar Şekil 4.1'de verilmiştir. Elek analizi sonucunda barbunya kabuklarının kütle ortalamalı partikül çapı 269,96 μm olarak hesaplanmıştır. Verilen grafikten de görüleceği gibi öğütülen barbunya fasulyesi kabuklarının yaklaşık %62'si 250-500 μm boyutlarındadır.



Şekil 4.1: Öğütülmüş barbunya kabuklarının elek analizi sonuçları.

4.2 Barbunya Fasulyesi Kabuğu ve Ekstrakte Edilen Pektinlerin Yüzde Nem-Kül İçeriği

Pektin ekstraksiyonunda kullanılacak olan barbunya fasulyesi kabukları ayıklama, oda sıcaklığında ön kurutma ve öğütme gibi ön işlemlerden geçirilmiştir. Ekstraksiyon deneyleri öncesi bu kabukların yüzde nem ve kül içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca, SAE ve UDE yöntemleriyle farklı ekstraksiyon ortamlarında 90 dk. ekstraksiyon süresinde ve 90 °C ekstraksiyon sıcaklığında ekstrakte pektinlerin ve ticari pektinin yüzde nem ve kül içeriklerinin belirlenmesi amacıyla da analizler

yapılmıştır. Yüzde nem ve kül içeriklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu deneyler her numune için üçer kez tekrarlanan sonuçların ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Tablodan da görüleceği gibi barbunya fasulyesi kabuğunun nem içeriği $7,93 \pm 0,47$ kül içeriği ise $4,93 \pm 0,35$ olarak bulunmuştur. Literatürde benzer bir ham madde ile yapılan bir çalışmada; kuru öğütülmüş farklı boyutlardaki soya fasulyesi kabuğunun kül içeriğinin $5,13 \pm 0,17$ ile $4,01 \pm 0,21$ arasında değiştiği aynı şekilde yüzde nem içeriğinin ise $7,67 \pm 0,17$ ile $9,14 \pm 0,20$ arasında değiştiği belirtilmiştir (Liu ve diğ. 2021). Siyah fasulye kabuğu ile yapılan bir başka çalışmada ise kabuğun yüzde nem içeriği $6,78 \pm 0,19$ bulunurken, yüzde kül içeriği ise $4,59 \pm 0,05$ olarak bulunmuştur (Machado-Velarde ve diğ. 2023). Barbunya fasulyesi kabuğunun yüzde nem ve kül içeriklerinin literatürdeki benzer ham maddelerin yüzde nem ve kül içerikleri uyumlu olduğu görülmektedir.

Tablo 4.1: Barbunya fasulyesi kabuğu ve ekstrakte edilen bazı pektinlerin % nem-kül içeriği.

	<i>%Nem</i>	<i>%Kül</i>
Barbunya Kabuğu	7,93±0,47	4,93±0,35
<i>Ticari Pektin ve Ekstrakte Edilen Pektinler</i>		
TP	8,43±0,23	2,22±0,15
<i>SAE</i>		
AA	10,44±0,48	7,35±0,37
CA	10,53±0,53	6,23±0,41
H₂SO₄	9,75±0,21	7,92±0,12
HCl	10,41±0,58	3,47±0,22
H₂O	11,49±0,37	5,69±0,17
<i>UDE</i>		
AA	11,28±0,44	4,20±0,28
CA	11,13±0,16	3,04±0,02
H₂SO₄	10,41±0,31	5,66±0,36
HCl	11,35±0,12	2,58±0,11
H₂O	10,90±0,25	5,30±0,24

Yüzde nem ve kül içeriklerinin yer aldığı Tablo incelendiğinde ticari pektinin yüzde nem içeriği $8,43 \pm 0,23$ olarak belirlenmiştir. SAE yöntemiyle ile ekstrakte edilen pektinlerin nem içerikleri en yüksek $11,49 \pm 0,37$ (H₂O) iken en düşük ise $9,75 \pm 0,21$ (0,1N H₂SO₄) olarak belirlenmiştir. UDE yöntemi ile ekstrakte edilen pektinlerde ise en yüksek yüzde nem içeriği ekstraktant olarak 0,1N HCl çözeltisi

kullandığında $11,35 \pm 0,12$ olarak belirlenirken en düşük yüzde nem içeriği ise $0,1$ N H_2SO_4 çözültisi ekstraktant olarak kullanıldığında $10,41 \pm 0,31$ değerindedir. Tabloda yer alan yüzde kül içerikleri sonuçlarına bakıldığında; ekstraksiyon sonucu ekstrakte edilen pektinlerin kül içerikleri SAE yönteminde $3,47 \pm 0,22$ (HCl)- $7,92 \pm 0,12$ (H_2SO_4) arasında değişmektedir. UDE yöntemi kullanılarak ekstrakte edilen pektinlerin yüzde kül içerikleri SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin yüzde kül içerikleri ile karşılaştırıldığında göreceli olarak daha düşük değerlere sahiptir ve bu değerler $2,58 \pm 0,11$ (HCl)- $5,66 \pm 0,36$ (H_2SO_4) arasında değişmektedir. Ticari pektinin $2,22 \pm 0,15$ olan yüzde kül içeriği iki ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin yüzde kül içeriklerine göre daha düşüktür.

Literatürdeki farklı ham maddelerden ekstrakte edilen pektinlerin nem ve kül içeriğine bakıldığında, Mamiru ve diğ. (2023), yaptıkları çalışmada karpuz kabuğundan ekstraksiyon ortamı olarak AA çözültisi kullanarak ekstrakte ettikleri pektinin nem içeriğini $8,42$ ve kül içeriğini ise $5,10$ olarak bulmuşlardır. Gerçekleştirilen bir başka çalışmada Koh ve diğ. (2014), mikrodalga destekli pektin ekstraksiyon yöntemini geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle karşılaştırmayı amaçlamışlardır. Yaptıkları çalışmada jak meyvesi atıklarından geleneksel yöntemle ekstrakte edilen pektinlerin nem içeriğini $9,98 \pm 0,16$, kül içeriğini ise $8,18 \pm 0,10$ değerlerinde bulurlarken; mikrodalga destekli yöntemde elde ettikleri pektinlerin nem içeriğini $5,26 \pm 0,60$, kül içeriğini ise $7,48 \pm 0,20$ olarak belirlemişlerdir.

Ticari pektin kalite standartlarına veya IPPA'ya (Uluslararası Pektin Üreticileri Birliğine) göre kuru pektin için maksimum nem içeriği $12,00$ değerinden fazla olmamalıdır. Düşük nem içeriği pektinin güvenli olarak depolanması ve mikroorganizmaların büyümesinin engellenmesi için gereklidir. Yüksek nem içeriği mikrobiyal aktiviteye duyarlı olan ve pektinin değerini azaltır. (Mada ve diğ. 2022, Puspitasari 2021). Nem içeriği belirlenen pektinlerin bu değerleri biraz yüksek olmasına rağmen standartların maksimum sınırdan düşük değerlerde kalmıştır.

Pektinin ekstraksiyonunda kullanılan ham maddede bulunan inorganik maddeler, ekstraksiyon yöntemi ve ekstrakte edilen pektinin saflaştırma işlemi pektinin kül içeriğini etkileyen parametrelerdendir. Pektindeki kül içeriği potasyum, sodyum, magnezyum ve demir gibi mevcut mineralleri temsil eder. Pektinde kül içeriğinin düşük olması pektinin jel oluşturmaya da olumlu açıdan etki eder. Pektinin

saflık seviyesinin de bir göstergesi olan kül içeriğinin Uluslararası Pektin Üreticileri Birliği standartlarına göre %10,00 değerinden düşük olması gerekmektedir. Pektinin gerekli olan saflık ve kalite standartlarını karşılaması onun güvenli şekilde gıda katkı maddesi olarak kullanılabilmesi için de önemlidir (Puspitasari 2021). Kül içeriği verilerini içeren tablo incelendiğinde çalışmada kül içeriği belirlenen pektinlerin gerekli standartları karşıladığı görülmektedir.

4.3 SAE ve UDE Yöntemleriyle Ekstrakte Edilen Pektin Verimleri

Barbunya fasulyesi kabuklarından sıcak asit (SAE) ve ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemleri kullanılarak pektin ekstraksiyon deneyleri yapılmıştır. Ekstraksiyon koşullarından katı-sıvı oranı 1/30 (g/mL) olarak sabit tutulurken iki farklı ekstraksiyon sıcaklığı (80°C ve 90°C) ve dört farklı ekstraksiyon süresinde (7,5 dk., 15 dk., 30 dk. ve 90 dk.) ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ekstraktant olarak organik (Sitrik asit (CA), Asetik asit (AA)) ve mineral asitlerin (Hidroklorik asit (HCl), Sülfürik asit (H₂SO₄)) seyreltik çözeltileri (0,1 N) ve saf su kullanılmıştır. Barbunya fasulyesi kabuklarından farklı ekstraksiyon koşullarında SAE ve UDE yöntemleriyle toplam 80 ekstraksiyon deneyi ile pektin ekstrakte edilmiştir. Çalışmada gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde ekstrakte edilen pektin verimleri grafiksel olarak Şekil 4. 2'de verilmiştir (A:80 °C (SAE), B:90 °C (SAE), C:80 °C (UDE), D:90 °C (UDE)). Ayrıca SAE yöntemi ile ekstrakte edilen pektin verimlerinin sayısal değerleri Tablo A1'de, UDE yöntemiyle ekstrakte edilen verimlerin sayısal değerleri ise Tablo A2'de ekler kısmında verilmiştir.

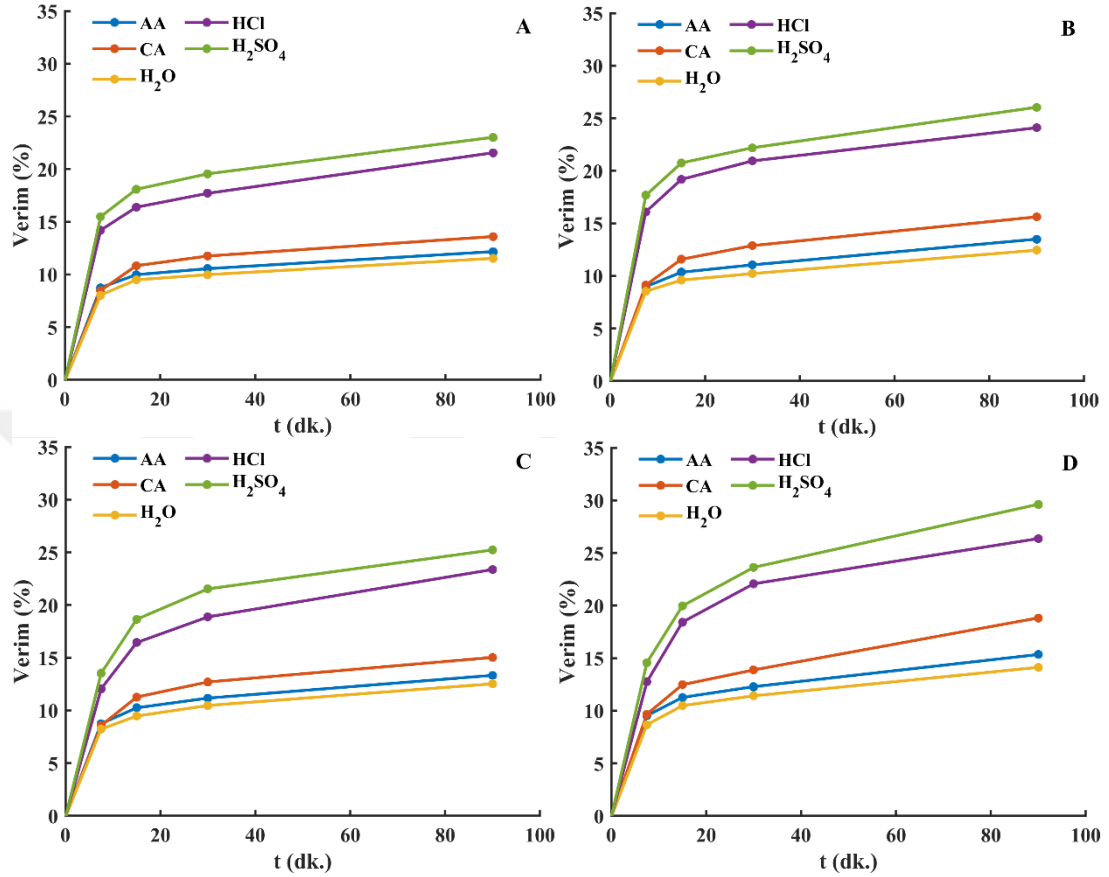
Şekil 4.2 (A-B)'den görüleceği gibi SAE yöntemiyle gerçekleştirilen bütün deney setlerinde inorganik asitlerin (H₂SO₄, HCl) ekstraksiyon ortamı olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilen deneylerde yüksek pektin verimleri elde edilirken organik asit (CA, AA) ve suyun ekstraksiyon ortamı olarak kullanılmasıyla pektin verimleri daha düşük değerlerde kalmıştır. Bu sonuç; ekstraksiyon ortamının pH değerinin daha düşük olmasının pektin ekstraksiyon verimini artırmasından kaynaklanmaktadır (ekstraksiyon ortamı olarak kullanılan 0,1 N derişimdeki asit çözeltilerinin pH değerleri: pH_{HCl}:1,06, pH_{H₂SO₄}:1,35, pH_{CA}:2,35, pH_{AA}:2,94 ve pH_{H₂O}:5,40 olarak ölçülmüştür). SAE yönteminde en yüksek pektin verimi %26,05'le

0,1 N H₂SO₄ çözeltisiyle, 90 °C sıcaklıkta ve ekstraksiyon süresinin 90 dk. olduğu ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir. En düşük pektin verimi ise %8,05'le suyun (H₂O) ekstraksiyon ortamı olarak kullanıldığı, 7,5 dakikalık ekstraksiyon süresinde ve 80 °C sıcaklıktaki ekstraksiyonu koşullarında elde edilmiştir.

Pektin verimleri ayrıntılı şekilde değerlendirildiğinde; SAE yöntemiyle 90 °C sıcaklıkta 90 dakikada ekstrakte edilen pektin veriminin %58,45 (CA, 90 °C)-%68,59 (H₂O, 90 °C) aralığındaki değerlerinin ekstraksiyon işleminin ilk 7,5 dakikasında elde edildiği görülmektedir. Aynı değerler 80 °C sıcaklıktaki ekstraksiyonlarda %62,35 (CA, 80 °C)-%71,90 (AA, 80 °C) aralığında değişmektedir. SAE yöntemiyle gerçekleştirilen tüm ekstraksiyon deneylerindeki pektin verimleri hesaba katıldığında ilginç bir sonuç olarak; ilk 7,5 dakikalık ekstraksiyon süresinde 90 dakikalık ekstraksiyon verimlerinin ortalama %66,55'inin gerçekleştiği görülmektedir. Beklenildiği gibi gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde artan ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı daha yüksek pektin verimleri vermiştir. Ayrıca organik asit çözeltilerinin ve suyun ekstraksiyon ortamı olarak kullanıldığı ekstraksiyonlarda pektin verimleri çalışılan bütün ekstraksiyon sürelerinde ve sıcaklıklarında birbirine yakın olmakla birlikte pektin verimleri CA>AA>H₂O şeklinde gerçekleşmiştir. 80 °C'de 90 dakika ekstraksiyon süresindeki pektin verimleri %11,53 (H₂O)<%12,17 (AA)<%13,60 (CA) şeklinde sıralanırken 90 °C'de 90 dakika ekstraksiyon süresindeki pektin verimleri %12,45 (H₂O) <%13,50 (AA) <%15,62 (CA) şeklinde sıralanmıştır. İnorganik asitlerden H₂SO₄ ve HCl çözeltileri ekstraksiyon ortamı olarak kullanıldığında pektin verimleri genellikle birbirine yakın olmakla beraber bütün ekstraksiyon deneylerinde H₂SO₄ çözeltisiyle ekstrakte pektin verimleri daha yüksektir. Ekstraksiyonlarda 80°C sıcaklıkta H₂SO₄ çözeltisiyle ekstrakte edilen pektin verimleri HCl çözeltisine göre %6,82-%10,45 değerleri arasında daha yüksekken, 90 °C'deki ekstraksiyonlarda bu yükseklik değerleri %5,97-%9,75 arasında değişmektedir.

UDE yöntemi ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde ekstrakte edilen pektin verimleri Şekil 4.2-C ve 4.2-D'de verilmiştir. UDE yöntemiyle farklı ekstraksiyon ortamları, farklı ekstraksiyon süreleri ve farklı sıcaklıklarda (80 °C (Şekil 4.2-C), 90 °C (Şekil 4.2-D)) gerçekleştirilen tüm ekstraksiyonlardaki pektin verim değerleri SAE yöntemi ile gerçekleştirilen verim değerlerinden daha yüksektir. SAE yöntemindeki verim sonuçlarına paralel olarak UDE'da inorganik asitlerin (HCl ve

H₂SO₄) ekstraksiyon ortamı olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilen deneylerde yüksek pektin verimleri elde edilirken; organik asit (CA ve AA) ve suyun (H₂O) ekstraksiyon ortamı olarak kullanılmasıyla pektin verimleri daha düşük değerlerde kalmıştır.



Şekil 4.2: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektin verimleri:
A: SAE-80 °C, B: SAE-90 °C, C: UDE-80 °C, D: UDE 90 °C.

UDE yöntemiyle gerçekleştirilen ekstraksiyonlardaki pektin verimlerindeki değişimler; SAE ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde ekstrakte edilen pektin verimlerindeki değişimlerle hemen hemen paralel şekilde gerçekleşmiştir. SAE yönteminde olduğu gibi ekstraksiyon sıcaklığının yükselmesi, ekstraksiyon süresinin uzaması, ekstraksiyon ortamının pH değerlerinin düşmesi bu yöntemle ekstrakte edilen pektin verimlerinde de artışa sebep olmuştur. Bundan dolayı SAE ile gerçekleştirilen ekstraksiyon deneylerinde ekstrakte edilen pektin verimlerine yapılan yorumlar burada da büyük oranda geçerlidir. UDE ile ekstrakte edilen pektin verimlerinin verildiği şekillerden ekstraksiyon işleminin ilk 7,5 dakikasında; 90 dakikada ekstrakte edilen pektin verimlerinin %48,35 (H₂SO₄, 90 °C)-%65,68 (H₂O, 80 °C) aralığında değişen değerler ile elde edildiği görülmektedir. UDE ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ekstrakte edilen tüm pektin verimleri hesaba

katıldığında 90 dakikalık ekstraksiyon süresindeki verimlerin ortalama %56,59'unun 7,5 dakikalık ekstraksiyon süresinde gerçekleştiği görülmektedir. Bu değer SAE yöntemindeki aynı değerle karşılaştırıldığında yaklaşık %10,00 daha düşüktür. Bu sonuç; SAE yöntemindeki pektin ekstraksiyonunun da UDE yöntemine kıyasla biraz daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir.

Ekstraksiyon şartlarından ekstraksiyon sıcaklığı incelendiğinde, Şekil 4.2'den de görüldüğü gibi sıcaklığın 80°C'den 90 °C'ye yükselmesi ile pektin verimlerinde artışlar görülmektedir. Bu artışın sebebi pektinin ve diğer pektik bileşenlerin bitki hücrelerinden yüksek sıcaklıklarda parçalanarak, hızla ayrılmasından ve çözünmesinden kaynaklanmaktadır. Düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ise protopektin gibi pektinin çözünmeyen formunun hidrolize edilmesinin yetersiz olması düşük pektin verimlerine neden olabilir (Sen ve Uguzdogan 2022, Yu ve diğ. 2021, El-Nawawi ve Shehata 1987). Kakao kabuğundan ekstrakte edilen pektinin verimine ve kimyasal özelliklerine ekstraksiyon şartlarının etkisinin araştırıldığı çalışmada; ekstraksiyon ortamının CA (pH:2,5) olduğu durumda sıcaklığın 50°C'den 95°C'ye çıkarılmasının pektin verimini %3,58'den %5,66'ya yükselttiği, aynı sıcaklık artışının HCl (pH:2,5) ortamındaki pektin verimini ise %3,64'ten %5,13'e yükselttiği belirtilmiştir (Chan ve Choo 2013). Sayed ve diğ. (2020), HCl'i ekstraksiyon ortamı olarak kullanarak mango kabuklarından pektin ekstraksiyonu gerçekleştirdikleri çalışmada 90 °C sıcaklıkta %28,06 oranında verim elde ederken, 60 °C sıcaklıkta %14,40 oranında pektin verimi elde ettiklerini belirtmişlerdir. Korish'in (2015), bakla kabuğunun alternatif pektin kaynağı olarak değerlendirilmesine yönelik çalışmasında 80 °C'de %11,42 olan pektin veriminin 90°C ekstraksiyon sıcaklığında %12,34 değerine yükseldiği bulunmuştur.

Pektin ekstraksiyonunda verim üzerine önemli şekilde etki eden bir diğer parametre ekstraksiyon süresidir. Gerçekleştirilen çalışmada SAE ve UDE yöntemlerinin her ikisinde de artan zamanla ekstraksiyon veriminin arttığı gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon koşullarının çarkıfelek meyvesi kabuğundaki pektinin kalite özelliklerine etkisinin incelendiği ve sıcaklığın 98,7 °C olduğu, ekstraksiyon ortamı olarak HCl'in kullanıldığı pektin verimi üzerine diğer koşulların yanında ekstraksiyon süresinin de etkisi incelenmiştir. Çalışmada 30, 45, 60, 90 dakikalık ekstraksiyon sürelerinde çalışılmış verim değeri 30 dakikada %5,59 iken 60 dakikada

%9,06'ya yükselmiş fakat barbunya kabuğundan ekstrakte edilen pektin çalışmasında çıkan sonucun aksine 90 dakikalık ekstraksiyon süresinde hafif bir düşüşle verim %8,91 olarak gerçekleşmiştir (Kulkarni ve Vijayanand 2010). Sitrik asit (pH:1,5) kullanılarak üzüm posasından pektin ekstrate etmek için UDE yöntemiyle ultrasonik su banyosu kullanılarak 75 °C sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ekstraksiyon süresi 20 dakika olduğunda pektin verimi %16,00 değerindeyken bu süre 60 dakikaya çıkarıldığında verimin %28,00 değerine yükseldiği rapor edilmiştir. Çalışmada 55 °C'den yüksek sıcaklıklarda ekstraksiyon süresiyle pektin verimindeki artışın daha düşük olduğu belirtilmiştir (Minjares-Fuentes ve diğ. 2014).

Bayar ve diğ. (2017), dikenli incir kabuklarından UDE yöntemiyle pektin ekstraksiyonunu incelemişlerdir. Bu araştırma sonucunda en uygun ekstraksiyon koşullarında (70 dk., 70°C, pH 1,5 ve katı sıvı oranı 1/30 (g/mL)) ekstrakte edilen pektin verimini %18,14 olarak belirlemişlerdir. Çarkıfelek meyvesinin kabuğundan SAE yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada; katı sıvı oranı 1/30, 85 °C ve pH 2,0 ekstraksiyon koşullarında 10 dakikalık ekstraksiyon süresinde ekstrakte edilen pektin veriminin %7,48 olduğu, ancak ekstraksiyon süresinin 60 dakikaya uzatılmasıyla pektin veriminin %10,90'a çıktığı rapor edilmiştir (De Oliveira ve diğ. 2015). Bir başka çalışmada havuç posasından pektin ekstraksiyonunun optimizasyonu çalışılmıştır. Sitrik asitin ekstraktant olduğu, katı sıvı oranı 1/23,3 (g/mL), 90 °C, pH: 1,3 ve süreyi 79,8 dakika olarak belirledikleri en uygun ekstraksiyon koşullarında pektin verimini %15,6 olarak tespit etmişlerdir. Daha fazla ekstraksiyon süresi sağlanmasıyla ham maddeden çözeltiliye pektin kütle transferinin artması sebebiyle 90 dakikaya kadar pektin veriminin arttığını, bu sürenin aşılmasıyla ekstrakte edilen pektin verimlerinde görülen azalmanın pektinin glikozit ve ester bağlarını yok eden asit etkisinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (Jafari ve diğ. 2017).

Pektin verimine ekstraksiyon ortamının pH değeri ve ekstraktant olarak kullanılan asit çözeltisi türü de çok fazla etki etmektedir. Spinei ve Oroian (2022) tarafından yapılan çalışmada; üzüm posasının değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen ekstraksiyon koşullarının pektin verimi ve fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sitrik asit kullanılarak 90°C sıcaklıkta 3 saat süresince gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, pektin verimi pH 3, 2 ve 1 için sırasıyla %6,14, %7,56 ve %12,43 olarak gerçekleşmiş ve en yüksek pektin verimi en düşük

pH değerinde elde edilmiştir. Yapı ve diğ. (2007) şeker pancarı posasından pektin ekstraksiyonunu farklı ekstraksiyon koşullarında H₂SO₄ çözeltilerini kullanarak gerçekteşirmişlerdir. 90 °C ekstraksiyon sıcaklığında pH 1,5'te yapılan ekstraksiyonda pektin veriminin %16,2 olduğunu ve pH 2'de ise %11,2 olduğunu rapor etmişlerdir. Pektin verimlerinin bu sonuçları ekstraksiyon ortamını pH değerinin azalması veya asit kuvvetinin artmasının pektin verimini önemli ölçüde artırdığını göstermektedir. Arias ve diğ. (2021), muz kabuklarından pektin ekstraksiyonunu gerçekteşirdikleri çalışmada; 85°C sıcaklıkta, 60 dk. ekstraksiyon süresinde, pH 2-3 değerlerinde inorganik asit (HNO₃ ve HCl) ve organik asit (CA ve AA) çözeltilerini ekstraktant olarak kullanmışlardır. Organik asit çözeltileri ile (AA, pH 2'de pektin verimi %6,00) karşılaştırıldığında inorganik asit çözeltileri (HNO₃, pH 3'te pektin verimi %54) ile daha yüksek pektin verimi elde etmişlerdir. Benzer bir çalışmada misket limon kabuğundan pektin ekstrakte etmek için 0,05 M HCl ve CA asit çözeltileri kullanılarak 95 °C sıcaklıkta 60 dakika ekstraksiyon süresinde SAE yöntemi ile pektin ekstrakte edilmiş ve pektin verimleri sırayla %23,59 ve %16,12 olarak bulunmuştur (Rodsamran ve Sothornvit 2019). Bunun nedeni daha güçlü asit koşullarının bitkisel materyalin hücre duvarının daha fazla bozulmasına izin vermesi sebebiyle hücre duvarından ekstrakte edilen pektinin daha fazla salınması ve pektinin ekstraktant çözeltilsinin asidik ortamda daha iyi çözünebilmesinden kaynaklanabilir. Ekstraktant olarak kullanılan organik asitler karşılaştırıldığında ise organik asidin yapısındaki karboksil gruplarının artması, pektin verimlerinde azalmaya yol açabilir (Ma ve diğ. 2013). Literatürdeki pektin ekstraksiyonu üzerine yapılan bazı çalışmalarda en yüksek pektin verimi değerinin ekstraksiyon ortamının pH değerinin 1,75-2,00 aralığında elde edildiği belirtilmiştir. Buna sebep olarak da düşük pH değerlerinde büyük miktarda hidrojen iyonunun varlığının polisakkarit molekülleri ve hücre duvarı bileşeni arasındaki glikozidik bağlarının kırılmasını sağlayarak polisakkaritin hidrolizinin tetiklendiği ve böylece daha fazla polisakkaritin ekstraksiyon çözeltilsinde çözünmesinin sağlanabildiği gösterilmiştir (Mada ve diğ. 2022, Karbuz ve diğ. 2021, Sharma ve diğ. 2013, Kamarudin ve diğ. 2016).

Tran ve diğerleri (2021) gak meyvesi posasından pektinin ekstraksiyonu için UDE ve SAE ile çalışarak ekstrakte edilen pektinlerin özelliklerini karşılaştırmışlardır. Gerçekteşirilen çalışmada UDE yöntemiyle ekstrakte edilen pektin veriminin (%53,8) SAE ile ekstrakte edilen pektin veriminden (%42,97) önemli ölçüde daha yüksek

olduğu rapor edilmiştir. Tarafımızdan yapılan çalışmaya benzer bir çalışmada; Wang ve diğerleri (2015) tarafından sıcak asit ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleriyle katı-sıvı oranı 1/50 (g/mL), ekstraksiyon ortamı pH'ı 2'ye ayarlanmış ve HCl ekstraktant olarak kullanılarak greyfurt kabuğundan pektin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, 66,7 C ekstraksiyon sıcaklığında ve 56 dakika ekstraksiyon suresinde UDE yöntemi ile %27,3 pektin ekstrakte edilmiştir. Buna karşılık, 90 dk. ve 80 C sıcaklıkta gerçekleştirilen SAE yöntemi ile %23,50 pektin verimi elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak; barbunya fasulyesi kabukları ile farklı ekstraksiyon şartlarında ekstrakte edilen pektin verim değerlerinin değişimleri literatürdeki benzer çalışmaların verim değerlerindeki değişimlerle uyumludur.

4.4 Ekstrakte Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu

4.4.1 Esterleşme Derecesi ve Metoksil İçeriği Değerleri

Emülsiyon oluşumu, yüzey gerilimi, doku stabilizasyonu ve jel karakteristikleri gibi pektinin fiziksel özellikleri üzerinde esterleşme derecesinin önemli etkileri vardır. Ekstrakte edilen pektinin kalitesini, fonksiyonel özelliklerini önemli ölçüde etkileyen ED değeri pektinin endüstriyel uygulama alanlarının belirlenmesinde önemli rol oynayan pektin özelliklerinden biridir.

Barbunya kabuğundan SAE ve UDE yöntemleri ile farklı ekstraksiyon şartlarında ekstrakte edilen pektinlerin ED ve bu değere bağlı olarak hesaplanan metoksil içerikleri (Mİ) Tablo 4.2'de verilmiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin ED değerlerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemle narenciye kabuğundan ekstrakte edilmiş ticari pektinin ED değeri %83,07 olarak belirlenmiştir. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde barbunya kabuğundan ekstrakte edilen pektinlerin hepsinin ED değerleri ticari pektinin ED değerinden düşüktür. Farklı koşullarda gerçekleştirilen 80 ekstraksiyonla ekstrakte edilen pektinlerin tümü yüksek esterli pektin sınıfındadır.

Tablo 4.2: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin ED ve Mİ değerleri.

0,1 N Asit Çözeltilisi	T (°C)	ED (%) / Mİ (%) (SAE)							
		7,5 dk.	15 dk.	30 dk.	90 dk.	7,5 dk.	15 dk.	30 dk.	90 dk.
TP		83,07/13,72							
AA	90	75,10	12,48	73,85	12,29	70,64	11,78	67,72	11,32
CA		74,25	12,35	73,40	12,22	71,18	11,87	62,50	10,49
H ₂ SO ₄		61,84	10,38	60,46	10,16	58,28	9,81	52,78	8,92
HCl		66,18	11,07	66,58	11,14	63,93	10,72	51,25	8,67
H ₂ O		80,46	13,32	78,51	13,02	78,43	13,00	77,13	12,80
AA	80	80,23	13,28	78,51	13,02	75,35	12,52	70,53	11,76
CA		78,31	12,98	75,54	12,55	74,83	12,44	64,71	10,84
H ₂ SO ₄		66,36	11,10	64,08	10,74	61,54	10,33	58,51	9,85
HCl		69,40	11,58	67,48	11,28	66,11	11,06	60,90	10,23
H ₂ O		80,81	13,37	78,47	13,01	82,31	13,61	82,50	13,64
		ED (%) / Mİ (%) (UDE)							
AA	90	80,43	13,31	76,35	12,68	72,00	11,99	68,82	11,49
CA		78,66	13,04	76,57	12,71	74,35	12,36	70,73	11,79
H ₂ SO ₄		68,75	11,48	60,00	10,09	57,14	9,63	50,25	8,51
HCl		70,58	11,77	66,23	11,08	64,28	10,77	56,11	9,46
H ₂ O		75,00	12,47	77,50	12,86	81,71	13,51	82,88	13,70
AA	80	78,61	13,03	74,71	12,42	72,33	12,05	66,47	11,12
CA		74,73	12,42	72,42	12,06	70,83	11,81	68,75	11,48
H ₂ SO ₄		66,66	11,15	64,70	10,84	62,65	10,51	51,94	8,79
HCl		65,52	10,97	64,28	10,77	60,66	10,19	53,82	9,09
H ₂ O		80,50	13,33	80,93	13,39	81,80	13,53	81,89	13,54

SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin ED değeri %51,25 (HCl, 90 °C, 90 dk.)- %82,50 (H₂O, 80 °C, 90 dk.) minimum maksimum değerleri arasındayken, UDE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin ED değerleri %50,25 (H₂SO₄, 90 °C, 90 dk.)-%82,88 (H₂O, 90 °C, 90 dk.) arasında değişmektedir.

Her iki ekstraksiyon yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin tablodaki ED değerleri; ekstraksiyon ortamı olarak kullanılan organik ve inorganik asitler dikkate alınarak karşılaştırıldığında organik asitler ve su kullanılmasıyla ekstrakte edilen pektinlerin ED değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. SAE yöntemiyle AA ve CA (90 °C, 7,5 dk.) ortamında ekstrakte edilen pektinlerin ED değerleri sırasıyla %75,10 ve %74,25 iken aynı ekstraksiyon şartlarında HCl ve H₂SO₄ ortamlarında

ekstrakte edilen pektinler için ED'leri %66,18 ve %61,84 olarak bulunmuştur. UDE yönteminde AA ve CA (90 °C, 90 dk.) ortamında ekstrakte edilen pektinlerin ED değerleri sırasıyla %68,82 ve %70,73 iken aynı ekstraksiyon şartlarında HCl ve H₂SO₄ ortamlarında pektinler için ED'leri %56,11 ve %50,25 olarak bulunmuştur. Artan ekstraksiyon süresi her iki yöntemde de genellikle ED değerlerinde düşüşe yol açmıştır. Bu düşüş genellikle inorganik asitle gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda daha yüksek oranlarda gerçekleşmiştir. SAE ile AA ortamında 90 °C'de ekstrakte edilen pektinlerin 7,5 dk.'daki ED %75,10 değerinden süre 90 dk.'ya çıkarıldığında %67,72 değerine düşmüştür. Aynı ekstraksiyon şartlarında ve zaman aralığında HCl ile çalışıldığında ise ED %66,18 değerinden %51,25 değerine düşmüştür. UDE'da ise CA (80 °C, 7,5 dk.) ile ekstrakte pektinin %74,73 olan ED değeri süre artırıldığında (80 °C, 90 dk.) %68,75 düşmüştür. Aynı şartlarda ortam H₂SO₄ olduğunda ise aynı süre artışında ED değeri %66,66'dan %51,94 değerine düşmüştür.

Duryan meyvesi kabuğundan pektin ekstraksiyonunda farklı ekstraksiyon koşullarının ED'sine etkisinin araştırıldığı çalışma SAE yöntemiyle HCl kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcaklıktaki yükselmenin ve süredeki azalmanın yüksek esterli pektinlerin ekstrakte edilmesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca; yapılan çalışmanın sonuçlarına paralel şekilde, sıcaklık artışı-ekstraksiyon süresinin azalması, yüksek pH-düşük sıcaklık ve yüksek pH-kısa ekstraksiyon süresi kombinasyonlarının ekstrakte edilen pektinlerin ED değerini yükselttiğini rapor etmişlerdir (Wai ve diğ. 2010). Farklı bir çalışmada mikrodalga ve geleneksel ısıtma yöntemleriyle limon kabuğundan pektinin ekstrakte edilmesi için HCl ve CA ekstraktant olarak kullanılmıştır. Çalışmada her iki ekstraksiyon yönteminde de CA'in kullanılmasıyla ekstrakte edilen pektinlerin ED değerlerinin HCl kullanımına göre daha yüksek ED değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Rodsamran ve Sothornvit 2019). Kakao kabuğundan pektinin kimyasal özellikleri üzerine ekstraksiyon koşullarının etkisinin araştırıldığı çalışmada pH 2,5'te CA kullanılarak sıcaklığın 50 °C'den 95 °C'ye yükseltilmesi daha yüksek ED'li pektinlerin ekstrakte edilmesiyle sonuçlanmıştır. Çalışmada ayrıca suyla ekstrakte edilen pektinin HCl (pH :4) ile ekstrakte edilen pektinden daha yüksek ED değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Chan ve Cho 2013). Farklı konsantrasyonlarda CA, HNO₃ ve H₂SO₄ kullanılarak çarkıfelek kabuğundan pektin ekstrakte edilen başka bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada organik asit olan CA ile ekstrakte edilen pektinlerin daha yüksek ED değerlerine sahip olduğu

belirtmiştir (Yapo 2009). Rapor edilen bu sonuç tarafımızdan mineral asitlerle gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ekstrakte edilen pektinlerin ED değerlerinin değişimiyle uyumludur. Arias ve diğ. (2021) gerçekleştirdikleri çalışmada inorganik asitler (HNO_3 ve HCl) ve organik asitleri (CA ve AA) ekstraksiyon ortamı olarak kullanarak $85\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta 60 dk. boyunca SAE yöntemiyle pH 2 ve 3 değerlerinde muz kabuklarından pektin ekstraksiyonu çalışması gerçekleştirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda asit türünün ED'ni önemli ölçüde etkilediğini ve CA'in kullanıldığı ekstraksiyonlardaki pektinlerin %78,7 (pH:2)-%76,7 (pH:3) gibi yüksek esterleşme derecesine sahipken, bunun aksine ekstraktant olarak H_2SO_4 , HCl ve HNO_3 gibi inorganik asitler kullanıldığında daha düşük ED değerli pektinler ekstrakte ettiklerini rapor etmişlerdir. Benzer şekilde; Kamberoğlu ve diğ. (2022) kuşburnu meyvesi ve atıklarından pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişler ve HCl 'in kullanıldığı ekstraksiyonda ekstrakte ettikleri pektinlerin ED değerlerinin, CA kullanılarak ekstrakte edilen pektinlerin ED değerlerinden daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Elma posasından SAE yöntemiyle pektin üretimi çalışmasında pH 2,4, $100\text{ }^\circ\text{C}$ ve 110 dk. ekstraksiyon şartlarında ED_{HCl} : %80,49, $\text{ED}_{\text{H}_2\text{SO}_4}$: %78,57, ED_{HNO_3} : %77,50 ve ED_{AA} : %82,66 olarak belirlenmiştir. Mineral asitlerin ve organik asitlerin aynı ekstraksiyon şartlarında ve pH değerleri aynı olduğunda ED değerleri birbirine yakın değerlerdedir (Lou ve diğ. 2019). Çarkıfelek meyvesi kabuğundan SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonunda pH'ın ve sürenin ED üzerinde etkisi farklı bir çalışmada incelenmiştir. Çalışmada aynı ekstraksiyon şartlarında pH değeri 1'den 2'ye çıktığında ED değerinin %30,88'den %82,98'e çıktığını, 10 dk. ekstraksiyon süresinde %92,76 olan ED değerinin ise süre 60 dakikaya çıktığında %86,75 değerine düştüğünü belirlemişlerdir (De Oliveira ve diğ. 2015). Çalışmada özellikle inorganik asitlerde artan zamanla ED değerlerindeki düşüşlerin; yüksek sıcaklık, uzun süre ve düşük pH gibi zorlu ekstraksiyon koşullarının kullanılmasının poligalakturonik zincirlerinde artan deesterifikasyon nedeniyle ED değerini azaltabileceğinden kaynaklandığı değerlendirilmektedir (De Oliveira ve diğ. 2015, Jafari ve diğ. 2017). İnorganik asitlerin düşük ED değerleri vermesinin bir diğer sebebi daha güçlü asit koşulları sunmasından ve pektin ekstraksiyonu sırasında asit hidroliz işlemini destekleyen hidroliz kapasitesinden kaynaklanabilir (Arias ve diğ. 2021).

Literatürde yer alan bir çalışmada ejder meyvesi kabuklarından pektinin ekstraksiyonu UDE yöntemiyle farklı ekstraksiyon şartlarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonucunda AA ile ekstraksiyonda 30 dakikada %70,9 olan ED değeri, süre 90 dakikaya çıkarıldığında %83,7 değerine yükselmiştir. HCl ile 90 dakikada ED değeri %63,6 iken aynı süre ile AA ile ekstraksiyonda ED değeri %85,1'e yükselmiştir (Lindriati ve diğ.2023). Domates atıklarından UDE ile pektin ekstraksiyonunda; 80 °C sıcaklıkta 15 dk. ekstraksiyon süresinde ED değeri %82,44 iken süre 90 dk.'ya çıkarıldığında ED %76,92 değerine düşmüştür. Ekstraksiyon sıcaklığı 60°C olduğunda ise ekstraksiyon süresinin ED'sine fazla bir etkisi olmamıştır (Grassino ve diğ. 2016).

Pektinlerin sertleşme süresini, pektinin jel oluşturma yeteneğini, jel mukavemetini, pektin çözeltilerinin fonksiyonel özelliklerini, metalik iyonlara duyarlılığını kontrol etmede ve pektinin jel yapısının özelliğinin belirlenmesinde önemli olan bir diğer parametre metoksil içeriğidir. Metillenmiş D-galakturonik asit gruplarının toplam D-galakturonik asit gruplarına oranı ya da 100 mol galakturonik asit içindeki metil alkolün mol sayısı metoksil içeriği olarak tanımlanır (Nguyen ve diğ. 2019). Pektinler ED'sine benzer şekilde Mİ'ne göre de sınıflandırılabilir. Metil esterleşme derecesi %14 metoksil eşdeğerine ulaşabilir, bu da yüksek metoksil pektinler için %50 ila %80 arasındaki ED'leri anlamına gelirken %50'nin altındaki ED'sine karşılık gelen %7'nin altında metoksil içeriğine sahip pektinler ise düşük metoksil pektinler olarak sınıflandırılır (Pereira ve diğ. 2016).

Ekstrakte edilen pektinlerin Mİ'leri esterleşme derecesi değerleri kullanılarak belirlendiğinden; bu değerdeki değişimler çalışmadaki ekstrakte pektinlerin ED değerlerinin değişimleri ile paralel şekilde değişmektedir. Bundan dolayı pektinlerin ED değerleri için yapılan yorumlamalar Mİ değerleri içinde geçerlidir. Çalışmada ticari pektinin metoksil içeriği %13,32 olarak bulunmuştur. Tablo 4.2'de verilen SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin metoksil içeriği değerleri incelendiğinde SAE yöntemi ile ekstrakte edilen pektin numunelerinde en yüksek Mİ %13,64 (H₂O, T:80°C, t:90 dk.), en düşük ise %8,67 (HCl, T:90°C, t:90 dk.) olarak bulunmuştur. UDE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerde ise en yüksek metoksil içeriği %13,70 (H₂O, T:90°C, t:90 dk.) değerindeyken en düşük metoksil içeriği %8,51 (H₂SO₄, T:90°C, t:90 dk.) olarak bulunmuştur. Ekstrakte pektinlerin ED değerlerinde olduğu gibi her iki ekstraksiyon yönteminde artan ekstraksiyon süresi Mİ değerlerinde düşüşlere yol açmıştır. Genellikle aynı ekstraksiyon şartlarında ekstrakte edilen

pektinlerden organik asitlerin ekstraktant olarak kullanıldığı durumlardaki Mİ değerleri inorganik asitlerin kullanıldığı durumlara göre daha yüksektir.

4.4.2 Eşdeğer Ağırlık Değerleri

Eşdeğer ağırlık (EA), pektin zincirindeki esterleşmemiş toplam galakturonik asit miktarını ifade eder (Kumari ve diğ. 2023). Pektinin eşdeğer ağırlığı daha yüksek olduğunda, yüksek jel oluşturma kapasitesine sahip olabilirken, daha düşük eşdeğer ağırlık değerine sahip olduğunda ise kısmi bozunma özelliği gösterebilir (Sayed ve diğ. 2022). Eşdeğer ağırlık değeri, ham madde türü, ekstraksiyon yöntemi, kullanılan çözücü türü, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi gibi parametrelerden etkilenebilir ve bu faktörlere bağlı olarak değişebilir (Şen ve diğ. 2021). Uzun ve heterojen yapıya sahip olan pektin; kimyasal, enzimatik ve fiziksel işlemlere yatkındır. Bu özellikleri nedeni ile ekstrakte edilen pektinin eşdeğer ağırlığı büyük ölçüde değişiklik gösterebilir (Khan ve Nandkishor 2019). SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin EA değerleri Tablo 4.3'te gösterilmektedir. Çalışmada ticari pektin (TP) için eşdeğer ağırlık (EA) değeri 1000 g/mol olarak belirlenmiştir.

Tablodan görüleceği gibi; SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin EA'ları 555 (HCl, 90 °C, 90 dk.)- 5000 g/mol (AA, 90 °C, 30 dk.) minimum maksimum değerleri arasındayken, UDE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin EA değerleri 610 (HCl, 90 °C, 90 dk.)-5416 g/mol (H₂O, 80 °C, 15 dk.) arasında değişmektedir. Sonuçlar incelendiğinde organik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerin EA değerlerinin inorganik asitlere göre yüksek olduğu görülmektedir. Yüksek sıcaklık ve düşük pH'larda ekstrakte edilen pektinlerin düşük EA'lara sahip olmasının nedeni depolimerizasyon reaksiyonlarının ve deesterifikasyonun pektinin kısmi parçalanmasına yol açmasından kaynaklanabilir (Kamberoğlu ve diğ 2022). İnorganik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerin EA'ları ticari pektinin aynı değerine göre düşüktür fakat organik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerin EA'ları ticari pektinin aynı değerinden yüksektir.

Farklı kaynaklardan ekstrakte edilen pektinlerin eşdeğer ağırlığı ile ilgili literatürde yapılan çalışmaları incelendiğinde; Torres-Gallo ve diğ. (2022), mango kabuklarından UDE yöntemi ile 37 ve 80 kHz frekanslarda, katı-sıvı oranı 1/10 (g/mL)

olan, pH'ı 1,5'e ayarlanmış HCl ortamında, 20, 25 ve 30 dakika ekstraksiyon sürelerinde pektin ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin eşdeğer ağırlığı incelendiğinde, 37 kHz frekansta ekstrakte edilen pektinlerin EA değeri 4 ve 0 olgunluk aşamalarına göre 867-1295 g/mol, 80 kHz frekansta ekstrakte edilen pektinlerin EA değeri 4 ve 0 olgunluk aşamalarına göre 500-754 g/mol olarak değişmektedir.

Tablo 4.3: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin EA değerleri.

0,1 N Asit Çözeltisi	T (°C)	EA (g/mol) (SAE)			
		7,5 dk.	15 dk.	30 dk.	90 dk.
TP		1000			
AA	90	3571	3125	5000	2000
CA		1000	1388	1666	833
H₂SO₄		588	980	892	625
HCl		714	666	892	555
H₂O		3333	2500	2500	2500
AA	80	3125	2500	2777	2500
CA		1515	909	1190	769
H₂SO₄		925	714	793	714
HCl		819	666	714	833
H₂O		4166	3333	2500	3750
		EA (g/mol) (UDE)			
AA	90	3750	4375	2500	2500
CA		833	1000	1515	1250
H₂SO₄		847	833	833	714
HCl		833	820	833	610
H₂O		3750	3333	2500	2500
AA	80	5000	5000	2500	3571
CA		1086	892	833	667
H₂SO₄		961	943	925	725
HCl		833	833	1250	625
H₂O		5000	5416	5000	2500

Sonuçlar incelendiğinde ise 37 kHz ekstrakte edilen pektinlerin, 80 kHz'de ekstrakte edilen pektinlerin EA değerinden yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, 0, 2 ve 4 olgunluk aşamasına göre EA önemli ölçüde azalmıştır. Meyvenin olgunlaşma süreci sırasında Gal-A zincirlerinin kırılması sonucunda EA değerindeki azalma, esterleşmiş karboksil grupları serbest karboksil gruplarına dönüşmesi nedeniyle pektindeki EA'da azalmaya yol açmıştır. Başka bir çalışmada, ekme ağacından izole edilmiş pektini değerlendirmek ve karakterize etmek için UDE yöntemi kullanılarak 1/15(g/mL) katı sıvı oranında, pH'ı 2 olan CA çözeltisi kullanılarak, 60 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 30 ve 60 dk. ekstraksiyon sürelerinde pektin ekstraksiyonu

gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen pektin örneklerinin EA'sını incelediğimizde, 30 dk. 2295,09 g/mol ve 60 dk. 2121 g/mol olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak, ekstraksiyon süresi arttıkça EA değerinin azaldığı gözlemlenmiştir (Fadhilah ve diğ. 2021). Kamal ve diğ. (2021), SAE yöntemiyle tatlı limon kabuğundan pektin ekstraksiyonu ve kalitesini belirlenmesi için ekstraksiyon şartları 65, 75, 85 ve 95 °C sıcaklıklarında, pH'ı 1, 1,5, 2, 2,5 olan, 45, 60, 75 ve 90 dk. sürelerinde gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmada; EA değeri sıcaklık, pH ve süre gibi ekstraksiyon koşulları incelenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının 65°C 'den 95 °C'ye yükselmesiyle EA değeri 1875,59 g/mol'den 1744,66 g/mol'e düşmüş, ekstraksiyon ortamının pH'ın bağlı olarak 1765,19 g/mol'den 1899,33g/mol'e yükselmiş ve ekstraksiyon süresi arttıkça 1829,80 g/mol'den 1744,66 g/mol'e düştüğü görülmüştür. Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde, ekstraksiyon süresinin ve sıcaklığının azalmasıyla EA değerlerinin arttığı, ekstraksiyon ortamının pH 'ına artmasıyla EA değerinin arttığını gözlemlenmiştir. Şen ve diğ. (2022) sarımsak atıklarından SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Ekstraksiyon şartları, katı-sıvı oranı 1/30 (g/mL), 90 °C sıcaklığında ve 90 dk. sürede ekstrakte etmiştir. Ekstraksiyon ortamını AA, CA, HCl ve H₂SO₄'ün 0.1 N derişimindeki sulu çözeltileri kullanılmıştır. Gerçekleştirilen çalışma sonucu ekstrakte edilen pektinlerin EA değerleri, EA_{AA}= 5000 g/mol, EA_{CA}=1000 g/mol, EA_{HCl}=541g/mol ve EA_{H₂SO₄}=714g/mol olarak tespit etmişlerdir. EA'lara bakıldığında mineral asitlerin EA değeri düşük çıkmasının ana nedeni düşük pH'ta pektinin depolimerizasyon ve deesterfikasyon reaksiyonları ile kısmi bozunmasından kaynaklanmaktadır. Barbunya kabuklarında ekstrakte edilen pektinlerin EA değeri literatürde yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

4.4.3 Galakturonik Asit İçeriği (Gal-A)

Pektinin diğ. bir fizikokimyasal özelliği olan Gal-A içeriği meyve ve sebzelerin hücre duvarlarında büyük miktarda bulunan pektik polisakkarit rhamnogalakturonanın önemli bir bileşenidir ve üronik asit olarak da bilinmektedir. Gal-A içeriği pektinin kalitesini ve jelleşme özelliklerini belirleyen önemli bir parametredir. Pektinin kimyasal yapısı D-galakturonik asit birimlerinden oluşan bir omurgaya dayanmaktadır ve pektinin D-galakturonik asit içeriği yüksek olduğunda jel oluşturma yeteneği de yüksek olmaktadır (de Oliveira ve diğ. 2015). Gerçekleştirilen

çalışmada SAE ve UDE yöntemleriyle ve farklı ekstraksiyon koşullarında ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A içeriği Tablo 4.4'te verilmektedir.

Gal-A içerikleri incelendiğinde SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin hem organik asit hem de inorganik asit çözeltileri ekstraktant olarak kullanıldığında Gal-A'nın artan sıcaklıkla arttığı görülmektedir. CA'nın ekstraktant olarak kullanıldığı 7,5 dakikalık ekstraksiyonda; sıcaklık 80 °C'de %53,51 olan Gal-A sıcaklık 90°C çıkarıldığında %60,70 değerine yükselmiştir. Aynı şekilde 90 dakikalık ekstraksiyon süresinde H₂SO₄ çözeltisi kullanıldığında sıcaklık 80 °C'den 90°C'ye çıkarıldığında Gal-A değeri %65,88'den %69,48 değerine yükselmiştir. SAE yönteminde çalışılan her iki sıcaklıkta da genellikle yüksek Gal-A değerlerine sahip pektinler inorganik asitlerin (HCl, H₂SO₄) kullanıldığı ortamlarda elde edilmişlerdir. İnorganik asitlerden de HCl çözeltileriyle ekstrakte edilen pektinler 90 dakikada en yüksek Gal-A değerlerini vermiştir (T: 80 °C -Gal-A: %69,35, T: 90 °C -Gal-A %72,21). Kullanılan organik asitler (CA, AA) kendi aralarında karşılaştırıldığında ise genellikle CA çözeltileri kullanılarak ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerleri daha yüksek değerlere sahiptir (T:80 °C -Gal-A:%65,41, T:90 °C -Gal-A %67,01). Çalışmada aynı zamanda dört farklı ekstraksiyon süresi çalışılarak (7,5, 15, 30, 90 dk.) ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerlerine sürenin etkileri araştırılmıştır. Tablodaki verilerden görüleceği gibi SAE yöntemiyle farklı organik-inorganik çözeltileriyle farklı sıcaklıklarda ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerleri artan ekstraksiyon süresiyle yükselmektedir. Gal-A değerlerinin ekstraksiyon süresiyle artış eğilimi genellikle inorganik asit çözeltileriyle yapılan ekstraksiyonlarda daha yüksektir. Örneğin sıcaklık 90 °C olduğunda 7,5 dakikada Gal-A_{CA} değeri %60,70'ten 90 dakikada %67,01 değerine çıkarken aynı ekstraksiyon koşullarında Gal-A_{HCl} değeri %59,13'ten %72,21 değerine çıkmıştır. Çalışmaya benzer bir çalışmada SAE yöntemiyle CA'in kullanıldığı havuç posasından pektinin ekstraksiyonu farklı ekstraksiyon koşullarında gerçekleştirilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında (pH 1,3, 90 °C ve 79,8 dk.) ekstrakte edilen pektinin Gal-A değeri %75,5 olarak rapor edilmiştir (Jafari ve diğ. 2017). Bir başka çalışmada patates kabuklarından SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin verimine ve fizikokimyasal özelliklerine sıcaklık (35, 65 ve 95 °C), zaman (40 dk., 120 dk. ve 200 dk.) ve pH (1, 2 ve 3) değerinin etkileri araştırılmış. Çalışmada; ekstraksiyon koşulları 95 °C, 120 dakika ve pH 1 değerindeyken Gal-A değeri en yüksek %36,37 olarak belirlenmiştir (Kashani ve

diğ. 2022). Li ve diğ. (2019) şeker pancarı posasından farklı ekstraksiyon şartlarında SAE yöntemiyle pektin ekstraksiyonu çalışmasında; ekstraktant olarak H₂SO₄ ve CA'yi kullandıklarında H₂SO₄ ile ekstrakte edilen pektinlerin daha yüksek Gal-A değerlerine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Benzer bir başka çalışmada SAE yöntemiyle üzüm posasından pektin ekstraksiyonunda pektinin özelliklerine; asit türü (CA, H₂SO₄, HNO₃), sıcaklık (70 °C, 80 °C ve 90 °C), pH (1, 2 ve 3), ekstraksiyon süresi (60 dk., 120 dk. ve 180 dk.) gibi ekstraksiyon şartlarının etkisi Spinei ve Oroian (2022) tarafından araştırılmıştır. Asit tipinin etkisi için çalışma 90 °C ve 180 dakika sürede ve pH 2 değerinde gerçekleştirilmiş ve üzüm posasından ekstrakte edilen pektinin Gal-A değerleri H₂SO₄ için %31,45, HNO₃ için %38,95 ve CA için %52,01 olarak bulunmuştur. Onlar Gal-A üzerine pH etkisini inceledikleri çalışmada ekstraktant olarak CA, sıcaklık olarak 90 °C ve 180 dakika ekstraksiyon şartlarında pektinin Gal-A değerlerinin pH 1, 2 ve 3 için sırasıyla %39,40, %61,67 ve %45,57 olduğunu belirlemişlerdir. Gal-A üzerine ekstraksiyon zamanının etkisini incelediklerinde CA ekstraktant olarak, pH 2 ve 90°C sıcaklıkta pektinlerin Gal-A değerleri 60, 120 ve 180 dk. için sırasıyla %33,69, %39,04 ve %46,98 olmuştur. Sıcaklık etkisi çalışmasında aynı ekstraksiyon şartlarında 180 dakikalık ekstraksiyon süresinde üzüm posasından ekstrakte edilen Gal-A değerleri 70°C sıcaklıkta %39,16, 80°C'de %51,14 ve 90 °C sıcaklıkta ise %62,21 olarak rapor etmişlerdir.

Kakao kabuklarından pektin ekstraksiyonu çalışmasında; sıcaklığın 50°C'den 95 °C'ye yükseltilmesi daha yüksek Gal-A içeriğine sahip pektinlerin ekstrakte edilmesine neden olmuştur (Chan ve Choo 2013). Aynı şekilde Garna ve diğ. (2007) elma posasından H₂SO₄ kullanılarak ekstrakte ettikleri pektinin 90°C'deki Gal-A içeriği 80 °C'deki Gal-A içeriğinden daha yüksektir. SAE yönteminde ekstraksiyon şartlarına göre değişen pektinin Gal-A içeriğinin yüksek sıcaklıklar, uzun ekstraksiyon süreleri ve düşük pH'larda artması, ramnogalakturonik bölgelerde bulunan pektin nötr şekerlerinin önemli ölçüde hidrolizinin bir sonucu olabilir (Yapo ve diğ. 2007).

Tablo 4.4: SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A içeriği.

0,1 N Asit Çözeltisi	T (°C)	Gal-A (%) (SAE)			
		7,5 dk.	15 dk.	30 dk.	90 dk.
TP		76,68			
AA	90	55,00	56,13	60,71	65,01
CA		60,70	62,31	65,15	67,01
H ₂ SO ₄		57,80	60,40	66,17	69,48
HCl		59,13	61,22	68,48	72,21
H ₂ O		46,52	54,83	56,88	49,35
AA	80	52,27	55,92	58,08	62,55
CA		53,51	56,04	59,88	65,41
H ₂ SO ₄		54,22	57,62	60,75	65,88
HCl		58,68	60,13	62,82	69,35
H ₂ O		48,57	47,72	46,83	49,88
		%Gal-A (UDE)			
AA	90	55,68	45,35	44,28	42,88
CA		56,68	48,81	48,28	45,11
H ₂ SO ₄		53,08	48,68	45,21	43,61
HCl		62,55	59,75	57,21	47,48
H ₂ O		42,41	38,28	36,61	35,61
AA	80	60,28	58,68	57,75	55,48
CA		72,01	71,08	66,22	57,08
H ₂ SO ₄		57,48	56,61	53,75	51,48
HCl		68,01	67,48	66,95	63,61
H ₂ O		42,22	40,82	40,55	38,63

UDE yönteminde hem organik hem de inorganik asit çözeltileriyle ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerleri; SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerlerinin tersine sıcaklığın 90 °C'den 80 °C'ye düşmesiyle daha yüksek değerlere sahiptir. Örneğin 90 °C sıcaklıkta 7,5 dakikada CA kullanılarak ekstrakte edilen pektinin Gal-A'sı %56,68 değerindeyken sadece sıcaklık 80 °C'ye düşürüldüğünde ekstrakte edilen pektinin Gal-A değeri %72,01 değerine yükselmiştir. İnorganik asitlerden HCl kullanıldığında 7,5 dakikalık ekstraksiyon süresinde 90 °C sıcaklıkta ekstrakte edilen pektinin %62,55 olan Gal-A değeri 80 °C'de %68,01 değerine yükselmiştir. Çalışılan sıcaklık ve zaman aralıklarında CA ile ekstrakte edilen pektinler AA ile ekstrakte edilenlerden daha yüksek Gal-A değerine sahiptir. Organik asitlerle HCl karşılaştırıldığında ise genellikle HCl çözeltilerinin kullanılmasıyla ekstrakte edilen pektinler daha yüksek Gal-A değerine sahiptir. Bu yöntemde hem organik hem de inorganik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerleri artan ekstraksiyon süresiyle düşüşler göstermiştir. Örneğin 90°C sıcaklıkta, süre 7,5 dakikadan 90 dakikaya çıkarıldığında AA ile ekstrakte edilen pektinin Gal-A %55,68 değerinden %42,88 değerine düşmüştür. Aynı şekilde 80°C sıcaklıkta H₂SO₄

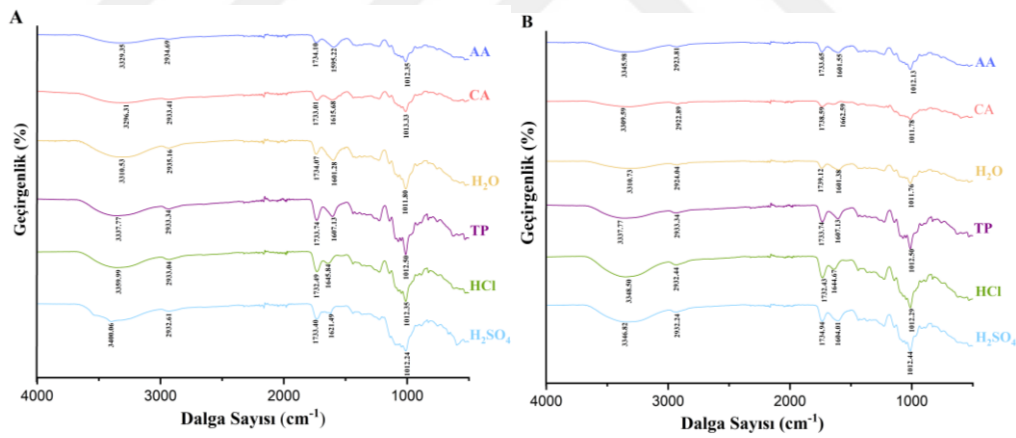
çözeltisiyle 7,5 dakikada %57,48 Gal-A değerine sahip pektin ekstrakte edilirken sadece süre 90 dakikaya çıkarıldığında pektinin Gal-A değeri %51,48 değerine düşmüştür. Organik ve inorganik asit çözeltileriyle de en yüksek Gal-A içerikleri ekstraksiyon süresi 7,5 dakika olduğunda ekstrakte edilen pektinlerde görülmüştür.

Lindriati ve diğ. (2023) kırmızı ejderha meyvesi atıklarından UDE yöntemiyle pektin ekstraksiyonu çalışmasında 0,1N HCl ile ekstrakte pektinin artan süreyle (30-90 dk.) Gal-A'nın arttığını (%48,9-%52,5) ve 0,1 N AA ile ekstrakte edilen pektinlerde ise artan süreyle Gal-A'nın değişmediğini (30 dk.-%36,1, 90 dk.-%36,5) rapor etmişlerdir. Ayrıca protopektin pektine dönüştüğünde hidroliz reaksiyonunun artması ve güçlü asidin zayıf asitten daha iyi hidrolize etmesinin buna neden olabileceğini belirtmişlerdir. De Oliveira ve arkadaşları (2015) UDE yöntemiyle çarkıfelek meyvesi kabuğundan pektinin ekstraksiyonunu farklı ekstraksiyon şartlarında çalışmışlar. 10 dakikalık ekstraksiyon süresinde sıcaklığı 45 °C'den 85 °C'ye çıkardıklarında pektinin Gal-A değerinin %74,18'den %66,65 değerine düştüğünü belirtmişlerdir. Yapılan çalışmaya benzer olan bir diğer çalışma Grassino ve diğerleri. (2016) tarafından gerçekleştirilmiş. Onlar domates atıklarından UDE yöntemiyle amonyum oksalat/oksalik asit karışımını ekstraktant olarak kullanarak pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişler. Çalışmalarında; 60°C sıcaklıkta 15 dakikadan 90 dakikaya çıkan ekstraksiyon süresinde pektinin Gal-A değeri %37,55 değerinden %31,36 değerine düşmüştür. Aynı çalışma 80 °C'de gerçekleştiğinde 15 dakikada ekstrakte edilen pektinin Gal-A'sı %32,99 değerindeyken süre 90 dakikaya çıktığında pektinin Gal-A'sı %26,96'ya düşmüştür. Wang ve diğ. (2016), mango kabuklarından CA ile pektin ekstraksiyonu çalışmasında hem SAE hem de UDE için 80°C sıcaklıkta ekstrakte edilen pektinlerin 20°C sıcaklıkta ekstrakte edilen pektinlere kıyasla daha yüksek Gal-A içeriğine sahip olduğunu ve sıcaklığın pektinlerin Gal-A içeriğine önemli şekilde etki ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, literatürde UDE yönteminde ultra sonikasyondan kaynaklanan kavitasyon etkisinin daha hızlı ekstraksiyona neden olduğu ve biyoaktif bileşiklerin kalitelerinin bozulmadan ekstraksiyonu için ekstraksiyon sürelerinin kısa tutulmaları gerektiği belirtilmiştir. Bu yöntemde artan ekstraksiyon sürelerinin daha düşük Gal-A içeriğine sahip pektinlerin ekstrakte edilmesine yol açabileceği için ekstraksiyon süresi için yaklaşık 15-30 dakikanın yeterli olabileceği rapor edilmiştir (Wang ve diğ. 2016, Grassino ve diğ. 2016, Bhadange ve Saharan 2023).

Çalışmada ticari pektinin galakturonik asit içeriği %76,68 olarak belirlenmiştir. Barbunya fasulyesi kabuklarından SAE ve UDE yöntemleriyle değişik ekstraksiyon koşullarından ekstrakte edilen pektinlerin Gal-A değerleri ticari pektinin bu değerlerinden düşük kalmıştır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) ticari pektinin Gal-A içeriğinin en az %65 (Gal-A \geq %65 w/w) olması gerektiğini tavsiye etmektedir (Khodaiyan ve Parastouei 2020). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütünün belirlediği %65 Gal-A içeriği sınırını ekstrakte edilen pektinlerin bazıları aşarken pektinlerin çoğunun Gal-A değeri bu sınırın altında kalmaktadır.

4.4.4 Fourier Dönüştürülmü Kızılötesi Spektroskopisi Analizi

İki farklı ekstraksiyon yöntemi ve farklı ekstraksiyon ortamlarında 90 dk. ekstraksiyon süresi ve 90°C ekstraksiyon sıcaklığında ekstrakte edilen pektinlerin ve ticari pektinin FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3: Farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin FTIR spektrumları (A) SAE, (B) UDE.

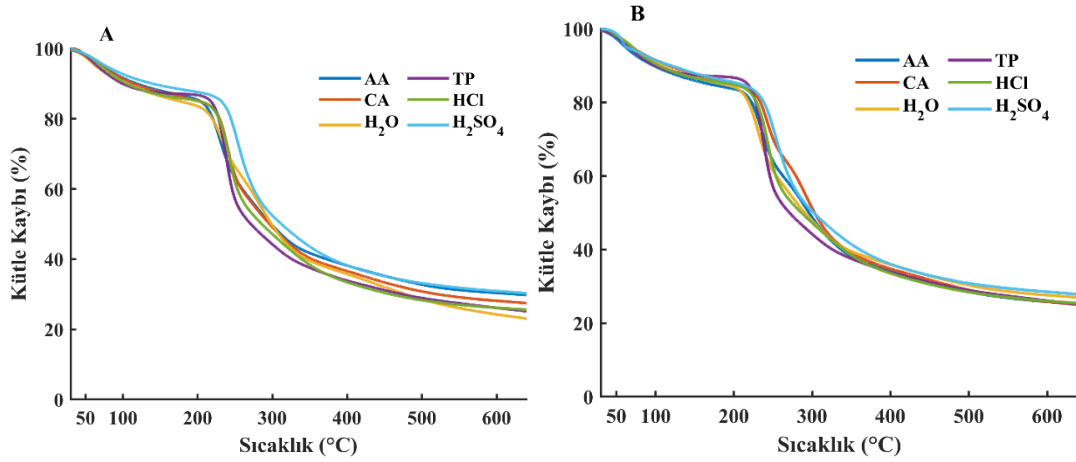
Her iki ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilen pektinlerin FTIR spektrumları, pektin örneklerinin yapısındaki fonksiyonel gruplarını belirlenmesine olanak sağlamıştır. Şekil 4.3'te FTIR spektrumunda 3450-3300 cm^{-1} arasında karakteristik geniş bant pektinin yapısında ve fenollerde hidroksil grubunun -OH gerilmesinden kaynaklanır (Sen ve Uguzdogan 2022). Bu durum pektin örneklerindeki galakturonik asit polimerinin molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağından kaynaklanmaktadır (Gnanasambandam ve Proctor 2000). Yaklaşık 2950-2920 cm^{-1}

arasındaki zayıf absorpsiyon bandı alkil gruplarının (CH, CH₂, CH₃) C-H germe titreşimini işaret etmektedir (Jalili Safaryan ve diğ. 2016). 1600-1800 cm⁻¹ arasındaki alan, çeşitli pektin türlerini kıyaslamak için kullanılabilir yapısal bilgiler sağladığından özel bir öneme sahiptir (Monsoor 2005). 1590-1650 cm⁻¹ ve 1730-1750 cm⁻¹ arasındaki karbonil absorpsiyon bantları serbest (-COO-) ve esterleşmiş (-COOR) karboksil gruplarını işaret etmektedir (Wang ve diğ. 2023). 800-1200 cm⁻¹ arasındaki absorpsiyon bantları tipik pektin biyopolimerlerinin parmak izi bölgesidir ve yorumlaması zordur (Jafari ve diğ. 2017). 1100-1200 cm⁻¹ arasındaki bantları, pektin molekülündeki eter (R-O-R) ve halka C-C bağlarının etkisi ile meydana gelmektedir (Kalapathy ve Proctor 2001). 1000-1150 cm⁻¹ arasındaki absorpsiyon bandı C-OH yan gruplarının ve C-O-C glikozidik bağının germe titreşimine denk gelmektedir (Monsoor 2005). Ayrıca, bu absorpsiyon pikleri pektin numunesinin piranoz içerdiğini ifade etmektedir (Wang ve diğ. 2016). Sonuç olarak ekstrakte edilen pektinlerin ve ticari pektinin FTIR spektrumları şekillerden görülebileceği gibi birbirine oldukça benzerdir ve hemen hemen aynı dalga boylarında benzer pikler vermiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin FTIR spektrumlarının ticari pektinin FTIR spektruma olan bu benzerliği ekstrakte edilen maddenin pektin olduğunu doğrulamaktadır.

4.4.5 Termal Analiz

SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin; sıcaklığın veya zamanın bir fonksiyonu olarak meydana gelen kütle kaybını belirlemek amacıyla TGA, ısı kapasitelerinin sıcaklıkla nasıl değiştiğini anlamak için ise DSC analizleri yapılmıştır. TGA analiz sonuçlarının verildiği Şekil 4.4'te üç ana bozunum bölgesi (30-190 °C, 190-400 °C ve 400-640 °C) görülmektedir.

İlk bölgede (30-190 °C) sıcaklık arttıkça pektin içindeki serbest ve emilen su buharlaşmasından dolayı hafif bir kütle kaybı olduğu görülmüştür (Güzel ve Akpınar 2019). Bu bölgede SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerde su buharlaşmasına bağlı kütle kaybı %16,5 değerindeyken ticari pektinde bu değer yaklaşık %16,0 değerindedir. Panwar ve diğ. (2023) limon kabuklarından pektin ekstraksiyonu çalışmasında ticari pektinin su buharlaşmasının %16,0 olduğunu tespit etmiştir.



Şekil 4.4: Farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin TGA analizi (A) SAE (B) UDE.

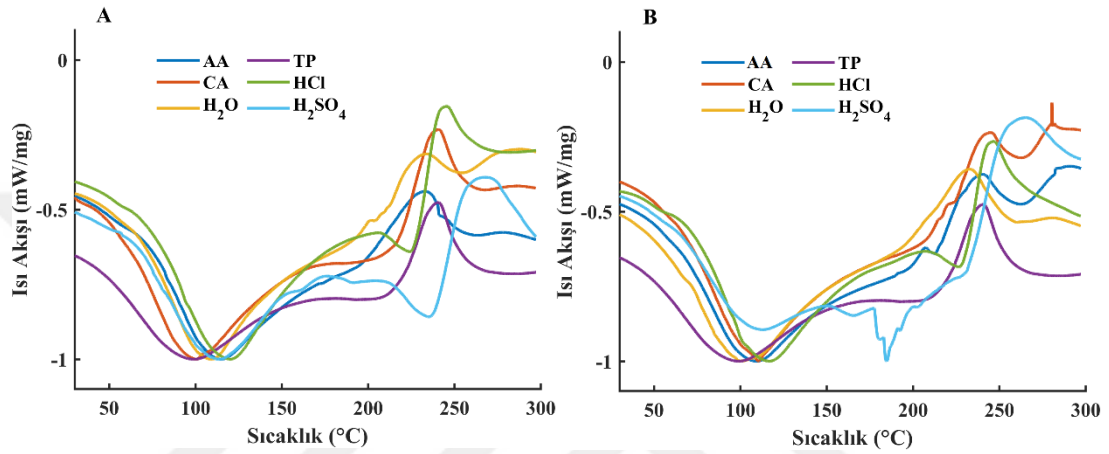
İkinci bölge (190-400 °C) ise polisakkarit zincirlerinin pirolitik ayrışması ile büyük miktarda kütle kaybına işaret eder (Jong ve diğ. 2023). SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerde kütle kaybı %50 olarak gözlemlenmiştir. Ticari pektinde ise bu bölgedeki kütle kaybı %49 olarak tespit edilmiştir. Bu bölgede galakturonik asit zincirlerinin büyük ölçüde termal bozunmaya başladığı, ardından dekarboksillenmiş asit yan grubunun ve halkadaki karbonun oluşum sonucu farklı gaz ürünlerinin yanı sıra katı kömür oluşumuna neden olan bir süreç olarak açıklamıştır (Al-Amoudi ve diğ. 2019).

Üçüncü bölgede ise kömürün termal ayrışması nedeni ile küçük bir kütle kaybının gerçekleşebileceği bildirilmiştir (Wang ve diğ. 2016). Bu bölgede; SAE ve UDE ile ekstrakte edilen pektinlerde en fazla kütle kaybı %10 olarak gerçekleşmiştir. Ticari pektinde bu bölgedeki kütle kaybı yaklaşık %9 olarak tespit edilmiştir.

Ekstrakte edilen pektinlerin TGA analizine göre; en yüksek kütle kaybı SAE ile su kullanılarak ekstrakte edilen pektinde %77, UDE ile CA kullanılarak ekstrakte edilen pektinde ise %76 olarak tespit edilmiştir. Ticari pektinde ise kütle kaybı %74 olarak tespit edilmiştir. Ekstrakte edilen pektinlerin termal kararlılığının ticari pektinle benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

Pektinlerin DSC analizleri 30-300°C sıcaklık aralığında incelenmiş ve bunlar için oluşturulan grafikler Şekil 4.5'te verilmiştir. Buradan da görüldüğü gibi pektinlerin endotermik (erime sıcaklığı) ve ekzotermik (bozunma sıcaklığı) pik noktaları bulunmaktadır. Endotermik pik noktalarına göre SAE yöntemiyle ekstrakte

edilen pektinlerin erime sıcaklıkları yaklaşık 101°C ile 120 °C arasındayken UDE yönteminde ise yaklaşık 99°C ile 118 °C arasında değişen endotermik pik noktaları tespit edilmiştir. 80-150 °C arasındaki endotermik pikler genel olarak hidrofilik gruplarla bağlantılı su buharlaşması ve pektin yapısında değişen galakturonik asit halkası konformasyonundaki değişikliklerle bağlantılıdır (Xiong ve diğ. 2021). Ayrıca endotermik pik galakturonik asit birimleri arasındaki nem ve hidrojen bağlarının varlığının bir sonucu olarak açıklanabilir (Khodaiyan ve Parastouei 2020).



Şekil 4.5: Farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin DSC analizi (A) SAE, (B) UDE.

Ekzotermik pikler pektinlerde kimyasal yapıların sıcaklık artışı sırasında termal bozunma sürecini tanımlar (Panwar ve diğ. 2023). SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinlerde bozunma sıcaklıkları yaklaşık 233°C ile 268°C arasında değişen ekzotermik piklerle tespit edilmiştir. UDE yöntemi ile ekstrakte edilen pektinlerde ise yaklaşık 233°C ile 265°C arasında değişen ekzotermik pikler gözlemlenmiştir. Ticari pektin için endotermik pik 100 °C sıcaklığında ekzotermik pik ise 240 °C sıcaklığında tespit edilmiştir. SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerin termal kararlılığı ticari pektinle kıyaslandığında oldukça benzerdir. Ezzatti ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada ayçiçeği atıklarında pektin ekstrakte etmişler ve çalışmalarında ticari pektin için ekzotermik pikin 246 °C sıcaklığında olduğunu tespit etmiştir. Barbunya kabuğunun DSC analizi sonucuna bakıldığında ise endotermik pik 102 °C sıcaklığında ekzotermik piki ise 270°C sıcaklığında tespit edilmiştir (EKLER C.1).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu yüksek lisans tez çalışmasında SAE ve UDE yöntemleriyle barbunya fasulyesi kabuğundan pektin ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon koşullarından katı sıvı oranı 1/30 (g/mL) olarak sabit tutularak iki farklı ekstraksiyon sıcaklığında (80°C, 90°C), dört farklı ekstraksiyon süresinde (7,5 dk., 15 dk., 30 dk. ve 90 dk.) ve değişik ekstraktantlarla (H₂O, AA, CA, HCl, H₂SO₄) pektin ekstraksiyonları ve onların karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Pektinlerin ED, Mİ, EA gibi özellikleri titrimetrik yöntemle, Gal-A içeriği UV spektrofotometresiyle, fonksiyonel özellikleri FTIR spektroskopisi ile termal davranışları ise TGA ve DSC teknikleriyle belirlenmiştir.

Ekstraksiyon öncesi öğütülen barbunya kabuklarının kütle ortalamalı partikül boyutu 269,96 µm olarak belirlenmiştir. SAE ve UDE yöntemleri ile H₂O, AA, CA, HCl ve H₂SO₄ ekstraktantları kullanarak 90 dk. ve 90 °C sıcaklıkta ekstrakte edilen pektinlerin yüzde nem ve kül içeriklerinin Uluslararası Pektin Üreticiler Birliğinin (IPPA) belirlediği maksimum yüzde nem (%12) ve kül (%10) içeriğinden daha düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir.

SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektin verimleri karşılaştırıldığında, UDE yöntemi ile pektin verimlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Her iki yöntemde de inorganik asitlerle ekstrakte edilen pektin verimlerinin organik asitlerle ekstrakte edilen pektin verimlerinden yüksek olduğu gözlemlenmiştir. SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen en yüksek pektin verimleri H₂SO₄ çözeltisi ekstraktant olarak kullanıldığında sırayla %26,05 ve %29,63 olarak gerçekleşmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının 80°C'den 90°C'ye çıkarılması ile pektin verimlerinde beklenildiği gibi artışlar olmuştur. Her iki yöntem için yapılan ekstraksiyonlarda daha uzun ekstraksiyon süresinin daha yüksek pektin veriminin gerçekleşmesine neden olduğu tespit edilmiştir.

SAE ve UDE yöntemleriyle ekstrakte edilen pektinlerin ED değerleri (%51,25-%82,50 ve %50,25-%81,89) ticari pektinin ED değerinden (%83,07) düşük değerlere sahiptir. Ekstraksiyon deneyleri ile ekstrakte edilen pektinlerin hepsinin yüksek esterli pektin olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada organik asit ve su ile ekstrakte edilen pektinlerin ED değerlerinin inorganik asitlerle ekstrakte edilenlere kıyasla yüksek

olduğu görülmüş ve inorganik asitlerin ED değerlerinin düşük değerlerde olmasının düşük pH değerlerinden kaynaklandığı değerlendirilmektedir. Ekstrakte edilen pektinlerin metoksil içerikleri pektinlerin ED değerleri kullanılarak hesaplandığından dolayı bu değerler esterleşme derecesi değerlerinin değişimleri ile paralel şekilde değişmektedir. Ticari pektin için metoksil içeriği %13,72 değerindeyken SAE yöntemiyle ekstrakte edilen pektinler için metoksil içeriği değerleri %8,67-13,64 ve UDE için ise %8,51-13,54 değerleri arasında değişmektedir. Çalışmada SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerin EA değerleri incelendiğinde SAE için 555-5000 g/mol, UDE için ise 610-5416 g/mol arasında değişmektedir. Ticari pektinin EA değeri 1000 g/mol olarak belirlenmiş ve bu değer inorganik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerden yüksek, organik asitlerle ekstrakte edilen pektinlerden düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Pektinlerin kalitesi için önemli bir parametre olan Gal-A değerlerine bakıldığında SAE yöntemi ile ekstrakte edilen pektinlerde bu değer %46,52 ile %72,21 arasında değişmektedir. Bu yöntem ile pektinlerin Gal-A değerlerinin sıcaklığın ve ekstraksiyon süresinin artırılmasıyla yükseldiği gözlemlenmiştir. UDE ile ekstrakte edilen pektinler için ise sıcaklığın ve ekstraksiyon süresinin artırılması ile Gal-A değerlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Ticari pektin için Gal-A içeriği değeri %76,68 olarak belirlenmiştir. Gıda ve Tarım Örgütüne göre ticari pektinin Gal-A içeriğinin en az %65'e sahip olması gerekmektedir. Barbunya fasulyesi kabuklarından ekstrakte edilen pektinlerin bazıları bu sınırın üstünde bir değere sahiptir.

SAE ve UDE yöntemleri kullanılarak, farklı ekstraktantlar (H_2O , CA, AA, H_2SO_4 , HCl) ile 90 °C sıcaklıkta ve 90 dk. süreyle ekstrakte edilen pektinlerin ve ticari pektinin FTIR spektrum analiz sonuçları karşılaştırılarak, FTIR spektrumlarının benzer karakteristik özellikler sergilediği gözlemlenmiştir.

Barbunya fasulyesi kabuklarından 90 °C sıcaklıkta ve 90 dk. süreyle farklı ekstraksiyon ortamlarında ekstrakte edilen pektinlerin ve ticari pektinin termal stabilitesi incelenmiştir. İlk olarak 30-640 °C sıcaklık aralığında TGA analizi gerçekleştirilmiş ve ticari pektin, SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerin kütle kaybı sırayla %74, %77 ve %76 olarak tespit edilmiştir. DSC analizinde ise 30-300 °C sıcaklık aralığında ticari pektinin, SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerin erime ve bozunma sıcaklıkları belirlenmiştir. Ticari

pektinin, SAE ve UDE yöntemleri ile ekstrakte edilen pektinlerin erime sıcaklığı sırayla 100 °C, 101-120 °C, 99-118 °C arasında, bozunma sıcaklığının ise sırayla 240 °C, 233-268 °C, 233-265 °C sıcaklıklarında olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak ekstrakte edilen pektinlerin termal stabilitesi ticari pektin ile kıyaslandığında benzer olduğu tespit edilmiştir.

Pektin, hayatımızın birçok alanında önem arz etmektedir. Gıda, sağlık, kozmetik, tekstil, ilaç endüstrilerinde çok yönlü bir şekilde kullanılarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle jel oluşturma kabiliyeti, gıda üretiminde stabilite sağlamak, süt ve süt ürünlerini stabilize etmek, sağlık ve ilaç sektöründe kontrollü ilaç salınımını desteklemek, yara iyileşmesini hızlandırmak ve sindirim sistemi hastalıklarının tedavisinde kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca, tekstil endüstrisinde kumaşların baskı süreçlerinde ve koruyucu kaplamalarda yaygın olarak kullanılırken, atık suyun içinde bulunan ağır metallerin etkili bir şekilde emilip uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır. Pektin aracılığıyla sunulan bu çevre dostu çözümler, endüstriyel faaliyetlerin sürdürülebilirliğini artırırken aynı zamanda yaşam kalitesini de yükseltmektedir. Ticari amaçla kullanılan pektinlerin büyük bölümü meyve suyu üretim tesislerinde açığa çıkan turunçgil posası, elma posası ve az olarak da şeker pancarı posasından üretilmektedir. Barbunya fasulyesi kabuğundan ekstrakte edilen pektin; koyulaştırıcı, kıvamlaştırıcı, emülgatör olarak ticari pektin gibi birden çok farklı alanlarda değerlendirilebilir. Ayrıca barbunya fasulyesi kabuklarından pektin ekstraksiyonu ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu araştırma, pektin ekstraksiyonu hakkında önemli veri kaynakları sunma potansiyeline sahiptir.

6. KAYNAKLAR

Abid, M., Renard, C. M., Watrelot, A. A., Fendri, I., Attia, H., Ayadi, M. A., “Yield and composition of pectin extracted from Tunisian pomegranate pell”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 93, 186-194, (2016).

Akçay, T. T., “Limon ve portakal kabuklarından mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile pektin üretiminin optimizasyonu ve üretilen pektinin karakterizasyonu”, Doktora tezi, *Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Bolu, 5-18, (2021).

Al-Amoudi, R. H., Taylan, O., Kutlu, G., Can, A. M., Sagdic, O., Dertli, E., Yilmaz, M. T., “Characterization of chemical, molecular, thermal and rheological properties of medlar pectin extracted at optimum conditions as determined by Box-Behnken and ANFIS models”, *Food Chemistry*, 271, 650-662, (2019).

AOAC, Official Methods of Analysis, 16th Ed., Washington: Association of Official Analytical Chemists, (2000).

Arias, D., Rodríguez, J., López, B., Méndez, P., “Evaluation of the physicochemical properties of pectin extracted from *Musa paradisiaca* banana peels at different pH conditions in the formation of nanoparticles”, *Heliyon*, 7, 1-6, (2021).

Aslankara, T., "Barbunyanın (*Phaselous Vulgaris* L.) Lif ve Antioksidan Kaynağı Olarak Tarhana Çorbası Hazırlanmasında Kullanımı", Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Denizli, 8-9, (2013).

Atalay, D., Türken, T., Erge, H. S., "Pektin; Kaynakları ve Ekstraksiyon Yöntemleri", *Gıda*, 43(6), 1002-1018, (2018).

Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A., Mohtashamy, M., “Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit”, *Chemical Engineering and Processing Process Intensification*, 50(11-12), 1237-1243, (2011).

Balkaya, A. and Odabaş, M. S., "Samsun koşullarında ekim zamanının barbunya fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) yetiştiriciliğinde erkencilik, verim ve bazı kalite özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi", *Bahçe*, 33(1-2), 7-15, (2004).

Bayar, N., Bouallegue, T., Achour, M., Kriaa, M., Bougatef, A., Kammoun, R., "Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties", *Food Chemistry*, 235, 275-282, (2017).

Bhadange, Y. A. and Saharan, V. K., "Optimization and kinetic studies of d-galacturonic acid extraction from basil seed using different extraction techniques", *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 33, 101080, (2023).

Blumenkrantz, N., and Asboe-Hansen, G., "New method for quantitative determination of uronic acids", *Analytical Biochemistry*, 54(2), 484-489, (1973).

Boчек, A. M., Zabivalova, N. M., Petropavlovskii, G. A., "Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid", *Russian Journal of Applied Chemistry*, 74(5), 796-799, (2001).

Boyacı, S., "Barbunya (*Phaseolus Vulgaris* L.) ve bezelye (*Pisum Sativum* L.) iç ve kabuklarından nişastaca zengin toz ürün elde edilmesi ve elde edilen ürünün kek üretiminde kullanılabilirliğinin incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, İzmir, 3-4, (2021).

Baldino, N., Mileti, O., Lupi, F. R., Gabriele, D., "Rheological surface properties of commercial citrus pectins at different pH and concentration", *LWT*, 93, 124-130, (2018).

Barış, S., "Extraction of pectin from pistachio hull and its use in emulsion system", Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Gaziantep, 4-22, (2020).

Basak, S. and Annapure, U. S., "The potential of subcritical water as a "green" method for the extraction and modification of pectin: A critical review", *Food Research International*, 161, 111849, (2022).

Beukema, M., Faas, M. M., de Vos, P., “The effects of different dietary fiber pectin structures on the gastrointestinal immune barrier: impact via gut microbiota and direct effects on immune cells”, *Experimental & Molecular Medicine*, 52(9), 1364-1376, (2020).

Cao, J. J., Gregoire, B. R., Sheng, X., Liuzzi, J. P., “Pinto bean hull extract supplementation favorably affects markers of bone metabolism and bone structure in mice”, *Food Research International*, 43(2), 560-566, (2010).

Casas, M. P. and Gonzales, H. D., “Enzyme-Assisted Aqueous Extraction Processes”, (eds: H. D. González and M. J. G. Muñoz), *Water Extraction of Bioactive Compounds*, 1, Spain: Elsevier, 333-367, (2017).

Chan, S. Y. and Choo, W. S., “Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks”, *Food Chemistry*, 141(4), 3752-3758, (2013).

Chandel, V., Biswas, D., Roy, S., Vaidya, D., Verma, A., Gupta, A., “Current advancements in pectin: Extraction, properties and multifunctional applications”, *Foods*, 11(17), 2683, (2022).

Chen, J., Mei, M. S., Xu, Y., Shi, S., Wang, S., Wang, H., “Versatile functionalization of pectic conjugate: From design to biomedical applications”, *Carbohydrate Polymers*, 306, 120605, (2023).

Chermat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M., “Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications A review”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560, (2017).

Christiaens, S., Van Buggenhout, S., Houben, K., Jamsazzadeh Kermani, Z., Moelants, K. R., Ngouémazong, E. D., Loey, A. V., Hendrickx, M. E., “Process–structure–function relations of pectin in food”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(6), 1021-1042, (2016).

Ciriminna, R., Fidalgo, A., Scurria, A., Ilharco, L. M., Pagliaro, M., "Pectin: New science and forthcoming applications of the most valued hydrocolloid", *Food Hydrocolloids*, 127, 107483, (2022).

Cortés-Camargo, S., Román-Guerrero, A., Alpizar-Reyes, E., Pérez-Alonso, C., "New Sources of Pectin: Extraction", (ed: M, Ahmed), *Utilization of Pectin in the Food and Drug Industries*, London: IntechOpen, 2-14, (2023).

Çopur, Ö. U. and Dönmez, G., "Pektinin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma" *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9, 173-181, (1992).

Dedebaş, T., Capar, T. D., Ekici, L., Yalçın, H., "Yağlı tohumlarda ultrasonik-destekli ekstraksiyon yöntemi ve avantajları", *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 21, 313-322, (2021).

De Falco, F., Gentile, G., Avolio, R., Errico, M. E., Di Pace, E., Ambrogi, V., Avella, M., Cocca, M., "Pectin based finishing to mitigate the impact of microplastics released by polyamide fabrics", *Carbohydrate Polymers*, 198, 175-180, (2018).

De Oliveira, C. F., Giordani, D., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., Marczak, L. D. F., "Extraction of pectin from passion fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 201-208, (2015).

Derici, C., "Barbunya kabuklarından aktif karbon üretimi ve boyar madde gideriminde kullanılması", Yüksek Lisans Tezi, *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Proses ve Reaktör Tasarımı Bilim Dalı*, Eskişehir, 46-47, (2021).

Dranca, F., and Oroian, M., "Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications", *Food Research International*, 113, 327-350, (2018).

Ebrahim, S. A., Othman, H. A., Mosaad, M. M., Hassabo, A. G., "Eco-friendly natural thickener (pectin) extracted from fruit peels for valuable utilization in textile printing as a thickening agent", *Textiles*, 3(1), 26-49, (2023).

El-Nawawi, S. A. and Shehata, F. R., "Extraction of pectin from Egyptian orange peel. Factors affecting the extraction", *Biological Wastes*, 20(4), 281-290, (1987).

Ezzati, S., Ayaseh, A., Ghanbarzadeh, B., Heshmati, M. K., "Pectin from sunflower by-product: Optimization of ultrasound-assisted extraction, characterization, and

functional analysis”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 776-786, (2020).

Fadhilah, F., Komala, I., Anggraeni, Y., “(Extraction of pectin from breadnut (*Artocarpus altilis* Fosberg.) using ultrasound-assisted extraction (UAE)”, (eds: Y. Saibi, Y. Agus and N. Nasir), *Proceedings of the 1st International Conference on Health Science 2020*, Jakarta, European Alliance for Innovation (EAI), (2021).

Fazio, A., La Torre, C., Dalena, F., Plastina, P., “Screening of glucan and pectin contents in broad bean (*Vicia faba* L.) pods during maturation”, *European Food Research and Technology*, 246, 333-347, (2020).

Fırat, E. and Ertekin, K. F., “Farklı yöntemler ile ayvadan (*Cydonia Vulgaris* Pers.) ekstrakte edilen pektinin karakteristik özellikleri”, *Akademi Gıda*, 18(2), 164-171, (2020).

Fellows, P. J., “Food Processing Technology: Principles and practice”, Fourth Edition, 220-221, Elsevier, ISBN 978-0-08-101907-8, (2017).

Garna, H., Mabon, N., Robert, C., Cornet, C., Nott, K., Legros, H., Wathelet, B., Paquot, M., “Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol”, *Journal of Food Science*, 72(1), 1-9, (2007).

Ghai, K., Gupta, A. K., Gupta, P. K., “Pectin: A versatile biopolymer with numerous health benefits and medical uses”, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 2(4), 250-255, (2012).

Gnanasambandam, R. and Proctor, A. J. F. C., "Determinat.ion of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier Transform İnfrared Spectroscopy", *Food Chemistry*, 68(3), 327-332, (2000).

González-González, L., Luna-Rodríguez, L., Carrillo-López, L. M., Alarcón-Rojo, A. D., García-Galicia, I., Reyes-Villagrana, R., “Ultrasound as an alternative to conventional marination: acceptability and mass transfer”, *Journal of Food Quality*, 2017, 8675720, (2017).

Güneş, H., Boyno, G., Durak, E. D., Demir, S., “Çeşitli organik atıkların barbunya fasulyesi (*Phaseolus Vulgaris* L. Var. Pinto) bitkisinin gelişimine ve arbusküler mikorhizal funguslar’a etkisi,” *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 8 (2), 235-247, (2021).

Gürlenkaya, D. K., "Gıda atıklarının atıksulardan renk giderme potansiyellerinin karşılaştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı*, Denizli, 1-2, (2022).

Güzel, M. and Akpınar, Ö., “Valorisation of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels”, *Food and Bioproducts Processing*, 115, 126-133, (2019).

Grassino, A. N., Barba, F. J., Brnčić, M., Lorenzo, J. M., Lucini, L., Brnčić, S. R., “Analytical tools used for the identification and quantification of pectin extracted from plant food matrices, wastes and by-products: A review”, *Food Chemistry*, 266, 47-55, (2018).

Grassino, A. N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M., Brnčić, S. R., “Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste”, *Food Chemistry*, 198, 93-100, (2016).

Hartati, I. and Subekti, E., “Microwave assisted extraction of watermelon rind pectin”, *International Journal of ChemTech Research*, 8(11), 163-170, (2015).

Hussain, F., Soudagar, M. E. M., Afzal, A., Mujtaba, M. A., Fattah, I. R., Naik, B., Mulla, M. H., Badruddin, I. A., Khan, T. M. Y., Raju, V. D., Gavhane, R. S., Rahman, S. A., “Enhancement in combustion, performance, and emission characteristics of a diesel engine fueled with Ce-ZnO nanoparticle additive added to soybean biodiesel blends”, *Energies*, 13(17), 4578, (2020).

Işık, S., “Bal kabağı kabuklarından ultrason destekli yöntem ile pektin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Tokat, 4-43, (2022).

Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., Hosseini, S. S., “Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties”, *Carbohydrate Polymers*, 157, 1315-1322, (2017).

Jalili Safaryan, M., Ganjloo, A., Bimakr, M., Zarringhalami, S., “Optimization of ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from green pea pods”, *Foods*, 5(4), 78, (2016).

Jong, S. H., Abdullah, N., Muhammad, N., “Optimization of low-methoxyl pectin extraction from durian rinds and its physicochemical characterization”, *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100263, (2023).

Kamal, M. M., Akhtaruzzaman, M, Sharmin, T., Rahman, M., Mondal, S. C., “Optimization of extraction parameters for pectin from guava pomace using response surface methodology”, *Journal of Agriculture and Food Research*, 11, 100530, (2023).

Kamal, M. M., Kumar, J., Mamun, M. A. H., Ahmed, M. N. U., Shishir, M. R. I., Mondal, S. C., “Extraction and characterization of pectin from Citrus sinensis peel”, *Journal of Biosystems Engineering*, 46, 16-25, (2021).

Kamarudin, F. and Gan, C. Y., “Molecular structure, chemical properties and biological activities of Pinto bean pod polysaccharide”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 280-287, (2016).

Kamberoğlu, N., Ölçeşer, C. B., Düzyol, F., Cücen, Z., Hajıyev, V., Uğuzdoğan, E., "Kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvesi ve atıklarından pektin ekstraksiyonu", *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, doi: 10.5505/pajes.2023.03271, (2022).

Kanmaz, E. Ö. and Gülден, O. V. A., “Kritik altı su ekstraksiyonu işleminin gıda endüstrisinde kullanımına yönelik uygulamalar”, *Food*, 39(1), 41-48, (2014).

Karbuz, P. and Tugrul, N., “Microwave and ultrasound assisted extraction of pectin from various fruits peel”, *Journal of Food Science and Technology*, 58(2), 641-650, (2021).

Kashani, A., Hasani, M., Nateghi, L., Asadollahzadeh, M. J., Kashani, P., “Optimization of the conditions of process of production of pectin extracted from the waste of potato peel”, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 41(4), 1288-1304, (2022).

Kalapathy, U. and Proctor, A., "Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin", *Food Chemistry*, 73 (4), 393-396, (2001).

Ke, J., Jiang, G., Shen, G., Wu, H., Liu, Y., Zhang, Z., "Optimization, characterization and rheological behavior study of pectin extracted from chayote (*Sechium edule*) using ultrasound assisted method", *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 688 -698, (2020).

Keleş, H., "Nar kabuklarından enzimatik ve organik asit yöntemleri ile pektin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, *Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Tokat, 3-30, (2019).

Kızılalp, G., and Dirim, S. N., "Production and characterization of plant protein concentrates from shells of kidney bean, pea and cowpea and their effects on freezing and freeze drying of kiwi puree", *Akademik Gıda*, 17(2), 157-166, (2019).

Khan, M. and Nandkishor., "Optimization of extraction condition and characterization of low methoxy pectin from wild plum", *Journal of Packaging Technology and Research*, 3 (3), 215-221, (2019).

Khatkar, B. S., Barak, S., Mudgil, D., "Effects of gliadin addition on the rheological, microscopic and thermal characteristics of wheat gluten", *International Journal of Biological Macromolecules*, 53, 38-41, (2013).

Khodaiyan, F., and Parastouei, K., "Co-optimization of pectin and polyphenols extraction from black mulberry pomace using an eco-friendly technique: Simultaneous recovery and characterization of products", *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1025-1036, (2020).

Koh, P. C., Leong, C. M., Noranizan, M. A., "Microwave-assisted extraction of pectin from jackfruit rinds using different power levels", *International Food Research Journal*, 21(5), 2091-2095, (2014).

Korish, M., "Faba bean hulls as a potential source of pectin", *Journal of Food Science and Technology*, 52, 6061-6066, (2015).

Kulkarni, S. G. and Vijayanand, P., “Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* L.)”, *LWT-Food Science and Technology*, 43(7), 1026-1031, (2010).

Kumari, M., Singh, S., Chauhan, A. K., “A comparative study of the extraction of pectin from kinnow (*Citrus reticulata*) peel using different techniques”, *Food and Bioprocess Technology*, 16, 2272-2286, (2023).

Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V. S., “Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325, (2021).

Lara-Espinoza, C., Carvajal-Millán, E., Balandrán-Quintana, R., López-Franco, Y., Rascón-Chu, A., “Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture”, *Molecules*, 23(4), 942, (2018).

Leclere, L., Cutsem, P. V., Michiels, C., “Anti-cancer activities of pH-or heat-modified pectin”, *Frontiers in Pharmacology*, 4, 128, (2013).

Lepilova, O., Aleeva, S., Koksharov, S., Lepilova, E., “Supramolecular structure of banana peel pectin and its transformations during extraction by acidic methods”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 242(2), 124616, (2023).

Li, J., Zhang, L., Li, J. F., Li, D.Q., “Comparative studies of combined influence of variables on the esterification degree of pectin extracted by sulfuric acid and citric acid”, *Advances in Polymer Technology*, 2019, 6313241, (2019).

Li, K., Zhu, L., Li, H., Zhu, Y., Pan, C., Gao, X., Liu, W., “Structural characterization and rheological properties of a pectin with anti-constipation activity from the roots of *Arctium lappa* L.”, *Carbohydrate Polymers*, 215, 119-129, (2019).

Lindriati, T., Belgis, M., Fauzi, M., Juwita, Q. E., Sakinah, S., “Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels”, *Journal of Applied Agricultural Science and Technology*, 7(2), 91-99, (2023).

Ling, B., Ramaswamy, H. S., Lyng, J. G., Gao, J., Wang, S., “Roles of physical fields in the extraction of pectin from plant food wastes and byproducts: A systematic review”, *Food Research International*, 164, 112343, (2022).

Liu, S. X., Chen, D., Plumier, B., Berhow, M., Xu, J., Byars, J. A., “Impact of particle size fractions on composition, antioxidant activities, and functional properties of soybean hulls”, *Journal of Food Measurement and Characterization*,15, 1547-1562, (2021).

Luo, J., Xu, Y., Fan, Y., “Upgrading pectin production from apple pomace by acetic acid extraction”, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 187(4), 1300-1311, (2019).

Ma, S., Yu, S. J., Zheng, X. L., Wang, X. X., Bao, Q. D., Guo, X. M., “Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp”, *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 750-753, (2013).

Machado-Velarde, L. X., Dávila-Vega, J. P., Gutiérrez-Urbe, J., Espinosa-Ramírez, J., Martínez-Ávila, M., Guajardo-Flores, D., Chuck-Hernández, C., “Black bean hulls as a byproduct of an extraction process to enhance nutraceutical and glycemic-related properties of nixtamalized maize tostadas”, *Foods*, 12(9), 1915, (2023).

Mada, T., Duraisamy, R., Guesh, F., “Optimization and characterization of pectin extracted from banana and papaya mixed peels using response surface methodology”, *Food Science & Nutrition*, 10(4), 1222-1238, (2022).

Mamiru, D. and Gonfa, G., “Extraction and characterization of pectin from watermelon rind using acetic acid”, *Heliyon*, 9(2), e13525, (2023).

Mao, Y., Robinson, J. P., Binner, E. R., “Current status of microwave-assisted extraction of pectin”, *Chemical Engineering Journal*, 473, 145261, (2023).

Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., “An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction”, *Trends in Food Science & Technology*, 76, 28-37, (2018).

Martău, G. A., Mihai, M., Vodnar, D. C., “The use of chitosan, alginate, and pectin in the biomedical and food sector-biocompatibility, bioadhesiveness, and biodegradability”, *Polymers*, 11(11), 1837, (2019).

May, C. D., “Industrial pectins: Sources, production and applications”, *Carbohydrate Polymers*, 12 (1), 79–99, (1990).

Mevlâna Kalkınma Ajansı, “Karaman İli Meyve Posalarından Pektin Üretim Tesisi Ön Fizibilite Raporu”, (2021).

Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M. C., Meza-Velázquez, J. A., Simal, S., Rosselló, C., “Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach”, *Carbohydrate Polymers*, 106, 179-189, (2014).

Morales-Contreras, B. E., Rosas-Flores, W., Contreras-Esquivel, J. C., Wicker, L., Morales-Castro, J., “Pectin from husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.): rheological behavior at different extraction conditions”, *Carbohydrate Polymers*, 179, 282-289, (2018).

Mungure, T. E., Roohinejad, S., Bekhit, A. E. D., Greiner, R., Mallikarjunan, K., “Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions”, *Current Opinion in Food Science*, 19, 72-76, (2018).

Muñoz-Almagro, N., Valadez-Carmona, L., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., Villamiel, M., "Structural characterisation of pectin obtained from cacao pod husk. Comparison of conventional and subcritical water extraction", *Carbohydrate Polymers*, 217, 69-78, (2019).

Monsoor, M. A., “Effect of drying methods on the functional properties of soy hull pectin”, *Carbohydrate Polymers*, 61(3), 362-367, (2005).

Muslu, A., “Gıda atıklarında elde edilen pektinin modifiye edilmesi, moleküler ve reolojik özelliklerinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı*, İstanbul, 5-15, (2016).

Nguyen, B. M. N. and Pirak, T., “Physicochemical properties and antioxidant activities of white dragon fruit peel pectin extracted with conventional and ultrasound-assisted extraction”, *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1633076, (2019).

Njoroge, D. M., Kinyanjui, P. K., Makokha, A. O., Christiaens, S., Shpigelman, A., Sila, D. N., Hendrickx, M. E., "Extraction and characterization of pectic polysaccharides from easy- and hard-to cook common beans (*Phaseolus vulgaris*)", *Food Research International*, 64, 314-322, (2014).

Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Pereira, P. H. F., Moates, G. K., Wellner, N., Mazzetto, S. E., Waldron, K. W., Azeredo, H. M., “Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology”, *Food Chemistry*, 198, 113-118, (2016).

Panwar, D., Panesar, P. S., Chopra, H. K., “Ultrasound-assisted extraction of pectin from citrus limetta peels: Optimization, characterization, and its comparison with commercial pectin”, *Food Bioscience*, 51, 102231, (2023).

Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z. E., Hosseini, S. S., “Optimization of aqueous pectin extraction from citrus medica peel”, *Carbohydrate Polymers*, 178, 27-33, (2017).

Pelloux, J., Rusterucci, C., Mellerowicz, E. J., “New insights into pectin methylesterase structure and function”, *Trends in Plant Science*, 12(6), 267-277, (2007).

Pereira, P. H. F., Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Moates, G. K., Wellner, N., Waldron, K.W., Azeredo, H. M., “Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 373-379, (2016).

Perussello, C.A., Zhang, Z., Marić zocchella, A. and Tiwari, B.K. “Valorization of apple pomace by extraction of valuable compounds”, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 776–796, (2017).

Picot-Allain, M. C. N., Ramasawmy, B., Emmambux, M. N., “Extraction, characterisation, and application of pectin from tropical and sub-tropical fruits: A review”, *Food Reviews International*, 38(3), 282-312, (2022).

Puspitasari, D. J., Damayanti, N. S., Nuryanti, S., “Extraction pectin from squash (*Sechium edule sw*) peels”, *In Journal of Physics: Conference Series*, 1763 (1), 012037, (2021).

Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., Hosseini, S. S., “Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 709-716, (2017).

Ranganna, S., *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*, New Dehli: Tata McGraw-Hill Publishing Company, 124-125, (1986).

Rodsamran, P. and Sothornvit, R., “Microwave heating extraction of pectin from lime peel: Characterization and properties compared with the conventional heating method.”, *Food Chemistry*, 278, 364-372, (2019).

Ropartz, D. and Ralet, M. C., “Pectin structure”, (ed: V. Kontogiorgos) *Pectin: Technological and Physiological Properties*, Brisbane: Springer, 17-36, (2020).

Roy, S., Priyadarshi, R., Łopusiewicz, Ł., Biswas, D., Chandel, V., Rhim, J. W., “Recent progress in pectin extraction, characterization, and pectin-based films for active food packaging applications: A review”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 239, 124248, (2023).

Ruano, P., Delgado, L. L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M. E. A., Rigau, J., Diaz, D., Masuelli, M., “Extraction and characterization of pectins from peels of criolla oranges (*Citrus sinensis*): Experimental reviews”, (ed: M. Masuelli), *Pectins-Extraction, Purification, Characterization and Applications*, London: IntechOpen, 1-45, (2020).

Sarialan, N., “Değişen ekstraksiyon yöntemlerinin sahil çamı kanuk taneni verimi ve kimyasal bileşimi üzerinde etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Bursa Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Ürünleri Anabilim Dalı*, Bursa, 22-23, (2018).

Sarı, F. and Birilk, T., “Extraction of pectin from pomegranate peel”, *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 8(5), 1043-1052, (2020).

Sayed, M. A., Kumar, J., Rahman, M. R., Noor, F., Alam, M. A., “Effect of extraction parameters on the yield and quality of pectin from mango (*Mangifera indica* L.) peels”, *Discover Food*, 2, 28, (2022).

Sen, E. and Uguzdogan, E., “Brewed black tea waste (*Camellia sinensis* L.) as alternative pectin source” *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 4110-4120, (2022).

Sharma, H., Bhatia, S., Alam, M. S., “Studies on pectin extraction from kinnow peel and pomace”, *Journal Research Punjab Agricultural University*, 50(3), 128-130, (2013).

Silva, A. D. S., de Magalhães, W. T., Moreira, L. M., Rocha, M. V. P., Bastos, A. K. P., “Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* using the concept of green chemistry”, *Algal Research*, 35, 178-184, (2018).

Spinei, M., and Oroian, M., “The influence of extraction conditions on the yield and physico-chemical parameters of pectin from grape pomace”, *Polymers*, 14(7), 1378, (2022).

Srivastava, P. and Malviya, R.,” Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry-An overview”, *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2(1). 10-18, (2011).

Sundar Raj AA, Rubila S, Jayabalan R, Ranganathan T. V., “A review on pectin: chemistry due to general properties of pectin and its pharmaceutical uses”, *Scientific Reports*, 1(12), 1-4, (2012).

Syeitkhajy, A., “Turunçgil kabuklarından modifiye pektin ve pektin ekstraksiyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı*, İstanbul, 3-17, (2017).

Şen, E., Göktürk, E., Hajiyeve, V., Uğuzdoğan, E., “Comparisons of pulsed ultrasound-assisted and hot-acid extraction methods for pectin extraction under dual acid mixtures from onion (*Allium cepa L.*) waste”, *Food Science & Nutrition*, 1-8, (2023).

Şen, E., Göktürk, E., Uğuzdoğan, E., "Pectin extraction from garlic waste under dual acid condition", *Journal of Food Processing and Preservation*, 46 (12), e17150, (2022).

Şen, E., Özdemir, S., Uğuzdoğan, E., “Meyve kabuğu atıklarından pektin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu”, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 27(7), 863-872, (2021).

Taşan, N. T., “Greyfurt kabuğundan mikrodalga destekli pektin ekstraksiyonu”, Yüksek Lisans tezi, *Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, Tokat, 3-18, (2018).

Thakur, B. R., Singh, R. K., Handa, A. K., Rao, M. A., “Chemistry and uses of pectin A review”, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 37(1), 47-73, (1997).

Torres-Gallo, R., Bayuelo-Bonilla, S., Carpio-Ortiz, L., Barreto-Rodríguez, G., Tirado, D. F., “High-intensity ultrasound-assisted extraction of pectin from mango wastes at different maturity”, *International Journal of Food Science*, 2022, 460024, (2022).

Tran, T. T., Saifullah, M., Nguyen, N. H., Nguyen, M. H., Vuong, Q. V., “Comparison of ultrasound-assisted and conventional extraction for recovery of pectin from Gac (*Momordica cochinchinensis*) pulp”, *Future Foods*, 4, 100074, (2021).

TÜİK, “Türkiye İstatistik Dış Ticaret İstatistikleri [online]”, (12.08.2023), <https://rapory.tuik.gov.tr/16-10-2023-15:09:18-209689945267851142826711265.html>, (2023).

Umoren, S. A. and Eduok, U. M., “Application of carbohydrate polymers as corrosion inhibitors for metal substrates in different media: A review”, *Carbohydrate Polymers*, 140, 314-341, (2016).

Valdivia-Rivera, S., Herrera-Pool, I. E., Ayora-Talavera, T., Lizardi-Jiménez, M. A., García-Cruz, U., Cuevas-Bernardino, J. C., Pacheco, N., “Kinetic, thermodynamic, physicochemical, and economical characterization of pectin from *Mangifera indica* L. cv. Haden residues”, *Foods*, 10(9), 2093, (2021).

Villalobos, G., Castillo, F., Domínguez, D., Castillo, H., Ortega, J. A., " Use of waste pinto bean grain on finishing hair lambs", *In Proceedings of Western Section of American Society of Animal Science*, 61, 293-296, (2010).

Wai, W. W., Alkarkhi, A. F., Easa, A. M., “Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design”, *Food and Bioproducts Processing*, 88(2-3), 209-214, (2010).

Wang, C., Li, J., Cao, Y., Huang, J., Lin, H., Zhao, T., Liu, L., Shen, P., McClements, D. J., Chen, J., Liu, C., Liu, J., Li, Q., “Extraction and characterization of pectic polysaccharides from *Choerospondias axillaris* peels: Comparison of hot water and ultrasound-assisted extraction methods”, *Food Chemistry*, 401, 134156, (2023).

Wang, R., Liang, R., Dai, T., Chen, J., Shuai, X., Liu, C., “Pectin-based adsorbents for heavy metal ions: A review”, *Trends in Food Science & Technology*, 91, 319-329, (2019).

Wang, M., Huang, B., Fan, C., Zhao, K., Hu, H., Xu, X., Pan, S., Liu, F., “Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 794-803, (2016).

Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Ding, T., Ye, X., Liu, D., “Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions”, *Food Hydrocolloids*, 61, 730-739, (2016).

Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X., Liu, D., “Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method”, *Food Chemistry*, 178, 106-114, (2015).

Xiong, B., Zhang, W., Wu, Z., Liu, R., Yang, C., Hui, A., Huang, X., Xian, Z., “Preparation, characterization, antioxidant and anti-inflammatory activities of acid-soluble pectin from okra (*Abelmoschus esculentus* L.)”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 824-834, (2021).

Yang, J. S., Mu, T. H., Ma, M. M., “Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp”, *Food Chemistry*, 244, 197-205, (2018).

Yapo, B. M., “Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1572-1578, (2009).

Yapo, B. M., Lerouge, P., Thibault, J. F., Ralet, M. C., “Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II”, *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 426-435, (2007).

Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., Paquot, M., “Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts”, *Food Chemistry*, 100(4), 1356-1364, (2007).

Yu, M., Xia, Y., Zhou, M., Guo, Y., Zheng, J, Zhang, Y., “Effects of different extraction methods on structural and physicochemical properties of pectins from finger citron pomace”, *Carbohydrate Polymers*, 258, 117662, (2021).

Zdunek, A., Pieczywek, P. M., Cybulska, J., “The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides”, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 1101-1117, (2021).

Ziari, H., Ashtiani, F. Z., Mohtashamy, M., “Comparing the effectiveness of processing parameters in pectin extraction from apple pomace”, *Afinidad*, 67(549), 374-378, (2010).

Zoghi, A., Vedadi, S., Esfahani, Z. H., Gavlighi, H. A., Khosravi-Darani, K., “A review on pectin extraction methods using lignocellulosic wastes”, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 5577-5589, (2023).



EKLER

7. EKLER

EK A Pektin verimleri

Tablo 7.1: Barbunya fasulyesi kabuklarından SAE yöntemi ile ekstrakte edilmiş pektin verimleri.

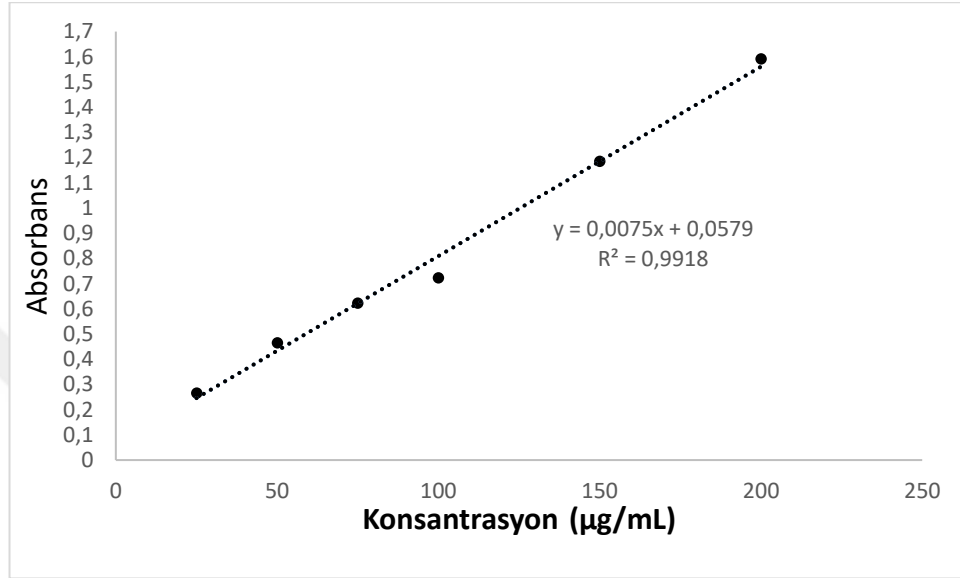
0,1 N Asit Çözeltisi	T (°C)	%Verim			
		7,5 dk.	15 dk.	30 dk.	90 dk.
AA	90	8,98	10,35	11,05	13,50
CA		9,13	11,58	12,88	15,62
H ₂ SO ₄		17,67	20,75	22,19	26,05
HCl		16,10	19,18	20,94	24,10
H ₂ O		8,54	9,60	10,22	12,45
AA	80	8,75	9,98	10,55	12,17
CA		8,48	10,83	11,75	13,60
H ₂ SO ₄		15,8	18,08	19,55	23,02
HCl		14,20	16,38	17,70	21,55
H ₂ O		8,05	9,49	9,98	11,53

Tablo 7.2: Barbunya fasulyesi kabuklarından UDE yöntemi ile ekstrakte edilmiş pektin verimleri.

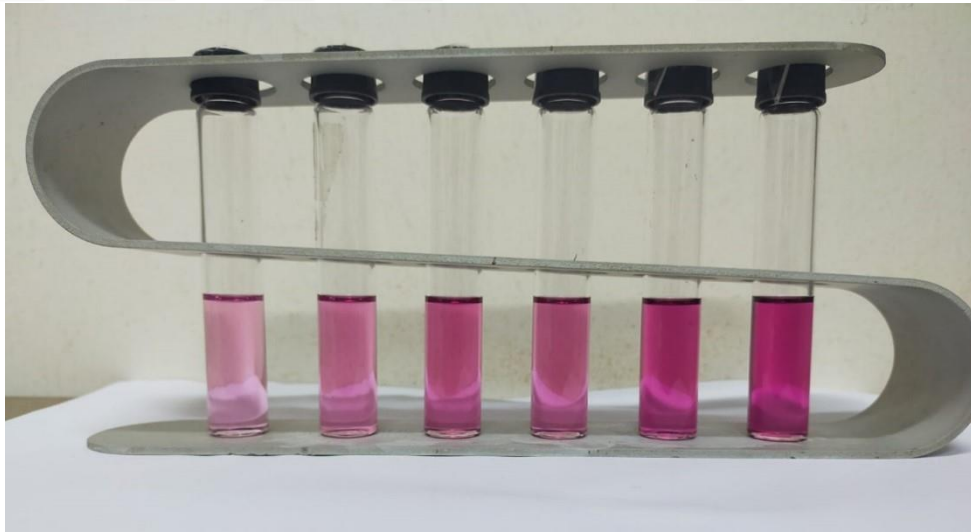
0,1 N Asit Çözeltisi	T (°C)	%Verim			
		7,5 dk.	15 dk.	30 dk.	90 dk.
AA	90	9,53	11,27	12,29	15,35
CA		9,68	12,48	13,88	18,83
H ₂ SO ₄		14,57	19,97	23,63	29,63
HCl		12,75	18,43	22,07	26,37
H ₂ O		8,67	10,49	11,42	14,13
AA	80	8,75	10,25	11,17	13,33
CA		8,57	11,27	12,70	15,03
H ₂ SO ₄		13,53	18,65	21,53	25,23
HCl		12,05	16,44	18,87	23,37
H ₂ O		8,23	9,47	10,47	12,53

EK B Galakturonik asit içeriğini belirlenmesi

Barbunya fasulyesi atığından ekstrakte edilen pektin numunelerinin Galakturonik asit içeriği, 0 ila 200 µg/mL aralığındaki standart D-galakturonik asit çözeltileri kullanılarak belirlenmiştir. Bu hesaplama, Şekil B.1'deki grafikte bulunan kalibrasyon eğrisinin doğru denklemini kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

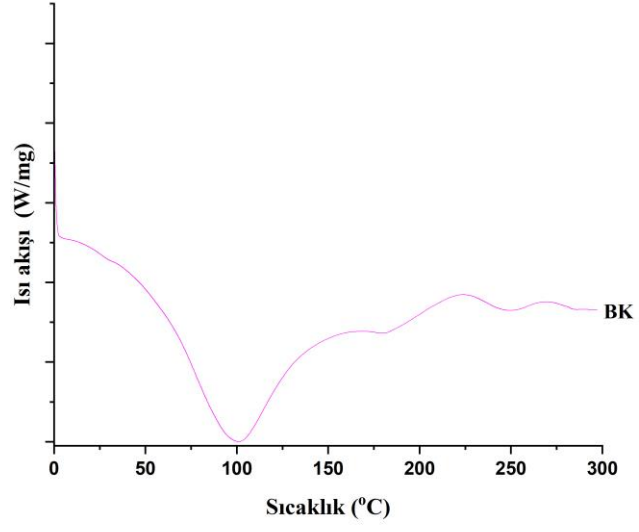


Şekil 7.1: Galakturonik asit içeriğini belirlemek için kullanılan kalibrasyon eğrisi.



Şekil 7.2: Galakturonik asit içeriğini belirlemek için kullanılan 0-200 µg/mL aralığındaki standart D-galakturonik asit çözeltileri.

EK C Barbunya Kabuğunun DSC analizi



Şekil 7.3: Barbunya kabuğunun DSC analiz sonucu.