

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN SULU EKSTRAKTLARINDAN D-PİNİTOLÜN
AYRILMASI VE SAFLAŞTIRILMASINDA FERMENTASYON,
ELEKTROKOAGÜLASYON VE MEMBRAN FİLTRASYON
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksel ALPER KÜTÜK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ARALIK 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN SULU EKSTRAKTLARINDAN D-PİNİTOLÜN
AYRILMASI VE SAFLAŞTIRILMASINDA FERMENTASYON,
ELEKTROKOAGÜLASYON VE MEMBRAN FİLTRASYON
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksel ALPER KÜTÜK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ARALIK 2024

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN SULU EKSTRAKTLARINDAN D-PİNİTOLÜN
AYRILMASI VE SAFLAŞTIRILMASINDA FERMENTASYON,
ELEKTROKOAGÜLASYON VE MEMBRAN FİLTRASYON
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

**Yüksel ALPER KÜTÜK
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**Bu tez Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından
1220764 (TÜBİTAK-1002) nolu proje ile desteklenmiştir.**

ARALIK 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN SULU EKSTRAKTLARINDAN D-PİNİTOLÜN
AYRILMASI VE SAFLAŞTIRILMASINDA FERMENTASYON,
ELEKTROKOAGÜLASYON VE MEMBRAN FİLTRASYON
UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Yüksel ALPER KÜTÜK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 19/12/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Prof. Dr. İrfan TURHAN

Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Nevzat KONAR

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Reyhan ÖZİYCI

ÖZET

KEÇİBOYNUZU MEYVESİNİN SULU EKSTRAKTLARINDAN D-PİNİTOLÜN AYRILMASI VE SAFLAŞTIRILMASINDA FERMENTASYON, ELEKTROKOAGÜLASYON VE MEMBRAN FİLTRASYON UYGULAMALARININ ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

Yüksel ALPER KÜTÜK

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Aralık 2024; 74 sayfa

Keçiboynuzu meyvesi doğal olarak yetiştiği gibi eski çağlardan günümüze kadar yetiştiriciliği de yapılan ağaç formunda bir bitkidir. Zengin besleyici içeriğine ilave olarak biyoaktif bir bileşen olan D-pinitol açısından da bilinen en zengin kaynaktır. D-pinitolün insan sağlığına olumlu etkileri ve izolasyonu üzerine bazı araştırmalar gerçekleştirilmiş ve tedavi edici ve hastalık önleyici etkilerine dikkat çekilmiştir. Bunlardan en önemlisi çağımızın insan sağlığını tehdit eden en önemli hastalıklarından biri olan ve gün geçtikçe yaygınlaşan tip-2 diyabet hastalığı üzerine olan olumlu etkileridir. Aynı zamanda göğüs kanseri ve alzheimer üzerine etkisinin de araştırıldığı ve umut verici sonuçların elde edildiği çalışmalar da mevcuttur.

D-pinitol laboratuvar koşullarında sentezlenebilen bir bileşiktir ancak bu prosesin zorluğu yanında yüksek maliyetli olması doğal kaynaklarından izolasyonunu ön plana çıkartmıştır. D-pinitolün doğal kaynaklarından izolasyonunda farklı metotlar uzun yıllardır araştırılmaktadır. Bu tez çalışmasının amacı ülkemizde önemli miktarda bulunan ve düşük maliyetli bir D-pinitol kaynağı olan keçiboynuzu meyvesinden kabul edilebilir yüksek saflıkla (%90-99) D-pinitol elde etmektir. Çalışmada, ana proses olarak genellikle atık suların arıtılmasında kullanılan bir yöntem olan elektrokoagülasyon uygulaması membran filtrasyon ve adsorbent uygulamalarıyla desteklenerek kullanılmıştır. Araştırmada öncelikli olarak D-pinitol ile birlikte majör bileşenler olan sakkaroz, glukoz ve fruktoz fermentasyonla etil alkole dönüştürülüp buharlaştırılarak ekstrakt ortamından uzaklaştırılmıştır. Fermentasyonda *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 36858) kullanılmıştır. Şekerler uzaklaştırıldıktan sonra elektrokoagülasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Denemelerde elektrot olarak alüminyum ve çelik plakalar [katot (-) ve çelik plakalar (+) anot] kullanılmış; elektrik kaynağı olarak ta doğru akımdan (DC) yararlanılmıştır. Bu işlemler fermentasyon, elektrokoagülasyon, membran filtrasyon ve adsorpsiyon sıralamasıyla uygulanmıştır. Her işlemin sonunda elde edilen ekstraktlar sonraki işlemin besleme akımını oluşturmuştur.

Elektrokoagülasyon işleminde bir optimizasyon yöntemi olan Box Behnken deneme deseni kullanılmış ve elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim ve süre bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda model uygunluğu yakalanamamıştır. Bu sebeple deneme desenindeki koşullardan en yüksek D-pinitol miktarına ulaşılan denemelerden ilk üçü sonraki basamaklarda kullanılmıştır.

Sonuç olarak başlangıç materyali olan 5°Bx keçiyoynuzu ekstraktının fermentasyon sonrasında 29.95 g/100g kuru madde olan D-pinitol miktarı prosesin son basamağı olan adsorpsiyon işleminden sonra 98,62 g/100g kuru madde miktarına ulaşmıştır. Buna ek olarak Başlangıç materyalinin bulanıklık değeri 383 NTU iken son ürünün bulanıklık düzeyi 0.5 NTU değerine düşmüştür. Toplam fenolik madde ve mineral madde değerleri ise son üründe tespit edilememiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Adsorpsiyon, D-pinitol, Elektrokoagülasyon, Keçiyoynuzu, Membran Filtrasyon

JÜRİ: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Prof. Dr. İrfan TURHAN

Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Nevzat KONAR

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Reyhan ÖZİYCI

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTIVENESS OF FERMENTATION, ELECTROCOAGULATION, AND MEMBRANE FILTRATION APPLICATIONS IN THE SEPARATION AND PURIFICATION OF D-PINITOL FROM AQUEOUS EXTRACTS OF CAROB FRUIT

Yüksel ALPER KÜTÜK

PhD Thesis in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

December 2024; 74 pages

Carob fruit is a plant that naturally grows and has been cultivated in tree form since ancient times. In addition to its rich nutritional content, it is also known to be the richest source of D-pinitol, a bioactive compound. Some studies have been conducted on the positive effects of D-pinitol on human health and its isolation, highlighting its therapeutic and disease-preventive effects. One of the most significant of these effects is its positive impact on type 2 diabetes, one of the major health threats of our time, which has been increasing in prevalence. Research has also been conducted on its effects on breast cancer and Alzheimer's disease, with promising results.

D-pinitol is a compound that can be synthesized in laboratory conditions, but due to the complexity of the process and its high cost, the isolation from natural sources has become the preferred method. Various methods for isolating D-pinitol from natural sources have been studied for many years. The aim of this thesis is to obtain D-pinitol from carob fruit, which is a low-cost and abundant source of D-pinitol in our country, with acceptable high purity levels (90-99%). In this study, the main process was based on electrocoagulation, a method commonly used for wastewater treatment, supported by membrane filtration and adsorbent applications. Initially, the major components of carob fruit extract—sucrose, glucose, and fructose—were converted into ethyl alcohol through fermentation, and then evaporated to be removed from the extract. *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 36858) was used for fermentation. After the sugars were removed, electrocoagulation experiments were conducted. Aluminum and steel plates (cathode (-) and steel plates (+) as anode) were used as electrodes, and direct current (DC) was utilized as the power source. The processes were applied in the sequence of fermentation, electrocoagulation, membrane filtration, and adsorption, with each process's final extract serving as the feed for the next step.

In the electrocoagulation process, a Box-Behnken experimental design, which is an optimization method, was used, and electrode gap, current density, voltage, and time were selected as independent variables. As a result of the conducted analyses, model fit could not be achieved. Therefore, the first three trials, where the highest D-pinitol amount was obtained, were used in the subsequent steps.

As a result, the amount of D-pinitol in the starting material, the 5°Bx carob extract, was 29.95 g/100g dry matter after fermentation. After the final adsorption step, the D-

pinitol concentration increased to 98.62 g/100g dry matter. Additionally, the turbidity of the starting material was 383 NTU, which decreased to 0.5 NTU in the final product. No detectable levels of total phenolic compounds or minerals were found in the final product.

KEYWORDS: Adsorption, D-pinitol, Electrocoagulation, Carob, Membrane Filtration

COMMITTEE: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Prof. Dr. İrfan TURHAN

Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Nevzat KONAR

Assist. Prof. Dr. Hatice Reyhan ÖZİYCI



ÖNSÖZ

D-pinitol çoğunlukla baklagiller familyasına ait bitkilerde rastlanan, D-chiro-inositolün monometillenmiş formu olan halkalı bir şeker alkolüdür. Halkalı şeker ve türevleri geçmişten günümüze çok farklı araştırmalara konu olmuş ve insan sağlığı üzerine olumlu etkilere sahip oldukları ortaya konmuştur.

D-pinitolün insülin benzeri etkisiyle bilinse de antikarsinojenik, doku koruyucu, osteoporoz engelleyici, kalp ve damar sağlığı koruyucu ve inflamatuvar engelleyici özelliklere sahip bir biyoaktif bileşen olduğu da tespit edilmiştir. İnsan diyetinde doğal olarak bulunabilen bir bileşen olması ve toksik etki yapmaması D-pinitol içeren gıda takviyelerinin ve ilaçların üretiminin önünü açmaktadır.

D-pinitol'ün laboratuvar ortamında sentezi yüksek maliyetli bir prosestir. Modern ülkelerde tüketicilerin doğal ürün tüketme isteğinin artması nedeniyle D-pinitolün doğal kaynaklarından elde edilmesi önem kazanmıştır. D-pinitolün izolasyonu da matriksin yapısına ve gerekli işlem basamaklarına bağlı olarak maliyeti artabilen bir işlemdir. Bu durum zenginleştirme ve saflaştırma üzerine araştırmacıların yoğunlaşmasını sağlamıştır.

Keçiboynuzu meyvesi D-pinitolün en zengin kaynaklarından birisidir ve keçiboynuzu ağacının anavatanı sınırları içinde ülkemiz de bulunmaktadır. Bu nedenle meyvesi düşük maliyetle elde edilebilmektedir. D-pinitolün, daha önce patent altına alınmamış bir yöntemle izole edilebilmesinin ülkemizde pekmez ve hayvan yemi üretimi dışında kullanımı kısıtlı olan keçiboynuzuna katma değer kazandıracağı düşünülmektedir.

Bu alanda oldukça emek vermiş ve bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli olan birikimini benimle paylaşarak bu kıymetli araştırmanın gerçekleştirilmesini mümkün kılan danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa KARHAN'a, çalışmayı fikirleriyle destekleyen ve zenginleştiren Sayın Prof. Dr. İrfan TURHAN'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice Reyhan ÖZİYCI'ye, benden yardımlarını tüm süreç boyunca esirgemeyen değerli bölüm arkadaşlarım Hilal Nur GÜRLER TUFAN, Selime Benemir ERKAN UYSAL ve Ahmet HACIOĞLU'na, bu projeyi destekleyen TÜBİTAK'a, her koşulda yanımda olan eşim Nail KÜTÜK'e ve babam Özgür Altan ALPER, annem Fulden ALPER, kardeşim İlayda ALPER'e ve tüm dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Keçiboynuzu Ağacı, Yetiştği Alanlar ve Özellikleri	3
2.2. Keçiboynuzu Meyvesi.....	5
2.2.1. Keçiboynuzu pekmezi	8
2.2.2. Keçiboynuzu gamı (Locust Bean Gum)	9
2.2.3. Keçiboynuzu unu	11
2.2.4. Şeker şurubu	12
2.2.5. Biyolojik gübre üretimi.....	12
2.2.6. Hayvan yemi.....	13
2.2.7. Biyoetanol üretimi	13
2.2.8. D-pinitol.....	13
2.3. D-pinitol ve Sağlık	14
2.4. D-pinitolün Elde Edilmesi Amacıyla Gerçekleştirilmiş Çalışmalar	15
2.5. Elektrokoagülasyon	16
2.6. Membran Filtrasyon	19
2.7. Adsorpsiyon.....	20
2.8. Box- Behnken Cevap Yüzey Yöntemi	21
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal.....	23
3.2. Metot	23
3.2.1. Keçiboynuzu ekstraktının fermentasyonu	23
3.2.2. Fermente keçiboynuzu ekstraktının elektrokoagülasyonu.....	25
3.2.3. Membran filtrasyon uygulaması	31

3.2.4. Adsorbent uygulaması	32
3.2.5. Tanımlayıcı analizler	33
3.2.5.1. Toplam kuru madde analizi	33
3.2.5.2. Toplam fenolik madde miktarı analizi.....	33
3.2.5.3. Bulanıklık analizi.....	34
3.2.5.4. Renk analizi	34
3.2.5.5. HPLC ile şekerlerin ve D-pinitolün analizi	34
3.2.5.6. Toplam mineral madde analizi	34
3.2.6. İstatistiksel analizler	34
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	36
4.1. Keçiboynuzu Pekmezinin Fermentasyonu	36
4.2. Elektrokoagülasyon Uygulamasında Plaka Çeşidinin Belirlenmesi	37
4.3. Fermente Keçiboynuzu Ekstraktlarında Elektrokoagülasyon İşleminin Optimizasyonu.....	40
4.4. Elektrokoagülasyon Sonrası Seçilen Ekstraktlara Membran Filtrasyon Uygulanması.....	46
4.5 Membran Filtrasyon Sonrası Permeat Akısına Adsorbent Uygulanması.....	47
6. SONUÇLAR	52
7. KAYNAKLAR	54
8. EKLER.....	58
EK- 1. Gallik asit standardı ile oluşturulmuş kurve.....	58
EK-2. Sakkaroz standardı ile oluşturulmuş kurve.....	59
EK-3. Glukoz standardı ile oluşturulmuş kurve.....	60
EK-4. Fruktoz standardı ile oluşturulmuş kurve.....	61
EK-5. D-pinitol standardı ile oluşturulmuş kurve.....	62
EK-6. Şekerler ve D-pinitol standart çözeltilerine ait kromatogramlar	63
EK-7. 5 Bx°'e seyreltilmiş ve fermente keçiboynuzu ekstraktına ait kromatogram	65
EK-8. EK işleminden sonra 9. denemeye ait kromatogram.....	66
EK-9. EK işleminden sonra 18. denemeye ait kromatogram.....	67
EK-10. EK işleminden sonra 22. denemeye ait kromatogram.....	68
EK-11. Membran filtrasyon sonrası 9. denemeye ait kromatogram	69
EK-12. Membran filtrasyon sonrası 18. denemeye ait kromatogram	70

EK-13. Membran filtrasyon sonrası 22. Denemeye ait kromatogram	71
EK-14. Adsorpsiyon işlemi sonrası 9. denemeye ait kromatogram.....	72
EK-15. Adsorpsiyon işlemi sonrası 18. denemeye ait kromatogram.....	73
EK-16. Adsorpsiyon işlemi sonrası 22. denemeye ait kromatogram.....	74
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Keçiboynuzu Meyvesinin Sulu Ekstraktlarından D-Pinitolün Ayrılması ve Saflaştırılmasında Fermentasyon, Elektrokoagülasyon ve Membran Filtrasyon Uygulamalarının Etkinliğinin Belirlenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

19/12/2024

Yüksel ALPER KÜTÜK

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°Bx : Briks derece

cm : Santimetre

cm² : Santimetre kare

dk : Dakika

g : Gram

kDa : Kilo Dalton

L : Litre

mA : Miliamper

V : Voltaj (Gerilim)

µL : Mikrolitre

Tez içerisinde ondalık ayracı olarak “,” Kullanılmıştır.

Kısaltmalar

Al : Alüminyum

Ç : Çelik

EK : Elektrokoagülasyon

HPLC : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

KM : Kuru Madde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Keçiboynuzu Ağacı	3
Şekil 2.2. Keçiboynuzu Ağacının Yetiştği Bölgeler.....	4
Şekil 2.3. Orman Yangınları Sonrası Keçiboynuzu Ağaçları (Karhan Vd. 2010).....	4
Şekil 2.4. Keçiboynuzu Meyvesinin Kısımları: Meyve Eti (A, B), Çekirdek (C) (Battle Ve Tous 1997)	5
Şekil 2.5. Keçiboynuzu Meyvesi	6
Şekil 2.6. Keçiboynuzu Pekmezi	8
Şekil 2.7. Galaktomannan Molekülünün Yapısı	9
Şekil 2.8. Keçiboynuzu Gamı	9
Şekil 2.9. Keçiboynuzu Unu	11
Şekil 2.10. D-Pinitolün Kimyasal Yapısı.....	14
Şekil 2.11. D-Pinitolün Yüksek Saflıkta Elde Edilmesine İlişkin Sistem (Shin Vd. 2003).....	16
Şekil 2.12. Elektrokoagülasyon Sistemi Şematik Gösterimi (Akarsu 2014).....	17
Şekil 2.13. Farklı Gözenek Çaplarına Sahip Membran Filtrasyon Sistemleri (Baker 2004)	19
Şekil 2.14. İyon Değiştirici Reçine	20
Şekil 3.1. Fermentasyon denemelerinin gerçekleştirildiği reaktör sistemi.....	23
Şekil 3.2. Elektrokoagülasyon denemelerinde kullanılan fermente keçiboynuzu ekstraktları.....	24
Şekil 3.3. Ek sisteminin reaktör hücresine ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024).....	25
Şekil 3.4. Soğutucu akışkan ünitesine ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)	26
Şekil 3.5. Elektrot plakalarına ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)	27
Şekil 3.6. 5 cm aralıkla yerleştirilmiş plakalara ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)	27
Şekil 3.7. Elektrokoagülasyon reaktörü haznesi	28
Şekil 3.8. Soğutucu akışkan ünitesi	28
Şekil 3.9. Elektrot plakalar.....	28

Şekil 3.10. Ek sistemi.....	29
Şekil 3.11. Membran filtrasyon sistemi	32
Şekil 3.12. Adsorpsiyon işlemi için oluşturulan sistem	33
Şekil 4.1. A: 5 ° bx'e seyreltilen keçi boynuzu ekstraktı, B: fermentasyon sonrası keçi boynuzu ekstraktı.....	37
Şekil 4.2. Plaka çeşidinin belirlenmesi denemeleri	38
Şekil 4.3. Plaka denemeleri sonucunda elde edilen ekstraktlar	39
Şekil 4.4. Örneğe ait elektrokoagülasyon (a) ve membran filtrasyon (b) sonrasındaki görünüm	46
Şekil 4.5. A: 30 kda membrandan geçirilen ekstrakt, b: adsorber uygulaması sonrası ekstrakt görünümü.....	48
Şekil 4.6. A: Fermente ekstrakt, b: Elektrokoagülasyon işlemi sonrası, c: Membran filtrasyon sonrası d: Adsorpsiyon işlemi sonrası ekstrakt görünümü.	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Keçiboynuzu meyvesinin kimyasal kompozisyonu (Avallone vd 1997; Yousif ve alghzawi 2000; Kumazawa vd. 2001; Ayaz vd. 2007; Camero ve Merino 2004; Biner vd. 2007; Özcan vd. 2007; Khlifa vd. 2013; Youssef vd. 2013).....	6
Çizelge 2.2. Keçiboynuzu meyvesinde bulunan mineral maddeler ve miktarları (Özcan vd. 2007, Khlifa vd. 2013, Youssef vd. 2013).....	7
Çizelge 3. 1. Fermentasyon ortamına ilave edilen maddeler (Turhan vd. 2010).....	24
Çizelge 3. 2. Bağımsız değişkenler.....	30
Çizelge 3. 3. Design expert programı tarafından oluşturulan box-behnken deneme deseni.....	31
Çizelge 4. 1. Keçiboynuzu ekstraktının 5°bx'e seyreltilmiş ve fermente edilmiş formlarının tanımlayıcı analizlerin sonuçları	36
Çizelge 4. 2. Plaka seçimi denemelerinin değerlendirilmesi	39
Çizelge 4. 3. Elektrokoagülasyon deneme deseninde elde edilen örneklerin bazı belirleyici özellikleri ve kimyasal bileşimi	41
Çizelge 4. 4. D-pinitol miktarı için kuadratik model anova tablosu.....	42
Çizelge 4. 5. Fenolik madde miktarı için kuadratik model anova tablosu.....	43
Çizelge 4. 6. Bulanıklık için kuadratik model anova tablosu	44
Çizelge 4. 7. Renk için kuadratik model anova tablosu.....	45
Çizelge 4. 8. Elektrokoagülasyon sonrası seçilen örneklerin membran filtrasyon sonrası analiz sonuçları	47
Çizelge 4. 9. Elektrokoagülasyon sonrası membran filtrasyon uygulanmış örneklerin adsorpsiyon işlemi sonrası analiz sonuçları.....	48
Çizelge 4. 10. Ek, membran filtrasyon ve adsorpsiyon işlemleri sonrası elde edilen analiz sonuçlarının değerlendirilmesi	51

1. GİRİŞ

Günümüzde sık görülmeye başlanan çeşitli hastalıklar insan hayatında beslenmenin önemini gittikçe artırmaktadır. Sağlıklı ve uzun yaşam hedefinin ön plana çıkması, destekleyici etkiler gösteren çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip biyoaktif bileşenlere olan ilgiyi artırmış ve araştırmaların bu yönde derinleşmesini sağlamıştır. Biyoaktif bileşenler ilaç sektöründe kullanıldığı gibi gıda takviyesi üretiminde de kullanılmaktadır. Bu bileşenlerin üretimi çoğunlukla laboratuvar ortamında sentez yoluyla mümkündür, ancak, bu prosesler oldukça maliyetli ve zor olabilmektedir. Bu durum fonksiyonel özelliklere sahip biyoaktif maddelerce zengin olan gıdaların kullanımının yaygınlaşmasını sağlamıştır. Fonksiyonel gıda bileşeninin izolasyonu, matriksin hedef bileşik açısından zenginleştirilmesi ve saflaştırılmasında uygun tekniklerin tespiti yıllardır araştırmacılara konu olmuştur.

D-pinitol, keşfinden bugüne kadar üzerine birçok araştırma yapılmış ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri kanıtlanmış biyoaktif bir bileşendir. Özellikle dünya üzerinde en sık rastlanan hastalıklardan biri olan diyabet ile ilişkisi D-pinitolün önemini artırmaktadır. Diyabet, insan vücudunda salgılanan ve kandaki şeker miktarını düzenleyen bir hormon olan insülinin mekanizmasındaki aksamalardan kaynaklanan metabolik bir bozukluktur. Tamamlanan bazı çalışmalarda D-pinitolün insülini taklit ederek kandaki şeker metabolizmasını düzenlediği saptanmıştır. Bu nedenle D-pinitolün saflaştırılarak hem bazı ilaçların hem de gıda takviyelerin formülasyonlarında yer alması söz konusu olmuştur. Zamanla araştırmacılar D-pinitolün çeşitli kanser türleri, kalp ve damar hastalıkları, obezite, kas hastalıkları, dislipidemi gibi hastalıklar üzerinde de olumlu etkilerini de tespit etmişler ve çeşitli hastalıkların tedavisine uygun formülasyonlarda kullanmışlardır.

D-pinitol adını tarihte ilk defa izole edildiği bitki olan çam ağacından almakta olup ekstraksiyonunda başlıca kullanılan bitkisel kaynaklar; soya fasulyesi ve keçiboynuzu meyvesidir. Soya fasulyesinden D-pinitolün ekstraksiyonu patent altına alınmış olup birbirinden farklı saflaştırma basamaklarından oluşmaktadır. Buradan elde edilen D-pinitol miktarının oldukça düşük, prosesin ise zahmetli olması ekstraksiyon çalışmalarında farklı kaynakların arayışına yol açmıştır. Keçiboynuzu meyvesi yüksek D-pinitol içeriğiyle araştırmaların odağı olmuştur.

D-pinitolün saflaştırılmasında farklı birçok metot uygulanmıştır. Bunlar mikrobiyel fermentasyon, solvent ekstraksiyonu ve aktif kömür uygulaması gibi maliyetli ve uygulanması teknik olarak zor işlemlerdir. Proseslerin maliyetinin artması son ürüne yansımakta ve endüstriyel uygulamaları kısıtlamaktadır. Bu durum D-pinitolün saflaştırılmasında uygulama kolaylığı olan ve kısmen düşük maliyetli sistemlerin araştırılmasının ana nedeni olmuştur.

Bu tez çalışmasında düşük maliyetli bir D-pinitol kaynağı olan keçiboynuzundan D-pinitolün saflaştırılmasında daha önce bu alanda hiç denenmemiş bir yöntem olan elektrokoagülasyon tekniği uygulanmıştır. Elektrokoagülasyon yöntemi genellikle atık suların arıtılmasında kullanılan düşük maliyetli bir yöntemdir. Elektrokoagülasyon işleminin gerçekleştirilmesi için Design-Expert programı kullanılarak Box-Behnken deneme deseni oluşturulmuş ve akım yoğunluğu (mA/cm^2), gerilim (V), süre (dk) ve plaka aralığı (cm) değişken parametreler olarak belirlenmiştir. Deneme deseninin

uygulanabilmesi için öncelikle sistemde kullanılacak, anot ve katot olarak bağlanacak plakaların seçimi gerçekleştirilmiştir. Bu seçim deneme deseninde kullanılan değişken parametrelerin orta nokta değerlerinden faydalanılarak (3 cm plaka aralığı, 60 mA/cm² akım yoğunluğu, 30 V gerilim, 60 dk süre) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlarda D-pinitol miktarı, toplam fenolik madde miktarı, bulanıklık ve renk (L,a,b) değerleri ve toplam mineral madde miktarları analiz edilmiş ve sonuçta en yüksek D-pinitol miktarı, düşük bulanıklık ve toplam fenolik madde , yüksek L değeri elde edilen plaka kombinasyonu AL (-) / Ç (+) olarak belirlenmiş ve deneme deseni uygulamalarında bu kombinasyon kullanılmıştır. Buna ek olarak fermentasyon, membran filtrasyon ve adsorpsiyon yöntemlerinin etkinliğinden faydalanılmış; elektrokoagülasyon etkisinin desteklenebilirliği araştırılmıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Keçiboynuzu Ağacı, Yetiştği Alanlar ve Özellikleri

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) Leguminoseae (Fabaceae-Baklagiller) familyasından Caesalpinaceae alt familyasına ait her dem yeşil bir ağaçtır (Şekil 2.1). Ülkemizde keçiboynuzu aynı zamanda yaygın olarak harnup adıyla da bilinmektedir.



Şekil 2.1. Keçiboynuzu ağacı

Antik çağlardan itibaren bilinen keçiboynuzu ağacı özellikle Akdeniz ikliminin görüldüğü bölgelerde (Şekil 2.2) yetişmektedir. Ağacın soğuk iklim koşullarına olan hassasiyeti, yetişmesi için gerekli olan sıcaklık ve yağış dengesi Akdeniz ikliminin karakterine uygundur. Ülkemizde özellikle Batı Akdeniz bölgesi başta olmak üzere doğal olarak bulunmasına ek çeşitli bölgelerde özel kapama bahçelerde de yetiştiriciliğinin yapıldığı bilinmektedir (Battle ve Tous 1997).

Keçiboynuzu ağacı kayalık yamaçlar, zayıf kumlu topraklar ve derin topraklar gibi çeşitli özelliklere sahip alanlara kolay adapte olabilmekte ve bu özelliğiyle geniş alanlara yayılmaktadır. Buna rağmen Uluslararası Doğayı Koruma Birliği (International Union for the Conservation of Nature, IUCN) son yıllarda artan kuraklık, ortalama mevsim sıcaklıklarının yükselmesi ve ormanların bilinçsiz tahrip edilmesi gibi olumsuz durumlardan oldukça etkilenen keçiboynuzu ağacını kırmızı listeye almıştır. Bu sebeple keçiboynuzu ağaç popülasyonlarının günümüzde tehlike altında olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2.2. Keçiboynuzu ağacının yetiştiği bölgeler

Keçiboynuzu ağacı yangına karşı direnci yüksek olan bir ağaç türüdür. Ağacın yaprakları sıcaklığın en yüksek derecelere ulaştığı yaz aylarında bile su içeriğini %95'e kadar koruyabilmektedir (Lo Gullo ve Salleo 1988). Bu özelliğini su tutma kapasitesini artıran D-pinitol varlığından almaktadır. Dolayısıyla, keçiboynuzu ağacı orman yangınlarına en dayanıklı ağaçlardan biridir (Gübbük vd. 2016). Karhan vd. (2010) yürüttükleri araştırma projesinde yabani ve aşılı keçiboynuzu ağaçlarından örneklem yapmışlardır. Bu çalışma sırasında Manavgat – Serik bölgelerinde gerçekleşen şiddetli orman yangınlarında yörenin doğal bitki örtüsü olan kızılçam ağaçlarının yangında ciddi derecede tahrip olduğunu ancak keçiboynuzu ağaçlarının kısmen sağlam kaldığını tespit etmişlerdir (Şekil 2.3).



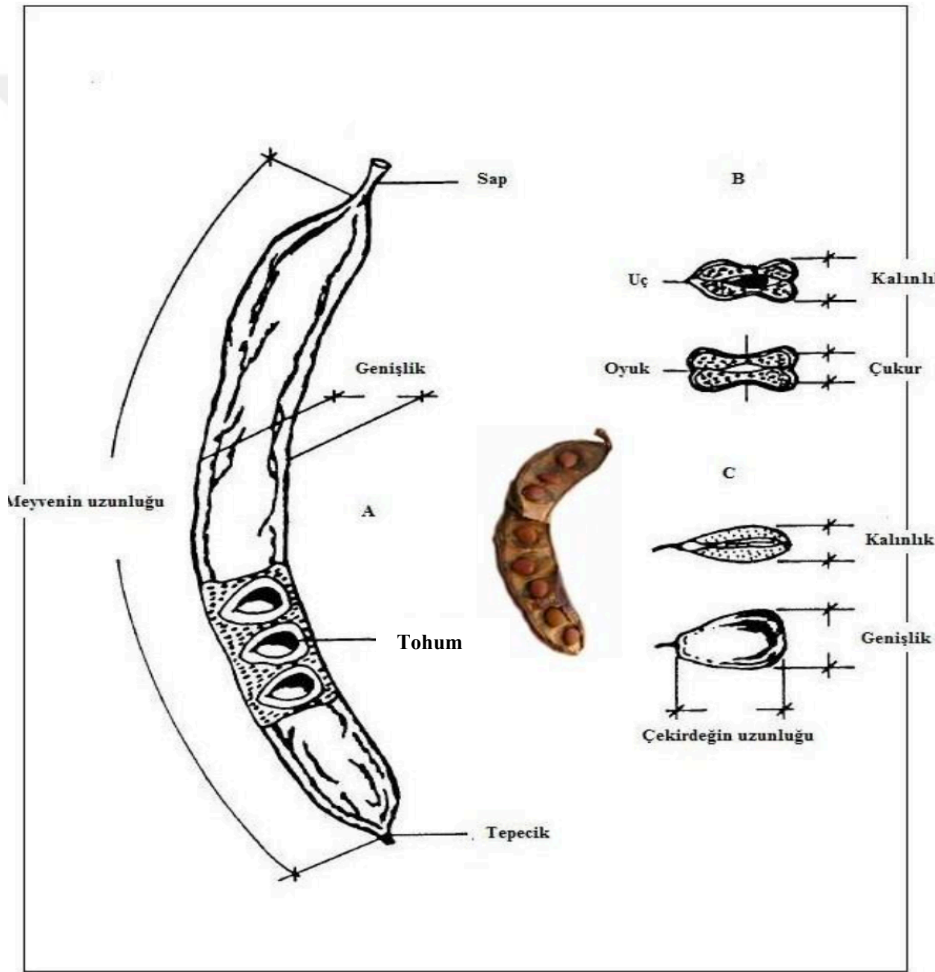
Şekil 2.3. Orman yangınları sonrası keçiboynuzu ağaçları (Karhan vd. 2010)

Keçiboynuzu ağacı aynı zamanda güçlü kök yapısı sayesinde bulunduğu bölgedeki toprağı erozyon riskine karşı dayanıklı hale getirmektedir. Bu iki olumlu özellik ağacın ekolojik açıdan önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca, meyvesinden çeşitli ürünlerin üretilmesi ekonomik potansiyeli de yüksek bir ağaç olduğunu göstermektedir. Ülkemizde çoğunlukla orman ağacı niteliğinde doğal alanlarda yetiştiği için orman çiftçisinin de gelir kaynaklarından birisi olmasını sağlamıştır.

2.2. Keçiboynuzu Meyvesi

Keçiboynuzu meyvesi ağırlıkça %90 meyve eti (pulp) ve %10 tohumlardan (çekirdek) oluşmaktadır (Şekil 2.4). Düz veya kıvrık yapıda olabilen keçiboynuzu meyvesi genellikle yaklaşık 10-30 cm uzunluğa, 1.5- 3.5 cm genişliğe ve 1 cm kalınlığa sahiptir. Tohumlar oval-dikdörtgen şeklinde olup genellikle boyutları da 8-10 mm x 7-8 mm x 3-5 mm (uzunluk-genişlik-kalınlık) civarındadır (Karkacier ve Artık 1995; Battle ve Tous 1997).

Meyve olgunlaşmadan önce açık yeşilken olgunlaşan meyve koyu kahverengi renk alır (Şekil 2.5). Meyvenin kimyasal kompozisyonu bitkinin yetiştiği toprağın çeşidine, kökenine ve hasat zamanına bağlı olarak değişebilmektedir (Karkacier ve Artık 1995; Battle ve Tous 1997).



Şekil 2.4. Keçiboynuzu meyvesinin kısımları: Meyve eti (A, B), Tohum (C) (Battle ve Tous 1997)

Dünyada toplam keçiboynuzu meyvesi üretiminin 315,000 ton/yıl olduğu tahmin edilmektedir. Bu üretimin %42'si İspanya'da, %16'sı İtalya'da, %8'i Fas'ta, %6'sı Portekiz'de, %6,5'i Yunanistan'da, %5,5 Kıbrıs'ta (özellikle de Kuzey Kıbrıs Türk

Cumhuriyeti) ve %4,8'i Türkiye'de gerçekleşmektedir. Türkiye, Kuzey Kıbrıs ile birlikte yaklaşık 35,000 ton keçiboynuzu meyvesi üretmektedir (FAO 2019).



Şekil 2.5. Keçiboynuzu meyvesi

Keçiboynuzu meyvesi besleyici değeri oldukça yüksek bakla yapısında bir meyvedir. Günümüze kadar birçok farklı araştırmacı tarafından incelenen bu meyve oldukça yüksek miktarda şeker, mineral madde ve fenolik madde içermektedir (Avallone vd 1997; Yousif ve Alghzawi 2000; Kumazawa vd. 2002; Biner vd. 2007; Özcan vd 2007; Khlifa vd. 2013; Oziyici vd. 2014). Keçiboynuzunda en fazla bulunan mineral potasyum, en fazla bulunan fenolik madde ise gallik asittir (Çizelge 2.2 ve Çizelge 2.3). Buna ek olarak içerdiği D-pinitol ve türevleri olan siklik alkoller ve diyet lifi de keçiboynuzu meyvesinden fonksiyonel ürünlerin üretilmesine olanak sağlamaktadır.

Çizelge 2.1. Keçiboynuzu meyvesinin kimyasal kompozisyonu (Avallone vd 1997; Yousif ve Alghzawi 2000; Kumazawa vd. 2001; Ayaz vd. 2007; Camero ve Merino 2004; Biner vd. 2007; Özcan vd. 2007; Khlifa vd. 2013; Youssef vd. 2013)

Bileşen	Konsantrasyon (g/100g)
Nem	5,29-11,07
Protein	2,74-6,00
Yağ	0,23-1,15
Diyet lifi	6,90-10,99
Tanen	3,15-4,37
Toplam kül	2,79-2,99
Toplam şeker	45,00-71,90
Siklik şeker alkoller	3,6-12,6

Çizelge 2.2. Keçiboynuzu meyvesinde bulunan mineral maddeler ve miktarları (Özcan vd. 2007, Khlifa vd. 2013, Youssef vd. 2013)

Mineral Madde	Miktar (g/100g yaş meyve ağırlığı)
Potasyum	45,69 – 148,24
Magnezyum	8,63 – 9,63
Fosfor	7,71 – 32,62
Sodyum	1,06 – 7,58
Kalsiyum	11,23 – 29,11
Mangan	0,03 – 0,54
Bakır	0,03 – 0,27
Demir	0,21 – 2,56
Çinko	0,05 – 0,13

Çizelge 2.3. Keçiboynuzu meyvesi fenolik madde içeriği (Owen vd. 2003)

Fenolik Madde	Miktar (mg/kg)
Gallik Asit	1647,5
1,2,3,6-Tetra-O-galloyl- β -d-glucose	571,4
1,2,6-Tri-O-galloyl- β -d-glucose	418,9
Kuersetin Ramnosit	403,4
Mirisetin Ramnosit	366,1
1,6-Di-O-galloyl- β -d-glucose	157,4
Mirisetin Glukozit	62,2
Sinamik Asit	49,3
Metil Gallat	40,6
Luteolin	37,8
Chrysoeriol	29,9
Kuersetin Arabinosit	27,8
İsorhamnetin	20,1
Kaempferol Ramnosit	19,1
Naringenin	18,9
Ferulik Asit	16,3
Mirisetin	14,4
Apigenin	12,8
Kuersetin	12,1
Kumarik Asit	11,3
Trisetin 3',5' dimetil eter	3,1
Şiringik Asit	2,4
Kaempferol	1,4
Genistein	0,5

Keçiboynuzu meyvesinden üretilen en yaygın ürün keçiboynuzu pekmezidir. Pekmez üretiminde meyve eti ve tohumlar ayrılmaktadır. Bu tohumlar da ticari olarak önemli bir ürün olan keçiboynuzu zakkı üretiminde kullanılmaktadır. Yakın zamanlarda meyve eti üzerine yapılan araştırmalar sonucunda meyvenin etli kısmının pekmez harici

değerli ürünlerin üretiminde de kullanılabileceği anlaşılmıştır. Keçiboynuzu unu, şeker şurubu, biyogübre ve D-pinitol keçiboynuzundan üretilen güncel ürünlere örnek verilebilir (Petit ve Pinilla 1995; Yousif ve Alghzawi 2000; Parrado vd. 2008). Bunlara ek olarak keçiboynuzu içerdiği yüksek miktardaki şekerler ve mineral maddeler nedeniyle biyoteknolojik çalışmalarda da besi ortamı olarak kullanılmaktadır. Etanol (biyoetanol) üretimi keçiboynuzunun hammadde olarak kullanıldığı başlıca alanlardan biridir.

2.2.1. Keçiboynuzu pekmezi

Ülkemizde keçiboynuzu meyvesi genellikle pekmez üretiminde kullanılmaktadır. Keçiboynuzu meyvesi (Şekil 2.6) yüksek miktarda şeker içeriğine ek olarak mineral ve fenolik maddelerce de zengin olduğundan (Çizelge 2.4) pekmezi oldukça besleyici bir gıda olarak kabul edilmektedir (Karkacier ve Artık 1995; Turhan vd. 2007).

Çizelge 2.4. Keçiboynuzu pekmezinin bazı besin öğeleri ve miktarları (Turhan vd. 2007)

Bileşim Öğesi	Miktar
Toplam Kuru Madde (%)	71-72
Toplam Şeker (%)	62-63
İndirgen Şeker (%)	16-17
Sakkaroz (%)	44-45
Toplam Fenolik Madde	1.32-1.62
Titrasyon Asitliği (%)	0.86-0.87
pH	5.10- 5.18
Potasyum (mg/100g)	10255.1-10573.8

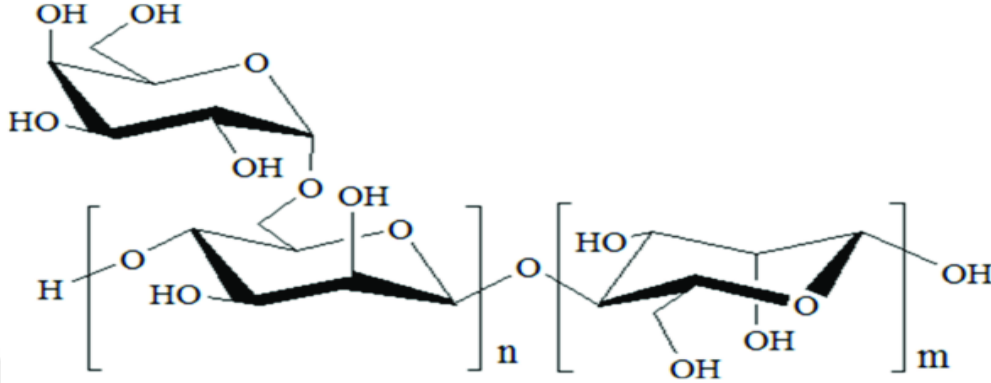
Keçiboynuzu pekmezi meyvenin tohumlarından ayrılıp parçalandıktan sonra su ile ekstrakte edilmesi sonucunda elde edilen ekstraktın 70° Bx değerine kadar konsantre edilmesiyle üretilmektedir (Şimşek ve Artık, 2002).



Şekil 2.6. Keçiboynuzu pekmezi

2.2.2. Keçiboynuzu gamı (Locust Bean Gum)

Keçiboynuzu gamı (LBG- Locust Bean Gum), keçiboynuzu tohumlarından üretilen bir gıda katkı maddesidir. Beyaz renkli bir polisakkarit olan galaktomannan (LBG) (Şekil 2.7) tohumun endosperm tabakasından üretilmektedir.



Şekil 2.7. Galaktomannan molekülünün yapısı

Gam üretimi için öncelikle keçiboynuzu meyvesinden tohumlar ayrılır. Bu ayrılma işlemi gıda endüstrisinde genellikle ısı yolla veya asitle muamele edilerek gerçekleşir. Soyma işlemi esnasında hedef içerideki endosperm ve embriyoya zarar vermeden kabuktan kurtulmaktır. Asitle muamele edilen tohumların zarları etkili bir yıkama ve fırçalama işlemiyle temizlenir. Soyulma aşamasından sonra elde edilen endosperm tabaka öğütülerek istenen forma getirilir (Şekil 2.8) (Battle ve Tous 1997; Lazaridou vd. 2000).



Şekil 2.8. Keçiboynuzu gamı

Keçiboynuzu gamı yüksek viskoziteli jel oluşturması ve geniş pH aralığında çalışarak çok çeşitli ürünlerin formülasyonunda kullanılabilmesi sayesinde başta gıda endüstrisi olmak üzere kozmetik, kağıt – ambalaj ve eczacılık gibi farklı alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Lazaridou vd. 2000).

Gıda katkı maddesi olarak keçiboynuzu gamı çok çeşitli amaçlarla oldukça geniş bir yelpazede kullanılmaktadır. Çizelge 2.5’de kullanılan gıdaya bağlı olarak keçiboynuzu gamından beklenen çeşitli fonksiyonel özelliklere örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.5. Keçiyoynuzu gamının kullanım alanlarına göre özellikleri (Turhan 2005)

Fonksiyonel Özellik	Endüstriyel Örnek	Kullanım Oranı
Adhezyon	Şekerlemeler ve İçecekler	0,2-0,5
Bağlayıcı Ajan	Hayvansal Gıdalar	0,2-0,5
Vücut Ajanı	Diyabetik İçecekler	0,2-1,0
Kristalizasyon Önleyici	Dondurma, Dondurulmuş Gıdalar, Ekmek	0,1-0,5
Bulanıklık Önleyici	İçecekler	<0,1
Diyet Lifi	Tahıllar ve Ekmek	0,2-0,5
Köpük Stabilizatörü	Dondurmalar	0,1-0,5
Jelleştirici Ajan	Pudingler, Tatlılar ve Şekerlemeler	0,2-1,0
Şekillendirici	Droplar ve Şekerlemeler	0,5-2,0
Koruyucu Kolloid	Tatlandırıcı Emülsiyonlar	0,2-0,5
Sterilize Edici Ajan	Mayonez ve Dondurmalar	0,1-0,5
Süspanse Edici Ajan	Çikolatalı Sütler	<0,1
Şişirici Ajan	Et ve Et ürünleri	0,2-0,5
Sinerjist Ajan	Light Peynirler ve Dondurulmuş Gıdalar	0,2-0,5
Koyulaştırıcı Ajan	Reçeller, Soslar ve Bebek Gıdaları	0,2-0,5

2.2.3. Keçiboynuzu unu

Keçiboynuzu unu, keçiboynuzu meyvesinin tohumlarından ayrılmasından sonra kalan meyve eti kısmı kurutulup öğütülmesiyle elde edilen yarı mamül bir gıdadır (Şekil 2.9). Günümüz dünyasının değişen beslenme ihtiyaçlarına bağlı olarak zamanla birçok gıda formülasyonunda farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Yousif ve Alghzawi 2000). Keçiboynuzu meyvesinin besleyici değerinin yanı sıra yüksek mineral ve fenolik madde içermesi keçiboynuzu ununu değerli bir gıda yapmaktadır.



Şekil 2.9. Keçiboynuzu unu

Ceylan ve Muştı (2021), gerçekleştirdikleri çalışmada hedef grubu çölyak hastaları olan keçiboynuzu unu bazlı glütensiz kurabiye formülasyonu üzerine çalışmışlardır. Çölyak hastalığı glütenin sindirilememesine bağlı gelişen bir hastalık olması nedeniyle glüten içeren buğday ununa alternatif ürünler aranmaktadır. Araştırmada oransal olarak buğday ununun yerine kullanılan keçiboynuzu unuyla üretilen son ürünü tadan panelistler ürünü oldukça beğendiklerini ortaya koymuşlardır. Ayrıca geleneksel bir Türk ürünü olan tarhanada da çeşitli unların denendiği çalışmalar mevcut olup keçiboynuzu da bu unların arasında yer almıştır. Keçiboynuzu unu kullanılan tarhanaların fenolik bileşikler ve mineral maddelerce zenginleştiği, aynı zamanda glütensiz oluşuyla da ürüne fonksiyonellik kazandırdığı bilinmektedir (Dadalı ve Elmacı 2021).

Keçiboynuzu unu kafein ve teobromin içermemesi dolayısıyla kakao ikamesi olarak çeşitli gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Pawlowska vd. (2018) yürüttükleri araştırmada küçük kakaolu keklerde kakao yerine keçiboynuzu unu kullanarak son üründe fizikokimyasal ve duyuşsal değişimleri incelemişlerdir. Kakao ikamesi olarak kullanılan keçiboynuzu unu son üründe duyuşsal analizi gerçekleştiren panelistler tarafından beğenilmiştir. Kimyasal analizler sonucunda ise keçiboynuzu unu kullanılan ürünlerin antioksidan kapasitesinin daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda keçiboynuzu ununda bulunan şekerler ürünü daha tatlı hale getirdiğinden ürün içinde kullanılan beyaz şekerin de miktarının azaltılabileceği; böylece beyaz şeker de alternatif olarak kullanılabileceği ortaya çıkmıştır.

2.2.4. Şeker şurubu

Keçiboynuzu meyvesi kuru ağırlığının %50-70'i arasında şeker içermektedir. Dolayısıyla pekmez üretiminde kullanımı oldukça yaygındır. Bu nedenle gelişen gıda sektörünün alternatif şeker kaynağı arayışı doğrultusunda şeker şurubu üretiminde de kaynak olarak tercih edilebilmektedir. Şeker şurubu üretiminde pekmez üretiminden farklı olarak renksiz ve kokusuz bir son ürün üretimi hedeflenmektedir. Bu durum saflaştırma basamaklarının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Petit ve Pinilla (1995) keçiboynuzu meyvesinden şeker şurubu üretimi üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada keçiboynuzu meyvesinin şeker kamışından daha yüksek miktarda şeker içermesi dolayısıyla şeker şurubu üretimine uygun bir meyve olduğunu belirtmişlerdir. Kurguladıkları kesiksiz çalışan ve arka arkaya seri bağlanmış iyon değiştirici reçineler içeren kolon sistemi sayesinde 62° Bx ve %93 saflıkta, renksiz ve kokusuz şeker şurubu elde etmişlerdir.

Keçiboynuzundan şeker şurubu üretilmesi üzerine patenti alınmış başka bir çalışmada ise kristal şeker üretimi basamakları olan dekalsifikasyon, iyon değiştirici reçineler kullanılmıştır. Bu teknikler sayesinde meyvenin doğal yapısından gelen koku - renk özellikleri giderilmiş ve % 55-75'ini sakkaroz, % 7-15'ini fruktoz, % 7-16'sını glukoz, % 0.5-3'ünü diğer şekerler, % 4-14'ünü siklitoller ve % 0.5-2'sini ise diğer organik safsızlıkların oluşturduğu bir şeker şurubu elde edilmiştir (Diaz 1997).

2.2.5. Biyolojik gübre üretimi

Günümüzde çeşitli sektörlerin atıklarının ekonomiye ve çevreye geri kazandırılması gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Atıkları oldukça değerli olan sektörlerden en önemlisi de gıda sektörüdür. Keçiboynuzu meyvesinden üretilen çeşitli ürünler sonrasında keçiboynuzu meyvesinin ve çekirdeğinin besleyici öğelerini de hala içinde bulunduran yan ürünler ortaya çıkmaktadır (Parrodo vd. 2008).

Rishani ve Rice (1988), araştırmalarında o yıllarda yaygın olarak Lübnan'dan getirilen ve saksı çiçekleri için üretilen toprakların zenginleştirilmesinde kullanılan bataklık yosununa alternatif bir ürün olarak öğütülmüş keçiboynuzu kullanımını araştırmışlardır. Bitki gelişiminde olumlu etkiler gösteren keçiboynuzu meyvesi içeren toprak karışımlarının sektörel uygunluğu ortaya konmuştur.

Cabechina vd. (2010), yürüttükleri araştırmada keçiboynuzu tohumlarının işlenmesinden kalan atıklarının toprağı organik elementlerce zenginleştirmedeki kullanılabilirliğini incelemişlerdir. Domates fideleri üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada toprağı farklı oranlarda keçiboynuzu çekirdeğı atığı karıştırılmış ve bitkinin gelişmesi gözlemlenmiştir. Sonuç olarak domates fidelerinin yüksek oranda keçiboynuzu çekirdeğı atığı içeren toprak karışımında sağlam bir kök yapısı oluşturduğu, ürün veriminin arttığı ve bitki gelişiminin olumlu etkilendiğı gözlemlenmiştir. Bu durumda araştırmacılar özellikle kök sebzeler üzerinde keçiboynuzu çekirdeğı atığı kullanımının oldukça faydalı olabileceğini de ortaya koymuşlardır.

2.2.6. Hayvan yemi

Keçiboynuzu meyvesi besleyici değerinin yanı sıra ekonomik olarak uyguna ve kolayca ulaşılabilmesi nedeniyle çeşitli hayvanların yem karışımlarında veya doğrudan yem olarak kullanılmaktadır.

Yıldırım ve Kaya (2011), etlik piliçlerde kullanılan karma yeme farklı oranlarda keçiboynuzu tozu eklemiş ve hayvanlarda çeşitli ölçümler gerçekleştirmişlerdir. Yem karışımlarına %5 ve %10 oranında keçiboynuzu tozu eklemenin uygun olacağını ancak oran artırılırsa keçiboynuzu çekirdeğinde bulunan tanenlerin hayvanlarda sindirim sonrası proteinlerin emilimini azaltacağından olumsuz etki yapacağını ortaya koymuşlardır.

Silaj olarak bilinen ve sığır, koyun ve keçi gibi memeli hayvanların geniş zaman aralığında yem ihtiyacının karşılanması amacıyla silolarda saklanan fermente edilmiş yemler olan ürünlerde gerçekleştirilen bir çalışmada çayırotu silajına yemlik keçiboynuzu kırığının katkı maddesi olarak kullanımının etkisi araştırılmıştır (Atalay 2015). Çalışmanın sonucunda keçiboynuzu kırığının silaj kalitesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve optimum karıştırma oranının %4.5 olduğu tespit edilmiştir.

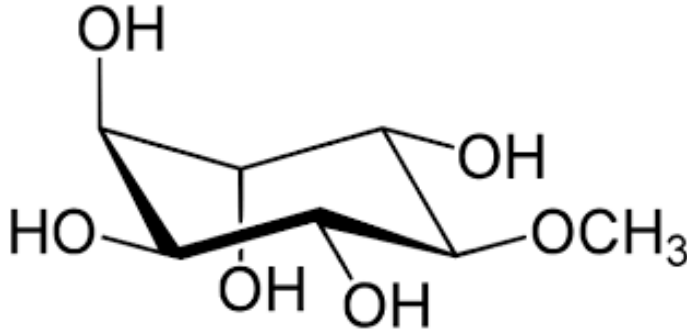
2.2.7. Biyoetanol üretimi

Şeker içeriği yüksek olan keçiboynuzu meyvesinin ekstraktından *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak etanol üretimi Turhan vd. (2010) tarafından incelenmiş olup yenilenebilir ve sürdürülebilir enerji kaynaklarının kullanımının önemini vurgulayarak keçiboynuzu ekstraktından etanol üretiminin desteklenmesi gerektiğini ve mümkün olduğunu ortaya koymuşlardır.

2.2.8. D-pinitol

D-pinitol ilk defa 1855 yılında M. Berthelot tarafından şeker çamının (*Pinus lambertiana*) reçinesinden izole edilmiştir (Anderson 1952). İnsan diyetinde normal olarak bulunabilen bir bileşen olan D-pinitol biyoaktif aktiviteye sahiptir. D-chiro inositolün monometillenmiş hali olan bu bileşenin kimyasal konfigürasyonu Şekil 2.10 'da görülmektedir.

D-pinitol doğal kaynaklardan izole edilebildiği gibi kimyasal yolla laboratuvar koşullarında da sentetik olarak üretilmektedir. Ancak, sentetik D-pinitolün üretiminde verimin düşük olması ve yüksek maliyetli işlemler gerektirmesi sebebiyle bu yol tercih edilmemektedir. Böylelikle doğal kaynaklardan izolasyon daha fazla ön plana çıkmaktadır (Ichimura vd. 1998).



Şekil 2.10. D-pinitolün kimyasal yapısı

D-pinitol çoğunlukla baklagiller familyasına ait bitkilerde görülmekle birlikte çamgiller (*Pinaceae*), papatyagiller (*Asteraceae*), karanfilgiller (*Caryophyllaceae*), yabani kimyongiller (*Zygophyllaceae*), servigiller (*Cupressaceae*), loğusa otugiller (*Aristolochiaceae*) ve sabun ağacıgiller (*Sapindaceae*) familyalarına ait bitkilerde de tespit edildiği araştırmalar mevcuttur. D-pinitol bazı bitkilerin tüm kısımlarında görülürken bazılarında ise sadece yaprak, dal, kök veya reçinede görülebilmektedir (Poongothai ve Sripathi 2013).

2.3. D-pinitol ve Sağlık

Günümüz dünyasında insanların yaşama şekli, kaliteli gıdaya ulaşımın zorluğu ve stres etkisi çeşitli hastalıkların yaygınlaşmasına neden olmuştur. Araştırmacılar D-pinitolün insan sağlığını tehdit eden çeşitli hastalıklara karşı olumlu etkilerini tespit etmişlerdir. Bu hastalıklardan bazıları diyabet, kalp ve damar hastalıkları, çeşitli kanser tipleri, obezite, AIDS, endokrin bozuklukları, otoimmün hastalıklar, polisiklik over sendromu, septisemi ve dislipidemi gibi hastalıklardır. Buna ek olarak stres ve yaşlanmanın olumsuz etkileri ve diyabete bağlı gelişen komplikasyonlar üzerine de olumlu etkileri saptanmıştır (Ortmayer vd. 1992; Ostlund ve Sherman 1998; Nestler vd. 1999).

Halk arasında şeker hastalığı olarak bilinen diyabet insan sağlığını tehdit eden ciddi ve yaygın hastalıklardan birisidir. Diyabet kandaki şekerin aşırı derecede yükselmesiyle karakterize edilen tip 1 ve tip 2 olarak sınıflandırılmış metabolik bir rahatsızlıktır. Tip 1 diyabet genellikle genetik faktörlerle şekillenirken tip 2 diyabet çevresel faktörlerin yoğun etkisi sonucu oluşabilmektedir.

Kandaki şeker seviyesinin regülasyonu hormonların ve çeşitli kimyasal maddenin karmaşık etkileri sonucunda gerçekleşmektedir. Bu hormonlardan en önemlisi pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonudur. Diyabet hastaları insülinin yetersiz salgılanması (tip 1) veya salgılanan insülinin kan şekeri üzerine etkisinin azalması (tip 2) olarak karakterize edilmektedir. Yapılan çalışmalar insan vücudundan D-pinitolün insülini taklit eden metabolik bir yol izlediğini ortaya koymuştur (Davis vd. 2000; Bates vd. 2000; Lambert vd. 2018; Pandi vd. 2022).

D-pinitol kullanılarak çeşitli gıda takviyeleri ve ilaçlar üretilmekte olup D-pinitolün çeşitli hastalıklar üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar gün geçtikçe

artmaktadır. D-pinitol içeren gıda takviyeleri katı ve sıvı formlarda olabilirler. Tablet, kapsül, bar, toz formlar katı; dispersiyon ve emülsiyon su bazlı; oral- damar veya enteral solüsyonlar ise sıvı formlara örnektir (Ostlund ve Sherman 1998).

Ağız yoluyla alınabilen D-pinitol içeren bir gıda takviyesinin kompozisyonu su, maltodekstrin, şeker, mısır yağı, sodyum kazeinat, soya protein izolatu, kalsiyum kazeinat, potasyum sitrat, trikalsiyum fosfat, magnezyum klorür, sodyum sitrat, lesitin, potasyum klorür, kolin klorür, askorbik asit, potasyum hidroksit, E vitamini, A vitamini, K vitamini, biotin, karragenan, çinko sülfat, demir sülfat, niasinamid, potasyum iyodür, bakır glukonat, mangan sülfat ve yapay ve doğal tatlandırıcılardan oluşturulabilmektedir. Bar formunda bir gıda takviyesi üretilecekse bu ürünün kompozisyonunda ise D-Pinitol, öğütülmüş fındık, kuru üzüm, ananas, yüksek maltozlu mısır şurubu, protein karışımı, fruktoz, karamel, bal, lesitin, soya yağı, tuz, magnezyum oksit, vitaminler, mineraller, doğal ve yapay tatlandırıcılar bulunabilmektedir (Ostlund ve Sherman 1998).

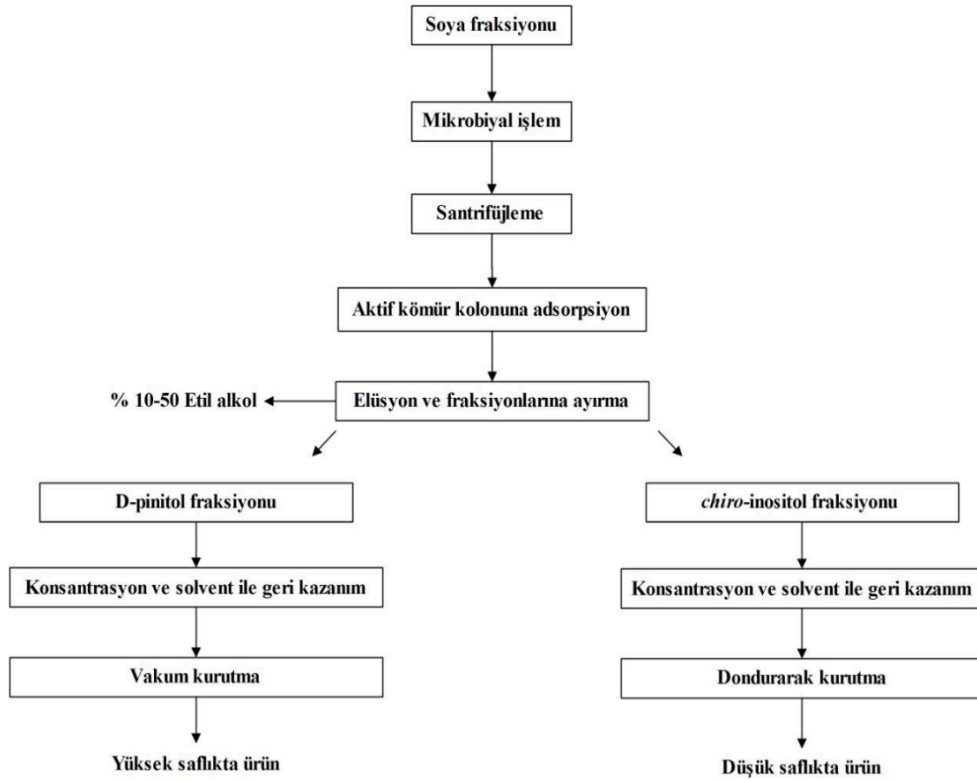
2.4. D-pinitolün Elde Edilmesi Amacıyla Gerçekleştirilmiş Çalışmalar

D-pinitolün insan sağlığı üzerinde toksik etkisinin olmaması ve bunun yanı sıra birçok farklı hastalık üzerinde olumlu etkilerinin olması bu biyoaktif bileşenin saflaştırılması üzerine yapılan araştırmaların sürekli artmasını sağlamıştır.

Dengesiz ve düzensiz beslenme alışkanlıkları insanlarda gıda takviyelerine olan yönelimi artırmıştır. D-pinitol de bu takviyelerde hatta tıbbi ilaçlarda yer alan bir bileşendir. Bu sebeple saflaştırılması gıda ve ilaç endüstrisi açısından önem taşımaktadır.

Günümüze kadar bazı araştırmacılar D-pinitol içeren gıda matriksleri üzerinde farklı ayırıştırma ve saflaştırma teknikleri uygulamışlardır. Bunlar solvent ekstraksiyonu, adsorpsiyon, iyon değiştirme ve mikrobiyolojik işlemler içeren uygulamalardır (Baumgartner vd. 1986; Chafer vd. 2014).

Shin vd (2003) gerçekleştirdikleri çalışmada farklı soya fraksiyonlarından D-pinitol veya *chiro*-inositol elde edilmesinde geri kazanım verimliliğini artırmayı hedeflemişlerdir (Şekil 2.11). Araştırmada D-pinitol türevlerinin farklı mikroorganizma kültürleri kullanılarak serbest D-pinitol formuna dönüşmesi sağlanmıştır. Soya sütü peynir altı suyunda (soybean curd whey) bulunan D-pinitol glukozitleri, D-pinitol fosfatlar, D-pinitol fitatlar, D-pinitol esterleri, D- pinitol fosfolipitleri ve lipit-bağlı D-pinitoller gibi bağlı formdaki D-pinitol türevleri serbest D-pinitol formuna dönüştürülmüştür. Patent altına alınan bu metotta fermentasyon sonunda D-pinitol konsantrasyonunda bir miktar artış meydana gelmiştir (Shin vd 2003). Fermentasyon aşamasından sonra ilgili fraksiyonlarda bulunan hedef bileşikler aktif kömürle tutularak bu kimyasaldan kademeli organik solvent elüsyonu yöntemiyle geri kazanılmıştır. Sonuç olarak %95'lere varan saflık düzeyinde D-pinitol ve *chiro*-inositol elde etmek mümkün olmuştur.



Şekil 2.11. D-pinitolün yüksek saflıkta elde edilmesine ilişkin sistem (Shin vd. 2003)

Camero ve Merino (2004) D-pinitol ve türevlerini yüksek saflıkta elde etmede iyon değiştirme tekniğinden faydalanmışlardır. D-pinitolün güçlü anyonik ve katyonik iyon değiştirici reçinelerle keçiyoynuzu ekstraktından ayrılabilceğini ifade etmişler ve elde edilen D-pinitolün saflık düzeyine kullanılan katyonik ve anyonik reçinelerin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla Na^+ ve Ca^{+2} formundaki güçlü katyonik reçineleri kullandıkları denemede %95 saflıkta D-pinitol elde ettiklerini; OH^- formundaki güçlü anyonik reçine kullandıklarında ise %91 saflıkta D-pinitol elde ettiklerini ortaya koymuşlardır. Ayrıca anyonik reçine kullanımının alkali ortamda şekerlerin dekompoze olmasına neden olduğunu, adsorpsiyonun geri dönüşsüz gerçekleştiğini ve buna bağlı olarak reçinelerin rejenerasyonunda problemler yaşandığını, bunun da yüksek maliyetlere ve reçine ömürlerinin kısa olmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak adsorpsiyon etkileri geri dönüşümlü olan stabil katyonik reçinelerin kullanımının istenen hedefe ulaşmada etkili olacağını ifade etmişlerdir.

D-pinitolün bitkilerin farklı bölgelerinden de ekstrakte edilebildiği bilinmektedir. Vidhate ve arkadaşları (2015) gerçekleştirdikleri çalışmada begonvil (*Bougainvillea spectabilis*) bitkisinin gövde kısmından aldıkları kabukları D-pinitol açısından incelemişlerdir. Etanol ekstraksiyonu ile elde ettikleri ekstraktta %0.1128 verimle D-pinitol olduğunu ortaya koymuşlardır.

2.5. Elektrokoagülasyon

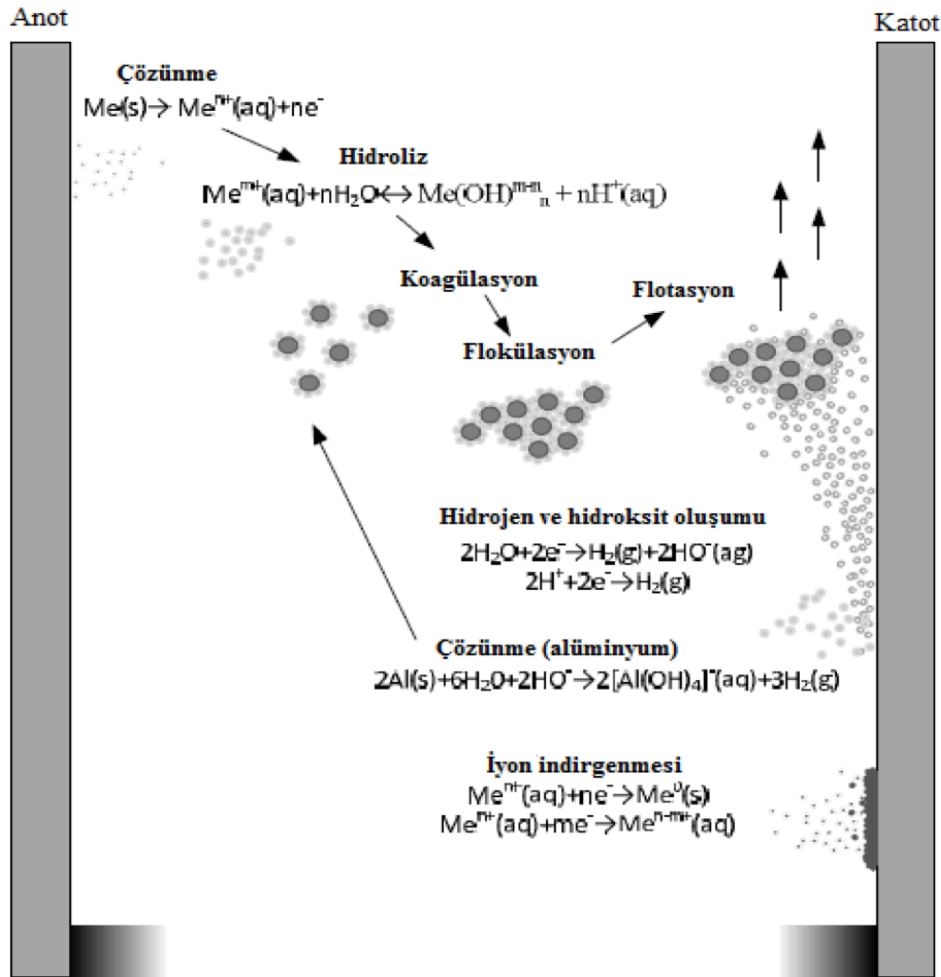
Kolloidal süspansiyon ortamındaki yüklü partiküllerin zıt yüklü iyonlarla çarpışması sonucu nötralize olarak çökelmelerine koagülasyon denmektedir. Genellikle

1-0,1 nm boyutlu parçacıklar kolloidal olarak adlandırılmaktadır. Bu parçacıklar kendiliğinden çökmez ve fiziksel artıma yöntemleriyle ortamdan uzaklaştırılmazlar. Bu parçacıkların hızlı bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmasında elektrokoagülasyon sistemleri kullanılmaktadır (Mollah vd.2001; Ogando vd. 2019).

Bir elektrokoagülasyon mekanizmasında koagülasyon, adsorpsiyon, absorpsiyon, çöktürme ve flotasyon sistemleri aynı anda gerçekleşebilmektedir. Bu süreç üç ana basamakta özetlenirse;

- 1- Elektrolit yüzeylerinde elektrolitik reaksiyonlar
- 2- Sıvı fazda koagülasyon oluşumu
- 3- Kolloidal parçacıkların adsorbe edilmesi, çökelme veya yüzdürme yoluyla ortamdan uzaklaştırılması olarak sıralanabilir (Yılmaz ve Karagözoğlu 2019).

Elektrokoagülasyon sistemini oluşturmak için bir hazne içerisinde anot ve katot elektrotları ve bunlara bağlı bir güç kaynağı gereklidir (Şekil 2.12). Bu amaçla farklı elektrot materyalleri kullanılmaktadır. Alüminyum ve çelik en çok kullanılan elektrotlara örnek olarak verilmektedir (Zaldivar- Diaz vd. 2023).



Şekil 2.12. Elektrokoagülasyon sistemi şematik gösterimi (Akarsu 2014)

Dünya genelinde mevsimsel kuraklığın artması ve doğal kaynak sularının çeşitli kirleticilere maruz kalması atık suların arıtılmasının önemini arttırmaktadır. Atık sular arıtıldıktan sonra çeşitli amaçlarla değerlendirilmektedir. Tarımsal alanların sulanması ve evsel ve endüstriyel su ihtiyacına yedek kaynak oluşturmaları bu amaçlara birer örnektir. Gıda endüstrisi yoğun atık su bertarafına ihtiyaç duyan bir sektördür. Bu sektörde ortaya çıkan atık suların yapısında organik ve inorganik madde yükü oldukça yüksek olduğundan arıtılması bertarafında oluşturabileceği çevre problemleri açısından oldukça önemli bir ihtiyaçtır.

Süt endüstrisi gıda sektöründe su tüketimi en yüksek üretim alanlarından biridir. Bu sebeple atık suların bertaraf edilmesi oldukça önem taşımaktadır. Bazrafshan vd. (2012) süt endüstrisinde açığa çıkan atıksuların elektrokoagülasyon sistemi yardımıyla arıtılması üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada alüminyum elektrotlarla yüksek gerilimde (60 V) gerçekleşen elektrokoagülasyon işleminin organik ve inorganik kirleticilerin ve koliform bakterilerin giderilmesinde etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Genel olarak atık suların arıtılmasında kullanılan elektrokoagülasyon işlemi atık sularda bulunan farklı karakterdeki maddeler üzerine etkilidir. Tekstil sanayinde sulara karışan boyaların giderilmesi ve gıda sanayinde atık sulardan yağ ve inorganik materyaller gibi kirleticilerin uzaklaştırılmasında kullanımı oldukça yaygındır (Yaqub vd. 2023; Wang vd. 2023; Patel vd. 2022). Günümüzde bu teknik üzerine yapılan araştırmalar elektrokoagülasyon sistemlerinin genel kullanım alanları harici yeraltı sularına karışan arsenik ve atık sulardan mikroplastiklerin giderilmesinde de etkili olduğunu ortaya koymuştur (Das vd. 2022; Shen vd. 2022).

Elektrokoagülasyon prosesinin kullanım alanı oldukça geniş olup geçmişten günümüze farklı alanlarda üzerine birçok araştırma yürütülmüştür. Çizelge 2.6'da bu araştırmalardan örnekler verilmiş olup her birinde kullanılan çeşitli parametreler belirtilmiştir.

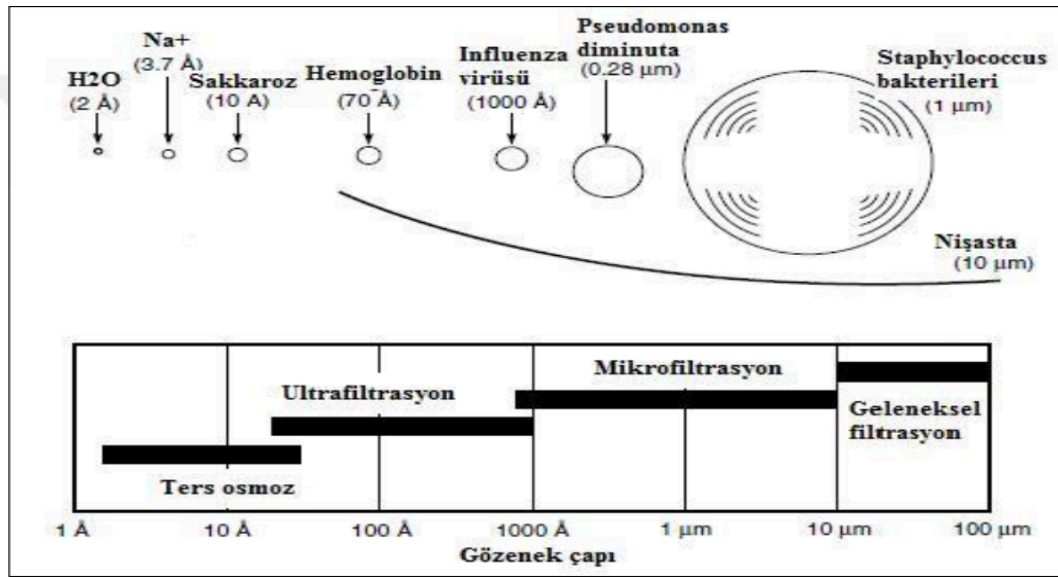
Çizelge 2.6. Çeşitli alanlarda gerçekleştirilmiş elektrokoagülasyon çalışmaları

Araştırmacılar	Materyal	Plaka Çeşidi	Akım Yoğunluğu (mA/cm ²)	Plaka Aralığı (cm)	İşlem Süresi (dk)
Koby vd. 2006	Kümes hayvanları kesimhanesi atıksuyunun arıtılması	Demir	200	1,1	25-40
Kartal vd. 2008	Zeytinyağı karasuyundan organik madde giderimi	Alüminyum Çelik	22,5 – 33,75	0,2	15-30-60
Bayar vd. 2012	Atıksulardan Red 23 boyar maddesi giderim	Alüminyum	0.1	0,5	30
Ahmadi vd. 2013	Biyodizel üretimi atıksuyundan yağın uzaklaştırılması	Demir	10-12,5	1	25
Solak vd. 2018	Patates cipsi atıksuyundan fosfor giderimi	Alüminyum Demir	65	0,5	40-60

Hacıoğlu (2024), çalışmasında elektrokoagülasyonun gıda alanında kullanımında yeni bir bakış açısı ekleyerek stevia bitkisinden steviol glukozitlerin saflaştırılmasında elektrokoagülasyondan faydalanmıştır. Stevia bitkisinden steviol glukozitlerin saflaştırılmasını amaçlayan bu çalışmada öncelikle dekantör ekstraksiyonuna tabi tutulan stevia bitkisi ardından elektrokoagülasyon, membran filtrasyon ve adsorpsiyon teknikleriyle muamele edilerek sonuçta yaklaşık kuru madde bazında %90 toplam steviol glukozit elde edilmiştir.

2.6. Membran Filtrasyon

Membran filtrasyon sistemleri kullanılan membranın gözenek çapına ve ayırma sınırına bağlı olarak adlandırılmaktadır. Yaygın olarak bu sistemler mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters ozmos olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Farklı gözenek çaplarına sahip membran filtrasyon sistemleri (Baker 2004)

Sıvı akışının filtreye dik olduğu klasik filtrasyon sistemlerinden farklı olarak membran filtrasyonda sıvı akışı ve membran çapraz konumlanmaktadır. Böylece membran filtrasyonda sıvının akışı membrana paralel olarak gerçekleşmekte ve askıda kalan partiküllerin membran yüzeyinde kalarak yüzeyin hızlı tıkanmasının önüne geçmektedir. Bu durum klasik filtrasyona karşı membran filtrasyonun en büyük avantajlarından biridir (Öziyici 2014).

Membranlar poliakrilonitril, polivinil klorid-poliakrilonitril kopolimerleri, polisülfon, polietersülfon, polivinilidenflorid, bazı aromatik poliamidler ve selüloz asetat gibi materyallerden üretilmektedirler. Bunlardan polietersülfon (PES) membranlar geniş pH aralığında ve yüksek sıcaklıklarda işlem olanağı sunması sayesinde en fazla tercih edilenlerdir (Baker 2004). Aynı zamanda geniş bir gözenek çapı aralığına sahip ve alifatik hidrokarbonlara, alkollere ve asitlere karşı iyi düzeyde kimyasal dayanıklılığa sahip olmaları PES membranların en önemli özelliklerindendir.

Gıda endüstrisinde ultrafiltrasyon işlemi en çok süt endüstrisinde sütün konsantre edilmesinde veya seçici olarak laktoz ve tuzların ayrıştırılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca sakkaroz çözeltisinin ve domates salçasının konsantre edilmesinde, biracılık ve damıtık içki endüstrisinde atıkların işlenmesinde, enzimlerin, proteinler ve pektinin ayrıştırılması ve konsantrasyonunda, bal ve şuruplardan protein bulanıklığının uzaklaştırılmasında da ultrafiltrasyon işleminden yararlanılmaktadır. İşletmelerde kullanılan suyun bakteri ve diğer kontaminantlardan arındırılmasında ve ters osmoz membranlarının süspanse organik materyaller ve kolloidal bileşiklerle tıkanmasını önlemek amacıyla da ultrafiltrasyon işlemi kullanılmaktadır (Charcosset 2021).

2.7. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon; temas ettikleri yüzeyin çekme kuvvetine bağlı olarak moleküllerin yüzeye tutunması, başka bir deyişle iki faz arasında kalan yüzeyde konsantrasyonunun artmasıdır (Hamutoğlu, vd. 2012).

Adsorpsiyon tekniğinde sıvı veya gazların bağlandığı özel katılara “adsorbent”, yüzey üzerinde tutunan yani adsorplanan maddeye ise “adsorbad” denmektedir. Adsorpsiyonun iki tipi olmakla beraber bunlar adsorplanan molekülün yüzeye ilişkisine göre isimlendirilmişlerdir. Bunlar fiziksel, kimyasal ve iyonik adsorpsiyondur. Fiziksel adsorpsiyonda moleküller yüzeye zayıf Van der Waals bağlarıyla bağlanırlar, kimyasal adsorpsiyonda moleküller yüzeye kuvvetli kimyasal bağ yaparak tutunurlar. İyonik adsorpsiyonda ise moleküller elektrostatik çekim kuvvetlerinin etkisi ile yüzeyde tutulmaktadır (Demir ve Yalçın 2014).

Zeolit, kil, perlit, aktif karbon, silikajel, reçineler ve çeşitli polimerler farklı endüstrilerde çok geniş kullanım alanı bulan adsorbentlerdir. Reçineler bu adsorbentler içinde oldukça fazla tercih edilen ve aynı zamanda iyon değiştiriciler olarak da bilinen katı maddelerdir. İyon değiştirici reçineler hidrokarbon iskeletlerine bağlı olan fonksiyonel gruplara göre anyon veya katyon değiştirici reçineler olarak ikiye ayrılmaktadır (Demir ve Yalçın 2014).



Şekil 2.14. İyon değiştirici reçine

2.8. Box- Behnken Cevap Yüzey Yöntemi

Yanıt yüzey yöntemi, 1951 yılında P. Box ve B. Wilson tarafından geliştirilmiş istatistiksel bir veri değerlendirme ve optimizasyon metodudur. Öncelikle kimya endüstrisinde kullanıldığı bilinen bu metot günümüzde biyoteknoloji, çeşitli mühendislik dalları, fiziksel bilimler gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Özellikle gıda endüstrisinde pastörizasyon, ekstraksiyon, biyoteknolojik çalışmalar, kurutma, pişirme, enzim üretimi, fermantasyon gibi işlemlerin olduğu araştırmalarda sıkça kullanılan bir metottur (Quanhong and Chaili 2005; Bezerra vd. 2008; Ghafoora vd. 2010).

Yanıt yüzey metodu (Response Surface Methodology) istatistiksel ve matematiksel terimleri proseslerin optimizasyonu ve geliştirilmesi için bir arada kullanan bir yöntemdir. Bu yöntemin temelini her bir aşamada elde edilen verilerin onu takip eden bir diğer aşamada kullanılması oluşturmaktadır. Bu metodun uygulanması sırasında öncelikle sistemi karakterize etme potansiyeline sahip yanıtların (performans ölçüleri) ve bu yanıtların üzerinde etkiye sahip faktörlerin (değişkenlerin) tanımlanması gerekmektedir.

Yanıt yüzey yöntemi, geleneksel optimizasyon yöntemlerinin aksine araştırılan sistemin vereceği yanıtları etkileyen birden çok sayıda değişkeni eş zamanlı olarak inceleyebilme olanağı sunması dolayısıyla prosesin işlem parametrelerindeki değişimlere olan yanıtlarını en az deneme sayısı ile ortaya koyabilme avantajı sağlamaktadır. Bu durum araştırmacılara hem maliyet hem de zaman açısından büyük kazanımlar sağlamaktadır (Bezerra vd. 2008).

Yanıt yüzey yönteminin başlıca basamakları denemelerin dizaynı, model geliştirilmesi, varyans (ANOVA) analizi ve optimizasyon olarak sıralanabilir.

Prosesler için belirlenen bağımsız değişkenler ve yanıtlar arasındaki ilişki çoğu zaman önceden tahmin edilememektedir. Bu sebeple Yanıt Yüzey Metodu bağımsız değişkenler ve yanıtlar arasındaki doğru fonksiyonel ilişki için bir yaklaşım geliştirmektedir. Sistemin verdiği cevaplar lineer bir fonksiyon ile modellenenirse o zaman yaklaşım fonksiyonu eşitlik 2.1’de görüldüğü gibi birinci dereceden bir modeldir. Sistemde eğrilik tespit edilir ise ikinci dereceden polinomiyal model yani eşitlik 2.2’de görüldüğü gibi daha yüksek dereceye sahip bir modelin kullanımı söz konusudur (Myers vd. 2009).

Eşitlik 2.1 Lineer Yaklaşım Modeli (Montgomery,2001)

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_k X_k + \epsilon$$

Eşitlik 2.2 Polinomiyal Yaklaşım Modeli (Montgomery,2001)

$$y = \beta_0 + \sum^m$$

Genellikle çoğu RSM probleminde bu iki model kullanılabilir ancak küçük alanlarda daha iyi çalışan polinomiyal model doğru bir fonksiyonel ilişki için daha iyi bir yaklaşımdır (Dean ve Voss 1999; Montgomery 2001).

Yanıt Yüzey Metodunda, regresyon modeli, dizayn edilmiş denemelerden elde edilen verilere uygunluk göstermelidir. Elde edilen model yalnızca yaklaşım olduğundan, tahmin edilen değerler ile deneysel olarak elde edilen değerler arasındaki fark (kalıntı), sadece deneysel hatayı değil model formunun uygunsuzluğundan (lack of fit) kaynaklanan hatayı da içinde barındırmaktadır. İdeal durumda, F -değerinin model uygunsuzluğu için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması modelin uygunluğunun test edilmesi için yeterli görülmektedir (Eren 2004). Ancak daha iyi bir tahminleme yapılabilmesi için modelin uygunluğu, “yeterli kesinlik (Adequate Precision)” istatistiği ile belirlenebilmektedir. Buna göre Adequate Precision değerinin en az “4” olması gerektiği bildirilmektedir (Eren 2004).

Prosesin optimizasyonu için seçilen parametrelere bağlı olarak “desirability” fonksiyonu oluşturulmaktadır. Bu fonksiyonlar 0-1 değerleri arasında değişim gösteren değerler vermektedir. Her bir yanıt için ayrı ayrı hesaplanan “desirability” değerleri yanıtlar istenen değere doğru yaklaştıkça 1’e; uzaklaştıkça 0’a doğru yaklaşır. Son olarak her yanıt için elde edilen “desirability” fonksiyonu tanımlanıp hesaplanmakta, sonra geometrik ortalaması hesaplanarak tüm yanıtları içine alan ortak bir “desirability” değeri elde edilmektedir (Eren 2004). Lazic (2004)’e göre “desirability” fonksiyonlarının standart tahminleme skalası Çizelge 2.6’daki gibidir.

Çizelge 2.7. Lazic (2004)’ e Göre “Desirability” Fonksiyonlarının Standart Tahminleme Skalası

Standart Tahminleme	İstenen
1	Mükemmel
1- 0,8	Çok İyi
0,8 – 0,63	İyi
0,37 – 0,20	Yeterli
0,37 – 0,20	Kötü
0,2 – 0	Çok Kötü

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Tez çalışmasında başlangıç materyali olarak ticari keçiboynuzu konsantresi kullanılmıştır. Konsantre Antalya ilinde keçiboynuzu ekstraksiyonu (pekmez üretimi) yapan bir kuruluştan temin edilmiştir. Alüminyum kutuda 25 kg'lık ambalajlarda gelen ekstraktlar analizlere kadar serin, güneş görmeyen ve kuru bir bölgede depolanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Keçiboynuzu ekstraktının fermentasyonu

Keçiboynuzu konsantresinden D-pinitolün saflaştırılmasında konsantrenin doğal olarak fazla miktarda içerdiği şekerler (sakkaroz, glukoz ve fruktoz) saflaştırma işlemini zorlaştırmaktadır. Bu şekerlerin ortamdaki uzaklaştırılması fermentasyon işlemiyle gerçekleştirilmiş olup bu amaçla Turhan vd. (2010) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır.

Keçiboynuzu konsantresi öncelikle 5°Bx değerine seyreltilmiş ardından ortamdaki şekerlerin tamamını kullanarak etil alkole dönüştüren özel bir serotip olan *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 36858) kullanılarak fermente edilmiştir. Fermentasyon ortamı Turhan vd. (2010) tarafından belirlenen koşullar esas alınarak ayarlanmıştır. Proses 30 L hacimli bir biyorektörde (Sartorius Stedim-Biostat C Plus, Almanya) gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon denemelerinin gerçekleştirildiği sistem Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Fermentasyon denemelerinin gerçekleştirildiği reaktör sistemi

Saccharomyces cerevisiae (ATCC 36858) hücrelerinin fermentasyon ortamında halihazırda bulunan şekerleri tamamen kullanması hedeflendiği için ortama ayrıca karbon kaynağı ilavesi yapılmamıştır. Ancak, fermentasyon için gerekli olan diğer zenginleştirme materyalleri ortama eklenmiştir. İlave edilen maddeler ve miktarları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Fermentasyon ortamına ilave edilen maddeler (Turhan vd. 2010)

İlave edilen maddeler	Miktar (g/L)
Maya Ekstraktı	6
Kalsiyumklorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,3
Amonyumsülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	4
Magnezyumsülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1
Potasyumdihidrojenfosfat (KH_2PO_4)	1,5

Fermente edilen keçiboynuzu ekstraktı öncelikle 4000 rpm hızında santrifüj edilmiş ardından kaba filtreden geçirilerek elektrokoagülasyon denemelerinde kullanılmak üzere 3 L hacimde plastik bidonlara doldurulup -18°C ’de dondurucuda saklanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Elektrokoagülasyon denemelerinde kullanılan fermente keçiboynuzu ekstraktları

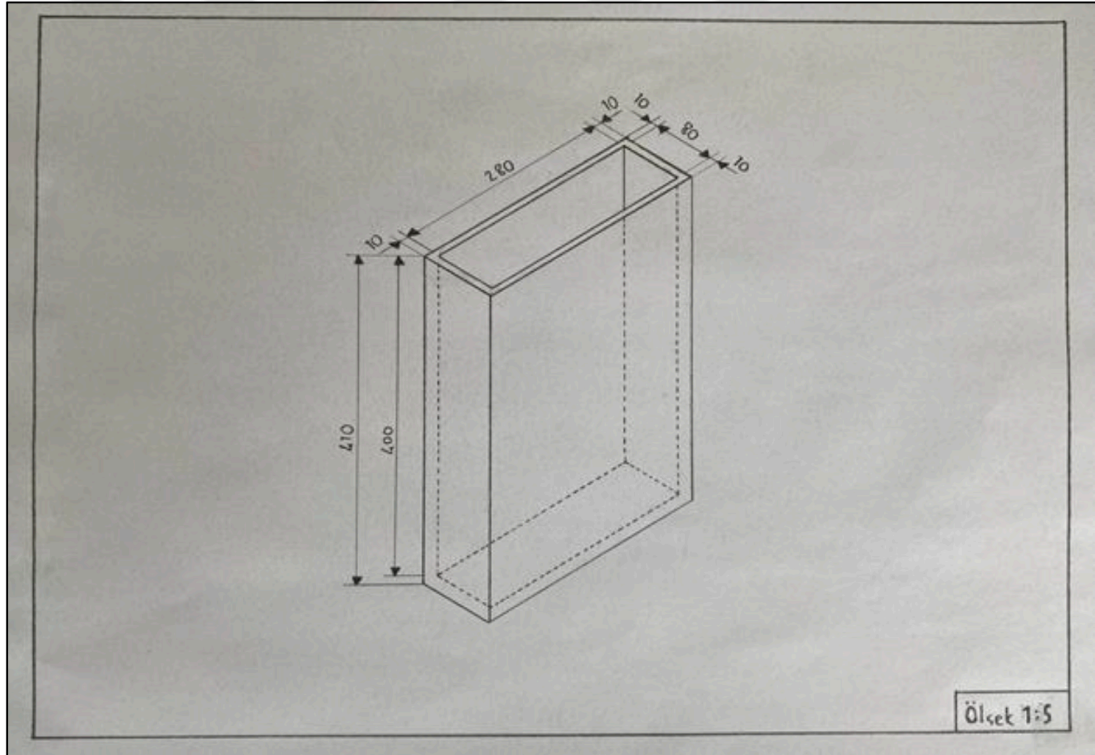
3.2.2. Fermente keçi boynuzu ekstraktının elektrokoagülasyonu

Fermente keçi boynuzu ekstraktının elektrokoagülasyonu (EK) için hem bu çalışmada hem de laboratuvarımızda gerçekleştirilmiş başka bir tez çalışmasında kullanılmak üzere bir elektrokoagülasyon sistemi dizayn edilmiştir. Sistemin parçalarının teknik çizimi ve kurgulanması aşamasından sonra sistemin cam elemanları Antalya Akdeniz Sanayi bölgesinde bulunan bir cam ürün tesisi olan HRT Cam firmasında, metal levhalar ise özel bir lazer kesim işletmesinde plakadan kesim yapılarak üretilmiş ve kurulum için Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarına getirilmiştir.

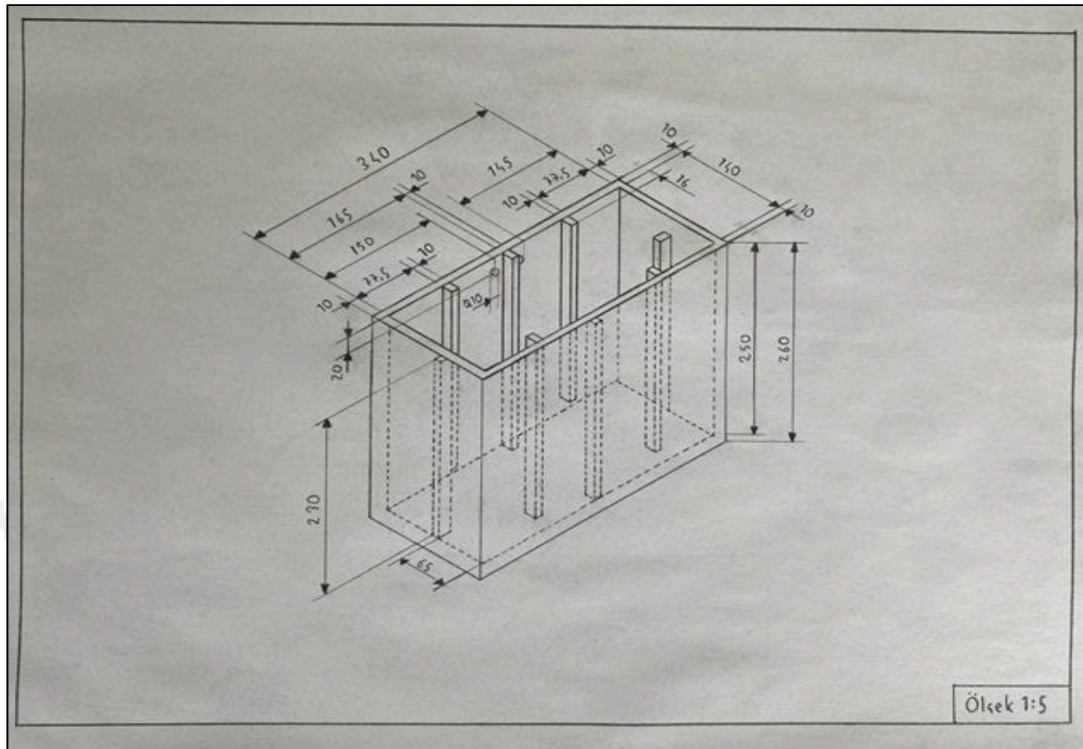
EK sistemi;

- Elektrot plakalar
- Elektrokoagülasyon reaktörü
- Soğutucu akışkan ünitesi
- Manyetik karıştırıcı (Heidolph, MR Hei- Standard, Almanya)
- Peristaltik pompa (Watson- Marlow, İngiltere)
- Güç ünitesi (redresör, [Artsan, AD3-C200, Türkiye])
- Soğutmalı su banyosundan (Jeio Tech, RW-3025G, Kore) oluşmaktadır.

Soğutucu akışkanın geçeceği cam hazne temperli, 10 mm kalınlıkta ve rodajlı olarak üretilmiştir. Kullanılan elektrot plakalar ile alüminyum (Al) ve 304L paslanmaz çelik (Ç) levhalardan teknik çizimler ile belirlenmiş ebatlarda yüzey alanlara sahip olacak şekilde lazer ile kesilerek üretilmiştir.



Şekil 3.3. EK sisteminin reaktör hücresine ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)



Şekil 3.4. Soğutucu akışkan ünitesine ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)

Güç ünitesi (redresör) EK sisteminin elektrik gücünü sağlamakta olup Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar San. ve Tic. Anonim Şti. tarafından özel olarak ürettirilmiş ve laboratuvarında kurulumu sağlanmıştır. Bu ünitenin teknik olarak 100-200 Amper (A) akım ve 10- 70 Volt (V) değerleri arasında çalışabilmesi ve tez çalışmasında kullanılacak olan akım yoğunluğunun 20-100 mA/cm² aralığında olacak şekilde belirlenmiş olması nedeniyle gerekli olan etkin elektrot yüzey alanı 500 cm² olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamada akım yoğunluğunu, akım ve etkin yüzey alanına bağlı olarak ifade eden formül (3.1) kullanılmıştır.

$$J=I/A \tag{3.1}$$

J: Akım yoğunluğu (mA/cm²)

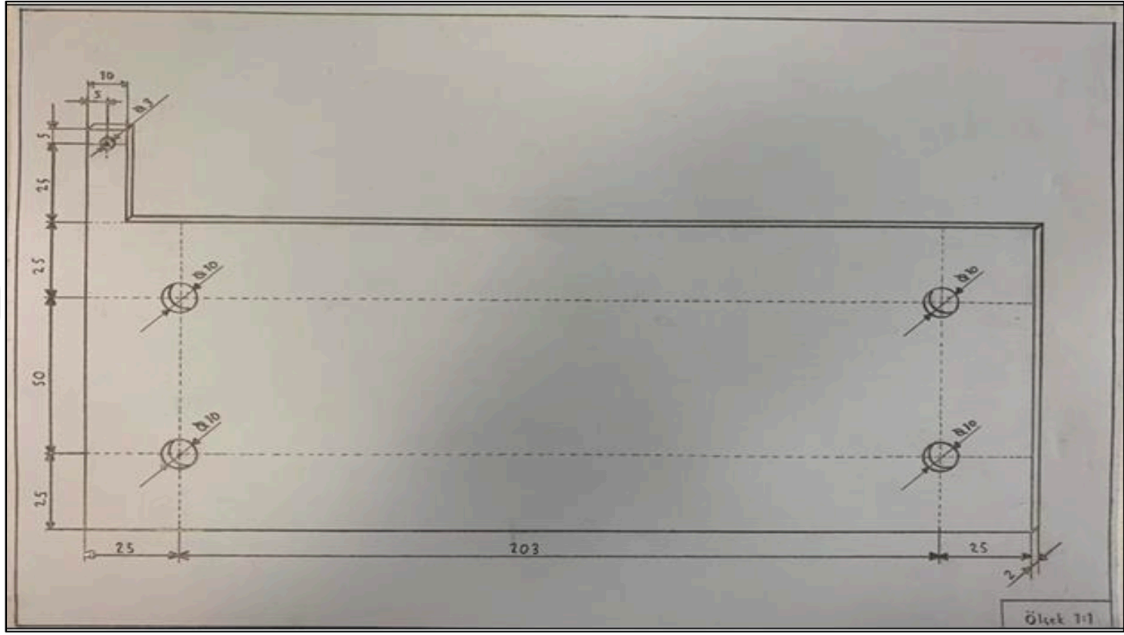
I: Akım (mA)

A: Etkin elektrot yüzey alanı (cm²)

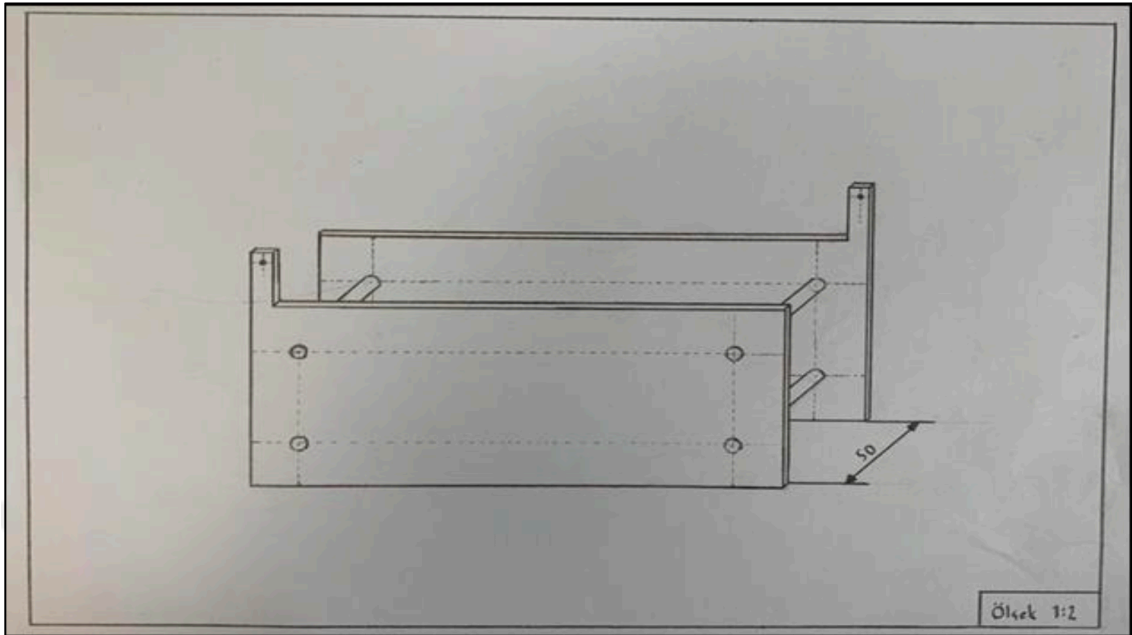
Güç ünitesinin minimum akım miktarı olan 10 A değeri ve çalışmanın bir diğer parametresi olan akım yoğunluğunun minimum değeri olan 20 mA/cm² formülde yerlerine yazıldığında;

$$20 = 10000 / A \Rightarrow A = 500 \text{ cm}^2$$

olarak etkin elektrot yüzey alanı hesaplanmıştır. Tasarımlar ve çizimler bu değer göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir. EK reaktörünün yani elektrokoagülasyon işleminin gerçekleşeceği haznenin tasarımında etkin elektrot yüzey alanını kaplayacak sıvıyı minimum düzeyde tutmak hedeflenmiş ve 3L hacimde tasarlanması uygun bulunmuştur. Soğutucu ünitesi ise EK reaktörünü içine alacak ve etrafında soğuk akışkanın sirküle etmesini sağlayacak şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 3.5. Elektrot plakalarına ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)



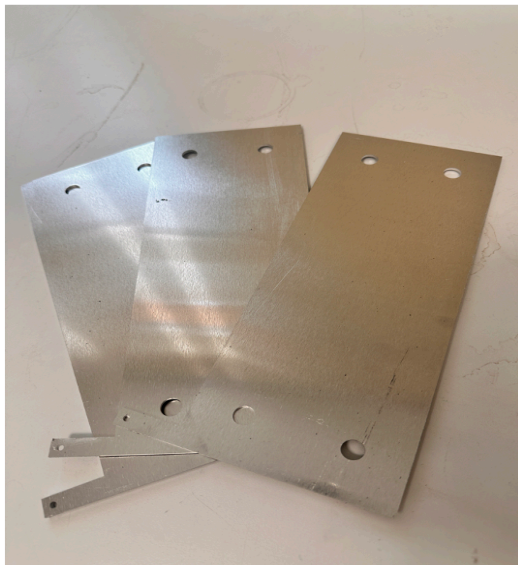
Şekil 3.6. 5 cm aralıkla yerleştirilmiş plakalara ait teknik çizim (Hacıoğlu 2024)



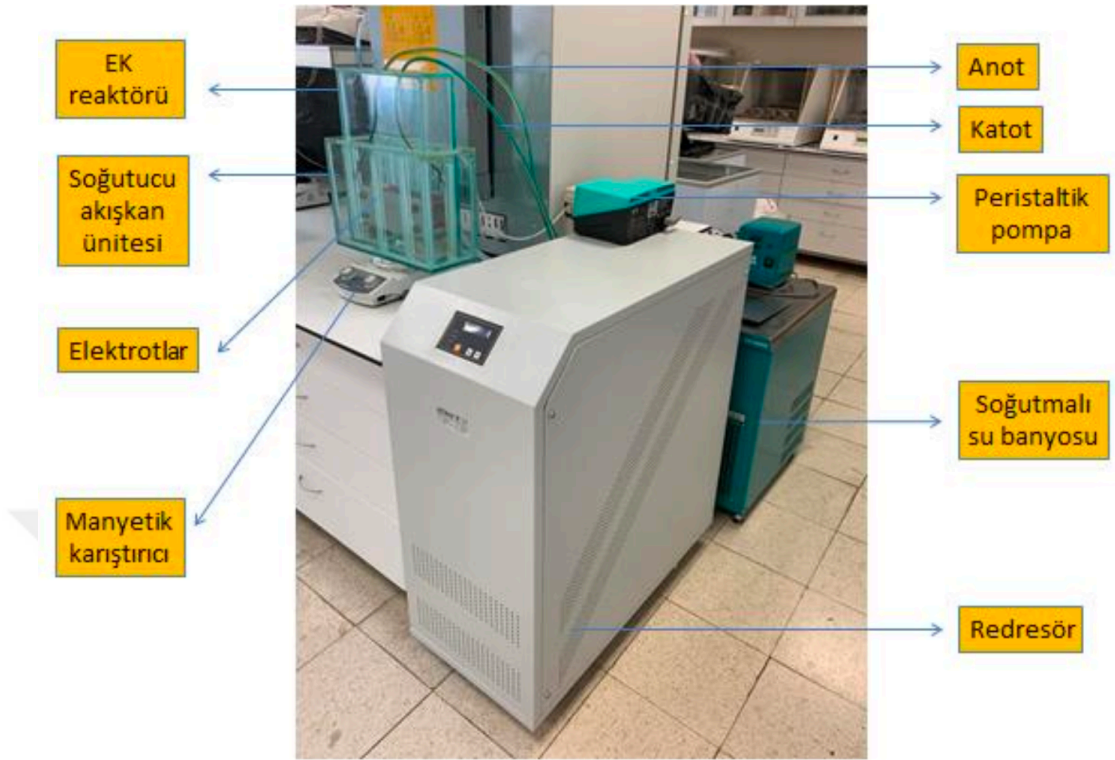
Şekil 3.7. Elektrokoagülasyon reaktörü haznesi



Şekil 3.8. Soğutucu akışkan ünitesi



Şekil 3.9. Elektrot plakalar



Şekil 3.10. EK Sistemi

EK sistemi tasarımı ve kurulumu tamamlandıktan sonra Box- Behnken denemelerinde kullanılacak plaka çeşitlerinin belirlenmesi aşamasına geçilmiştir. Bu amaçla alüminyum (Al) ve 304L tip paslanmaz çelik (Ç) levhalar kullanılmıştır. Bu plakaların kombinasyonları anot (-) ve katot (+) değişimleriyle;

1. Alüminyum (+) / Alüminyum (-)
2. P. Çelik (+) / P. Çelik (-)
3. Alüminyum (+) / P. Çelik (-)
4. Alüminyum (-) / P. Çelik (+)

olarak kurgulanmıştır. Plaka seçiminde, plaka belirlendikten sonra uygulanacak olan ve Design- Expert programı tarafından oluşturulan Box- Behnken deneme deseninin bağımsız değişkenlerinin orta noktaları (elektrot aralığı: 3cm, akım yoğunluğu 60 mA/cm², gerilim: 30 V, süre: 60 dk) esas alınmıştır. Denemeler 3L hacimde her seferde yeni plaka kullanılarak gerçekleştirilmiş olup sonrasında dinlendirilerek kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Ardından santrifüjle tortusundan ayrılan örneklerde D-pinitol miktarı, toplam fenolik madde miktarı, renk ve bulanıklık analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunun sonucuna göre en yüksek D-pinitol, en düşük toplam fenolik madde, en düşük

bulanıklık değeri ve en renksiz sonucu veren uygun plaka çeşidi kombinasyonu deneme deseninde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Plaka çeşidinin belirlenmesinin ardından elektrokoagülasyon şartlarını optimize etmek amacıyla kullanılan ve Design Expert programı tarafından oluşturulan Box-Behnken Cevap Yüzey Metodu'na ait deneme deseninin uygulanmasına geçilmiştir. Bu yöntemde, minimum (-1), orta (0) ve maksimum (+1) olmak üzere her bir değişkenin eşit aralıkta üç farklı seviyede ölçümü yapılarak seçilen yanıtların değişimi incelenmiştir. Bu değerler Çizelge 3.2'de verilmiştir. Bağımsız değişkenlerin değerlerinin seçiminde işlemin uygulanacağı sistemin çalışma koşulları, gerçekleştirilen ön denemeler ve çeşitli elektrokoagülasyon uygulamalarını içeren literatür çalışmaları göz önüne alınarak seçilmiştir (Kartal vd. 2008; Bazrafshan vd. 2012; Solak vd. 2018).

Çizelge 3.2. Bağımsız değişkenler

Bağımsız Değişken	-1	0	+1
Elektrot Aralığı (cm)	1	3	5
Akım Yoğunluğu (mA/cm ²)	20	60	100
Gerilim (V)	10	30	50
Süre (dk)	30	60	90

Bağımsız değişkenleri Çizelge 3.2'de verilen EK işlemi için Design Expert programının oluşturduğu ve örneklere uygulanacak olan deneme deseni Çizelge 3.3'deki gibidir.

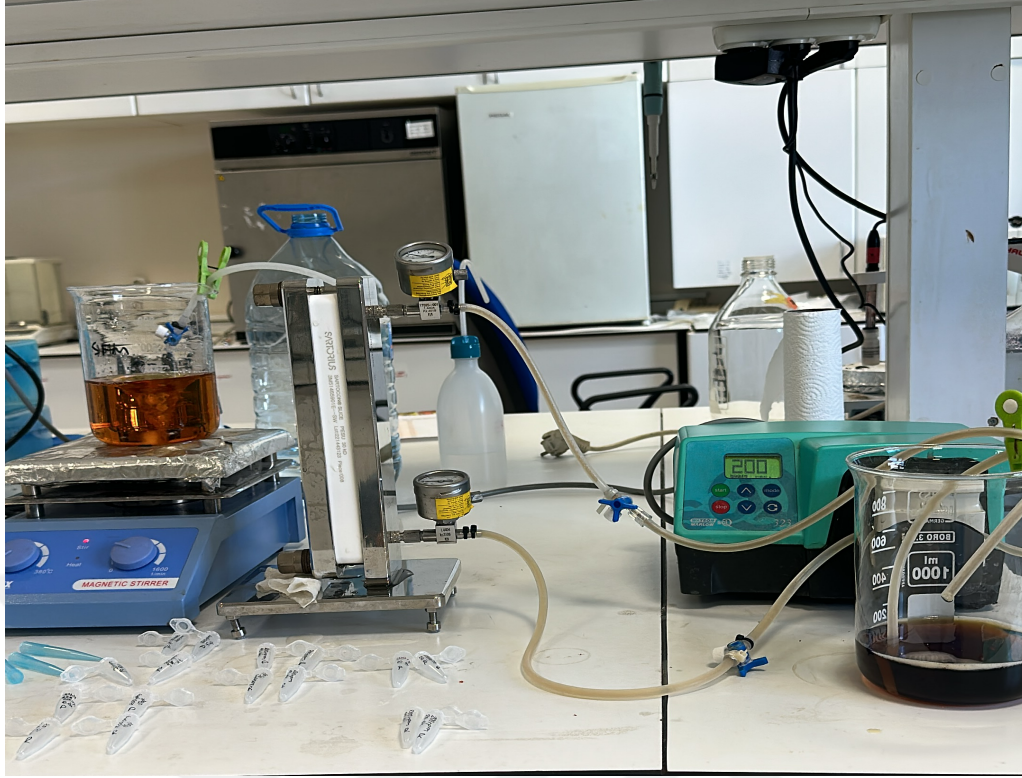
Çizelge 3.3. Design Expert programı tarafından oluşturulan Box-Behnken Deneme deseni

Deneme No	Elektrot Aralığı (cm)	Akım Yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)
1	3	20	20	60
2	3	60	20	90
3	5	60	30	90
4	3	100	30	90
5	5	100	30	60
6	5	60	20	60
7	3	60	30	60
8	1	60	30	90
9	1	100	30	60
10	1	60	30	30
11	3	100	20	60
12	5	60	40	60
13	3	20	30	30
14	3	100	30	30
15	1	60	40	60
16	3	60	30	60
17	3	20	30	90
18	3	60	30	60
19	3	100	40	60
20	3	60	20	30
21	3	20	40	60
22	3	60	40	90
23	3	60	40	30
24	5	20	30	60
25	5	60	30	30
26	1	20	30	60
27	1	60	20	60

Elektrokoagülasyon uygulaması sonrasında örneklerde toplam kuru madde miktarı, D-pinitol miktarı, toplam fenolik madde miktarı, renk ve bulanıklık analizleri gerçekleştirilerek hedeflenen; görünümü renksiz (L değeri en yüksek), bulanıklığı en düşük, fenolik madde içeriği en düşük ve D-pinitol içeriği en yüksek ekstraktın elde edildiği kombinasyona karar verilmiştir.

3.2.3. Membran filtrasyon uygulaması

Ekstraktın saflaştırılmasındaki bir diğer basamak olan membran filtrasyon tekniği membran filtrasyon sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Sartorius Stedim, Almanya).



Şekil 3.11. Membran filtrasyon sistemi

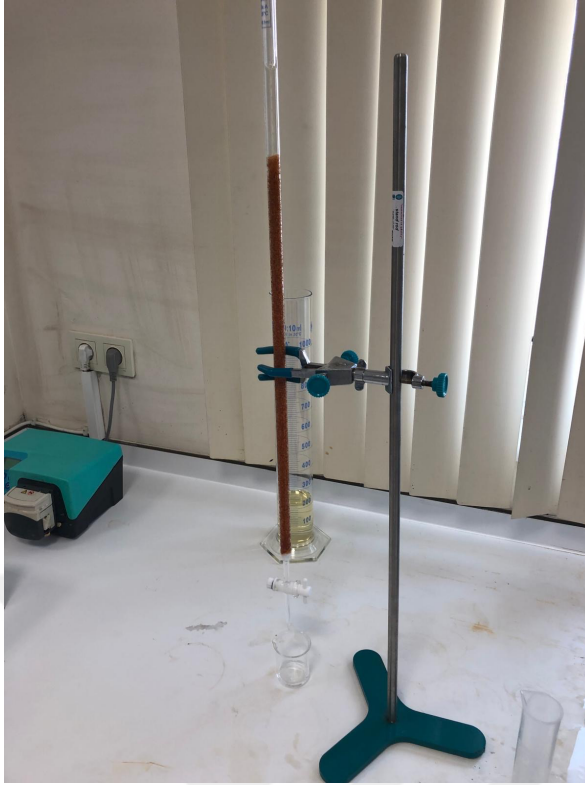
Sisteme entegre membranlar ultrafiltrasyon (UF) için ön denemelerde belirlenen 30 kDa ayırma sınırına sahip (MWCO) polietersülfon (PESU) membran filtrelerdir. Membran filtrasyon uygulamaları %90 permeat alınacak şekilde 2 bar besleme basıncında yapılmıştır (Hacıoğlu vd. 2020). İşlem sonucunda permeat akısı bir diğer basamak olan adsorpsiyon işlemine alınmıştır.

3.2.4. Adsorbent uygulaması

Adsorbsiyon denemelerinde PAD1200, aktif kömür ve karışık yatak reçine adsorbentleri denenmiştir. Ön denemeler sonucunda aktif kömürün renk sorunlarına neden olduğu; PAD 1200'ün ise D-pinitol'ü de bünyesine adsorplayarak D-pinitol miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Karışık yatak reçinesinin istenilen amaca daha uygun çalıştığı tespit edilmiştir.

Membran filtrasyon sonrası 30 kDa ayırma sınırına sahip membrandan alınan permeat akısı Purolite MB400 (sulfonic acid quaternary amonium) karışık yatak reçinesi ile hazırlanan sistemden geçirilmiştir (Şekil 3.12). Karışık yatak reçineler gıda endüstrisinde farklı minerallerin ortamdan uzaklaştırılmasında, şeker çözeltilerinin saflaştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Demir ve Yalçın 2014).

Ön denemelerle miktarı belirlenen ve bürete doldurulan 30 gr reçine öncelikle 30 ml ultra saf suyla yıkanarak ardından 25 ml örnekle şartlanmıştır. Şartlanma sonrası manuel pompa yardımıyla içerdeki sıvı dışarı atılmış ve 75 ml örnek beslenmiştir. Örneğin sistemin altından toplanmasında manuel pompadan destek alınmıştır. Alınan örneklerde tanımlayıcı analizler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.12. Adsorpsiyon işlemi için oluşturulan sistem

3.2.5. Tanımlayıcı analizler

3.2.5.1. Toplam kuru madde analizi

Tüm örneklerde toplam kuru madde analizi, örneklerden 10 ml tartılarak etüvde 70 °C’ de sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmasıyla gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu 2013). Tartımlarda kullanılan cam petriler analizlerin öncesinde sabit tartıma getirilmiştir. Sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\% \text{ Toplam kuru madde} = ((M_2 - M_1) / M) \times 100$$

M: Tartılan örnek miktarı (g)

M₁: Kullanılan cam petrinin ağırlığı(g)

M₂: Üzerine örnek eklenen cam petrinin kurutma sonrası ağırlığı (g)

3.2.5.2. Toplam fenolik madde miktarı analizi

Toplam fenolik maddenin (TFM) kolorimetrik olarak tayininde Spanos ve Wrolstad (1990) tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla örneklerden bir tüpe 100 µl alınıp üzerine 900 µl destile su eklenmiştir. Ardından 5 ml 0.2N Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 4 ml doymuş sodyum karbonat çözeltisi (75 g/l) ilave edilerek tüp iyice karıştırıldıktan sonra 2 saat beklenerek spektrofotometrede (Shimadzu UV-160A) 765 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Daha

önceden hazırlanmış olan gallik asit standardı kurvesinden (EK-1) yararlanılarak toplam fenolik madde miktarı (mg/L) hesaplanmıştır.

3.2.5.3. Bulanıklık analizi

Örneklerdeki bulanıklık türbidimetre (Hach 2100N) kullanılarak NTU (Nephelometric Turbidity Unit) değeri cinsinden belirlenmiştir. Bu amaçla örnekler türbidimetrenin örnek hücreğine yerleştirilip hücre kapağı kapatılmış daha sonra ölçüm yapılarak okunan değer bulanıklık (NTU) olarak kaydedilmiştir (Tajchakavit vd. 2001).

3.2.5.4. Renk analizi

Örneklerin renk yoğunluğunun ölçümünde Hunter Lab. UltraScan-VIS (Hunter Associates Laboratory Inc., USA) renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. Sonuçlar L, a, b değerleri olarak ifade edilmiştir. L değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz) arasındaki aydınlık değerini, a kırmızılık-yeşillik, b değeri ise sarılık- mavilik değerlerini ifade etmektedir (Yıldız ve Karhan 2021).

3.2.5.5. HPLC ile şekerlerin ve D-pinitolün analizi

Örneklerde şekerlerin ve D-pinitolün miktarı HPLC ile harici standart metodu kullanılarak belirlenmiştir (Tetik vd., 2011). Analizde Shimadzu marka HPLC cihazı (LC 20 AD), Transgenomic Nucleogel 87P kolon (3250x4,6 mm ID) ve refraktif indeks dedektör (RID) kullanılmıştır. Hareketli faz olarak Milli-Q su (izokratik) kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 0,6 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Örnekler 0,45 µm gözenek çapına sahip filtreden süzöldükten sonra cihaza enjekte edilmiştir. Enjeksiyon hacmi 20 µL olup kolon fırını sıcaklığı 85 °C ve dedektör (RID) hücre sıcaklığı 60 °C olarak ayarlanmıştır. Sonuçlar sakkaroz, glukoz, fruktoz ve D-pinitol standartlarından farklı konsantrasyonlarda çözeltiler kullanılarak hazırlanmış kurveler kullanılarak değerlendirilmiştir (EK-2, EK-3, EK-4, EK-5)

3.2.5.6. Toplam mineral madde analizi

Porselen kül krozeleri yıkanıp kurutulduktan sonra 550°C 'lik kül fırınına koyulup sabit tartıma gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra desikatöre alınıp soğutularak ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra krozelere 25 ml örnek koyulup duman çıkışı sonlanana kadar sürdürülen ön yakma işleminin ardından krozeler kül fırınına yerleştirilmiş ve kül tamamen beyaz olarak elde edilene kadar yakma işlemi sürdürülmüştür. Yakma işlemi sonrasında desikatöre alınan krozelerde hassas tartım gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu 2013).

3.2.6. İstatistiksel analizler

Optimizasyon denemelerinde kullanılan plakanın cinsi optimizasyon denemeleri için belirlenen sistemin bağımsız değişkenlerinin (elektrot aralığı, gerilim, akım yoğunluğu) orta nokta değerlerinde plakaların kombinasyonlarının denenmesi ardından sonuçların SPSS analiz edilmesi sonucu belirlenmiştir.

Optimum işlem koşulları Yanıt Yüzey Metodu (Response Surface Methodology) kullanılarak belirlenmiştir (Peixoto vd. 2017). Elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim

ve süre bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. D-pinitol miktarı, fenolik madde miktarı ve renk değerleri ise sistemin yanıtları olarak kullanılmıştır. Verilerin Box-Behnken istatistiksel analizinde Design Expert (trial) programı kullanılarak ANOVA tablosu oluşturulmuştur.



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Keçiboynuzu Pekmezinin Fermentasyonu

Ana materyal olarak kullanılan keçiboynuzu konsantresi öncelikle 5 °Bx değerine seyreltilerek fermentasyona hazır hale getirilmiştir. Fermentasyonda kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 36858) mikroorganizmasının yüksek verimlilikle çalışmasını sağlamak için ekstrakt zenginleştirilmiştir. Fermentasyon ortamı olan keçiboynuzu ekstraktının zenginleştirilmesi için ilave edilen bileşenler ve konsantrasyonları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

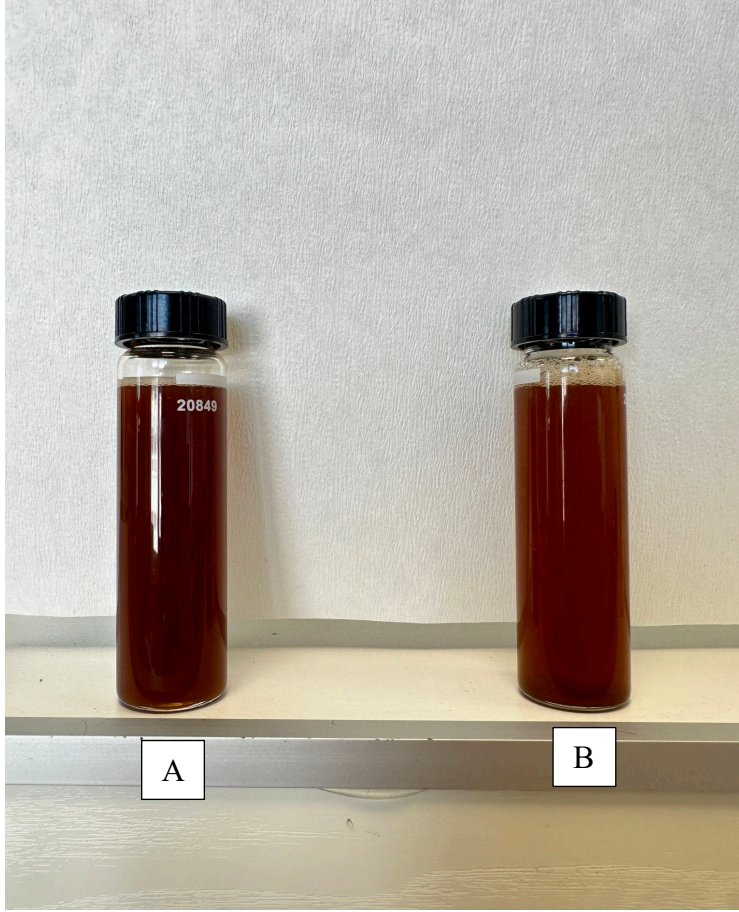
Fermentasyon sonunda HPLC ile şekerler ve D-pinitol analizi yapılmış olup şekerlerin mayalar tarafından tamamen tüketildiği saptanmıştır. Fermentasyon denemeleri plaka çeşidinin belirlenmesinde kullanılacak olan fermente örnek ve elektrokoagülasyon denemelerinde kullanılacak olan fermente ekstrakt olarak iki farklı partide üretilmiştir. Elektrokoagülasyon için kullanılacak fermente ekstraktlarda saptanan D-pinitol miktarı $29,95 \pm 0,11$ g/100 g KM düzeyinde belirlenmiş olup kitle halinde üretilen fermente örnekler saklama kaplarına (plastik bidon) alınarak -18 C deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Çizelge 4.1. Keçiboynuzu ekstraktının 5°Bx'e seyreltilmiş ve fermente edilmiş formlarının tanımlayıcı analizlerin sonuçları

	5°Bx Keçiboynuzu Ekstraktı	Fermentasyon sonrasında ekstrakt
D-Pinitol (g/100 g km)	35,04 ± 0,05	29,95 ± 0,11
Sakkaroz (g/100 g km)	44,8 ± 0,20	-
Glukoz (g/100 g km)	9,20 ± 0,45	-
Fruktoz (g/100 g km)	8,75 ± 0,50	-
L (hunter)	0,125 ± 0,01	0,205 ± 0,01
a (hunter)	- 0,03 ± 0,01	0,795 ± 0,08
b (hunter)	0,13 ± 0,05	0,247 ± 0,07
Toplam fenolik madde (mg GAE / L)	764,19 ± 26,83	751,04 ± 48,76
Bulanıklık (NTU)	585 ± 9,41	383 ± 7,76
Toplam mineral madde (g/100 g km)	4,85 ± 0,05	22,85 ± 0,44

Fermente keçiboynuzu örnekleri EK sistemi için plaka belirleme ve Box- Behnken deneme deseni analizleri için iki ayrı partide üretilmiştir. Bu ayrımın sebebi laboratuvarımızda

gerçekleşen çeşitli teknik aksaklıklar olup iki farklı yığın üretim yapılarak bu problem çözülmüştür. Her bir elektrokoagülasyon denemesinden önce standart içeriğe sahip bir adet saklama kabı derin dondurucudan çıkartılmış ve oda sıcaklığında bekletilerek çözündürülmüştür.



Şekil 4.1. A: 5 ° Bx'e seyreltilen keçiyoynuzu ekstraktı, B: Fermentasyon sonrası keçiyoynuzu ekstraktı

4.2. Elektrokoagülasyon Uygulamasında Plaka Çeşidinin Belirlenmesi

Elektrokoagülasyon denemelerinde kullanılacak olan plaka çeşidinin belirlenmesi için üretilen fermente ekstraktlarda başlangıç D-pinitol varlığı 17.0 g/100g KM düzeyinde bulunmuştur. Bu değer elektrokoagülasyon öncesinde ekstraktlarda bulunan ve henüz uzaklaştırılmamış olan safsızlıkların varlığından dolayı elektrokoagülasyon denemeleri sonrasında elde edilen sonuçtan daha düşük çıkmıştır. Elektrokoagülasyon sonrasında safsızlıklar önemli düzeyde uzaklaştırıldığı için D-pinitol konsantrasyonu toplam kuru madde içinde oransal olarak artmıştır.

Elektrokoagülasyon denemelerinde kullanılan plakaların seçimi Design Expert programı tarafından oluşturulan deneme deseninde sistemin bağımlı değişkenleri olarak belirlenen plaka aralığı, akım yoğunluğu ve gerilim parametrelerinin orta nokta değerleri kullanılarak belirlenmiştir. Orta nokta değerleri; elektrot aralığı 3 cm, akım yoğunluğu 60

mA/cm², gerilim 30 V, süre 60 dakika olarak programa kaydedilmiştir. Denemelerde kullanılmak üzere seçilen plakalar çevre uygulamalarında yaygın olarak kullanılan alüminyum ve çelik plakalar olup anot ve katot kombinasyonları aşağıda verilmiştir.

Alüminyum (+) / Alüminyum (-),

Paslanmaz çelik (+) / Paslanmaz çelik (-),

Alüminyum (+) / Paslanmaz çelik (-),

Alüminyum (-) / Paslanmaz çelik (+)

Bu kombinasyonlarda iki adet plaka ile dört farklı kombinasyon elde edilmiştir. Her denemede iki adet plaka ve 3 L standart özelliklere sahip ekstrakt kullanılmıştır (Şekil 4.2). Denemeler 2 tekerrür ve iki paralel olarak gerçekleştirildiği için her koşulda 4 adet deneme yapılmıştır. Elektrokoagülasyon uygulaması sonrasında örneklerde (Şekil 4.3) D-pinitol miktarı, toplam fenolik madde miktarı, renk (L değeri) ve bulanıklık analizleri gerçekleştirilerek en uygun kombinasyona karar verilmiştir.



Şekil 4.2. Plaka çeşidinin belirlenmesi denemeleri

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS (IBM SPSS Statistics, Version 25.0) istatistik programı kullanılmıştır. Verilere öncelikle normal dağılım ve varyansların homojenliği testleri

uygulanmış; bu testler sonucunda elde edilen verilere göre ANOVA ve Kruskal-Wallis H testlerinden yararlanılmıştır. Çoklu karşılaştırma için ise Tukey HSD ve Tamhane's T2 testleri yapılmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Plaka seçimi denemelerinin değerlendirilmesi

Analiz Parametreleri	Kontrol	Al (+) / Al (-)	Ç (+) / Ç (-)	Al (+) / Ç (-)	Al (-) / Ç (+)
D-pinitol miktarı (g/100 g KM)	17,00±0,13 ^a	23,03±0,68 ^b	21,12±1,19 ^{a,b}	22,09±0,43 ^{c,b}	22,09±0,6 ^{d,b}
Toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit /100 g KM)	771,36±3,13 ^a	203,83±10,42 ^b	114,67±13,79 ^c	214,31±10,70 ^{d,b}	114,66±6,08 ^c
Bulanıklık (NTU)	128,75± 9,17 ^a	132,50±11,61 ^a	214,50±25,40 ^a	130,0±20,80 ^a	37,55±7,00 ^b
L değeri	0,17±0,01 ^a	22,83±16,22 ^{a,b,c}	5,60±2,97 ^a	18,08±3,73 ^b	42,36±2,75 ^c

* Aynı satırdaki farklı harfler p<0,05 seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılığı ifade eder.



Şekil 4.3. Plaka denemeleri sonucunda elde edilen ekstraktlar

Çizelge 4.2’de yer alan plaka seçimi denemelerinin sonuçları göz önüne alındığında D-pinitol miktarı açısından kontrol grubuyla (fermente keçiyoynuzu ekstraktı) Al (+) / Al (-), Al (+) / Ç (-) ve Al (-) / Ç (+) kombinasyonlarında istatistiksel olarak önemli fark saptanırken toplam fenolik madde miktarı açısından kontrol grubuyla tüm plaka grupları arasındaki farkın önemli olduğu görülmüştür (p<0,05). Aynı zamanda bulanıklık değerlerinde kontrol grubuyla sadece Al (-) / Ç (+) seçeneğinde istatistiksel olarak önemli (p<0,05) fark bulunmuş olup L değerleri açısından ise kontrol grubuyla Al (+) / Ç (-) ve Al (-) / Ç (+) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (p<0,05). Bu sonuçlara göre kontrol grubu ile

istatistiksel açıdan önemli fark bulunan, toplam fenolik madde ve bulanıklık değerleri en düşük sonuçlar alınan Al (-) / Ç (+) plaka kombinasyonunun denemelerin tamamında kullanılmasının daha uygun olduğu saptanmıştır.

Al (-) / Ç (+) plaka kombinasyonu kullanılarak Çizelge 3.3’de verilmiş olan deneme deseni koşulları saflaştırma denemeleri için üretilen fermente keçiyoynuzu konsantresine uygulanmıştır.

Fermentasyon işlemi sonrası elde edilen fermente keçiyoynuzu ekstraktı elektrokoagülasyon işlemi sonrası koagülasyon ve flok oluşumu için dinlendirilmiş ve daha sonra santrifüj (4000 rpm, 15 dk) edilmiştir. Santrifüj sonrasında kalan berrak kısım kaba filtre kağıdından geçirilerek sonraki aşamalar ve analiz için -18° C’de saklanmıştır.

4.3. Fermente Keçiyoynuzu Ekstraktlarında Elektrokoagülasyon İşleminin Optimizasyonu

Ön deneme çalışmalarında elde edilen bulgulara göre belirlenen elektrokoagülasyon plaka kombinasyonu (Al (-) / Ç (+)) deneme desenine uygulanmış ve her bir denemede elde edilen sonuçlar ortalama değer ve standart sapmalarıyla Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Elektrokoagülasyon deneme deseninde elde edilen örneklerin bazı belirleyici özellikleri ve kimyasal bileşimi

Örnek No	D-Pinitol (g/100g KM)	Toplam Fenolik Madde (mg gallik asit/KM)	Toplam mineral Madde (%)	Bulanıklık (NTU)	Renk (L değeri)	Renk (a değeri)	Renk (b değeri)
1	44,60±1,2	84,70±0,9	26,57±1,79	9,3±0,04	45,29±0,01	25,56±0,01	69,81±0,04
2	42,45±1,3	123,68±1,3	23,75±1,61	5,31±0	53,94±0,01	21,57±0,02	74,86±0,02
3	47,40±0,3	54,49±0,8	26,20±1,62	10,5±0,07	54,27±0,01	22,31±0,02	77,32±0,02
4	48,50±0,7	91,52±1,4	22,38±1,77	5±0,02	54,06±0,03	19,31±0,03	73,49±0
5	48,68±0,2	191,90±2,7	27,49±1,54	5,11±0,21	48,42±0,01	27,94±0,03	74,84±0,09
6	49,44±0,2	202,62±0,6	27,08±2,09	2,19±0,02	17,95±0,01	26,72±0,07	30,46±0,02
7	43,46±0,2	192,87±0,9	22,85±1,8	8,65±0,02	50,02±0,06	24,31±0,01	74,31±0,03
8	40,40±0,2	122,71±0,6	23,48±1,74	50,7±0,7	56,62±0,09	6,55±0,07	55,15±0,04
9	53,09±0,2	158,77±0,7	25,70±2,54	20±0,7	22,87±0,04	13,59±0,05	36,37±0,08
10	41,32±0,9	193,85±0,3	26,30±1,54	14,6±0,2	30,13±0,02	21,53±0,01	48,81±0,03
11	44,63±0,7	220,16±0,7	26,20±2,08	8,98±0,01	46,61±0,06	25,14±0,01	70,81±0,06
12	47,36±2,5	128,56±0,8	24,87±2,43	4,17±0,07	54,29±0	23,95±0,02	78,25±0,07
13	48,04±0,2	202,62±0,7	24,86±1,67	8,08±0	8,25±0,01	21,11±0,06	13,82±0,3
14	48,44±0,1	212,37±2,0	25,88±2,04	19,3±0,14	26,23±0,02	28,13±0,04	44,08±0,01
15	52,06±0,7	196,77±1,4	27,27±2,89	2,86±0,04	63,68±0,03	15,47±0,01	74,07±0,07
16	48,42±0,3	120,76±0,7	25,21±2,43	2,8±0	53,21±0,01	25,93±0,04	78,90±0,14
17	43,50±0,4	139,28±2,0	25,30±1,30	4,45±0,03	52,27±0,01	24,59±0,01	75,96±0,06
18	53,02±2,9	155,84±1,4	26,84±1,9	4,8±0,02	55,20±0,01	23,09±0,02	77,66±0,07
19	42,27±0,4	172,41±0,7	23,95±1,04	23±0,07	35,92±0,02	23,61±0,06	58,02±0,04
20	52,23±1,4	230,88±0,7	28,02±2,10	15,9±10,14	3,47±0	13,40±0,02	5,73±0,02
21	44,80±0,1	169,49±1,3	25,98±1,56	3,98±0,01	47,09±0,02	21,86±0,01	67,96±0,01
22	53,26±2,4	142,20±2,0	26,38±1,32	4,3±0,19	48,65±0,02	21,48±0	70,82±0,1
23	44,04±1,0	86,65±1,4	29,15±1,54	3,75±0,02	31,66±0,01	30,26±0,03	52,81±0,03
24	50,77±0,5	64,24±1,8	36,02±2,08	4,02±0,09	47,37±0	24,95±0,01	71,17±0,02
25	43,32±2,2	147,07±0,8	27,16±2,3	15,6±0,28	8,95±0,01	22,09±0,05	15,09±0,07
26	47,15±2,2	59,36±0,6	28,87±1,87	3,75±0,06	38,95±0,01	28,11±0	63,54±0,02
27	51,05±2,5	75,93±0,6	25,39±2,10	4,44±0,14	63,41±0	14,97±0,01	73,56±0,06

Sonuçlar paralellerin ortalaması olarak verilmiştir. Design expert programı tarafından oluşturulan ANOVA tabloları Çizelge 4.4;4.7 'de verilmiş olup Cevap-Yüzey Yönteminde model uygunluğu sağlanamamıştır. Model için anlamlı (significant), model uyumsuzluğu (Lack of fit) değeri için anlamsız (non-significant) sonucu beklenmiş ancak elde edilememiştir. Bunun nedeninin farklı akım şiddeti ve büyüklüğü değerlerinin düzensiz sonuçlar vermesi ve seçilen bağımsız değişkenlerin değer aralıklarının yeterince geniş olmaması olduğu düşünülmüştür.

Çizelge 4.4. D-pinitol miktarı için kuadratik model ANOVA tablosu

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F value	p-value Prob.>F	
Model	83,91	14	5,99	0,68	0,7580	<i>Not Significant</i>
A- Elektrot Aralığı	1,01	1	1,01	0,11	0,7409	
B- Akım Yoğunluğu	13,78	1	13,78	1,56	0,2354	
C- Gerilim	6,093E-003	1	6,093E-003	6,897E-004	0,9795	
D- Süre	1,92	1	1,92	0,22	0,6493	
AB	2,39	1	2,39	0,27	0,6125	
AC	0,32	1	0,32	0,036	0,8532	
AD	2,20	1	2,20	0,25	0,6270	
BC	0,36	1	0,36	0,041	0,8426	
BD	7,17	1	7,17	0,81	0,3853	
CD	43,77	1	43,77	4,95	0,0460	
A²	2,63	1	2,63	0,30	0,5952	
B²	4,20	1	4,20	0,48	0,5036	
C²	0,71	1	0,71	0,080	0,7820	
D²	9,32	1	9,32	1,05	0,3246	
Residual	106,02	12	8,83			
Lack of Fit	92,16	10	9,22	1,33	0,5035	<i>Not Significant</i>
Pure Error	13,85	2	6,93			
Cor Total	189,92	26				

Çizelge 4.5. Fenolik madde miktarı için kuadratik model ANOVA tablosu

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F value	p-value Prob.>F	
Model	156,26	14	11,16	0,56	0,8477	<i>Not Significant</i>
A-Elektrot Aralığı	0,30	1	0,30	0,015	0,9040	
B-Akım Yoğunluğu	3,80	1	3,80	0,19	0,6693	
C-Gerilim	0,031	1	0,031	1,565E-003	0,9691	
D-Süre	0,29	1	0,29	0,015	0,9050	
AB	16,12	1	16,12	0,81	0,3848	
AC	2,39	1	2,39	0,12	0,7345	
AD	6,25	1	6,25	0,32	0,5847	
BC	1,64	1	1,64	0,083	0,7786	
BD	5,29	1	5,29	0,27	0,6147	
CD	90,25	1	90,25	4,56	0,0541	
A²	0,55	1	0,55	0,028	0,8702	
B²	2,08	1	2,08	0,11	0,7515	
C²	0,14	1	0,14	6,856E-003	0,9354	
D²	22,87	1	22,87	1,15	0,3037	
Residual	237,72	12	19,81			
Lack of Fit	192,00	10	19,20	0,84	0,6563	<i>Not Significant</i>
Pure Error	45,72	2	22,86			
Cor Total	393,98	26				

Çizelge 4.6. Bulanıklık için kuadratik model ANOVA tablosu

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F value	p-value Prob.>F	
Model	24142,93	14	1724,49	1,52	0,2350	<i>Not Significant</i>
A-Elektrot Aralığı	4656,88	1	4656,88	4,12	0,0652	
B-Akım Yoğunluğu	4330,86	1	4330,86	3,83	0,0741	
C-Gerilim	1,41	1	1,41	1,247E-003	0,924	
D-Süre	1,20	1	1,20	1,064E-003	0,9724	
AB	9588,33	1	9588,33	8,48	0,0130	
AC	3,21	1	3,21	2,840E-003	0,9584	
AD	426,42	1	426,42	0,38	0,5507	
BC	94,33	1	94,33	0,083	0,7777	
BD	27,96	1	27,96	0,025	0,8777	
CD	32,23	1	32,23	0,028	0,8688	
A²	1971,59	1	1971,59	1,74	0,2114	
B²	1415,06	1	1415,06	1,25	0,2853	
C²	488,39	1	488,39	0,43	0,5235	
D²	4,03	1	4,03	3,558E-003	0,9534	
Residual	13574,29	12	1131,19			
Lack of Fit	13556,70	10	13556,67			<i>Significant</i>
Pure Error	17,60	2	8,80			
Cor Total	37717,22	26				

Çizelge 4.7. Renk için kuadratik model ANOVA tablosu

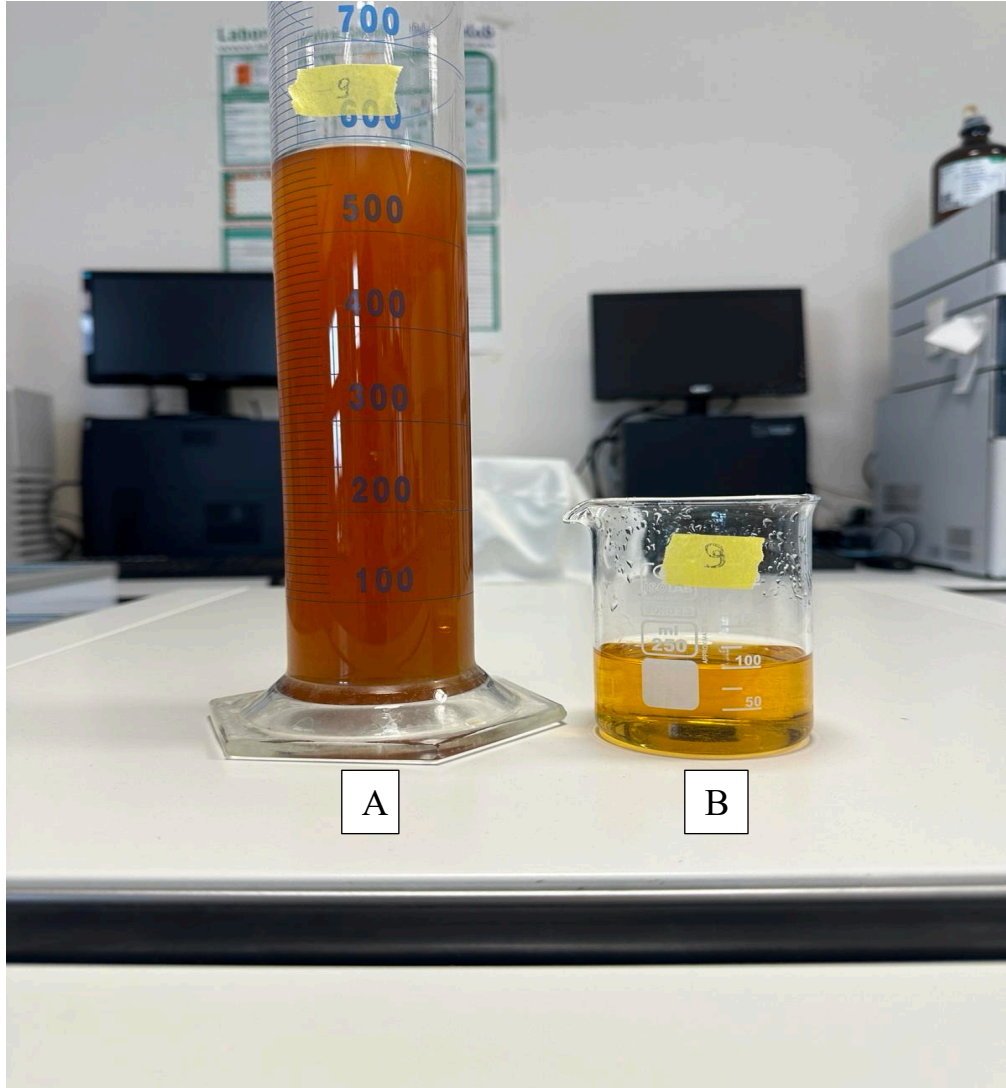
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F value	p-value Prob.>F	
Model	5958,42	14	425,60	3,17	0,0260	<i>Significant</i>
A-Elektrot Aralığı	164,32	1	164,32	1,22	0,2902	
B-Akım Yoğunluğu	2,19	1	2,19	0,016	0,9004	
C-Gerilim	213,53	1	213,53	1,59	0,2311	
D-Süre	3714,48	1	3714,48	27,68	0,0002	
AB	73,30	1	73,30	0,55	0,4741	
AC	325,13	1	325,13	2,42	0,1456	
AD	88,64	1	88,64	0,66	0,4322	
BC	39,02	1	39,02	0,29	0,5996	
BD	65,57	1	65,57	0,49	0,4979	
CD	280,23	1	280,23	2,09	0,1740	
A²	49,78	1	49,78	0,37	0,5538	
B²	280,63	1	280,63	2,09	0,1738	
C²	31,32	1	31,32	0,23	0,6377	
D²	881,70	1	881,70	6,57	0,0249	
Residual	1610,34	12	134,19			
Lack of Fit	1596,66	10	159,67	23,35	0,0417	<i>Significant</i>
Pure Error	13,67	2				
Cor Total	7568,76	26				

Çalışmada hedef en yüksek D-pinitol miktarını en yüksek saflık düzeyinde veren kombinasyonun belirlenmesi olduğu için denemeler sonunda maksimum D-pinitolün elde edildiği üç koşul dikkate alınmıştır. Buna göre 9, 18 ve 22 nolu elektrokoagülasyon kombinasyonu en yüksek D-pinitol konsantrasyonuna ulaşmayı sağlamıştır. Box- Behnken cevap yüzey metodu ile oluşturulan deneme deseni (Çizelge 3.3) incelendiğinde bu kombinasyonların neredeyse standart bir ortak noktasının olmadığı görülmektedir. Ancak, elektrot plakalarının konumlandırılmasında seçilen 5 cm aralığın etkili olmadığı; elektrot aralığının 1-3 cm arasında olmasının daha iyi sonucu verdiği söylenebilmektedir. Benzer bir sonuç akım yoğunluğu değerlerinde ortaya çıkmaktadır. En yüksek sonuç veren kombinasyonların akım yoğunluğunun 9 nolu örnek dışında 60 mA/cm² olduğu görülmektedir. Burada akım yoğunluğunun 20 mA/cm² olması yetersiz bulunmuştur. Gerilim olarak ifade edilen volt değerinin de 20-40 V arasında ve işlem süresinin 60-90 dakika arasında olması yeterli bulunmuştur.

Adhoum ve Moser (2004) zeytin endüstrisinin atığı olan karasuda elektrokoagülasyon yardımıyla fenolik maddeleri gidermeyi ve atık karasuyun renksizleştirilmesi üzerine çalışmışlardır. Araştırma sonucunda elektrokoagülasyonla atık karasuyun karakteristik koyu renginde %95, fenolik maddelerde ise %91 azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçların elde edilmesinde alüminyum elektrotlar kullanmış, 25 dk işlem süresi ve 75 mA/cm² akım yoğunluğunun optimum çalışma koşulları olduğunu belirtmişlerdir.

4.4. Elektrokoagülasyon Sonrası Seçilen Ekstraktlara Membran Filtrasyon Uygulanması

Elektrokoagülasyon işlemi sonrasında Box-Behnken deneme tablosundan elde edilen verilerle model uyumunun sağlanamaması nedeniyle D-pinitol değeri en yüksek olan 9., 18. ve 22. denemeler membran filtrasyon aşamasında kullanılmak üzere seçilmiştir. Gerçekleştirilen ön denemeler ve daha önce gerçekleştirilmiş çalışmalarda (Öziyici vd. 2015) başarılı bulunan 30 kDa ayırma sınırına sahip membran tercih edilmiştir.



Şekil 4.4. 9 numaralı örneğe ait elektrokoagülasyon (A) ve membran filtrasyon (B) sonrasındaki görünüm

Çizelge 4.8. Elektrokoagülasyon sonrası seçilen örneklerin membran filtrasyon sonrası analiz sonuçları

Örnek No:	D-pinitol Miktarı (g/100g KM*)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/**L)	Bulanıklık (NTU)	Renk			Toplam Mineral Madde Miktarı (mg/100g KM*)
				L	a	b	
9	36,07 ±0,85	112,96 ±0,97	1,47 ±0,09	66,89 ±1,57	15,24 ±0,25	78,96 ±1,08	22,72± 1,05
18	32,84 ±0,83	115,24 ±4,39	1,00 ±0,04	59,75 ±0,52	21,39 ±0,08	80,51 ±0,44	23,03±0,97
22	35,03 ±0,71	117,51 ±1,48	1,06 ±0,06	63,38 ±0,71	20,74 ±0,09	83,27 ±0,53	23,11±1,20

* Tabloda verilen değerler kuru madde üzerinden hesaplanmıştır.

** Toplam mineral madde değerleri gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Elektrokoagülasyon sonrasında membran filtrasyon (ultrafiltrasyon) uygulaması 30 kDa ayırma sınırında renk (L,a ve b değerleri) bulanıklık ve toplam fenolik madde üzerine etkili olmuştur. Ancak, D-pinitol miktarı kısmen azalmıştır. Burada D-pinitolün bir kısmı membran yüzeyinden geçemeyerek retentat fraksiyonunda kalmıştır. Bu fraksiyonun konsantrasyonu uygulamada işlem sürecinde sürekli değişmekte olup besleme akısının kontinü olması durumunda belirli bir süre sonunda dengelenmektedir. Laboratuvar ölçeğindeki denemelerde retentat akısının sürekli yeni ürünle beslenmesi söz konusu olmadığı için D-pinitol konsantrasyonunun kısmen azalması önemli bulunmamıştır. Nitekim; endüstriyel uygulamada retentat akısı “Cross-flow” akış yönteminde sürekli yeni besleme ile karıştırılarak UF sistemine tekrar verilmektedir. Burada retentat akısında kalan hedef bileşenin besleme akısındaki konsantrasyonu da böylece yükselmektedir. Sonuç olarak kontinü sistemlerde permeat akısındaki hedef bileşen konsantrasyonu da sürekli yükselerek belirli bir süre sonunda dengeye ulaşılmaktadır. Bu nedenle, laboratuvar uygulamasında permeat akısında D-pinitol konsantrasyonunun kısmen azalması önemli görülmemiştir. Burada özellikle renk ve bazı safsızlıklar üzerine olumlu etki daha fazla ön plana çıkmaktadır.

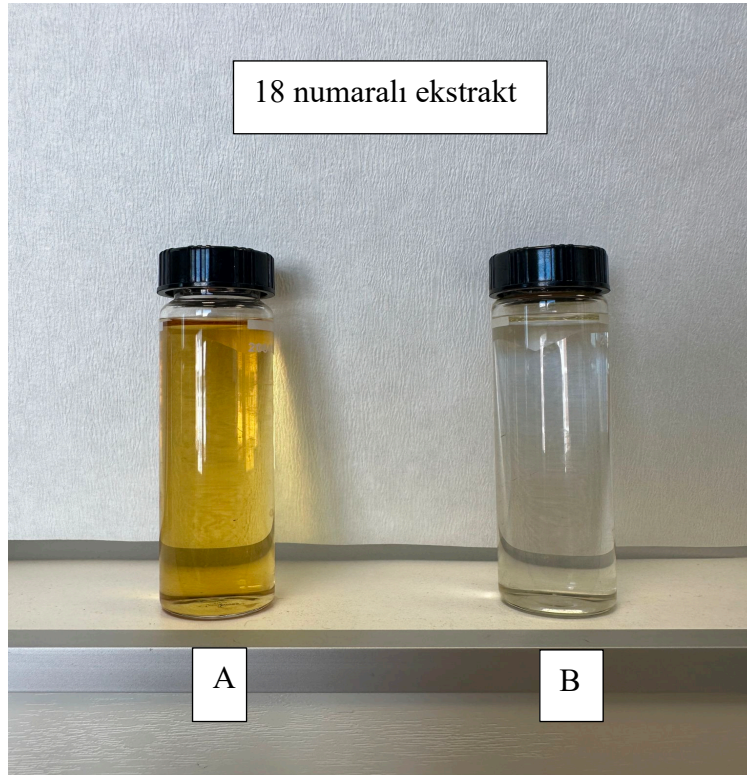
Membran filtrasyon uygulamalarının gıda sektöründe pek çok farklı amaçla kullanıldığı bilinmektedir. Şarap endüstrisinde üretim sonucu ortaya çıkan bir atık olan tortudan fenolik maddelerin geri kazanımı üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada membran filtrasyonun bu amaç için kullanıma uygun olduğu ortaya konmuştur (Galanakis vd. 2013).

4.5. Membran Filtrasyon Sonrası Permeat Akısına Adsorbent Uygulanması

Membran filtrasyon uygulaması sonrası hedeflenen yüksek D-pinitol saflığına ulaşılamamıştır. Bu nedenle adsorbent kullanımına başvurulmuştur. Bu amaçla karışık yatak (Prolite MB400 Mixed-Bed) reçine kullanılmıştır. Karışık yatak reçineler içerisindeki fonksiyonel gruplara bağlı anyon ve katyon değiştirici özelliğe sahip reçinelerdir.

Adsorpsiyon denemeleri bürete doldurulan 30 g karışık yatak reçine üzerinden öncelikle 30 mL ultra saf su ardından 100 ml örnek (25 ml şartlama için, 75 ml analiz için)

geçirilerek gerçekleştirilmiş olup analizler iki paralel iki tekerrür olacak şekilde yürütülmüştür. Şekil 4.4’de ultrafiltrasyon işlemi sonrasında ve karışık yatak reçineden geçirildikten sonra ekstraktların görünümü verilmiştir. Elde edilen ekstraktlarda toplam kuru madde tayini, toplam fenolik madde tayini, D-pinitol ve şekerlerin tayini, toplam mineral madde tayini, bulanıklık ve renk analizleri gerçekleştirilmiştir.



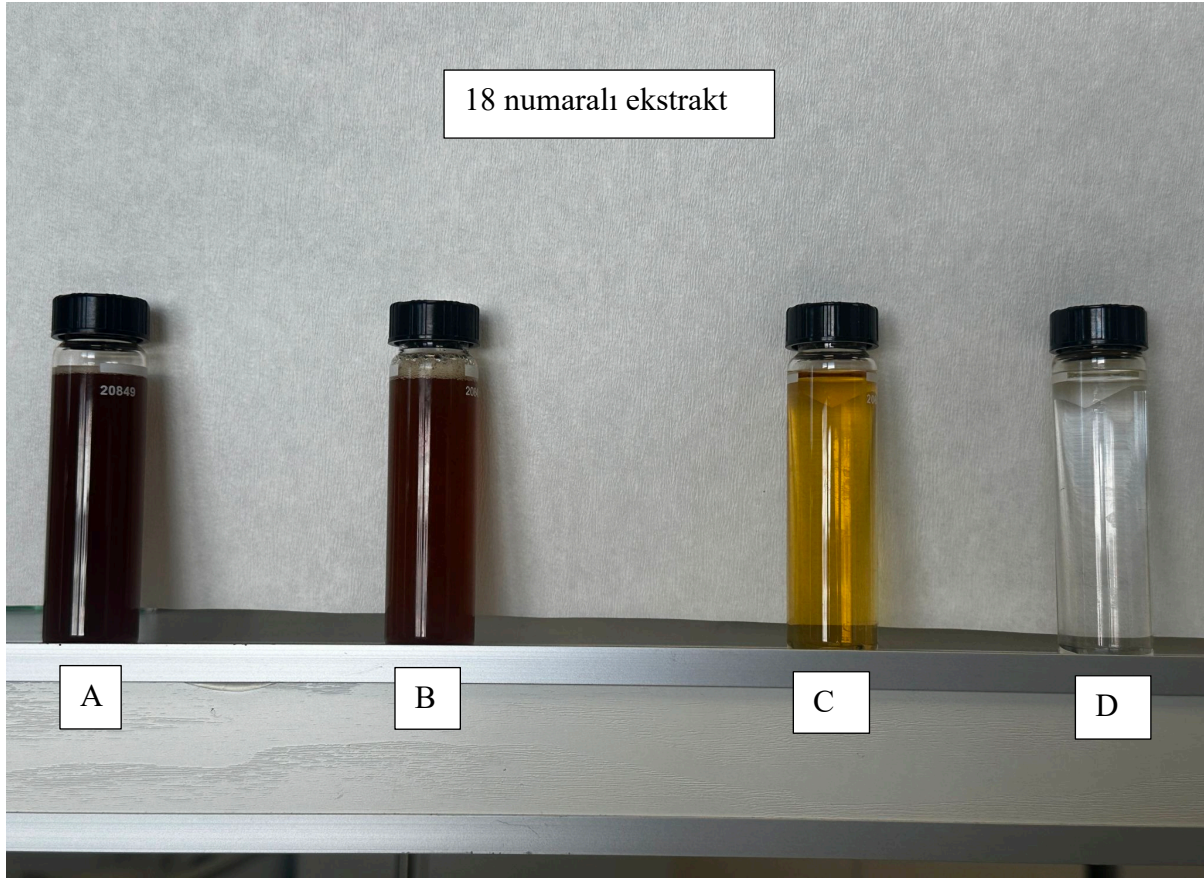
Şekil 4.5. A: 30 kDa membrandan geçirilen ekstrakt, B: Adsorber uygulaması sonrası ekstrakt görünümü

Çizelge 4.9. Elektrokoagülasyon sonrası membran filtrasyon uygulanmış örneklerin adsorpsiyon işlemi sonrası analiz sonuçları

Örnek No:	D-pinitol Miktarı (g/100g KM*)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE**/L)	Bulanıklık (NTU)	Renk			Toplam Mineral Madde Miktarı (mg/100g KM*)
				L	a	b	
9	98,62 ±0,34	-	0,525 ±0,01	96,72 ±0,02	-0,53 ±0,01	0,13 ±0,01	-
18	99,07 ±0,72	-	0,331 ±0,01	96,74 ±0,05	-0,54 ±0,05	0,14 ±0,01	-
22	99,24 ±0,26	3,63 ±0,11	0,797 ±0,06	96,63 ±0,08	-0,54 ±0,05	0,18 ±0,05	-

* Tabloda verilen değerler kuru madde üzerinden hesaplanmıştır.

** Toplam fenolik madde galik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.



şekil 4.6. A: Fermente ekstrakt, B: Elektrokoagölasyon işlemi sonrası, C: Membran filtrasyon sonrası D: Adsorpsiyon işlemi sonrası ekstrakt görönümü.

Günümüze kadar yapılan araştırmalar incelendiğinde D-pinitol'ün saflaştırılmasında birbirinden farklı tekniklerin kullanıldığı görülmektedir. Örneğin Shin vd., (2003) solvent olarak etanol kullanmışlar ve %96,5 saflıkta D-pinitol elde etmişlerdir. Camero ve Merino (2004) ise çeşitli iyon değiştirici reçineler kullanarak %91-95 saflıkta D-pinitole ulaşmıştır. Bu çalışmalarda birbiriyle kombine edilen farklı sistemler kullanılmış; kademeli olarak da istenen saflık düzeylerine ulaşılmıştır. Yapılan bu araştırmada ise saflaştırma amacıyla seçilen proseslerden özellikle de elektrokoagülasyon ve adsorber olarak karışık yatak reçine uygulaması üzerine yapılmış herhangi bir literatür bulgusuna rastlanmamıştır. Araştırmadan elde edilen bulgular özellikle bu iki prosesin keçi boynuzundan D-pinitolün saflaştırılmasında diğer safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10). Yapılan işlemler sonrasında elde edilen ekstraktlardaki mineral maddeler tamamen tutulmuş olup fenolik maddelerin de önemli bir düzeyi uzaklaştırılmıştır. Şekil 4.6'da "D" olarak kodlanan %99,24 D-pinitol içeren ve adsorpsiyon işlemi sonrası elde edilen ekstraktın berrak ve renksiz görünümü dikkat çekmektedir.

Elektrokoagülasyon sonrasında tüm örneklerde önemli düzeyde mineral madde kaldığı ve fenolik madde konsantrasyonlarının hala yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar saflaştırma hedeflerine yaklaşmak için membran filtrasyon aşamasının da gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Box-Behken deneme deseni sonuçları doğrultusunda sistemin hesaplamış olduğu ANOVA tabloları aşağıda verilmiştir. Yanıtlar sırasıyla D-pinitol miktarı, fenolik madde miktarı, bulanıklık ve renk olmak üzere sıralanmıştır. Anova tablolarında görüldüğü gibi, Model her yanıt için uyumsuz (not significant) bulunmuştur.

Çizelge 4.10. EK, membran filtrasyon ve adsorpsiyon işlemleri sonrası elde edilen analiz sonuçlarının değerlendirilmesi

		D-pinitol Miktarı (mg/ 100g KM*)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE** / 100g KM*)	Bulanıklık (NTU)	Toplam Mineral Madde (mg/100g KM*)	Renk		
						L	a	b
5° Bx Keçiboynuzu Ekstraktı		35,04±0,05	764,19±26,83	585±9,41	4,85±0,05	0,125±0,01	-0,03±0,01	0,13±0,05
Fermente Keçiboynuzu Ekstraktı		29,95±0,11	751,04±48,76	383±7,76	22,85±0,44	0,205±0,01	0,795±0,08	0,247±0,07
EK İşlemi Sonrası	9	53,09±0,2	158,77±0,7	20±0,7	25,70±0,7	22,87±0,04	13,59±0,05	36,37±0,08
	18	53,02±2,9	155,84±1,4	4,8±0,02	26,84±0,02	55,20±0,01	23,09±0,02	77,66±0,07
	22	53,26±2,4	142,20±2,0	4,3±0,19	26,38±1,32	48,65±0,02	21,48±0	70,82±0,1
Membran Filtrasyon İşlemi Sonrası	9	36,07 ±0,85	112,96 ±0,97	1,47±0,09	22,72± 1,05	66,89 ±1,57	15,24 ±0,25	78,96 ±1,08
	18	32,84 ±0,83	115,24 ±4,39	1,00 ±0,04	23,03±0,97	59,75 ±0,52	21,39 ±0,08	80,51 ±0,44
	22	35,03 ±0,71	117,51 ±1,48	1,06 ±0,06	23,11±1,20	63,38 ±0,71	20,74 ±0,09	83,27 ±0,53
Adsorpsiyon İşlemi Sonrası	9	98,62 ±0,34	-	0,525 ±0,01	-	96,72 ±0,02	-0,53 ±0,01	0,13 ±0,01
	18	99,07 ±0,72	-	0,331 ±0,01	-	96,74 ±0,05	-0,54 ±0,05	0,14 ±0,01
	22	99,24 ±0,26	3,63 ±0,11	0,797 ±0,06	-	96,63 ±0,08	-0,54 ±0,05	0,18 ±0,05

* Tabloda verilen değerler kuru madde üzerinden hesaplanmıştır.

** Toplam fenolik madde gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışması kapsamında keçiboynuzu meyvesinin ekstraktından çeşitli yöntemlerin kombinasyonu yardımıyla biyoaktif bir bileşen olan D-pinitol'ün saflaştırılması hedeflenmiştir. Bu yöntemler sırasıyla fermentasyon, elektrokoagülasyon, membran filtrasyon ve adsorpsiyondur. Elektrokoagülasyon yöntemi gıda sektöründe kısıtlı kullanım alanına sahip bir yöntem olup saflaştırma tekniği olarak kullanımı oldukça nadir bir uygulamadır. Tez çalışmasında elektrokoagülasyon yönteminin kullanımı tezin inovatif yönünü vurgulamaktadır.

Keçiboynuzu meyvesinin içerdiği yüksek miktarda şekerin D-pinitolün saflaştırılmasını zorlaştırdığı literatür çalışmalarından da bilinmesi tez çalışmasında önceliğin şekerlerin ortamdan uzaklaştırılmasına verilmesine neden olmuştur. Bu doğrultuda *S. cerevisiae* yardımıyla keçiboynuzu ekstraktının fermentasyonu gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon sonucunda diğer işlemlerde hammadde olarak kullanılacak olan ve şekerlerinden arındırılmış fermente keçiboynuzu ekstraktı elde edilmiştir.

Elektrokoagülasyon işlemi gerek kimya gerek gıda endüstrisinde atık suların bertarafında geniş bir yelpazedeki safsızlıkların giderilmesinde yıllardır kullanılmaktadır. Bu bilgiler doğrultusunda içeriği fenolik maddeler, mineraller ve çeşitli kompleks yapıli bileşikler açısından oldukça zengin bir materyal olan keçiboynuzu ekstraktından D-pinitolün saflaştırılmasında da etkili olabileceği düşünülmüş ve çalışmaya entegre edilmiştir. Elektrokoagülasyon işleminin gerçekleştirilmesi için Design-Expert programı kullanılarak Box-Behnken deneme deseni oluşturulmuş ve akım yoğunluğu (mA/cm^2), gerilim (V), süre (dk) ve plaka aralığı (cm) değişken parametreler olarak belirlenmiştir. Ancak deneme deseninin uygulanabilmesi için öncelikle sistemde anot ve katot olarak bağlanacak plakaların seçimi gerçekleştirilmiştir. Bu seçim amacıyla deneme deseninde kullanılan değişken parametrelerin orta nokta değerlerinden faydalanılmıştır (3 cm plaka aralığı, $60 \text{ mA}/\text{cm}^2$ akım yoğunluğu, 30 V gerilim, 60 dk süre) Elde edilen ekstraktlarda D-pinitol miktarı, toplam fenolik madde miktarı, bulanıklık ve renk (L,a,b) değerleri ve toplam mineral madde miktarları analiz edilmiş ve sonuçta en yüksek D-pinitol miktarı, düşük bulanıklık ve toplam fenolik madde , yüksek L değeri elde edilen plaka kombinasyonu AL (-) / Ç (+) olarak belirlenmiş ve deneme deseni uygulamalarında bu kombinasyon kullanılmıştır. Diğer elektrot kombinasyonları keçiboynuzu ekstraktında D-pinitolün saflaştırılması amacıyla uygun sonuçlar vermemiştir.

Elektrokoagülasyon işlemi için gerçekleştirilen analizler sonrasında Design-Expert programı tarafından oluşturulan ANOVA tablolarında istenen model uygunluğu yakalanamamıştır. Bu durum hammadde kısıtlılığı dolayısıyla parametrelerin değişimine gidilemeden en yüksek D-pinitol miktarı sonucu veren (9,18,22) denemelerden elde edilen ekstraktlarla diğer işlem basamaklarına geçilmesiyle çözümlendirilmiştir.

Elektrokoagülasyon basamağından alınan ekstraktar daha önce gerçekleştirilmiş çalışmalar doğrultusunda seçilen 30 kDa ayırma sınırına sahip membran kullanılarak membran filtrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Buradan alınan permeat akısı ardından karışık yatak reçine kullanılarak oluşturulmuş adsorpsiyon sisteminden geçirilmiştir. UF uygulaması 30 kDa ayırma sınırında D-pinitolün saflaştırılmasında renk üzerine önemli

katkı sağlarken karışık yatak reçine sistemi kalan safsızlıkları yüksek verimlikle uzaklaştırmıştır. Böylece kombine işlemler sonrasında istenilen D-pinitol saflık düzeyinde (%90-99) ekstraktlar elde edilmiştir. (Membran filtrasyon tek başına yeterli değildir, ancak sistemi destekleyen önemli basamaklardandır.)

Elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde endüstriyel uygulamada keçiboynuzu ekstraktlarından yüksek verimle D-pinitol üretirken değerli bir yan ürün olan etil alkolün de elde edilebileceği ortaya konmuştur. Keçiboynuzu ekstraktlarından D-pinitolün saflaştırılmasında etil alkol fermentasyonu sonrasında elektrokoagülasyon, ultrafiltrasyon ve karışık yatak reçine uygulaması yeterli olmuştur. Bu uygulamalarla %99 saflıkta D-pinitol izole edilebilmiş; proje hedefinin üzerinde saflaştırma sağlanabilmiştir. Kullanılan karışık yatak reçinelerin tekrar kullanılabilir özellikte geri kazanılması amacıyla rejenere edilebilmesini sağlayan prosedürler üzerine ilave çalışmalar yapılmalıdır. D-pinitol saflaştırmasında kullanılan karışık yatak reçinelerin rejenere edilerek tekrar kullanılabilmesi durumunda kolay uygulanabilir ve düşük maliyetli bir saflaştırma yönteminin geliştirilebileceği söylenebilir. Bu araştırma sonuçlarının benzer saflaştırma çalışmaları için örnek olması beklenmektedir.

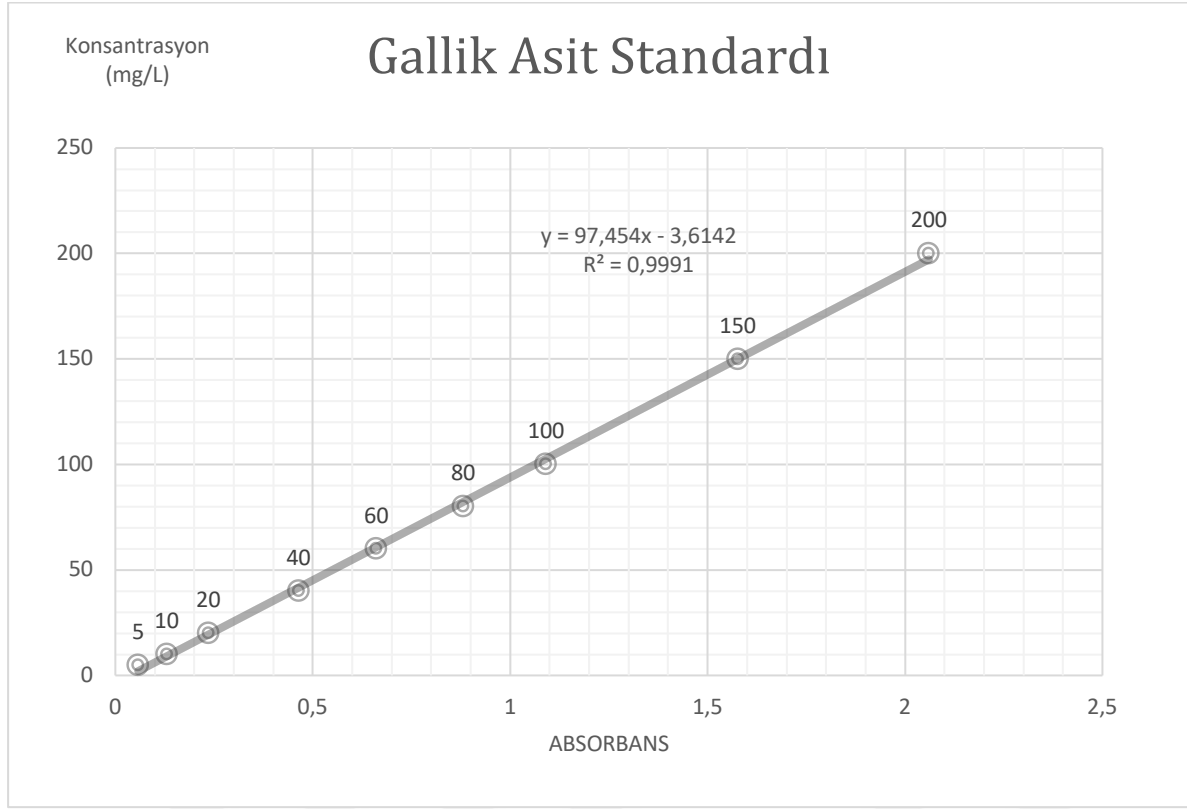
7. KAYNAKLAR

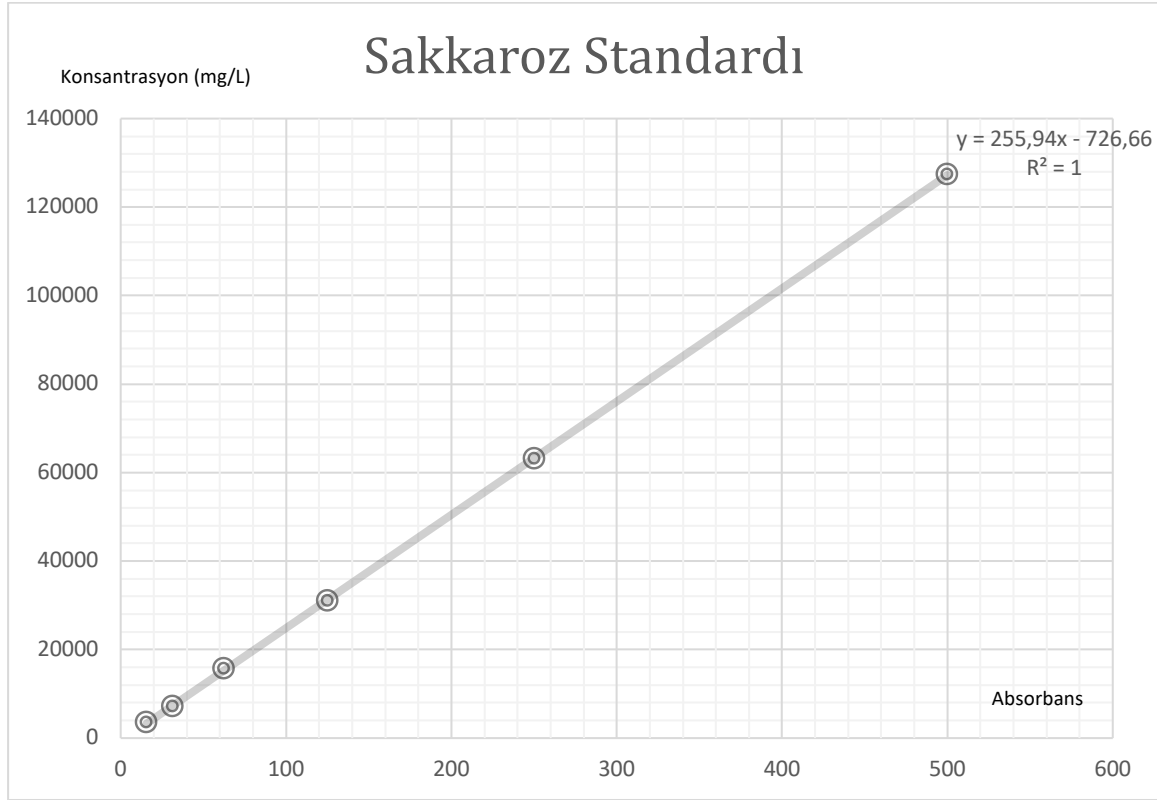
- Anonim 1: <https://www.fao.org/home/en> [Son Erişim Tarihi: 07.06.2024].
- Anderson, A. B. 1952. Pinitol from sugar pine stump wood. Ind. Eng. Chem., 45: 593-596.
- Akarsu, C. 2014. Elektrokoagülasyon prosesi ile endüstriyel atıksu arıtımı. Akademik Platform Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi 1: 1450-1456.
- Avvallone, R. Plessi, M. Baraldi, M. Monzari, A. 1997. Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): Proteins, Fat, Carbohydrates and Tannin. Journal of Food Composition and Analysis, 10: 166-172.
- Ayaz, A., F., Torun, H., Ayaz, S., Correia, J., P., Alaiz, M., Sanz, C., Gruz, J., Strnad, M. 2007. Determination of chemical composition of anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.); sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. Journal of Food Quality, 30: 1040- 1055.
- Bates, S., Jones, R., Bailey, C. 2000. Insulin like effect of pinitol. British Journal of Pharmacology, 130: 1944-1948.
- Battle, T., Tous, J. 1997. Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.). International Plant Genetic Resources Institute, Italy, 97.
- Baumgartner, S., Genner- Ritzmann, R., Haas, J., Amadb, R., Neukom, H. 1986. Isolation and identification of cyclitols in carob pods (*Ceratonisiliqua* L.). Journal of Agriculture and Food Chemistry, 34: 827-829.
- Bazrafshan, E., Moein, H., Mostafapour, F., K., Nakhaie, S. 2012. Application of electrocoagulation process for dairy wastewater treatment. Journal of Chemistry, 2013: 1-8.
- Biner, B., Gubbuk, B., Karhan, M., Aksu, M. Pekmezci, M. 2005. Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. Food Chemistry, 100: 1453-1455.
- Cabecinha, A., Guerrero, C., Beltrao, J., Brito, J. 2010. Carob residues as a substrate and a soil organic amendment. WSEAS Transactions on Environment and Development, 5(6); 317-326.
- Camero, B., M. Merino, C. S. 2004. Method of obtaining pinitol from carob extracts". U.S Patent No 6,699,511 B2
- Cemeroğlu, B. S., 2013, Gıda Analizleri (3. Basım), Bizim Grup Basımevi, Ankara, 480.
- Ceylan, V., Muştı, Ç. 2021. Keçiboynuzu unu bazlı glütensiz kurabiye formülasyonu geliştirilmesi. Aydın Gastronomy, 5(1): 1-12.
- Chafer, A. and Berna, A. 2014. Study of kinetics of the d-pinitol extraction from carob pods using supercritical CO₂. Journal of Supercritical Fluids ,94: 212–215.
- Charcosset, C. 2021. Classical and recent applications for membrane process in food industry. Food Engineering Reviews, 13: 322-343.
- Chul-Shin, Y., Jeon, Y. J., Kim, J.J. 2003. Method of recovering pinitol or chiro inositol in high yield from soy fractions. U. S. Patent No 0186401 A1

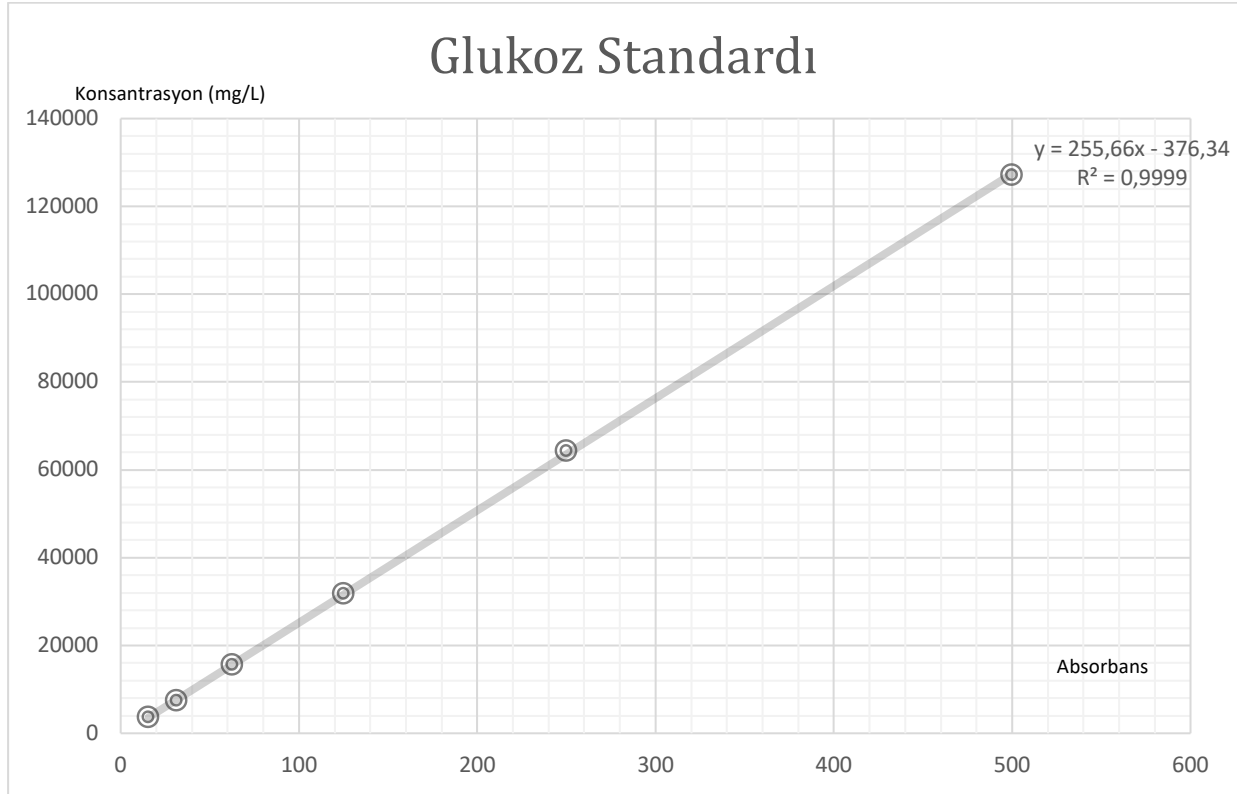
- Dadalı, C., Elmacı, Y. 2021. Wheat Flour Alternatives Used in Tarhana Production. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 9(9), 1631–1637.
- Diaz, S. 1997. Syrup of natural carob sugars and a process for its production. U. S. Patent No 5624500
- Demir, E., Yalçın, H. 2014. Adsorbentler: sınıflandırma, özellikle, kullanım ve öngörüler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 7 (2): 70-79.
- Eren, İ. 2004. Patateslerin osmotik dehidrasyonunun ‘Response Surface’ metodu kullanılarak optimizasyonu. Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi, İzmir, 141s.
- García-García, P., López-López, A., Moreno-Baquero, J.M. and Garrido-Fernández, A. 2011. Treatment of wastewaters from the green table olive packaging industry using electro-coagulation. Chemical Engineering Journal, 170(1): 59-66.
- Gübbük, H., Tozlu, İ., Doğan, A., Balkıç., R. 2016. Environment, industrial use and human health aspects of carob. Journal of Agricultural Faculty of Mustafa Kemal University, 21(2): 207-215.
- Hacıoğlu, A., Zoua, U., A., T., Yıldız M., Kulcan, A., A., Yavuz, İ., Karhan, M. 2020. Optimization of enrichment of D-pinitol in carob extract using nanofiltration application using the response surface methodology, Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology, 8(9): 1846-1853.
- Hacıoğlu, A. 2024. Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) bitkisi ekstraktında bulunan steviol glukozitlerin saflaştırılmasında bazı fiziksel ayırma tekniklerinin uygulanması. Doktora tezi. Akdeniz Üniversitesi, Antalya, 98s.
- Hamutoğlu, R., Dinçsoy, A., B., Cansaran- Duman, D., Aras, S. 2012. Biyosorpsiyon, adsorpsiyon, fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69 (4): 235- 253.
- Ichimura, K., Kohata, K., Koketsu, M., Shimamura, M., Ito, A. 1998. Identification of pinitol as a main sugar constituent and changes in its content during flower bud development in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). Journal of Plant Physiology, 152 (4-5): 363-367.
- Inan, H., Dimoglo, A., Şimşek, H. and Karpuzcu, M. 2004. Olive oil mill wastewater treatment by means of electro-coagulation. Separation and purification technology, 36(1): 23-31.
- Karhan, M., Gubbuk, H., Turhan, İ., Öziyici, Tavukcuoğlu, R., Akgül, H., Uçgun, K., 2010, Türkiye’de yetişen keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) tiplerinin biyoaktif bir molekül Olan D-pinitol içeriği üzerine çevre koşulları ve bileşim unsurlarının etkisi., Tubitak Projesi, Proje No: 107O650.
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M., Nakayama, T. 2002. Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. Journal of Agricultural Food Chemistry, 50 (2): 373-377.
- Karkacıer, M., Artık, N. 1995. Keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua*) fiziksel özellikleri, kimyasal bileşimi ve ekstraksiyon koşulları. Gıda, 20: 131-136.

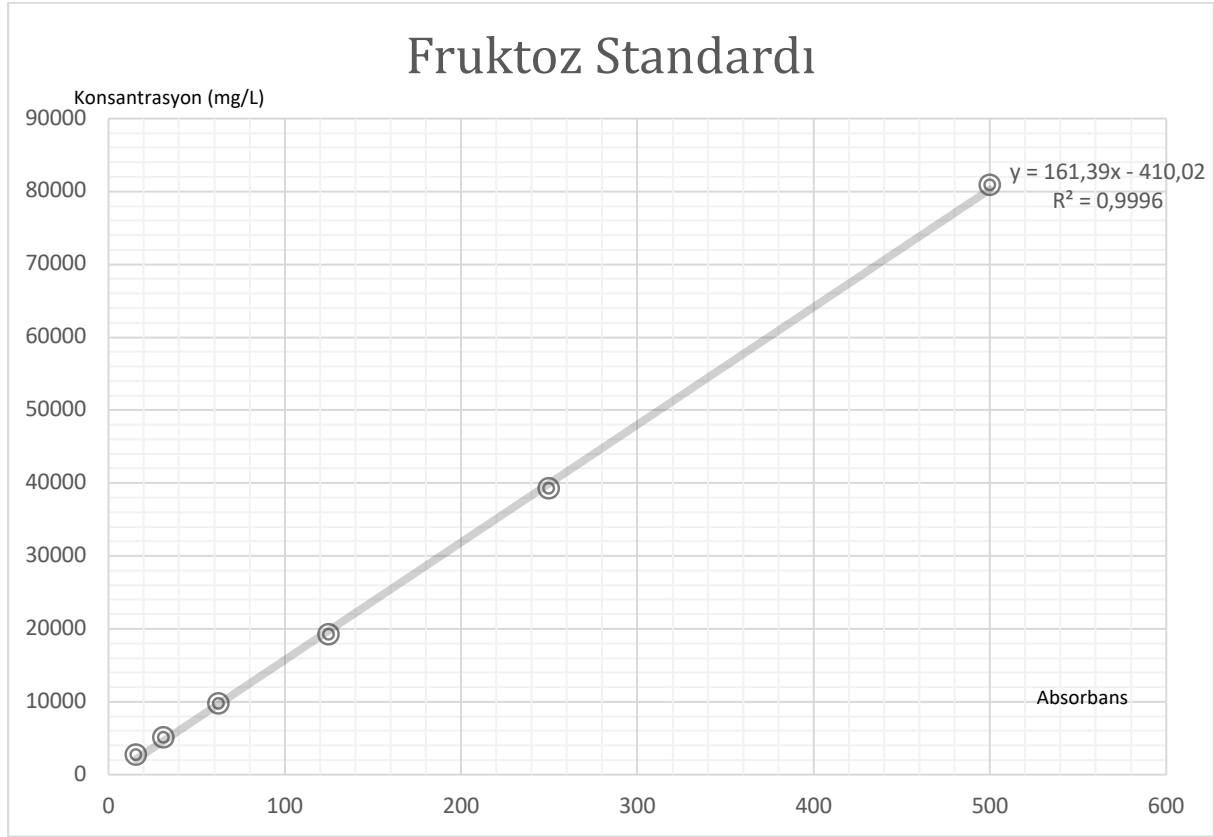
- Kartal, Z., Ölmez- Hancı, T., Arslan- Alaton, İ. 2008. Bir zeytinyağı karasuyunun koagülasyon ve elektrokoagülasyon prosesleriyle kimyasal arıtılabilirliğinin incelenmesi. *İTÜ Dergisi*, 18 (2-3): 3-12.
- Lazaridou, A., Biliaderis, G., C., Izydorczyk, S., M. 2000. Structural characteristics and rheological properties of locust bean galactomannans: a comparison of samples from different carob tree populations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81 (1), 68-75.
- Lo Gullo, A., M., Salleo, S.1988. Different strategies of drought resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions. *New Phytologist*, 108 (3); 267-276.
- Mollah, M. Y. A., Schennach, R., Parga, J. R. and Cocke, D. L. 2001. Electrocoagulation (EC)—science and applications. *Journal of Hazardous Materials*, 84(1), 29-41.
- Nestler, J. E., Jakubowicz, J.D., Reamer, P., Gunn, R. D., Allan, G. 1999. Ovulatory and metabolic effects of D-Chiro-Inositol the polycystic ovary syndrome. *The New England Journal of Magazine*, 340: 1314-1320.
- Ogando, F., I., B., Aguiar, C., L., Viotto, J., V., N., Heredia, F., J., HernanzD. 2019. Removal of phenolic, turbidity and color in sugarcane juice by electrocoagulation as a sülfür- free process. *Food Research İnternational*, 122: 643-652.
- Ortmeyer, H., Huang, L., Zhang, L., Hansen, B., 1992, Chiroinositol deficiency and insulin resistance. Acute effects of D-Chiroinositol administration in streptozotocin- diabetic rats, normal rats given a glucose lead, and spontaneously insulin resistant rhesus monkeys., *Endocrinology*, 132, 646-651p.
- Ostlund, R. E., Sherman, W. R.1996. Pinitol and derivatives thereof for the treatment of metabolic disorders. U.S Patent No. 5,550,166.
- Öziyici, R., H., Turhan, İ., Tetik, N., Kulcan, A., A., Akkoyun, T., Yatmaz, E., Germeç, M., Karhan, M. 2015. Concentration of D-pinitol in carob extract by using multi stage enrichment process, *Gıda*, 40 (3): 125-131.
- Parrado, J., Bautista, J., Romero, J., E., Garcia-Martinez, M., A., Friaza, V., Tejada, M.2008. Production of a carob enzymatic extract: potential use as biofertilizer. *Biosource and Technology*, 99: 2312-2318.
- Pawlowska, K., Kuligowski, M., Jasinska-Kuligowska, I., Kidon, M., Siger, A., Rudzinska, M., Nowak, J. 2018. Effect of replacing cacao powder in the muffins on sensory and physiochemical properties. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73: 196.202.
- Peixoto, A. L. D. C., Costalonga, A. G. C., Esperança, M. N. and Salazar, R. F. D. S. 2017. Design of Experiments Applied to Antibiotics Degradation by Fenton's Reagent. In *Statistical Approaches With Emphasis on Design of Experiments Applied to Chemical Processes*. Ed: Silva, V. IntechOpen.
- Petit, M., D., Pinilla, M., J. 1995. Production and purification of a carob syrup from carob pods. *LWT Food Science and Technology*, 28(1) : 145-152.
- Rishani, N., Rice, P., R. 1988. Use of carob as potting medium component. *Hortscience*, 23(2): 334-336.

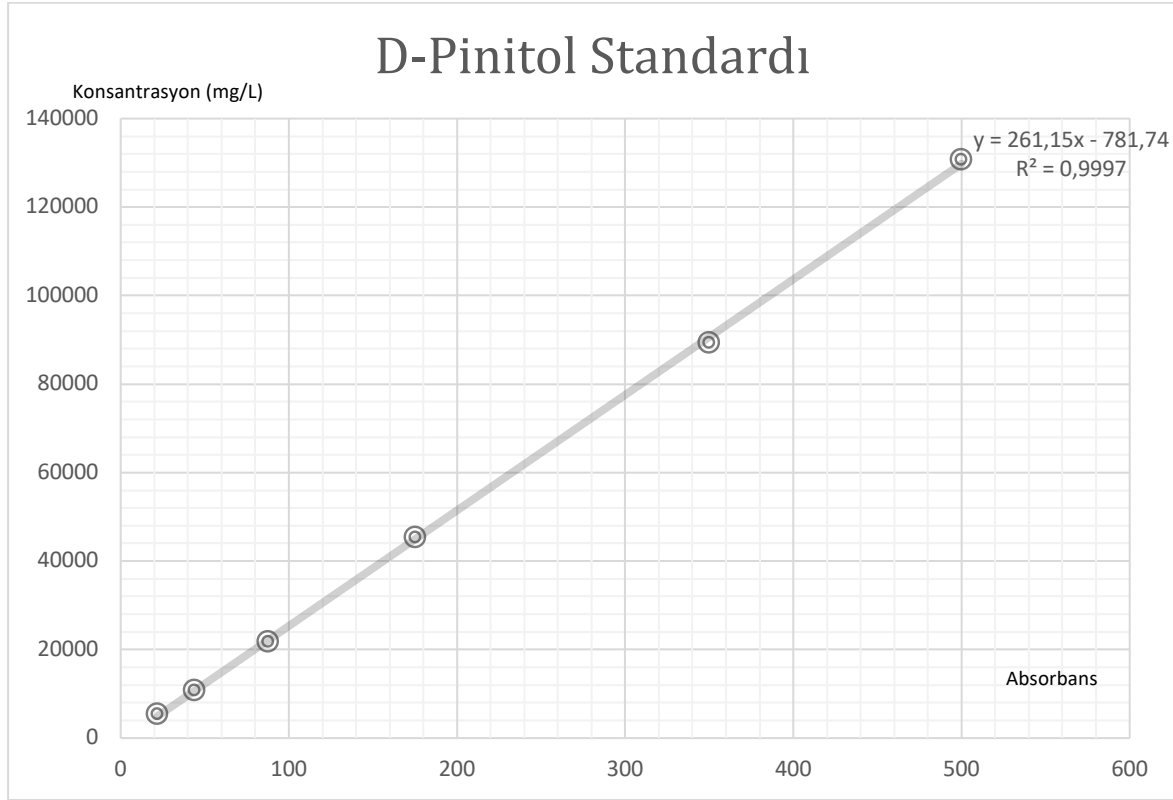
- Sarioğlu, K. 2007. Synthesis of octadecyl acrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate resin for removal of dark-colored compound from apple juice and comparison with polyvinylpyrrolidone (PVPP), *Eur Food Res Technol*, 225: 443–449.
- Solak, M., Baldan- Pakdil, N., Kılıç, M., Kobya, M. 2018. Elektrokoagülasyon sistemi ile patates cipsi üretimi atıksularından fosfor giderimi: elektrot materyali karşılaştırması. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2): 302-313.
- Spanos, A., Wrolstad, E., R. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, (38): 1565-1571.
- Tajchakavit, S., Boye, J., I., Couture, R. 2001. Effect of processing on post- bottling haze formation in apple juice. *Food Reserch Internarioal*, (34): 415-424.
- Tetik, N., Turhan, İ., H., R., Öziyici, Karhan, M. 2011. Determination of D-pinitol in carob syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(6): 572-576.
- Turhan, İ. 2005. Sürekli Sistemde Keçiyoynuzu Ekstraksiyonu Üzerine Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 63.
- Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, M. 2007. Keçiyoynuzu Pekmezinin Bileşimi ve Üretim Aşamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2: 39-44.
- Turhan, İ., Bialka, K., L., Demirci, A., Karhan, M. 2010. Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces Cerevisiae*. *Bioresource Technology*, 10: 5290-5292.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2004. “USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17”. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/nuteintdata>. Son erişim tarihi: 18.03.2014
- Vidhate, M., Ranade, A., Vidhate, B., Birajdar, P. 2015. Isolation, characterization and quantification of extracted D-pinitol from *Bougainviella spectabilis stem* bark. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(7): 1669-1683.
- Yıldırım, H., Kaya, Ş. 2011. Karayeme farklı oranlarda eklenen keçiyoynuzu tozunun etlik piliçlerin performansına etkisi. *MKU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16 (1): 43-50.
- Yıldız, M., Karhan, M. 2021. Characteristics of some beverages adjusted with stevia extract, and persistence of steviol glycosides in the mouth after consumption, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 24.
- Yılmaz, Z., Karagözoğlu, M., B. 2019. Atıksuların arıtılmasında elektrokoagülasyon uygulamaları. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1): 319-334.
- Yousif, K., A., Alghzawi, M., H. 2000. Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*, 69 (3): 283-287.

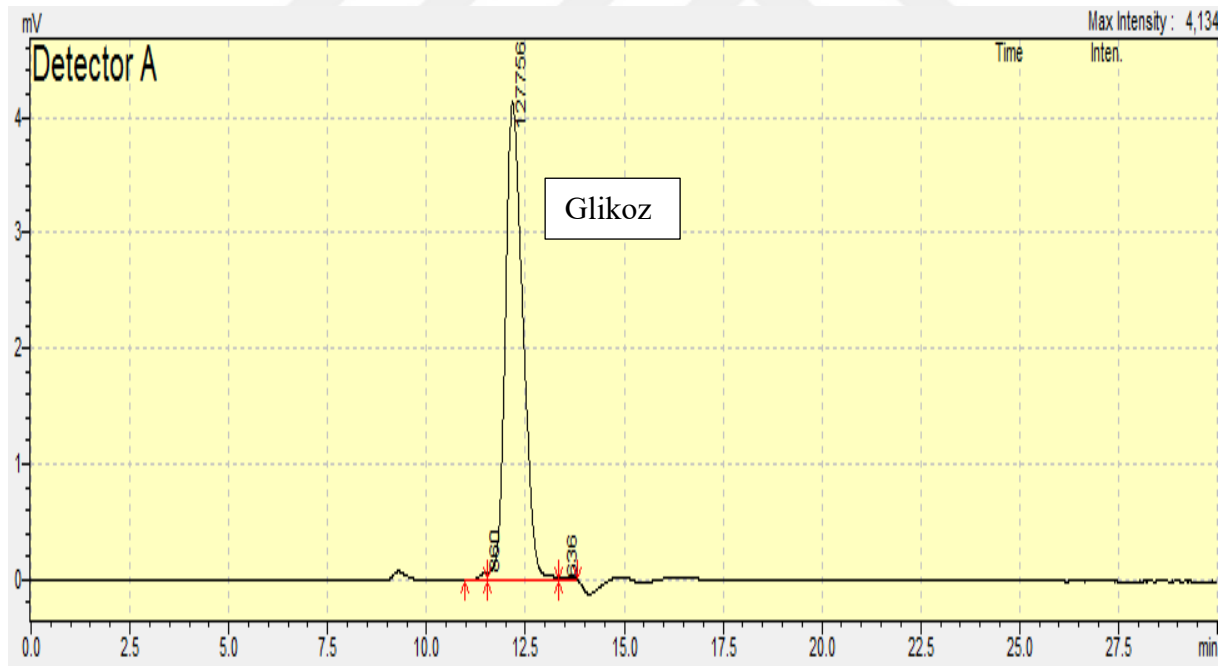
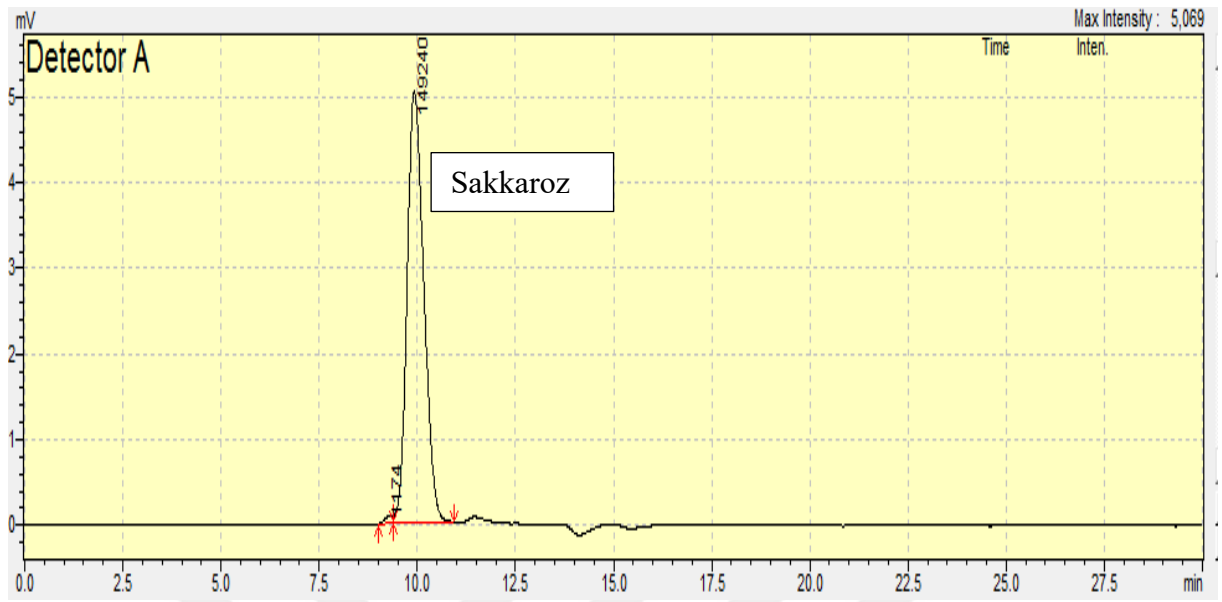
8. EKLER**EK- 1. Gallik asit standardı ile oluşturulmuş kurve**

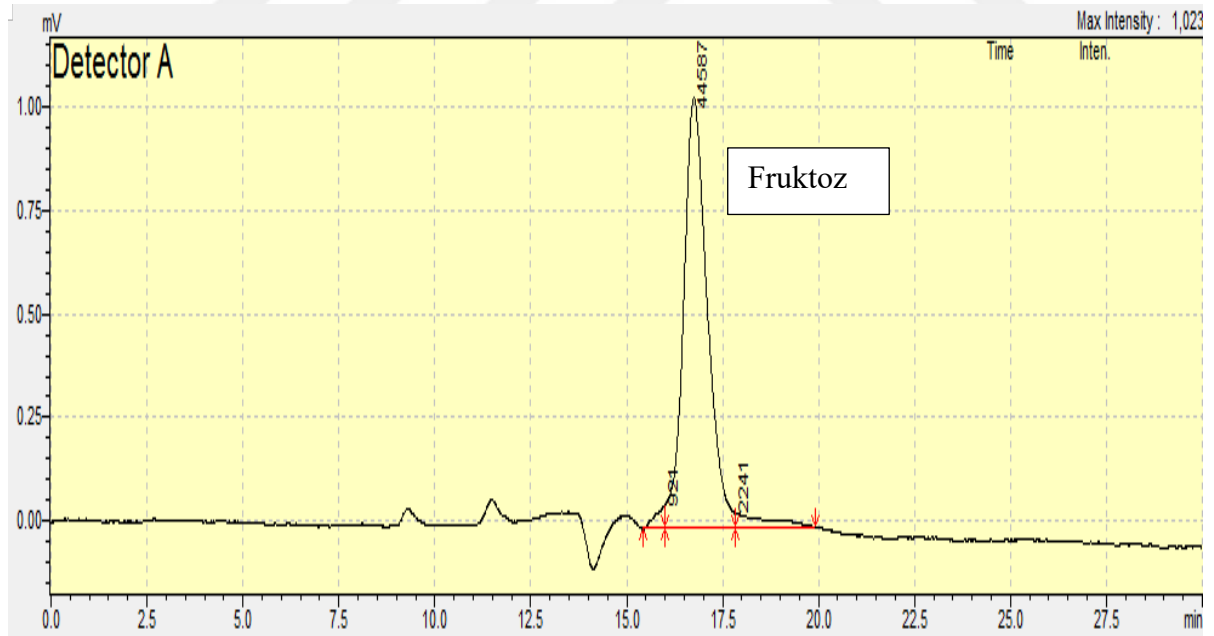
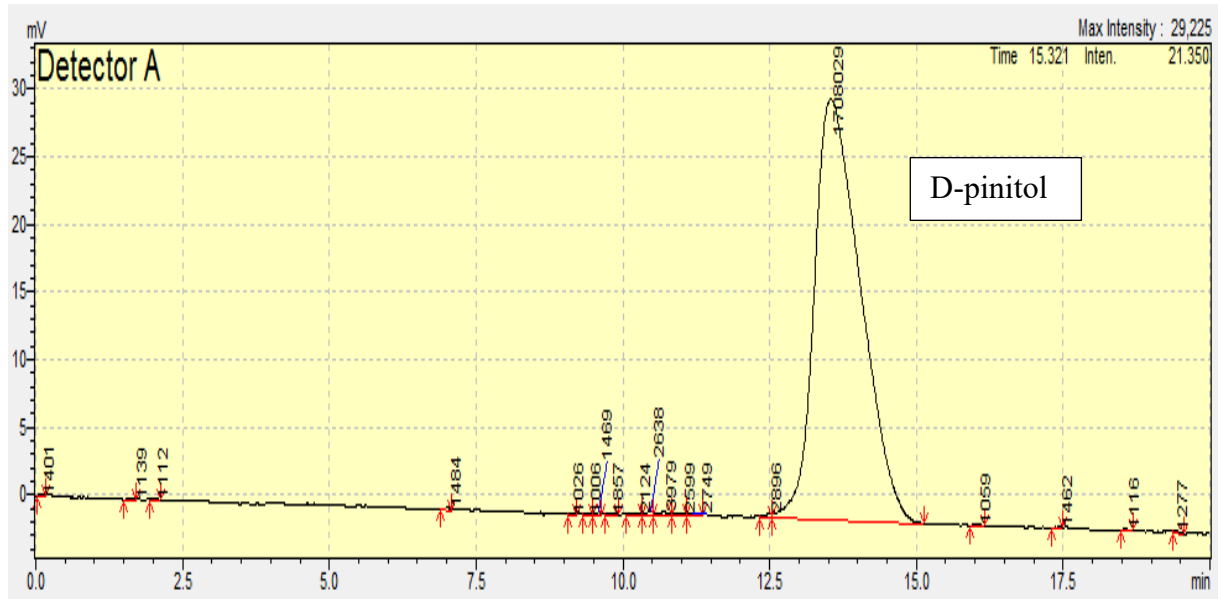
EK-2. Sakkaroz standardı ile oluşturulmuş kurve

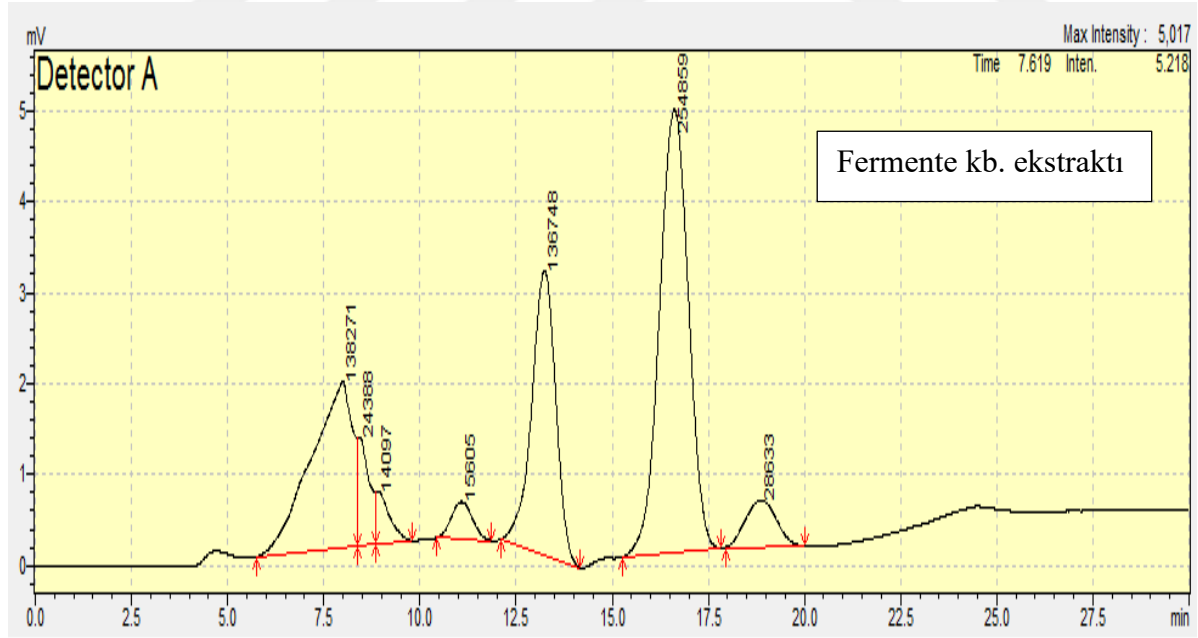
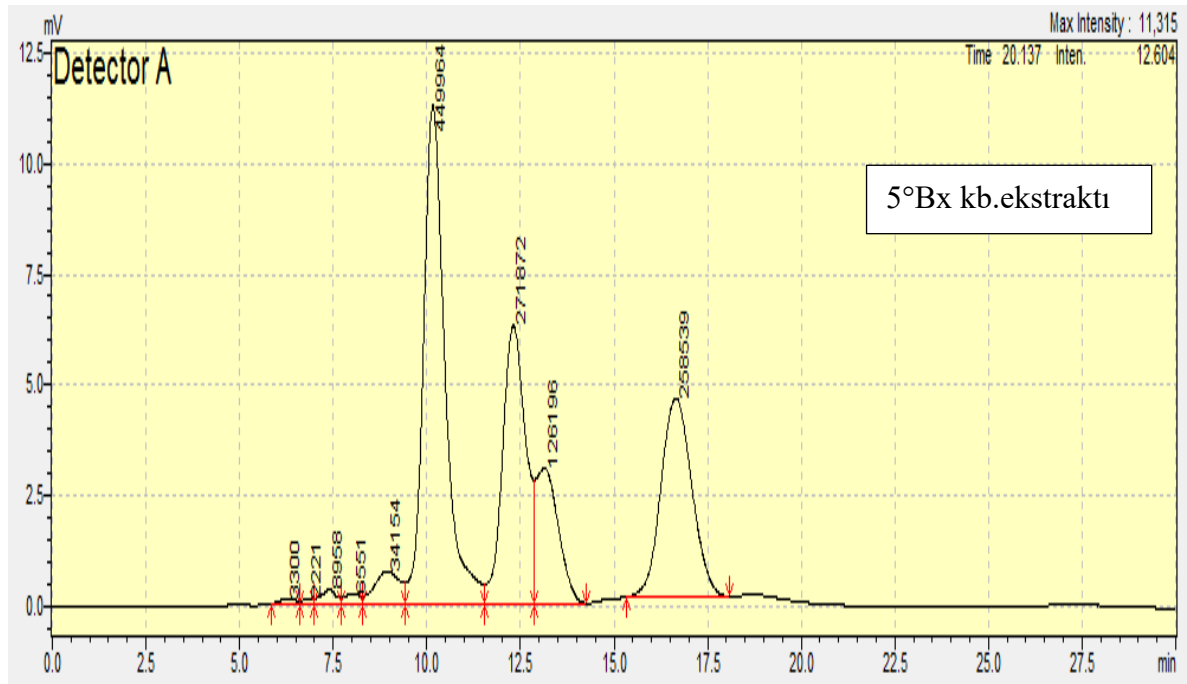
EK-3. Glukoz standardı ile oluşturulmuş kurve

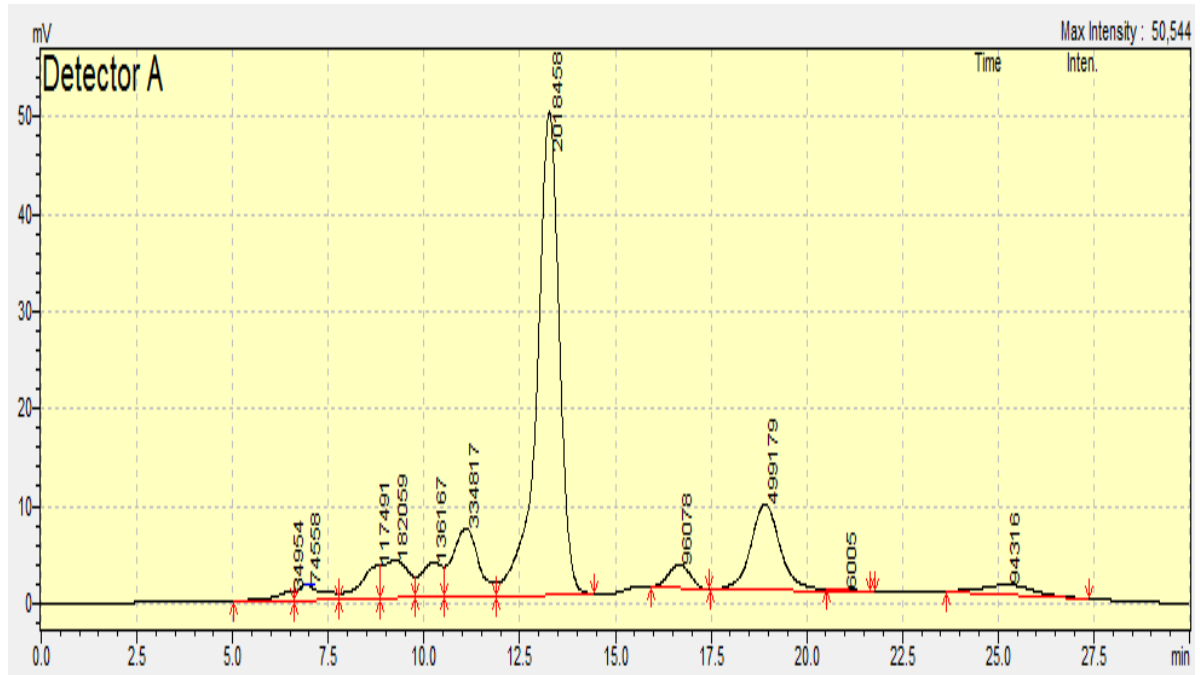
EK-4. Fruktoz standardı ile oluşturulmuş kurve

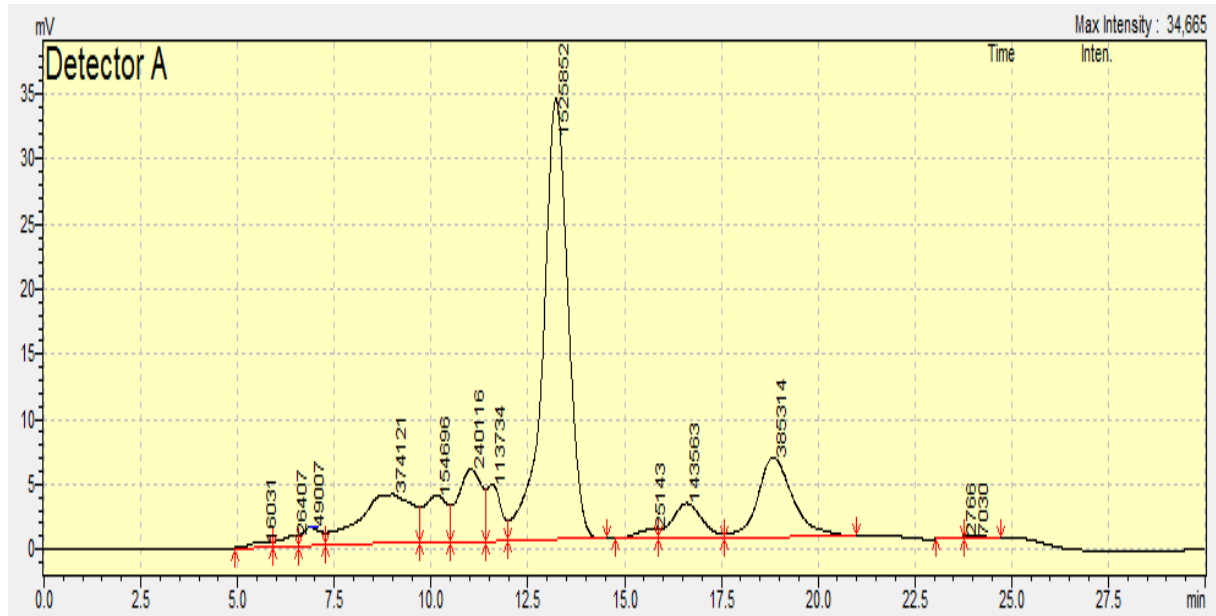
EK-5. D-pinitol standardı ile oluşturulmuş kurve

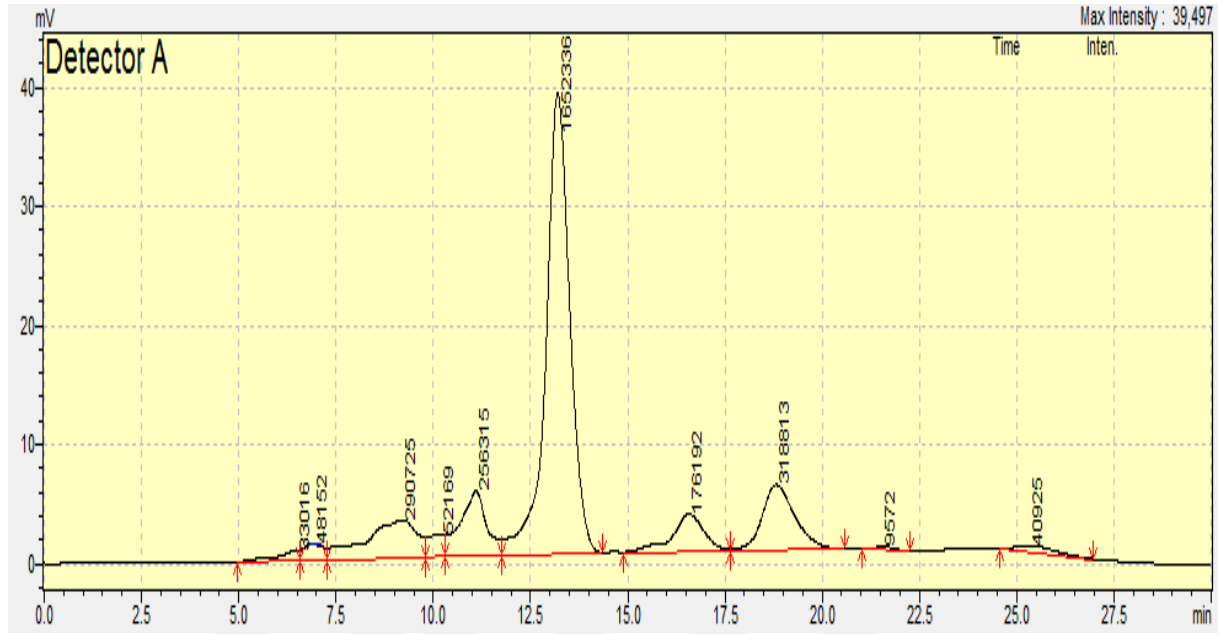
EK-6. Şekerler ve D-pinitol standart çözeltilerine ait kromatogramlar

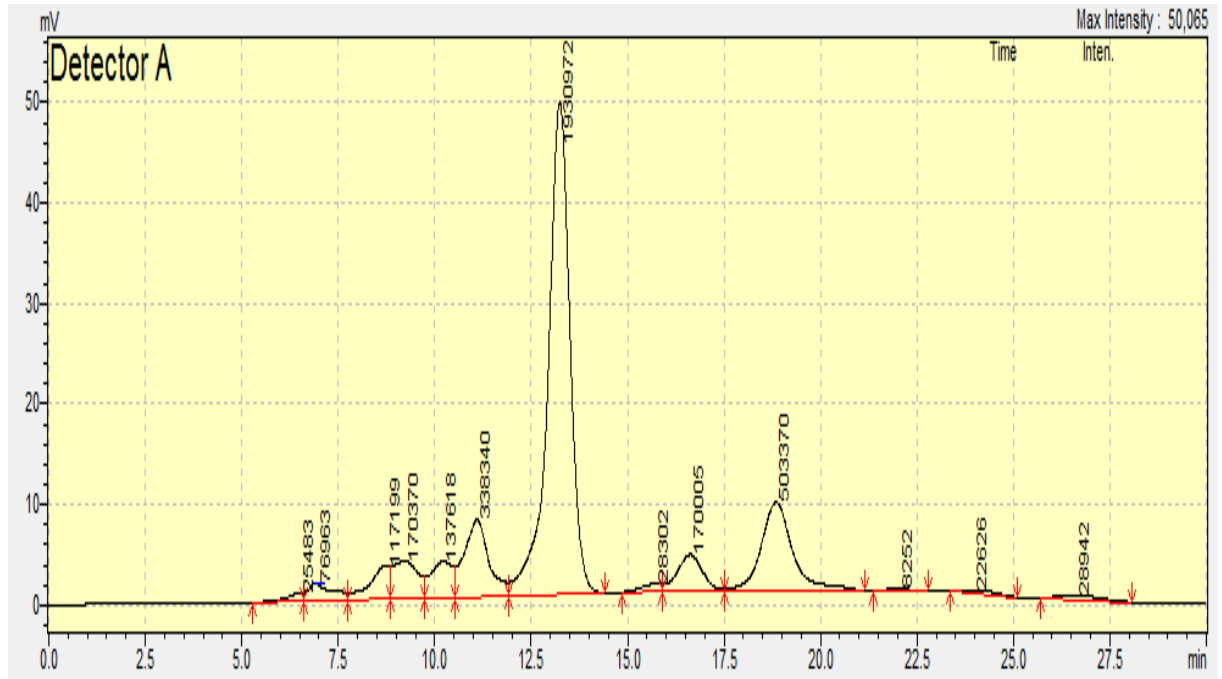


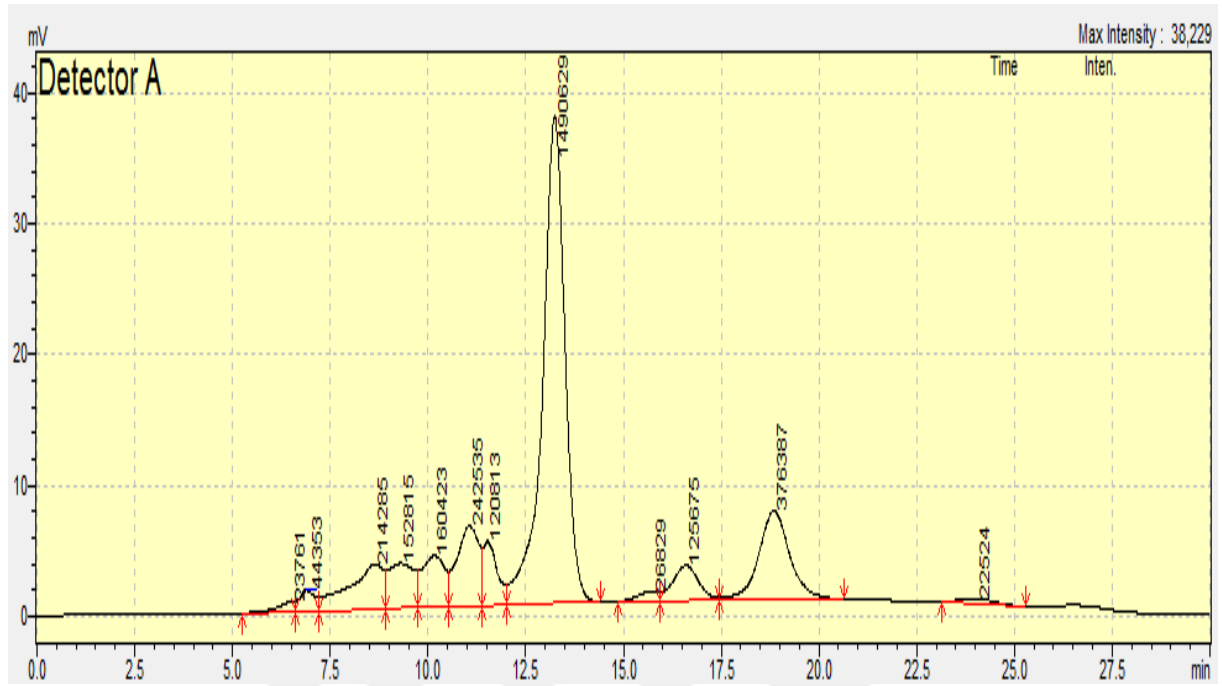
EK-7. 5 Bx'e seyreltilmiş ve fermente keçiyoynuzu ekstraktına ait kromatogram

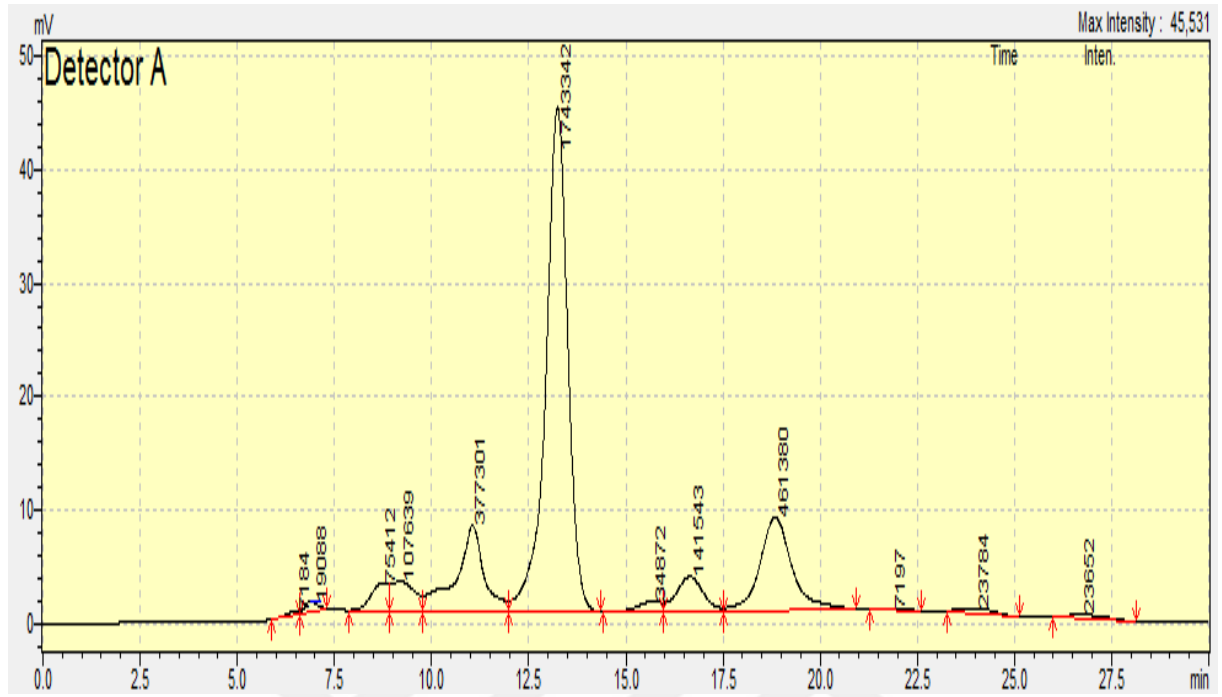
EK-8. EK işleminden sonra 9. denemeye ait kromatogram

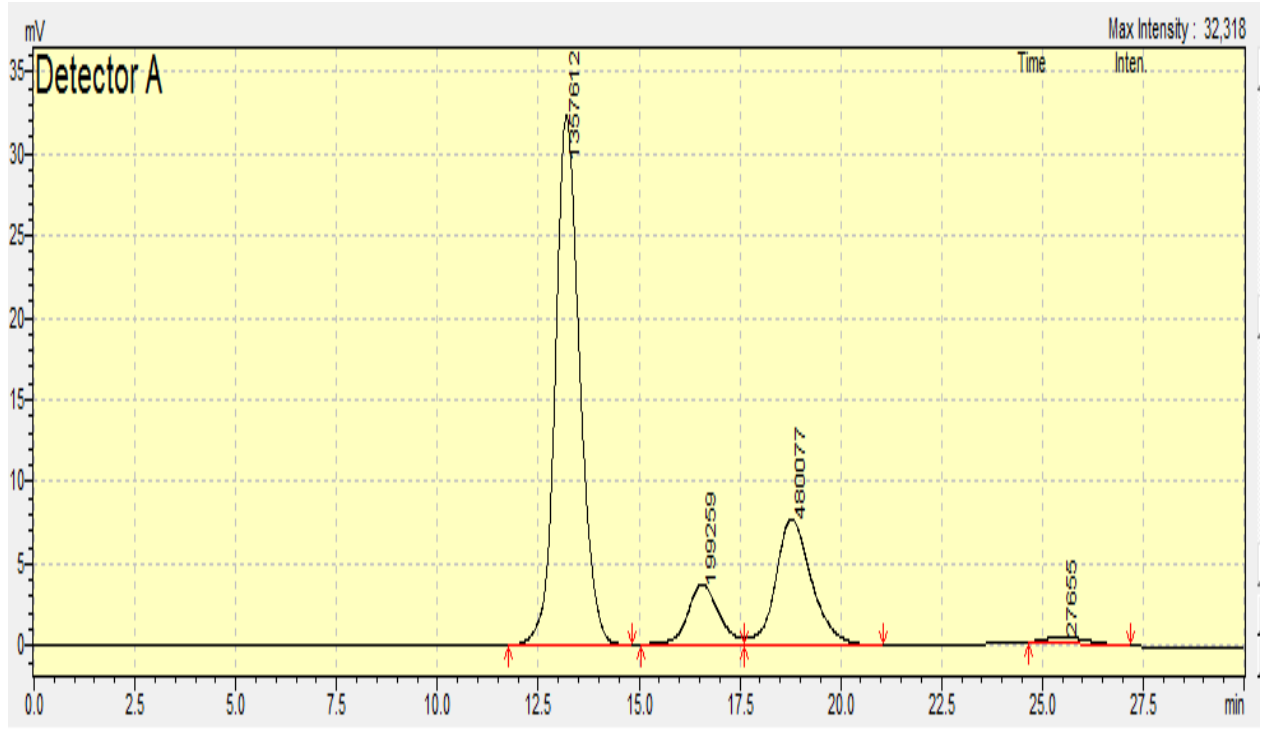
EK-9. EK işleminden sonra 18. denemeye ait kromatogram

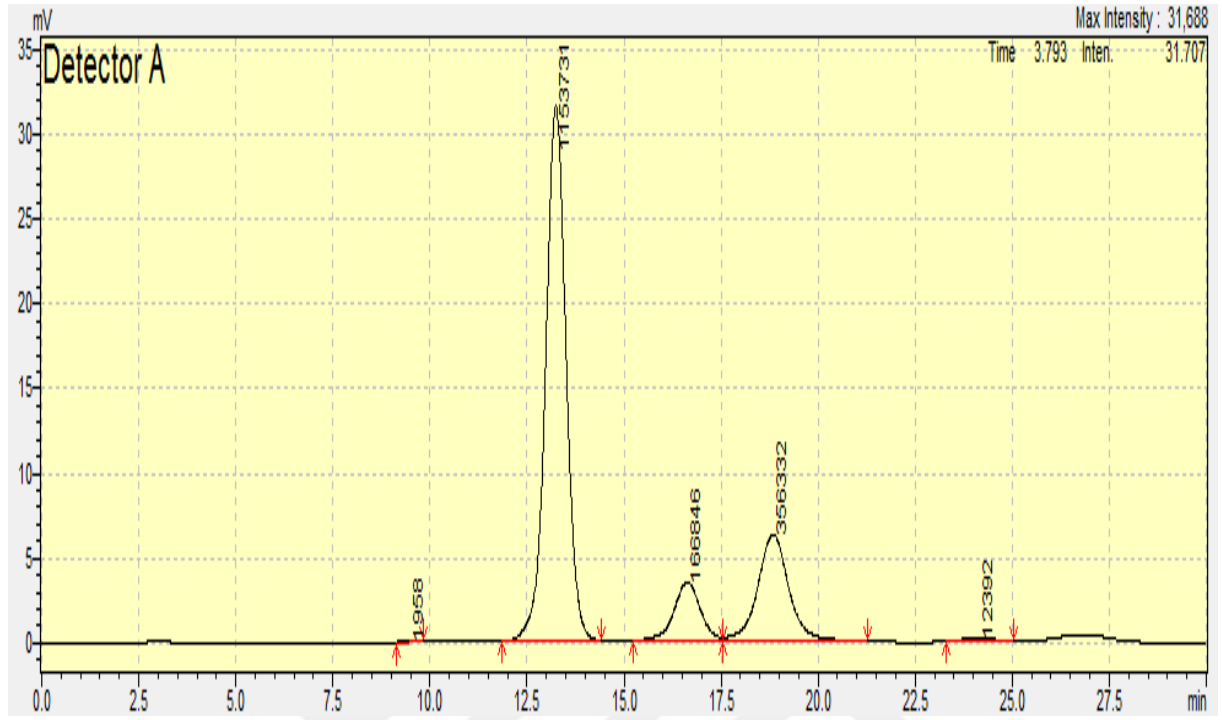
EK-10. EK işleminden sonra 22. denemeye ait kromatogram

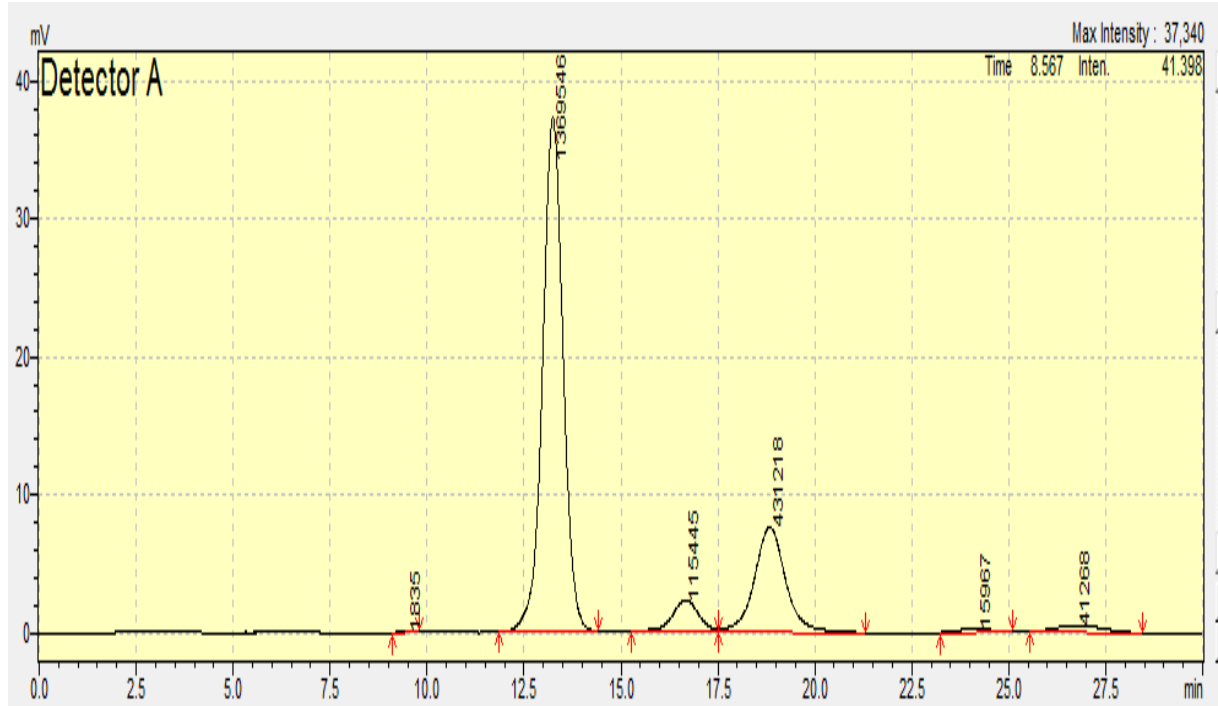
EK-11. Membran filtrasyon sonrası 9. denemeye ait kromatogram

EK-12. Membran filtrasyon sonrası 18. denemeye ait kromatogram

EK-13. Membran filtrasyon sonrası 22. Denemeye ait kromatogram

EK-14. Adsorpsiyon işlemi sonrası 9. denemeye ait kromatogram

EK-15. Adsorpsiyon işlemi sonrası 18. denemeye ait kromatogram

EK-16. Adsorpsiyon işlemi sonrası 22. denemeye ait kromatogram



ÖZGEÇMİŞ

Yüksel ALPER KÜTÜK

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2019- 2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans	Ege Üniversitesi
2013-2016	Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir
Lisans	Ege Üniversitesi
2009-2013	Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Alper Kütük, Y., Öziyci, H., R., Karhan, M. 2024. Electrocoagulation for D-pinitol enrichment from carob extract: plate selection. Journal of Hygenic Engineering and Design, 48 :19-23.
- 2- Sevim, D., Köseoğlu, O., Pazır, F., Ova, G., Kadiroğlu, P., Alper, Y., 2022. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse.Oxidative stability of olive oils with supercritical carbon dioxide extracts of olive leaf, 297,308
- 3- Pazır, F., Alper, Y.,2018. Carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) and its products. Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute. 28(1): 108-112.

4- Pazır, F., Ova, G., Turan, F., Alper, Y. 2018. Extraction of spaghetti squash (*Cucurbita pepo* L.) by using supercritical carbondioxide extractipn method. *Journal of Hygenic Engineering and Design*, 62-68

5- Pazır, F., Alper, Y. 2016. Keçiboynuzu meyvesi ve sağlık. *Akademik Gıda*, 14 (3), 302-306.

