

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**STEVİA (*Stevia rebaudiana* B.) BİTKİSİ EKSTRAKTINDA BULUNAN
STEVİOL GLİKOZİTLERİN SAFLAŞTIRILMASINDA BAZI FİZİKSEL
AYIRMA TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI**

Ahmet HACIOĞLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**STEVİA (*Stevia rebaudiana* B.) BİTKİSİ EKSTRAKTINDA BULUNAN
STEVİOL GLİKOZİTLERİN SAFLAŞTIRILMASINDA BAZI FİZİKSEL
AYIRMA TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI**

Ahmet HACIOĞLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2024

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STEVIA (*Stevia rebaudiana* B.) BİTKİSİ EKSTRAKTINDA BULUNAN
STEVİOL GLİKOZİTLERİN SAFLAŞTIRILMASINDA BAZI FİZİKSEL
AYIRMA TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI

Ahmet HACIOĞLU
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)
tarafından 221O419 (TÜBİTAK-1001) nolu proje ile desteklenmiştir.

ŞUBAT 2024

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STEVIA (*Stevia rebaudiana* B.) BİTKİSİ EKSTRAKTINDA BULUNAN
STEVİOL GLİKOZİTLERİN SAFLAŞTIRILMASINDA BAZI FİZİKSEL
AYIRMA TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI**

Ahmet HACIOĞLU
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 23/02/2024 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa KARHAN (Danışman)
Prof. Dr. Kenan TURGUT
Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM
Doç. Dr. Mehmet TORUN
Dr. Öğr. Üyesi Hatice Reyhan ÖZİYCI

ÖZET

STEVIA (*Stevia rebaudiana* B.) BİTKİSİ EKSTRAKTINDA BULUNAN STEVIOL GLİKOZİTLERİN SAFLAŞTIRILMASINDA BAZI FİZİKSEL AYIRMA TEKNİKLERİNİN UYGULANMASI

Ahmet HACIOĞLU

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Şubat 2024; 98 sayfa

Günümüzde, tatlandırıcıların gıda formülasyonlarında kullanımının giderek arttığı görülmektedir. Bu tatlandırıcıların ilavesiyle gıdaların enerji içerikleri düşürülmektedir. Özellikle de obezite ve diyabet ile mücadeleye uygun enerjisi azaltılmış gıdalar elde edilebilmektedir. Fakat, yaygın olarak kullanılan bazı tatlandırıcıların sentetik olması tüketicide güvensizliğe neden olmaktadır. Bu durum tüketiciyi doğal kaynak arayışına sevk etmekte ve doğal kaynaklara olan yönelimi artırmaktadır. Şeker alkoller her ne kadar doğal kaynaklardan elde edilebiliyor olsa da laksatif etki göstermeleri nedeniyle çeşitli gıda formülasyonlarında kullanımı sınırlı seviyede kalmaktadır. Bu nedenlerle sentetik tatlandırıcılara ve şeker alkollere alternatif olarak stevia (şeker otu) bitkisinden elde edilen doğal tatlı bileşikler gelişmiş toplumların oldukça ilgisini çekmektedir. Steviol glikozitler olarak adlandırılan bu tatlı bileşiklerin yaklaşık sıfır (0) kalori enerjiye sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca bağıl tatlılığının da sakkarozaya göre 200-300 kat olduğu ifade edilmektedir. Stevia ekstraktları üzerine yapılan birçok toksikolojik çalışmada da bu bileşiklerin sağlık açısından olumsuz bir etkiye neden olmadığı ve bazı hastalıkların gelişmesini de engellediği bildirilmektedir.

Stevia ürünlerinin dünyada yaygın olarak üretiminde bazı ekstraksiyon ve saflaştırma metotlarından yararlanılmaktadır. Steviol glikozitler özellikle kromatografik yöntemlerle yüksek oranda saflaştırılabilmektedir. Fakat kromatografik yöntemlerin zor ve maliyetli olması elde edilen son ürünün çok yüksek fiyatlara satılmasına yol açmaktadır. Ayrıca, steviol glikozitlerin saflaştırılmasında halihazırda uygulanan yöntemlerde etil alkol ve benzeri kimyasallar kullanılmaktadır. Bu nedenle steviol glikozitlerin zenginleştirilmesi ve saflaştırılmasına yönelik kullanılan diğer yöntemlerin etkinliğinin araştırılması önemlidir. Patent altına alınmış yaygın saflaştırma tekniklerine alternatif olabilecek uygun maliyetli fiziksel ayırma yöntemlerinin potansiyelini araştırmak ve ortaya koymak dikkate değer bulunmuştur.

Bu tez çalışması kapsamında fiziksel ayırma metotları kullanılarak sulu stevia ekstraktlarından steviol glikozitlerin kabul edilebilir saflıkta (% 90) elde edilmesi amaçlanmıştır. Saflaştırmada elektrokoagülasyon (EK), adsorpsiyon ve membran filtrasyon tekniklerinden yararlanılmıştır. Elektrokoagülasyon sisteminde elektrot olarak alüminyum (Al) ve 304L paslanmaz çelik (Ç) levhalar anot (+) ve katot (-) olarak kullanılmış; böylece dört farklı elektrot kombinasyonu elde edilmiştir. Elektrik kaynağı olarak ise doğru akım (DC) uygulanmıştır. Ham stevia ekstraktı sırasıyla

elektrokoagülasyon [Al(+)/Ç(-)], adsorpsiyon (polivinil polipirrolidon-PVPP), elektrokoagülasyon [Al(+)/Al(-)], ultrafiltrasyon (30 kDa Permeat-P), nanofiltrasyon (5 kDa Retentat-R) ve karışık yatak reçine sistemleri kullanılarak işlenmiştir. Uygulamada bir procesten elde edilen ekstrakt sırasıyla diğer prosese beslenmiştir. Araştırma kapsamında öncelikle elektrot cinsi, elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim ve süre parametrelerine bağlı olarak elektrokoagülasyon sisteminin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca elde edilen veriler kullanılarak sistemin etkinliği matematiksel modelleme ile ifade edilmiştir. Ön denemeler sonunda en uygun elektrot kombinasyonunun Al(+)/Ç(-) elektrot kombinasyonu olduğu belirlenmiştir. Sonraki aşamada cevap yüzey metodu (CYM) kullanılarak toplam steviol glikozit (TSG) konsantrasyonunun maksimum olduğu noktadaki EK parametrelerine ait optimum değerler belirlenmiş; 1 cm elektrot aralığı, 100 mA/cm² akım yoğunluğu, 30 V gerilim, 60 dakika uygulama süresi optimum koşullar olarak saaptanmıştır. En uygun PVPP konsantrasyonu ise % 0,02 olarak belirlenmiştir.

Sonuçlar değerlendirildiğinde saflaştırılmış son örnekte toplam kuru madde (TKM) 1,86 g/100 g (ham ekstraktta 2,10 g/100 g), toplam mineral madde 0,22 g/100 g TKM (ham ekstraktta 12,02 g/100 g TKM) ve toplam steviol glikozit konsantrasyonu da 81,21 g/100 g TKM (ham ekstraktta 42,70 g/100 g TKM) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte renk ölçümü yapılmış olup L (açıklık-koyuluk) değeri 99,21 (ham ekstraktta 0,08), a (kırmızılık ve yeşillik) değeri -1,02 (ham ekstraktta -0,01) ve b (sarılık ve mavilik) değeri de 4,09 (ham ekstraktta 0,03) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca proses ara basamaklarından alınan stevia ekstraktı örneklerinde toplam fenolik madde ve toplam asitlik içerikleri ile bulanıklık değerinde önemli düzeyde azalma sağlandığı görülürken transmittans değerinde önemli seviyede artış olduğu belirlenmiştir. Bunlara ilave olarak her bir uygulamanın bir önceki prosese göre steviol glikozitleri saflaştırmadaki etkinliği belirlenmiştir. Bu kapsamda belirlenen saflaştırma etkinlikleri sırasıyla; EK [Al(+)/Ç(-)] % 34,52, adsorpsiyon (% 0,02 PVPP) % 4,83, ikinci EK [Al(+)/Al(-)] % 2,18, membran filtrasyon (5 kDa R) % 20,51 ve karışık yatak reçine % 21,05 olarak hesaplanmıştır. Ham stevia ekstraktının TSG konsantrasyonu 42,70 g/100 g TKM olarak bulunmuştur. Bu miktar üzerinden, kullanılan tekniklerin saflaştırma etkinliklerine göre TSG konsantrasyonlarına bakıldığında; EK [Al(+)/Ç(-)] uygulaması sonunda 57,44 g TSG/100 g TKM, % 0,02 PVPP uygulaması sonunda 60,21 g TSG/100 g TKM, EK [Al (+)/Al(-)] uygulaması sonunda 61,52 g TSG/100 g TKM, membran filtrasyon (5 kDa R) uygulaması sonunda 74,14 g TSG/100 g TKM ve karışık yatak reçine uygulaması sonunda 89,75~90,0 g TSG/100 g TKM değerine ulaşıldığı görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELEER: Adsorpsiyon, Cevap yüzey metodu (CYM), Elektrokoagülasyon, Membran filtrasyon, Nanofiltrasyon, Reçine, Saflaştırma, Stevia, Steviol glikozit, Şeker otu, Ultrafiltrasyon, Zenginleştirme

JÜRİ: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM

Doç. Dr. Mehmet TORUN

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Reyhan ÖZİYCI

ABSTRACT

APPLICATION OF SOME PHYSICAL SEPARATION TECHNIQUES ON THE PURIFICATION OF STEVIOL GLYCOSIDES IN THE STEVIA (*Stevia rebaudiana* B.) PLANT EXTRACT

Ahmet HACIOĞLU

PhD Thesis in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

February 2024; 98 pages

Nowadays it seems that the use of sweeteners in food formulations is increasing. With the addition of these sweeteners, the energy content of foods is reduced. In particular, energy-reduced foods suitable for combating obesity and diabetes can be obtained. However, some commonly used sweeteners are synthetic, causing distrust among consumers. This situation drives the consumer to search for natural resources and increases the tendency towards natural resources. Although sugar alcohols can be obtained from natural sources, their use in various food formulations remains limited due to their laxative effects. For these reasons, natural sweet compounds obtained from the stevia plant as an alternative to synthetic sweeteners and sugar alcohols attract the attention of developed societies. It is stated that these sweet compounds, called steviol glycosides, have approximately zero (0) calorie energy. It is also stated that its relative sweetness is 200-300 times that of sucrose. Many toxicological studies on stevia extracts report that these compounds do not cause any negative effects on health and prevent the development of some diseases.

Some extraction and purification methods are used in the widespread production of stevia products in the world. Steviol glycosides can be purified to a high extent, especially by chromatographic methods. However, chromatographic methods are difficult and costly, causing the final product to be sold at very high prices. In addition, ethyl alcohol and similar chemicals are used in the currently applied methods for purifying steviol glycosides. Therefore, it is important to investigate the effectiveness of other methods used to enrich and purify steviol glycosides. It has been deemed noteworthy to investigate and demonstrate the potential of cost-effective physical separation methods that can be an alternative to common patented purification techniques.

Within the scope of this thesis study, it is aimed to obtain steviol glycosides with acceptable purity (90 %) from aqueous stevia extracts by using physical separation methods. Electrocoagulation (EC), adsorption, and membrane filtration techniques were used for purification. In the electrocoagulation system, aluminum (Al) and 304L stainless steel (S) plates were used as anode (+) and cathode (-) as electrodes; Thus, four different electrode combinations were obtained. Direct current (DC) was used as the electrical source. Crude stevia extract was processed using electrocoagulation [Al(+)/S (-)], adsorption (polyvinyl polypyrrolidone-PVPP), electrocoagulation [Al(+)/Al(-)], ultrafiltration (30 kDa Permeate-P), nanofiltration (5 kDa Retentate-R) and mixed bed

resin systems, respectively. In practice, the extract obtained from one process was fed to the other process respectively. Within the scope of the research, firstly, the optimization of the electrocoagulation system was carried out depending on the electrode type, electrode spacing, current density, voltage and time parameters. In addition, the effectiveness of the system was expressed by mathematical modeling using the data obtained. As a result of preliminary trials, it was determined that the most suitable electrode combination was the Al(+)/S(-) electrode combination. In the next stage, optimum values of EC parameters were determined at the point where the total steviol glycoside (TSG) concentration was maximum, using the response surface method (RSM); 1 cm electrode gap, 100 mA/cm² current density, 30 V voltage, 60 minutes application time were determined as optimum conditions. The most suitable PVPP concentration was determined as 0.02 %.

When the results were evaluated in the final purified sample, the total dry matter (TDM) was determined as 1.86 g/100 g (2.10 g/100 g in crude extract), the total mineral matter was determined as 0.22 g/100 g TDM (12.02 g/100 g TDM in crude extract), and the total steviol glycoside concentration was determined as 81.21 g/100 g TDM (42.70 g/100 g TDM in crude extract). In addition, color measurement was made and the L (lightness-darkness) value was determined as 99.21 (0.08 in crude extract), a (redness and greenness) value was determined as -1.02 (-0.01 in crude extract), and b (yellowness and blueness) value was determined as 4.09 (0.03 in crude extract). In addition, it was determined that there was a significant decrease in the total phenolic substance, total acidity contents, and turbidity value in the stevia extract samples taken from the intermediate stages of the process. At the same time, there was a significant increase in the transmittance value. In addition, the effectiveness of each application in purifying steviol glycosides compared to the previous process was determined. Purification activities determined in this context are respectively; was calculated as EC [Al(+)/S(-)] 34.52 %, adsorption (0.02 % PVPP) 4.83 %, second EC [Al(+)/Al(-)] 2.18 %, membrane filtration (5 kDa R) 20.51 % and mixed bed resin 21.05 %. The TSG concentration of crude stevia extract was found to be 42.70 g/100 g TDM. Based on this amount, when TSG concentrations are considered according to the purification efficiencies of the techniques used was reached values 57.44 g TSG/100 g TDM at the end of EC [Al(+)/S(-)] application, 60.21 g TSG/100 g TDM at the end of 0.02 % PVPP application, 61.52 g TSG/100 g TDM at the end of EC [Al(+)/Al(-)] application, 74.14 g TSG/100 g TDM at the end of membrane filtration (5 kDa R) application and 89.75~90.0 g TSG/100 g TDM at the end of mixed bed resin application.

KEYWORDS: Adsorption, Electrocoagulation, Enrichment, Membrane filtration, Nanofiltration, Purification, Resin, Response surface methodology (RSM), Stevia, Steviol glycoside, Ultrafiltration

COMMITTEE: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM

Assoc. Prof. Dr. Mehmet TORUN

Asst. Prof. Dr. Hatice Reyhan ÖZİYCI

ÖNSÖZ

Modern toplumların sağlıklı ürünlere yönelmesi doğal kaynaklara olan ilgiyi artırmıştır. Bu durum stevia (şeker otu) bitkisi ekstraktlarından elde edilen ve steviol glikozitler olarak adlandırılan doğal tatlı bileşiklerin popüler hale gelmesine katkıda bulunmuştur. Tatlandırıcı kullanımının hızla yaygınlaştığı günümüzde sentetik tatlandırıcılara alternatif olma potansiyeline sahip steviol glikozitler özellikle gıda endüstrisinin oldukça dikkatini çekmektedir. Endüstri açısından ticari öneme sahip olduğu da açıkça görülmektedir. Bu bakımdan stevia bitkisinin işlenmesi ve doğal tatlı bileşiklerin saflaştırılması önemli bir konu haline gelmiştir.

Çalışma kapsamında steviol glikozitlerin saflaştırılması aşamalarında tamamen su kullanılmış olup fiziksel ayırma tekniklerinden yararlanılmıştır. Etil alkol vb. kimyasal maddeler kullanılan ve de yüksek maliyetli saflaştırma tekniklerine alternatif yenilikçi bir işleme modeli geliştirmek amaçlanmıştır. Saflaştırma aşamalarında kullanılan tekniklerin optimizasyonu yapılarak endüstriye aktarılması hedeflenmiştir. Tez çalışması kapsamında ulaşılan sonuçların hem araştırmacılara hem de endüstriye katkı sağlayacağı beklenmektedir.

Araştırma aşamasında beni yönlendiren ve bana her zaman destek olan danışman hocam Prof. Dr. Mustafa KARHAN'a, değerli fikirleriyle çalışmanın ilerlemesine katkıda bulunan Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Kenan TURGUT ve Doç. Dr. Mehmet TORUN'a, çalışmanın projelendirilmesinde destek olan Prof. Dr. İrfan TURHAN, Dr. Öğr. Üyesi Hatice Reyhan ÖZİYİCİ ve Dr. Öğr. Üyesi Aslı Arslan KULCAN'a, optimizasyon parametrelerinin değerlendirilmesi aşamasında yardımını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ercan YATMAZ'a, ağır metal tayinindeki desteğinden dolayı Öğr. Gör. Taner ERKAYMAZ'a, ekip arkadaşım Yüksel Alper KÜTÜK'e, projeyi maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) ve Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar San. ve Tic. Anonim Şti. kurucuları Dr. Hasan ÜNAL ve Prof. Dr. Narin ÜNAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim sırasında bana burs desteği sağlayan TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB, 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı) ve Yükseköğretim Kurulu (YÖK, 100/2000 Doktora Burs Programı)'na teşekkür ederim.

Maddi-manevi desteklerini hiç esirgemeyen ve bu günlere gelmemi sağlayan merhum babam Hüseyin HACIOĞLU, annem Zehra HACIOĞLU ve kardeşim Ali HACIOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Stevia Bitkisi	3
2.2. Çalışma Kapsamında Saflaştırmada Kullanılan Teknikler	6
2.2.1. Elektrokoagülasyon	6
2.2.2. Adsorpsiyon.....	8
2.2.3. Membran filtrasyon.....	11
2.3. Konu Kapsamında Yapılan Benzer Çalışmalar.....	13
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Metot	16
3.2.1. Ekstraksiyon	16
3.2.2. Elektrokoagülasyon	18
3.2.3. Adsorpsiyon.....	32
3.2.4. Membran filtrasyon	34
3.2.5. Steviol glikozitlerin saflık oranını artırmaya yönelik B Planı kapsamındaki ilave çalışmalar.....	35
3.2.6. Analiz metotları	36
3.2.6.1. Toplam kuru madde tayini.....	36
3.2.6.2. Suda çözünür kuru madde tayini	36
3.2.6.3. Toplam mineral madde tayini.....	36
3.2.6.4. Ağır metal tayini.....	36
3.2.6.5. Toplam fenolik madde tayini.....	37
3.2.6.6. pH tayini	37

3.2.6.7. Toplam asitlik tayini	37
3.2.6.8. Steviol glikozitlerin tayini	38
3.2.6.9. Renk tayini	39
3.2.6.10. Bulanıklık tayini	39
3.2.6.11. Işık geçirgenliği tayini	39
3.2.6.12. İstatistiksel analizler	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	40
4.1. Stevia Ekstraktına Ait Analiz Sonuçları	40
4.2. Elektrokoagülasyon Prosesine Ait Analiz Sonuçları	40
4.2.1. Elektrot optimizasyonuna ait analiz sonuçları	40
4.2.2. Elektrokoagülasyon parametrelerine ait analiz sonuçları	44
4.2.3. Ham stevia ekstraktı ve optimum EK örneğine ait analiz sonuçları	59
4.3. Adsorpsiyon Prosesine Ait Analiz Sonuçları	60
4.3.1. PVPP optimizasyonuna ait analiz sonuçları	61
4.3.2. PAD1200 uygulamasına ait analiz sonuçları	65
4.4. Membran Filtrasyon Prosesine Ait Analiz Sonuçları	67
4.5. TSG Saflık Oranını Artırmaya Yönelik Diğer Uygulamalar (B Planı)	70
4.5.1. Elektrokoagülasyon [Al(+)/Al(-)] uygulamasına ait analiz sonuçları	70
4.5.2. Membran filtrasyon uygulamasına ait analiz sonuçları	71
4.5.3. Karışık yatak reçine (KYR) uygulamasına ait analiz sonuçları	72
5. SONUÇLAR	75
6. KAYNAKLAR	77
7. EKLER	85
EK-1. Elektrokoagülasyon parametrelerine ait cevap yüzey grafikleri	85
EK-2. Reb A standartına ait kromatogram (200 ppm)	86
EK-3. Steviosit standartına ait kromatogram (192 ppm)	87
EK-4. Reb C standartına ait kromatogram (192 ppm)	88
EK-5. Ham stevia ekstraktına ait steviol glikozit dağılımı kromatogramı	89
EK-6. Optimum elektrot [Al(+)/Ç(-)] grubunun uygulandığı ekstrakta ait steviol glikozit kromatogramı	90
EK-7. Optimum EK parametreleri uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram	91

EK-8. Optimum PVPP uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram	92
EK-9. PAD1200 uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram	93
EK-10. EK Al(+)/Al(-) elektrot grubu uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram	94
EK-11. 30 kDa P akısına ait steviol glikozit dağılımı kromatogramı	95
EK-12. 5 kDa R akısına ait steviol glikozit dağılımı kromatogramı.....	96
EK-13. KYR uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram	97
EK-14. Reb A, steviosit ve reb C bileşenlerine ait ölçüm limiti (LOQ) ve tespit limiti (LOD) değerleri	98

ÖZGEÇMİŞ

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) Bitkisi Ekstraktında Bulunan Steviol Glikozitlerin Saflaştırılmasında Bazı Fiziksel Ayırma Tekniklerinin Uygulanması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

23/02/2024

Ahmet HACIOĞLU

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°Bx : Briks derece

cm : Santimetre

cm² : Santimetre kare

dk : Dakika

g : Gram

kDa : Kilodalton

L : Litre

mA : Miliamper

µL : Mikrolitre

rpm : Reverse per minute (Dakikadaki devir sayısı)

V : Voltaj (Gerilim)

Tezde ondalık ayırıcı olarak “,” kullanılmıştır.

Kısaltmalar

Al : Alüminyum

Ç : 304L paslanmaz çelik

EK : Elektrokoagülasyon

HPLC : Yüksek performanslı sıvı kromatografi

KYR : Karışık yatak reçine

NF : Nanofiltrasyon

P : Permeat

PESU : Polietersülfon

R : Retentat

Reb A : Rebaudiosit A

Reb C : Rebaudiosit C

SÇKM: Suda çözü­nür kuru madde

T : Transmittans

TA : Toplam asitlik

TFM : Toplam fenolik madde

TKM : Toplam kuru madde

TMM : Toplam mineral madde

TSG : Toplam steviol glikozit

UF : Ultrafiltrasyon



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Steviosit ve rebaudiosit A bileşenlerine ait kimyasal yapılar.....	4
Şekil 2.2. Steviol ve bazı steviol glikozitlerin kimyasal yapısı; Glc: Glikoz, Rha: Ramnoz, Xyl: Ksiloz.....	4
Şekil 2.3. Elektrokoagülasyon prosesinin işleme mekanizması	6
Şekil 2.4. Anotta ve katotta görülen reaksiyonlar.....	7
Şekil 2.5. PVPP ile fenolikler arasında oluşan hidrojen bağı	9
Şekil 2.6. İyon değişiminin gerçekleşme mekanizması	10
Şekil 2.7. Geleneksel filtrasyon (sol) ve teğet akış filtrasyon (sağ).....	11
Şekil 2.8. Membran filtrasyon teknikleri ve gözenek çapları	12
Şekil 3.1. Stevia (var. Levent 93) bitkisinin kurutulmuş yaprakları.....	16
Şekil 3.2. Ekstraksiyonda kullanılan kırıcı-malaksör sistemi.....	17
Şekil 3.3. Ekstraksiyonda kullanılan dekantör sistemi	17
Şekil 3.4. Stevia ekstraktları	18
Şekil 3.5. Elektrokagülasyon (EK) reaktörü haznesine ait teknik çizim	19
Şekil 3.6. Soğutucu akışkan ünitesine ait teknik çizim.....	20
Şekil 3.7. Elektrot plakaya ait teknik çizim	20
Şekil 3.8. 5 cm aralıkla birleştirilmiş elektrotlara (Anot ve Katot) ait teknik çizim.....	21
Şekil 3.9. EK reaktörü, soğutucu akışkan ünitesi ve elektrotların bir araya getirilmesine ait çizim (Ölçeksiz)	21
Şekil 3.10. EK sistemine manyetik karıştırıcının entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz). ..	22
Şekil 3.11. EK sistemine redresörün entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)	22
Şekil 3.12. EK sistemine peristaltik pompanın entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)	23
Şekil 3.13. EK sistemine soğutmalı su banyosunun entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)	23
Şekil 3.14. Anot ve katota elektrotların bağlanmasına ait çizim (Ölçeksiz).....	24
Şekil 3.15. Soğutmalı su banyosunun soğutucu akışkan haznesine bağlanmasına ait çizim (Ölçeksiz)	24

Şekil 3.16. EK sisteminin işleyişine ait çizim (Ölçeksiz).....	25
Şekil 3.17. Elektrokoagülasyon reaktörü haznesi	25
Şekil 3.18. Soğutucu akışkan ünitesi	26
Şekil 3.19. Elektrot plaka.....	26
Şekil 3.20. 5 cm aralıkla birleştirilmiş elektrotlar (Anot ve Katot)	26
Şekil 3.21. EK reaktörü, soğutucu akışkan ünitesi ve elektrotların bir araya getirilmiş görseli	27
Şekil 3.22. EK sistemine manyetik karıştırıcının entegre edilmiş görseli	27
Şekil 3.23. EK sistemi.....	28
Şekil 3.24. Stevia ekstraktının kaba filtre kağıdından süzülmesi	29
Şekil 3.25. Stevia ekstraktının elektrokoagülasyon işlemine tabii tutulması	29
Şekil 3.26. Elektrokoagülasyon işleminden sonra koagülasyon.....	30
Şekil 3.27. Elektrokoagülasyon uygulanmış örneğin kaba filtre kağıdından süzülmesi	30
Şekil 3.28. A) Farklı dozlarda pvpp tartılmış erlenler (1: % 0,02, 2: % 0,08, 3: % 0,14, 4: % 0,20, 5: % 0,25); B) PVPP üzerine stevia ekstraktı ilavesi; C) İnkübatörde karıştırma; D) Santrifüjleme; E) Süzme	32
Şekil 3.29. A) PAD1200 dolgulu sistem; B) Suyun vakumla uzaklaştırılması; C) Sistemin örnekle şartlandırılması; D) Sistemden örnek alınması	33
Şekil 3.30. A) Ultrafiltrasyon (30 kDa); B) Nanofiltrasyon (5 kDa).....	34
Şekil 3.31. Saflaştırma çalışmasının proses akış şeması.....	35
Şekil 3.32. Gallik asit standartı kullanılarak hazırlanmış kurve	37
Şekil 3.33. Reb A standartı kullanılarak hazırlanmış kurve	38
Şekil 3.34. Steviosit standartı kullanılarak hazırlanmış kurve.....	38
Şekil 3.35. Reb C standartı kullanılarak hazırlanmış kurve.....	39
Şekil 4.1. Elektrot optimizasyonu örneklerine ait görsel [0: Kontrol, 1: Al(+)/Al(-), 2: Ç(+)/Ç(-), 3: Al(+)/Ç(-), 4: Al(-)/Ç(+)]	43
Şekil 4.2. Kontrol örneği (0) ve deneme deseni örneklerine ait görsel.....	58
Şekil 4.3. PVPP uygulanmış örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: % 0,02, 2: % 0,08, 3: % 0,14, 4: % 0,20, 5: % 0,25)	65

Şekil 4.4. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: PAD1200)	66
Şekil 4.5. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: 30 kDa P, 2: 5 kDa R).....	68
Şekil 4.6. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: EK [Al(+)/Al(-)])	71
Şekil 4.7. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: 30 kDa P, 2: 5 kDa R).....	72
Şekil 4.8. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: KYR).....	73



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Stevia yapraklarındaki tatlılık bileşeni glikozitlerin miktarı	5
Çizelge 2.2. Kuru stevia yapraklarının bazı bileşenlerine ait veriler (g/100 g kuru ağırlık)	5
Çizelge 2.3. Elektrokoagülasyon prosesinin avantaj ve dezavantajları	8
Çizelge 3.1. Materyale ait steviol glikozit dağılımı ve TSG varlığı	16
Çizelge 3.2. EK parametrelerinin minimum ve maksimum değerleri	31
Çizelge 3.3. Box-Behnken cevap yüzey metoduna göre oluşturulan deneme deseni.....	31
Çizelge 4.1. İşlenmemiş (ham) stevia ekstraktına ait analiz sonuçları	40
Çizelge 4.2. Elektrot optimizasyonu TKM sonuçları	41
Çizelge 4.3. Elektrot optimizasyonu TSG sonuçları.....	41
Çizelge 4.4. Elektrot optimizasyonu TFM sonuçları	41
Çizelge 4.5. Elektrot optimizasyonu TMM sonuçları.....	42
Çizelge 4.6. Elektrot optimizasyonu renk (L, a, b) sonuçları	42
Çizelge 4.7. Elektrot optimizasyonu-ağır metal varlığı ilişkisi	43
Çizelge 4.8. Deneme deseni örneklerine ait TKM sonuçları	44
Çizelge 4.9. Deneme deseni örneklerine ait TSG sonuçları	45
Çizelge 4.10. Quadratik model için ANOVA tablosu	46
Çizelge 4.11. Elektrot aralığının TSG üzerine etkisi	47
Çizelge 4.12. Elektrokoagülasyon parametrelerine ait oluşturulan optimum değerler.....	47
Çizelge 4.13. Optimum parametrelere göre TSG için oluşturulan cevap	47
Çizelge 4.14. Program tarafından tahmin edilen değer ile ulaşılan gerçek değer.....	48
Çizelge 4.15. Deneme deseni örneklerine ait TFM sonuçları.....	48
Çizelge 4.16. Deneme deseni örneklerine ait TMM sonuçları	49
Çizelge 4.17. Deneme deseni örneklerine ait °Bx sonuçları.....	50
Çizelge 4.18. Deneme deseni örneklerine ait bulanıklık sonuçları.....	51

Çizelge 4.19. Deneme deseni örneklerine ait transmittans sonuçları	52
Çizelge 4.20. Deneme deseni örneklerine ait pH sonuçları	53
Çizelge 4.21. Deneme deseni örneklerine ait susuz sitrik asit cinsinden toplam asitlik sonuçları	54
Çizelge 4.22. Deneme deseni örneklerine ait L değeri sonuçları	55
Çizelge 4.23. Deneme deseni örneklerine ait a değeri sonuçları	56
Çizelge 4.24. Deneme deseni örneklerine ait b değeri sonuçları	57
Çizelge 4.25. Ham stevia ekstraktı ve optimum örneğe ait analiz sonuçları	59
Çizelge 4.26. Farklı PVPP dozajlarının TKM üzerine etkisi	61
Çizelge 4.27. Farklı PVPP dozajlarının TSG üzerine etkisi	61
Çizelge 4.28. Farklı PVPP dozajlarının TFM üzerine etkisi	62
Çizelge 4.29. Farklı PVPP dozajlarının TMM üzerine etkisi	62
Çizelge 4.30. Farklı PVPP dozajlarının °Bx üzerine etkisi	62
Çizelge 4.31. Farklı PVPP dozajlarının bulanıklık üzerine etkisi	63
Çizelge 4.32. Farklı PVPP dozajlarının transmittans üzerine etkisi	63
Çizelge 4.33. Farklı PVPP dozajlarının pH üzerine etkisi	63
Çizelge 4.34. Farklı PVPP dozajlarının TA üzerine etkisi	64
Çizelge 4.35. Farklı PVPP dozajlarının renk üzerine etkisi	64
Çizelge 4.36. PAD1200 uygulanmış ekstrakta ait analiz sonuçları	66
Çizelge 4.37. Membran filtrasyon uygulamasına ait analiz sonuçları	67
Çizelge 4.38. Proseslerin etkinliklerine göre ulaşılan TSG saflık oranları	70
Çizelge 4.39. Elektrokoagülasyon [Al(+)/Al(-)] uygulamasına ait analiz sonuçları	70
Çizelge 4.40. Membran filtrasyon uygulamasına ait analiz sonuçları	71
Çizelge 4.41. Karışık yatak reçine (KYR) uygulamasına ait analiz sonuçları	72
Çizelge 4.42. Saflık oranını artırmaya yönelik proseslerin etkinliklerine göre ulaşılan TSG saflık oranları	74

1. GİRİŞ

Gıda katkı maddeleri içerisinde yer alan tatlandırıcıların yaygın bir şekilde gıda formülasyonlarında kullanıldığı görülmektedir. Bu tatlandırıcıların ilavesiyle gıdaların enerji içerikleri düşürülmekte ve kişilerin diyetine uygun ürünler üretilmektedir. Özellikle de obezite ve diyabet ile mücadelede uygun enerjisi azaltılmış gıdalar elde edilebilmektedir. Fakat kullanılan bazı tatlandırıcıların sentetik olması sağlıklı gıda tüketim bilinci gelişmiş tüketicilerde güven kaybına neden olmaktadır. Bu durum tüketiciyi doğal kaynak arayışına sevk etmekte ve doğala olan yönelimi artırmaktadır. Şeker alkoller de her ne kadar doğal kaynaklardan elde edilebiliyor olsada laksatif etki göstermeleri nedeniyle formülasyonlardaki kullanımı sınırlı seviyede kalmaktadır. Bu nedenlerle sentetik tatlandırıcılara ve şeker alkollere alternatif olarak stevia (şeker otu) bitkisinden elde edilen doğal kaynaklı tatlı bileşikler gelişmiş toplumların oldukça ilgisini çekmektedir.

Steviol glikozitler olarak adlandırılan tatlı bileşiklerin yaklaşık sıfır (0) kalori enerjiye sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca bağıl tatlılığının da sakkarozaya göre 200-300 kat olduğu ifade edilmektedir (Turgut vd. 2015). Stevia ekstraktları üzerine yapılan birçok toksikolojik çalışmada da bu bileşiklerin sağlık açısından olumsuz bir etkiye neden olmadığı ve bazı hastalıkların gelişmesini engellediği belirtilmektedir (Kulcan 2016).

Stevia bitkisinin ekstraksiyonu ve bu ekstrakt kullanılarak yarı mamul veya tüketime hazır hale getirilmiş ürünlerin üretimi ile ilgili ülkemizde yeterli sayıda tamamlanmış araştırma bulunmamaktadır. Bunun yanında stevia bitkisinin tarımı üzerine bazı çalışmalar mevcut olup proje ortağı firma olan Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar San. ve Tic. Anonim Şti. tarafından üretilen tescil edilmiş çeşitler bulunmaktadır.

Steviol glikozitler Çin, ABD ve bazı Güney Amerika ülkeleri başta olmak üzere bazı ülkelere ticari olarak üretilmektedir. Ülkemizde ise bu doğal tatlandırıcılar büyük ölçüde ithalat yoluyla temin edilmektedir. Henüz diğer ülkelerde olduğu kadar yaygınlaşmasa da stevia ürünlerinin ülkemizdeki tüketiminin yakın zamanda artacağı düşünülmektedir. Dolayısıyla, stevia tarımı için uygun iklimlere sahip olan ülkemizde steviol glikozitlerin saflaştırılması ve mamul ürünlere dönüştürülmesi konusunda yerli ve özgün çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Dünyada stevia ürünlerinin yaygın olarak üretiminde ekstraksiyon, saflaştırma ve glikozit acılığının giderilmesi aşamalarında etil alkol vb. kimyasal maddelerden yararlanılmaktadır. Bu tez çalışmasında ise sadece su ve fiziksel ayırma metotları kullanılarak steviol glikozitler açısından kabul edilebilir saflıkta (% 90) stevia ekstraktının elde edilmesi amaçlanmıştır. Böylece daha uygun maliyetli bir saflaştırma prosesinin optimize edilerek endüstriye aktarılması hedeflenmiştir.

Çalışma kapsamında sadece su kullanılarak ekstrakte edilen stevia bitkisinden steviol glikozitlerin saflaştırılmasında elektrokoagülasyon, adsorpsiyon ve membran filtrasyon tekniklerinden yararlanılmıştır.

Elektrokoagülasyon (EK) uygulaması için öncelikle bir elektrokoagülasyon

sistemi (elektrokoagülasyon reaktörü, soğutucu akışkan ünitesi, elektrot) tasarlanmıştır. Daha sonra elektrot cinsi [Alüminyum (Al) ve 304L kalite paslanmaz çelik (Ç)], elektrot aralığı (1-5 cm), akım yoğunluğu (20-100 mA/cm²), gerilim (20-40 V) ve süre (30-90 dk) parametrelerinin saflaştırmadaki etkinlikleri incelenmiştir. Alüminyum ve çelik elektrotların anot (+) ve katot (-) olarak kullanıldığı Al(+)/Al(-), Ç(+)/Ç(-), Al(+)/Ç(-), Al(-)/Ç(+) olmak üzere dört farklı kombinasyon denenmiştir.

Adsorpsiyon aşamasında polidivinilbenzen (PAD1200), polivinilpolipirrolidon (PVPP) ve karışık yatak reçine işlemlerinin saflaştırmaya etkisi araştırılmıştır. PAD1200 ve karışık yatak reçine adsorbentleri kolon dolgusu olarak kullanılırken, PVPP adsorbenti beş farklı (% 0,02 - 0,08 - 0,14 - 0,20 - 0,25) dozda denenmiştir.

Membran filtrasyon prosesinde ultrafiltrasyon (UF) ve nanofiltrasyon (NF) uygulamalarından yararlanılmıştır. Ultrafiltrasyon için 30 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon (PESU), nanofiltrasyon için ise 5 kDa ayırma sınırına sahip hydrosart membran filtreler kullanılmış ve saflaştırma işlemine katkısı incelenmiştir.

Proseslerin öncesinde ve sonrasında toplam kuru madde (TKM), suda çözünür kuru madde (SÇKM-°Bx), toplam fenolik madde (TFM), toplam mineral madde (TMM), pH, toplam asitlik (TA), toplam steviol glikozit (TSG), renk (L, a, b), bulanıklık ve transmittans analizleri yapılmıştır. Elde edilen bulgular istatistiksel analizler yapılarak değerlendirilmiştir. Uygulanan her bir prosesin steviol glikozitleri saflaştırma konusundaki başarısı yüzdesel (%) olarak hesaplanmıştır. Toplam steviol glikozitlerin (TSG) saflık oranı, 100 g toplam kuru madde (TKM) üzerinden g olarak verilmiştir (g TSG/100 g TKM).

Stevia ekstraktlarından steviol glikozitlerin fiziksel yollarla saflaştırılması prosedürüne entegre edilmesinden dolayı elektrokoagülasyon tekniği özgün bir teknik olarak görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında saflaştırma aşamasında kullanılan tekniklerden özellikle elektrokoagülasyon tekniğinin sadece Çevre Mühendisliği ve Malzeme Mühendisliği gibi endüstriyel uygulama alanlarına özgü bir yöntem olarak görülmeyeceği; gıda endüstrisi açısından da devam eden araştırma ve endüstriyel uygulamalarda yenilikçi bir zenginleştirme ve saflaştırma yöntemi olabileceği düşünülmektedir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Stevia Bitkisi

Stevia bitkisi (*Stevia rebaudiana* Bertoni), Asteraceae familyasına ait dallı, çalı formda bir bitki olup Paraguay'ın kuzeydoğusundaki Amambay bölgesine özgüdür (Gasmalla vd. 2014). Asteraceae familyasının 950 cinsi olup *Stevia rebaudiana* bitkisi bu cinslerden biridir (Soejarto vd. 1983; Lester 1999; Yadav vd. 2011). Cinsde yaklaşık 230 tür olmasına rağmen tatlı tadı olan tek tür *Stevia rebaudiana*'dır (Soejarto vd. 1983; Ahmad vd. 2020). Tatlı yaprak, bal yaprağı, şeker yaprağı, tatlı ot veya tatlı otlar olarak da yaygın bir şekilde bilinmektedir (Hossain vd. 2017). *Stevia rebaudiana* (Bertoni) bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktların doğal tatlandırıcı özelliğe sahip olduğu ifade edilmiştir (Turgut vd. 2015; Kaplan ve Turgut 2019).

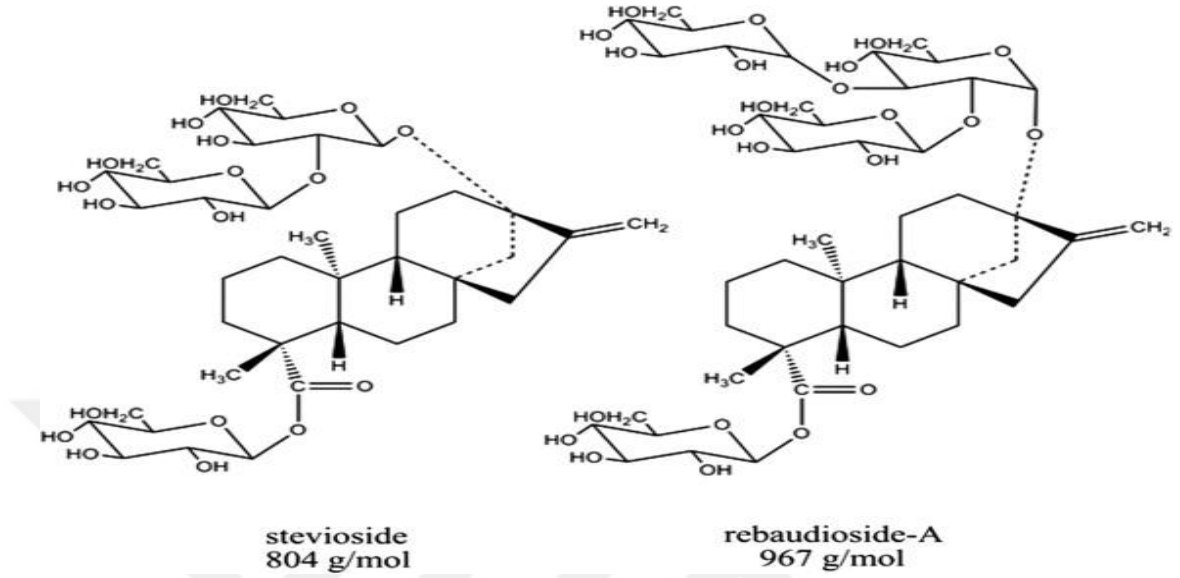
S. rebaudiana Bertoni, Moisés Santiago Bertoni tarafından 1899 yılında botanik olarak sınıflandırılmıştır. Önceleri *Eupatorium rebaudianum* olan adı, *S. rebaudiana* (Bertoni) olarak 1905 yılında değiştirilmiştir. İlk olarak 1909 yılında tatlılık bileşeni izole edilmiş, 1931 yılında da steviosit bileşeni ekstraktan saf olarak elde edilmiştir. Devam eden çalışmalarda 1952 yılında diterpen glikozit olarak kimyasal yapısı belirlenmiş ve steviol kısmı olan bir aglikona bağlı üç glikoz molekülünden oluşan bir glikozit olduğu belirtilmiş; 1970'li yıllarda da rebaudiosit A ve diğer tatlı bileşikler izole edilmiştir (Lemus-Mondaca vd. 2012).

Japonya, Çin, Tayvan, Kore, Brezilya, Tayland, Paraguay ve Malezya stevianın ana üreticileri konumundadır. Ayrıca, stevia bitkisinden elde edilen ürünler Japonya, Brezilya, Çin, Kanada, Paraguay, Endonezya, İsrail, Arjantin, Amerika Birleşik Devletleri ve Kore'de önemli düzeyde tüketilmektedir. Bugüne kadar kullanımının olumsuz bir etkiye neden olduğuna dair herhangi bir rapor bulunmamaktadır (Yadav vd. 2011). Ülkemizde ise ilk kez Antalya ilinde bitkinin yetiştirilebilmesi için çalışmalara başlanmış ve bitkinin ilk hasadı 2012 yılında yapılmıştır (Turgut vd. 2015; Kaplan ve Turgut 2019; Mızrak 2020).

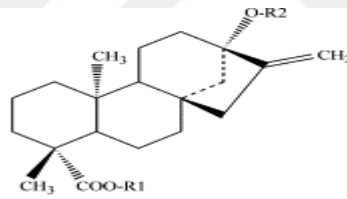
Stevia bitkisinin boyu 1 m'ye kadar uzayabilmekte olup normal şartlarda 60-70 cm'dir. İklim istekleri açısından değerlendirildiğinde ; -6 - +43 °C sıcaklık aralıklarında yarı nemli, subtropikal iklimlerde yetişebilen bitki için 15-30 °C en uygun sıcaklık olarak kabul edilmektedir. Gelişim için ortalama 750-1400 mm yıllık yağış miktarı uygun bulunmaktadır. Toprak bakımından organik maddelerce zengin, tınlı veya kumlu tınlı toprakları seven bitki farklı pH değerlerini tolere edebilirken 6-7,5 pH değeri gelişimi için daha uygundur (Mızrak 2020). Yaklaşık 5 cm uzunluğunda ve 2 cm genişliğinde yapraklara sahiptir. Yaprakların kalitesini hasat öncesi ve sonrası bazı faktörler (toprak özellikleri, hava, güneş ışığı, tarım uygulamaları, sulama metotları, işleme, depolama) etkilemektedir (Panpatil ve Polasa 2008).

Yüksek miktarda tatlı bileşikler içeren *S. rebaudiana*'nın tatlılığı steviol glikozitlerden kaynaklanmaktadır. *S. rebaudiana* bitkisinin yapraklarında otuzdan fazla farklı steviol glikozit mevcuttur (Peteliuk vd. 2021). *S. rebaudiana* bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktlarda steviosit, rebaudiosit A ve rebaudiosit C olmak üzere konsantrasyonu diğer glikozitlere göre yüksek üç ana bileşen vardır. Daha düşük miktarlarda steviolbiosit, rebaudiosit B, D, E, F ve steviolmonosit gibi diğer bileşikler

bulunur (Ferrazzano vd. 2015) (Şekil 2.1, Şekil 2.2). Daha az yaygın olarak rebaudiosit D ve rebaudiosit M, kurutulmuş yapraklarda sırasıyla % 0,2 ve % 0,1 gibi çok düşük konsantrasyonlarda mevcuttur. Rebaudiosit U, T, R ve S olmak üzere diğer rebaudiositler de son zamanlarda tanımlanmıştır (Peteliuk vd. 2021).



Şekil 2.1. Steviosit ve rebaudiosit A bileşenlerine ait kimyasal yapılar (Vanneste vd. 2011)



	Compound name	R1	R2
1	steviol	H	H
2	steviolbioside	H	β -Glc- β -Glc(2→1)
3	stevioside	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2→1)
4	rebaudioside A	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2→1)
5	rebaudioside B	H	β -Glc(3→1)
			β -Glc- β -Glc(2→1)
6	rebaudioside C (dulcoside B)	β -Glc	β -Glc(3→1)
			β -Glc- α -Rha(2→1)
7	rebaudioside D	β -Glc- β -Glc(2→1)	β -Glc(3→1)
			β -Glc- β -Glc(2→1)
8	rebaudioside E	β -Glc- β -Glc(2→1)	β -Glc(3→1)
9	rebaudioside F	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2→1)
			β -Glc- β -Xyl(2→1)
10	dulcoside A	β -Glc	β -Glc(3→1)
			β -Glc- α -Rha(2→1)

Şekil 2.2. Steviol ve bazı steviol glikozitlerin kimyasal yapısı; Glc: Glikoz, Rha: Ramnoz, Xyl: Ksiloz (Geuns 2003)

Stevia ekstraktında bulunan diterpenoid glikozitler farklı tatlara sahip olup steviosit, rebaudiosit A (reb A), rebaudiosit B (reb B), rebaudiosit C (reb C), rebaudiosit D (reb D), rebaudiosit E (reb E), steviolbiosit ve dulkosit A bileşenlerinin sakkarozaya göre tatlılıkları sırasıyla 300, 250-450, 300-350, 50-120, 250-450, 150-300, 100-125, 50-120 kat daha fazladır (Thomas ve Glade 2010). Stevia bitkisinin kimyasal içeriğine ait farklı araştırmacılar tarafından elde edilmiş sonuçlar Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Stevia yapraklarındaki tatlılık bileşeni glikozitlerin miktarı, TE: Tespit edilmedi (Lemus-Mondaca vd. 2012)

Glikozitler	Miktar % (yaprak kuru ağırlığında)		
	Gardana vd. (2010)	Goyal vd. (2010)	Kinghorn ve Soejarto (1985)
Steviosit	5,8	9,1	5-10
Rebaudiosit A	1,8	3,8	2-4
Rebaudiosit C	1,3	0,6	1-2
Dulcosit A	TE	0,3	0,4-0,7

Stevia bitkisi tatlı bileşiklerin yanında mineraller (K, Ca, Na, Mg, Cu, Mn, Fe, Zn), vitamin, protein, esansiyel amino asit ve yağ asitleri gibi bileşenleri de içermektedir. Bunun yanı sıra glikozidik olmayan diterpenler, triterpenler, fitosteroller, ham lif, flavonoidler, fenolik bileşikler, klorojenik asitler ve hidrokarbonlar gibi sağlık açısından faydalı biyoaktif bileşikler de mevcuttur (Ferrazzano vd. 2015; Ahmad vd. 2020). Stevia tatlı olmasının yanında içermiş olduğu bazı esansiyel yağlar, tanenler ve flavonoidlerden dolayı ağızda acı bir tat da hissettirmektedir (Gupta vd. 2013).

Çizelge 2.2. Kuru stevia yapraklarının bazı bileşenlerine ait veriler (g/100 g kuru ağırlık), TE: Tespit edilmedi (Lemus-Mondaca vd. 2012)

Bileşen	Kaynaklar						
	Mishra vd. (2010)	Goyal vd. (2010)	Serio (2010)	Savita vd. (2004)	Abou-Arab vd. (2010)	Tadhani ve Subhash (2006)	Kaushik vd. (2010)
Nem	7	4,65	TE	7	5,37	TE	7,7
Protein	10	11,2	11,2	9,8	11,40	20,4	12
Yağ	3	1,9	5,6	2,5	3,73	4,34	2,7
Kül	11	6,3	TE	10,5	7,41	13,1	8,4
Karbonhidrat	52	TE	53	52	61,9	35,2	TE
Ham lif	18	15,2	15	18,5	15,5	TE	TE

Stevia bitkisinin başlıca tatlı bileşikler olan steviosit ve rebaudiosit A, pH ve ısıya karşı stabil olup fermente de olmamaktadır. Ayrıca sağlığı geliştirmeye yönelik potansiyeli de mevcuttur (Gupta vd. 2013).

Stevia tatlılık özelliğine ek olarak lezzeti artırır, antioksidan etkilere sahiptir, antimikrobiyaldır, sindirime ve kilo vermeye yardımcıdır, diş çürüklerini ve plak oluşumunu önleyebilme özelliği vardır ve zihinsel uyanıklığı artırmaktadır. Ayrıca kan şekeri seviyesini etkilememektedir. Bu özelliğinden dolayı da diyabet için temel bir tatlandırıcı olarak görülmektedir. Şekerlemeler, pastane ürünleri, reçeller, meyve suları,

bisküviler, çikolatalar, sebzeler ve diğer gıda maddeleri gibi birçok gıda ürününde şekere alternatif olarak kullanılabilmektedir (Singh ve Rao 2005).

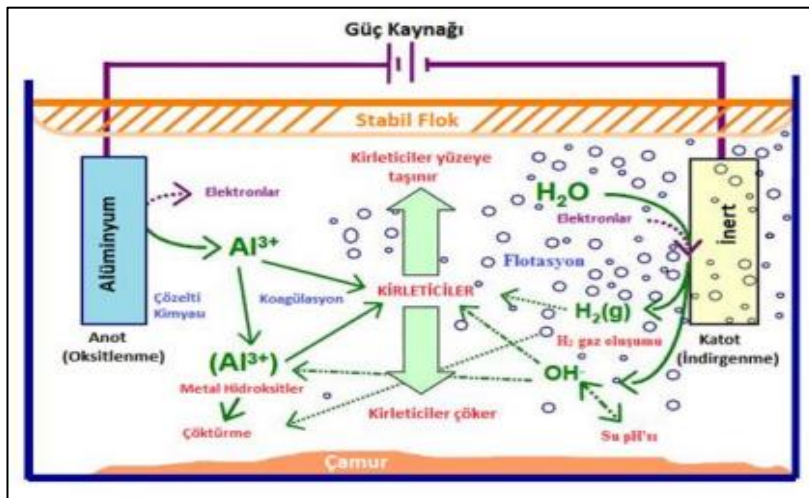
Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Dünya Sağlık Örgütü ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü yüksek saflıktaki stevia ekstraktlarının önerilen miktarlarda tüketilmesinin güvenli olduğunu ifade etmişlerdir (Hossain vd. 2017). Resmi Gazete’de yayımlanan (30.06.2013) Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği’ne göre, E 960 olarak kodlandırılan steviol glikozitlerin Türkiye’de tatlandırıcı olarak kullanılmasına onay verilmiştir (Karagöz ve Demirdöven 2018). Ayrıca bitki, Tarım ve Orman Bakanlığı’nın bitki listesinde pozitif bitkiler arasındadır (Anonim 1).

2.2. Çalışma Kapsamında Saflaştırmada Kullanılan Teknikler

2.2.1. Elektrokoagülasyon

Elektrokoagülasyon (EK); sulu bir ortamda bulunan asılı, emülsifiye edilmiş veya çözünmüş kirlilik unsurlarının, ortama bir elektrik akımı verilmesi suretiyle kararsız hale getirilmesi işlemi olarak ifade edilmektedir (Emamjomeh ve Sivakumar 2009). Elektrokoagülasyon teknolojisi, çözünebilen ve koagülan oluşturuca özelliklere sahip metal elektrotların kullanıldığı elektrokimyasal bir arıtma prosesidir. Yöntemin prensibi, kullanılan elektrot malzemesinin elektriksel olarak çözünüp kolloidlerin, süspansiyonların ve emülsiyonların elektriksel yüklerden etkilenmesiyle koagülantların oluşturulması şeklindedir (Yılmaz ve Karagözoğlu 2019).

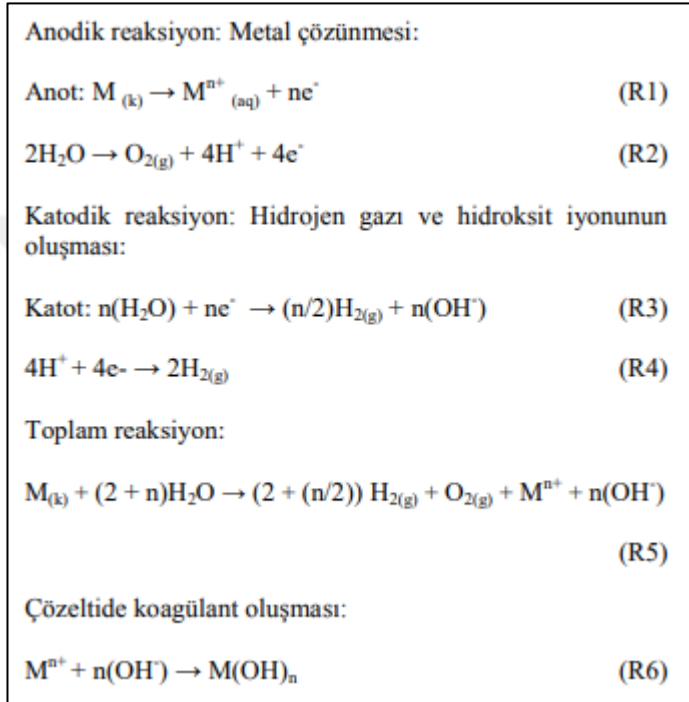
Elektrokoagülasyon uygulamasında sırasıyla; elektrot yüzeyinde elektrolitik reaksiyonların oluşması, metalik iyonların ortaya çıkması ve kolloidal özelliğe sahip kirlilik unsurlarının adsorpsiyon, koagülasyon, flotasyon veya sedimentasyon gibi işlemlerle uzaklaştırılması olmak üzere üç temel işlem meydana gelir (Akarsu 2014) (Şekil 2.3). Bu işlemlere daha ayrıntılı olarak bakıldığında elektrolitik oksidasyon sırasında elektrotların çözünmesiyle koagülan türler ortaya çıkmakta, kirlenici unsurların stabilitesi bozulmakta ve stabilitesini kaybetmiş bileşenler de flok oluşturmaktadır (Mollah vd. 2004; Arslan vd. 2008).



Şekil 2.3. Elektrokoagülasyon prosesinin işleme mekanizması (Holt 2002; Aygün 2012;

Gürbüz 2015)

Elektrokoagülasyon reaktörü basitçe bir anot ve bir katottan oluşan elektrolitik bir hücreden meydana gelmektedir (Mollah vd. 2001). Elektrokimyasal proseste anotta yükseltgenme reaksiyonları gerçekleşirken, katotta indirgenme reaksiyonları (R1-R6) meydana gelmektedir (Şekil 2.4). Elektrokimyasal işlem mekanizmasının oldukça karmaşık ilerlediği belirtilen çözelti sistemlerinde, adsorpsiyon özelliği çok yüksek olan metal hidroksit bileşikleri elektrokoagülasyon sırasında oluşmaktadır (Demirci vd. 2016).



Şekil 2.4. Anotta ve katotta görülen reaksiyonlar (Demirci vd. 2016)

Elektrokoagülasyon prosesi, çoğu organik ve inorganik olan kirlilik unsurlarının uzaklaştırılmasında kullanılan etkili bir uygulamadır (Tünay vd. 2010). Elektrokoagülasyon prosesinin; kağıt endüstrisi atık sularının, maden atık sularının, gıda maddesi atıklarının, yağ atıklarının, cilalama atıklarının, sentetik deterjan atık sularının, ağır metal içerikli çözeltilerin arıtılmasında ve ayrıca çöplük alanlardan organik maddelerin giderilmesinde ve sudan florun uzaklaştırılmasında uygulamaları ve araştırmaları olduğu belirtilmektedir (Güney 2013). Bunlara ilave olarak zeytin işletmeleri, petrol rafinerisi, restaurant, boya imalat ve tekstil atık sularının arıtılması alanlarında da kullanımı tercih edilmektedir (Veli vd. 2018). Elektrokoagülasyon prosesinin bazı avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Elektrokoagülasyon prosesinin avantaj ve dezavantajları (Atmaca 2023)

Avantaj	Dezavantaj
Basit donanımlı, işletimi kolay ve daha az bakım gereksinimi	Elektrotların belirli periyotlarda değişiminin gerekmesi
İkincil kirlilik oluşturmaması	Yüksek iletkenlik gereksinimi
Renk, koku, vb. kirlilik unsurlarını içeren her türlü atık suyu arıtmak için kullanılabilmesi	Elektrotların kullanıma bağlı olarak zamanla aşınması
Elektroliz sırasında ortaya çıkan gaz kabarcıklarının, kirlilik unsurlarını çözeltinin yüzeyine taşıyarak giderebilmesi	Bazı bölgelerde elektriğin pahalı olması

Reaktörün tasarımı, elektrot materyalinin cinsi, elektrotlar arası mesafe, akım yoğunluğu, gerilim, reaksiyon süresi, sıcaklık, pH, iletkenlik, elektrolit cinsi ve konsantrasyonu gibi farklı proses değişkenleri elektrokoagülasyon uygulamasının verimi üzerine etkili olabilmektedir (Türkoğlu 2007; Hakizimana vd. 2017; Tulun ve Bilgin 2017). Bu proseste alüminyum, demir, hurda demir ve çelik elektrotlar ucuz ve kolay temin edilebilir olmaları nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Tünay vd. 2010).

2.2.2. Adsorpsiyon

Bu başlık altında, çalışma kapsamında kullanılan PVPP, PAD1200 adsorbentleri ve iyon değiştirici reçineler hakkında bilgiler verilmiştir.

Adsorpsiyon işlemi kısaca atom, iyon veya moleküllerin katı bir yüzeyde tutunması olayı olarak tanımlanmaktadır. Burada katı madde adsorblayıcı katı yüzeyine tutunan madde de adsorblanan olarak ifade edilmektedir (Öğütçü 2007). Bu proseste bir sıvı ya da gazda bulunan moleküller (adsorbat) bir katı (adsorbent) yüzeyine transfer olmaktadır (Onay 2017).

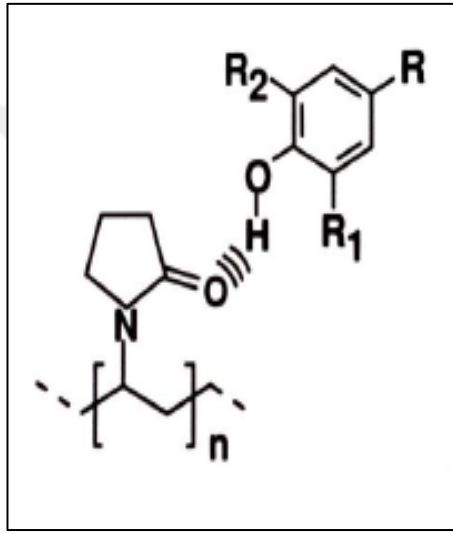
Adsorpsiyon prosesinin çalışma mekanizması farklı özelliklere sahip maddelerin adsorbent üzerinde birikerek ortamdan uzaklaşması ilkesine dayanmaktadır (Madenli vd. 2021). Sıvı-katı adsorpsiyon olayı dört adımda gerçekleşmektedir. Yığın difüzyonu olarak adlandırılan ilk aşamada adsorbat molekülleri sıvı-katı ara yüzeyine doğru difüze olur. Film difüzyonu olan ikinci aşamada adsorbat moleküllerinin adsorbentün gözeneklerine doğru hareketi söz konusudur. Gözenek difüzyonu olarak adlandırılan üçüncü aşamada adsorbat molekülleri kendi boyutlarına uygun gözeneklere doğru ilerler. Dördüncü ve son adım olan sorpsiyon aşamasında da adsorbat molekülleri gözeneklerde tutunur (Onay 2017).

Fiziksel adsorpsiyon, kimyasal adsorpsiyon ve değişim adsorpsiyonu (elektriksel çekim adsorpsiyonu) olmak üzere adsorbent ve adsorbat arasında gerçekleşen üç tip adsorpsiyon türü vardır. Fiziksel adsorpsiyonda hidrojen bağı, dipol-dipol etkileşimleri ve Wander Walls bağları etkin iken kimyasal adsorpsiyonda kovalent bağlar etkindir. Değişim adsorpsiyonunda ise elektriksel çekim etkilidir (Çalışır 2020).

Adsorpsiyon uygulaması üzerinde adsorbentün yüzey alanı, gözenegin boyutu, büyüklüğü ve hacmi, çözeltinin pH'sı, sıcaklık, karıştırma hızı ve adsorbatın çözünürlüğü gibi faktörlerin etkili olduğu belirtilmektedir (Karadaş 2019; Madenli vd.

2021).

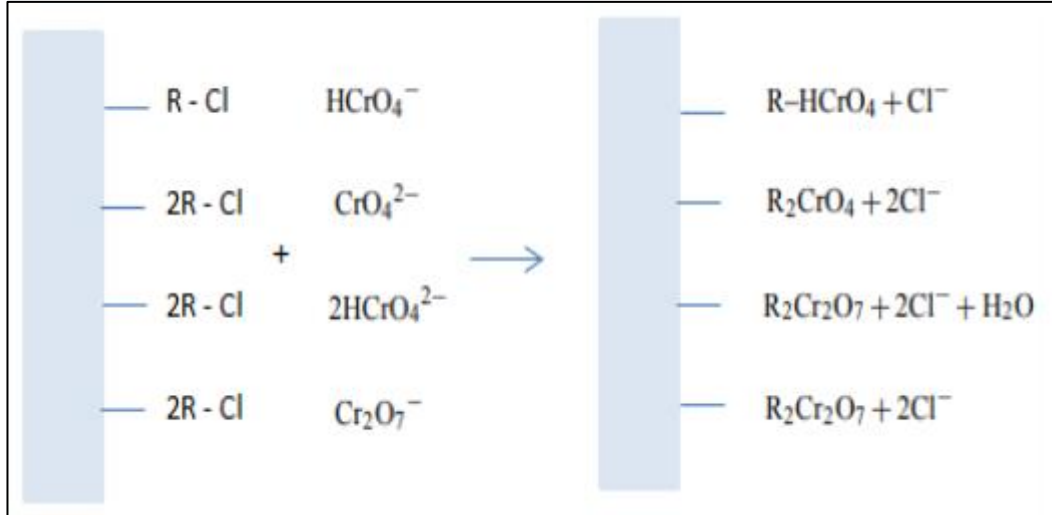
Polivinilprolidon (PVP) moleküllerinin çapraz bağlanması sonucu oluşan polivinilpolipirrolidon (PVPP), yüksek molekül ağırlıklı bir durultma yardımcı maddesidir (Dıblan ve Özkan 2013). Sentetik bir polimer olan PVPP, suda çözünmez ve içeceklerde bulunan fenollerı adsorbe etmek için kullanılır (Laborde vd. 2006). Bira, elma suyu ve şarap gibi içeceklerden bazı polifenollerı uzaklaştırmak amacıyla sıklıkla kullanılan PVPP hidrofilik özellik de göstermektedir (Bridi vd. 2014). Bu özelliği sayesinde de flavonoidlere ve polifenollere hidrojen bağı ile bağlanabilme yeteneğine sahiptir (Şekil 2.5). Düşük molekül ağırlıklı proantosiyanidinler ve kateşinler gibi polifenollerle bu hidrojen bağının daha güçlü kurulduğı ifade edilmektedir (Dıblan ve Özkan 2013).



Şekil 2.5. PVPP ile fenolikler arasında oluşan hidrojen bağı (Cemeroğlu 2013)

PAD1200 polimer matrisi aromatik polidivinilbenzen olup divinilbenzen içerkli sentetik bir adsorbenttir. Gıda ve ilaç alanları gibi farklı endüstri dallarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzey alanının artmasıyla hidrofobik mukavemeti ve kapasitesi artmaktadır. Peptitlerin ve steviol glikozitlerin saflaştırılmasında kullanılabileceğı ifade edilmektedir (Anonim 2).

İyon değıştirici özelliğe sahip çözünmeyen bir katı ile bir çözelti arasında tersinir şekilde gerçekleşen iyon alışverişi iyon değıştirme olarak tanımlanmaktadır (Bilgin ve Koç 2013; Wang ve Wan 2015) (Şekil 2.6). İyon değışimi elektrostatik adsorpsiyon mekanizmasının etkin olduğı bir adsorpsiyon uygulamasıdır. Elektrostatik kuvvetler iyon değıştirici reçinenin yüzeyinde bulunan yüklü fonksiyonel gruplar aracılığıyla iyonları tutmaktadır. Reçine yüzeyinde bulunan iyonlar ile adsorbe edilen iyonlar stokiyometrik oranda yer değıstirmektedir (Ümmetoğlu 2021).



Şekil 2.6. İyon değişiminin gerçekleşme mekanizması (Ümmetoğlu 2021)

İyon değiştirme prosesinin temeli, bir sıvı faz ile iyon değiştirici özelliğe sahip bir katı faz arasında gerçekleşen iyon değişimine dayanmaktadır. İyon değiştirici reçinenin çalışma prensibi; zıt iyonlara sahip ve aynı zamanda hareketli olan bir faz ile yüklü gruplar içeren çözünmeyen sabit bir faz arasındaki elektrik yüklerinin dengeye gelmesi şeklindedir (Moral 2006).

İyon değiştirme özelliğine sahip maddelerin yapısına bakıldığında üç boyutlu hidrokarbon ağı ve hidrokarbona kimyasal bağlarla bağlanmış asidik ya da bazik iyonlaşabilen gruplardan oluştuğu görülmektedir. Bir iyon değiştirici reçinede gerçekleşen kimyasal tepkimeler hidrokarbon iskeletine bağlı fonksiyonel grupların karakteristik özelliklerine göre şekillenmektedir. Anyon ve katyon değiştiriciler olmak üzere başlıca iki tip iyon değiştirici grup bulunmaktadır. Bunların fonksiyonel grupları sulu ortamların anyon ve katyonlarıyla tepkimeye girebilme yeteneğine sahiptir. Hem anyon değiştirici hem de katyon değiştirici özellik gösterenler ise amfoterik iyon değiştiriciler olarak adlandırılmaktadır (Kumar ve Jain 2013; Demir ve Yalçın 2014).

Katyon iyonlarının uzaklaştırıldığı sistem katyon değiştirici, anyon iyonlarının uzaklaştırıldığı sistem de anyon değiştirici olarak adlandırılmaktadır. Her iki reçineyi de bir arada bulunduran ve böylece hem katyonik hem anyonik iyonların uzaklaştırılabildiği sistem de karışık yatak iyon değiştirici (Mixed Bed) olarak ifade edilmektedir. Bu sistemlerden geçirilen ham suyun içermiş olduğu Ca, Mg, Na vb. katyonik yükleri katyon değiştirici reçinelere bağlı hidrojen (H) iyonu ile; Cl, SO₄, HCO₃, SiO₂ vb. gibi anyonik yükleri de anyon değiştirici reçinelere bağlı hidroksil (OH) iyonu ile değiştirilmektedir. Sonuç olarak, katyonik sistemden çıkan sudaki (H) iyonları ile anyonik sistemden çıkan sudaki (HO) iyonları birleşerek suyu oluşturmaktadır (Ünver ve Aksu 2011).

İyon değiştirici reçineler farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Yapısal ayrımına göre iyon değiştiriciler; inorganik ve organik reçineler olmak üzere iki başlıkta incelenmektedir. Organik reçineler de kendi içinde anyonik [kuvvetli bazik; kuaterner amonyum grubu (-N⁺R₃OH⁻), zayıf bazik; tersiyer (-NR₂), sekonder (-NHR) veya primer (-NH₂) amino grupları], katyonik [kuvvetli asidik; sülfonik asit (-SO₃H) grubu,

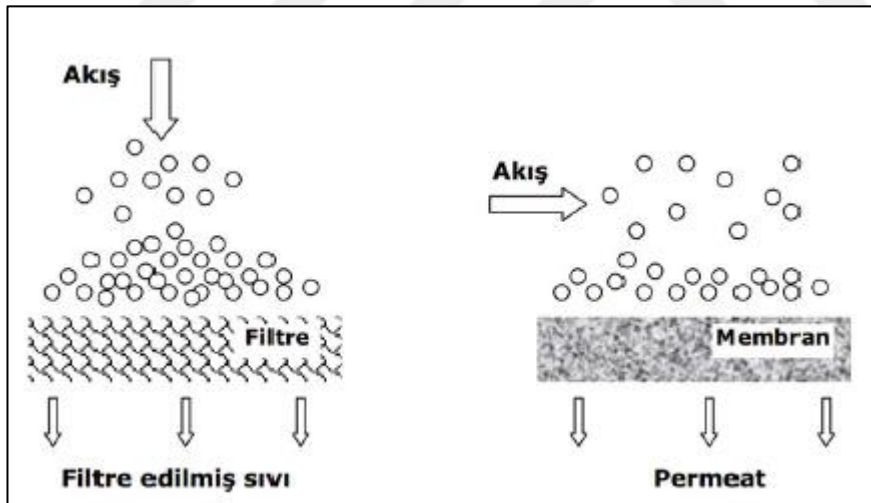
zayıf asidik; karboksilik asit (-COOH) grubu] ve amfoterik iyon değiştiriciler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Diğer bir sınıflandırma şeklinde ise yapısal özelliklerine göre iyon değiştiriciler; inorganik, doğal organik ve sentetik reçine iyon değiştiriciler olmak üzere üç başlık altında sınıflandırılmaktadır (Soylu ve Gökkuş 2017; Ümmetoğlu 2021).

İyon değiştirme uygulamalarında farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan doğal ya da sentetik formlardaki çeşitli materyallerden yararlanılmaktadır. Çoğunlukla sodyum silikat, zeolit, polistiren sülfonik asit, akrilik ve meta-akrilik reçineler kullanılmaktadır (Acar ve Acar 2022).

İyon değiştirme prosesi farklı amaçlarla kullanılmakta olup yaygın olarak su ve atık suların arıtılmasında kullanılmaktadır. Bazı uygulama alanları evsel atık sulardan amonyağın uzaklaştırılması, su kaynaklarından kalsiyum, magnezyum, demir, mangan gibi minerallerin giderilmesi ve değerli metallerin (altın, gümüş, uranyum vb.) iyonik formlarının endüstriyel atık sulardan geri kazanılması şeklinde dir (Yurtoğlu 2007).

2.2.3. Membran filtrasyon

Membran filtrasyon sistemleri, moleküler ve iyonik düzeyde ayrımların yapılabildeği bir proses olarak tanımlanmaktadır. Teğet (çapraz) akış düzeneklerinin geliştirilmesine bağlı olarak membran filtrasyon teknolojisinin gıda endüstrisindeki kullanımı yaygınlaşmıştır (Kulcan 2016) (şekil 2.7).



şekil 2.7. Geleneksel filtrasyon (sol) ve teğet akış filtrasyon (sağ) (Kulcan 2016)

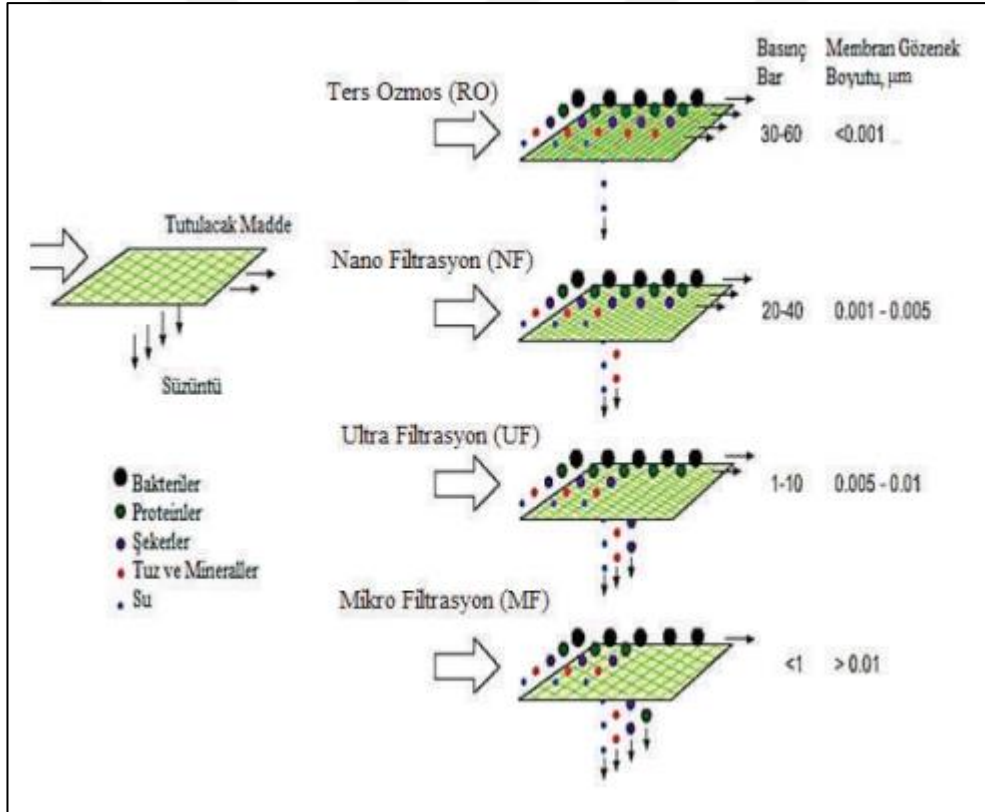
Membran filtrasyon teknikleri gözenek çapı büyük olandan küçük olana doğru mikrofiltrasyon (MF), ultrafiltrasyon (UF), nanofiltrasyon (NF) ve ters osmoz (RO) olmak üzere dört gruba ayrılmaktadır (Wang ve Zhou 2013; Tütün vd. 2017) (şekil 2.8).

Membran filtrasyon teknolojileri filtrasyon temelli fiziksel ayırma teknikleri olarak bilinmektedir. Bu sistemlerde membran adı verilen yarı geçirgen özellikteki filtrelerden yararlanılmaktadır. Membrandan geçebilen kısım filtrat (permeat), geçemeyen kısım ise retentat (konsantrat) olarak adlandırılmaktadır. Membran

filtrasyon proseslerinin çalışabilmesi için bir itici güce ihtiyaç vardır. Bu itici güç membran filtrasyon tekniklerine göre değişmekte olup basınç farkı (mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon, ters osmoz), sıcaklık farkı (membran damıtma), konsantrasyon farkı (ileri osmoz, diyaliz, pervaporasyon, gaz ayırma) ve elektriksel potansiyel farkı (elektrodiyaliz ve çeşitleri) şeklindedir (Alan 2021; Cevallos-Mendoza vd. 2022).

Endüstride kullanılan birçok membran doğal ya da sentetik polimerlerden oluşmaktadır. Membranların yapısında yaygın olarak kullanılan polimerler; poliamid, selüloz asetat (CA), polisülfon (PSU), polieter sülfon (PES), poliakrilonitril (PAN), polivinildin florid (PVDF), polipropilen (PP), politetrafloroetilen (PTFE), polietilen (PE), polivinilklorid (PVC) ve naylonlar şeklindedir (Gül ve Tiyek 2022).

Gözenek büyüklüğü net olarak bilinmeyen membranlar için karakteristik ayırma büyüklüğü olarak molekül ağırlığı değerinden yararlanılmaktadır. Bileşenlerin % 90-95'inin tutulduğu bir membran filtrasyonunda molekül ağırlığı, MWCO (Molecular Weight Cut Off) değeri yani ayırma sınırı şeklinde verilmektedir (Altınay 2015).



Şekil 2.8. Membran filtrasyon teknikleri ve gözenek çapları (Aslan 2016; Anonim 3)

Mikrofiltrasyon (MF) tekniği 50-500 kDa arasında molekül ağırlığına sahip olan moleküllerin karakterizasyonu için kullanılan bir uygulamadır. Süspansiyon halindeki partiküllerin, yağların, bakterilerin ve büyük protein molekülünün küçük protein molekülünden ayrılması gibi alanlarda kullanılmaktadır (Özdemir 2018).

Ultrafiltrasyon (UF) sistemi, 1-10 bar basınç aralığında çalışan ve 1000 Da'dan

daha büyük molekül ağırlığına sahip bileşenlerin sudan uzaklaştırılmasında kullanılan bir membran filtrasyon tekniğidir. Bu proses makromoleküllerin ve kolloidal unsurların uzaklaştırılması, atık suların ayrıştırılması, bakteri ve virüs gibi mikroorganizmaların giderilmesi, proteinlerin saflaştırılması, bazı değerli bileşenlerin geri kazanılması ve nanofiltrasyon ve ters osmoz öncesi ön ayrıştırma amaçlarıyla kullanılmaktadır. UF sistemlerinin gıda, tekstil, ilaç, kimya, deri ve kâğıt gibi endüstri kollarında yaygın olarak uygulaması mevcuttur (Gül ve Tiyek 2022).

Nanofiltrasyon sistemleri, membran gözenek boyutu bakımından ultrafiltrasyon ile ters osmoz sistemleri arasında yer almaktadır. Nanofiltrasyon membranları için ayırma sınırı genel olarak 200-1000 Da arasındadır. Bu membranlar iyon seçici özelliğe sahiptir. İçme sularının arıtılması ve yumuşatılması, tekstil ve kâğıt endüstrilerinden gelen atık sulardan renk maddelerinin giderilmesi, laktoz ve proteinlerin peyniraltı suyundan ayrıştırılması ve ters osmoz sistemleri için ön arıtımın yapılması gibi alanlarda kullanılmaktadır (Yarmuhammet 2012).

Ters osmoz tekniği çözünmüş organik ve inorganik maddeleri sudan gidermek veya geri kazanmak amacıyla kullanılan yüksek basınç altında çalışan bir prostestir. Ters osmoz sistemlerinde kullanılan membranlar sadece su moleküllerinin geçişine izin vermektedir. Bu teknik gıda endüstrisi, eczacılık, içme suyu eldesi, atık suların arıtılması alanlarında ve laboratuvarlarda kullanılabilmektedir (Gündoğdu 2020).

Membran filtrasyon sistemlerinde membran gözeneklerine göre daha büyük çaptaki bileşenler akış sırasında membranın yüzeyinde bir birikime neden olmaktadır. Bu durum membranın yüzeyinde çözünmüş madde derişimini artırmakta ve bir direnç oluşturmaktadır. Ortaya çıkan bu direnç, konsantrasyon polarizasyonu direnci olarak adlandırılmaktadır. Bu direncin zamanla artmasıyla jel polarizasyonu adında başka bir direnç tabakası daha meydana gelmektedir. Membranın yüzeyinde tutulan bileşenlerden dolayı oluşan konsantrasyon artışı nedeniyle membran yüzeyine yakın bölümlerde süzülme hızı sıfıra yakın olup değişik oranlarda sınır tabakası oluşmaktadır. Bu membran yüzeyine yakın sınır tabakasındaki konsantrasyon yükselişi konsantrasyon polarizasyonu olarak adlandırılmaktadır. Polarizasyon ve tıkanma olayları membran proseslerinde verimin düşmesine neden olmakta ve akışı azaltmaktadır (Aslan 2016).

2.3. Konu Kapsamında Yapılan Benzer Çalışmalar

Literatür incelendiğinde steviol glikozitlerin özellikle de steviosit ve rebaudiosit A bileşenlerinin farklı yöntemlerle zenginleştirildiği ve saflaştırıldığı görülmektedir. Adduci vd. (1987) tarafından yapılan bir çalışmada stevia bitkisinde bulunan steviositin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ana işlem basamaklarının sıcak su ekstraksiyonu, elektroliz ile renk giderme, iyon değıştirici reçine kullanarak renk ve mineral maddeleri giderme aşamalarından oluştuğu belirtilmiştir. Elektrolizden sonra berrak, uçuk sarı bir çözelti alınmış, devamında karışık-yataklı (mixed-bed) iyon değıştirici reçineden geçirilince de berrak, renksiz bir sıvı elde edilmiştir. Saflaştırma düzeyinin ise % 70-80 olduğu ve % 8-10 verimle elde edildiği bildirilmiştir. Jumpatong vd. (2006) içerisinde *Stevia rebaudiana* bitkisinin de bulunduğu beş farklı bitki türüne elektrokoagülasyon işlemi uygulayarak klorofilin giderilmesini amaçlamışlardır. Öncelikle bitkiler % 75'lik etanol çözeltisi kullanılarak ekstrakte edilmiş ve 2,5 saat elektrokoagülasyon işlemine tabii tutulmuştur. Klorofil pigmenti giderilen stevia ekstraktının 665-666 nm'deki

absorbans değeri 0,27 olarak ölçülmüş ve renginin de açık sarı-yeşil olduğu belirtilmiştir. Pribadi (2009) stevia bitkisi ekstraktındaki klorofilin elektrokoagülasyon tekniği ile giderilmesi amacıyla elektrot mesafesi ve gerilimin optimizasyonu üzerine çalışmış; 1,5 cm ve 5 cm elektrot aralığında, 0,96 amper akımda, 17 volt ve 32 volt gerilimde, yüzey alanı 45 cm² olan iki adet alüminyum levha kullanarak 2,5 saat boyunca elektrokoagülasyon işlemi uyguladığını belirtmiştir. Mulyanti (2018) tarafından stevia ekstraktının elektrokogülasyon yöntemiyle berraklaştırılması üzerine yapılan bir çalışmada Al ve Zn elektrotlar kullanılmış. Al elektrot kullanıldığında 0,8 A akım ve 13,6 dk elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda berraklaştırma yüzdesinin % 93,88; Zn elektrot kullanıldığında ise 0,8 A akım ve 17,5 dk elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda berraklaştırma yüzdesinin % 85,37 olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca Al elektrot kullanıldığında steviosit içeriğinin 450,178 µg/mL, rebaudiosit A içeriğinin 1452,046 µg/mL; Zn elektrot kullanıldığında ise steviosit içeriğinin 482,44 µg/mL, rebaudiosit A içeriğinin 1665,287 µg/mL olarak bulunduğu belirtilmiştir. Karageorgakis ve Pattas (2022) tarafından stevia ekstraktı üzerine yapılan başka bir çalışmada 5 alüminyum plaka 0,7 cm aralıklarla yerleştirilerek 40 °C’de 30-60 dk elektrokoagülasyon işlemi uygulanmıştır. En iyi sonucun %5 yaprak-su oranında, 6V-12V gerilimde ve 17,3-31,3 mA/cm² akım yoğunluğunda alındığı bildirilmiştir. Elektrokoagülasyon uygulamasından sonra ekstrakt seramik filtre plakadan süzölmüştür. Sonuç olarak renk azalmasının % 85’ten fazla olduğu ve steviol glikozit kaybının da % 7’den az olduğu tespit edilmiştir. Joshi vd. (2022) tarafından stevia yapraklarından steviositin izolasyonu ve saflaştırılması üzerine yapılan diğer bir çalışmada ekstraksiyon, elektrokoagülasyon (Al/Al elektrot, 12 V gerilim, 0,8-1,2 A akım, 120 dk, 15 g NaCl), aktif kömür, iyon değişimi, vakumlu buharlaştırma ve bütanol yıkama gibi yöntemler kullanılmış olup 100 g yapraktan kristal formda 496 mg steviosit elde edildiği bildirilmiştir. Elektrokoagülasyon tekniğinin farklı amaçlarla ve de sıklıkla atık suların arıtılmasında kullanıldığı görölmüştür (Beck vd. 1974; Mrozowski ve Zielinski 1983; Renk 1988; Do ve Chen 1994; Pouet ve Grasmick 1995; Abuzaid vd. 1998; Buso vd. 2000; İnan vd. 2004; Can vd. 2006; García-García vd. 2011; Nawarkar ve Salkar 2019; Papadopoulos vd. 2020).

Giovanetto (1990) tarafından yapılan patent altına alınan bir çalışmada *Stevia rebaudiana* Bertoni’den steviositlerin saflaştırılmasında sulu ekstrakt öncelikle kalsiyum hidroksitle muamele edilmiş ve santrifüjlenmiştir. Elde edilen ekstraktın zenginleştirilmesinde sırasıyla kuvvetli asidik iyon değiştirici reçine ile zayıf bazik iyon değiştirici reçine kullanıldığı belirtilmiştir. Yine patent alınmış, Jonnala vd. (2006) tarafından yapılan diğer bir çalışmada da *Stevia rebaudiana* Bertoni’den steviositlerin saflaştırılmasında sulu ekstrakt alkali ile muamele edilmiş, ardından sırasıyla jel veya makro gözenekli güçlü asit katyon değiştirici reçine ile jel veya makro gözenekli zayıf baz anyon değiştirici reçine kullanılarak steviositlerin saflaştırıldığı bildirilmiştir. Abou-Arab vd. (2010) *Stevia rebaudiana* Bertoni’den steviosit elde edebilmek için ekstraksiyon işlemi takiben Ca(OH)₂ uygulamış ve ardından iyon değiştirici reçine (Amberlite IR-4B) kullanmışlardır. Liu vd. (2011) rebaudiosit A’nın steviol glikozitlerden ayrılması ve saflaştırılması için karışık mod (mixed-mode) makro gözenekli adsorpsiyon reçineleri (MAR) kullandıklarını rapor etmişlerdir. Li vd. (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada rebaudiosit A’nın *Stevia rebaudiana* Bertoni ham ekstraktından karışık yataklı (mixed-bed) makro gözenekli adsorpsiyon reçinesi (MAR) ile ayrılması ve saflaştırılması araştırılmıştır. HPD750 – LSA40 – LSA30 – DS401

olarak sıralanan karışık yataklı MAR daha iyi ayırma derecesi sağlamış. Sonuçta, elde edilen ürünün saflığının % 60'tan % 97'ye yükseldiği bildirilmiştir. Lv vd. (2014) yaptıkları çalışmada *Stevia rebaudiana* Bertoni'den steviol glikozitlerin ayrılması amacıyla makro gözenekli reçine ve HPLC kullanmışlardır. Anvari ve Khayati (2016) tarafından yapılan bir çalışmada *Stevia rebaudiana* ekstraktından rebaudiosit A'nın ayrılması ve saflaştırılması için farklı özellikte makro gözenekli adsorpsiyon reçineleri kullanılmış; en iyi sonucun reçine olarak HPD-400 kullanıldığında elde edildiği belirtilmiştir.

Fuh ve Chiang (1990) tarafından steviositlerin membran ve iyon değiştirme teknikleriyle saflaştırılması amaçlanmıştır. Ultrafiltrasyon (UF) (100 kDa) işlemi sonucu elde edilen retentata diafiltrasyon (DF) işlemi uygulanmış ve elde edilen permeat ters osmoz (RO) ile konsantre edilmiştir. Membran işlemleri sonucunda (UF-DF-RO) steviosit % 90'ın üzerinde geri kazanımla % 46 saflıkta elde edilmiştir. Nihai saflaştırma işlemi ise iki ardışık karışık yataklı iyon değiştirici ile gerçekleştirilmiş ve ürünün saflığının % 90'a ulaştığı bildirilmiştir. Vanneste vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon uygulamaları kullanılarak steviol glikozitlerin (steviosit ve rebaudiosit A) % 30 verimle % 37 düzeyinde saflaştırıldığı bildirilmiştir. Chhaya vd. (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada *stevia* ekstraktına ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemleri uygulanmıştır. Ultrafiltrasyon için 30 kDa polietersülfon membran, nanofiltrasyon için de poliamid kaplamadan oluşan 400 Da membran kullanılmıştır. Geri kazanımın en yüksek olduğu koşullarda ultrafiltrasyon için 552 kPa basınçta ve 0,17 m/s akış hızında permeat akısının steviosit oranının % 39,7 olduğunu bildirmişlerdir. Ardından permeat akısını nanofiltrasyon uygulamasına beslemişler; 1241 kPa basınç ve 1500 rpm karıştırma hızında nanofiltrasyon uygulamasının permeat akısında steviosit konsantrasyonu 201,3 mg/L olarak; retentat akısında da steviosit konsantrasyonu 9594 mg/L olarak tespit edilmiştir. Ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon uygulamaları sonucunda steviositin saflık oranının % 60 olduğunu belirtmişlerdir. Das vd. (2015) tarafından *stevia* ekstraktı üzerine yapılan diğer bir çalışmada ultrafiltrasyon için 30 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon membran kullanılmış ve en iyi sonucun alındığı 1667 Reynold sayısı ile 414 kPa transmembran basıncında permeatın rebaudiosit A saflık oranının % 31 ve steviosit saflık oranının % 60 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Literatürde bulunan çoğu çalışmanın bir kısmında steviol glikozitlerin özellikle de rebaudiosit A ve steviosit bileşenlerinin elde edilebilmesi için ekstraktlara bazı kimyasalların uygulandığı ve su haricinde çözücüler kullanıldığı görülmektedir. Elektrokoagülasyon araştırmalarının ise çoğunluğu atık suların arıtılması üzerine olup yalnız birkaç tanesi bitki ekstraktlarından klorofilin giderilmesi üzerinedir. *Stevia* ekstraktlarının da kullanıldığı bu kısıtlı sayıdaki çalışmalarda sınırlı elektrokoagülasyon parametreleriyle çalışıldığı anlaşılmaktadır. Bu tez çalışmasında ise steviol glikozitlerin saflaştırılabilmesi için ekstraksiyon işleminde sadece suyun kullanılması, elektrokoagülasyon aşamasında elektrot cinsi, elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim ve süre gibi geniş parametrelerle çalışılması ve ayrıca bu sistemin adsorpsiyon ve membran filtrasyon teknikleri ile kombine kullanılması çalışmayı diğer çalışmalardan ayırmaktadır. Elektrokoagülasyon işleminin *stevia* ekstraktlarının saflaştırılması prosedürüne entegrasyonu ve işlemin matematiksel modellemesinin de yapılması çalışmaya özgünlük katmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada Antalya’da faaliyet gösteren Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar San. ve Tic. Anonim Şti. tarafından ıslah edilmiş tescilli stevia çeşidinin (Levent 93) kurutulmuş yaprakları materyal olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bitki firma tarafından kurutulmuş olup yaprakları sap ve çiçek kısımlarından ayrılarak kullanılmıştır. Yaprakların toplam kuru madde bazında temel steviol glikozit dağılımı ve toplam steviol glikozit (TSG) miktarı Çizelge 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Stevia (var. Levent 93) bitkisinin kurutulmuş yaprakları

Çizelge 3.1. Materyale ait steviol glikozit dağılımı ve TSG varlığı

Steviol Glikozit	(g/100 g TKM)
Rebaudiosit A	9,47
Steviosit	8,92
Rebaudiosit C	1,90
TSG	20,29

3.2. Metot

3.2.1. Ekstraksiyon

Dekantör ekstraksiyonu firma (Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar San. ve Tic. Anonim Şti.) alt yapısında bulunan kırıcı-malaksör ve dekantör sistemiyle (Polat Makine San., Aydın, Türkiye) gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2-Şekil 3.4). Ekstraksiyon işleminde kullanılan parametreler, daha önce tamamlanan “Kademeli Membran Filtrasyon Uygulamalarının Stevia Ekstraktlarının Saflaştırılmasında Kullanılması” adlı projede (TÜBİTAK-1002, proje no: 119O016) kullanılan yöntemle göre modifiye edilerek seçilmiştir. Ekstraksiyonda kuru stevia yaprakları kırıcı-malaksörde bitki/su oranı 1/24 (25 kat) olacak şekilde su ile seyreltilerek karıştırma sırasında çekiçli değirmende öğütülmüş ve ortam sıcaklığında 15 dakika karıştırıldıktan sonra dekantöre

beslenmiştir. Dekantörde 2200 xg santrifüj kuvvetinde katı kısım ayrılarak ham ekstraktlar elde edilmiştir. Bu aşamada yaklaşık 400 L stevia ekstraktı elde edilmiştir. Homojen haldeki ekstraktlar devam eden uygulamalar için eşit hacimlere bölünerek -18 °C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Ekstraksiyonda kullanılan kırıcı-malaksör sistemi



Şekil 3.3. Ekstraksiyonda kullanılan dekantör sistemi



Şekil 3.4. Stevia ekstraktları

3.2.2. Elektrokoagülasyon

Elektrokoagülasyon (EK) prosesi sırasıyla elektrokoagülasyon sisteminin tasarımı, elektrot optimizasyonu ve elektrokoagülasyon parametrelerinin optimizasyonu olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmiştir.

Elektrokoagülasyon işleminin ilk aşamasında EK sisteminin tasarımı ile teknik çizimleri gerçekleştirilmiş ve çalışmaya uygun olacak şekilde Antalya’da cam ürünler üreten bir işletmede (HRT cam) montajı yaptırılmıştır. EK sistemi elektrokoagülasyon reaktörü, soğutucu akışkan ünitesi, elektrot plakalar, manyetik karıştırıcı (Heidolph, MR Hei-Standard, Almanya), peristaltik pompa (Watson Marlow, İngiltere), redresör (güç ünitesi, [Artsan, AD3-C200, Türkiye]) ve soğutmalı su banyosundan (Jeio Tech, RW-3025G, Kore) oluşacak şekilde dizayn edilmiştir. EK reaktörü ve soğutucu akışkan ünitesi 10 mm kalınlıkta temperli ve rodajlı camdan yaptırılmıştır. Elektrotlar ise alüminyum (Al) ve 304L kalite paslanmaz çelik (Ç) levhalardan tasarıma uygun olacak şekilde yine Antalya’da faaliyet gösteren bir metal işletmesinde blok levhalardan eşit yüzey alanında lazer kesimle elde edilmiştir.

EK sisteminin bileşenlerinden birisi olan redresör ünitesi 10-200 Amper (A) akım ve 10-70 Volt (V) gerilim aralığında çalışma sınırlarına sahip olacak şekilde projeye destek veren firma olan Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar San. ve Tic. Anonim Şti. tarafından özel olarak ürettirilmiştir. Çalışma kapsamında akım yoğunluğu 20-100 mA/cm² aralığında olacak şekilde belirlenmiştir. Buna göre, redresörün çalışma sınırlarına uygun olacak şekilde en düşük akım yoğunluğunda çalışabilmek için en az 500 cm² etkin elektrot yüzey alanına ihtiyaç duyulmuştur. Akım yoğunluğunu ifade eden aşağıdaki formül (3.1) kullanılarak elektrot yüzey alanı belirlenmiştir.

$$J=I/A \quad (3.1)$$

J: Akım yoğunluğu (mA/cm²)

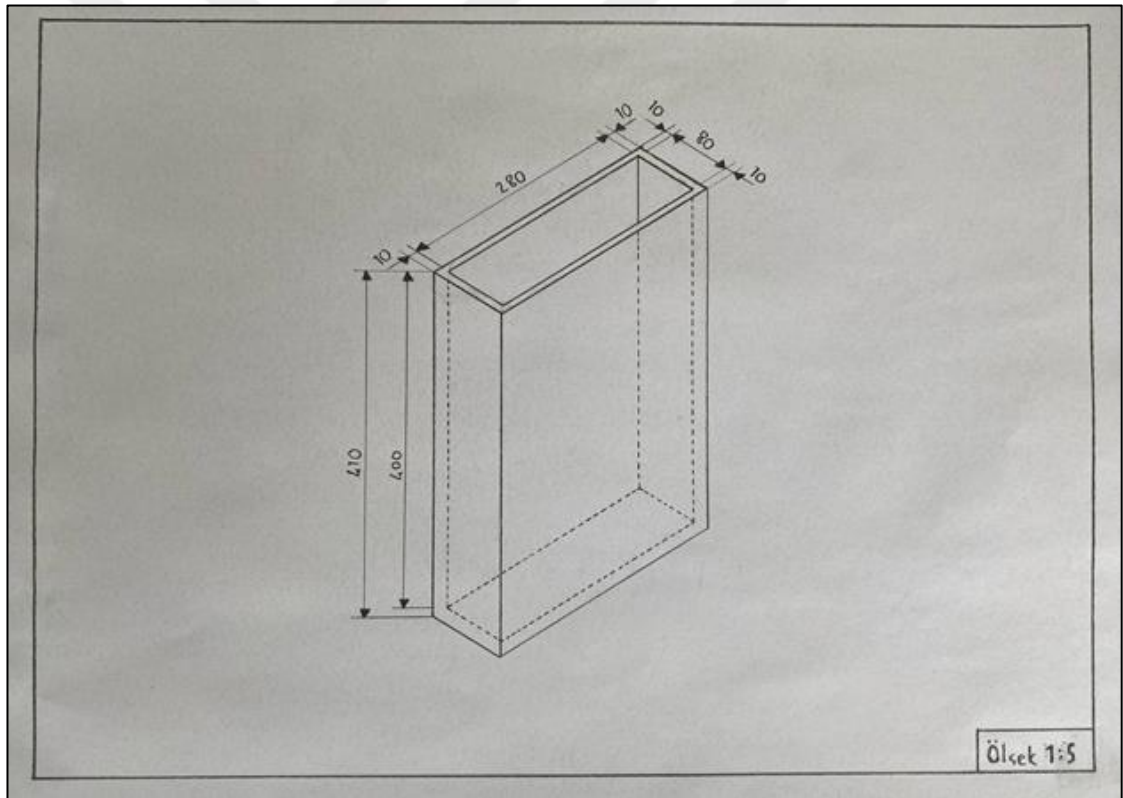
I: Akım (mA)

A: Etkin elektrot yüzey alanı (cm²)

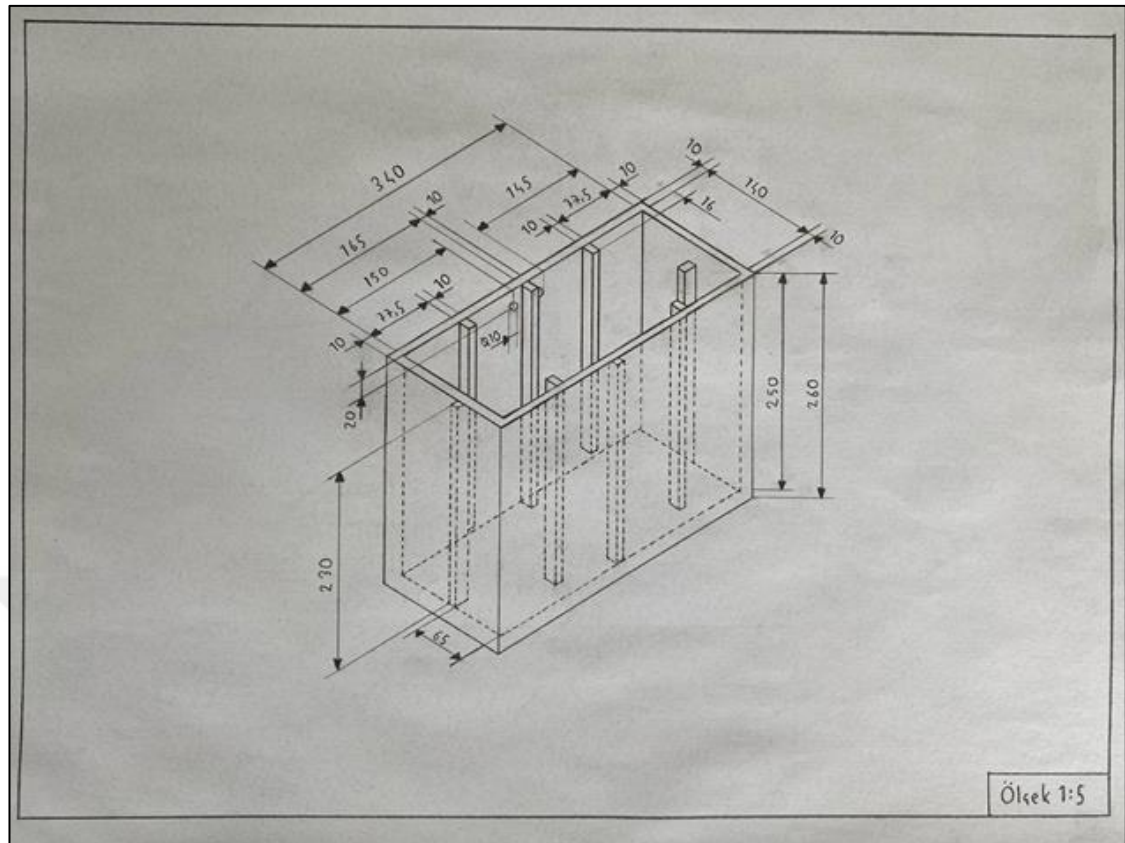
Redresörün sağlayabildiği en düşük akım olan 10 A (10000 mA) ve çalışma kapsamında belirlenen en düşük akım yoğunluğu olan 20 mA/cm² yukarıdaki formülde yerlerine yazıldığında;

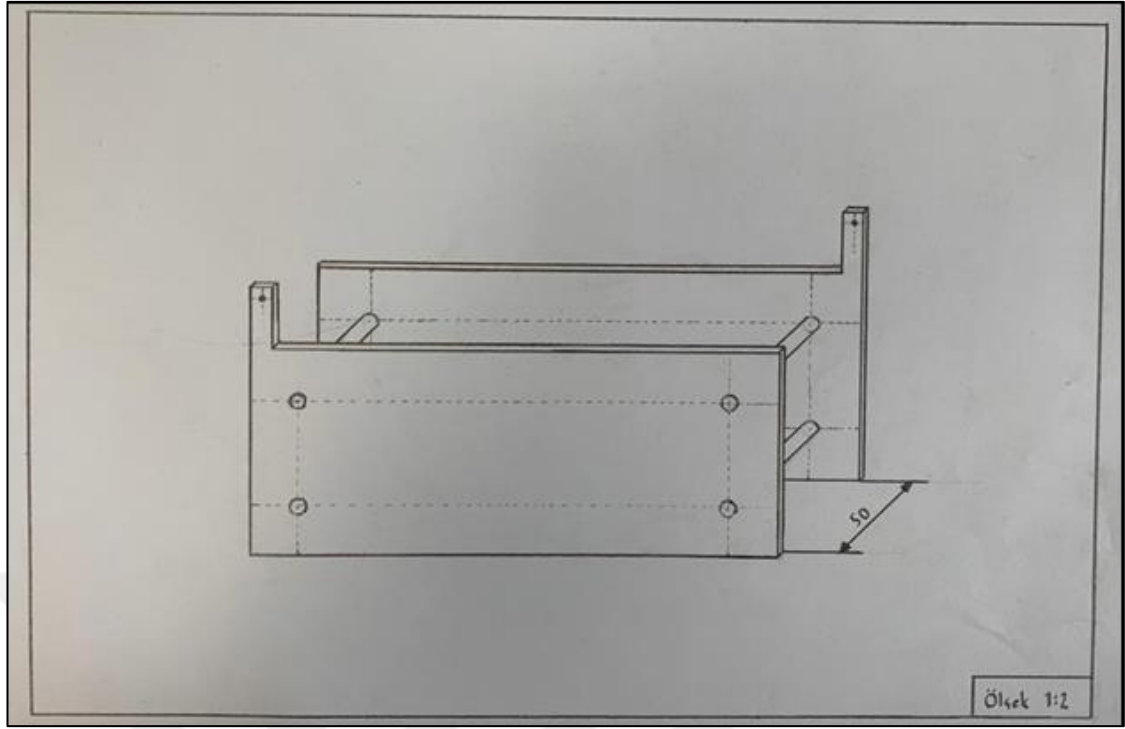
$$20 = 10000 / A \Rightarrow A = 500 \text{ cm}^2$$

olarak hesaplanmıştır. Dolayısıyla toplam etkin alanı 500 cm² olacak şekilde elektrot plakaların tasarımı gerçekleştirilmiştir. EK reaktörünün ise bu elektrotları içine alabilecek ve en düşük hacimde (3 L) çalışmaya imkan verecek şekilde tasarımı yapılmıştır. Soğutucu akışkan ünitesi de EK reaktörünün etrafında soğutucu akışkanın (antifriz) dolaşabileceği şekilde dizayn edilmiştir. EK sisteminin ve bileşenlerinin teknik çizimleri ile görüntüleri (Şekil 3.5-Şekil 3.23) aşağıda sunulmuştur.

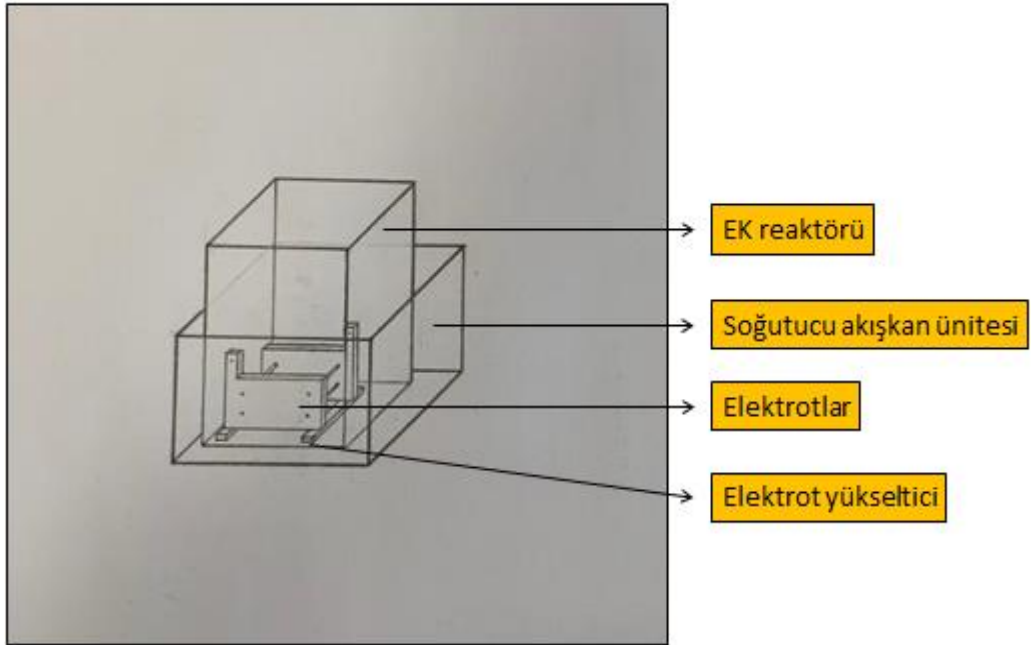


Şekil 3.5. Elektrokoagülasyon (EK) reaktörü haznesine ait teknik çizim

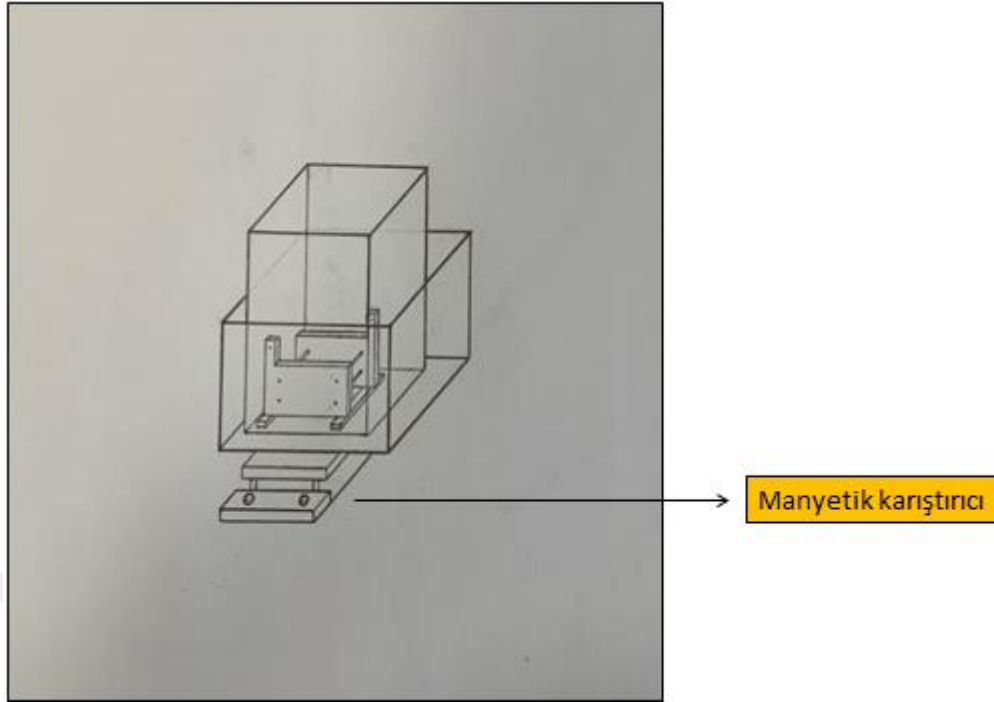




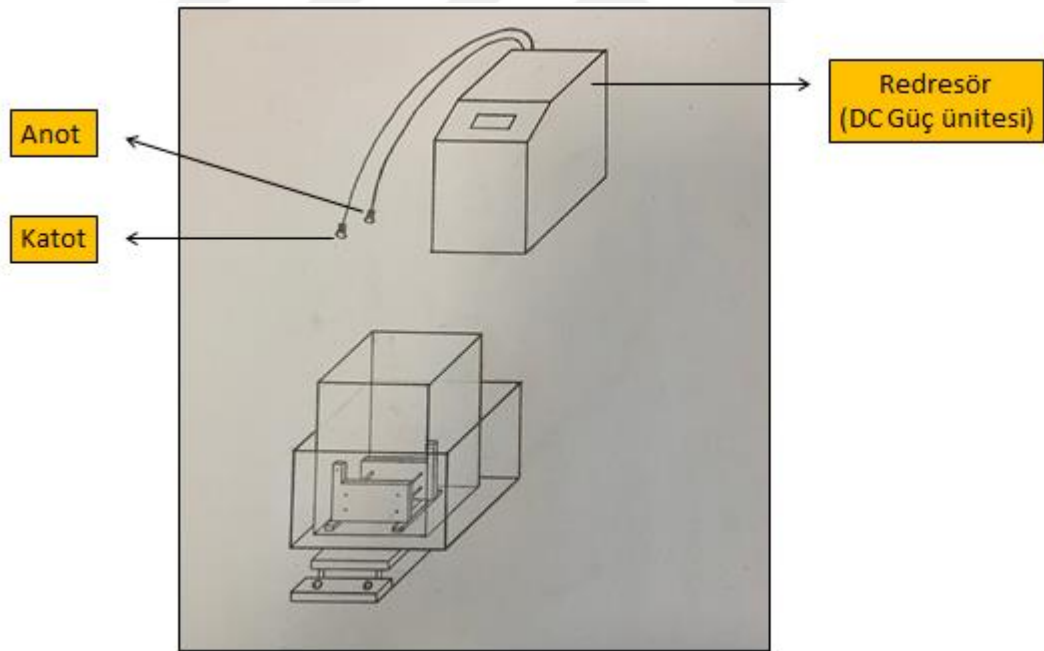
Şekil 3.8. 5 cm aralıkla birleştirilmiş elektrotlara (Anot ve Katot) ait teknik çizim



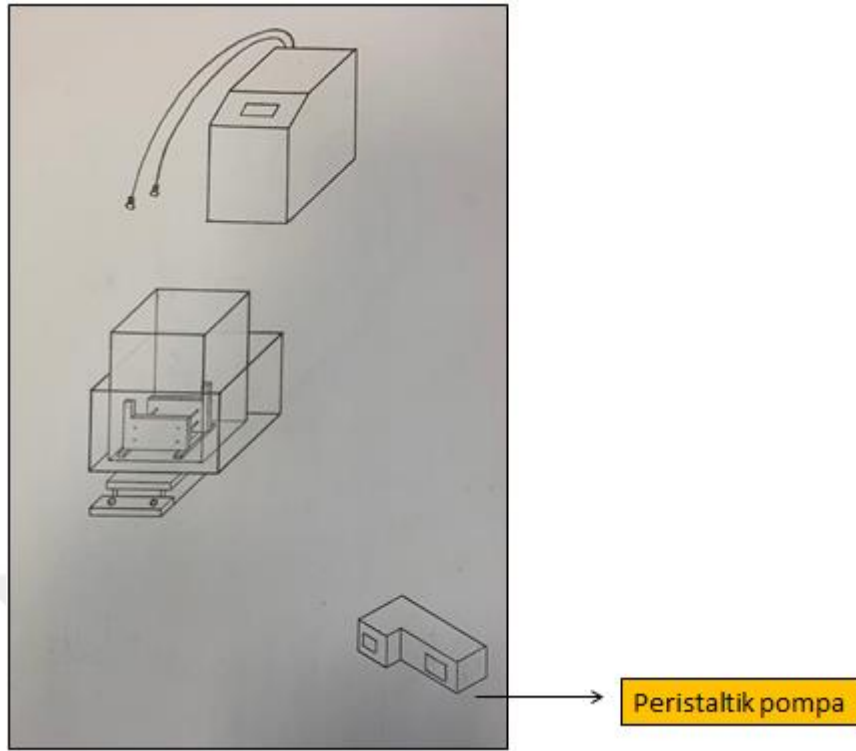
Şekil 3.9. EK reaktörü, soğutucu akışkan ünitesi ve elektrotların bir araya getirilmesine ait çizim (Ölçeksiz)



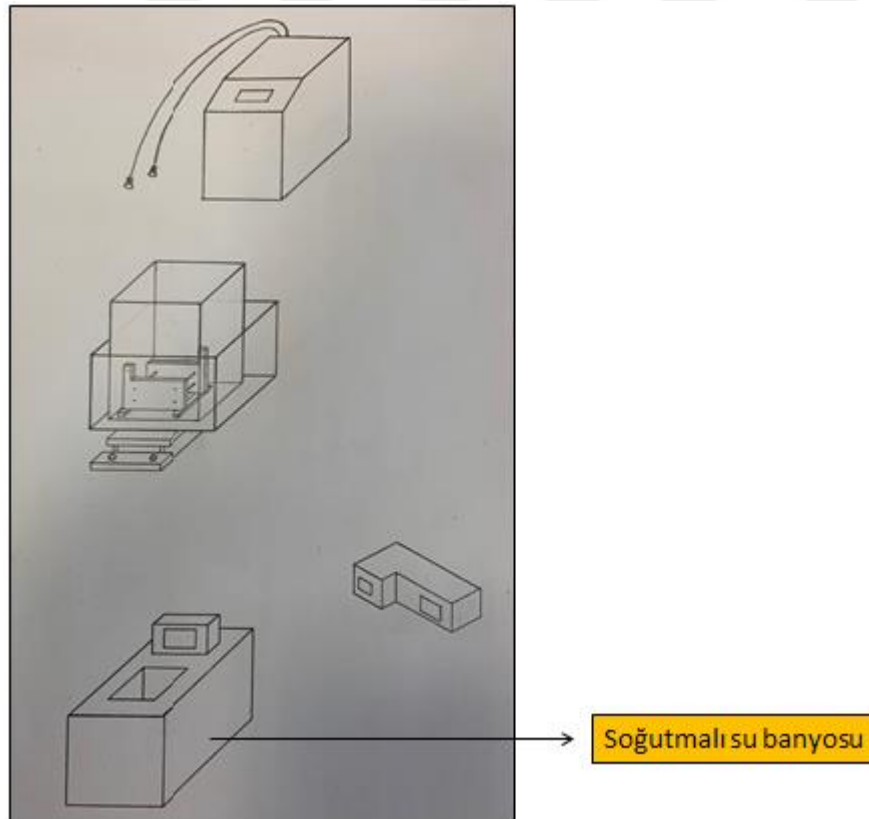
Şekil 3.10. EK sistemine manyetik karıştırıcının entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)



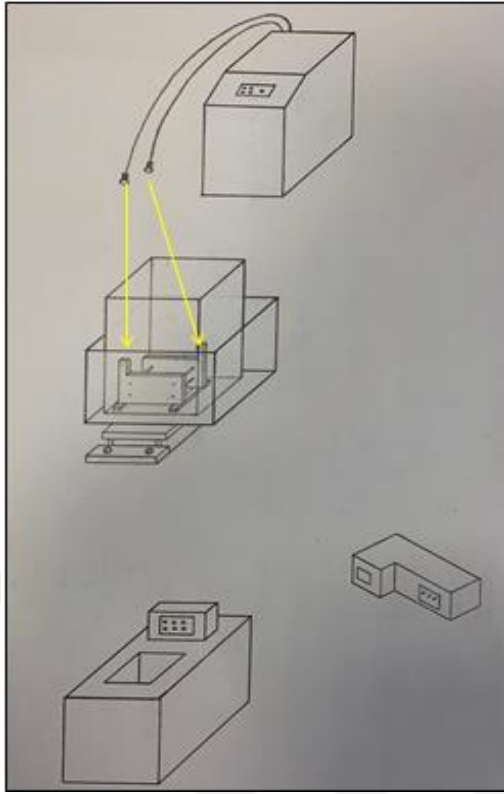
Şekil 3.11. EK sistemine redresörün entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)



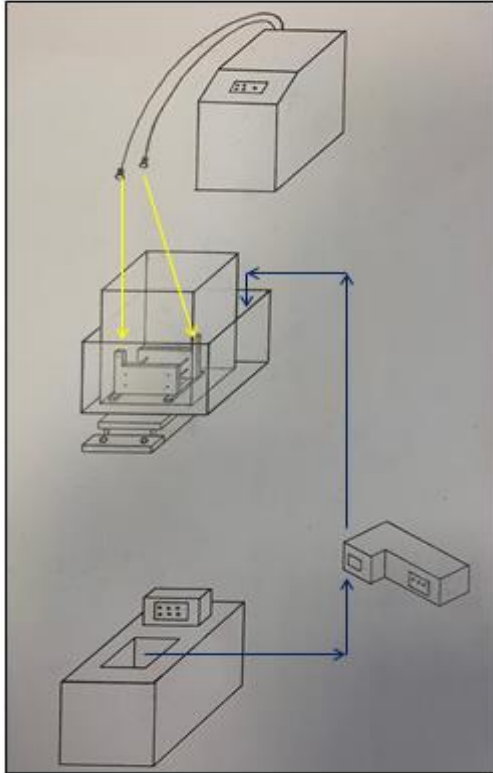
Şekil 3.12. EK sistemine peristaltik pompanın entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)



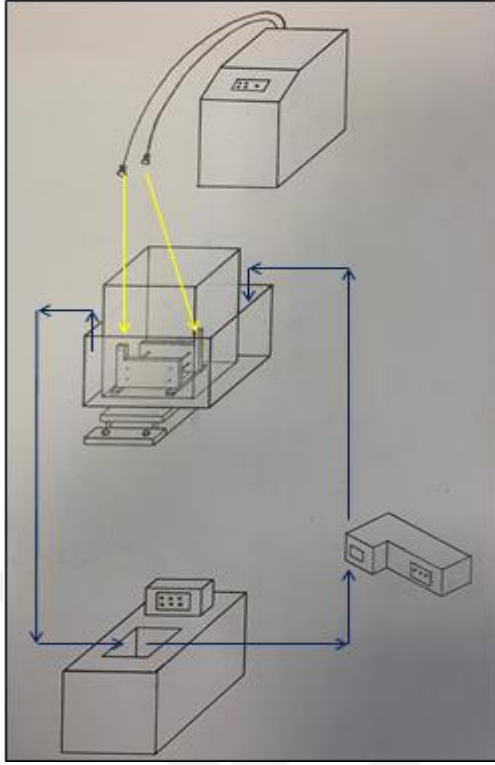
Şekil 3.13. EK sistemine soğutmalı su banyosunun entegrasyonuna ait çizim (Ölçeksiz)



Şekil 3.14. Anot ve katoda elektrotların bağlanmasına ait çizim (Ölçeksiz)



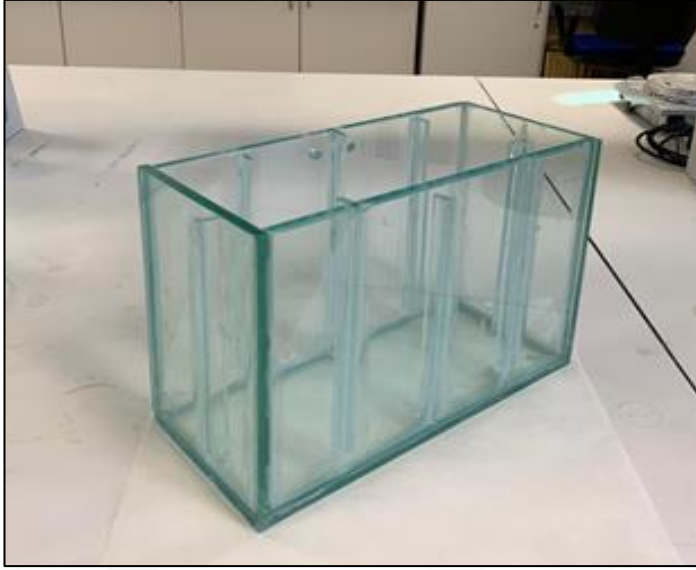
Şekil 3.15. Soğutmalı su banyosunun soğutucu akışkan haznesine bağlanmasına ait çizim (Ölçeksiz)



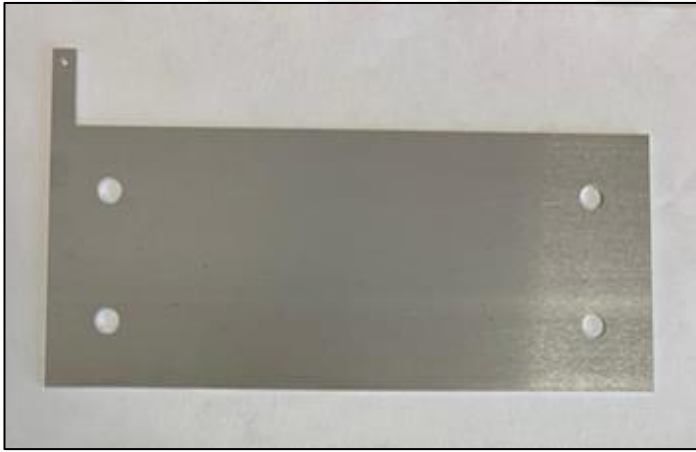
Şekil 3.16. EK sisteminin işleyişine ait çizim (Ölçeksiz)



Şekil 3.17. Elektrokoagülasyon reaktörü haznesi



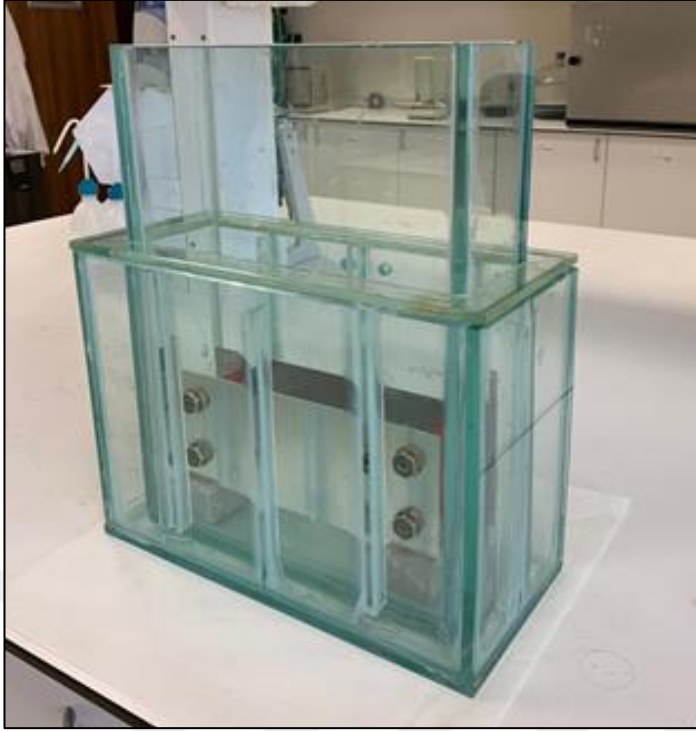
Şekil 3.18. Soğutucu akışkan ünitesi



Şekil 3.19. Elektrot plaka



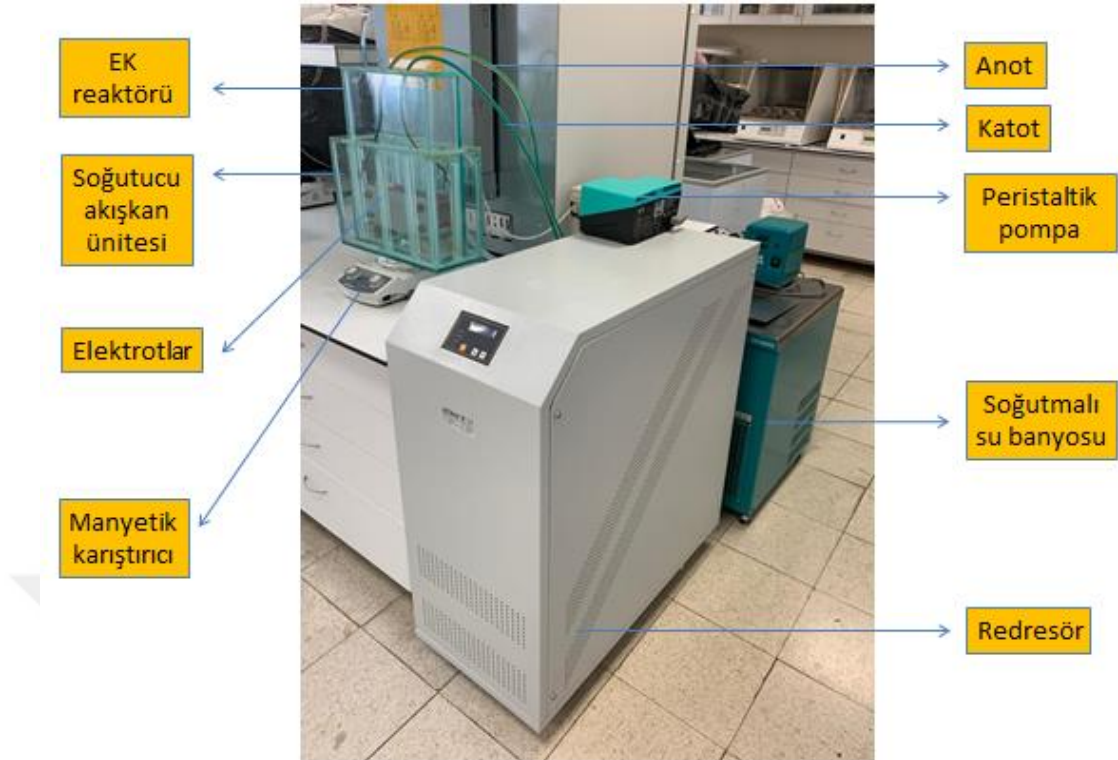
Şekil 3.20. 5 cm aralıkla birleştirilmiş elektrotlar (Anot ve Katot)



Şekil 3.21. EK reaktörü, soğutucu akışkan ünitesi ve elektrotların bir araya getirilmiş görseli



Şekil 3.22. EK sistemine manyetik karıştırıcının entegre edilmiş görseli

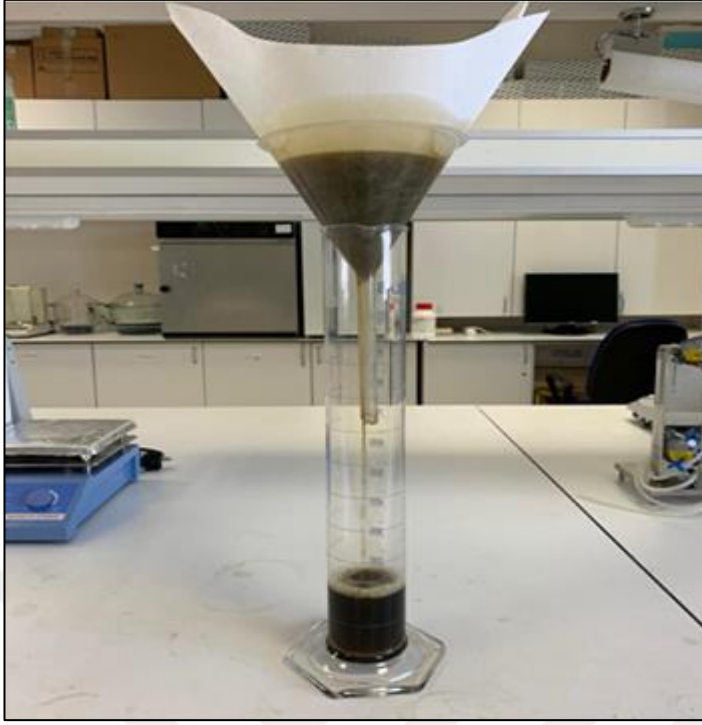


Şekil 3.23. EK sistemi

Elektrokoagülasyon sisteminin tasarımı tamamlandıktan sonra EK prosesinin ikinci aşaması olan elektrot optimizasyonuna geçilmiştir. Elektrot plaka olarak alüminyum (Al) ve 304L kalite paslanmaz çelik (Ç) levhalardan yararlanılmış ve bunların

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

olmak üzere dört farklı kombinasyonu denenmiştir (+:Anot, -:Katot). Bu aşamada elektrot plakaların karşılaştırılması amacıyla Design Expert optimizasyon programı tarafından oluşturulan deneme desenindeki (Çizelge 3.3) orta noktalar (elektrot aralığı: 3 cm, akım yoğunluğu: 60 mA/cm², gerilim: 30 V, süre: 60 dakika) kullanılmıştır. Her denemede 2 adet elektrot kullanılmış ve tüm çalışmalar 3 L sabit ekstrakt hacminde gerçekleştirilmiştir. Elektrotlar seçilen aralıkta ve kısa devre oluşturmayacak şekilde plastik vida ve ayırıcılarla karşılıklı konumlandırılmıştır. Ayrıca bir önceki denemelerde kullanılan elektrotlar kullanılmamış olup denemeler her seferinde yeni elektrotlarla yürütülmüştür. Ekstraksiyon aşamasında elde edilen stevia ekstraktları kaba filtre kağıdından süzülerek elektrokoagülasyon işlemine tabi tutulmuş, flok oluşumu ve koagülasyon için bekletilmiş ve ardından tekrar kaba filtre kağıdından süzülerek sıvı kısım tortudan ayrılmıştır (Şekil 3.24-Şekil 3.27).



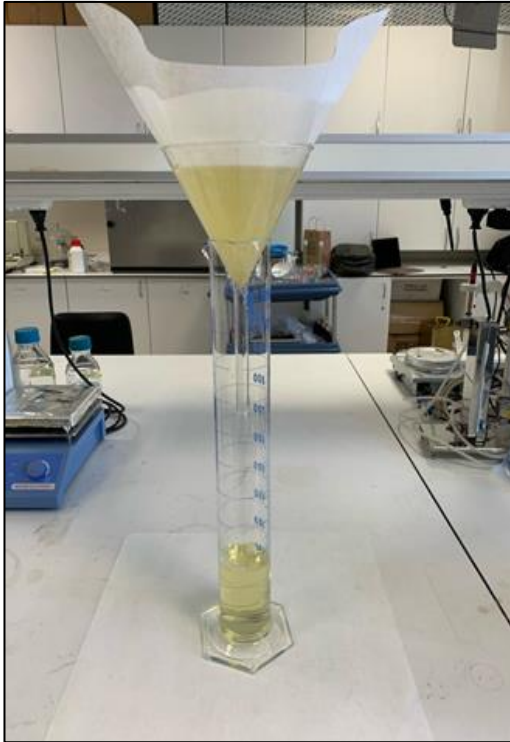
Şekil 3.24. Stevia ekstraktının kaba filtre kağıdından süzülmesi



Şekil 3.25. Stevia ekstraktının elektrokoagülasyon işlemine tabii tutulması



Şekil 3.26. Elektrokoagülasyon işleminden sonra koagülasyon



Şekil 3.27. Elektrokoagülasyon uygulanmış örneğin kaba filtre kağıdından süzülmesi

EK işleminden sonra elde edilen örnekler; TKM, TSG (reb A + steviosit + reb C), TFM, TMM, ağır metal analizi, renk (L, a, b) analizi ve istatistiksel analizler yapılarak karşılaştırılmıştır. Optimum elektrot grubunun seçiminde TSG içeriği yüksek; TFM, TMM, ağır metal içeriği düşük ve renksiz örneği veren grup dikkate alınmıştır.

Elektrot optimizasyonunun tamamlanmasının ardından EK prosesinin üçüncü aşaması olan elektrokoagülasyon parametrelerinin optimizasyonuna geçilmiştir. Elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim ve işlem süresi EK parametreleri olarak seçilmiştir. Bu

aşamanın optimizasyonu için Box-Behnken Cevap Yüzey Metodu kullanılmıştır (Design Expert). EK parametreleri için belirlenen minimum ve maksimum noktalar Çizelge 3.2’de verilmiştir. Minimum ve maksimum noktalar belirlenirken literatürdeki bazı çalışmalardan (Jumpatong vd. 2006; Pribadi 2009; García-García vd. 2011; Kouar vd. 2019) yararlanılmıştır.

Çizelge 3.2. EK parametrelerinin minimum ve maksimum değerleri

Elektrot aralığı (cm)	1	5
Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	20	100
Gerilim (V)	20	40
Süre (dk)	30	90

Box-Behnken Cevap Yüzey Metoduna göre program tarafından oluşturulan deneme deseni (Çizelge 3.3) bir önceki aşamada belirlenmiş olan optimum elektrotlar kullanılarak stevia ekstraktına uygulanmıştır.

Çizelge 3.3. Box-Behnken cevap yüzey metoduna göre oluşturulan deneme deseni

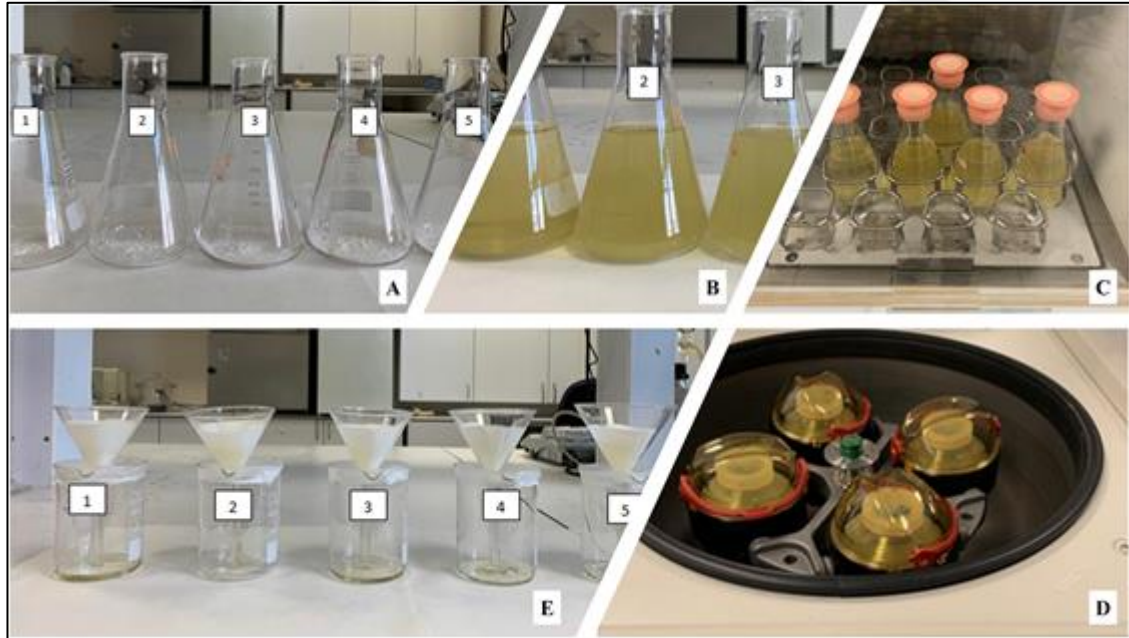
Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)
1	5	60	40	60
2	3	100	30	30
3	1	20	30	60
4	3	60	30	60
5	3	60	20	90
6	3	60	40	30
7	3	20	30	90
8	1	60	40	60
9	3	60	30	60
10	5	60	30	90
11	3	60	20	30
12	3	20	20	60
13	1	60	20	60
14	1	60	30	90
15	3	60	40	90
16	5	100	30	60
17	3	100	30	90
18	5	60	30	30
19	3	100	40	60
20	3	20	30	30
21	5	20	30	60
22	3	20	40	60
23	5	60	20	60
24	1	60	30	30
25	3	60	30	60
26	1	100	30	60
27	3	100	20	60

Deneme deseni uygulamasına göre elde edilen örnekler TKM, TSG, TFM, TMM, Bx°, bulanıklık, transmittans, pH, TA, renk (L, a, b) analizleri ile istatistiksel analizler yapılarak karşılaştırılmıştır. TSG konsantrasyonunun maksimum olduğu noktadaki elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim ve süre için optimum değerler belirlenerek elektrokoagülasyon aşamasının optimizasyonu tamamlanmıştır. Elektrokoagülasyon prosesinin optimum koşulları kullanılarak bir sonraki aşama olan adsorpsiyon prosesinde kullanılmak üzere yığın stevia ekstraktı üretilmiştir.

3.2.3. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon aşamasında PVPP (Laffort, Fransa) ve PAD1200 (Purolite, İngiltere) olmak üzere iki tip adsorbentten yararlanılmıştır. PVPP adsorbenti belirlenmiş dozlarda kullanılırken; PAD1200 adsorbenti kolon dolgusu olarak kullanılmıştır. EK optimum + PVPP uygulamasının optimum noktasından alınan örnek PAD1200 adsorbenti ile doldurulmuş kolondan geçirilerek işlem tamamlanmıştır.

PVPP adsorbentinin uygulama dozu Kulcan (2016) tarafından yapılan çalışmaya göre modifiye edilerek seçilmiştir. Adsorpsiyon uygulamasında PVPP adsorbenti % 0,02, % 0,08, % 0,14, % 0,20 ve % 0,25 olmak üzere beş farklı dozda tartılıp üzerlerine sabit hacimlerde stevia ekstraktı (EK optimum örneği) ilave edilmiştir. Ardından çalkalamak amacıyla karıştırılmalı inkübatöre (Sartorius stedim, Almanya) alınarak oda sıcaklığında 20 dk boyunca 250 rpm karıştırma hızında karıştırılmıştır. Sonrasında daha etkili bir süzme işlemi yapabilmek için 5 dk boyunca 3000 rpm’de santrifüj (VWR, Mega star 3.0R, Almanya) edilmiştir. Son olarak da Whatman 42 filtre kağıdından (Whatman, İngiltere) süzölmüştür (Şekil 3.28).

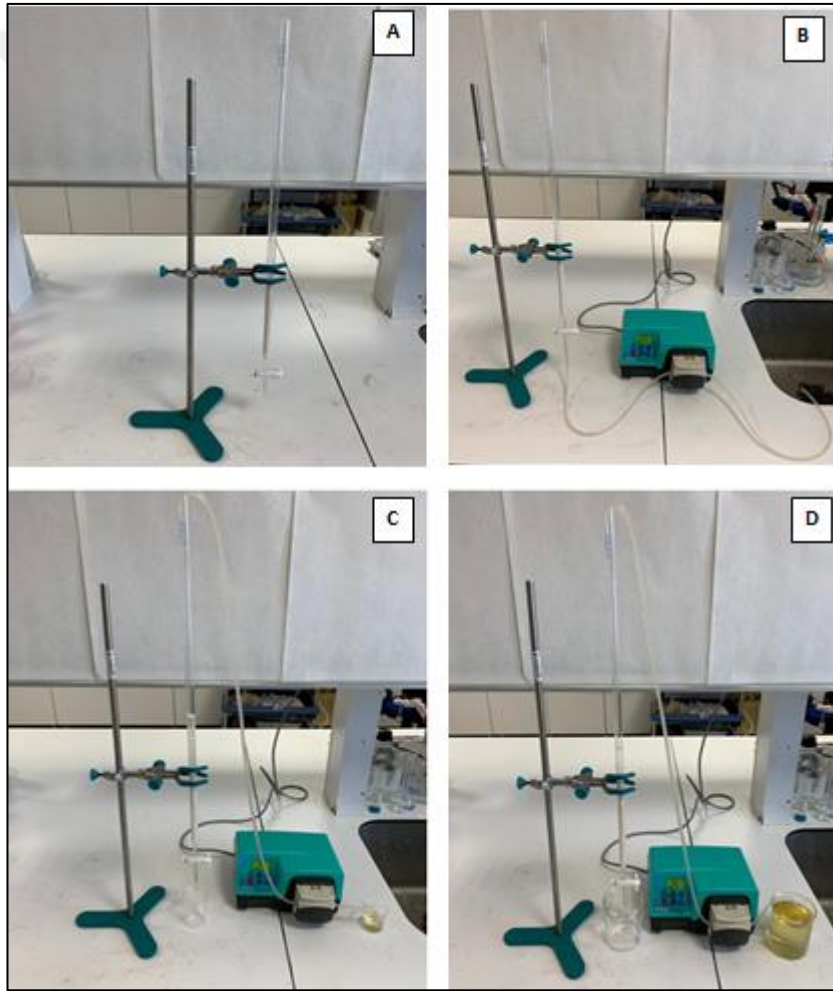


Şekil 3.28. A) Farklı dozlarda pvpp tartılmış erlenler (1: % 0,02, 2: % 0,08, 3: % 0,14, 4: % 0,20, 5: % 0,25); B) PVPP üzerine stevia ekstraktı ilavesi; C) İnkübatörde karıştırma; D) Santrifüjleme; E) Süzme

Elde edilen örnekler TKM, TSG, TFM, TMM, Bx°, bulanıklık, transmittans, pH,

TA, renk (L, a, b) analizleri ile istatistiksel analizler yapılarak karşılaştırılmıştır. Optimum PVPP dozajı belirlenerek, EK optimum + PVPP optimum koşullarında yığın stevia ekstraktı üretimi yapıp PAD1200 uygulamasında kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir.

PAD1200 uygulaması için öncelikle PVPP uygulamasındaki yöntem (farklı dozlar) uygulanmış; ancak renk açma üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu nedenle PAD1200 adsorbentinin kolon dolgusu olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Bunun için 30 g ($\cong$ 60 ml) PAD1200 tartılarak alt kısmına pamuk sıkıştırılmış bürete doldurulmuştur. Kolon dolgusunun şartlandırılması için 100 ml saf su geçirilmiştir. Suyun uzaklaştırılması amacıyla yaklaşık 10 dk vakum uygulanmıştır. Son olarak 50 ml stevia ekstraktı peristaltik pompa yardımıyla büretten geçirilerek kalan su uzaklaştırılmış ve şartlandırma işlemi tamamlanmıştır. Şartlandırma işleminden sonra sistemden tekrar stevia ekstraktı geçirilerek örnekler elde edilmiştir (Şekil 3.29).



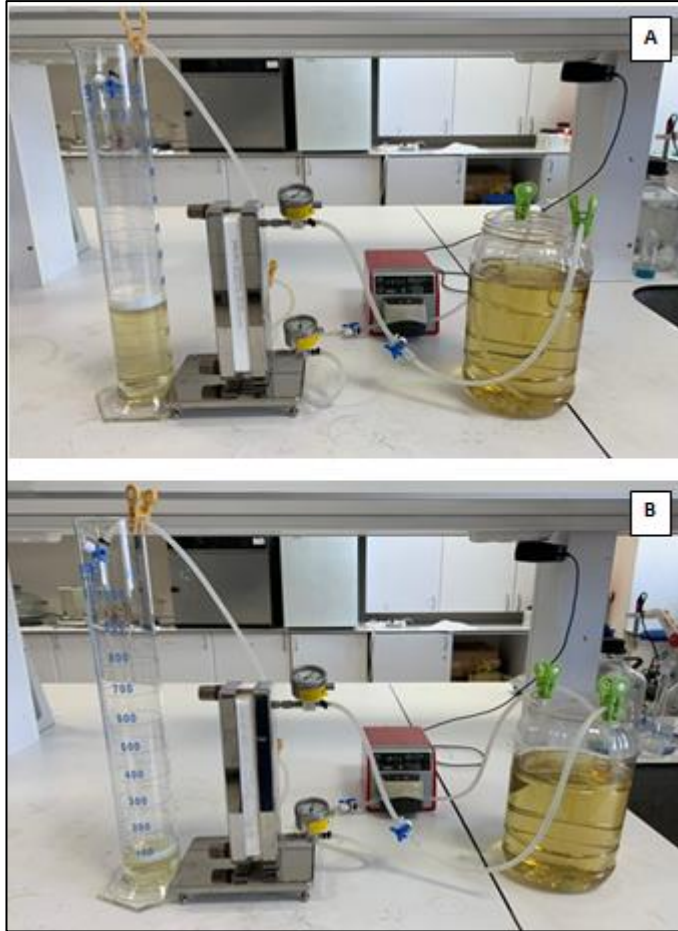
Şekil 3.29. A) PAD1200 dolgulu sistem; B) Suyun vakumla uzaklaştırılması; C) Sistemin örnekle şartlandırılması; D) Sistemden örnek alınması

PAD1200 işlemi sonucunda alınan örneklere PVPP işleminde yapılan tüm analizler uygulanmıştır. Analizler sonunda PAD1200 adsorbentinin steviol glikozitleri de tuttuğu görülmüş bu nedenle PAD1200 uygulamasından vazgeçilmiştir. Bir sonraki

aşama olan membran filtrasyon prosesinde kullanılmak üzere EK optimum + PVPP optimum koşullarında yığın stevia ekstraktı üretimi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Membran filtrasyon

Ekstraktın saflaştırılmasındaki son basamak olan membran filtrasyon prosesi için daha önce tamamlanmış olan “Kademeli Membran Filtrasyon Uygulamalarının Stevia Ekstraktlarının Saflaştırılmasında Kullanılması” adlı proje sonuçları (TÜBİTAK-1002, proje no: 119O016) küçük bir modifikasyon yapılarak kullanılmıştır. Bu proses ultrafiltrasyon (UF) ve nanofiltrasyon (NF) olmak üzere iki aşama halinde uygulanmıştır. Membran filtrasyon sisteminde (Sartorius stedim, Almanya) ultrafiltrasyon için ayırma sınırı (MWCO) 30 kDa olan polietersülfon (PESU) membran filtreden (Sartorius, Almanya); nanofiltrasyon için ise ayırma sınırı 5 kDa olan Hydrosart membran filtreden (Sartorius, Almanya) yararlanılmıştır. Uygulamalar % 90 permeat alınacak şekilde 2 bar besleme basıncında gerçekleştirilmiştir. UF uygulamasının permeat (P) akısı NF uygulamasına beslenmiş; NF uygulamasında ise retentat (R) akısı saflaştırılmış stevia ekstraktı olarak elde edilmiştir (Şekil 3.30).



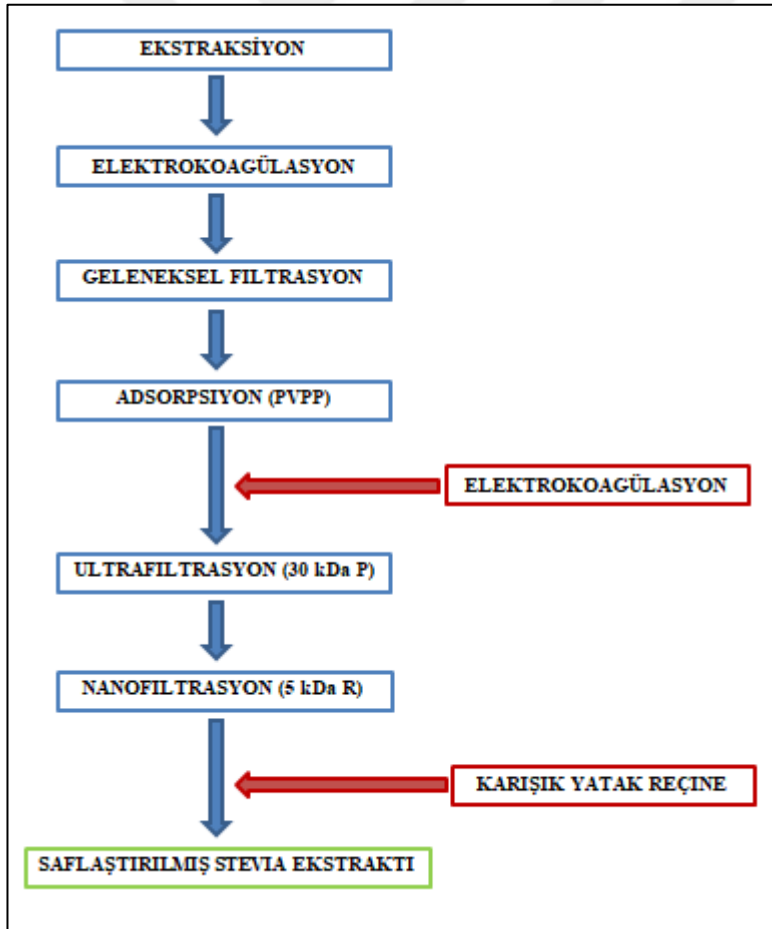
Şekil 3.30. A) Ultrafiltrasyon (30 kDa); B) Nanofiltrasyon (5 kDa)

Membran filtrasyon prosesi sonucunda elde edilen örnekler PVPP uygulamasındaki tüm analizler yapılmıştır. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde steviol glikozitler açısından istenilen saflık oranına (% 90) ulaşamadığı; ancak yaklaşıldığı

görülmüştür. Bu nedenle saflık oranını artırmaya yönelik B Planı olarak düşünülen ek uygulamalar yapılmıştır.

3.2.5. Steviol glikozitlerin saflık oranını artırmaya yönelik B planı kapsamındaki ilave çalışmalar

Stevia bitkisi ekstraktındaki steviol glikozitlerin saflık oranını istenilen düzeye çıkarabilmek için mineral maddeleri ve renk maddelerini uzaklaştırabilmek amacıyla var olan prosese (elektrokoagülasyon, PVPP uygulaması ve membran filtrasyon) iki proses (ikinci kademe elektrokoagülasyon ve karışık yatak reçine) daha ilave edilmiştir (Şekil 3.31). İkinci EK işleminde, önceki elektrokoagülasyon uygulamasından elde edilen optimum parametreler (elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim, süre) önceki uygulamadan [Al(+)/Ç(-)] farklı olarak anot ve katot olarak her iki kutupta da alüminyum [Al(+)/Al(-)] elektrotlar kullanılarak uygulanmıştır. Karışık yatak reçine (mixed-bed resin, [Purolite, MB-400, İngiltere]) uygulaması ise PAD1200 uygulamasında açıklanmış olan prosedüre (Bkz. 3. MATERİYAL VE METOT, 3.2.3. Adsorpsiyon) göre gerçekleştirilmiştir. Bu prosesler sonucunda elde edilen örnekler TKM, TSG, TMM, renk (L, a, b) analizleri ile istatistiksel analizler yapılarak karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.31. Saflaştırma çalışmasının proses akış şeması

3.2.6. Analiz metotları

3.2.6.1. Toplam kuru madde tayini

Stevia ekstraktı örneklerinde toplam kuru madde tayini; önceden kurutularak sabit tartıma gelen ve hassas terazi (Kern, T7037, Almanya) ile tartılarak darası alınan petriye örneklerden 5 ml tartılıp 65 °C'ye ayarlanmış etüvde (Memmert, Almanya) sabit tartıma gelene kadar kurutulması suretiyle yapılmıştır (Cemeroğlu 2007). Sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Toplam kuru madde} = ((M_2 - M_1) / M) \times 100 \quad (3.2)$$

M: Tartılan örnek miktarı (g)

M₁: Sabit tartıma gelmiş petrinin miktarı (g)

M₂: Üzerine örnek tartılmış petrinin kuruma sonrası miktarı (g)

3.2.6.2. Suda çözüner kuru madde tayini

Suda çözüner kuru madde tayini dijital refraktometre (Atago, Japonya) kullanılarak yapılmış olup sıvı haldeki örneklerden ölçüm haznesine birkaç damla damlatılarak okutulması yoluyla gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu 2007).

3.2.6.3. Toplam mineral madde tayini

Kül fırınına (Elektro-Mag) bırakılarak sabit tartıma gelince darası alınmış krozelere sıvı örneklerden 25 ml tartılıp tekrar kül fırınına konularak 550 °C'de 8-16 saat yakılması suretiyle gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu 2007). Sonuçlar aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Toplam mineral madde} = ((M_2 - M_1) / M) \times 100 \quad (3.3)$$

M: Tartılan örnek miktarı (g)

M₁: Sabit tartıma gelmiş krozenin miktarı (g)

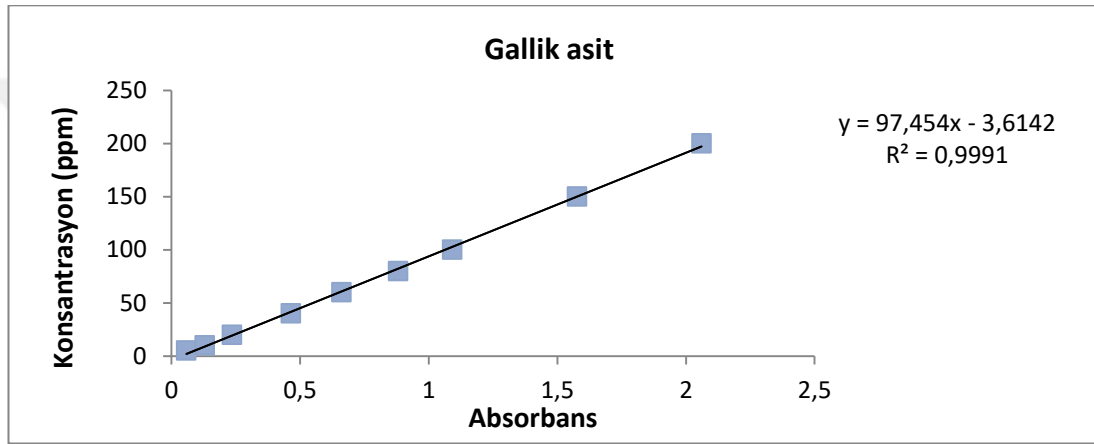
M₂: Üzerine örnek tartılmış krozenin yakılma sonrası miktarı (g)

3.2.6.4. Ağır metal tayini

Stevia ekstraktı örneklerinde mineral madde (Al, As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, Mo, Ni, Pb, Sb, Ti, V, Zr) migrasyonu olup olmadığının ve ekstraktın safsızlık düzeyinin kontrolü amacıyla Thermo Scientific iCAP PRO ICP-OES sistemi kullanılarak ağır metal tayini yapılmıştır. Sistemde Teledyne CETAC ASX-280 otomatik örnek alma cihazı ve Scott Püskürtme Odası kullanılmıştır. Nebulizatör gaz akışı 0,91 L/dk, yardımcı gaz akışı 1,19 L/dk ve plazma gaz akışı da 18 L/dk olarak ayarlanmıştır (Kılıç vd. 2023).

3.2.6.5. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Spanos ve Wrolstad (1992) tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Ön denemeleri yapılarak uygun oranda seyreltilen örneklerden 0,5 ml alınıp üzerlerine 2,5 ml 0,2 N Folin-Ciocalteu (Merck, Almanya) çözeltisi ve 2 ml doymuş sodyum karbonat (Merck, Almanya) çözeltisi (75 g/L) ilave edilmiştir. Tüpler vorteksle (Heidolph, Reax top, Almanya) karıştırılarak 5 dakika boyunca 50 °C'ye ayarlanmış su banyosunda (Memmert, Almanya) bekletilmiştir. Süre sonunda su banyosundan alınan örnekler 10 dakika da karanlık bir ortamda tutulmuştur. Daha sonra spektrofotometrede (Thermo Scientific, Evolution 201, UV-Visible Spectrophotometer, ABD) 765 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunup, gallik asit (Fluka) kullanılarak hazırlanmış standart kurveden (Şekil 3.32) yararlanılarak toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 3.32. Gallik asit standartı kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi

3.2.6.6. pH tayini

Sıvı örneklerden 20 ml alınmış ve pH metrenin (Ohaus, ST3100, ABD) cam elektrodu örneğe daldırılarak saptanmıştır (Cemeroğlu 2007).

3.2.6.7. Toplam asitlik tayini

Sıvı örneklerden 20 ml alınıp pH 8,1 oluncaya kadar 0,1 N NaOH (Merck, Almanya) ile titre edilmek suretiyle toplam asitlik belirlenmiştir. Toplam asit miktarı aşağıdaki formül kullanılarak susuz sitrik asit cinsinden (% SSA) hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

$$\text{Toplam asitlik (\%)} = (V \times F \times 100 / M) \times E \quad (3.4)$$

V: Harcanan 0,1 N NaOH miktarı (ml)

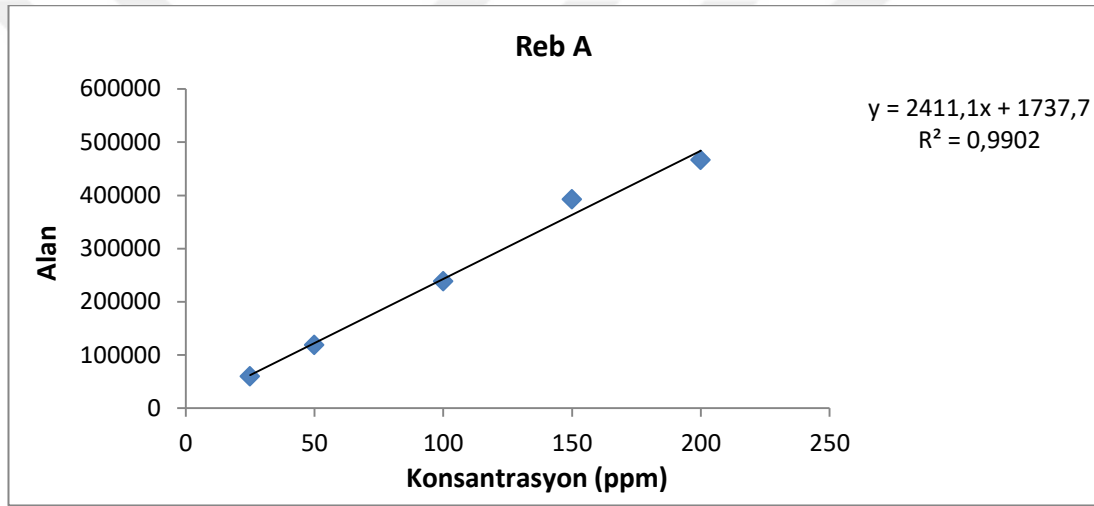
F: 1

E: 1 ml 0,1 N NaOH'in eş değer asit miktarı; (SSA: 0,006404 g)

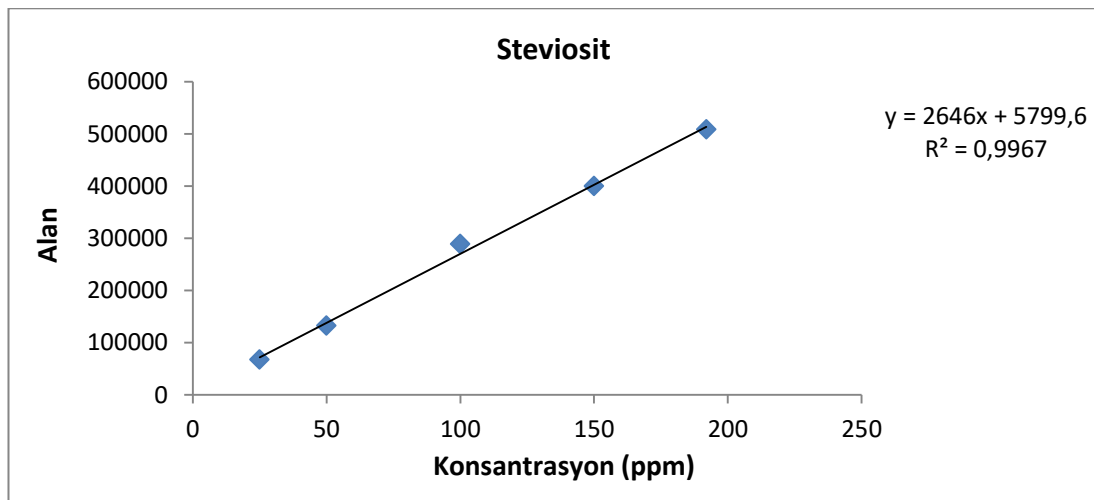
M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı (g veya ml)

3.2.6.8. Steviol glikozitlerin tayini

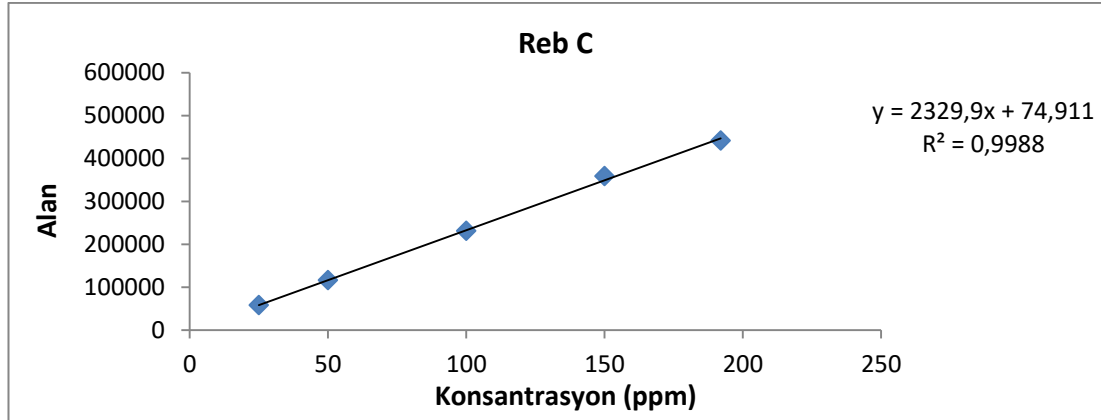
Sıvı örneklerdeki rebaudiosit A, steviosit ve rebaudiosit C miktarları HPLC ile harici standart metodu kullanılarak tayin edilmiştir (Anonim 4). Analizde Shimadzu marka HPLC cihazı (LC 20 AD), ters faz-C18 kolon (5 µm, 250-4,6 mm, Purospher, Merck, Almanya) ve fotodiyot dizisi (photodiode array-PDA) dedektör sistemi ile birlikte kullanılmıştır. Kromatogramlar 210 nm dalga boyunda alınmıştır. Hareketli faz olarak fosfat tamponu (10 mmol/L sodyum fosfat dibazik [Sigma-Aldrich, ABD], pH 2,6) ve asetonitril (Supelco, Merck, Almanya) karışımı (68:32) kullanılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 40 °C ve hareketli faz akış hızı da 0,8 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Örnekler 0,45 µm'lik filtreden (Chromafil Pet-45/15 MS, Almanya) süzildükten sonra enjeksiyon hacmi 10 µL olacak şekilde enjekte edilmiştir. Rebaudiosit A, steviosit ve rebaudiosit C bileşenlerinin (ChromaDex, ABD) farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltileri hazırlanarak standart kurveleri (Şekil 3.33, Şekil 3.34, Şekil 3.35) oluşturulmuş ve miktar tayini için kullanılmıştır.



Şekil 3.33. Reb A standartı kullanılarak hazırlanmış kurve



Şekil 3.34. Steviosit standartı kullanılarak hazırlanmış kurve



Şekil 3.35. Reb C standartı kullanılarak hazırlanmış kurve

3.2.6.9. Renk tayini

Örneklerin renk (L, a, b) değerleri UltraScan-VIS (Hunterlab, ABD) renk ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Sıvı örnekler renk cihazının özel haznesine doldurulmuş ve okumalar gerçekleştirilmiştir (Kulcan 2016).

3.2.6.10. Bulanıklık tayini

Örneklerin bulanıklık düzeyi türbidimetre (Hach 2100N, ABD) kullanılarak NTU (Nephelometric Turbidity Unit) birimi cinsinden belirlenmiştir. Örnekler türbidimetrenin özel örnek tüpüne konularak cihaz bölmesine yerleştirilmiş ve sonuçlar alınmıştır (Tajchakavit vd. 2001).

3.2.6.11. Işık geçirgenliği tayini

Örneklerin ışık geçirgenliği (transmittans-%T) değerleri spektrofotometrede (Thermo Scientific, Evolution 201, UV-Visible Spectrophotometer, ABD) 660 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak belirlenmiştir (Krop ve Pilnik 1974).

3.2.6.12. İstatistiksel analizler

Çalışma kapsamındaki tüm uygulamalar iki tekerrürlü gerçekleştirilmiş olup analizlerde her tekerrürden iki paralel olacak şekilde yapılmıştır. Steviol glikozitlerin saflaştırılmasındaki ilk aşama olan elektrokoagülasyon prosesinin parametrelerini optimize etmek ve de bağımsız değişkenler ile bu bağımsız değişkenlerin birbiriyle olan interaksiyonlarının etkilerini belirlemek amacıyla Box-Behnken Cevap Yüzey Metodu (Design-Expert, version 10) kullanılmıştır.

Çalışmanın diğer aşamalarından elde edilen verilerin değerlendirilmesinde ise SPSS (IBM SPSS Statistics, Version 25.0) istatistik programı kullanılmıştır. Verilere öncelikle normal dağılım ve varyansların homojenliği testleri uygulanmış; bu testler sonucunda ulaşılan verilere göre ANOVA veya Kruskal-Wallis H testlerinden ve de Bağımsız Örneklem T Testi ya da Mann-Whitney U testlerinden yararlanılmıştır. Çoklu karşılaştırma için ise Tukey HSD/LSD (varyansların eşit olması durumunda) ve Tamhane's T2 (varyansların eşit olmaması durumunda) testleri uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Stevia Ekstraktına Ait Analiz Sonuçları

Materyal olarak seçilen kuru stevia yapraklarından elde edilen ve herhangi bir işlem uygulanmamış stevia ekstraktının analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. İşlenmemiş (ham) stevia ekstraktına ait analiz sonuçları

Analizler	Ham stevia ekstraktı
TKM (g/100 g)	2,10±0,155
Reb A (g/100 g)	0,390±0,0455
Steviosit (g/100 g)	0,406±0,0141
Reb C (g/100 g)	0,096±0,0175
TSG (Reb A+Steviosit+Reb C) (g/100 g)	0,892±0,0500
TSG (Reb A+Steviosit+Reb C) (g/100 g TKM)	42,70±5,365
TFM (g GAE/100 g TKM)	7,87±0,648
TMM (g/100 g TKM)	12,02±1,574
°Bx (g/100 g)	2,45±0,173
pH	5,97±0,081
TA (Susuz Sitrik Asit) (g/100 g TKM)	2,522±0,5811
Bulanıklık (NTU)	307,75±13,647
Transmittans (% T)	2,315±0,0866
L	0,08±0,026
a	-0,01±0,059
b	0,03±0,022

Ham stevia ekstraktından elde edilen bu sonuçlar bir sonraki uygulama olan elektrokoagülasyon parametrelerinin optimizasyonu aşamasında ulaşılan sonuçlar için kontrol olarak kullanılmıştır. İşlenmemiş stevia ekstraktı sadece stevia yaprağı ve saf su kullanılarak elde edildiği için steviol glikozitlerin dağılımı materyal olarak kullanılan stevia yaprağının steviol glikozit dağılımını yansıtmaktadır. Elde edilen ekstraktın kuru madde bazında yaklaşık % 8’ini fenolik bileşikler oluştururken toplam mineral madde oranının ise yaklaşık % 12 olduğu dikkat çekmektedir.

4.2. Elektrokoagülasyon Prosesine Ait Analiz Sonuçları

4.2.1. Elektrot optimizasyonuna ait analiz sonuçları

Al(+)/Al(-), Ç(+)/Ç(-), Al(+)/Ç(-) ve Al(-)/Ç(+) olmak üzere dört farklı elektrot grubunun stevia ekstraktında bulunan bileşenler üzerinde meydana getirdiği değişim Çizelge 4.2, Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5, Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de verilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları değerlendirilerek en uygun elektrot grubu seçilmiştir.

Çizelge 4.2. Elektrot optimizasyonu TKM sonuçları

Örnek Adı	TKM (g/100 g)
Kontrol (Ham stevia ekstraktı)	2,18 ^a ±0,045
Al (+)/Al (-)	1,72 ^{ab} ±0,297
Ç (+)/Ç (-)	1,53 ^b ±0,090
Al (+)/Ç (-)	1,59 ^b ±0,075
Al (-)/Ç (+)	1,58 ^b ±0,139

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Farklı elektrot gruplarının stevia ekstraktının TKM'si üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; kontrol grubu ile Ç(+)/Ç(-), Al(+)/Ç(-) ve Al(-)/Ç(+) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda tüm örneklerin TKM içeriklerinde azalma olduğu görülmüştür. Dolayısıyla toplam kuru maddeyi oluşturan safsızlık kaynağı bileşenlerin önemli bir kısmının bu uygulama ile uzaklaştığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.3. Elektrot optimizasyonu TSG sonuçları

Örnek Adı	TSG (g/100 g TKM)
Kontrol (Ham stevia ekstraktı)	46,22 ^a ±0,853
Al (+)/Al (-)	52,24 ^{ab} ±3,078
Ç (+)/Ç (-)	50,28 ^{ab} ±3,640
Al (+)/Ç (-)	55,34 ^b ±3,004
Al (-)/Ç (+)	49,53 ^{ab} ±3,649

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Farklı elektrot gruplarının stevia ekstraktının TSG varlığı üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli seviyede olduğu görülmüştür (p<0,05). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına bakıldığında; kontrol grubu ile Al(+)/Ç(-) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Çizelge 4.3 incelendiğinde elektrokoagülasyon uygulamasının tüm örneklerde TSG konsantrasyonunu artırdığı görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla en fazla artış % 19,7 ile Al(+)/Ç(-) elektrot grubunda gerçekleşirken en az artışın ise % 7,2 ile Al(-)/Ç(+) elektrot grubunda olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.4. Elektrot optimizasyonu TFM sonuçları

Örnek Adı	TFM (g GAE/100 g TKM)
Kontrol (Ham stevia ekstraktı)	7,97 ^a ±0,473
Al (+)/Al (-)	1,17 ^b ±0,082
Ç (+)/Ç (-)	1,11 ^b ±0,074
Al (+)/Ç (-)	1,36 ^b ±0,075
Al (-)/Ç (+)	1,12 ^b ±0,108

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Elektrot gruplarının stevia ekstraktının TFM konsantrasyonu üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; kontrol örnekleri ile Al(+)/Al(-), Ç(+)/Ç(-), Al(+)/Ç(-) ve Al(-)/Ç(+) arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Elektrokoagülasyon uygulamasının tüm örneklerde TFM konsantrasyonunu azalttığı görülmektedir. Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında en fazla azalma % 86,1 ile Ç(+)/Ç(-) elektrot grubunda olurken en az azalma % 82,9 ile Al(+)/Ç(-) elektrot grubunda gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.5. Elektrot optimizasyonu TMM sonuçları

Örnek Adı	TMM (g/100 g TKM)
Kontrol (Ham stevia ekstraktı)	13,09 ^a ±0,272
Al (+)/Al (-)	11,74 ^{ab} ±1,043
Ç (+)/Ç (-)	12,27 ^{ab} ±0,861
Al (+)/Ç (-)	10,92 ^b ±0,724
Al (-)/Ç (+)	12,55 ^{ab} ±1,210

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Stevia ekstraktında TMM varlığı üzerine farklı elektrot gruplarının etkisi istatistiksel olarak incelenmiştir. Kontrol grubuyla Al(+)/Ç(-) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda tüm örneklerin TMM içeriğinde azalma olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna göre en fazla azalma % 16,6 ile Al(+)/Ç(-) elektrot grubunda gerçekleşirken en az azalma % 4,1 ile Al(-)/Ç(+) elektrot grubunda gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.6. Elektrot optimizasyonu renk (L, a, b) sonuçları

Örnek Adı	L	a	b
Kontrol (Ham stevia ekstraktı)	0,10 ^a ±0,014	-0,05 ^a ±0,081	-0,06 ^a ±0,092
Al (+)/Al (-)	78,33 ^{bc} ±10,248	-1,81 ^{ab} ±2,913	52,88 ^b ±12,546
Ç (+)/Ç (-)	72,86 ^b ±2,644	10,98 ^{abc} ±5,092	74,24 ^b ±10,485
Al (+)/Ç (-)	86,01 ^c ±0,973	-3,58 ^b ±0,771	45,71 ^{cb} ±3,323
Al (-)/Ç (+)	58,27 ^b ±6,922	17,35 ^c ±3,862	77,81 ^{ab} ±0,732

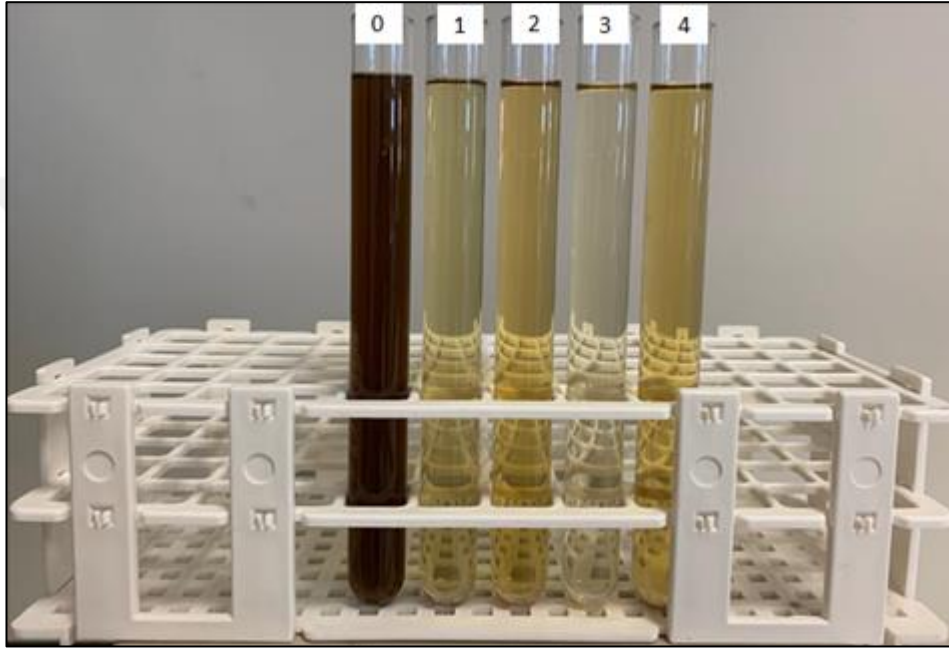
Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Farklı elektrot gruplarının stevia ekstraktının L (açıklık-koyuluk), a (kırmızılık ve yeşillik) ve b (sarılık ve mavilik) değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Örneklerle ait görsel Şekil 4.1’de görülmektedir. Kontrol grubu örneklerinin renk değerleriyle karşılaştırıldığında Al(+)/Al(-), Ç(+)/Ç(-), Al(+)/Ç(-) ve Al(-)/Ç(+) elektrot kombinasyonları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). EK uygulamasının tüm örneklerde L değerini yükselttiği görülmektedir. Elektrot grupları birbiriyle karşılaştırıldığında en yüksek L değerinin 86,01 ile Al(+)/Ç(-) elektrot grubunda, en düşük L değerinin ise 58,27 ile Al(-)/Ç(+) elektrot grubunda olduğu görülmüştür.

Renk değerlerinden a değerinin çoklu karşılaştırma testi sonuçları incelendiğinde kontrol örnekleriyle Al(+)/Ç(-) ve Al(-)/Ç(+) arasındaki farklar istatistiksel olarak

anlamli bulunmuştur ($p<0,05$). Tüm örnekler içinde 0 (sıfır) değerine en yakın a değerine kontrol grubunda, en uzak a değerine ise Al(-)/Ç(+) elektrot gruplarında ulaşılmıştır.

Renk değerlerinden b değerinin çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre ise; kontrol grubuyla Al(+)/Al(-), Ç(+)/Ç(-), Al(+)/Ç(-) ve Al(-)/Ç(+) elektrot grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli seviyede bulunmuştur ($p<0,05$). EK uygulamasının tüm örneklerde b değerini yükselttiği görülmüştür. Elektrotlar kendi arasında kıyaslandığında en düşük b değerine Al(+)/Ç(-) grubunda, en yüksek b değerine ise Al(-)/Ç(+) elektrot grubunda rastlanmıştır.



Şekil 4.1. Elektrot optimizasyonu örneklerine ait görsel [0: Kontrol, 1: Al(+)/Al(-), 2: Ç(+)/Ç(-), 3: Al(+)/Ç(-), 4: Al(-)/Ç(+)]

Çizelge 4.7. Elektrot optimizasyonu-ağır metal varlığı ilişkisi (TE: Tespit Edilemedi)

Örnek Adı	Ağır Metal (mg/kg)													
	Al	Sb	As	Cu	Hg	Fe	Cd	Pb	Mg	Mo	Ni	Ti	V	Zr
Kontrol	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Al (+)/Al (-)	0,039	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	0,004	TE	TE	TE	TE	TE
Ç (+)/Ç (-)	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Al (+)/Ç (-)	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Al (-)/Ç (+)	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE

Çizelge 4.7 incelendiğinde sadece Al(+)/Al(-) elektrot grubunda Al ve Mg metallerinin stevia ekstraktına geçtiği görülmüştür. Diğer elektrot plakalardan herhangi bir ağır metal migrasyonu olmamıştır.

En uygun elektrot grubunun seçilmesinde TSG konsantrasyonunun yüksek

olması, TFM, TMM içeriğinin düşük olması, ağır metal migrasyonunun olmaması ve ekstraktların renksiz (L:100, a:0, b:0) olması koşulları dikkate alınmıştır. Bu koşullara göre elektrot optimizasyonu için analiz sonuçları değerlendirildiğinde amaca en uygun elektrot grubunun Al(+)/Ç(-) olduğu görülmüştür. Al(+)/Ç(-) elektrotlar bir sonraki aşama olan elektrokoagülasyon parametrelerinin optimizasyonu aşamasında “MATERYAL VE METOT” bölümünde “3.2.2. Elektrokoagülasyon” başlığı altında anlatıldığı şekilde kullanılmıştır.

4.2.2. Elektrokoagülasyon parametrelerine ait analiz sonuçları

Cevap yüzey metoduna göre oluşturulmuş deneme deseni koşullarının stevia ekstraktının bileşenleri üzerindeki etkisi Çizelge 4.8, Çizelge 4.9, Çizelge 4.15, Çizelge 4.16, Çizelge 4.17 Çizelge 4.18, Çizelge 4.19, Çizelge 4.20, Çizelge 4.21, Çizelge 4.22 Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.24’te verilmiştir.

Çizelge 4.8. Deneme deseni örneklerine ait TKM sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	TKM (g/100 g)
1	5	60	40	60	1,42±0,233
2	3	100	30	30	1,84±0,244
3	1	20	30	60	1,83±0,117
4	3	60	30	60	1,38±0,172
5	3	60	20	90	1,58±0,038
6	3	60	40	30	1,60±0,031
7	3	20	30	90	1,45±0,072
8	1	60	40	60	1,58±0,011
9	3	60	30	60	1,45±0,034
10	5	60	30	90	1,40±0,184
11	3	60	20	30	1,91±0,168
12	3	20	20	60	1,47±0,083
13	1	60	20	60	1,65±0,106
14	1	60	30	90	1,35±0,111
15	3	60	40	90	1,75±0,050
16	5	100	30	60	1,60±0,033
17	3	100	30	90	1,48±0,078
18	5	60	30	30	1,81±0,123
19	3	100	40	60	1,50±0,132
20	3	20	30	30	1,52±0,111
21	5	20	30	60	1,59±0,035
22	3	20	40	60	1,51±0,081
23	5	60	20	60	1,79±0,103
24	1	60	30	30	1,48±0,109
25	3	60	30	60	1,30±0,101
26	1	100	30	60	1,45±0,110
27	3	100	20	60	1,47±0,094

Ekstraktta bulunan bileşenlerin uygulama sonucundaki değişimlerini kuru madde üzerinden takip edebilmek için tüm örneklerde TKM analizi yapılmıştır.

Çizelge 4.9. Deneme deseni örneklerine ait TSG sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	TSG (g/100 g TKM)
1	5	60	40	60	44,96±0,896
2	3	100	30	30	48,07±6,815
3	1	20	30	60	49,61±0,778
4	3	60	30	60	52,30±6,884
5	3	60	20	90	50,27±7,335
6	3	60	40	30	51,67±5,754
7	3	20	30	90	50,37±10,518
8	1	60	40	60	54,50±0,620
9	3	60	30	60	55,19±6,965
10	5	60	30	90	46,09±1,484
11	3	60	20	30	45,75±7,568
12	3	20	20	60	52,23±5,219
13	1	60	20	60	49,52±0,066
14	1	60	30	90	56,44±0,077
15	3	60	40	90	45,77±0,558
16	5	100	30	60	48,43±0,417
17	3	100	30	90	52,66±1,865
18	5	60	30	30	43,29±0,677
19	3	100	40	60	53,19±4,326
20	3	20	30	30	52,53±2,881
21	5	20	30	60	49,09±0,986
22	3	20	40	60	55,04±0,688
23	5	60	20	60	42,71±2,555
24	1	60	30	30	57,74±0,056
25	3	60	30	60	53,79±4,321
26	1	100	30	60	57,44±1,798
27	3	100	20	60	51,99±2,221

Çizelge 4.9 incelendiğinde en düşük TSG içeriğinin 23. denemede (42,71 g/100 g TKM) olduğu görülürken, en yüksek TSG içeriğinin ise 24. denemede (57,74 g/100 g TKM) olduğu saptanmıştır. Design Expert programı kullanılarak yapılan Box-Behnken istatistiksel analizinde ANOVA tablosu (Çizelge 4.10) oluşturulmuş ve TSG konsantrasyonunun maksimum olduğu noktadaki elektrokoagülasyon parametrelerinin (elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim, süre) alabileceği optimum değerler belirlenmiştir. Ayrıca parametreler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve TSG konsantrasyonuna bağlı matematiksel eşitlik elde edilmiştir.

Çizelge 4.10. Quadratik model için ANOVA tablosu

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	365,33	14	26,10	3,65	0,0151	significant
A-Elektrot aralığı	214,04	1	214,04	29,97	0,0001	
B-Akım yoğunluğu	0,71	1	0,71	0,099	0,7586	
C-Gerilim	13,34	1	13,34	1,87	0,1967	
D-Süre	0,54	1	0,54	0,076	0,7880	
AB	18,03	1	18,03	2,53	0,1380	
AC	1,86	1	1,86	0,26	0,6188	
AD	4,20	1	4,20	0,59	0,4580	
BC	0,65	1	0,65	0,091	0,7684	
BD	11,39	1	11,39	1,59	0,2306	
CD	27,14	1	27,14	3,80	0,0750	
A ²	28,05	1	28,05	3,93	0,0709	
B ²	0,52	1	0,52	0,072	0,7928	
C ²	35,25	1	35,25	4,94	0,0463	
D ²	25,52	1	25,52	3,57	0,0831	
Residual	85,70	12	7,14			
Lack of Fit	81,52	10	8,15	3,90	0,2211	not significant
Pure Error	4,18	2	2,09			
Cor Total	451,03	26				

Anova tablosu incelendiğinde, seçilen quadratik modelin istatistiksel olarak önemli olduğu ($p < 0,05$), modelin uyum eksikliğini belirten “Lack of Fit” değerinin ise önemsiz ($p > 0,05$) olduğu görülmektedir. Dolayısıyla elde edilen matematiksel modelin çalışma açısından uygun olduğu anlaşılmaktadır.

Elektrot aralığı, akım yoğunluğu, gerilim ve süre parametreleri ile bu parametrelerin interaksyonlarına bakıldığında sadece elektrot aralığının istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Elektrotlar arası mesafenin azalmasına bağlı olarak TSG konsantrasyonu artmıştır (Çizelge 4.11). Elektrot aralığı için çoklu karşılaştırma testi yapılmış; 1 cm - 5 cm ve 3 cm - 5 cm arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Akım yoğunluğu bakımından en yüksek TSG konsantrasyonuna 100 mA/cm² akım yoğunluğu değerinde ulaşılmıştır. Gerilim ve süre parametrelerine bakıldığında ise orta noktalarda (30 V, 60 dk) en yüksek TSG içeriğine ulaşıldığı görülmüştür.

Çizelge 4.11. Elektrot aralığının TSG üzerine etkisi

Elektrot aralığı (cm)	TSG (g/100 g TKM)
1	54,21 ^a ±3,650
3	51,39 ^a ±4,969
5	45,76 ^b ±2,695

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Modelin R^2 değeri 0,81 olarak bulunmuştur. Bu da modelin % 81 oranında sonuçları karşılayabildiği anlamına gelmektedir. Elektrot aralığı (A), akım yoğunluğu (B), gerilim (C) ve süre (D) parametrelerine bağlı olarak program tarafından oluşturulan denklem de aşağıda verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{TSG} = & 2,64120 + 2,92021A + 0,00818339B + 2,33171C + 0,42364D - 0,026541AB - \\ & 0,034124AC + 0,017077AD - 0,00100625BC + 0,00140625BD - 0,00868333CD - \\ & 0,57338A^2 + 0,000194303B^2 - 0,025709C^2 - 0,00243059D^2 \end{aligned} \quad (4.1)$$

Program tarafından elektrokoagülasyon parametrelerine ait oluşturulan optimum değerler ve bu değerlere göre tahmin edilen TSG konsantrasyonu Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Elektrokoagülasyon parametrelerine ait oluşturulan optimum değerler

Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	TSG (g/100 g TKM)	Desirability
1	100	30	60	58,367	1

Çizelge 4.12 incelendiğinde 1 cm elektrot aralığında, 100 mA/cm² akım yoğunluğunda, 30 V gerilimde 60 dk elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda 58,367 g/100 TKM konsantrasyonunda TSG elde edileceği anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.13. Optimum parametrelere göre TSG için oluşturulan cevap

Cevap	Tahmin Edilen Ortalama	Standart Sapma	Ortalamanın Standart Hatası	% 95 CI	% 95 PI
TSG	58,3666	2,67235	2,04104	53,9195 - 62,8136	51,04 – 65,69

Program tarafından oluşturulan optimum noktanın (1 cm elektrot aralığı, 100 mA/cm² akım yoğunluğu, 30 V gerilim, 60 dk süre), deneme desenindeki 26. deneme ile aynı olduğu görülmektedir. TSG konsantrasyonu için program tarafından oluşturulan tahmini değerler ile deney sonucu elde edilen gerçek değerler arasındaki ilişki Çizelge 4.14’te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Program tarafından tahmin edilen değer ile ulaşılan gerçek değer

	Tahmin edilen değer	Gerçek değer
TSG (g/100 g TKM)	58,37±2,672	57,44±1,798

Sonuçlar incelendiğinde değerlerin birbirine yakın olduğu ve gerçek değer tahmin edilen değerden % 1,59 daha düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.15. Deneme deseni örneklerine ait TFM sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	TFM (g GAE/100 g TKM)
1	5	60	40	60	1,42±0,058
2	3	100	30	30	1,43±0,123
3	1	20	30	60	1,51±0,090
4	3	60	30	60	1,34±0,035
5	3	60	20	90	1,32±0,048
6	3	60	40	30	1,41±0,047
7	3	20	30	90	1,42±0,084
8	1	60	40	60	1,32±0,048
9	3	60	30	60	1,42±0,014
10	5	60	30	90	1,39±0,058
11	3	60	20	30	3,34±0,132
12	3	20	20	60	1,47±0,072
13	1	60	20	60	1,48±0,072
14	1	60	30	90	1,51±0,135
15	3	60	40	90	1,49±0,154
16	5	100	30	60	1,40±0,040
17	3	100	30	90	1,46±0,090
18	5	60	30	30	3,02±0,138
19	3	100	40	60	1,49±0,108
20	3	20	30	30	1,49±0,075
21	5	20	30	60	1,42±0,083
22	3	20	40	60	1,49±0,045
23	5	60	20	60	2,87±0,498
24	1	60	30	30	1,39±0,080
25	3	60	30	60	1,44±0,073
26	1	100	30	60	1,45±0,061
27	3	100	20	60	1,43±0,050

Çizelge 4.15 incelendiğinde 11., 18. ve 23. denemelerde TFM içeriğinin diğer örneklere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. En düşük TFM içeriğine 5. ve 8. denemelerde (1,32 g GAE/100 g TKM), en yüksek TFM içeriğine ise 11. denemede

(3,34 g GAE/100 g TKM) ulaşılmıştır. Optimum örnek olan 26. denemede TFM konsantrasyonu da 1,45 g GAE/100 g TKM olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Deneme deseni örneklerine ait TMM sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	TMM (g /100 g TKM)
1	5	60	40	60	10,54±0,430
2	3	100	30	30	10,64±0,374
3	1	20	30	60	17,66±0,401
4	3	60	30	60	12,88±2,940
5	3	60	20	90	10,62±0,908
6	3	60	40	30	11,01±1,098
7	3	20	30	90	11,71±1,069
8	1	60	40	60	12,5±0,713
9	3	60	30	60	13,45±0,554
10	5	60	30	90	12,75±0,776
11	3	60	20	30	13,11±0,770
12	3	20	20	60	13,38±0,632
13	1	60	20	60	14,44±2,329
14	1	60	30	90	11,72±0,156
15	3	60	40	90	15,34±4,196
16	5	100	30	60	12,33±0,395
17	3	100	30	90	11,73±0,528
18	5	60	30	30	14,83±0,920
19	3	100	40	60	13,63±1,481
20	3	20	30	30	11,51±0,927
21	5	20	30	60	11,24±0,971
22	3	20	40	60	10,58±0,823
23	5	60	20	60	12,58±1,108
24	1	60	30	30	11,41±0,571
25	3	60	30	60	9,75±0,508
26	1	100	30	60	9,74±2,358
27	3	100	20	60	12,55±1,006

Sonuçlara bakıldığında en düşük TMM konsantrasyonu (9,74 g/100 g TKM) optimum örnek olarak belirlenen 26. denemede elde edilmişken, en yüksek TMM konsantrasyonu (17,66 g/100 g TKM) 3. denemede elde edilmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.17. Deneme deseni örneklerine ait °Bx sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	°Bx (g /100 g)
1	5	60	40	60	1,55±0,289
2	3	100	30	30	2,05±0,289
3	1	20	30	60	1,95±0,058
4	3	60	30	60	1,55±0,173
5	3	60	20	90	1,75±0,058
6	3	60	40	30	1,85±0,058
7	3	20	30	90	1,60±0,000
8	1	60	40	60	1,80±0,000
9	3	60	30	60	1,75±0,058
10	5	60	30	90	1,60±0,115
11	3	60	20	30	2,05±0,058
12	3	20	20	60	1,70±0,115
13	1	60	20	60	1,80±0,115
14	1	60	30	90	1,60±0,115
15	3	60	40	90	1,88±0,096
16	5	100	30	60	1,80±0,000
17	3	100	30	90	1,70±0,000
18	5	60	30	30	1,98±0,096
19	3	100	40	60	1,70±0,115
20	3	20	30	30	1,75±0,058
21	5	20	30	60	1,80±0,000
22	3	20	40	60	1,80±0,000
23	5	60	20	60	1,90±0,000
24	1	60	30	30	1,70±0,115
25	3	60	30	60	1,50±0,115
26	1	100	30	60	1,65±0,173
27	3	100	20	60	1,65±0,173

Çizelge 4.17 incelendiğinde en düşük briks değeri % 1,50 ile 25. denemede elde edilirken, en yüksek briks değeri % 2,05 ile 2. ve 11. denemelerde elde edilmiştir. Optimum örnekte (26. deneme) ise % 1,65 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.18. Deneme deseni örneklerine ait bulanıklık sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	Bulanıklık (NTU)
1	5	60	40	60	8,04±1,100
2	3	100	30	30	179,50±72,748
3	1	20	30	60	388,50±96,462
4	3	60	30	60	73,23±69,601
5	3	60	20	90	17,63±6,471
6	3	60	40	30	21,40±1,158
7	3	20	30	90	2,80±0,547
8	1	60	40	60	6,71±1,854
9	3	60	30	60	6,25±1,257
10	5	60	30	90	14,03±0,723
11	3	60	20	30	653,25±178,143
12	3	20	20	60	95,80±38,916
13	1	60	20	60	269,25±32,066
14	1	60	30	90	5,26±2,044
15	3	60	40	90	416,75±473,139
16	5	100	30	60	33,60±6,871
17	3	100	30	90	4,67±0,086
18	5	60	30	30	472,50±319,873
19	3	100	40	60	5,87±0,914
20	3	20	30	30	133,75±7,228
21	5	20	30	60	52,15±4,990
22	3	20	40	60	5,47±0,290
23	5	60	20	60	660,00±26,013
24	1	60	30	30	11,57±5,638
25	3	60	30	60	6,39±0,927
26	1	100	30	60	7,13±1,565
27	3	100	20	60	93,08±16,100

Örneklerin bulanıklık değerlerine bakıldığında en düşük bulanıklık (2,80 NTU) 7. denemede, en yüksek bulanıklık (660,0 NTU) ise 23. denemede görülmüştür. Optimum örnek olan 26. denemede ise 7,13 NTU olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19. Deneme deseni örneklerine ait transmittans sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	Transmittans (% T)
1	5	60	40	60	91,799±1,480
2	3	100	30	30	41,306±9,998
3	1	20	30	60	22,180±9,389
4	3	60	30	60	74,976±17,151
5	3	60	20	90	82,584±4,615
6	3	60	40	30	82,282±1,304
7	3	20	30	90	96,369±1,502
8	1	60	40	60	91,389±0,340
9	3	60	30	60	93,714±1,193
10	5	60	30	90	85,203±1,299
11	3	60	20	30	4,445±3,588
12	3	20	20	60	57,951±9,775
13	1	60	20	60	29,587±7,011
14	1	60	30	90	93,408±1,449
15	3	60	40	90	45,927±50,404
16	5	100	30	60	75,814±4,864
17	3	100	30	90	93,765±1,040
18	5	60	30	30	19,135±19,305
19	3	100	40	60	93,641±0,774
20	3	20	30	30	52,092±2,495
21	5	20	30	60	67,355±2,657
22	3	20	40	60	92,841±0,288
23	5	60	20	60	3,952±1,285
24	1	60	30	30	90,835±0,985
25	3	60	30	60	93,500±0,496
26	1	100	30	60	93,627±0,645
27	3	100	20	60	57,558±2,369

Çizelge 4.19 incelendiğinde optimum örnekte (26. deneme) transmittans değeri 93,627 olarak ölçülmüştür. En düşük transmittans değerine (3,952) 23. denemede, en yüksek transmittans değerine ise (96,369) 7. denemede rastlanmıştır.

Çizelge 4.20. Deneme deseni örneklerine ait pH sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	pH
1	5	60	40	60	6,91±0,047
2	3	100	30	30	6,93±0,146
3	1	20	30	60	4,98±0,077
4	3	60	30	60	5,91±1,014
5	3	60	20	90	6,98±0,148
6	3	60	40	30	6,79±0,302
7	3	20	30	90	6,50±0,622
8	1	60	40	60	7,04±0,097
9	3	60	30	60	6,66±0,281
10	5	60	30	90	6,94±0,097
11	3	60	20	30	6,17±0,075
12	3	20	20	60	6,62±0,045
13	1	60	20	60	5,37±0,832
14	1	60	30	90	7,13±0,204
15	3	60	40	90	6,20±1,344
16	5	100	30	60	7,01±0,371
17	3	100	30	90	7,10±0,194
18	5	60	30	30	6,34±0,136
19	3	100	40	60	6,81±0,269
20	3	20	30	30	6,66±0,049
21	5	20	30	60	6,80±0,046
22	3	20	40	60	7,13±0,084
23	5	60	20	60	6,15±0,222
24	1	60	30	30	6,46±0,407
25	3	60	30	60	6,82±0,172
26	1	100	30	60	6,80±0,133
27	3	100	20	60	6,66±0,115

Örneklerin pH değeri incelendiğinde en düşük pH değeri (4,98) 3. denemede, en yüksek pH değeri (7,13) ise 14. ve 22. denemelerde görülmüştür. Fakat denemelerin çoğunun pH değeri nötre yakın bulunmuştur. Optimum örnekte (26. deneme) ise 6,80 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.21. Deneme deseni örneklerine ait susuz sitrik asit cinsinden toplam asitlik sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	TA (g /100 g TKM)
1	5	60	40	60	0,776±0,269
2	3	100	30	30	0,873±0,277
3	1	20	30	60	6,924±2,288
4	3	60	30	60	2,483±0,639
5	3	60	20	90	0,895±0,416
6	3	60	40	30	1,298±0,789
7	3	20	30	90	1,221±0,428
8	1	60	40	60	0,852±0,381
9	3	60	30	60	0,750±0,089
10	5	60	30	90	0,604±0,141
11	3	60	20	30	2,748±0,844
12	3	20	20	60	1,149±0,380
13	1	60	20	60	4,268±3,065
14	1	60	30	90	0,683±0,337
15	3	60	40	90	2,712±2,517
16	5	100	30	60	0,866±0,196
17	3	100	30	90	0,560±0,174
18	5	60	30	30	2,820±0,711
19	3	100	40	60	0,561±0,239
20	3	20	30	30	0,926±0,190
21	5	20	30	60	0,942±0,167
22	3	20	40	60	0,688±0,405
23	5	60	20	60	2,583±0,553
24	1	60	30	30	0,744±0,313
25	3	60	30	60	0,621±0,233
26	1	100	30	60	0,666±0,223
27	3	100	20	60	1,035±0,211

Çizelge 4.21 incelendiğinde toplam asitlik 17. denemede en düşük (0,560 g/100 g TKM), 3. denemede ise en yüksek (6,924 g/100 g TKM) olarak ölçülmüştür. Optimum örnek olan 26. denemede ise 0,666 g/100 g TKM olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.22. Deneme deseni örneklerine ait L değeri sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	L
1	5	60	40	60	87,60±3,147
2	3	100	30	30	34,01±10,926
3	1	20	30	60	12,56±8,747
4	3	60	30	60	69,08±18,325
5	3	60	20	90	80,03±6,120
6	3	60	40	30	76,43±1,755
7	3	20	30	90	92,70±2,488
8	1	60	40	60	88,83±0,335
9	3	60	30	60	90,06±1,960
10	5	60	30	90	83,54±0,180
11	3	60	20	30	0,86±0,860
12	3	20	20	60	54,21±12,217
13	1	60	20	60	24,80±1,077
14	1	60	30	90	91,50±0,517
15	3	60	40	90	43,23±48,878
16	5	100	30	60	71,39±3,845
17	3	100	30	90	89,98±0,306
18	5	60	30	30	10,93±12,355
19	3	100	40	60	89,99±1,862
20	3	20	30	30	46,38±1,911
21	5	20	30	60	63,37±0,835
22	3	20	40	60	89,45±1,354
23	5	60	20	60	0,54±0,248
24	1	60	30	30	88,49±2,007
25	3	60	30	60	89,86±1,377
26	1	100	30	60	91,58±0,323
27	3	100	20	60	53,02±3,940

Çizelge 4.22'ye bakıldığında en yüksek L değerinin (92,70) 7. denemede, en düşük L değerinin (0,54) ise 23. denemede olduğu görülmüştür. Optimum örnekte (26. deneme) ise 91,58 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.23. Deneme deseni örneklerine ait a değeri sonuçları

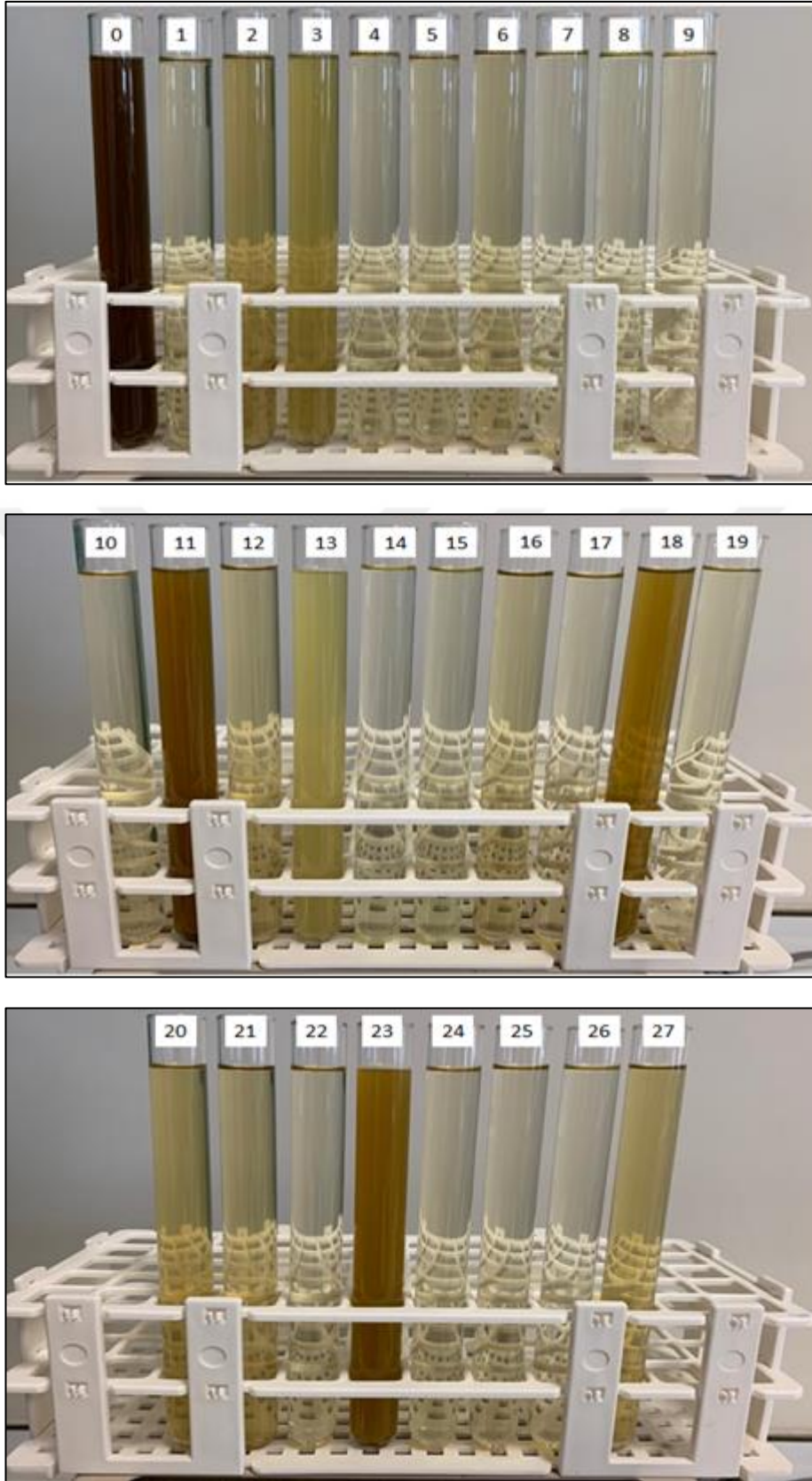
Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	a
1	5	60	40	60	-5,59±0,488
2	3	100	30	30	12,91±2,324
3	1	20	30	60	10,32±0,477
4	3	60	30	60	-0,91±4,119
5	3	60	20	90	-2,06±2,168
6	3	60	40	30	-1,91±1,579
7	3	20	30	90	-5,58±0,240
8	1	60	40	60	-7,12±0,251
9	3	60	30	60	-6,15±0,814
10	5	60	30	90	-4,02±0,101
11	3	60	20	30	2,27±2,396
12	3	20	20	60	8,73±4,420
13	1	60	20	60	11,03±0,887
14	1	60	30	90	-5,70±0,208
15	3	60	40	90	-2,48±5,046
16	5	100	30	60	2,43±1,917
17	3	100	30	90	-5,66±0,087
18	5	60	30	30	9,56±10,297
19	3	100	40	60	-6,03±0,008
20	3	20	30	30	11,12±0,179
21	5	20	30	60	5,87±0,592
22	3	20	40	60	-6,15±0,289
23	5	60	20	60	1,66±0,662
24	1	60	30	30	-5,28±0,191
25	3	60	30	60	-6,28±0,485
26	1	100	30	60	-5,55±0,150
27	3	100	20	60	10,13±2,035

Sonuçlar incelendiğinde 0'a (sıfır) en yakın a değerinin 4. denemede (-0,91), en uzak a değerinin ise 2. denemede (12,91) olduğu görülmüştür. Optimum örneğin (26. deneme) a değeri ise -5,55 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.24. Deneme deseni örneklerine ait b değeri sonuçları

Deneme	Elektrot aralığı (cm)	Akım yoğunluğu (mA/cm ²)	Gerilim (V)	Süre (dk)	b
1	5	60	40	60	43,99±5,026
2	3	100	30	30	50,20±11,573
3	1	20	30	60	20,69±14,211
4	3	60	30	60	49,79±5,765
5	3	60	20	90	53,36±2,451
6	3	60	40	30	57,58±0,192
7	3	20	30	90	30,13±5,892
8	1	60	40	60	36,47±1,005
9	3	60	30	60	39,71±0,719
10	5	60	30	90	50,04±2,255
11	3	60	20	30	1,29±1,461
12	3	20	20	60	61,86±1,158
13	1	60	20	60	39,56±1,002
14	1	60	30	90	26,67±0,881
15	3	60	40	90	20,92±22,592
16	5	100	30	60	59,94±0,849
17	3	100	30	90	38,50±0,653
18	5	60	30	30	18,36±20,992
19	3	100	40	60	37,68±3,158
20	3	20	30	30	60,91±0,441
21	5	20	30	60	61,99±0,509
22	3	20	40	60	36,43±6,183
23	5	60	20	60	0,83±0,324
24	1	60	30	30	40,95±1,654
25	3	60	30	60	37,67±1,905
26	1	100	30	60	30,44±0,145
27	3	100	20	60	63,05±0,282

Çizelge 4.24'e bakıldığında en düşük b değerinin (0,83) 23. denemede, en yüksek b değerinin (63,05) ise 27. denemede olduğu görülmüştür. Optimum örnek olarak belirlenen 26. denemede ise 30,44 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ve deneme deseni örneklerine ait görsel Şekil 4.2'de verilmiştir.



şekil 4.2. Kontrol örneği (0) ve deneme deseni örneklrine ait görsel

4.2.3. Ham stevia ekstraktı ve optimum EK örneğine ait analiz sonuçları

Bu aşamada elektrokoagülasyon işlemin etkinliğini belirleyebilmek için ham stevia ekstraktı (kontrol grubu) ile optimum örnek olarak belirlenen Al(+)/Ç(-) elektrot grubu kullanılarak 1 cm elektrot aralığında, 100 mA/cm² akım yoğunluğunda, 30 V gerilimde 60 dk süre ile elektrokoagülasyon uygulanan stevia ekstraktı karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.25. Ham stevia ekstraktı ve optimum örneğe ait analiz sonuçları

Analizler	Kontrol Örneği	Optimum Örnek
TKM (g/100 g)	2,10 ^a ±0,155	1,45 ^b ±0,109
TSG (g/100 g TKM)	42,70 ^a ±5,365	57,44 ^b ±1,796
TFM (g GAE/100 g TKM)	7,87 ^a ±0,648	1,45 ^b ±0,060
TMM (g /100 g TKM)	12,02±1,574	9,74±2,360
°Bx (g/100 g)	2,45 ^a ±0,173	1,65 ^b ±0,173
Bulanıklık (NTU)	307,75 ^a ±13,647	7,13 ^b ±1,565
Transmittans (% T)	2,315 ^a ±0,0866	93,627 ^b ±0,6454
pH	5,97 ^a ±0,081	6,80 ^b ±0,133
TA (SSA) (g/100 g TKM)	2,522 ^a ±0,5811	0,666 ^b ±0,2231
L	0,08 ^a ±0,026	91,58 ^b ±0,323
a	-0,01 ^a ±0,059	-5,55 ^b ±0,150
b	0,03 ^a ±0,022	30,44 ^b ±0,145

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Çizelge 4.25 incelendiğinde kontrol grubu ile optimum örnek arasında TKM, TSG, TFM, °Bx, bulanıklık, transmittans, pH, TA, L, a ve b değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür (p<0,05). Kuru maddeyi oluşturan asit, fenolik madde, mineral madde ve renk bileşenleri gibi safsızlıkların bir kısmının elektrokoagülasyon uygulamasına bağlı olarak uzaklaşmasıyla TKM içeriğinde azalma meydana gelmiştir. Buna bağlı olarak elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda TKM bazında oransal olarak TSG konsantrasyonu artmış ve kuru yaprak şeklindeki başlangıç materyaline göre iki katını aşmıştır. Burada kuru yaprak içinde bulunan çözünmeyen katıları oluşturan selüloz ve pektik maddeler gibi birçok unsurun dekantör ekstraksiyonu ile ekstraksiyon aşamasında uzaklaştırılmasının yanı sıra EK uygulamasında da koloidal formdaki bazı safsızlık unsurlarının uzaklaştırılması etkili olmuştur. EK uygulaması ile TSG'lerin saflık oranı 42,70 g/100 g TKM'den 57,44 g/100 g TKM'ye ulaşmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında TSG miktarı % 34,52 oranında artmıştır. Elektrokoagülasyon uygulaması ile fenolik maddelerin önemli bir kısmı uzaklaştırılmıştır. Kontrol örneğine göre TFM konsantrasyonunda % 81,58 oranında bir azalma gerçekleşmiştir. Kontrol grubu ile optimum örnek arasında TMM içerikleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. İstatistiksel olarak önemli bir farklılık çıkmasa da, TMM miktarında kontrol örneğine kıyasla % 18,97 oranında bir azalma sağlanmıştır. Briks değeri kontrol örneğine kıyasla % 32,65 azalmıştır. Bu sonuç EK uygulamasında asitler ve bazı fenolik maddeler gibi kırılma indisini etkileyen çözünür formdaki safsızlıkların bir kısmının uzaklaştırıldığını ifade etmektedir. Elektrokoagülasyon uygulaması bulanıklık unsurlarının % 97,68'ini uzaklaştırarak transmittans değerini önemli ölçüde artırmış ve 100 değerine

yaklaştırmıştır. EK uygulaması sonucunda toplam asit miktarının azalmasıyla optimum örneğin pH değerinin yükseldiği görülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında optimum örneğin toplam asitliği % 73,59 oranında azalmıştır. Elektrokoagülasyon uygulaması stevia ekstraktının L değerini 100 değerine yaklaştırmıştır. Optimum örneğin a ve b değerlerinin ise 0 (sıfır) noktasından az miktarda uzaklaştığı görülmüştür.

Sonuçlar değerlendirildiğinde elektrokoagülasyon prosesinin stevia ekstraktlarından steviol glikozitlerin saflaştırılmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu aşamadan sonra bir sonraki aşama olan PVPP uygulamasında kullanılmak üzere optimum elektrokoagülasyon koşullarında yığın stevia ekstraktı üretimi gerçekleştirilmiştir. Literatürde stevia ekstraktlarının EK uygulamasıyla saflaştırılması üzerine detaylı ve yeterli sayıda çalışma bulunmadığı için bulguların karşılaştırılmasında EK uygulamasının diğer materyallere uygulanması ile ilgili çalışmalar da dikkate alınmıştır.

Kartal vd. (2008) tarafından yapılan zeytinyağı karasuyunun arıtılmasına yönelik bir çalışmada, elektrolit olarak 1000 mg/L NaCl ve elektrot olarak da paslanmaz çelik elektrotlar kullanılarak 33,75 mA/cm² akım yoğunluğunda 60 dk elektrokoagülasyon uygulaması sonunda toplam fenoliklerin % 52 oranında uzaklaştırıldığı bildirilmiştir. Gürsoy-Haksevenler ve Arslan-Alaton (2012) tarafından zeytin karasuyunun arıtılması üzerine gerçekleştirilen başka bir çalışmada paslanmaz çelik elektrotlar kullanılarak 30 dk boyunca 30 mA/cm² akım yoğunluğunda elektrokoagülasyon uygulaması yapılmış ve sonuçta toplam fenoliklerin % 60 oranında giderildiği rapor edilmiştir. Tez çalışması kapsamında ise elektrokoagülasyon uygulamasıyla stevia ekstraktındaki toplam fenolik maddeler % 81,58 oranında uzaklaştırılmıştır.

Mulyanti (2018) tarafından stevia ekstraktının elektrokogülasyon yöntemiyle berraklaştırılması üzerine yapılan bir çalışmada Al ve Zn elektrotlar kullanılmış. Al elektrot kullanıldığında 0,8 A akım ve 13,6 dk elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda berraklaştırma yüzdesinin % 93,88; Zn elektrot kullanıldığında ise 0,8 A akım ve 17,5 dk elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda berraklaştırma yüzdesinin % 85,37 olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca Al elektrot kullanıldığında steviosit içeriğinin 450,178 µg/mL, rebaudiosit A içeriğinin 1452,046 µg/mL; Zn elektrot kullanıldığında ise steviosit içeriğinin 482,44 µg/mL, rebaudiosit A içeriğinin 1665,287 µg/mL olarak bulunduğu belirtilmiştir. Tez çalışması kapsamında ise elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda stevia ekstraktının TSG (reb A+steviosit+reb C) konsantrasyonu 57,44 g/100 g TKM olarak bulunmuştur.

Karageorgakis ve Pattas (2022) tarafından stevia ekstraktı üzerine yapılan başka bir çalışmada 5 alüminyum plaka 0,7 cm aralıklarla yerleştirilerek 40 °C'de 30-60 dk elektrokoagülasyon işlemi uygulanmış. En iyi sonucun % 5 yaprak-su oranında, 6V-12V gerilimde ve 17,3-31,3 mA/cm² akım yoğunluğunda alındığı bildirilmiştir. Elektrokoagülasyon uygulamasından sonra ekstrakt seramik filtre plakadan süzülmuş, sonuç olarak renk azalmasının % 85'ten fazla olduğu ve steviol glikozit kaybının da % 7'den az olduğu ifade edilmiştir.

4.3. Adsorpsiyon Prosesine Ait Analiz Sonuçları

Bu başlık altında çalışma kapsamında uygulanmış olan PVPP ve PAD1200

adsorbentlerine ait analiz sonuçları verilmiştir.

4.3.1. PVPP optimizasyonuna ait analiz sonuçları

Bu uygulamanın kontrol grubu olarak elektrokoagülasyon prosesinin optimum koşullarında üretilmiş stevia ekstraktı kullanılmıştır. PVPP uygulamasının stevia ekstraktının bileşenleri üzerindeki etkisi Çizelge 4.26 - Çizelge 4.35'te verilmiştir.

Çizelge 4.26. Farklı PVPP dozajlarının TKM üzerine etkisi

Örnek Adı	TKM (g/100 g)
Kontrol	1,73±0,025
% 0,02	1,65±0,059
% 0,08	1,69±0,099
% 0,14	1,69±0,016
% 0,20	1,60±0,074
% 0,25	1,68±0,062

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının TKM'si üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür. PVPP uygulaması ekstraktın TKM içeriğini azaltmıştır. En düşük TKM içeriğinin % 0,20 PVPP uygulanmış örnekte; en yüksek TKM içeriğinin ise kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir. Buradan PVPP uygulamasının kuru maddeyi oluşturan bileşenlerin bir kısmını tuttuğu soncuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.27. Farklı PVPP dozajlarının TSG üzerine etkisi

Örnek Adı	TSG (g/100 g TKM)
Kontrol	49,45±0,737
% 0,02	51,84±2,049
% 0,08	50,74±2,918
% 0,14	50,55±0,688
% 0,20	53,78±2,150
% 0,25	51,46±1,345

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının TSG'si üzerindeki etkisinin de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. En yüksek TSG içeriğine % 0,20 PVPP uygulamasında ulaşılırken en düşük TSG içeriğine kontrol grubunda ulaşılmıştır. Burada PVPP uygulamasının kontrol grubuna kıyasla TKM'de TSG konsantrasyonunu artırdığı görülmüştür.

Farklı PVPP dozajı uygulamasının stevia ekstraktının TFM'si üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli seviyede olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.28). Bu sonuca önceki EK uygulamasında TFM miktarının azaltılmasının etkili olduğu düşünülmüştür. En düşük TFM içeriğine kontrol grubunda ulaşılırken en yüksek TFM içeriğine % 0,20 uygulanmış örnekte ulaşılmıştır. PVPP uygulamasının kontrol

grubuna kıyasla toplam kuru madde bazında TFM konsantrasyonunu artırdığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.28. Farklı PVPP dozajlarının TFM üzerine etkisi

Örnek Adı	TFM (g GAE/100 g TKM)
Kontrol	1,19±0,017
% 0,02	1,24±0,054
% 0,08	1,24±0,072
% 0,14	1,22±0,024
% 0,20	1,29±0,078
% 0,25	1,23±0,048

Çizelge 4.29. Farklı PVPP dozajlarının TMM üzerine etkisi

Örnek Adı	TMM (g/100 g TKM)
Kontrol	9,38±0,224
% 0,02	10,16±0,802
% 0,08	9,16±0,873
% 0,14	10,33±1,157
% 0,20	10,69±0,498
% 0,25	9,59±0,520

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının içerdiği mineral maddelerin uzaklaştırılması üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. PVPP adsorptif etkiye sahip olduğu için böyle bir sonucun elde edilmesi de normal karşılanmıştır. Buna rağmen, en düşük TMM içeriği % 0,08 PVPP uygulanmış örnekte belirlenmişken en yüksek TMM içeriği % 0,20 PVPP uygulanmış örnekte saptanmıştır. Burada uzaklaştırılan diğer unsurlara bağlı mineral maddelerin de uzaklaştığı düşünülmüştür.

Çizelge 4.30. Farklı PVPP dozajlarının °Bx üzerine etkisi

Örnek Adı	°Bx (g/100 g)
Kontrol	1,70±0,000
% 0,02	1,70±0,000
% 0,08	1,70±0,000
% 0,14	1,70±0,000
% 0,20	1,70±0,000
% 0,25	1,70±0,000

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının suda çözünen kuru madde değeri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür. Tüm grupların briks değerinin aynı olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.31. Farklı PVPP dozajlarının bulanıklık üzerine etkisi

Örnek Adı	Bulanıklık (NTU)
Kontrol	5,69 ^a ±0,068
% 0,02	2,32 ^b ±0,128
% 0,08	2,04 ^b ±0,026
% 0,14	1,86 ^b ±0,201
% 0,20	6,12 ^a ±0,338
% 0,25	5,45 ^a ±0,617

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Çizelge 4.32. Farklı PVPP dozajlarının transmittans üzerine etkisi

Örnek Adı	% T
Kontrol	93,224 ^a ±0,0963
% 0,02	93,087 ^a ±1,0529
% 0,08	94,297 ^a ±0,7109
% 0,14	93,707 ^a ±0,5831
% 0,20	80,988 ^{ab} ±5,4312
% 0,25	87,524 ^b ±0,6576

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Stevia ekstraktının bulanıklık değerleri üzerinde farklı PVPP dozajlarının etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Sonuçlar incelendiğinde % 0,14 üzerindeki PVPP dozajlarında bulanıklık değerinin arttığı görülmüştür (Çizelge 4.31). Farklı PVPP dozaj uygulamasının stevia ekstraktının transmittans değerleri üzerindeki etkisinin de istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; % 0,25-kontrol, % 0,25-% 0,02, % 0,25-% 0,08, % 0,25-% 0,14 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Belli bir PVPP dozajından sonra transmittans değerinin düştüğü sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.33. Farklı PVPP dozajlarının pH üzerine etkisi

Örnek Adı	pH
Kontrol	6,62 ^a ±0,065
% 0,02	6,18 ^{abc} ±0,178
% 0,08	6,31 ^b ±0,071
% 0,14	6,25 ^{abc} ±0,120
% 0,20	6,07 ^{bc} ±0,088
% 0,25	6,04 ^c ±0,036

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının pH değerleri üzerindeki etkisinin

istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Kontrol grubuyla % 0,08, % 0,20 ve % 0,25 PVPP uygulaması arasında ve % 0,08-% 0,25 PVPP uygulamaları arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmuştur ($p<0,05$). En yüksek pH değerine kontrol grubunda; en düşük pH değerine % 0,25 PVPP uygulanmış örnekte ulaşılmıştır. Çizelge 4.34'te görüldüğü üzere toplam asitliğin artışına bağlı olarak PVPP uygulamasının pH değerini kontrol grubuna kıyasla düşürdüğü görülmüştür.

Çizelge 4.34. Farklı PVPP dozajlarının TA üzerine etkisi

Örnek Adı	TA (g/100 g TKM)
Kontrol	0,440±0,0855
% 0,02	0,634±0,1924
% 0,08	0,525±0,1183
% 0,14	0,498±0,0897
% 0,20	0,678±0,0687
% 0,25	0,669±0,0795

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının toplam asitliği üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür. Yine de en yüksek toplam asitlik % 0,20 PVPP uygulanmış örnekte görülürken en düşük toplam asitlik kontrol grubunda görülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla PVPP uygulanmış örneklerin toplam asitlikleri artmıştır.

Çizelge 4.35. Farklı PVPP dozajlarının renk üzerine etkisi

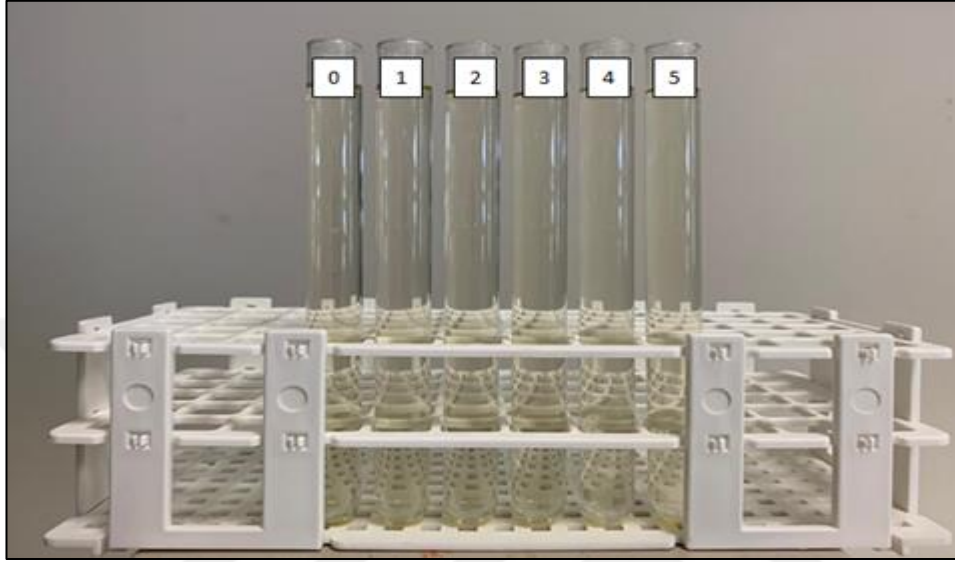
Örnek Adı	L	a	b
Kontrol	89,87 ^a ±0,018	-4,44 ^a ±0,013	33,03 ^a ±0,019
% 0,02	91,98 ^b ±0,048	-5,02 ^b ±0,010	31,30 ^b ±0,077
% 0,08	92,05 ^b ±0,010	-5,01 ^b ±0,026	30,91 ^c ±0,028
% 0,14	91,67 ^b ±0,314	-4,91 ^b ±0,052	30,73 ^d ±0,030
% 0,20	89,43 ^{ab} ±0,924	-4,66 ^c ±0,017	30,03 ^e ±0,090
% 0,25	90,02 ^a ±0,382	-4,48 ^a ±0,021	30,26 ^{de} ±0,153

Aynı sütundaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Farklı PVPP dozajlarının stevia ekstraktının L, a ve b değerleri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). L değeri için çoklu karşılaştırma testi yapıldığında; kontrol örnekleriyle % 0,02, % 0,08, % 0,14 PVPP uygulaması; % 0,25-% 0,02, % 0,25-% 0,08 ve % 0,25-% 0,14 PVPP uygulamaları arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre a değeri için; kontrol grubuyla % 0,02, % 0,08, % 0,14 ve % 0,20 PVPP uygulaması ile % 0,20-% 0,02, % 0,20-% 0,08, % 0,20-% 0,14, % 0,20-% 0,25; % 0,25-% 0,02, % 0,25-% 0,08 ve % 0,25-% 0,14 PVPP dozlarının uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmuştur ($p<0,05$).

Benzer şekilde b değeri açısından da kontrol örnekleriyle % 0,02, % 0,08, % 0,14, % 0,20 ve % 0,25 dozları; % 0,02-% 0,08, % 0,02-% 0,14, % 0,02-% 0,20, % 0,02-% 0,25; % 0,08-% 0,14, % 0,08-% 0,20, % 0,08-% 0,25 ve % 0,14-% 0,20 dozları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). PVPP uygulanmış örneklerle kontrol grubunun L, a, b değerlerinin birbirlerine yakın olduğu görülmüştür. Kontrol ve PVPP örneklerinin renklerine ait görsel Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. PVPP uygulanmış örneklere ait görsel (0: Kontrol örneği, 1: % 0,02, 2: % 0,08, 3: % 0,14, 4: % 0,20, 5: % 0,25)

Çalışmanın ana hedeflerinden birisi olan TSG konsantrasyonu dikkate alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık çıkmasada kontrol grubuna kıyasla en yüksek TSG konsantrasyonu % 0,20 PVPP uygulanmış örnekte görülmüştür. Fakat diğer safsızlık unsurlarının (TFM, TMM, TA) uzaklaştırılması, bulanıklık değerinin düşük, transmittans değerinin yüksek ve renksiz (L:100, a:0, b:0) olması da çalışmanın diğer önemli hedefleri olduğundan % 0,20 PVPP uygulaması yerine % 0,02 PVPP uygulamasının daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla; bundan sonraki aşama olan PAD1200 uygulamasında kullanılmak üzere EK optimum + % 0,02 PVPP uygulanmış yığın stevia ekstraktı elde edilmiştir.

Kulcan (2016) tarafından stevia ekstraktı üzerine PVPP'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada durultulmuş stevia ekstraktına % 0,1, % 0,5, % 1 ve % 2 olmak üzere dört farklı oranda PVPP uygulaması yapılmıştır. % 2 PVPP uygulanmış stevia ekstraktının steviosit ve rebaudiosit A bileşenlerine ait saflık oranlarının sırasıyla % 23,64 ve 17,67 düzeylerinde olduğu ifade edilmiştir. Tez çalışması kapsamında ise elektrokoagülasyon prosesinden sonra % 0,02 PVPP uygulanmış stevia ekstraktının TSG (reb A+steviosit+reb C) konsantrasyonu 51,84 g/100 g TKM düzeyinde bulunmuştur.

4.3.2. PAD1200 uygulamasına ait analiz sonuçları

Bu aşamanın kontrol grubu, EK optimum + PVPP optimum koşullarında üretilmiş stevia ekstraktıdır. PAD1200 uygulamasının stevia ekstraktının bileşenleri

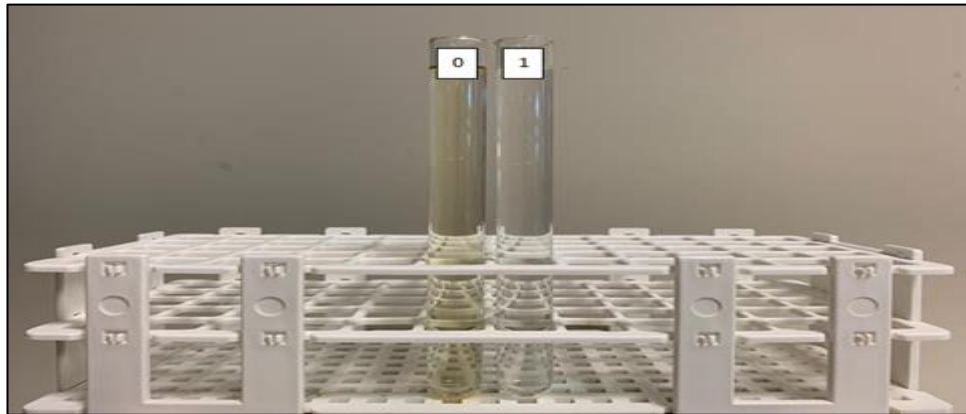
üzerindeki etkisi Çizelge 4.36’da verilmiştir.

Çizelge 4.36. PAD1200 uygulanmış ekstrakta ait analiz sonuçları, *TE: Tespit Edilemedi

Analizler	Kontrol Örneği	PAD1200 Örneği
TKM (g/100 g)	1,69 ^a ±0,043	0,62 ^b ±0,031
TSG (g/100 g TKM)	51,88±1,071	TE*
TFM (g GAE/100 g TKM)	1,20 ^a ±0,046	0,40 ^b ±0,014
TMM (g/100 g TKM)	9,85 ^a ±0,599	28,89 ^b ±1,925
°Bx (g/100 g)	1,75 ^a ±0,058	0,60 ^b ±0,000
Bulanıklık (NTU)	1,84 ^a ±0,134	4,04 ^b ±0,587
% T	97,099±0,0772	95,656±1,5663
pH	6,53 ^a ±0,105	6,25 ^b ±0,118
TA (SSA) (g/100 g TKM)	0,452 ^a ±0,0519	1,108 ^b ±0,1628
L	91,79 ^a ±0,254	98,23 ^b ±0,517
a	-5,04 ^a ±0,010	-0,54 ^b ±0,028
b	32,87 ^a ±0,065	2,05 ^b ±0,451

Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Çizelge 4.36 incelendiğinde kontrol örneği ile PAD1200 adsorbenti uygulanmış örnek arasında TKM, TFM, TMM, °Bx, bulanıklık, pH, TA, L, a ve b değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülürken (p<0,05), transmittans değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Kuru maddeyi oluşturan bileşenlerin büyük oranda PAD1200 adsorbenti tarafından tutulduğu anlaşılmıştır. Ayrıca PAD1200 adsorbentinin TSG’lerin tamamını, TFM’lerin ve suda çözünür kuru maddelerin de bir kısmını tuttuğu görülmüştür. PAD1200 uygulaması sonucunda kontrol grubuna kıyasla TKM’de TMM konsantrasyonu artmıştır. PAD1200 uygulaması stevia ekstraktının bulanıklık değerinde artışa neden olmuştur. Transmittans değerlerinin ise birbirine yakın olduğu görülmüştür. PAD1200 adsorbenti uygulanmış stevia ekstraktının pH değeri daha düşük bulunmuştur. PAD1200 uygulaması sonucu TKM’de TA’nın arttığı görülmüştür. PAD1200 uygulanmış stevia ekstraktının renksiz (L:100, a:0, b:0) çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Uygulama sonucu ekstraktlara ait görsel Şekil 4.4’te verilmiştir.



Şekil 4.4. Örneklerle ait görsel (0: Kontrol, 1: PAD1200)

Analiz sonuçları değerlendirildiğinde PAD1200 adsorbentinin TSG'leri tuttuğu görülmüştür. Bu nedenle PAD1200 uygulamasının bu proseste bir saflaştırma basamağı olamayacağı sonucuna varılmıştır. Bundan sonraki aşamada EK optimum + % 0,02 PVPP uygulanmış yığın stevia ekstraktı elde edilerek membran filtrasyon prosesinde kullanılmıştır.

4.4. Membran Filtrasyon Prosesine Ait Analiz Sonuçları

Bu aşamanın kontrol grubu, EK optimum + PVPP optimum koşullarında üretilmiş stevia ekstraktıdır. Membran filtrasyon uygulamasının stevia ekstraktının bileşenleri üzerindeki etkisi Çizelge 4.37'de verilmiştir. Uygulamada 30 kDa ayırma sınırındaki ultrafiltrasyon sonunda % 90 oranında elde edilen permeat akısı ana ürün olarak değerlendirilmiştir. Diğer kısım olan % 10 oranında elde edilen retentat akısı ise değerlendirmeye alınmamıştır. Endüstriyel uygulamalarda retentat akısı bir önceki aşamaya geri beslenmekte veya sulandırılarak diafiltrasyon için tekrar ultrafiltre edilmektedir. Araştırmada bu aşamalar dikkate alınmamıştır.

Çizelge 4.37. Membran filtrasyon uygulamasına ait analiz sonuçları

Analiz	Kontrol	30 kDa P	5 kDa R
TKM (g/100 g)	1,69 ^a ±0,055	1,67 ^a ±0,016	2,66 ^b ±0,062
TSG (g/100 g TKM)	52,39 ^a ±2,173	51,89 ^a ±0,800	61,91 ^b ±1,319
TFM (g GAE/100 g TKM)	1,16 ^a ±0,014	1,12 ^a ±0,022	0,81 ^b ±0,036
TMM (g/100 g TKM)	10,83 ^a ±0,927	10,89 ^a ±0,399	7,29 ^b ±0,524
°Bx (g/100 g)	1,80 ^a ±0,000	1,80 ^a ±0,000	2,85 ^b ±0,058
Bulanıklık (NTU)	3,39 ^a ±0,058	0,97 ^b ±0,047	3,79 ^c ±0,176
% T	89,154 ^a ±0,2453	97,460 ^b ±0,2386	88,284 ^a ±0,5149
pH	6,38 ^a ±0,163	6,85 ^b ±0,008	6,77 ^b ±0,172
TA (g/100 g TKM)	0,522 ^a ±0,0630	0,383 ^{ab} ±0,0037	0,286 ^b ±0,0580
L	90,01 ^a ±0,127	91,46 ^b ±0,382	78,15 ^c ±0,529
a	-4,12 ^a ±0,006	-4,43 ^b ±0,059	-1,66 ^c ±0,113
b	32,84 ^a ±0,057	31,47 ^a ±0,801	53,76 ^b ±1,362

Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

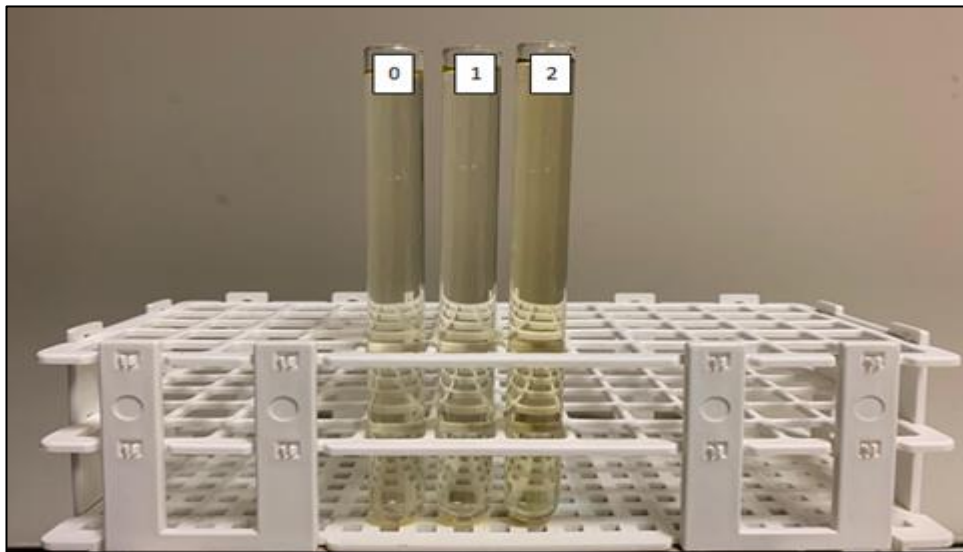
Membran filtrasyon uygulamasının stevia ekstraktının TKM'si üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; 5 kDa R-kontrol ve 5 kDa R-30 kDa P arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). En yüksek TKM içeriğinin 5 kDa R akısında olduğu görülmüştür. 5 kDa R akısı daha konsantre olduğu için TKM içeriği de kontrol ve 30 kDa P akısına göre daha yüksek miktarda tespit edilmiştir.

Membran filtrasyon uygulamasının stevia ekstraktının TSG'si üzerindeki etkisi incelendiğinde 5 kDa R-kontrol ve 5 kDa R-30 kDa P arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir (p<0,05). En düşük TSG konsantrasyonuna 30 kDa P akısında ulaşılırken en yüksek TSG konsantrasyonuna ise 5 kDa R akısında ulaşılmıştır. 5 kDa R uygulaması TSG konsantrasyonunu kontrol grubuna kıyasla % 18,17 artırmıştır.

Uygulamanın stevia ekstraktının TFM'si üzerindeki etkisinin de istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0,05$). En düşük TFM konsantrasyonunun 5 kDa R akısında olduğu; en yüksek TFM konsantrasyonunun da kontrol grubunda olduğu görülmektedir. Safsızlık unsurlarından birisi olan TFM'nin 5 kDa R uygulaması sonucu kontrol grubuna kıyasla % 30,17 azaldığı tespit edilmiştir. Uygulamada en düşük TMM içeriği 5 kDa R akısında ölçülmüştür ($p<0,05$) ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TMM konsantrasyonunda % 32,69'luk bir azalma sağlamıştır. Ayrıca, uygulamanın stevia ekstraktının °Bx değeri üzerindeki etkisi de istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; 5 kDa R-kontrol ve 5 kDa R-30 kDa P arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). En yüksek briks değeri 5 kDa R akısında elde edilmiştir. Uygulamanın ekstraktların bulanıklık değeri ve transmittans değeri üzerindeki etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). En düşük bulanıklık değeri 30 kDa P akısında belirlenirken en yüksek bulanıklık değeri 5 kDa R akısında belirlenmiştir. Transmittans sonuçlarına göre 30 kDa P-kontrol ve 30 kDa P-5 kDa R arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). En yüksek transmittans değeri 30 kDa P akısında, en düşük transmittans değeri ise 5 kDa R akısında belirlenmiştir.

Stevia ekstraktının pH değeri ve toplam asitliği de membran uygulama sonrasında önemli düzeyde etkilenmiştir ($p<0,05$). pH değeri açısından kontrol grubu ile 30 kDa P ve 5 kDa R arasındaki farklar; toplam asitlik açısından da kontrol örneğiyle 5 kDa R arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Membran filtrasyon uygulamaları (30 kDa P ve 5 kDa R) sonucunda kontrol grubuna göre pH değerinin yükseldiği görülmüştür. Ayrıca 5 kDa R uygulaması örneğinin toplam asitliği kontrol grubuna kıyasla % 45,21 oranında azalmıştır.

UF uygulaması stevia ekstraktının renk değerleri üzerine de etkili olmuştur. L, a ve b değeri üzerindeki etkisi incelendiğinde farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). En yüksek L değerinin ve en düşük b değerinin 30 kDa P akısında, sıfıra en yakın a değerinin ise 5 kDa R akısında olduğu tespit edilmiştir. Örneklere ait görsel Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: 30 kDa P, 2: 5 kDa R)

TSG konsantrasyonu üzerine 30 kDa ayırma sınırında UF uygulamasının kontrol grubuna göre önemli bir farklılık meydana getirmediği tespit edilmiştir. Ancak, özellikle ekstraktların bulanıklık düzeyi ve renk değerleri farklıdır ($p < 0,05$). Membran filtrasyon uygulamasının 30 kDa ve 5 kDa ayırma sınırındaki membranların kombinasyonu ile anlamlı olduğu düşünülmektedir. Nitekim; 30 kDa membran uygulama sonunda elde edilen permeat akısının 5 kDa membrana beslenmesi sonunda bazı minör bileşenler permeat akısında kalırken TSG konsantrasyonu da yükselmiştir. Bu modelin endüstriyel uygulamada kullanılması durumunda 30 kDa membran uygulamasında elde edilen retentat akısıyla birlikte 5 kDa membran uygulamasının permeat akısının önceki aşamaya geri beslenmesi durumunda teorik olarak TSG miktarında herhangi bir kayıp olmayacağı düşünülmüştür. Araştırmada her uygulamanın, elde edilecek TSG saflığını yükseltmeye yönelik birer aşama olması nedeniyle membran filtrasyon aşaması sonunda elde edilen % 61,91 oranındaki TSG konsantrasyonu dikkate değer bulunmuştur. Bu aşamanın TSG'leri saflaştırmadaki etkinliği % 18,17 olarak hesaplanmıştır.

Literatürde UF ve NF uygulamalarının stevia ekstraktlarının saflaştırılmasındaki etkinliği üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır. Chhaya vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada stevia ekstraktına ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon işlemleri uygulanmıştır. Ultrafiltrasyon için 30 kDa polietersülfon membran, nanofiltrasyon için de poliamid kaplamadan oluşan 400 Da membran kullanılmıştır. Geri kazanımın en yüksek olduğu koşullarda ultrafiltrasyon için 552 kPa basınçta ve 0,17 m/s akış hızında permeat akısının renk değerinin (A) 0,7, berraklığın (% T) 85,5, toplam katı miktarının 10 g/L ve steviosit oranının da % 39,7 olduğunu bildirmişlerdir. Ardından permeat akısını nanofiltrasyon uygulamasına beslemişler; 1241 kPa basınç ve 1500 rpm karıştırma hızında nanofiltrasyon uygulamasının permeat akısında renk değeri (A) 0,02, berraklık (% T) 99,1, toplam katı miktarı 0,2 g/100 ml, steviosit konsantrasyonu 201,3 mg/L olarak; retentat akısında da toplam katı miktarı 1,6 g/100 ml ve steviosit konsantrasyonu da 9594 mg/L olarak tespit edilmiştir. Ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon uygulamaları sonucunda steviositin saflık oranının % 60 olduğunu belirtmişlerdir. Tez çalışması kapsamında ise sırasıyla elektrokoagülasyon, adsorpsiyon (PVPP) ve membran filtrasyon (30 kDa P ve 5 kDa R, 2 bar basınç) proseslerine tabii tutulmuş stevia ekstraktının 5 kDa R akısındaki TSG (reb A+steviosit+reb C) konsantrasyonu 61,91 g/100 g TKM olarak bulunmuştur.

Das vd. (2015) tarafından stevia ekstraktı üzerine yapılan bir çalışmada ultrafiltrasyon için 30 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon membran kullanılmış ve en iyi sonucun alındığı 1667 Reynold sayısı ile 414 kPa transmembran basıncında permeat renginin (A) 0,61, berraklık değerinin (% T) 71,18, rebaudiosit A saflık oranının % 31 ve steviosit saflık oranının % 60 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise ön işlemlere tabii tutulan stevia ekstraktının, 2 bar basınçta 30 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon membran kullanılarak elde edilen permeat akısının % T değeri 97,46 olarak tespit edilmiştir.

Saflaştırma prosesleri tamamlandıktan sonra her bir uygulamanın steviol glikozitleri saflaştırmadaki etkinliği ve bu etkinlik sonucunda ulaşılan TSG saflık oranları Çizelge 4.38'de verilmiştir.

Çizelge 4.38. Proseslerin etkinliklerine göre ulaşılan TSG saflık oranları

	Proses etkinliği (% artış)	Saflık oranı (g TSG/100 g TKM)
Ham ekstrakt	0	42,70
Elektrokoagülasyon	34,52	57,44
Adsorpsiyon	4,83	60,21
Membran filtrasyon	18,17	71,15

Çizelge 4.38 incelendiğinde son prosesten sonra TSG saflık oranı 71,15 g TSG/100 g TKM olarak görülmektedir. Bu sonuç çalışmada hedeflenen % 90 düzeyindeki saflık derecesinden düşüktür. Dolayısıyla, hedef olan % 90 saflık oranına ulaşabilmek için çalışmanın devamında bazı uygulamaların ilave edilmesi uygun bulunmuştur.

4.5. TSG Saflık Oranını Artırmaya Yönelik Diğer Uygulamalar (B Planı)

Hedeflenen saflık düzeyine ulaşamadığı için farklı elektrot kombinasyonlarında EK uygulaması ve karışık yatak reçine uygulaması B Planı olarak araştırmaya eklenmiştir. EK uygulamasında en uygun elektrot kombinasyonu ve uygulama şartlarının belirlendiği ön denemelerde farklı kombinasyonlarda farklı sonuçlar alınmıştır. Dolayısıyla, her farklı kombinasyonda farklı molekül gruplarının etkilendiği veya molekül gruplarının etkilenme durumunun farklı olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle B Planı kapsamında, ana planda uygulanan Al(+)/Ç(-) uygulamasına ilave olarak Al(+)/Al(-) elektrot grubunun denenmesi uygun bulunmuştur. Ayrıca, kalan renk maddeleri üzerine etkili olacağı ve mineral maddeleri tutacağı gerekçesiyle karışık yatak reçine uygulamasının başarılı olacağı tahmin edilmiştir.

4.5.1. Elektrokoagülasyon [Al(+)/Al(-)] uygulamasına ait analiz sonuçları

Bu aşamada, önceden belirlenmiş olan optimum elektrokoagülasyon parametreleri (1 cm elektrot aralığı, 100 mA/cm² akım yoğunluğu, 30 V gerilim, 60 dk süre) Al(+)/Al(-) elektrotlar kullanılarak, EK optimum + % 0,02 PVPP uygulamasından elde edilen ekstraktlara uygulanmıştır. Bu aşamadaki kontrol grubu, EK optimum + PVPP optimum koşullarında alınan stevia ekstraktıdır.

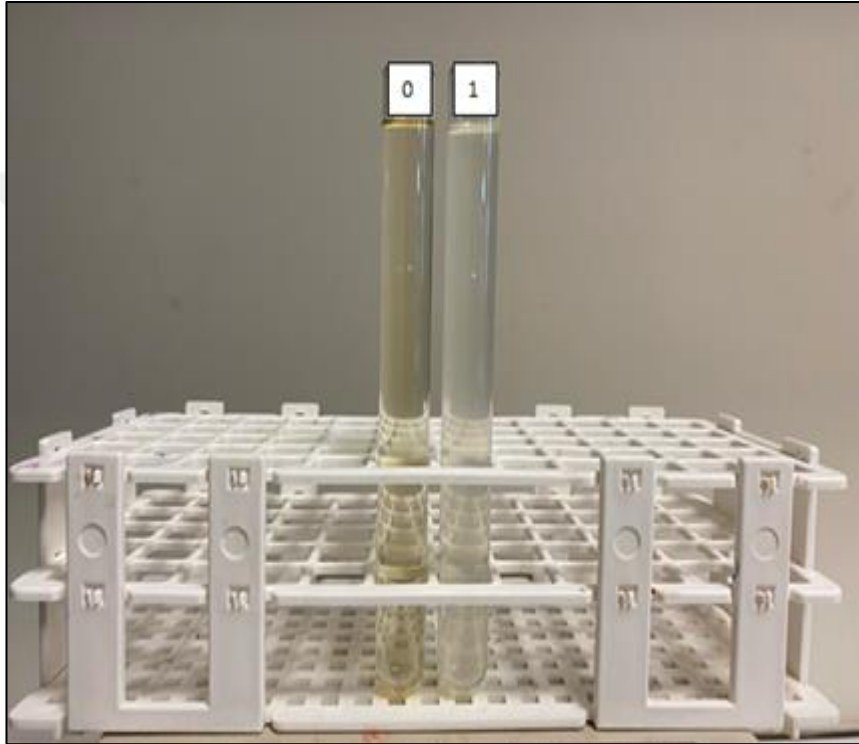
Çizelge 4.39. Elektrokoagülasyon [Al(+)/Al(-)] uygulamasına ait analiz sonuçları

Analizler	Kontrol Örneği	EK [Al(+)/Al(-)]
TKM (g/100 g)	1,56 ^a ±0,029	1,41 ^b ±0,046
TSG (g/100 g TKM)	54,48±3,008	55,67±1,833
TMM (g/100 g TKM)	10,11±0,371	10,74±0,636
L	89,43 ^a ±0,025	78,30 ^b ±0,008
a	-3,71 ^a ±0,010	0,27 ^b ±0,006
b	34,93 ^a ±0,021	19,75 ^b ±0,010

Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0,05).

Kontrol örneği ile EK [Al(+)/Al(-)] uygulanmış örnek arasında TKM, L, a ve b

değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). TSG ve TMM konsantrasyonları bakımından ise bir farklılık bulunmamıştır. Buna rağmen stevia ekstraktının TSG içeriği % 2,18 oranında yükselmiştir. Kuru maddeyi oluşturan bileşenlerden bazılarının elektrokoagülasyon uygulaması sonucunda uzaklaşmasıyla kontrol grubuna kıyasla TKM içeriğinde azalma meydana gelmiştir. EK [Al(+)/Al(-)] uygulaması stevia ekstraktının L değerini azaltırken; a ve b değerlerini çalışmanın hedefi olan sıfır (0) değerine yaklaştırmıştır. Örneklere ait görsel Şekil 4.6'da verilmiştir. Bundan sonraki aşamada, EK optimum + % 0,02 PVPP + EK [Al(+)/Al(-)] prosesinden yığın stevia ekstraktı alınarak bir sonraki aşama olan membran filtrasyon uygulamasında kullanılmıştır.



Şekil 4.6. Örnekler için görsel (0: Kontrol, 1: EK [Al(+)/Al(-)])

4.5.2. Membran filtrasyon uygulamasına ait analiz sonuçları

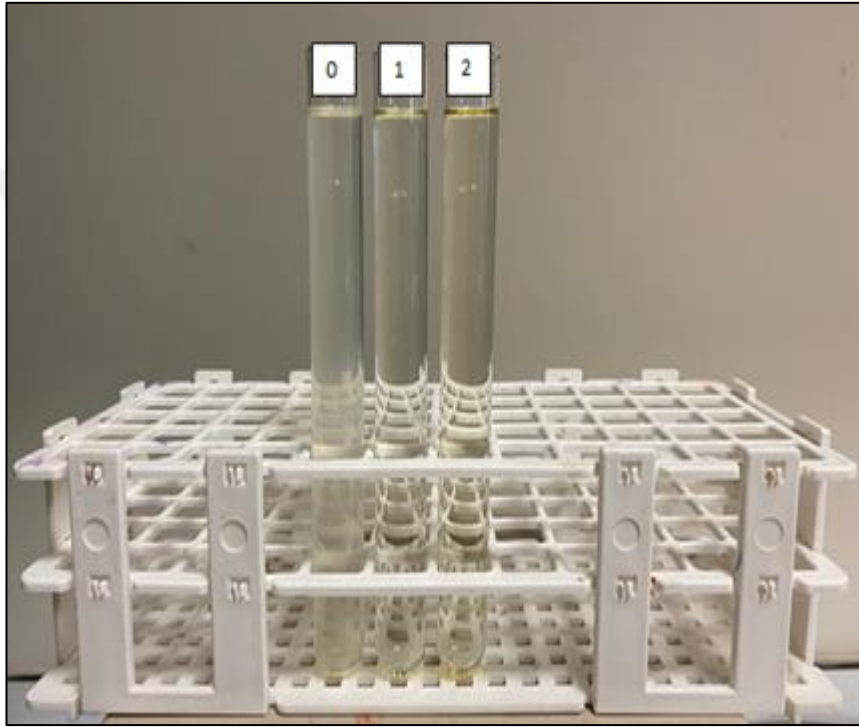
Bu aşamadaki kontrol grubu, EK optimum + PVPP optimum + EK [Al(+)/Al(-)] uygulamasından alınan stevia ekstraktıdır.

Çizelge 4.40. Membran filtrasyon uygulamasına ait analiz sonuçları

Analizler	Kontrol Örneği	30 kDa P	5 kDa R
TKM (g/100 g)	1,41 ^a ±0,046	1,40 ^a ±0,041	2,43 ^b ±0,042
TSG (g/100 g TKM)	55,67 ^a ±1,833	55,84 ^a ±1,456	67,09 ^b ±1,125
TMM (g/100 g TKM)	10,74 ^a ±0,636	9,86 ^a ±0,614	5,23 ^b ±0,180
L	78,30 ^a ±0,008	97,37 ^b ±0,160	94,39 ^c ±0,107
a	0,27 ^a ±0,006	-2,74 ^b ±0,008	-3,73 ^c ±0,005
b	19,75 ^a ±0,010	11,29 ^b ±0,006	22,70 ^c ±0,021

Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0,05$).

Membran filtrasyon uygulamasının stevia ekstraktında TKM, TSG, TMM ve renk değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre TKM, TSG ve TMM açısından kontrol grubuyla 5 kDa R ve 30 kDa P-5 kDa R arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$). TSG konsantrasyonu 5 kDa uygulamasında retentat akısında kuru madde bazında % 67,09 oranına kadar yükselmiştir. Buradaki artış kontrol grubuna göre % 20,51 olarak saptanmıştır. Örneklere ait görsel Şekil 4.7’de verilmiştir. Bu proses sonrasında, EK optimum + % 0,02 PVPP + EK [Al(+)/Al(-)] + 30 kDa P + 5 kDa R uygulamalarından stevia ekstraktı alınarak bir sonraki aşama olan karışık yatak reçine uygulamasında kullanılmıştır.



Şekil 4.7. Örneklere ait görsel (0: Kontrol, 1: 30 kDa P, 2: 5 kDa R)

4.5.3. Karışık yatak reçine (KYR) uygulamasına ait analiz sonuçları

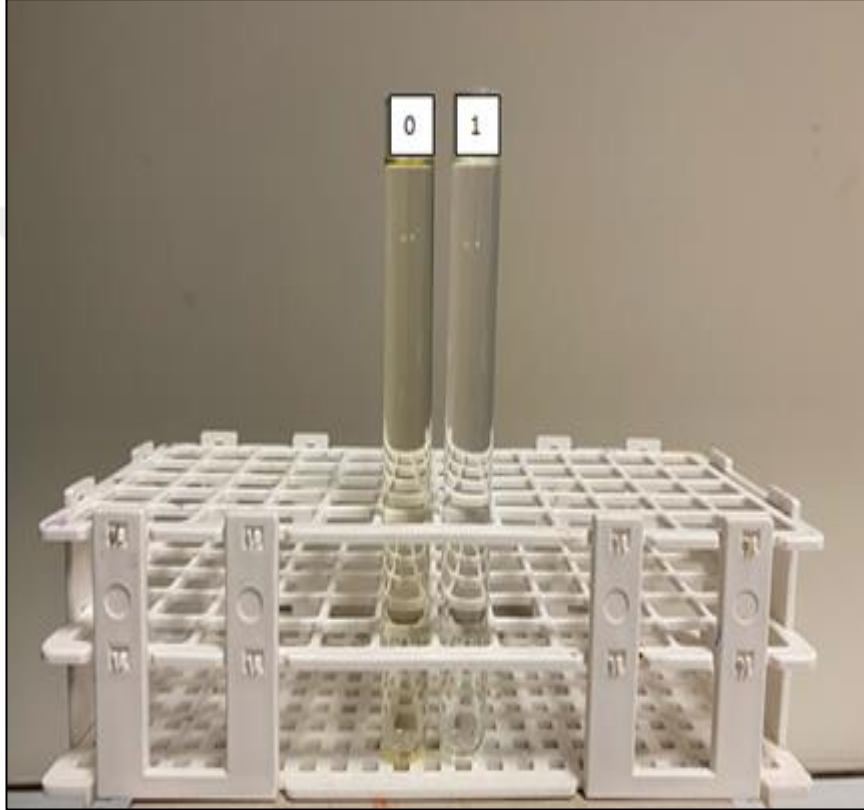
Bu aşamada, EK optimum + PVPP optimum + EK [Al(+)/Al(-)] + 30 kDa P + 5 kDa R uygulamasından alınan stevia ekstraktı kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.41. Karışık yatak reçine (KYR) uygulamasına ait analiz sonuçları

Analizler	Kontrol Örneği	KYR
TKM (g/100 g)	2,43 ^a ±0,042	1,86 ^b ±0,050
TSG (g/100 g TKM)	67,09 ^a ±1,125	81,21 ^b ±2,310
TMM (g/100 g TKM)	5,23 ^a ±0,180	0,22 ^b ±0,158
L	94,39 ^a ±0,107	99,21 ^b ±0,044
a	-3,73 ^a ±0,005	-1,02 ^b ±0,005
b	22,70 ^a ±0,021	4,09 ^b ±0,006

Aynı satırdaki farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).

Kontrol örneği ile karışık yatak reçine uygulanmış örnek arasında TKM, TSG, TMM, L, a ve b değerleri bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Karışık yatak reçinenin bazı bileşenleri, özellikle de mineral maddeleri tutması sonucunda ekstraktın TKM içeriğinde azalma meydana gelmiştir. Karışık yatak reçine uygulaması TSG konsantrasyonunu oransal olarak artırmıştır. Kontrol grubuna kıyasla TSG içeriği % 21,05 oranında yükselmiştir. TMM konsantrasyonunda % 95,79 azalma sağlanırken, çalışmanın hedeflerinden biri olan L: 100, a: 0 ve b: 0 değerlerine yüksek oranda ulaşılabilmektedir. Örneklerle ait görsel Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8. Örneklerle ait görsel (0: Kontrol, 1: KYR)

Joshi vd. (2022) tarafından stevia yapraklarından steviositin izolasyonu ve saflaştırılması üzerine yapılan bir çalışmada ekstraksiyon, elektrokoagülasyon (Al/Al elektrot, 12 V gerilim, 0,8-1,2 A akım, 120 dk, 15 g NaCl), aktif kömür, iyon değişimi, vakumlu buharlaştırma ve bütanol yıkama gibi yöntemler kullanılmış olup 100 g yapraktan kristal formda 496 mg steviosit elde edildiği bildirilmiştir. Tez çalışması kapsamında ise ekstraksiyon, EK [Al(+)/Ç(-)], PVPP, EK [Al(+)/Al(-)], membran filtrasyon (30 kDa P, 5 kDa R) ve karışık yatak reçine uygulamaları sonucunda stevia ekstraktının TSG (reb A+steviosit+reb C) konsantrasyonu 81,21 g/100 g TKM olarak bulunmuştur.

Bir prosesin optimum noktasından alınan ekstrakt takip eden diğer prosese beslenecek şekilde ilerleyen saflık oranını artırmaya yönelik prosesler tamamlandıktan sonra her bir uygulamanın steviol glikozitleri saflaştırmadaki etkinliği ve bu etkinlik sonucunda ulaşılan TSG saflık oranları Çizelge 4.42’de verilmiştir.

Çizelge 4.42. Saflık oranını artırmaya yönelik proseslerin etkinliklerine göre ulaşılan TSG saflık oranları

	Proses etkinliği (% artış)	Saflık oranı (g TSG/100 g TKM)
Ham ekstrakt	0	42,70
EK [Al(+)/Ç(-)]	34,52	57,44
Adsorpsiyon	4,83	60,21
EK [Al(+)/Al(-)]	2,18	61,52
Membran filtrasyon	20,51	74,14
KYR	21,05	89,75~90,0

Sonuçlar incelendiğinde çalışmanın hedefleri olan % 90 saflık oranına çok yaklaşıldığı ve ekstrakt renginin kabul edilebilir düzeye ulaştığı görülmektedir.

5. SONUÇLAR

Tez kapsamında, fiziksel ayırma metotları ve elektrokimyasal yöntem olarak kabul edilen elektrokoagülasyon metodu kullanılarak sulu stevia ekstraktlarından steviol glikozitlerin kabul edilebilir saflıkta elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada dekantör ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen ham stevia ekstraktlarının saflaştırılmasında başlıca elektrokoagülasyon (EK), membran filtrasyon ve adsorpsiyon tekniklerinden yararlanılmıştır.

Dekantör ekstraksiyonu uygulamasının yüksek “g” kuvveti nedeniyle kolloidler dahil birçok suda çözünmeyen bileşiğin uzaklaştırılmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Bu sonuç, materyal olarak kullanılan kuru stevia yaprağı ve dekantörden elde edilen ham ekstraktın kuru madde bazında TSG miktarları arasındaki büyük farktan anlaşılmaktadır.

Elektrokoagülasyon uygulamasında Al(+)/Ç(-) elektrot kombinasyonunun tüm parametreler açısından değerlendirildiğinde en başarılı elektrot kombinasyonu olduğu görülmektedir. Burada elektrotların konumlandırılmasında iki elektrot arasında 1 cm boşluk bırakılması, 100 mA/cm² akım yoğunluğu ve 30 V gerilim düzeyinde DC akımının 60 dk süre ile uygulanması ve ortam sıcaklığının düşürülmesi başarıyı artırmaktadır.

Elektrokoagülasyon uygulaması önemli düzeyde saflaştırma etkinliğine sahip olmasına rağmen, çalışmada hedeflenen TSG açısından % 90 ve üzerinde saflık değerine ulaşmayı sağlamamaktadır. Ancak, bu uygulama diğer saflaştırma yöntemleriyle entegre edilerek desteklenmesi durumunda olumlu sonuçlar vermektedir.

Elektrokoagülasyon uygulamasında TFM üzerine yeterli etki sağlanmaktadır. Bu ekstraktlara PVPP uygulanması istatistiksel olarak fark oluşturmamaktadır. Buna rağmen, özellikle ekstrakt rengi PVPP uygulamasıyla birlikte önemli düzeyde etkilenmektedir. Bu nedenle saflaştırma basamaklarında PVPP uygulamasının yer alması uygun bulunmaktadır.

PAD1200 adsorbenti renk üzerine çok etkili olmasına rağmen uygulamada tüm steviol glikozitleri tutmuştur. Steviol glikozitlerle birlikte renk maddelerini de tuttuğu için TSG geri kazanımı mümkün olmamıştır. Bazı saflaştırma ve renksizleştirme uygulamalarında başarı ile kullanılan PAD1200 adsorbentinin TSG saflaştırmada etkili olmayacağı sonucuna varılmıştır.

Sulu stevia ekstraktlarından steviol glikozitlerin saflaştırılmasında yararlanılan uygulamaların etkinlikleri sırasıyla;

- EK [Al(+)/Ç(-)]: % 34,52
- Adsorbent (% 0,02 PVPP): % 4,83
- EK [Al(+)/Al(-)]: % 2,18
- Membran filtrasyon (5 kDa R): % 20,51

- Karışık yatak reçine: % 21,05

olarak hesaplanmıştır.

Ham stevia ekstraktının TSG konsantrasyonu 42,70 g/100 g TKM olarak bulunmuştur. Bu miktar üzerinden, kullanılan tekniklerin saflaştırma etkinliklerine göre TSG konsantrasyonlarına bakıldığında;

- EK [Al(+)/Ç(-)] uygulaması sonunda 57,44 g TSG/100 g TKM,
- Adsorbent uygulaması sonunda 60,21 g TSG/100 g TKM
- EK [Al(+)/Al(-)] uygulaması sonunda 61,52 g TSG/100 g TKM
- Membran filtrasyon (5 kDa R) uygulaması sonunda 74,14 g TSG/100 g TKM
- Karışık yatak reçine uygulaması sonunda 89,75≈90,0 g TSG/100 g TKM

değerine ulaşıldığı görülmüştür.

Sonuç olarak; steviol glikozitlerin izolasyonunda su ile hazırlanan stevia yaprak hamurundan dekantör ekstraksiyonu, elde edilen ekstraktların elektrokoagülasyon, membran filtrasyon ve karışık yatak reçine uygulamalarıyla zenginleştirilmesi temel saflaştırma basamakları olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte diğer uygulamaların küçük etkiler dışında katkıda bulunmadığı görülmüştür.

Araştırma sonuçlarının sadece steviol glikozitlerin saflaştırılmasıyla ilgili çalışmalara değil, ayrıca diğer fonksiyonel gıda bileşenlerinin izolasyonu ve gıda atıklarının değerlendirilmesi konusunda devam eden ve gelecek çalışmalara ışık tutacağı umulmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Anonim 1: <https://www.tarimorman.gov.tr> [Son erişim tarihi: 07.01.2024].
- Anonim 2: <https://www.purolite.com> [Son erişim tarihi: 07.01.2024].
- Anonim 3: <https://www.smartmembranesolutions.co.nz/> [Son erişim tarihi: 04.03.2024].
- Anonim 4: <https://www.shimadzu.com> [Son erişim tarihi: 20.11.2020].
- Abou-Arab, A.E., Abou-Arab, A.A. and Abu-Salem, M.F. 2010. Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *stevia rebaudiana* bertonii plant. *African Journal of Food Science*, 4(5): 269-281.
- Abuzaid, N.S., Bukhari, A.A. and Al-Hamouz, Z.M. 1998. Removal of bentonite causing turbidity by electro-coagulation. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 33(7): 1341-1358.
- Acar, B.Ç. ve Acar, M.B. 2022. Kimyasal yöntemlerle atık sulardan ağır metal giderimi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 3(1): 1-13.
- Adduci, J., Buddhasukh, D. and Ternai, B. 1987. Improved isolation and purification of stevioside. *J Sci Soc Thailand*, 13(3): 179-183.
- Ahmad, J., Khan, I., Blundell, R., Azzopardi, J. and Mahomoodally, M.F. 2020. *Stevia rebaudiana* Bertoni: An updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends Food Sci Tech*, 100: 177-189.
- Akarsu, C. 2014. Elektrokoagülasyon prosesi ile endüstriyel atık su arıtımı. *Akademik Platform, Karabük*: 1451-1456
- Alan, Ü. 2021. Şehir atık suyu arıtma tesisindeki atık su ve çamurundaki bor'un membran filtre üzerinde önderiştirilmesi çalışması. Yüksek lisans tezi, Kırklareli Üniversitesi, Kırklareli, 54 s.
- Altınay, A.D. 2015. Yüzey aktif madde içeren atık suların membran filtrasyon prosesi ile arıtım performansının incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Gebze Teknik Üniversitesi, Kocaeli, 99 s.
- Anvari, M. and Khayati, G. 2016. Separation and purification of rebaudioside a from extract of *stevia rebaudiana* leaves by macroporous adsorption resins. *Pol J Chem Technol*, 18(1): 127.
- Arslan, T., Kabdaşlı, I., Arslan-Alaton, İ., Ölmez, T. ve Tünay, O. 2008. Kompleks olarak bağlı metal içeren atık suların elektrokoagülasyon prosesi ile arıtımı. *Su Kirlenmesi Kontrolü Dergisi*, 18(1): 42-52.
- Aslan, M. 2016. Membran teknolojileri. *TC Çevre ve Şehircilik Bakanlığı*, 286 s.
- Atmaca, K. 2023. Tekstil atık sularının elektrokoagülasyon prosesiyle arıtımının incelenmesi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1): 87-100.
- Aygün, A. 2012. Tekstil endüstrisi reaktif ve dispers boya banyo atıksularının elektrokoagülasyon prosesi ile arıtımı: Yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyon. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 218 s.
- Beck, E., Giannini, A. and Ramirez, E. 1974. Electrocoagulation clarifies food wastewater. *Food Technol-Chicago*.

- Bilgin, Ö. ve Koç, E. 2013. Doğal zeolitlerin çevre kirliliği kontrolünde kullanımı. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (1): 169-174.
- Bridi, R., Troncoso, M., Folch-Cano, C., Fuentes, J., Speisky, H. and López-Alarcón, C. 2014. A polyvinylpolypyrrolidone (pvpp)-assisted folin-ciocalteu assay to assess total phenol content of commercial beverages. *Food Anal Method*, 7: 2075-2083.
- Buso, A., Balbo, L., Giomo, M., Farnia, G. and Sandona, G. 2000. Electrochemical removal of tannins from aqueous solutions. *Ind Eng Chem Res*, 39(2): 494-499.
- Can, O., Kobya, M., Demirbas, E. and Bayramoglu, M. 2006. Treatment of the textile wastewater by combined electrocoagulation. *Chemosphere*, 62(2): 181-187.
- Chhaya, Mondal, S., Majumdar, G. and De, S. 2012. Clarifications of stevia extract using cross flow ultrafiltration and concentration by nanofiltration. *Separation and Purification Technology*, 89: 125-134.
- Cemeroğlu, B. 2007. Gıda analizlerinde genel yöntemler. Gıda Analizleri, Editör: Cemeroğlu, B. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 34: 45-128.
- Cemeroğlu, B.S. 2013. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Bizim Grup Basımevi, Ankara, 707 s.
- Cevallos-Mendoza, J., Amorim, C.G., Rodríguez-Díaz, J.M. and Montenegro, M.D.C.B. 2022. Removal of contaminants from water by membrane filtration: A review. *Membranes*, 12(6): 570.
- Çalışır, Ü. 2020. Organo-modifiye karbon nanotüplerin sentezi, karakterizasyonu ve bazı uygulama alanları. Doktora tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 279 s.
- Das, A., Paul, D., Golder, A.K. and Das, C. 2015. Separation of rebaudioside-a from stevia extract: Membrane selection, assessment of permeate quality and fouling behavior in laminar flow regime. *Separation and Purification Technology*, 144: 8-15.
- Demir, E. ve Yalçın, H. 2014. Adsorbentler: Sınıflandırma, özellikler, kullanım ve öngörüler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2): 70-79.
- Demirci, Y., Pekel, L.C., Altınten, A. ve Albaz, M. 2016. Elektrokoagülasyon reaktöründe bulanık kontrol metodu ile ph, iletkenlik ve sıcaklığın eş zamanlı kontrolü. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 31(4): 987-996.
- Dıblan, S. ve Özkan, M. 2013. Çeşitli durultma yardımcı maddelerinin kırmızı şarap antosiyaninleri üzerine etkisi. *Gıda*, 38(1): 47-54.
- Do, J.-S. and Chen, M.-L. 1994. Decolourization of dye-containing solutions by electrocoagulation. *Journal of applied electrochemistry*, 24(8): 785-790.
- Emamjomeh, M.M. and Sivakumar, M. 2009. Review of pollutants removed by electrocoagulation and electrocoagulation/flotation processes. *Journal of environmental management*, 90(5): 1663-1679.
- Ferrazzano, G.F., Cantile, T., Alcidi, B., Coda, M., Ingenito, A., Zarrelli, A., Di Fabio, G. and Pollio, A. 2015. Is *stevia rebaudiana bertonii* a non cariogenic sweetener? A review. *Molecules*, 21(1): 38.

- Fuh, W.S. and Chiang, B.H. 1990. Purification of steviosides by membrane and ion exchange processes. *J Food Sci*, 55(5): 1454-1457.
- 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.
- Gardana, C., Scaglianti, M. and Simonetti, P. 2010. Evaluation of steviol and its glycosides in *stevia rebaudiana* leaves and commercial sweetener by ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1217(9): 1463-1470.
- Gasmalla, M.a.A., Yang, R. and Hua, X. 2014. *Stevia rebaudiana* Bertoni: An alternative sugar replacer and its application in food industry. *Food Eng Rev*, 6: 150-162.
- Geuns, J.M. 2003. Stevioside. *Phytochemistry*, 64(5): 913-921.
- Giovanetto, R.H. 1990. Method for the recovery of steviosides from plant raw material. *Google Patents*.
- Goyal, S., Samsher, N. and Goyal, R. 2010. Stevia (*stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: A review. *Int J Food Sci Nutr*, 61(1): 1-10.
- Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S. and Rai, G. 2013. Nutritional and therapeutic values of *stevia rebaudiana*: A review. *J Med Plants Res*, 7(46): 3343-3353.
- Gül, A. ve Tiyek, İ. 2022. Membran teknolojileri ve membran teknolojilerinin elektrospinning yöntemi ile nano lif üretimi üzerine literatür taraması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25(3): 183-211.
- Gündoğdu, P. 2020. Yeraltı sularından perklorat ve nitrat'ın membran filtrasyonu ile giderimi. Yüksek lisans tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, 73 s.
- Güney, S. 2013. Elektrokoagülasyon prosesinin çevre mühendisliğindeki uygulamaların araştırılması. Yüksek lisans tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 97 s.
- Gürbüz, G. 2015. Deri endüstrisi atık sularının elektrokoagülasyon ve elektrofenton yöntemleri ile arıtımında rsm kullanılarak proses optimizasyonu. Yüksek lisans tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 120 s.
- Gürsoy-Haksevenler, B.H. ve Arslan-Alaton, İ. 2012. Karasuyun koagülasyon, elektrokoagülasyon ve fenton prosesleri ile kimyasal arıtılabilirliği. *Su Kirlenmesi Kontrolü Dergisi*, 22(1): 11-21.
- Hakizimana, J.N., Gourich, B., Chafi, M., Stiriba, Y., Vial, C., Drogui, P. and Naja, J. 2017. Electrocoagulation process in water treatment: A review of electrocoagulation modeling approaches. *Desalination*, 404: 1-21.
- Holt, P.K. 2002. Electrocoagulation: Unravelling and synthesising the mechanisms behind a water treatment process. PhD Thesis, University of Sydney, Sydney, 221 p.
- Hossain, M., Islam, M., Islam, M. and Akhtar, S. 2017. Cultivation and uses of stevia (*stevia rebaudiana bertoni*): A review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 17(4): 12745-12757.

- 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.
- Jonnala, K.K., Kiran, B.G.D., Kaul, V.K., Ahuja, P.S. 2006. Process for production of stevosides from *stevia rebaudiana bertonii*. *Google Patents*.
- Joshi, J., Gautam, A. and Gautam, S. 2022. Isolation and purification of stevioside from stevia leaves. *Chemical and Process Engineering*, 43(2): 193-202.
- Jumpatong, K., Phutdhawong, W. and Buddhasukh, D. 2006. Dechlorophyllation by electrocoagulation. *Molecules*, 11(2): 156-162.
- Kaplan, B. and Turgut, K. 2019. Improvement of rebaudioside a diterpene glycoside content in *stevia rebaudiana bertonii* using clone selection. *Turk J Agric For*, 43(2): 232-240.
- Karadaş, K. 2019. Çeşitli atıklardan elde edilen kompozit malzemelerin adsorpsiyon ve fotokatalitik uygulamaları. Yüksek lisans tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya, 104 s.
- Karageorgakis, S. and Pattas, K. 2022. Evaluation of electrocoagulation process for stevia extract treatment and development of electrocoagulation reactor. *Available at SSRN 4118421*:1-11.
- Karagöz, Ş. ve Demirdöven, A. 2018. *Stevia rebaudiana* bitkisinin tatlandırıcı, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri. *Akademik Gıda*, 16(4): 431-438.
- Kartal, Z., Hancı, T.Ö. ve Alaton, İ.A. 2008. Bir zeytinyağı karasuyunun koagülasyon ve elektrokoagülasyon prosesleriyle kimyasal arıtılabilirliğinin incelenmesi. *Su Kirlenmesi Kontrolü Dergisi*, 18(2-3): 3-12.
- Kaushik, R., Narayanan, P., Vasudevan, V., Muthukumaran, G. and Usha, A. 2010. Nutrient composition of cultivated stevia leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 47: 27-33.
- Kılıç, M., Kılıç, S., Pamukoğlu, M.Y., Kırkan, B. ve Erkamaz, T. 2023. Element, pesticide and ion pollutants determination and method validation in Egirdir Lake/Turkey. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 11(3): 1154-1166.
- Kinghorn, A.D. and Soejarto, D.D. 1985. Current status of stevioside as a sweetening agent for human use. *Economic and medicinal plant research/edited by H Wagner, Hiroshi Hikino, Norman R Farnsworth*.
- Kouar, J., Lamsaddek, A., Bencheikroun, R., El Amrani, A., Cherif, A., Ould Bellahcen, T. and Kamil, N. 2019. Comparison between electrocoagulation and solvent extraction method in the process of the dechlorophyllation of alcoholic extracts from moroccan medicinal plants *petroselinum crispum*, *thymus satureioides* and *microalgae spirulina platensis*. *SN Applied Sciences*, 1: 1-9.
- Krop, J. and Pilnik, W. 1974. Effect of pectic acid and bivalent cations on cloud loss of citrus juice. *LWT Lebensmitt Wissensch Technol*, 7: 62-73.
- Kulcan, A.A. 2016. *Stevia (stevia rebaudiana)* bitkisinin tatlı bileşiklerinin dekantör ekstrasyonu yöntemiyle elde edilmesi. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi,

Antalya, 126 s.

- Kumar, S. and Jain, S. 2013. History, introduction, and kinetics of ion exchange materials. *Journal of chemistry*, 2013: 1-13
- Laborde, B., Moine-Ledoux, V., Richard, T., Saucier, C., Dubourdieu, D. and Monti, J.-P. 2006. Pvp-polyphenol complexes: A molecular approach. *J Agr Food Chem*, 54(12): 4383-4389.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L. and Ah-Hen, K. 2012. *Stevia rebaudiana* bertonii, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem*, 132(3): 1121-1132.
- Lester, T. 1999. *Stevia rebaudiana* sweet leaf. *The Australian New Crops Newsletter*, 11(1).
- Li, J., Chen, Z. and Di, D. 2012. Preparative separation and purification of rebaudioside a from *stevia rebaudiana* bertonii crude extracts by mixed bed of macroporous adsorption resins. *Food Chem*, 132(1): 268-276.
- Liu, Y., Di, D., Bai, Q., Li, J., Chen, Z., Lou, S. and Ye, H. 2011. Preparative separation and purification of rebaudioside a from steviol glycosides using mixed-mode macroporous adsorption resins. *J Agr Food Chem*, 59(17): 9629-9636.
- Lv, X., Kuang, P., Yuan, Q., Liang, H. and Zheng, G. 2014. Preparative separation of steviol glycosides from *stevia rebaudiana* bertonii by macroporous resin and preparative hplc. *Acta Chromatogr*, 26(1): 123-135.
- Madenli, Ö., Deveci, E.U. ve Gönen, Ç. 2021. Ağır metal gideriminde grafen uygulamaları adsorpsiyon teknolojisi. *Fırat Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 33(1): 151-159.
- Mishra, P., Singh, R., Kumar, U. and Prakash, Y.V. 2010. *Stevia rebaudiana*—a magical sweetener. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 5(1): 62-74.
- Mızrak, G. 2020. Şeker otu: Stevia. Gürbüz Mızrak, Ankara, 63 s.
- Mollah, M.Y.A., Schennach, R., Parga, J.R. and Cocke, D.L. 2001. Electrocoagulation (ec)—science and applications. *J Hazard Mater*, 84(1): 29-41.
- Mollah, M.Y., Morkovsky, P., Gomes, J.A., Kesmez, M., Parga, J. and Cocke, D.L. 2004. Fundamentals, present and future perspectives of electrocoagulation. *J Hazard Mater*, 114(1-3): 199-210.
- Moral, E. 2006. Farklı iyon değiştirici reçineler ve doğal adsorbentlerle hazırlanan katı-faz kolonlarla krom türleri tayini. Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 49 s.
- Mrozowski, J. and Zielinski, J. 1983. Studies of zinc and lead removal from industrial wastes by electrocoagulation. *Environ Prot Eng*, 9: 77-85.
- Mulyanti, S. 2018. Optimasi klarifikasi ekstrak air *stevia rebaudiana* (bert.) dengan metode elektrokoagulasi menggunakan elektroda Al dan Zn. Program Studi Fisika FSM-UKSW, Universitas Kristen Satya Wacana, Jawa Tengah.
- Nawarkar, C. and Salkar, V. 2019. Solar powered electrocoagulation system for

- municipal wastewater treatment. *Fuel*, 237: 222-226.
- Onay, M. 2017. Sabit yataklı kolonda boya adsorpsiyonu uygulamaları ve modelleme çalışmaları. Yüksek lisans, İnönü Üniversitesi, Malatya, 88 s.
- Öğütçü, Ö. 2007. Doğal adsorbent maddelerin iyonik ve moleküler adsorpsiyon özellikleri. Yüksek lisans tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 105 s.
- Özdemir, İ. 2018. Peyniraltı suyunun işlenmesinde membran filtrasyon yöntemlerinin uygulanması. Yüksek lisan tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 121 s.
- Panpatil, V.V. and Polasa, K. 2008. Assessment of stevia (*stevia rebaudiana*)--natural sweetener: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 45(6): 467.
- Papadopoulos, K.P., Economou, C.N., Tekerlekopoulou, A.G. and Vayenas, D.V. 2020. Two-step treatment of brewery wastewater using electrocoagulation and cyanobacteria-based cultivation. *Journal of environmental management*, 265: 110543.
- Peteliuk, V., Rybchuk, L., Bayliak, M., Storey, K.B. and Lushchak, O. 2021. Natural sweetener *stevia rebaudiana*: Functionalities, health benefits and potential risks. *EXCLI journal*, 20: 1412.
- Pouet, M.-F. and Grasmick, A. 1995. Urban wastewater treatment by electrocoagulation and flotation. *Water science and technology*, 31(3-4): 275-283.
- Pribadi, F.A.Y. 2009. Optimasi jarak elektroda dan voltase pada deklorofilasi secara elektrokoagulasi pada ekstrak daun stevia (*stevia rebaudiana bertonii m*) dengan metode desain faktorial. Skripsi thesis, Sanata Dharma University, Yogyakarta, 102 p.
- Renk, R.R. 1988. Electrocoagulation of tar sand and oil shale wastewaters. *Energy progress*, 8(4): 205-208.
- Savita, S., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. and Ramakrishna, P. 2004. *Stevia rebaudiana*—a functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*, 15(4): 261-264.
- Serio, L. 2010. *Stevia rebaudiana*, an alternative to sugar. *Phytothérapie*, 8: 26-32.
- Singh, S. and Rao, G. 2005. Stevia: The herbal sugar of 21 st century. *Sugar Tech*, 7: 17-24.
- Soejarto, D., Compadre, C.M., Medon, P., Kamath, S. and Kinghorn, A.D. 1983. Potential sweetening agents of plant origin. Ii. Field search for sweet-tasting stevia species. *Econ Bot*, 37: 71-79.
- Soylu, M. ve Gökkuş, Ö. 2017. Türkiye'deki doğal zeolitler ve iyon değişimi uygulamaları. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 6(1): 11-20.
- Spanos, G.A. and Wrolstad, R.E. 1992. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage. A review. *J Agr Food Chem*, 40(9): 1478-1487.
- Tadhani, M. and Subhash, R. 2006. Preliminary studies on *Stevia rebaudiana* leaves: proximal composition, mineral analysis and phytochemical screening. *J. Med.*

- Sci, 6 (3): 321-326.
- Tajchakavit, S., Boye, J., Bélanger, D. and Couture, R. 2001. Kinetics of haze formation and factors influencing the development of haze in clarified apple juice. *Food Res Int*, 34(5): 431-440.
- Thomas, J.E. and Glade, M.J. 2010. Stevia: Its not just about calories. *The Open Obesity Journal*, 2(1): 101-109.
- Tulun, Ş. ve Bilgin, M. 2017. Sızıntı sularında çeşitli kirleticilerin elektrokoagülasyon yöntemiyle gideriminin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 23(9): 1055-1058.
- Turgut, K., Ucar, E., Tutuncu, B. and Ozyigit, Y. 2015. *Stevia rebaudiana* bertonii could be an alternative crop in the mediterranean region of Turkey. Stevia: Growth in Knowledge and Taste, Proceedings of the 8th EUSTAS Stevia Symposium, ss. 43-52.
- Tünay, O., Metin, E., Kabdaşlı, I. ve Ölmez-Hancı, T. 2010. Elektrokoagülasyon prosesi ile üretilen arıtma çamurlarının reaktif boyar madde gideriminde adsorbent olarak kullanılabilirliği. *Su Kirlenmesi Kontrolü Dergisi*, 20(1): 49-56.
- Türkoğlu, G. 2007. Dispers boya banyo atık sularının elektrokoagülasyon ile arıtılabilirliğinin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 102 s.
- Tütün, K., Utlu, Z., ve Büyükkakıncı, B. Y. 2017. Eloksal kaplama tesislerinde atık su ve hammadde geri kazanımının önemi. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 12(47): 93-112.
- Ümmetoğlu, D. 2021. Sentetik iyon değiştirici reçineler kullanılarak sulu çözeltilerden bazı boyar maddeler ve cr (vi) giderimi. Yüksek lisans tezi, Konya Teknik Üniversitesi, Konya, 102 s.
- Ünver, A. ve Aksu, F. 2011. Endüstride su güvenliği, dezenfeksiyon ve sanitasyonu. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, (21): 17-29.
- Vanneste, J., Sotto, A., Courtin, C., Van Craeyveld, V., Bernaerts, K., Van Impe, J., Vandeur, J., Taes, S. and Van Der Bruggen, B. 2011. Application of tailor-made membranes in a multi-stage process for the purification of sweeteners from *stevia rebaudiana*. *J Food Eng*, 103(3): 285-293.
- Veli, S., Özbay, B., Özbay, İ., Arslan, A. ve Çebi, E. 2018. Elektrokoagülasyon prosesi ile gıda endüstrisi atık suyunun arıtımında optimum koşulların belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2): 932-936.
- Wang, H. and Zhou, H. 2013. Understand the basics of membrane filtration. *Chemical Engineering Progress*, 109(4): 33-40.
- Wang, J. and Wan, Z. 2015. Treatment and disposal of spent radioactive ion-exchange resins produced in the nuclear industry. *Progress in Nuclear Energy*, 78: 47-55.
- Yadav, A.K., Singh, S., Dhyani, D. and Ahuja, P.S. 2011. A review on the improvement of stevia [*stevia rebaudiana* (bertoni)]. *Can J Plant Sci*, 91(1): 1-27.
- Yarmuhammet, G. 2012. Tekstil atık sularının membran prosesleri ile geri kazanımında ön arıtmaların etkisi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul,

248 s.

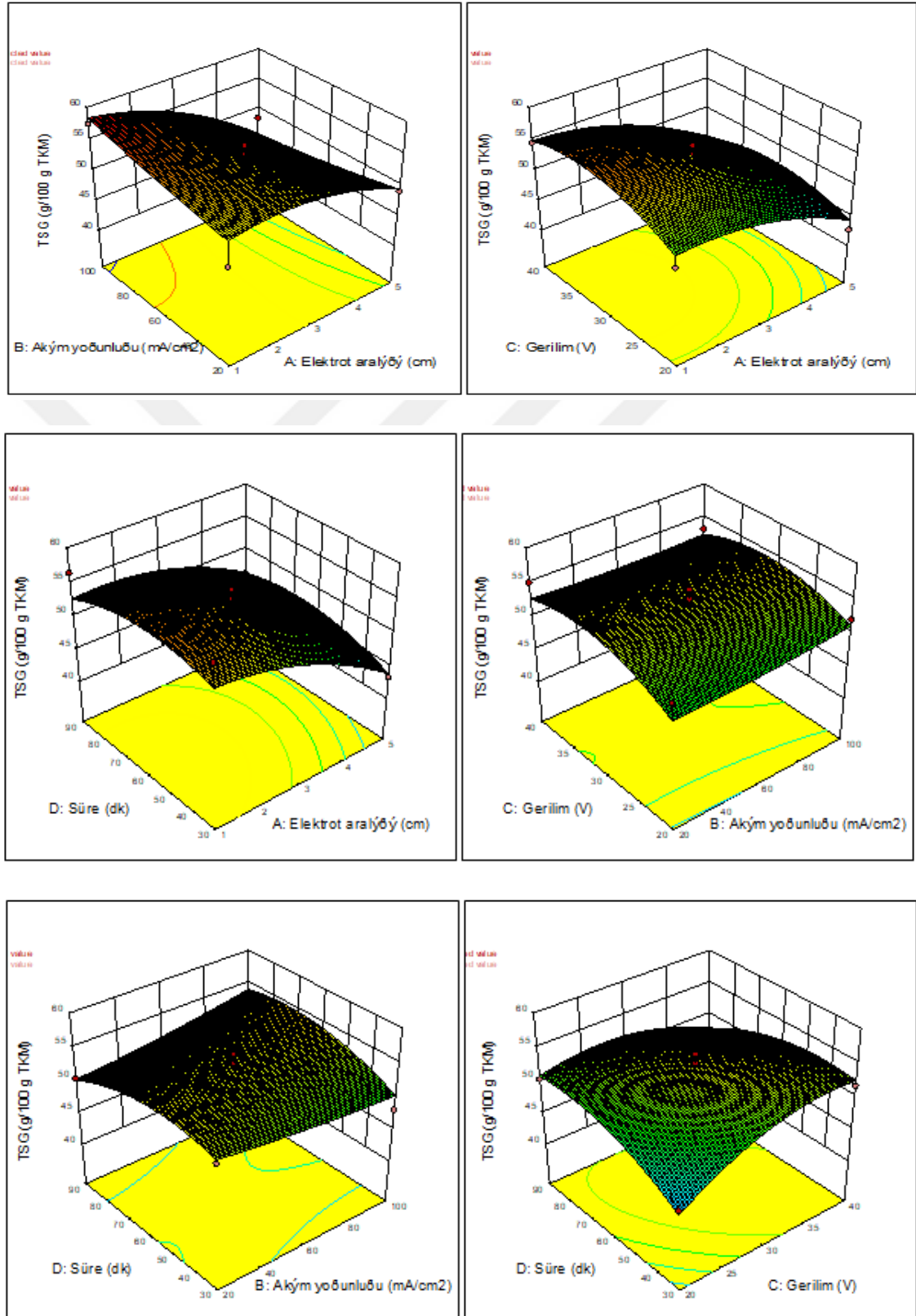
Yılmaz, Z. ve Karagözoğlu, M.B. 2019. Atık suların arıtılmasında elektrokoagülasyon uygulamaları. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1): 319-334.

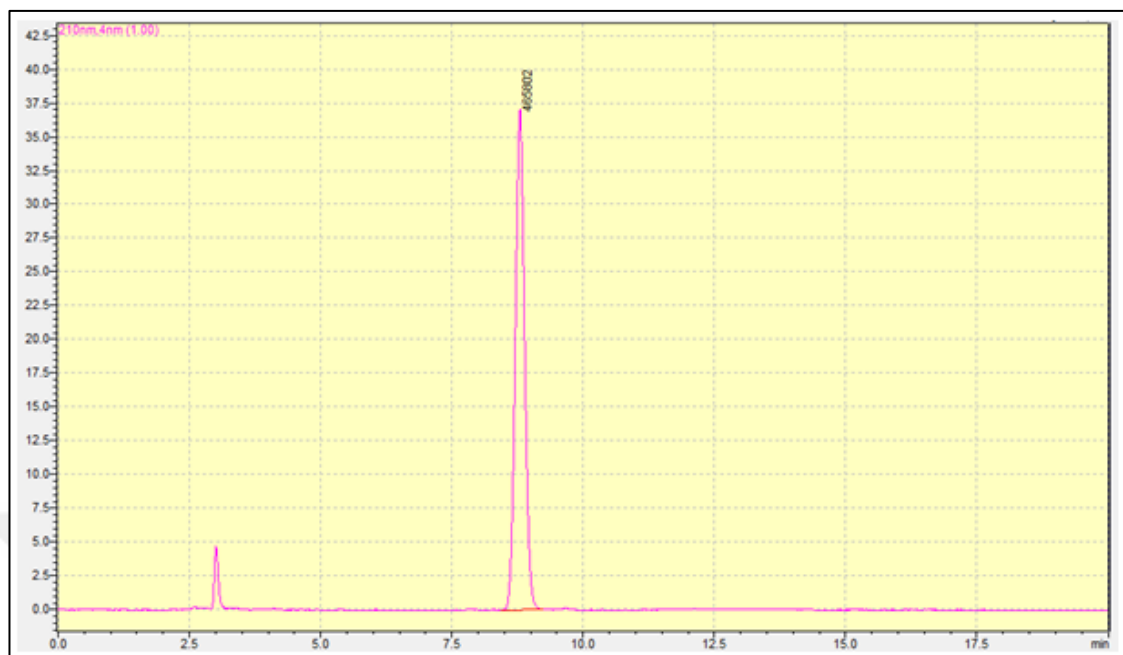
Yurtoğlu, A. 2007. Türk klinoptilolitlerinin mineralojik özelliklerinin iyon değişimi yöntemiyle amonyum giderim kapasitesi üzerindeki etkileri. Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 172 s.

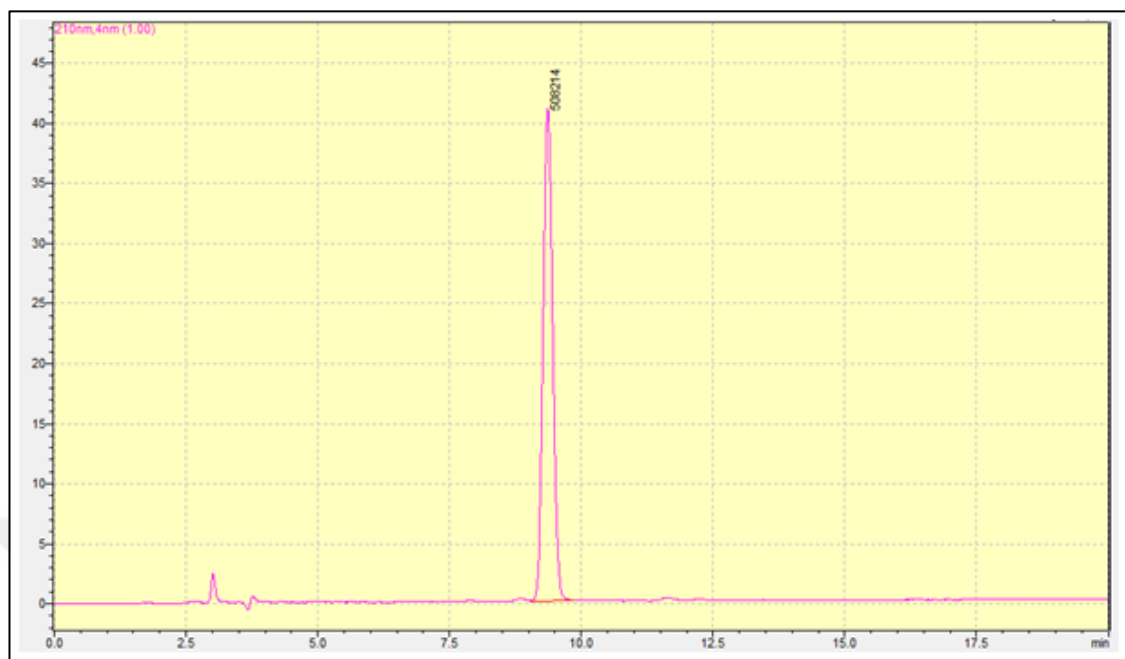


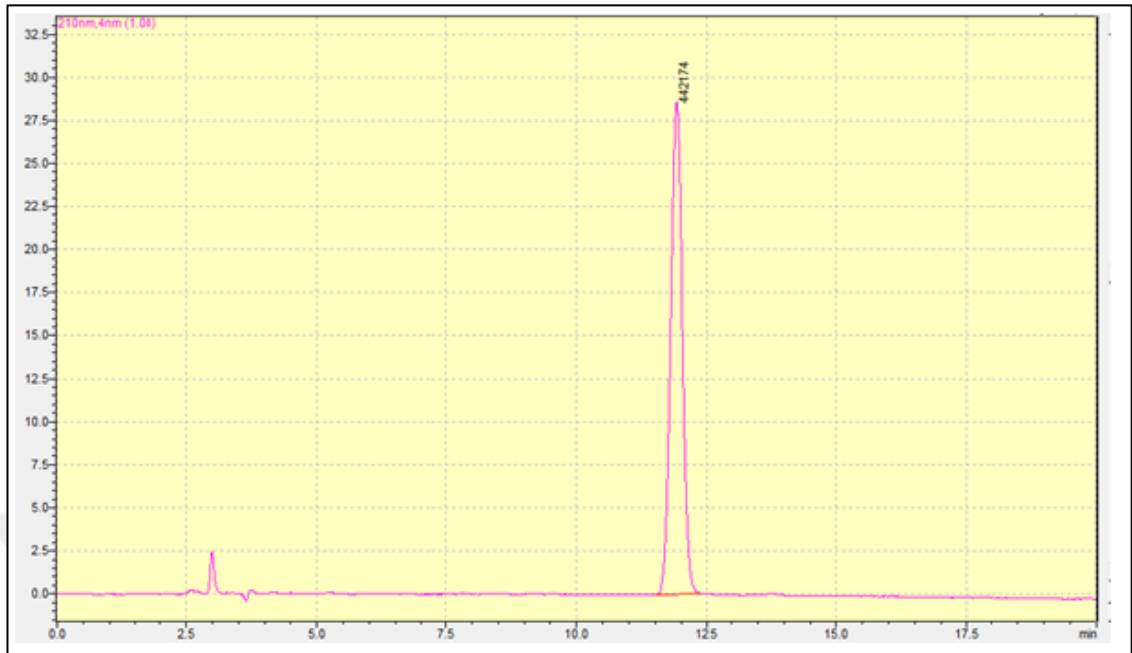
7. EKLER

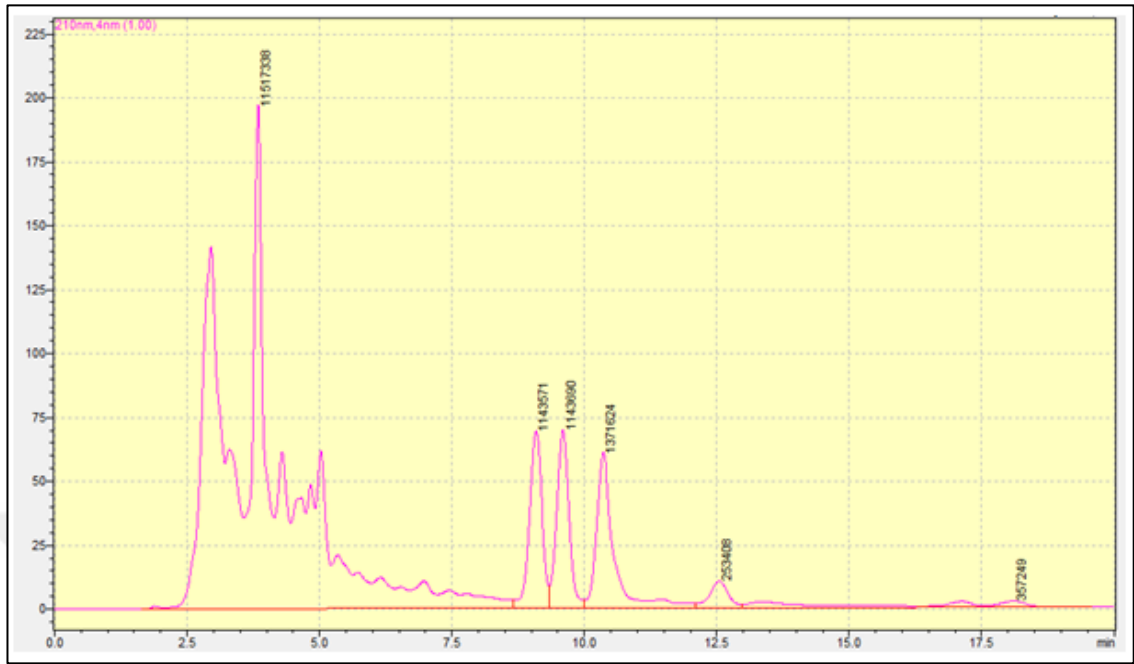
EK-1. Elektrokoagülasyon parametrelerine ait cevap yüzey grafikleri



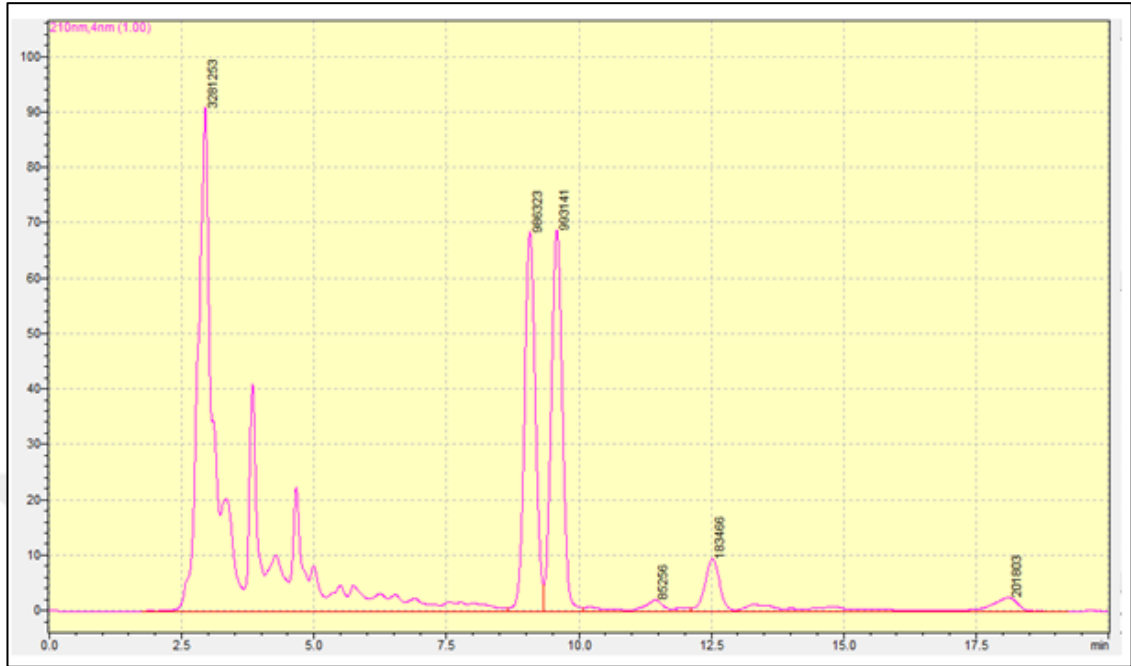
EK-2. Reb A standartına ait kromatogram (200 ppm)

EK-3. Steviosit standartına ait kromatogram (192 ppm)

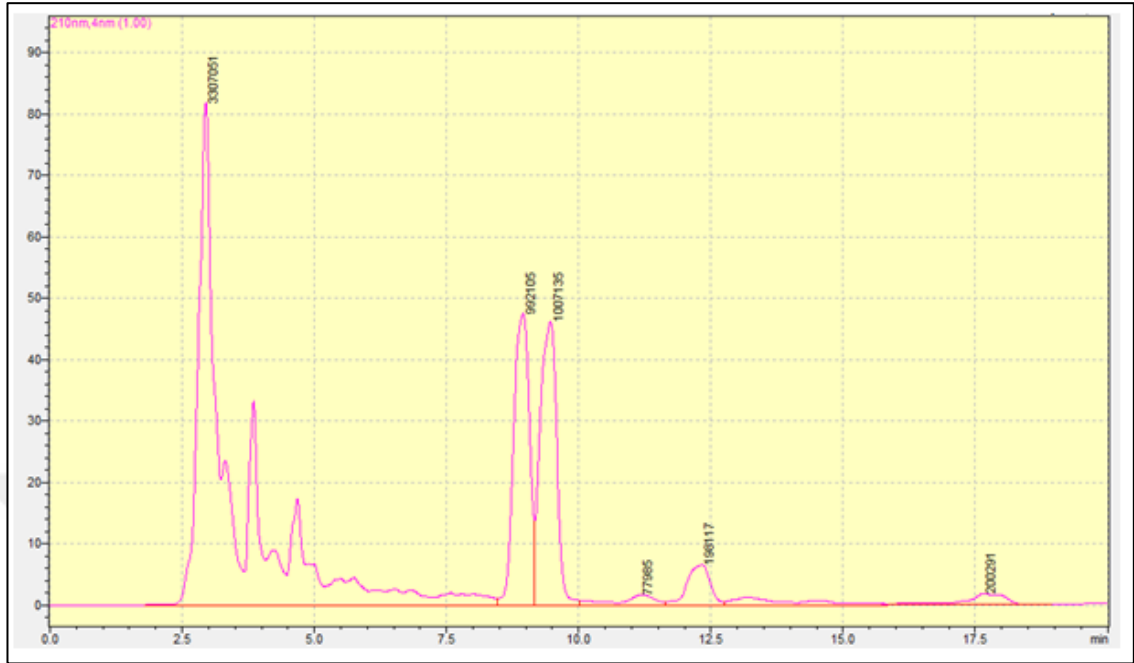
EK-4. Reb C standartına ait kromatogram (192 ppm)

EK-5. Ham stevia ekstraktına ait steviol glikozit dağılımı kromatogramı

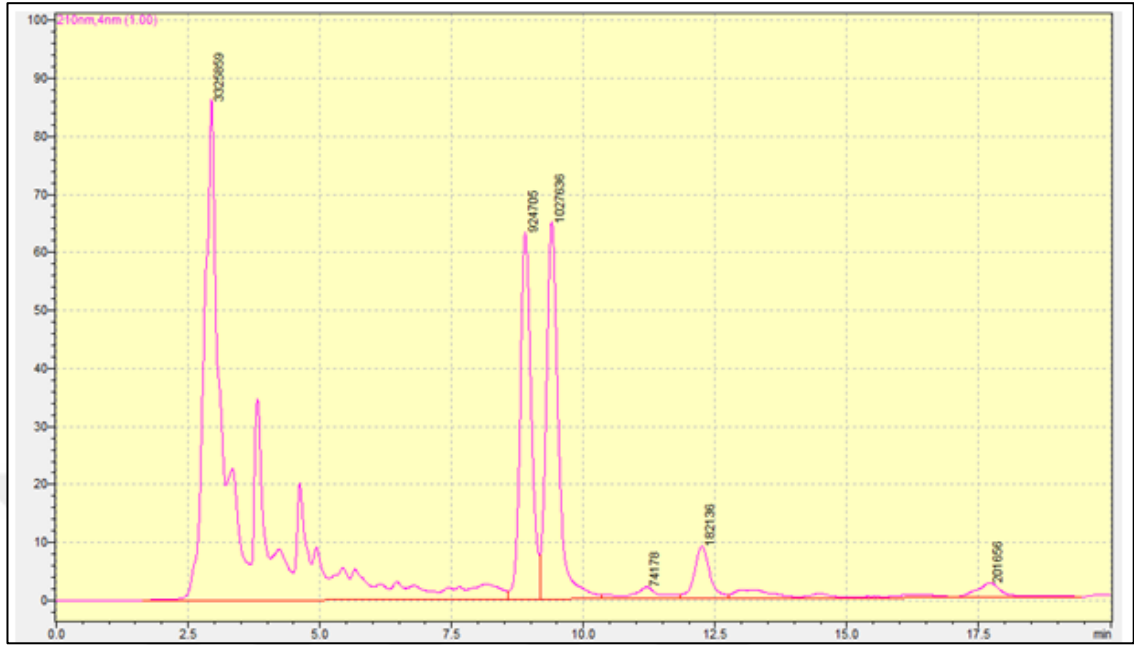
EK-6. Optimum elektrot [Al(+)/Ç(-)] grubunun uygulandığı ekstrakta ait steviol glikozit kromatogramı



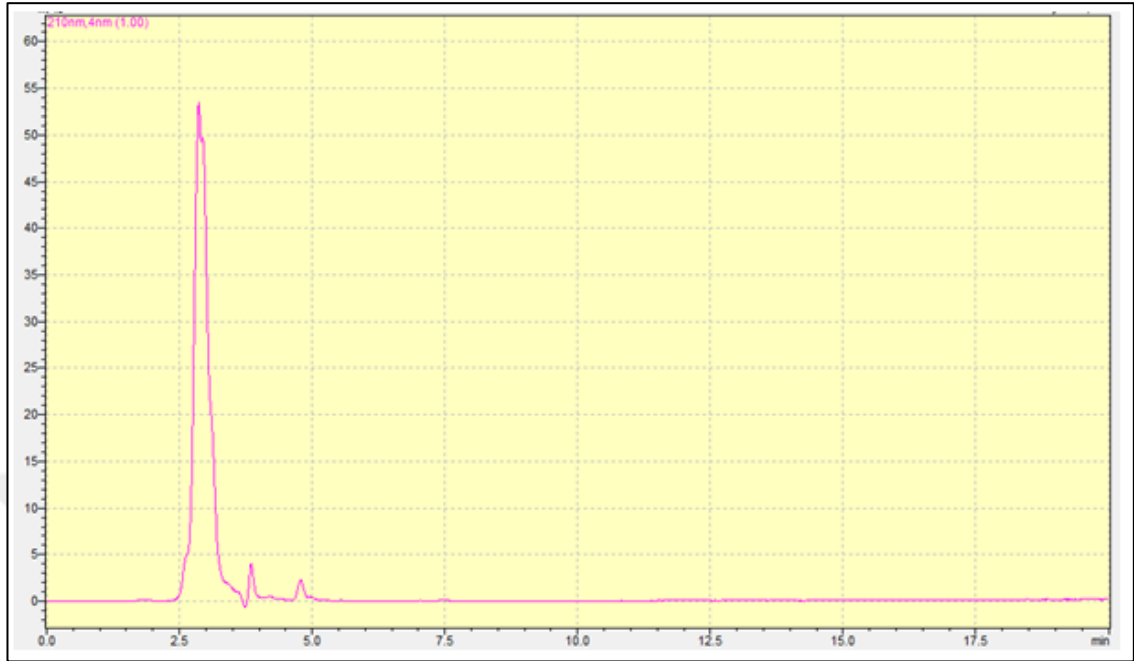
EK-7. Optimum EK parametreleri uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram



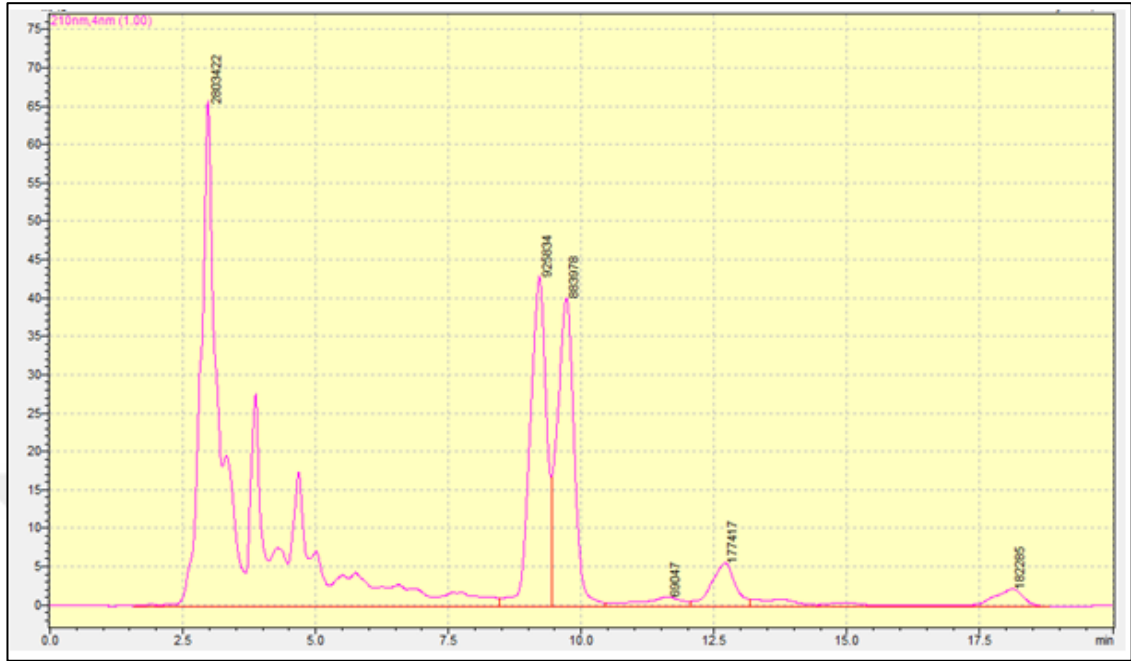
EK-8. Optimum PVPP uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram

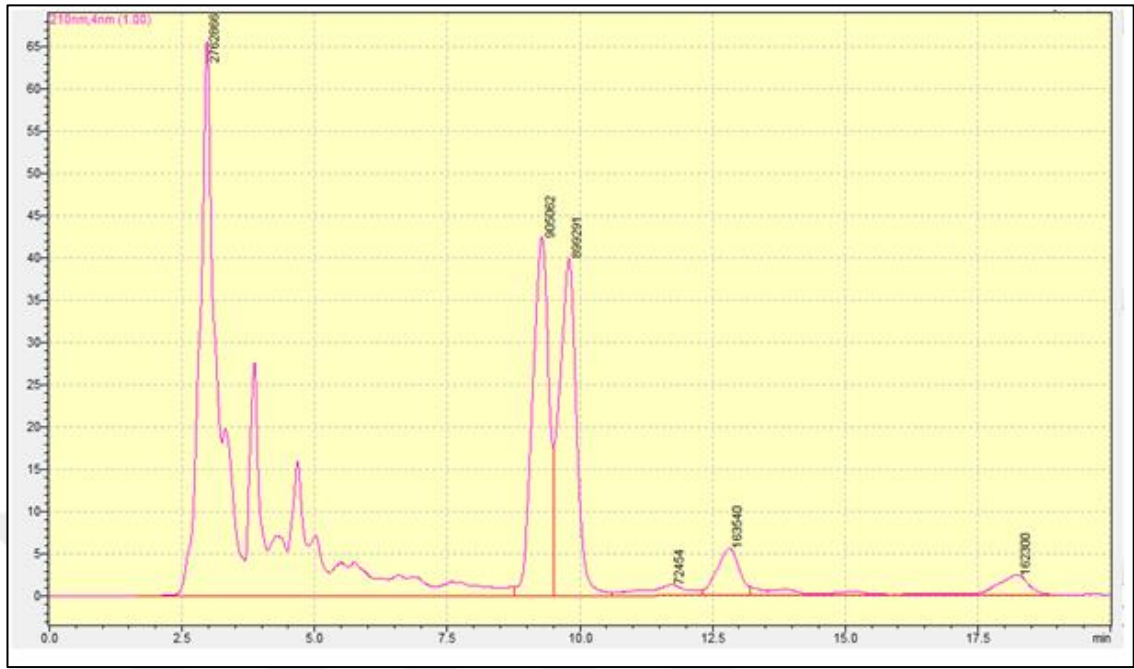


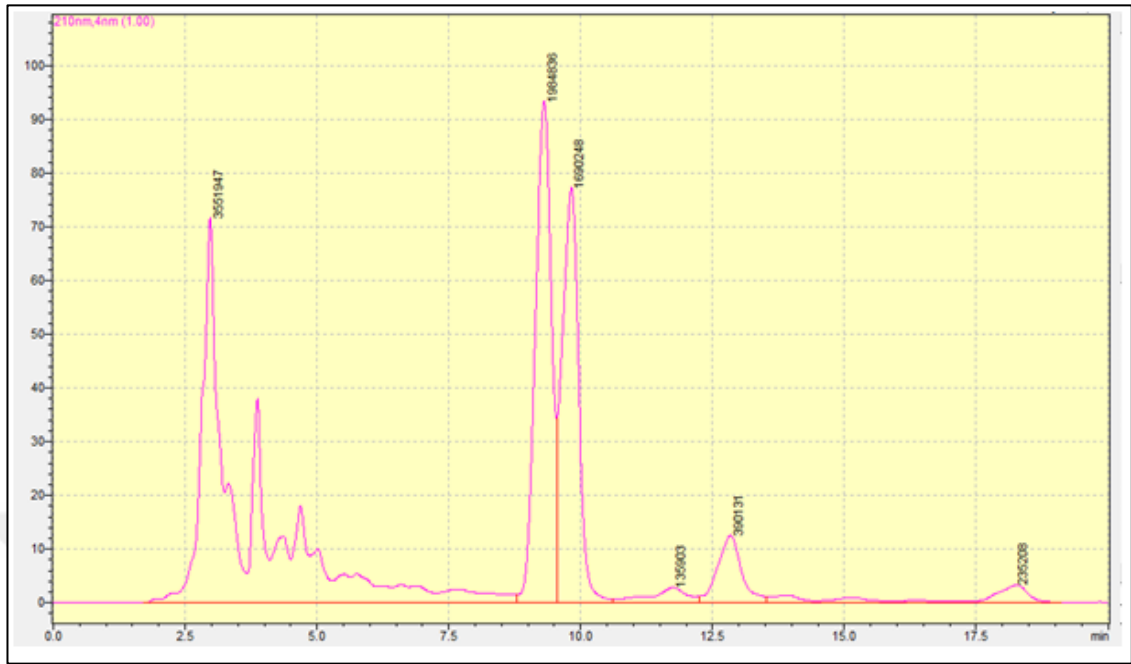
EK-9. PAD1200 uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram



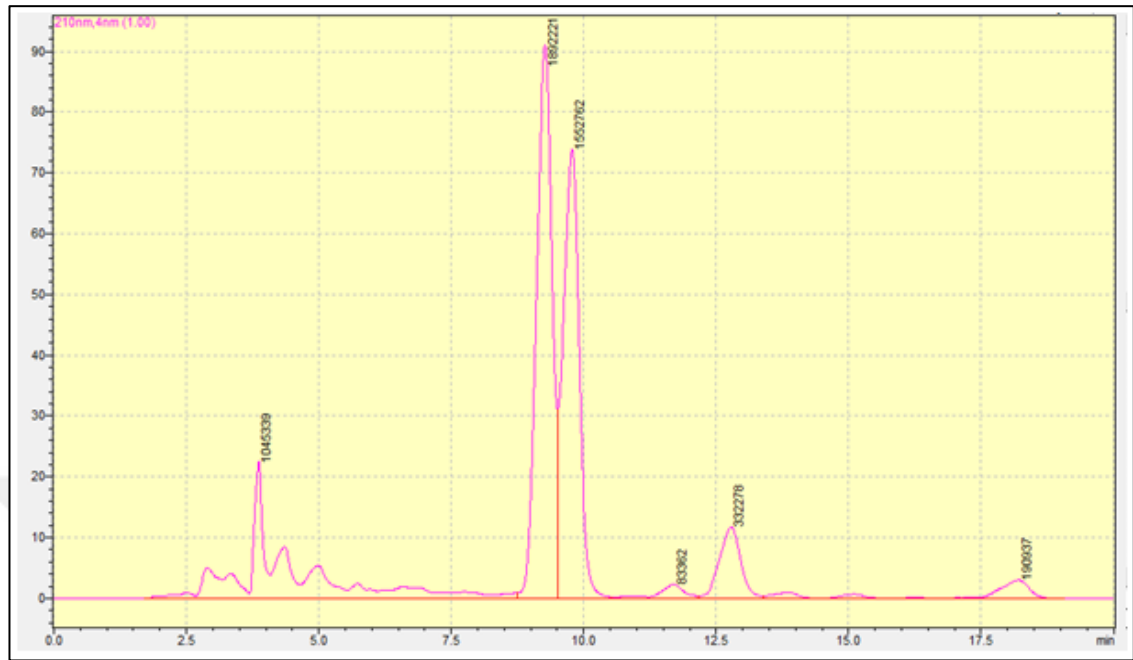
EK-10. EK Al(+)/Al(-) elektrot grubu uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram



EK-11. 30 kDa P akısına ait steviol glikozit dağılımı kromatogramı

EK-12. 5 kDa R akısına ait steviol glikozit dağılımı kromatogramı

EK-13. KYR uygulaması sonrasında ekstrakttaki steviol glikozit dağılımına ait kromatogram



EK-14. Reb A, steviosit ve reb C bileşenlerine ait ölçüm limiti (LOQ) ve tespit limiti (LOD) değerleri

Bileşen	LOQ (mg/L)	LOD (mg/L)
Reb A	1,43	0,47
Steviosit	1,78	0,59
Reb C	2,09	0,69

ÖZGEÇMİŞ

AHMET HACIOĞLU

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2018-2024	Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2015-2017	Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2011-2015	Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Turgut, K., Karhan, M., Hacıoğlu, A., Yıldız, M. and Unal, N. (2021). Effects of different harvest times and leaf positions on steviol glycosides content in *stevia rebaudiana* bertonii under mediterranean climate conditions. Fresenius environmental bulletin, 30(9):10522-10529.

2- Kulcan, A.A., Assoumou, U.Z., Aygün, M., Şirin, K., Yıldız, D., Necihan, K., Hacıoğlu, A. and Karhan, M. (2021). Impact of carob extract supplementation on chemical and sensory properties of yogurt and ice cream. Gıda, 46(4): 980-991. Doi: 10.15237/gida.GD21043.

3- Hacıoğlu, A., Assoumou, U., Yıldız, M., Kulcan, A., Yavuz, I. and 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. Doi: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i9.1846-1853.3429>.

Kitap/Kitapta bölüm

1- Karhan, M. ve Hacıoğlu, A. 2022. Meyve sebze üretim teknolojisi-Meyve suyu üretim teknolojisi. Şanlıbaba, P. ve Güçer, Y. (Ed.), Endüstriyel Gıda Üretim Teknikleri. Nobel Akademik Yayıncılık, s. 703-723.

