T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BROKOLİDEKİ BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN MEMBRAN PROSESLERİ İLE KAZANILMASI

EMEL YILMAZ

DOKTORA TEZİ

UYGULAMALI BİLİMLER VE TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: DOÇ. DR. PELİN ONSEKİZOĞLU BAĞCI

EDİRNE-2019

EMEL YILMAZ'ın hazırladığı "BROKOLİDEKİ BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN MEMBRAN PROSESLERİ İLE KAZANILMASI" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Uygulamalı Bilimler ve Teknoloji Anabilim Dalında bir Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):	İmza
Prof. Dr. A. Zeynep KATNAŞ	.....
Prof. Dr. Metin AYDOĞDU	.....
Prof. Dr. Gürbüz GÜNEŞ	.....
Doç. Dr. Pelin ONSEKİZOĞLU BAĞCI	.....
Dr. Öğr. Üyesi Buket AŞKIN	.....

Tez Savunma Tarihi: 24/05/2019

Bu tezin Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Doç. Dr. Pelin ONSEKİZOĞLU BAĞCI
Tez Danışmanı

.....

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

.....
Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UYGULAMALI BİLİMLER VE TEKNOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

24/05/2019

EMEL YILMAZ



Doktora Tezi

Brokolideki Biyoaktif Bileşenlerin Membran Prosesleri ile Kazanılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Uygulamalı Bilimler ve Teknoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada ısıya duyarlı biyoaktif bileşenlerin brokoliden geri kazanılmasında geleneksel ekstraksiyon ve konsantrasyon yöntemlerine alternatif olarak ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon proseslerinin kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Bu amaçla, brokoli suyu farklı molekül ağırlığı ayırma sınırına (MWCO) sahip ultrafiltrasyon membranlarından kademeli olarak geçirilmiş ve elde edilen permeatlar ozmotik distilasyonla konsantre edilerek biyoaktif bileşen bakımından zenginleştirilmiştir.

Ultrafiltrasyonda kullanılan membranların performansları akı-zaman grafiği ve seri direnç analizi sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. 50 kDa ve 10 kDa membranda akı azalmasının başlıca sebebinin kirlenme etkileri olduğu, 5 kDa membranda ise kek tabakası oluşumu olduğu belirlenmiştir. Seri direnç analizine göre; en büyük toplam dirence sahip olan 10 kDa membranda en önemli kirlenme mekanizması geri dönüşümsüz kirlenmedir.

Ultrafiltrasyon membranlarının MWCO değerinin ve ozmotik distilasyon prosesinin örneklerin kalite özellikleri üzerine etkileri de değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, permeat, retentat ve konsantre örneklerine sulforafan, fenolik bileşik, C vitamini, toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite analizleri yapılmıştır. Ayrıca °Briks, pH, toplam asitlik, organik asit ve renk analizleri de gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşikler ultrafiltrasyon membranlarında farklı oranlarında alıkonulmuştur. Rutin, yapısında daha fazla sayıda hidroksil grup ve benzen halkası içerdiğinden bütün ultrafiltrasyon membranlarında en fazla alıkonulan fenolik bileşik olmuştur. Sulforafan molekülü küçük ve net yükü sıfır olduğu için, bütün membranlarda permeat fazında tamamen geri kazanılmıştır. Askorbik asit ise 10 kDa ve 5 kDa membranlarda korunurken, 50 kDa membranda önemli oranda azalmıştır. Toplam antioksidan aktivite ultrafiltrasyonda yaklaşık %90 düzeyinde korunmuştur. Ultrafiltrasyonda kullanılan 50 kDa membran ile biyoaktif bileşikler ön işlem görmüş brokoli suyu örneğine göre önemli derecede korunurken, 10 kDa membran özellikle fenolik bileşikler üzerinde önemli azalmalara sebep olmuştur. Biyoaktif bileşen bakımından en zengin içeriğe sahip ultrafiltrasyon permeatının 50 kDa permeat örneği olduğu saptanmıştır.

Biyoaktif bileşikler ve toplam antioksidan aktivite ozmotik distilasyon ile yaklaşık 6 kat konsantrasyon sırasında önemli ölçüde korunmuştur. Sonuç olarak, çalışma kapsamında, geleneksel ekstraksiyon ve konsantrasyon yöntemlerine alternatif olarak

entegre ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon sistemi kullanılarak brokolideki biyoaktif bileşikler kazanılmış ve fenolik madde, sulforafan, C vitamini gibi biyoaktif bileşenler bakımından zengin, yüksek antioksidan aktiviteye sahip brokoli suyu konsantreleri elde edilmiştir.

Yıl : 2019

Sayfa Sayısı : 114

Anahtar Kelimeler : Brokoli, biyoaktif bileşik, sulforafan, fenolik bileşik, geri kazanım, ultrafiltrasyon, seri direnç, ozmotik distilasyon.

Doctoral Thesis

Recovery of Bioactive Compounds in Broccoli By Membrane Processes

Trakya University Institute of Natural Sciences

Department of Applied Sciences and Technology

ABSTRACT

In this study, utilization potential of ultrafiltration and osmotic distillation processes as an alternative to conventional extraction and concentration methods so as to recover heat-sensitive bioactive compounds from broccoli was investigated. For this purpose, broccoli juice was sequentially passed through ultrafiltration membranes with different molecular weight cut-off (MWCO) and the permeates obtained were enriched by further concentrating the bioactive compounds using osmotic distillation.

The performances of the membranes used in ultrafiltration were evaluated according to the results of the flux vs. time graphs as well as the analysis of series resistances. The main reason in flux decline was fouling effects for 50 kDa and 10 kDa membranes while, the formation of cake layer was prominant for 5 kDa membrane. According to resistance in series model, the most important fouling mechanism was irreversible fouling for 10 kDa membrane with the largest total resistance.

The effects of MWCO value of the ultrafiltration membranes and the osmotic distillation process on quality were also evaluated. In this context, sulforafan, phenolic compound, vitamin C, total phenolic compounds and total antioxidant activity analyses were performed on the permeate, retentate and concentrated samples. In addition, °Brix, pH, total acidity, organic acid and color analyses were also carried out. Phenolic compounds were retained at different ratios in ultrafiltration membranes. Rutin was the most retained phenolic compound by all ultrafiltration membranes, due to higher number of hydroxyl groups and benzene rings in its molecular structure. Since sulforaphane was a small molecule and its total charge was zero, sulforaphane was completely recovered in the permeate stream of all membranes Ascorbic acid was preserved in 10 kDa and 5 kDa membranes while it was significantly decreased in 50 kDa membrane. Total antioxidant activity was maintained at approximately 90% during ultrafiltration. While the bioactive compounds of pretreated broccoli juice were significantly preserved through the 50 kDa membrane, the 10 kDa membrane caused significant decline particularly in phenolic compounds. The ultrafiltration permeate with the richest content in bioactive compounds was found to be 50 kDa permeate sample.

Bioactive compounds and total antioxidant activity were significantly preserved during approximately 6-fold concentration by osmotic distillation. As a result, within the scope of the study, bioactive compounds in broccoli were obtained by using integrated ultrafiltration and osmotic distillation system, as an alternative to traditional extraction and concentration methods and broccoli juice concentrates were obtained with high

antioxidant activity rich in bioactive compounds such as phenolics, sulforaphane, vitamin C content.

Year : 2019

Number of Pages : 114

Keywords : Broccoli, bioactive compound, sulforaphane, phenolic compound, recovery, ultrafiltration, resistance in series, osmotic distillation.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince danışmanlığımı üstlenerek değerli fikirleriyle beni yönlendiren, ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Pelin ONSEKİZOĞLU BAĞCI'ya,

Tez çalışmam sırasında değerli fikir ve görüşlerinden yararlandığım Tez İzleme Komitemde bulunan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. A. Zeynep KATNAŞ'a ve Sayın Prof. Dr. Metin AYDOĞDU'ya,

Her zaman yanımda olan sevgili dostlarım Dr. Öğr. Üyesi İrem DAMAR HÜNER'e ve Arş. Gör. Dr. Pınar Aydan DEMİRHAN'a

Tez çalışmamın yürütülmesinde, "Brokolideki biyoaktif bileşenlerin membran prosesleri ile kazanılması" başlıklı 2015-21 numaralı doktora projesine maddi katkıda bulunan Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Fonuna,

Doktora çalışmalarım boyunca benden desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, çok değerli eşim Cüneyt YILMAZ'a ve biricik kızım Sude Nil YILMAZ'a teşekkür ederim.

EMEL YILMAZ

Edirne 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT iii
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
SİMGELER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xii
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 4
LİTERATÜR ÖZETİ 4
2.1. Brokoli 4
2.2. Brokolide Bulunan Biyoaktif Bileşenler 5
2.2.1. Glukozinolatlar 6
2.2.2. Sulforafan 12
2.2.3. Fenolik Bileşikler 13
2.2.4. Askorbik Asit 17
2.3. Biyoaktif Bileşenlerin Membran Prosesler ile Geri Kazanılması 19
2.3.1. Ultrafiltrasyon Uygulamaları 22
2.3.2. Ozmotik Distilasyon 27
2.3.3. Entegre Membran Sistemlerinin Kullanımı 30
BÖLÜM 3 33
MATERYAL VE METOT 33
3.1. Materyal 33
3.1.1. Hammadde 33
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar 35
3.2. Metot 35
3.2.1. Ultrafiltrasyon Prosesi 35

3.2.2. Ozmotik Distilasyon Sistemi ile Konsantrasyon 39
3.2.3. Kalite Analizleri 41
3.2.4. İstatistiksel Analiz 47
BÖLÜM 4 49
SONUÇLAR ve TARTIŞMA 49
4.1. Brokoli Suyunun Ultrafiltrasyonu 49
4.1.1. Ultrafiltrasyonda Akı Profili 49
4.1.2. Hidrolik Geçirgenlik Performansı 54
4.1.3. Seri Direnç Analizi 57
4.2. Brokoli Suyunun Ozmotik Distilasyon ile Konsantrasyonu 60
4.3. Kalite Kontrol Analiz Sonuçları 66
4.3.1. Briks, pH ve Toplam Asitlik Sonuçları 66
4.3.2. Renk Sonuçları 68
4.3.3. Sulforafan Sonuçları 71
4.3.4. Askorbik Asit Sonuçları 74
4.3.5. Toplam Fenolik Madde Sonuçları 77
4.3.6. Fenolik Madde Sonuçları 80
4.3.7. Toplam Antioksidan Aktivite Sonuçları 87
4.3.8. Organik Asit Sonuçları 89
4.3.9. Geri Kazanım Yüzdeleri 90
BÖLÜM 5 94
SONUÇLAR VE ÖNERİLER 94
KAYNAKLAR 99
ÖZGEÇMİŞ 113
TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER 114

SİMGELER DİZİNİ

$\mathbf{J_p}$	**:**	Permeat Akısı
$\mathbf{R_c}$	**:**	Kek Tabakası Direnci
$\mathbf{R_f}$	**:**	Kirlilik Direnci
$\mathbf{R_m}$	**:**	Membran Direnci
$\mathbf{R_t}$	**:**	Toplam Direnç

KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	**:**	2,2-azinobis-(3-etilbenzotiozdin-6-sulfonik asit)
dk	**:**	Dakika
DCM	**:**	Diklorometan
DTT	**:**	Dithiothreitol
ESP	**:**	Epitiyospecifier Protein
HPLC	**:**	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
kDa	**:**	Kilo Dalton
LEP	**:**	Sıvı Giriş Basıncı
MD	**:**	Membran Distilasyon
MF	**:**	Mikrofiltrasyon
mM	**:**	Milimolar
MWCO	**:**	Molekül Ağırlığı Ayırma Sınırı
NF	**:**	Nanofiltrasyon
OD	**:**	Ozmotik Distilasyon
PES	**:**	Polietersülfon
PP	**:**	Polipropilen
PS	**:**	Polisülfon
PVDF	**:**	Polivinildiflorid
RDA	**:**	Günlük Alınması Gereken Miktar
SPE	**:**	Katı Faz Ekstraksiyon
TEAC	**:**	Trolox Eşdeğeri Antioksidan Aktivite
TMP	**:**	Trans Membran Basıncı
TO	**:**	Ters Ozmoz
UF	**:**	Ultrafiltrasyon
VRF	**:**	Hacim Azaltma Faktörü
WRF	**:**	Ağırlık Azaltma Faktörü

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fitokimyasalların kanser önlemedeki potansiyel etki mekanizmaları 6

Çizelge 2.2. Brassica sebzelerinde yaygın olarak bulunan glukozinolatlar ve brokolideki miktarları 9

Çizelge 2.3. Basınca dayalı membran proseslerinin genel özellikleri 21

Çizelge 3.1. Vivaflow 200 ultrafiltrasyon modülünün teknik özellikleri 36

Çizelge 3.2. Ozmotik distilasyonda kullanılan membran modülünün özellikleri 39

Çizelge 3.3. Fenolik madde analizinde kullanılan gradient akış programı 45

Çizelge 3.4. Askorbik asit analizinde kullanılan HPLC çalışma koşulları 47

Çizelge 3.5. Organik asit analizinde kullanılan HPLC çalışma koşulları 47

Çizelge 4.1. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranların dirençleri ve toplam dirence oranları 57

Çizelge 4.2. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin °Briks değerleri üzerine etkisi 66

Çizelge 4.3. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin pH ve toplam asitlik değerleri üzerine etkisi 67

Çizelge 4.5. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin sulforafan miktarına etkisi 73

Çizelge 4.6. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin askorbik asit miktarına etkisi 75

Çizelge 4.7. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarları üzerine etkisi 78

Çizelge 4.8. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin asit hidrolizi öncesindeki fenolik madde içeriklerine etkisi 83

Çizelge 4.9. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin asit hidrolizi sonrasındaki fenolik madde içeriklerine etkisi 84

Çizelge 4.10. Fenolik bileşiklerin ultrafiltrasyon membranlarında alıkonma oranları 84

Çizelge 4.11. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin toplam antioksidan aktivite değerlerine etkisi 88

Çizelge 4.12. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin organik asit içeriklerine etkisi.....90

Çizelge 4.13. Brokoli suyu örneklerinin ultrafiltrasyonunda fenolik bileşiklere ait geri kazanım yüzdeleri 91

Çizelge 4.14. 50 kDa MWCO değerine sahip membrana ait geri kazanım yüzdeleri....93

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Glukozinolatların genel yapısı 7

Şekil 2.2. İnsan beslenmesi ile ilgili en çok araştırılan glukozinolatlar ve hidroliz ürünleri (A) alifatik, (B) aromatik, (C) indol. 8

Şekil 2.3. Glukozinolatların hidroliz ürünleri 9

Şekil 2.4. Glukorafaninin mirosinaz enzimi ile hidrolizi. 11

Şekil 2.5. *Brassicaceae*'de tanımlanan en yaygın fenolik asitlerin kimyasal yapıları. 15

Şekil 2.6. *Brassicaceae*'de tanımlanan en yaygın flavonoid aglikonların kimyasal yapıları. 15

Şekil 2.7. Brokolide bulunan başlıca fenolik bileşikler (a: flavonol glikozitler, b: hidroksisinnamik asit esterleri) 16

Şekil 2.8. Askorbik asidin kimyasal yapısı 18

Şekil 2.9. Membran prosesinin şematik gösterimi 20

Şekil 2.10. Polietersülfon molekülünün kimyasal yapısı 22

Şekil 2.11. Ultrafiltrasyonda gözlenen tipik akı zaman grafiği 25

Şekil 2.12. Gözenekli membranlarda gerçekleşen kirlenme mekanizmalarının şematik gösterimi. 26

Şekil 2.13. Membranda gözlenen dirençler (R_m: membran direnci, R_c: kek direnci, R_f: kirlilik direnci). 27

Şekil 2.14. Ozmotik distilasyon prosesinde gözlenen kütle aktarımı, *J*: su akısı, $C_{b,y}$: beslemenin yığın konsantrasyonu, $C_{b,m}$: beslemenin membran yüzeyindeki konsantrasyonu, $C_{p,y}$: permeatın yığın konsantrasyonu, $C_{p,m}$: permeatın membran yüzeyindeki konsantrasyonu 28

Şekil 3.1. Brokoli suyu konsantresi üretim akış şeması 34

Şekil 3.2. Laboratuvar ölçekli ultrafiltrasyon sistemi ([1] brokoli suyu; [2] terazi; [3] membran modülü; [4] peristaltik pompa; [5] basınçölçer; [6] permeat; [7] terazi). 37

Şekil 3.3. Ozmotik distilasyon prosesinin şematik gösterimi 41

Şekil 3.4. Gallik asit kalibrasyon eğrisi 43

Şekil 3.5. Troloks kalibrasyon eğrisi 44

Şekil 3.6. Sulforafan kalibrasyon eğrisi 46

Şekil 4.1. 50 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi 50

Şekil 4.2. 10 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi 51

Şekil 4.3. 5 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi 51

Şekil 4.4. 50 kDa membrana ait hidrolik geçirgenlik grafiği 54

Şekil 4.5. 10 kDa membrana ait hidrolik geçirgenlik grafiği 55

Şekil 4.6. 5 kDa membrana ait hidrolik geçirgenlik grafiği 55

Şekil 4.7. 50 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profili 61

Şekil 4.8. 50 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda permeatın ve $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi 62

Şekil 4.9. 10 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profili 63

Şekil 4.10. 10 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda permeatın ve $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi 64

Şekil 4.11. 5 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profili 64

Şekil 4.12. 5 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda permeatın ve $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi 65

Şekil 4.13. Ultrafiltrasyon membranlarından geçirilerek elde edilen permeat örnekleri ((a)kontrol; (b) 50 kDa permeat; (c) 10 kDa permeat; (d) 5 kDa permeat). 70

Şekil 4.14. Sulforafan standardına ait kromatogram 72

Şekil 4.15. Brokoli suyunda bulunan sulforafana ait kromatogram 72

Şekil 4.16. Askorbik asit standardına ait kromatogram 74

Şekil 4.17. Brokoli suyunda bulunan askorbik aside ait kromatogram 74

Şekil 4.18. Brokoli suyunun ultrafiltrasyonu sırasında toplam fenolik maddenin alıkonma oranları 78

Şekil 4.19. Fenolik madde standartlarına ait kromatogram (1. klorojenik asit, 2. sinapik asit, 3. rutin, 4. mirisetin, 5. kuersetin, 6. luteolin, 7. kamferol). 81

Şekil 4.20. Brokoli suyunda bulunan fenolik maddelere ait kromatogram (a) asit hidrolizi öncesi, (b) asit hidrolizi sonrası (1: klorojenik asit, 2: sinapik asit, 3: rutin, 4: kuersetin, 5: kamferol). 82

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar *Brassicaceae* grubu sebze tüketimi ile kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korunma arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sebzelerin insan sağlığına olumlu etkileri, bu familyadaki bitkilere özgü olan ve glukozinolat adı verilen ikincil metabolitler ve parçalanma ürünleri olan izotiyosiyanatlar ile ilişkilendirilmektedir. *Brassicaceae* grubu sebzelerden olan brokoli ise detoksifikasyondan sorumlu faz II enzimlerini indükleyen izotiyosiyanat yapısındaki sulforafan içeriğine bağlı olarak son zamanlarda popüler hale gelmiştir.

Biyoaktif bileşenlerin doğal kaynaklardan geri kazanılarak gıdalarda, eczacılık ürünlerinde ve kozmetik formülasyonlarında kullanımı son yıllarda büyük bir ilgi odağı haline gelmiştir. İnsan sağlığına olumlu etkileri bilimsel çalışmalarla ortaya konulan brokolinin de biyoaktif bileşen bakımından zengin bir kaynak olduğu ve bu amaçla kullanılabileceği düşünülmüştür. Brokoli gibi bitkisel materyallerde bulunan biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasında en yaygın kullanılan teknik organik çözücü ile ekstraksiyondur. Bu teknik verimli bir ekstraksiyon sağlamakla birlikte genellikle ekstraksiyon süresinin uzun olması, fazla miktarda organik çözücü kullanımı ve ısıya duyarlı bileşiklerin bozulmasına neden olabilecek yüksek sıcaklık gereksinimi gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bununla birlikte elde edilen ekstraktta eser miktarda da olsa kalıntı toksik çözücü kalmakta ve bu durumda ekstraktın gıda bileşimlerinde kullanımı kısıtlanmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda ultrason destekli ekstraksiyon, vurgulu elektrik alan ekstraksiyon ve süper kritik akışkan ekstraksiyon gibi alternatif yeşil ekstraksiyon teknikleri de kullanılmaktadır. Ancak yüksek yatırım maliyetleri bu tekniklerin yaygın olarak kullanımını sınırlamaktadır. Günümüzde membran ayırma süreçleri yüksek seçicilik, düşük enerji tüketimi ve uygulama kolaylığı

gibi avantajları nedeniyle meyve sularının klarifikasyonunda, fraksiyonlara ayrılmasında ve konsantrasyonunda kullanılmaktadır. Mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon genellikle klarifikasyon ve fraksiyonlara ayırmada kullanılırken ters ozmoz konsantrasyon amaçlı kullanılmaktadır. Bu kapsamda, brokoliden biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasında organik çözücü ve ısıl işlem gerektirmeyen ultrafiltrasyon prosesinden yararlanılması hedeflenmiştir.

Günlük brokoli tüketimi ile alınan sulforafan miktarı antikarsinojenik etkinin gözlendiği sulforafan seviyelerinin çok altında kalmakta ve bu nedenle brokoliden ekstrakte edilen başta sulforafan olmak üzere biyoaktif bileşenlerin konsantre edilmesi gerekmektedir. Geleneksel konsantrasyonda uygulanan yüksek sıcaklıkların etkisiyle glukozinolatların izotiyosiyanatlara dönüşümünde rol oynayan ısıya duyarlı olan mirosinaz enzimi ve biyoaktif bileşenlerin kayba uğraması, bu bileşenlerin katma değer ürünlere işlenmesini sınırlandıran önemli bir teknolojik problemdir. Ayrıca geleneksel konsantrasyon ile üründe renk kaybı ve pişmiş tat oluşumu gibi istenmeyen durumlar da ortaya çıkmaktadır. Ters ozmoz ise yüksek ozmotik basınç sınırlamalarından dolayı yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen evaporasyon ile elde edilen 60-65 °Briks değerinin oldukça altında olan 25-30 °Briks değerlerine erişilebilen bir ön konsantrasyon tekniği olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda sıvı gıdalardan suyun seçici olarak uzaklaştırılmasında atmosferik basınç ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ozmotik distilasyon prosesi kullanılmaya başlanmıştır. Bu işlem gözenekli ve hidrofobik bir membrandan buhar taşınımının gerçekleştiği izotermal konsantrasyona dayalı bir prosestir. Ozmotik distilasyonda sürücü kuvvet hidrolik basınç farkı olmadığından, ters ozmoza göre daha yüksek konsantrasyonlara ulaşılması mümkündür. Bu nedenle bu çalışmada brokoliden ultrafiltrasyon ile geri kazanılan biyoaktif bileşenlerin konsantre edilmesinde ozmotik distilasyon yönteminin kullanım potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tez kapsamında, brokoli suyu örnekleri farklı ayırma sınırına sahip ultrafiltrasyon membranlarından geçirilmiş ve elde edilen permeatlar atmosferik basınç altında ve oda sıcaklığında konsantrasyona imkan veren ozmotik distilasyon ile konsantre edilmiştir. Bu sayede, brokolide bulunan en önemli biyoaktif bileşen olan sulforafanın yanı sıra, fenolik bileşikler ve C vitamini gibi diğer biyoaktif bileşenlerin de geri kazanımının sağlanması hedeflenmiştir. Organik çözücüler kullanılmadan ve oda sıcaklığında konsantre edilerek

elde edilen biyoaktif bileşen bakımından zengin brokoli konsantratlarının fonksiyonel amaçlı olarak gıdalara ve farmasötik ürünlere katılabileceği düşünülmektedir.

Meyve suyu endüstrisinde ultrafiltrasyon uygulamaları sıklıkla kullanılmasına rağmen, membran kirlenmesi karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir. Membran kirlenmesinin kontrol edilmesi ve dolayısıyla ultrafiltrasyon prosesinin uzun vadeli performansının geliştirilmesi için kirlenme mekanizmalarının saptanması önem taşımaktadır. Bu nedenle brokoli suyunun ultrafiltrasyonunda akı azalmasına ve ayırma performansının düşmesine sebep olabilecek kirlenme mekanizmalarının seri direnç analizi kullanılarak açıklanması amaçlanmıştır. Ayrıca, ultrafiltrasyonda kullanılan molekül ağırlığı ayırma sınırının permeat akısı üzerine etkilerinin ve biyoaktif bileşenler üzerindeki seçiciliğinin belirlenmesi de hedeflenmiştir.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Brokoli

Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) yaygın olarak Lahanagiller familyası olarak da bilinen Krusifer familyasının bir üyesidir. Krusifer familyası alternatif olarak *Brassicaceae* olarak da isimlendirilmektedir. Krusifer familyası yaklaşık 350-380 cins ve yaklaşık 30.000 tür içermektedir. Brokoli *Brassica* cinsinin *oleracea* türüne ait olmakla birlikte *oleracea* türü ayrıca lahana, karnabahar, Brüksel lahanası, karalahana, kıvırcık lahana ve yer lahanasını da kapsamaktadır. *Oleracea* türü farklı gruplara ayrılmaktadır. Brokolinin iki ana grubu, *B. oleracea* botrytis ve *B. oleracea* italica'dır (Heywood, 1978).

Brokoli, besin değerinin yüksek olması nedeniyle oldukça popüler bir sebzedir. 100 gram yenilebilir taze brokoli 3,03 g protein, 4,30 g karbonhidrat, 0,35 g yağ, 49 mg kalsiyum, 349 mg potasyum, 1,22 mg demir, 107,6 mg C vitamini, 83 retinol eşdeğeri A vitamini ve 3,42 g toplam diyet lifi içerir (Anonymous, 2018a). Türkiye'de brokoli ilk olarak 2004 yılında İzmir Torbalı Özbey Köyü'nde üretilmeye başlanmıştır. TUİK verilerine göre ülkemizde 2004 yılındaki üretim miktarı 6.500 ton olup bu miktar 2012 yılında 30.807 ton, 2016 yılında ise 55.082 tona ulaşmıştır (Anonymous, 2018b).

Brokoli dünya genelinde yaygın olarak tüketilen bir sebze olup, biyoaktif bileşenlerin önemli bir kaynağıdır. Brokolinin vitaminler, fenolik bileşikler, glukozinolatlar ve sulforafan açısından diğer yeşil sebzelerden daha zengin bir sebze olduğu ileri sürülmektedir (Martínez-Villaluenga, Frías, Gulewicz, Gulewicz & Vidal-Valverde, 2008). Kemopreventif potansiyeli olan sebzeler üzerine yapılan bir çalışmada, sebzeler az, orta, yüksek ve çok yüksek aktiviteli olarak sınıflara ayrılmıştır. Yüksek antioksidan aktivite dört veya daha fazla hücre kültüründe %50'lik inhibitör etki olarak

tanımlanmış ve brokoli de bu sınıfa dahil edilmiştir. Sebzelerin tümör hücrelerine karşı çoğalma önleyici (antiproliferatif) özelliklerinde önemli farklılıklar olduğu ve turpgiller, koyu yeşil ve *Allium* sebzelerinin güçlü antikanserojen özellikler ile donatıldığı sonucuna varılmıştır (Boivin vd., 2009).

2.2. Brokolide Bulunan Biyoaktif Bileşenler

Meyve ve sebzeler, kronik hastalıkların gelişme riskini azaltan ve temel beslenmenin yanında sağlığa yararlı etkileri olan biyoaktif fitokimyasallar bakımından oldukça zengindir. Yapılan son araştırmalar biyoaktif bileşenlerin yararlarının şu an anlaşılandan daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü in vitro ve hayvan çalışmaları bu bileşenlerin antioksidan aktivitenin yanında birden fazla etki mekanizmasına sahip olduklarını ileri sürmektedir (Liu, 2004).

Diyetle alınan fitokimyasalların en önemlileri fenolik bileşikler, alkaloidler, azot içeren bileşikler, organosülfür bileşikleri, fitosteroller ve karotenoidler olarak sınıflandırılabilir (Liu, 2013). Fitokimyasalların kanser önlemedeki potansiyel etki mekanizmaları Çizelge 2.1'de verilmiştir. Brassica ailesinin diğer türleri gibi, brokoli de sağlığı destekleyen fitokimyasallar açısından zengin bir kaynaktır. Yapılan bir çalışmada araştırılan meyve ve sebzeler arasında (domates, brokoli, havuç, patlıcan ve üzüm) en yüksek fitokimyasal konsantrasyonu 4513 mg/kg ile brokolide saptanmıştır (Alarcón-Flores, Romero-González, Vidal & Frenich, 2013). Vaka kontrollü çalışmaların %56'sında brokoli tüketimi ile kansere karşı korunma arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu koruyucu etki brokolideki C ve E vitamini, flavonoller (kuersetin ve kamferol), glukozinolatlar ve sulforafan ile ilişkilendirilmiştir (Koh, Wimalasiri, Chassy & Mitchell, 2009).

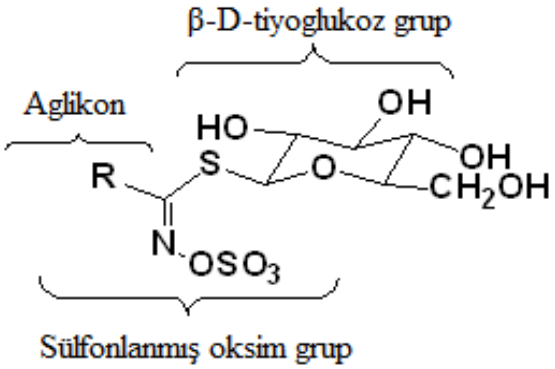
Çizelge 2.1. Fitokimyasalların kanser önlemedeki potansiyel etki mekanizmaları

Antioksidan Aktivite
Serbest radikalleri ve oksidanları stabilize etme
Oksidatif stresi azaltma
Nitrozasyonu engelleme
DNA bağını ve hasarını önleme
DNA hasar onarımının düzenlenmesi
Hücre farklılaşmasının uyarılması
Hücre çoğalmasının engellenmesi
Hücre döngüsü tutuklanmasının indüksiyonu
Apoptozun indüksiyonu
Sinyal transdüksiyon yollarının regülasyonu
Enzim indüksiyonu ve arttırıcı detoksifikasyon
Faz II enzim
Glutatyon peroksidaz
Katalaz
Süperoksit dismutaz
Enzim inhibisyonu
Siklooksijenaz-2
İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
Ksantin oksit
Faz I enzimi (karsinojenlerin blok aktivasyonu)
Steroid hormon metabolizmasının düzenlenmesi
Antibakteriyel ve antiviral etkiler

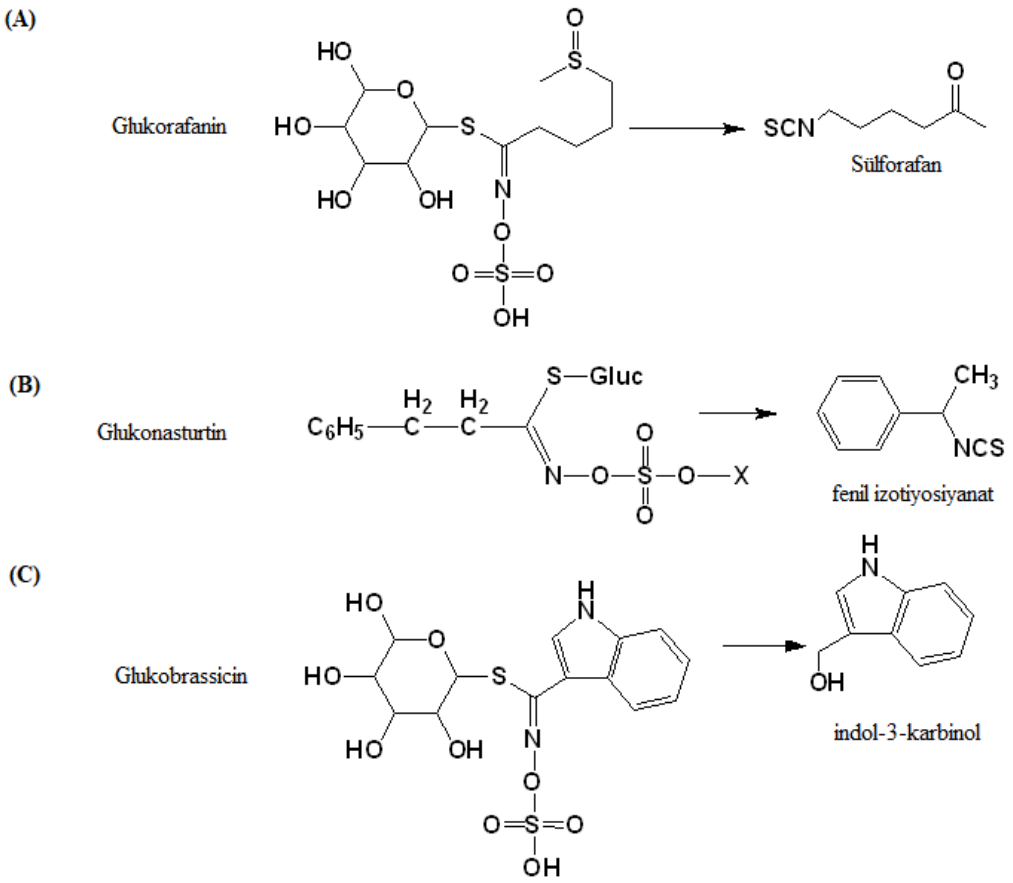
2.2.1. Glukozinolatlar

Glukozinolatlar ve parçalanma ürünleri olan izotiyosiyanatlar, sağlığı olumlu yönde etkilemeleri ve doğal antikarsinojenik özelliklere sahip olmalarından dolayı son yıllarda giderek ilgi çekmektedir. Glukozinolatlar yapılarında β-D-tiyoglukoz grup, sülfonlanmış oksim grup ve değişken aminoasitlerden türevlenmiş bir yan zincir (R) içermektedir (Şekil 2.1). Glukozinolatlar yan zincirde bulunan aminoaside göre alifatik,

aromatik ve indol glukozinolatlar olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Alifatik glukozinolatlar metionin, izolösin, lösin veya vanilinden, aromatik glukozinolatlar fenilalanin veya tirozinden, ve indol glukozinolatlar ise triptofandan türevlenmektedir. Glukozinolatlar sülfür ve azot içeren, suda çözünür, anyonik, uçucu olmayan ve kararlı organik bileşiklerdir. Glukozinolatlar ağırlıklı olarak brokoli, Brüksel lahanası, lahana, karnabahar, yaban turpu, şalgam, lahana gibi turpgil sebzelerde ve hardal türlerinde bulunur. Bugüne kadar 120'nin üzerinde glukozinolat tespit edilmiştir (Becker, Jeffery & Juvik, 2017, Deng vd., 2015). İnsan beslenmesi ile ilgili en çok araştırılan glukozinolatlar ve hidroliz ürünleri Şekil 2.2'de verilmiştir. Çizelge 2.2'de ise Brassica sebzelerinde yaygın olarak bulunan glukozinolatlar ve brokolideki miktarları görülmektedir (Verkerk vd., 2009; Vig, Rampal, Thind & Arora, 2009).



Şekil 2.1. Glukozinolatların genel yapısı



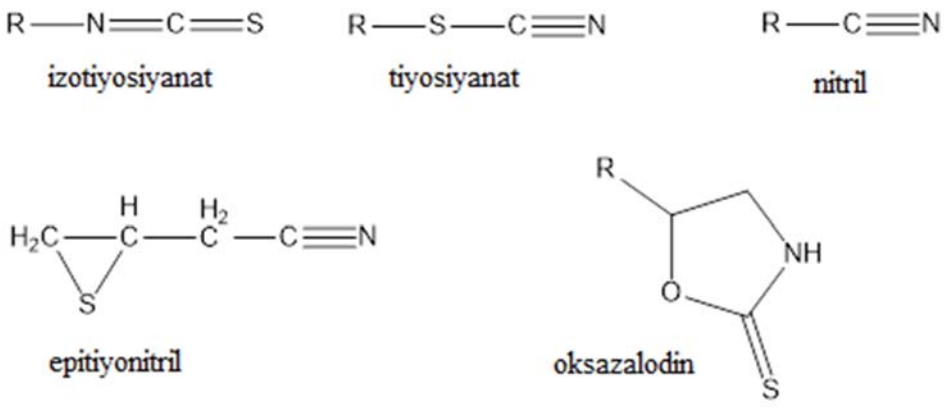
Şekil 2.2. İnsan beslenmesi ile ilgili en çok araştırılan glukozinolatlar ve hidroliz ürünleri (A) alifatik, (B) aromatik, (C) indol (Cartea ve Velasco, 2008).

Glukozinolatlar bitki dokularında ve hücrelerinde kimyasal olarak stabil halde bulunmaktadır. Bununla birlikte, bitki dokuları ve hücreleri hasar gördüğünde, glukozinolatlar mirosinaz enzimi (β-tioglukozid glukohidrolaz, E.C.3.2.1.147) ile izotiyosiyanat, nitril, tiyosiyanat, epitiyonitril ve oksazolidin gibi çeşitli ürünlere hidrolize olurlar. Glukozinolatların hidroliz ürünleri Şekil 2.3'de görülmektedir. Bu ürünler arasında özellikle antikanserojen özellikleri nedeniyle izotiyosiyanatlar büyük bir ilgi çekmektedir. İzotiyosiyanatların terapötik, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere de sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Gu, Guo & Gu, 2012). Ayrıca, izotiyosiyanatlar Se ile birlikte insanlarda tiyoredoksin redüktaz enziminin aktivitesini düzenler (Campbell, Howie, Arthur, Nicol & Beckett, 2007). Glukozinolatların hidroliz

ürünleri böcekler, bitkiler, mantarlar ve bakteriler gibi çeşitli organizmalara karşı biyosidal özelliğe sahiptir (Vig vd., 2009). Öte yandan, glukozinolatlar, Se ve flavonoidler gibi antioksidanlarla birlikte kanser önleme üzerinde sinerjik bir etkiye de sahiptir.

Çizelge 2.2. Brassica sebzelerinde yaygın olarak bulunan glukozinolatlar ve brokolideki miktarları

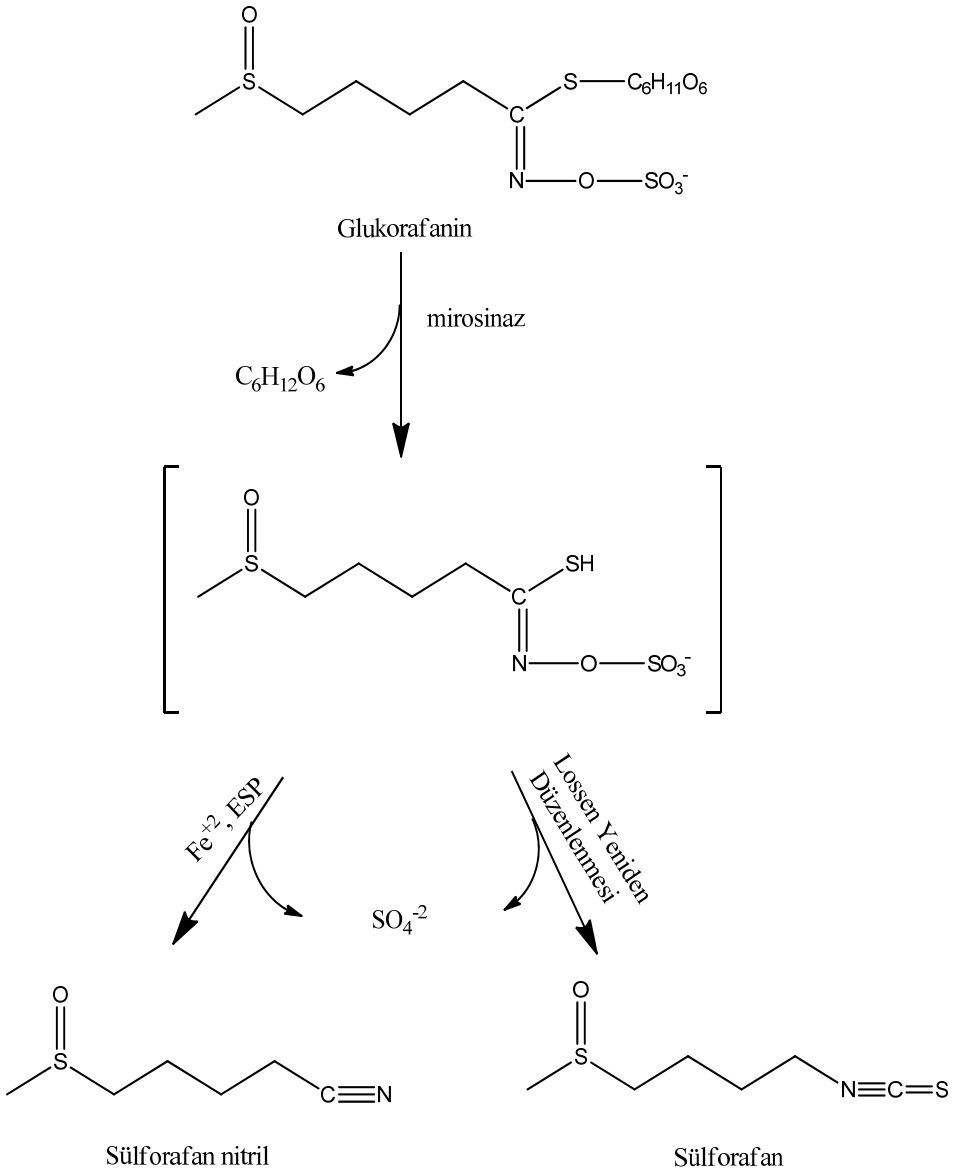
Yaygın isim	Yan zincir (R grup)	Brokoli (µmol/g kuru madde)
Alifatik Glukozinolatlar		
Sinigrin	2-propenil	0,1±0,4
Glukonapin	3-butenil	1,0±1,5
Glukobrassikanapin	4-pentenil	0,3±0,1
Progoitrin	2-hidroksi-3-butenil	1,0±0,4
Glukoerusin	4-metiltiyobütil	
Glukoiberin	3-metilsülfinilpropil	0,1±0,2
Glukorafanin	4-metilsülfinilbütil	7,1±2,5
İndol Glukozinolatlar		
Glukobrassicin	3-indolilmetil	1,1±0,4
Neoglukobrassicin	1-metoksi-3-indolilmetil	0,2±0,2
Aromatik Glukozinolatlar		
Glukotropaeolin	benzil	-
Glukonasturtiin	2-feniletil	0,4±0,1



Şekil 2.3. Glukozinolatların hidroliz ürünleri

Brokolide baskın olarak bulunan glukozinolat, alifatik bir glukozinolat olan metioninden türetilmiş glukorafanin (4-metilsülfinilbütil glukozinolat)'dir. Brokoli filizindeki toplam glukozinolat içeriğinin %81'ini glukorafanin oluşturmaktadır (Pérez, Barrientos, Román & Mahn, 2014). Brokoli filizlerindeki glukorafanin konsantrasyonu, olgun brokoli içerisindeki glukorafanin konsantrasyonundan 20 kat daha fazladır (Fahey, Zhang & Talalay, 1997). Brokoli tohumu, filizi ya da sebzesi ezildiğinde veya parçalandığında, glukorafanin mirosinaz enzimi ile sulforafan (1-izotiyosiyanato-4-metilsülfinilbütan) ve sulforafan nitrile hidrolize olur (Jeffery ve Araya, 2009).

Glukorafanin hidrolize olduğunda öncelikle bir glikoz ve sülfat serbest kalarak aglikon (tiyohidroksim-0-sülfonat) denilen kararsız bir ara ürün oluşur ve daha sonra bu ara ürün enzimatik olmayan molekül içi yeniden düzenlemeye tabi tutularak sulforafan oluşturur. Glukorafaninin mirosinaz enzimi ile hidrolizi Şekil 2.4'de görülmektedir. Sulforafan oluşumu yalnızca glukorafanin içeriğine bağlı olmayıp, aynı zamanda mirosinaz ve epitiyospecifier protein (ESP) aktivitesine de bağlıdır. Yüksek ESP aktivitesi, sulforafan oluşumunu azaltarak inaktif sulforafan nitril oluşumunu arttırır. ESP, mirosinaz enzimine göre ısıya daha duyarlı olduğu için, ılımlı bir ısıl işlem uygulaması ile ESP aktivitesi düşürülebilir veya ESP inaktive edilip mirosinaz enzimi korunabilir. Böylece brokoli ve brokoli filizlerinde sulforafan oluşumunun artması sağlanabilmektedir (Guo, Yang, Zhou & Gu, 2016). Askorbik asit ve Zn^{2+} de mirosinaz aktivitesini uyararak glukozinolatların hidrolizini arttırmaktadır. Ayrıca mirosinaz aktivitesinin 40 °C ve nötr bir pH değerinde daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Liang, Yuan & Xiao, 2006a). Düşük pH'larda ana ürün olarak nitril oluşumu baskın iken, nötral pH'larda ise izotiyosiyanat oluşumu daha fazladır (Frandsen vd., 2014).



Şekil 2.4. Glukorafaninin mirosinaz enzimi ile hidrolizi (Matusheski vd., 2006).

Glukozinolatları hidrolize edebilen glukozidazlar kolonda bulunan bakteriler tarafından da üretilmektedir. Ancak, kolondaki enzim aktivitesi ile gerçekleşen hidrolizin bitki mirosinaz enzimi ile gerçekleşen hidrolize göre daha az olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, gıdaların işlenmesi sırasında mirosinaz enziminin etkinliğini koruyabilmek, daha sağlıklı bir son ürün elde edilmesi açısından önem taşımaktadır. Gıdalara uygulanan yüksek sıcaklıklar mirosinaz inaktivasyonuna yol açmaktadır (Oliviero, Verkerk, Van Boekel & Dekker, 2014; Van Eylen, Oey, Hendrickx & Van Loey, 2008; Van Eylen, Oey, Hendrickx & Van Loey, 2007; Van Eylen, Hendrickx & Van Loey, 2006).

2.2.2. Sulforafan

Brokoli bilinen en iyi sulforafan kaynağıdır. Brokoli *Brassicaceae* familyasina ait diğer sebzelere kıyasla yaklaşık 5 kat daha fazla izotiyosiyanat içermektedir (Totušek vd., 2011). Brokoli filizi ve tohumları ise olgun brokoli çiçeklerinden yaklaşık 10-100 kat daha fazla glukorafanin içermektedir (Herr ve Buchler, 2010). Brokolinin sap, yaprak ve çiçek kısımları arasında da sulforafan içeriğinde önemli farklılıklar bulunmaktadır. En yüksek sulforafan içeriği çiçeklerde bulunurken, en düşük içerik yapraklarda bulunmaktadır. Çiçek kısmındaki ortalama sulforafan içeriği sap kısmından iki kat, yaprak kısmından ise yaklaşık 10 kat daha fazladır (Liang, Yuan, Dong & Liu, 2006b).

Sulforafan, faz II detoksifikasyon enzimlerini (glutatyon-S-transferaz ve kinon redüktaz vb.) indükleme ve kanserojenleri aktive eden faz I enzimlerini inhibe etme potansiyeline sahip bir izotiyosiyanattır (Fahey ve Talalay, 1999). Ancak, C vitamini, E vitamini veya β-karoten'in aksine, sulforafan serbest radikalleri direkt olarak ortadan kaldırmaz. Faz II enzimlerini indükleyip hücresel glutatyon seviyelerini yükselterek dolaylı olarak serbest radikalleri ortadan kaldırır. Bu şekilde sulforafan, detoksifikasyona katılır ve heterosiklik aminler tarafından oluşturulan kanserojen kaynaklı DNA eklentilerinin oluşumunu engeller (Herr ve Büchler, 2010). Sulforafan apoptozisi indükleyip, hücre çoğalması ve anjiyogenezi ise inhibe eder (Juge, Mithen & Traka, 2007). Ayrıca, sulforafanın nükleer faktör-κB (NF-κB) aktivitesini azalttığı ve adezyon molekülleri, büyüme faktörleri ve antiapoptotik faktörleri kodlayan NF-κB aracılı genlerin ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir (Myzak ve Dashwood, 2006).

Histon deasetilaz inhibitörü olan sulforafanın hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda etkili bir antikanser ajanı olduğu gösterilmiştir (Do, Pai, Rizvi & D'Souza, 2010). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar, sulforafanın aşırı agresif kanser kök hücresi popülasyonunu bile hedef alabileceğini düşündürmektedir (Kallifatidis vd., 2009). Bu hücreler geleneksel kemoterapi ve radyoterapiye dirençli olduğundan sulforafanın bu etkisi oldukça önemlidir (Rausch vd., 2010). Sulforafan ayrıca mide kanseri gelişimiyle güçlü bir şekilde ilişkili olan *Helicobacter pylori* enfeksiyonlarına karşı da vücudu korumaktadır (Dinkova-Kostova ve Kostov, 2012). Terapötik konsantrasyonlardaki sulforafan habis olmayan hücreler veya farelerde belirgin bir yan etki göstermemektedir (Kallifatidis vd., 2009). Sulforafanın terapötik olarak etki

edebileceği dozlar klinik çalışmalarda henüz belirlenmemesine rağmen, fareler üzerine yapılan çalışmalarda kanser önleyici etki gösterebilen sulforafan konsantrasyonuna ulaşabilmek için günlük olarak altı adet pişmemiş bütün brokolinin tüketilmesi gerektiği gösterilmiştir (Herr ve Büchler, 2010; Kallifatidis vd., 2009).

81 adet tip II diyabetik hasta üzerine yapılan randomize bir klinik araştırma, brokoli filizinin (dört hafta boyunca 10 g/gün) tamamlayıcı tedavi olarak kullanımının serum trigliseridlerini, okside düşük yoğunluklu lipoproteini ve plazma aterojenik indeksini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Bahadoran vd., 2012a). Aynı klinik araştırmada, insülin direncinde ve serum insülin konsantrasyonunda belirgin bir azalma gözlenmiştir (Bahadoran vd., 2012b). Sulforafanın, hiperglisemik ve oksidatif koşullarda glikoz konsantrasyonunun düzenlenmesine katkıda bulunan bazı peroksizom proliferatör-aktive reseptörlerini indükleme potansiyeli vardır. Sulforafanın tip 2 diyabette tamamlayıcı tedavi için mükemmel bir seçim olduğu düşünülmektedir (Bahadoran, Mirmiran & Azizi, 2013).

Sulforafan ve diğer izotiyosiyanatlar ince bağırsaklardan ve kolondan emilirler. Taze brokoli tüketimi sonrasında sulforafanın biyoyararlanımı ve plazma konsantrasyonu pişmiş veya buharda pişmiş brokoliye kıyasla daha yüksektir (Zhou, Yang, Li, Lynch, & Jia, 2015).

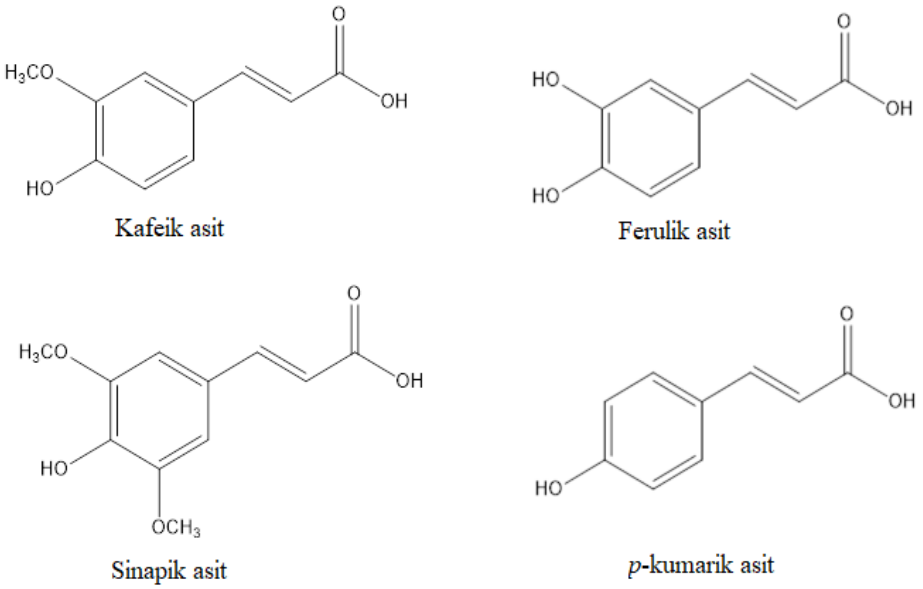
2.2.3. Fenolik Bileşikler

Polifenoller, bitkilerde bol miktarda bulunan ve yapılarındaki fenol grupları ile karakterize edilen ikincil metabolitlerdir. Bunlar, aromatik bir amino asit olan fenilalaninden şikimik asit yolu ile sentezlenirler (Jaiswal, Abu-Ghannam & Gupta, 2012). Fenolik bileşikler, antialerjik, antiartrojenik, antienflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, antitrombotik ve kardiyoprotektif etkiler gibi geniş bir alanda fizyolojik özellikler sergilemektedir. Fenolik bileşikler yapılarındaki farklılıklara bağlı olarak birçok sınıfa ayrılmaktadır (Balasundram, Sundram & Samman, 2006). Bunlar hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asitlerden oluşan fenolik asitler ve flavonoidlerdir. Hidroksisinnamik asitler fenil propan yapısında olup kafeik asit, ferulik asit, *p*-kumarik asit bu grupta yer almaktadır. Gallik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, vanilik

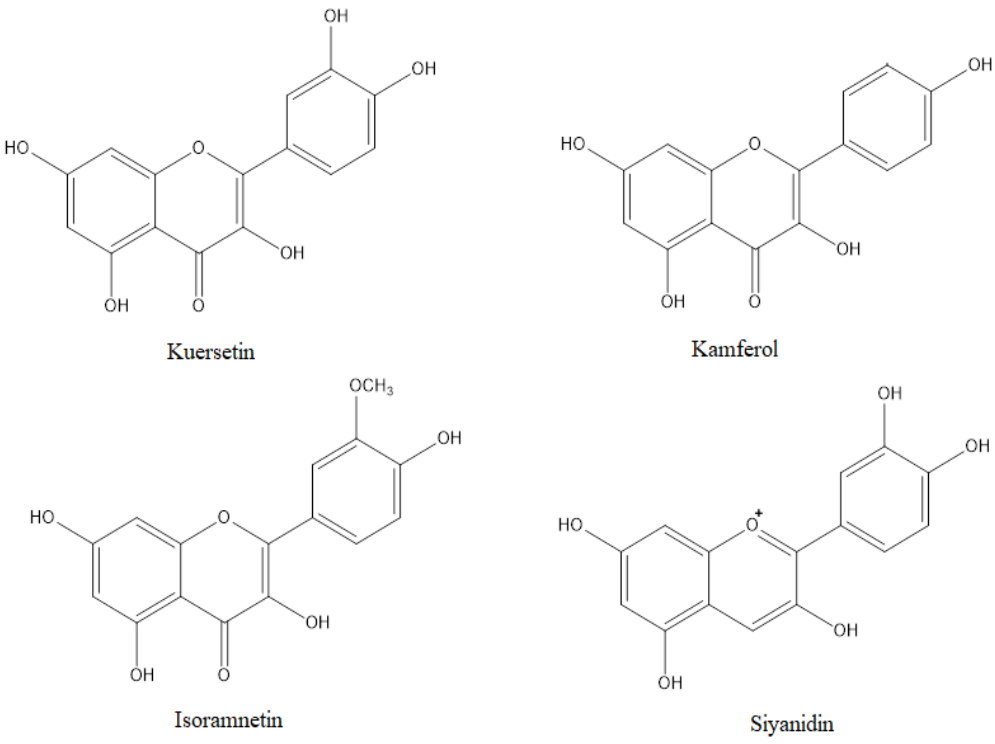
asit ve salisilik asit ise hidroksibenzoik asitler grubunda bulunan fenil metan yapısına sahip fenolik bileşiklerdir. Flavonoidler difenilpropan yapısında ve oksijenle halka oluşturan üçlü karbon köprüsüne sahip fenolik bileşiklerin en önemli grubudur. Hidroksil gruplarının sayısı, doymamışlık derecesi ve üçlü karbon segmentinin oksidasyon düzeyindeki farklılıklara göre flavonoidler; flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanoller, izoflavonoidler ve antosiyanidinler olmak üzere altı gruba ayrılırlar (Acar ve Gökmen, 2004).

Flavonoidler, en güçlü bitki antioksidanları arasında yer almaktadır. Çünkü antiradikal aktivite ile ilişkilendirilen 3 yapısal özellikten en az birine sahiptirler: (1) bir *o*-difenolik grup (B halkasında), (2) 4-okso fonksiyonu ile konjuge olmuş 2–3 çift bağ, (3) 3 ve 5 numaralı pozisyonlarda hidroksil grupları. Kuersetin ise bu özelliklerin tümüne birden sahip olduğundan, en güçlü doğal antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda, flavonoidlerin antioksidan etkinliği onların hidroksilasyon derecesiyle doğrudan ilişkilidir ve yapılarındaki şeker grubu varlığı ile azalmaktadır (Landete, 2013). Birçok flavonoidin, E vitamini ile kıyaslandığında benzer veya daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Rice-Evans, Miller, Bolwell, Bramley & Pridham, 1995).

Brassica türlerinde en yaygın olarak bulunan flavonoidler, flavonol grubuna ait olan kuersetin, kamferol ve isoramnetindir. En baskın olan fenolik asitler ise genellikle şeker ve organik asitlerle konjuge halde bulunan kafeik asit, *p*-kumarik asit, sinapik asit ve ferulik asittir (Cartea, Francisco, Soengas & Velasco, 2010). *Brassicaceae*'de tanımlanan en yaygın fenolik asitlerin kimyasal yapıları Şekil 2.5'de verilmiştir. *Brassicaceae*'de tanımlanan en yaygın flavonoid aglikonların kimyasal yapıları ise Şekil 2.6'da görülmektedir.



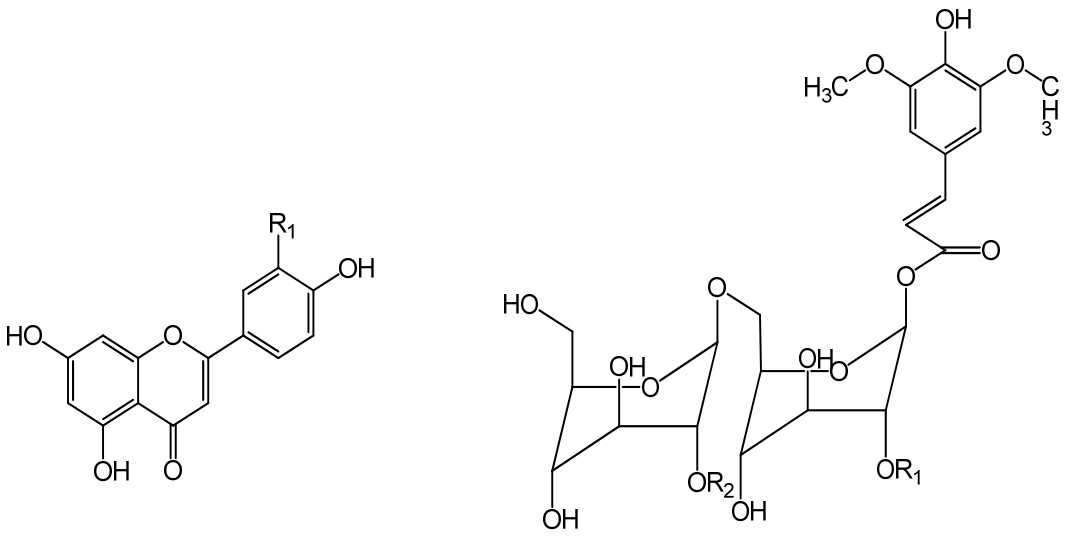
Şekil 2.5. *Brassicaceae*'de tanımlanan en yaygın fenolik asitlerin kimyasal yapıları (Avato ve Argentieri, 2015).



Şekil 2.6. *Brassicaceae*'de tanımlanan en yaygın flavonoid aglikonların kimyasal yapıları (Avato ve Argentieri, 2015).

Brokoli kanser önleme potansiyelleri üzerine yoğun bir şekilde çalışılmakta olan fenolik bileşikler açısından zengin bir sebzedir. Brokolinin *Brassicaceae* ailesi arasında en fazla toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğu ve flavonoidlerin alt grubu olan flavonollerin de en önemli kaynağı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca brokoli hidroksisinnamik asitler açısıdan en zengin bitkisel kaynaktır (Zhang ve Hamauzu, 2004). Brokolide bulunan başlıca fenolik bileşikler Şekil 2.7'de görülmektedir.

Brokolide bulunan başlıca flavonollerin kuersetin ve kamferol, başlıca flavonol glikozitlerin ise kuersetin-3-O-soforosit ve kamferol-3-O-soforosit olduğu bildirilmektedir (Koh vd., 2009). Brokolide kuersetin-3-O-glukozit, kamferol-3-O-glukozit ve kamferol diglukozit diğer saptanan fenolik bileşiklerdir (Price, Casuscelli, Colquhoun & Rhodes, 1998; Vallejo, Tomás-Barberán & García-Viguera, 2003). Brokolide tanımlanan başlıca hidroksinnamik asitler ise 1-sinapoyl-2-feruloylgentiobiose, 1,2-diferuloylgentiobiose, 1,2,2′-trisinapoylgentiobiose ve neoklorojenik asittir (Vallejo, Tomás-Barberán & García-Viguera, 2002). Ayrıca brokolide 1,2′-disinapoyl-2-feruloylgentiobiose, 1,2-disinapoylgentiobiose, 1-sinapoyl-2,2-diferuloyl gentiobiose, 1,2,2-trisinapoylgentiobiose'un izomerik formu ve klorojenik asit de bulunmaktadır (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015).



(a) (b)

Şekil 2.7. Brokolide bulunan başlıca fenolik bileşikler (a: flavonol glikozitler, b: hidroksisinnamik asit esterleri)

Meyve ve sebzelerde çeşitli sayı ve miktarlarda bulunan fenolik maddeler için günlük alınması gereken miktarlar (RDA) bugüne kadar belirlenmemiştir (Landete, 2013; Shashirekha, Mallikarjuna & Rajarathnam, 2015). Bu nedenle bu maddelerin eksikliğinin veya toksisitesinin önlenmesinde en uygun doz aralığı hakkında henüz bir ölçüt bulunmamaktadır. Bununla birlikte, insanların günlük beslenmesinde polifenollerin miligram seviyesinden gram seviyelerine kadar değiştiği ve bir Amerikalının günde yaklaşık 1 gram fenolik madde tükettiği düşünülmektedir (Sahu ve Green, 1997). Flavonoid alımı ve koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki üzerine yapılan bir çalışmada, Rimm vd., (1996) orta yaşlı ve yaşlı Amerikalı erkeklerde günlük ortalama flavonol alımının yaklaşık 20 mg/gün olduğunu bildirmişlerdir. Iowa'daki postmenopozal kadınlarda kardiyovasküler hastalık riski ile flavonoid alımını araştıran başka bir çalışmada ise flavonoid alımının 0-222 mg/gün aralığında olduğu bildirilmiştir (Yochum, Kushi, Meyer & Folsom, 1999). Brezilya'da flavonoid alımının 60-106 mg/gün olduğu, bu miktarın da %70 portakal, %8,9 marul ve %5,8 soğan tüketiminden kaynaklandığı tahmin edilmiştir. Bu alım miktarı Finlandiya (55 mg/gün) ve Danimarka (29 mg/gün) ile karşılaştırıldığında yüksek olarak kabul edilebilir. ABD'li yetişkinler için flavonoid alımının yaklaşık 190 mg/gün olduğu bildirilmekte ve bu miktarı başlıca flavan-3-ollar (%83,5), ardından flavanonlar (%7,6), flavonoller (%6,8), antosiyanidinler (%1,6), flavonlar (%0,8) ve izoflavonlar (% 0,6) oluşturmaktadır. Bu çalışmalar bu bileşiklerin ne düzeyde alındığını gösterse de alınan miktarın ne kadarının absorbe edildiği ve ne kadarının da biyolojik etkilerden sorumlu olduğu henüz net değildir (Shashirekha vd., 2015).

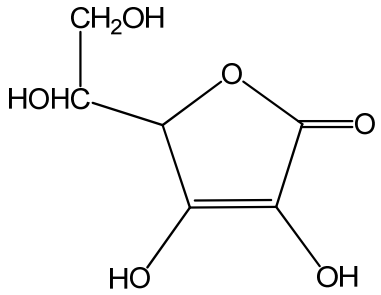
2.2.4. Askorbik Asit

Askorbik asit insan vücudunu katarakt, kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyabilen güçlü bir antioksidandır. Askorbik asidin kimyasal yapısı Şekil 2.8'de görülmektedir. Gıdalarda askorbik asit, çoğunlukla L-askorbik asit olarak bulunmakta ve L-askorbik asidin oksidasyonu sonucu oluşan dehidroaskorbik asit ise daha az miktarda bulunmaktadır. L-askorbik asit kararsız bir molekül olduğu için, konsantrasyonu meyve ve sebzelerin işlenmesi sırasında gerçekleşen enzimatik ve enzimatik olmayan parçalanmalar ile birlikte azalmaktadır. Parçalanma derecesi konsantrasyon, oksijen, ışık,

basınç, sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir. Dehidroaskorbik asit de L-askorbik asit ile aynı seviyede antiskorbütik aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte, dehidroaskorbik asit geri dönüşümsüz olarak 2,3-diketogulonik aside hidrolize olarak antiskorbütik aktivitesini kaybetmektedir (Munyaka, Makule, Oey, Van Loey & Hendrickx, 2010).

Askorbik asidin hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Bu vitamin insanlar tarafından sentezlenemediğinden, düzenli olarak dışarıdan alınmalıdır. İnsanlarda askorbik asit lipid, steroid ve peptid metabolizması, kollajen sentezi, bağışıklık sistemi, endokrin fonksiyonu, kan basıncının kontrolü, demir ve bakır dengesi, endotel fonksiyonu ve yağ asidi taşınımı gibi birçok metabolik sistemi etkilemektedir (Davey vd., 2000).

Brokoli zengin bir askorbik asit kaynağıdır. Bu vitaminin mirosinaz aktivitesini arttırdığı (Burmeister, Cottaz, Rollin, Vasella & Henrissat, 2000) ve böylece glukorafanin molekülünden daha yüksek oranda sulforafan oluşumunda rol oynadığı bildirilmektedir (Shen, Su, Wang, Du & Wang, 2010). Brokolideki askorbik asit konsantrasyonu yüksek sıcaklıkların etkisi ile azalmaktadır. Yapılan çalışmalar pişirme, kaynatma ve mikrodalga uygulamalarının önemli miktarda askorbik asit kaybına sebep olduğunu bildirmektedir (Yuan, Sun, Yuan & Wang, 2009).



Şekil 2.8. Askorbik asidin kimyasal yapısı

C vitamininin RDA değeri kadınlar için 75 mg/gün ve erkekler için ise 90 mg/gün'dür (Landete, 2013). Carr ve Frei (1999), sigara içmeyen erkek ve kadınlarda kronik hastalık riskinin en aza indirilmesi için günde 90-100 mg C vitamini alımının gerekli olduğunu ileri sürmüşlerdir.

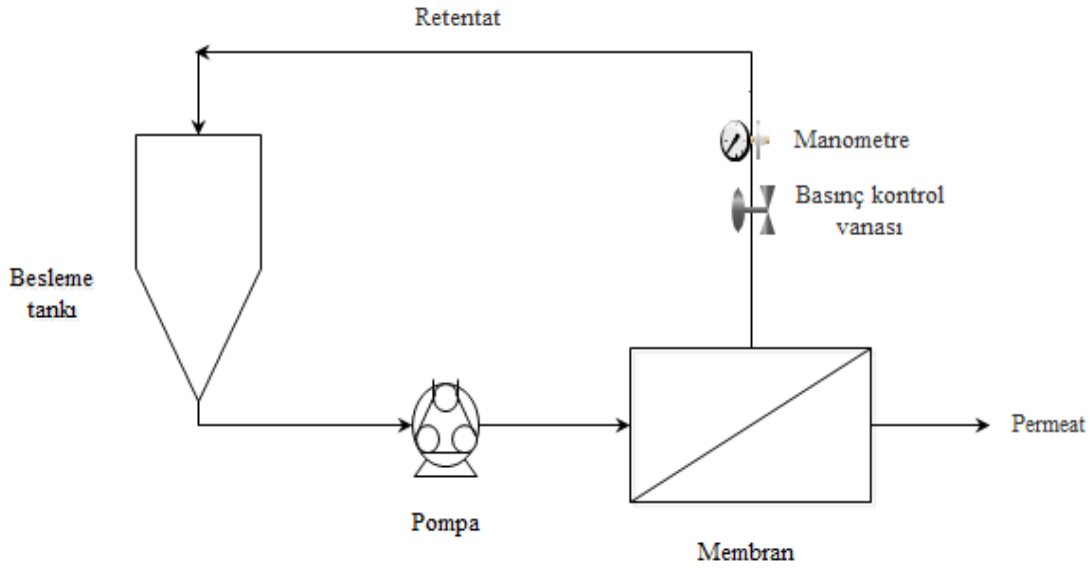
2.3. Biyoaktif Bileşenlerin Membran Prosesler ile Geri Kazanılması

Meyve ve sebzelerden biyoaktif bileşenlerin geri kazanılmasında organik çözücülerle ekstraksiyon en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Bu yöntem güvenli ve etkili bir ekstraksiyon sağlamakla birlikte, başlıca dezavantajları yüksek maliyet ve yüksek sıcaklıklardır. Ekstraksiyon hızını artırmak için gerekli olan yüksek sıcaklıklar biyoaktif bileşenleri denatüre edebilmektedir. Yöntemde yaygın olarak metanol, etanol ve hekzan gibi organik çözücüler kullanılmaktadır. Elde edilen ekstrakt kalıntı çözücü içerebileceğinden gıda amaçlı kullanımlarda güvenli değildir. Diğer bir yöntem olan katı-faz ekstraksiyonunda ise adsorbe edici maddeler kullanılarak sıvı gıdalardan biyoaktif bileşenler ekstrakte edilebilmektedir. Bu yöntem çözücü ekstraksiyonuna göre daha hızlı ve kolay olmasına rağmen, ön konsantrasyon amaçlı kullanılması, işlem için özel kartuşlara ihtiyaç duyulması ve kartuşların yüksek maliyeti nedeniyle kullanımı yaygın değildir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon, süper kritik akışkanla ekstraksiyon ve basınçlı sıvı ekstraksiyon gibi farklı ekstraksiyon tekniklerinin de yüksek maliyetli yüksek basınç cihazları gereksinimlerinden dolayı kullanımları kısıtlıdır (Conidi, Cassano & Drioli, 2011; Shi vd., 2005).

Malzeme bilimindeki ve membran üretim teknolojisindeki gelişmeler, membrana dayalı filtrasyon tekniklerinin 1990'lı yılların başından beri kullanım potansiyellerinin artmasına yol açmıştır. Membran teknolojileri, yüksek verimlilik, basit ekipman gereksinimi, kolay kullanım ve düşük enerji tüketimi gibi bir çok avantaja sahip olduğundan en önemli endüstriyel ayırma tekniklerinden biri haline gelmiştir. Tarımsal gıda ürünleri ve yan ürünlerden değerli bileşenlerin geri kazanılması da dahil olmak üzere birçok alanda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Li ve Chase, 2010). Membran filtrasyon tekniklerinin klasik ekstraksiyon yöntemlerine tercih edilmesinin en önemli nedeni toksik çözücü kullanımına gerek olmamasıdır.

Membran filtrasyon tekniklerinde kullanılan polimerik membranların ayırma sınırı çoğunlukla molekül ağırlığı cut-off değeri (MWCO) cinsinden ifade edilir. Örneğin, eğer bir membran 10 kDa ve daha büyük moleküllerin %90'ını tutabiliyorsa cut-off değeri 10 kDa olarak kabul edilmektedir (Acar ve Gökmen, 2004). Membran prosesleri, besleme akımını seçici bir membran yardımıyla permeat ve retentattan oluşan iki farklı akıma ayırır (Şekil 2.9). Permeat akımı (süzüntü), membranın MWCO değerinden küçük olan

ve dolayısıyla membrandan geçebilen parçacıklardan oluşan kısımdır. Retentat akımı (konsantre) ise, membran tarafından tutulan parçacıkları içerir. Membran prosesleri; sürücü kuvvetin niteliğine (basınç farkı, sıcaklık farkı, konsantrasyon farkı, elektriksel potansiyel fark ve buhar basıncı farkı gibi) bağlı olarak sınıflandırılır (Mulder, 1996).



Şekil 2.9. Membran prosesinin şematik gösterimi

Basınç farkının sürücü kuvvet olduğu membran prosesleri, gerekli olan transmembran basıncına (TMP) ve gözenek boyutuna göre mikrofiltrasyon (MF), ultrafiltrasyon (UF), nanofiltrasyon (NF) ve ters ozmoz (TO) olarak sınıflandırılır. Basınca dayalı membran proseslerinin genel özellikleri Çizelge 2.3'de verilmiştir. Bu membran proseslerinin ayırma etkinliği besleme akımının özellikleri (ağırlık, polarite, çözünenlerin yükleri), çalışma parametreleri (besleme akış hızı, TMP, sıcaklık, permeat akısı) ve membran karakteristikleri (membran materyali, membran ayırma modülünün konfigürasyonu, gözenek boyutu) gibi birçok faktöre bağlıdır (Castro-Muñoz, Yáñez-Fernández & Fíla, 2016).

Çizelge 2.3. Basınca dayalı membran proseslerinin genel özellikleri (Cheryan, 1998)

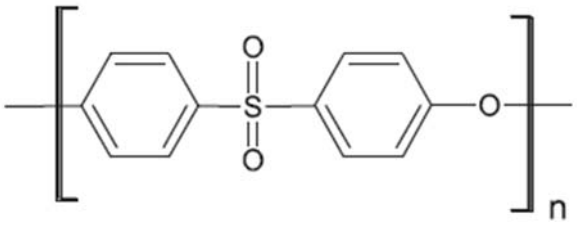
Proses	TMP	Gözenek boyutu	Permeat	Retentat
MF	1-10 bar	0,1-10 µm	Su, tuzlar, makro moleküler	Askıda katılar, kolloidler
UF	1-10 bar	0,5-100 nm	Su, küçük moleküller, tuzlar	Makro moleküler
NF	10-30 bar	0,5-10 nm	Su, bazı tuzlar	Çözünmüş tuzlar, düşük molekül ağırlıklı moleküller
TO	35-100 bar	<0,5 nm	Su	Tuzlar, makro moleküler

Mikrofiltrasyon (MF) yaklaşık olarak 0,1-10 µm arasındaki parçacıkları ayırmak için kullanılan bir membran prosesidir (Mannapperuma, 1997). MF ideal olarak sadece askıda katı maddelerin ayrıldığı, makromoleküllerin ise permeata geçtiği bir süreçtir. Meyve suyu endüstrisinde, MF'nin temel amacı, askıda katı maddeleri, yağ ve yüksek molekül ağırlıklı proteinleri uzaklaştırmaktır (Bhattacharjee, Saxena & Dutta, 2017). Ultrafiltrasyon yaklaşık olarak 0,5-100 nm arasındaki parçacıkları ayırmak için kullanılır. UF, protein ve askıda katılar gibi yüksek molekül ağırlıklı bileşenlerin membran tarafından tutulduğu, düşük molekül ağırlıklı bileşenlerin membrandan geçtiği bir prosestir. Hem MF hem de UF proseslerinde ayırma mekanizması esas olarak eleme etkisine dayanır ve parçacıklar boyutlarına göre ayrılırlar. Bununla birlikte, şekil ve yük gibi faktörler ve membran ile parçacıklar arasındaki etkileşimler de ayırma mekanizmasında rol alır (Conidi, Drioli & Cassano, 2018).

Ters ozmoz, suyun düşük molekül ağırlıklı çözünenlerden ayrıldığı ve gıda endüstrisinde ısı uygulaması gerektirmeden konsantrasyon amacıyla kullanılan bir membran prosesidir. NF ise UF ile TO arasında yer alır ve tipik olarak 100 ve 1000 Da aralığındaki moleküler ağırlığa sahip çok değerlikli iyonların ve yüksüz organik çözünenlerin ayrılması için kullanılır. NF membranları 1-3 nm aralığında gözenek boyutu ile karakterize edilir. TO membranlarından daha düşük basınçta (genellikle 3-30 bar aralığında) çalışırlar (Conidi vd., 2018).

Ticari membranlar için en yaygın olarak kullanılan polimerler; selüloz asetat, poliakrilonitril, poliamid, poliimid, polisülfon, polietersülfon, polipropilen,

politetrafluroetilendir. Polietersülfon (PES), membran uygulamalarında kullanılan en önemli polimerik malzemelerden biri olarak kabul edilmektedir (Şekil 2.10). Şeffaf, amorf yapıda ve yüksek bir camsı geçiş sıcaklığı (T_g, 225 °C) değerine sahip olan bu polimerin mekanik, ısıl ve kimyasal direnci yüksektir. Bu özelliklerinden dolayı PES farklı gözenek boyutlarında ve farklı yüzeylere sahip asimetrik membranların hazırlanmasında kullanılmaktadır (Ahmad, Abdulkarim, Ooi & Ismail, 2013). PES, polisülfona (PS) kıyasla yapısında daha fazla sülfür dioksit molekülü bulundurduğundan daha az hidrofobik bir polimerdir. Örneğin, SO_2 birimlerinin O-atomları, iki çiftin paylaşılmamış elektronları ile su moleküllerini bağlayabilirler (Cassano, De Luca, Conidi & Drioli, 2017).



Şekil 2.10. Polietersülfon molekülünün kimyasal yapısı

2.3.1. Ultrafiltrasyon Uygulamaları

Son yıllarda UF proseslerinin meyve sularında ve zeytin, narenciye, enginar ve şarap gibi endüstriyel atık sularında bulunan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda, fraksiyonlara ayrılmasında ve saflaştırılmasında kullanılması geniş çapta araştırılmaktadır (Galanakis, 2015).

Laorko, Li, Tongchitpakdee, Chantachum & Youravong, (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, ananas suyunun berraklaştırılması sırasında membranın gözenek büyüklüğünün ve MWCO değerinin toplam polifenollerin geri kazanılması üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, PS yapıda hollow fiber konfigürasyonunda MF (0,1-0,2 µm) ile UF (30-100 kDa) membranları kullanılmıştır. Membran filtrasyonun berrak ananas suyunun pH, indirgen şeker içeriği ve toplam asitliği üzerine önemli bir etkisi olmazken, askıda katılar ve mikroorganizmalar tamamen uzaklaştırılmıştır. Kullanılan membranlar arasında 0,2 µm gözenek büyüklüğündeki membran en yüksek

permeat akısı ve antioksidan aktivite gösteren bileşikler üzerinde en yüksek oranda geri kazanım göstermiştir.

Kalbasi ve Cisneros-Zevallos (2007) tarafından yapılan çalışmada 10-1000 kDa MWCO değerine sahip polivinildiflorid (PVDF) yapıda düz tabaka membranlar kullanılarak, Concord üzüm suyunda (*Vitis labrusca* L.) bulunan monomerik ve polimerik antosiyaninlerin fraksiyonlara ayrılması test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 100 kDa membran kullanılması durumunda polimerik antosiyaninler retentatta konsantre edilirken, monomerik antosiyaninler permeatta geri kazanılmıştır. Ayrıca, polifenoller ve toplam antioksidan aktivite arasında korelasyon gözlenmiştir. Ultrafiltrasyonun, monomerik ve polimerik antosiyaninleri fraksiyonlara ayırmada kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Nar suyundaki biyoaktif bileşiklerin saflaştırılması için yapılan bir çalışmada farklı MWCO (1000-4000 Da) ve farklı polimerik yapılara sahip düz tabaka UF membranlar kullanılmıştır. Bu membranlar arasında 2000 Da MWCO değerine sahip ince film kompozit membran daha yüksek permeat akısı, daha düşük kirlenme indeksi ve en yüksek seçiciliği gösteren membran olmuştur. Toplam antosiyanin ve toplam fenolik alıkonulması sırasıyla %90,7 ve %84,8 olarak belirlenmiştir (Conidi, Cassano, Caiazzo & Drioli, 2017).

Cissé, Vaillant, Pallet & Dornier, (2011a) roselle ekstraktlarından (*Hibiscus sabdariffa* L.) antosiyaninlerin konsantre edilmesinde farklı polimerik yapı ve farklı MWCO (0,2 ile 150 kDa arası) değerine sahip düz tabaka UF membranlarının kullanım potansiyelini araştırmışlardır. Sonuçlar, her bir test edilen membran için antosiyaninlerin alıkonulmasının TMP'nin artmasıyla ve MWCO değerinin azalmasıyla arttığını göstermiştir. Toplam antosiyanin alıkonulması 150 kDa membranda 5 bar basınçta %24 iken, 5 kDa membranda 30 barda %97 olarak belirlenmiştir. Ayrıca daha büyük MWCO değerine sahip membranların toplam antosiyanin alıkonması açısından TMP'deki değişikliklere karşı daha duyarlı olduğunu ve roselle ekstraktından antosiyaninlerin konsantrasyonu için 20 kDa'a eşit veya daha küçük MWCO değerine sahip membranların kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Polifenoller bakımından zenginleştirilmiş doğal bir ürün geliştirmek için yapılan bir çalışmada ilk olarak depektinize bergamot suyu 0,7 bar basınç altında ultrafiltrasyon

ile berraklaştırılmıştır. Daha sonra bergamot suyu farklı UF proseslerine tabi tutularak, membranların MWCO değerinin polifenollere karşı gösterdikleri alıkoyma oranlarının belirlenmesi üzerine çalışılmıştır. 1000 Da MWCO değerine sahip UF membranı kullanıldığında bergamot suyunun fizikokimyasal özelliklerinin korunduğu ve taze bergamot suyu ile kıyaslandığında permeatta toplam antioksidan aktivitede yalnızca %9,2'lik bir azalma gözlendiği bildirilmektedir (Conidi vd., 2011).

Cassano, Donato, Conidi & Drioli, (2008) kivi suyundan gıda ve içeceklerde takviye olarak kullanılabilecek doğal bir ürün geliştirilmesi üzerine yaptıkları çalışmalarında UF'da 30 kDa MWCO değerinde selüloz yapıda düz tabaka membran kullanmıştır. Folik asit, askorbik asit ve sitrik asidin berraklaştırılmış meyve suyundan geri kazanılmasının UF'nin son hacim azaltma faktörüne (VRF) bağlı olduğunu saptamışlardır. UF membranı bu bileşenlere karşı %0-4,3 arasında alıkoyma oranı göstermiştir. Diğer araştırılan asitlerle kıyaslandığında askorbik asit için daha düşük geri kazanım elde edilmiş ve bu durum kütle denklikleri ile de doğrulanmıştır. Askorbik asidin daha az geri kazanılmasını, bu bileşiğin UF prosesi boyunca daha yüksek oranda bozulması ile ilişkilendirmişlerdir. Ayrıca UF membranın toplam fenolik bileşiklere karşı alıkoyma oranı %13,5 olarak saptanmıştır.

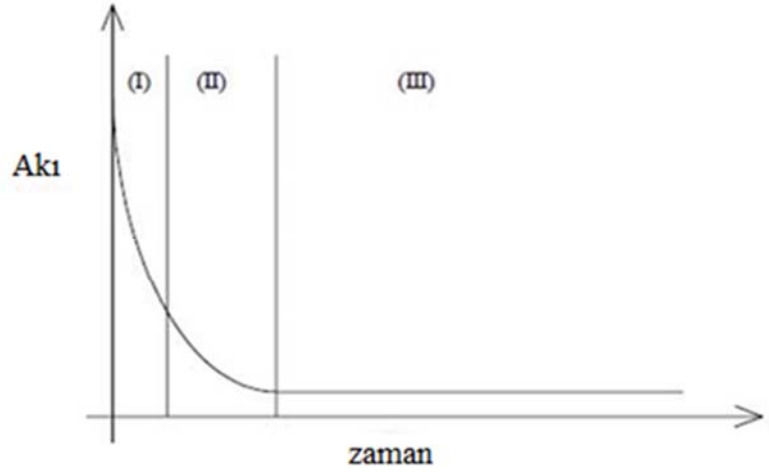
Farklı MWCO (4, 5 ve 10 kDa) ve farklı polimerik malzemede (rejenere selüloz ve PES) UF membranları kullanılarak zeytin fabrikası atık sularından polifenollerin geri kazanım potansiyellerinin değerlendirildiği bir çalışmada, rejenere selüloz membranların PES membranlar ile kıyaslandığında daha yüksek akı değerlerine, daha düşük kirlenme indekslerine ve polifenollere karşı daha düşük alıkoyma oranlarına sahip olduğu bildirilmektedir (Cassano, Conidi & Drioli, 2011a).

2.3.1.1. Ultrafiltrasyonda Kirlenme

Meyve suyu endüstrisinde UF uygulamaları sıklıkla kullanılmasına rağmen, karşılaşılan en önemli sorun proses boyunca permeat akısında bir düşüş olarak kendini gösteren ve doğrudan sürecin ekonomisine etki eden membran kirlenmesidir. Bu durum membranın seçiciliğini düşürmekte ve kullanım ömrünü kısaltmaktadır. Membranın

kirlenme performansı ve kirlenme mekanizmalarının anlaşılması, membran seçimi ve kirlenmenin kontrolü için kritik bir öneme sahiptir. (Nilsson, 1990).

Ultrafiltrasyonda gözlenen tipik akı-zaman grafiği Şekil 2.11'de verilmiştir. Tipik bir ultrafiltrasyon sürecinde akı; (I) hızlı bir başlangıç akı azalması ile başlar, (II) bunu uzun süreli kademeli akı azalması takip eder ve (III) sabit durum akısı ile sona erer (Hilal, Ogunbiyi, Miles & Nigmatullin, 2005).



Şekil 2.11. Ultrafiltrasyonda gözlenen tipik akı zaman grafiği

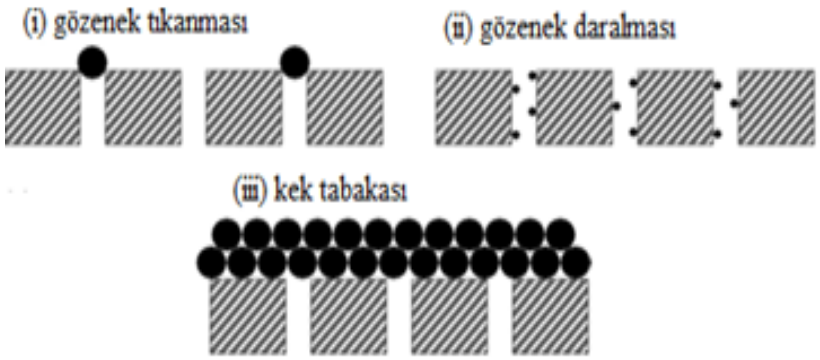
Membran gözenek büyüklüğü ve beslemedeki çözünenlerin büyüklüğü arasındaki farka bağlı olarak, kirlenme üç olası mekanizmaya ayrılabilir:

(i) Parçacıkların boyutu membran gözenek boyutu ile benzer olduğunda, parçacıklar gözeneklerin girişini bloke eder ve gözenek tıkanması meydana gelir,

(ii) Parçacıklar membran gözenek boyutundan daha küçük olduğunda, parçacıklar gözeneklere girer ve gözenek duvarında adsorbe olurlar, böylece gözenek daralması meydana gelir,

(iii) Parçacıklar gözenek boyutundan daha büyük olduğunda, parçacıklar membran yüzeyinde tabaka halinde katman oluşturur ve kek tabakası oluşumu gerçekleşir (Mousa ve Al-Hitmi, 2007; Zhao, Lau, Huang & Moraru, 2015).

Gözenekli membranlarda gerçekleşen bu 3 temel kirlenme mekanizmalarının şematik gösterimi Şekil 2.12'de görülmektedir.



Şekil 2.12. Gözenekli membranlarda gerçekleşen kirlenme mekanizmalarının şematik gösterimi (Bhattacharjee ve Hong, 2005; Field, 2010).

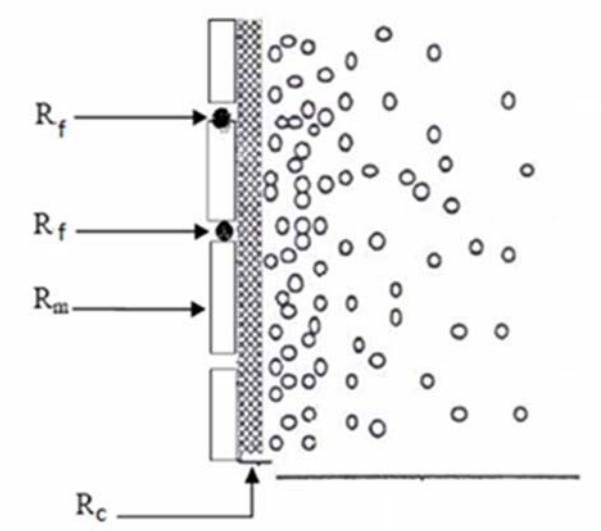
UF'nin ilk aşamasında permeat akısındaki hızlı azalma membran gözeneklerinin hızlı bir şekilde bloke edilmesine bağlanabilir. Membran gözenekleri membranda tutulan parçacıklar tarafından bloke edilmeye başladığında permeat akısı azalmaya başlar. Gözeneklerin tıkanma derecesi parçacıkların ve gözeneklerin şekline ve boyutuna bağlıdır. Gözenek tıkanması, membran direncini arttırır. Gözenek tıkanmasından sonraki akı azalması membran yüzeyinde kek tabakasının oluşumu ve oluşan kek tabakası kalınlığının giderek artmasından kaynaklanır. Kek tabakası permeat akışına ilave bir direnç oluşturur ve kek direnci kek tabakası kalınlığının artmasıyla artar (Abdelrasoul, Doan & Lohi, 2013).

Membran kirlenmesinin özelliklerini belirlemek için Darcy Yasası'nın kullanıldığı seri direnç modeli geliştirilmiştir. Model aşağıdaki denklem (2.1) ile ifade edilmektedir:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu R_t} = \frac{\Delta P}{\mu(R_m + R_c + R_f)} \tag{2.1}$$

Denklemde; ΔP transmembran basınç farkı, μ permeat viskozitesi, R_m membranın iç direnci, R_c membran yüzeyinde biriken kek tabakasından kaynaklanan kek direnci ve R_f ise gözenek tıkanmasından veya parçacıkların membrana adsorpsiyonundan

kaynaklanan kirlilik direncidir (Guo, Ngo & Li, 2012). Şekil 2.13'de membranda gözlenen dirençler verilmiştir.



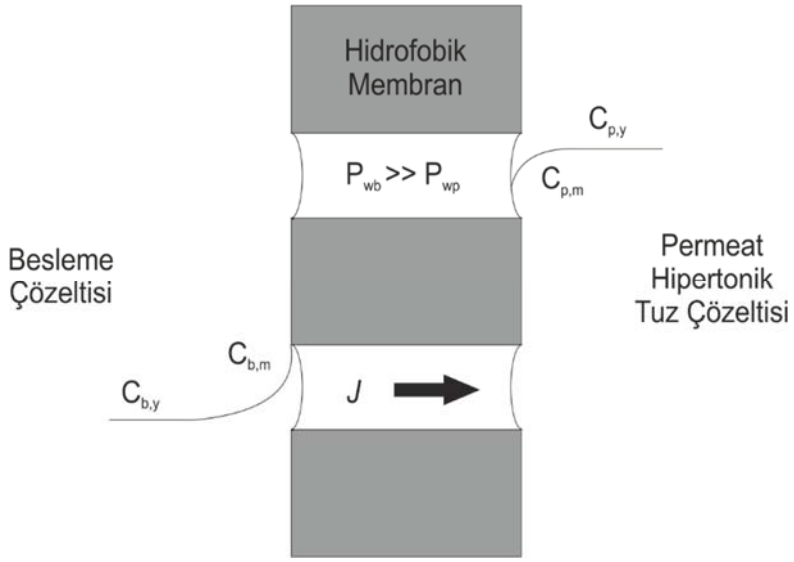
Şekil 2.13. Membranda gözlenen dirençler (R_m: membran direnci, R_c: kek direnci, R_f: kirlilik direnci) (Mulder, 1996).

2.3.2. Ozmotik Distilasyon

Ozmotik evaporasyon, izotermal membran distilasyon, membran evaporasyon ve gaz membran ekstraksiyon gibi isimlerle de bilinen ozmotik distilasyon süt, meyve ve sebze suları, instant kahve ve çay gibi sıvı gıdaların yapısındaki suyun oda sıcaklığında ayrımında kullanım potansiyeline sahip olan bir membran prosesidir. Bu proseste beslemeden suyun uzaklaştırılması atmosferik basınç altında ve oda sıcaklığında gerçekleştiğinden geleneksel evaporasyon süreçlerinde gözlenen ısıl degradasyonun önüne geçilebilmektedir. Bu nedenle ozmotik distilasyon özellikle meyve suyu gibi ısıya duyarlı ürünlerin konsantrasyonunda önem kazanmaktadır (Jiao, Cassano & Drioli, 2004).

Ozmotik distilasyonda, farklı çözünen konsantrasyonlarına sahip olan seyreltik besleme ile hipertonik tuz çözeltisi mikro gözenekli hidrofobik bir membran kullanılarak birbirinden ayrılır (Onsekizoglu, 2012a). Membran materyalinin hidrofobik özelliği nedeniyle meyve suyu ve hipertonik tuz çözeltisi membranın gözeneklerine giremez. Membran gözeneklerinin girişinde sıvı-buhar ara yüzeyi oluşur. İki çözeltinin su

aktiviteleri arasındaki farklılık membran boyunca buhar basıncı farkı oluşturur. Bu sürücü kuvvet ile birlikte su buharı, buhar basıncının yüksek olduğu taraftan düşük olduğu tarafa doğru membran gözeneklerinde difüze olur (Gostoli, 1999). Bunun sonucunda besleme çözeltisi konsantre olurken, hipertonik tuz çözeltisi seyreltik hale gelir. Şekil 2.14'de görüldüğü gibi ozmotik distilasyon prosesinde üç aşamalı bir kütle aktarım mekanizması oluşur: (1) seyreltik çözelti-membran ara yüzeyinde suyun buharlaşması, (2) su buharının membran boyunca taşınımı ve (3) membran-tuz çözeltisi ara yüzeyinde su buharının yoğuşması (Nagaraj, Patil & Biradar, 2006).



Şekil 2.14. Ozmotik distilasyon prosesinde gözlenen kütle aktarımı, *J*: su akısı, $C_{b,y}$: beslemenin yığın konsantrasyonu, $C_{b,m}$: beslemenin membran yüzeyindeki konsantrasyonu, $C_{p,y}$: permeatın yığın konsantrasyonu, $C_{p,m}$: permeatın membran yüzeyindeki konsantrasyonu (Courel, Dornier, Herry, Rios & Reynes, 2000).

Ozmotik distilasyonda uygulanan transmembran basıncı membran sıvı giriş basıncından fazla olmadığı sürece, membranın hidrofobik yapısı sulu çözeltilerin gözeneklere penetrasyonunu engeller (Onsekizoglu, 2012b). Sıvı giriş basıncı (LEP), membranın hidrofobik kuvvetlerinin üstesinden gelebilmek ve membran gözeneklerine nüfuz edebilmek için besleme çözeltisine uygulanması gereken minimum hidrostatik basınçtır. LEP her membranın karakteristik bir özelliğidir ve ozmotik distilasyon süreçlerinde membran gözeneklerinin ıslanmaması için aşılmaması gereken hidrostatik basıncın bir ölçütüdür. Yüksek hidrofobiklik ve küçük gözenek boyutuna sahip membran

materyallerinin LEP değeri daha yüksektir (Drioli, Ali & Macedonio, 2015). LEP değerinin hesaplandığı Denklem (2.1.) Laplace-Young eşitliğinden faydalanarak türetilmiştir.

$$\Delta P = -\frac{2\beta\gamma_1}{d_p} cos\theta \tag{2.1}$$

Burada β, silindirik gözenekler için 1'e eşit olan gözenek yapısıyla belirlenen geometrik bir faktör, γ_1 sıvının yüzey gerilimi, d_p gözenek çapı, θ ise sıvı/katı temas açısıdır (Garcia-Payo, Izquierdo-Gil & Fernández-Pineda, 2000).

Membran boyunca su buharının taşınım mekanizması gözenekli ortamda gaz taşınımını tanımlamak için geliştirilmiş Dusty gaz modeli kullanılarak açıklanabilir. Bu modele göre başlıca aktarım mekanizmalarının Knudsen ve moleküler difüzyon olduğu varsayılarak, membranın kütle aktarım katsayısı, membran gözenek büyüklüğü ve porozitesiyle doğru orantılı, membran kalınlığı ve membran tortuozitesi ile de ters orantılıdır (Alves, Koroknai, Bélafi-Bakó & Coelhoso, 2004).

Ozmotik çözelti hazırlamada kullanılacak olan ozmotik maddenin uçucu olmaması, düşük buhar basıncını muhafaza edebilecek, sürücü kuvveti maksimum düzeyde tutabilecek yüksek ozmotik aktiviteye sahip olması ve seyreltilmiş çözeltisinin buharlaştırılarak yeniden konsantrasyonu sırasında ısıl olarak kararlı olması gerekir. Dikkate alınması gereken diğer faktörler çözünürlük, toksisite, korozivite ve maliyettir (Onsekizoglu, 2012b). Ozmotik distilasyonun performansı düşük su aktivitesine sahip ozmotik çözelti seçimine bağlıdır. Bu amaçla NaCl, $MgSO_4$, $CaCl_2$, K_2HPO_4 gibi inorganik tuzlar ve gliserol ve poligliserol gibi organik çözücüler kullanılabilir (Kujawski vd., 2013). $CaCl_2$ daha düşük su aktivitesi oluşturarak kütle aktarımı için gerekli olan sürücü kuvvetin daha fazla olmasını sağlamakta ve bu nedenle ozmotik madde olarak diğer tuzlara tercih edilir (Zambra, Romero, Pino, Saavedra & Sanchez, 2015).

OD ile konsantrasyon prosesi, TO ve membran distilasyon (MD) proseslerinin dezavantajlarının üstesinden gelebilecek potansiyel avantajlara sahiptir. TO yüksek ozmotik basınç sınırlandırmasına sahiptir, buna karşın MD prosesinde su buharı basınç gradyanını koruyabilmek için besleme akımının ısıtılması gerektiğinden bir miktar uçucu bileşen kaybı ve ısıl degradasyon meydana gelebilir. Öte yandan OD prosesi oda

sıcaklığında gerçekleştiğinden yüksek sıcaklığın etkisiyle gerçekleşen bu sorunların önemli ölçüde önüne geçilebilmektedir (Jiao vd., 2004).

Son yıllarda çeşitli meyve sularının ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda hammadde kalitesinin korunduğuna ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Cissé vd., (2011b) tarafından yapılan bir çalışmada roselle ekstraktı, elma suyu ve üzüm suyunun ozmotik distilasyonla konsantrasyonu ve bu prosesin ürün kalitesine olan etkisi araştırılmıştır. Konsantrasyon polipropilen (PP) yapıda 0,2 mm gözenek boyutunda hollow fiber membran kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üzüm suyu, elma suyu ve roselle ekstraktı sırasıyla 66 °Briks, 57 °Briks, ve 61 °Brikse kadar konsantre edilmiştir. Ozmotik distilasyon şeker, asit, polifenol ve antosiyanin içeriğine etki etmemiştir. Ayrıca bir miktar aroma kaybına rağmen aromatik kalite de korunmuştur. Ozmotik distilasyonla elde edilen konsantratların fizikokimyasal, biyokimyasal ve aromatik özelliklerinin termal konsantratlardan çok daha yüksek olduğunu ve başlangıç ürünün özelliklerine daha yakın olduğu belirlenmiştir.

2.3.3. Entegre Membran Sistemlerinin Kullanımı

Son yıllarda meyve sularının ısıl olmayan koşullarda berraklaştırılması ve konsantrasyonu amacıyla membrana dayalı yöntemlerin entegrasyonu üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Cassano, Jiao ve Drioli (2004) tarafından yürütülen bir çalışmada kivi suyu konsantresi üretimi için entegre membran proseslerinin kullanımı araştırılmıştır. Klarifikasyon amacıyla ultrafiltrasyon, konsantrasyon amacıyla da ozmotik distilasyon prosesinin kullanıldığı bu çalışmada, C vitamininin yüksek oranda korunduğu 60 °Briks'lik konsantrasyona sahip kivi suyu konsantresi üretilmiştir. Cassano, Conidi & Drioli, (2013) tarafından yapılan bir çalışmada bergamot suyunun klarifikasyonunda ve konsantrasyonunda UF ve OD proseslerinin kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Elde edilen konsantre meyve suyunun taze meyve suyuna eşdeğer özelliklerde antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca entegre membran proseslerinin camu-camu (Souza vd., 2013) ve acerola (Pagani vd., 2011) gibi tropikal meyve sularının klarifikasyonunda ve konsantrasyonunda kullanımı da araştırılmış ve yaklaşık 53-55

°Briks düzeyine kadar konsantre edilen örneklerde C vitamini ve antioksidan aktivitelerinde herhangi bir kayıp gözlenmemiştir.

OD ile konsantre edilen kan portakal suyundaki fenolik bileşiklerin konsantrasyonunun araştırıldığı başka bir çalışmada, taze sıkılmış meyve suyu depektinizasyon aşamasından sonra askıda bulunan katı maddeleri ve kolloidal parçacıkları uzaklaştırmak için UF işlemi ile klarifikasyona tabi tutulmuştur. UF permeatında taze sıkılmış meyve suyu ile karşılaştırıldığında toplam antioksidan aktivitede %8,2 oranında bir azalma olmuştur. UF membranının fenolik bileşiklere gösterdiği alıkoyma oranı %0,4-6,9 aralığındadır. 10,5 °Brikse sahip UF permeatı OD ile 61,4 °Brikse kadar konsantre edilmiştir. UF permeatı ile konsantre meyve suyunun fenolik içerikleri arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir (Destani, Cassano, Fazio, Vincken & Gabriele, 2013). Gianni, Silvestro, Cassano & Stefano, (2008) yüksek kaliteli konsantre kan portakal suyu üretiminde, yeni bir entegre membran prosesinin yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen konsantrasyona alternatif olarak kullanımını araştırmışlardır. Taze sıkılmış kan portakal suyu 15 kDa MWCO değerinde PVDF yapıda tübüler membran kullanılarak berraklaştırılmıştır. Daha sonra birbirini izleyen iki süreçle art arda konsantre edilmiştir. İlk olarak TO ile 25-30 °Brikse kadar ön konsantrasyon yapılmış, 60 °Briks'lik son konsantrasyona kadar da OD kullanılmıştır. Konsantrasyon prosesi boyunca askorbik asit (%15) ve antosiyaninlerdeki (%20) azalmaya bağlı olarak toplam antioksidan aktivitede (%15) hafif bir azalma görülmüştür. Bununla birlikte, bu azalmanın ısıl olarak konsantre edilen meyve suyunda gözlemlenenden daha düşük olduğu bildirilmiştir.

Literatür verileri incelendiğinde, membran proseslerinin meyve ve sebzelerdeki biyoaktif bileşiklerin ısıl olmayan koşullarda kazanımı ve konsantrasyonu konusunda önemli bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Ancak, literatürde bu kapsamda yapılan çalışmalar son derece kısıtlıdır. Koffi vd., (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada *Justicia secunda* bitkisi yapraklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda MF ve RO kullanılmıştır. Yapraklar pilot tesis ölçeğinde ultrason desteği ile birlikte su ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt 0,2 µm gözenek büyüklüğünde MF membranından geçirilmiştir. Elde edilen permeat 40 bar basınç altında RO prosesi ile konsantre edilmiştir. Kullanılan entegre membran sistemi ile kurutulmuş yapraktan su difüzyonu ile elde edilen basit içeceğe kıyasla 19 kat daha fazla polifenol içeriğine sahip bir ürün elde

edilmiştir. Bir diğer çalışmada Oliveira vd., (2016) karpuz suyundan şeker içeriği azaltılmış ve likopence zenginleştirilmiş ekstrakt elde etmek için mikrofiltrasyon, diafiltrasyon ve ters ozmoz proseslerinin entegrasyonu üzerinde çalışmışlardır. Elde edilen ürünün likopen içeriği, taze meyve suyundan 17,7 kat daha yüksek bulunmuştur. Diafiltrasyon aşaması ile glukoz, fruktoz ve sukroz içeriği sırasıyla %51, %26 ve %100 azaltılmış ürün elde edilmiştir. Elde edilen antioksidan aktivitesi yüksek karpuz suyu konsantresinin doğal antioksidan veya renklendirici olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

BÖLÜM 3

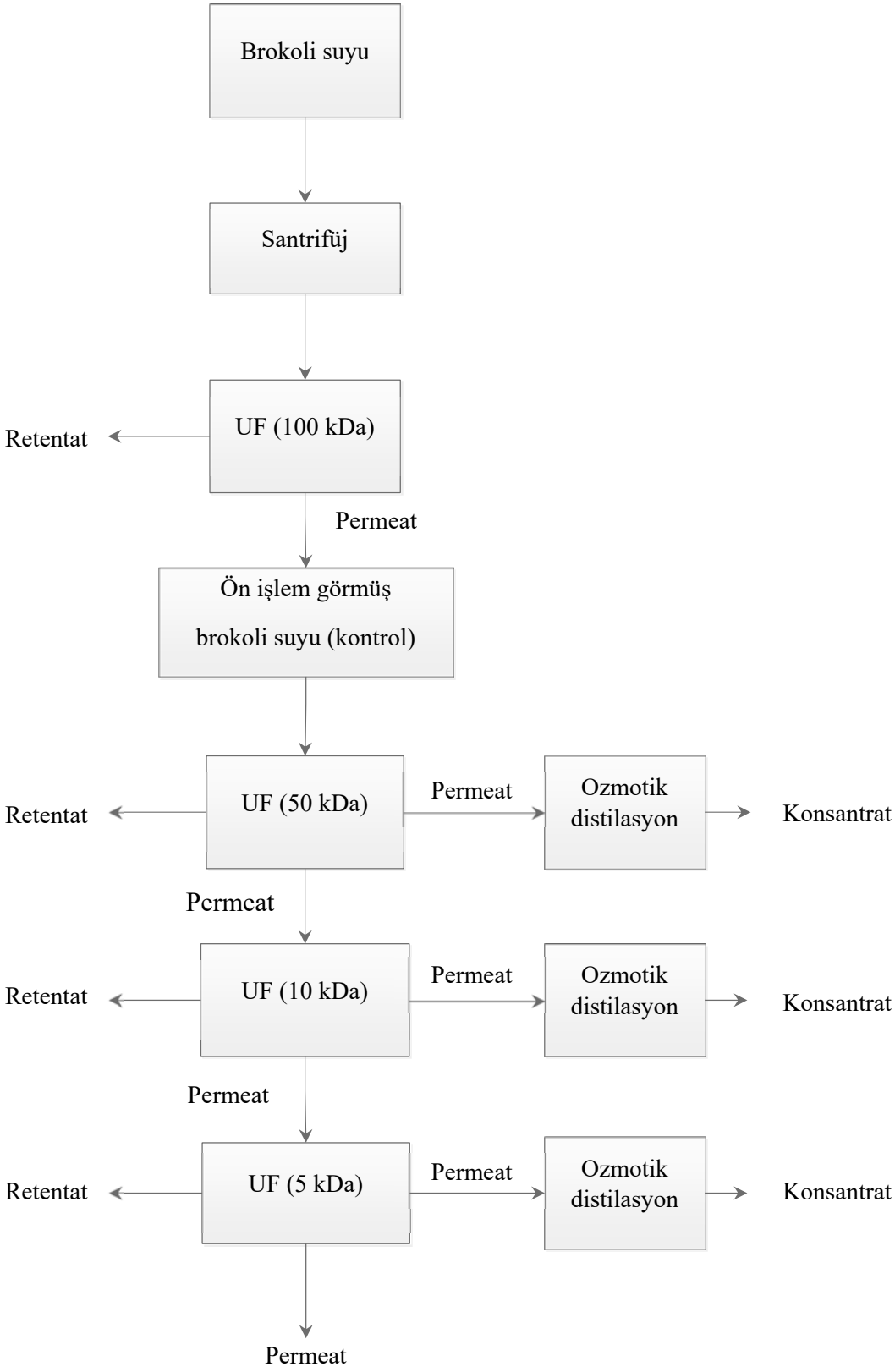
MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hammadde

Brokoli (*B. oleracea* var. *italica*) örnekleri Edirne ilinin Karaağaç bölgesinden temin edilmiştir. Katı meyve sıkacağı (Philips-HR1861, China) kullanılarak %35 verim ile brokoli suyu üretilmiştir. Ultrafiltrasyon prosesinde kirlenmeyi azaltmak için, brokoli suyu 8832 *g*'de 10 dk santrifüj (Sigma 3-30KS, Germany) edilerek içeriğindeki asılı katı maddeler uzaklaştırılmıştır. Santrifüjden sonra brokoli suyunun toplam suda çözünür kuru madde miktarında herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Brokoli suyunun santrifüj edilmesiyle asılı katı maddeleri uzaklaştırılmış olan brokoli suyu ilk olarak 100 kDa MWCO değerine sahip PES yapıda membran kullanılarak içeriğindeki makromoleküller uzaklaştırılmıştır. 100 kDa membrandan elde edilen permeat (ön işlem görmüş brokoli suyu) kademeli olarak 50 kDa, 10 kDa ve 5 kDa MWCO değerlerine sahip PES yapıda membranlara beslenmiştir. Elde edilen permeatlar oda sıcaklığında ve atmosferik basınç altında konsantrasyona imkan veren ozmotik distilasyon sistemi ile konsantre edilmiştir. Brokoli suyu konsantresi üretim akış şeması Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Brokoli suyu konsantresi üretim akış şeması

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

DL-Sulforafan, Trolox, 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonik asit) (ABTS), fenolik madde standartları (gallik asit, kuersetin, mirisetin, luteolin, isoramnetin, kamferol, sinapik asit, klorojenik asit ve rutin) ve organik asit standartları (fumarik asit, isositrik asit, malik asit, maleik asit, kuinik asit, okzalik asit, süksinik asit, tartarik asit ve sitrik asit) Sigma (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir. Folin-Ciocalteu çözeltisi, metanol ve potasyum persülfat analitik saflıkta, diğer bütün kimyasallar HPLC saflığındadır.

3.2. Metot

3.2.1. Ultrafiltrasyon Prosesi

Brokoli suyunun ultrafiltrasyon uygulamalarında laboratuvar ölçekli Vivaflow 200 ultrafiltrasyon modülü (Sartorius AG, Gottingen, Germany) kullanılmıştır. Modülün teknik özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Laboratuvar ölçekli ultrafiltrasyon sistemi Şekil 3.2'de görülmektedir. Ultrafiltrasyon, permeatın ayrı bir kapta toplandığı ve retentatın ise sürekli olarak besleme kabına geri beslendiği yarı kesikli konsantrasyon modu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işleme yaklaşık 7 ağırlık azaltma faktörü (WRF) elde edene kadar devam edilmiştir. WRF, başlangıç besleme ağırlığının retentat ağırlığına oranı olarak tanımlanmaktadır.

Ultrafiltrasyon 15 L/saat akış hızında ve 25 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Sistemin transmembran basıncı (TMP) membran çıkışına yerleştirilen basınç kontrol vanasıyla 1,5 barda sabit tutulmuştur. Elde edilen permeat miktarı terazi (Ohaus Explorer, Nänikon, Switzerland) kullanılarak belirli zaman aralıklarında kaydedilmiştir. Permeat akısı, (J_p), Denklem 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır:

$$J_p = \frac{W_p}{A.t} \tag{3.1}$$

Burada; J_p permeat akısı (kg/m^{2}saat), W_p permeatın ağırlığı (kg), t zaman (saat) ve A ise membranın yüzey alanını (m^2) göstermektedir.

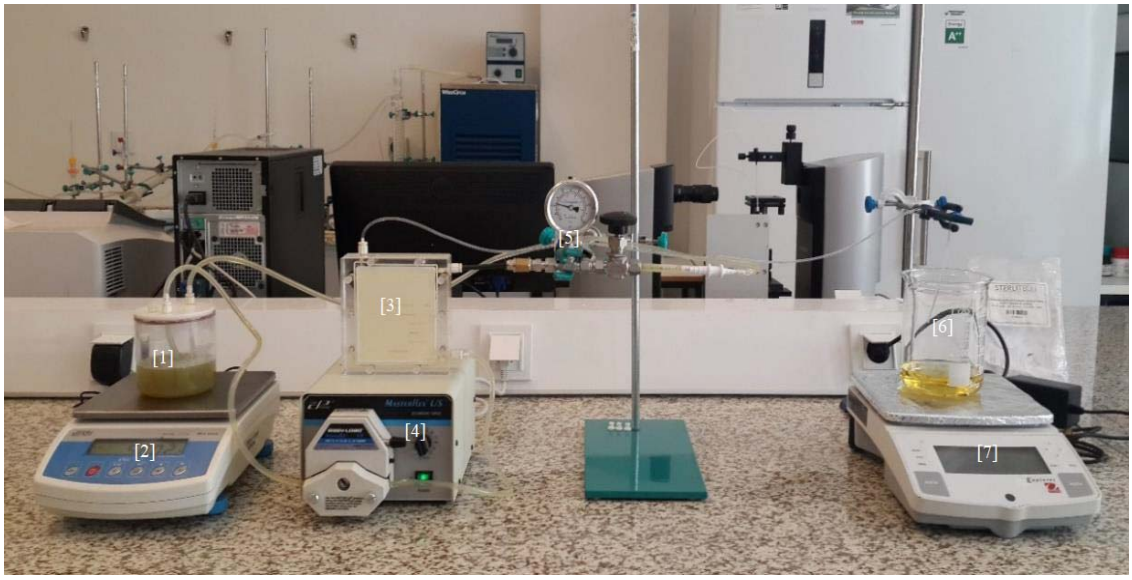
Biyoaktif bileşiklerin ultrafiltrasyon membranlarında alıkonma oranları (%R) aşağıdaki denklem yardımıyla belirlenmiştir:

$$R = \left(1 - \frac{Cp}{Cf}\right) \times 100 \quad (3.2)$$

Burada, C_p permeatta bulunan biyoaktif bileşik konsantrasyonunu, C_f beslemede bulunan biyoaktif bileşik konsantrasyonunu göstermektedir.

Çizelge 3.1. Vivaflow 200 ultrafiltrasyon modülünün teknik özellikleri

Boyutlar	
Uzunluk/yükseklik/genişlik, mm	126/138/38
Akış kanalı derinliği ve genişliği, mm	0,4 x 10
Aktif membran alanı, cm^2	200
Modülün tutma hacmi, ml	5,3
Minimum resirkülasyon hacmi, ml	20
Geri kazanılamayan hacim, ml	2
Materyallerin yapısı	
Ana gövde	Akrilik
Akış kanalı	Akrilik
Membran desteği	Polipropilen
Çalışma koşulları	
Pompa akış hızı, ml/dk	200-400
Maksimum basınç, bar	4
Maksimum sıcaklık, °C	60



Şekil 3.2. Laboratuvar ölçekli ultrafiltrasyon sistemi ([1] brokoli suyu; [2] terazi; [3] membran modülü; [4] peristaltik pompa; [5] basınçölçer; [6] permeat; [7] terazi).

3.2.1.1 Ultrafiltrasyonda Temizleme Prosedürü ve Hidrolik Geçirgenlik

Ultrafiltrasyonda kullanılan her bir membranın hidrolik geçirgenlik değerleri sabit çalışma koşullarında (25 °C'de, 15 L/saat) belirlenmiştir. Bu amaçla membranlara farklı transmembran basınçları (0-1,5 bar) uygulanarak saf suya ait akı değerleri belirlenmiştir. Transmembran basıncına karşı akı değerlerinin grafiğe aktarılmasıyla elde edilen doğrunun eğimi hidrolik geçirgenlik değerinin belirlenmesini sağlamıştır.

Yeni, kullanılmamış bir membranın hidrolik geçirgenliği L_{p0} olarak tanımlanmıştır. Brokoli suyu uygulamasının ardından belirlenen hidrolik geçirgenlik ise L_{p1} olarak ifade edilmiştir. Brokoli suyunun ultrafiltrasyonundan sonra, yüzeydeki kek tabakasının uzaklaştırılması amacıyla membran, 20 L/saat akış hızı ve 0,3 bar basınçta 30 dk boyunca saf su ile yıkanmıştır. Su ile yıkama sırasında gözenek tıkanmasının önüne geçebilmek için yüksek akış hızı ve düşük TMP kullanılmıştır. Su ile yıkamanın ardından belirlenen hidrolik geçirgenlik L_{p2}'dir. Kek tabakasının uzaklaştırılmasının ardından geri dönüşümlü kirliliklerin uzaklaştırılması amacıyla 0,5 N NaOH kullanılarak 25 °C'de 0,3 bar basınç altında 60 dk boyunca kimyasal temizleme yapılmıştır. Kimyasal temizleme işlemi bittikten sonra sistem 30 dk boyunca su ile yıkanarak hidrolik geçirgenlik hesaplanmıştır (L_{p3}). Yıkama prosedürünün ardından, ultrafiltrasyon membranları

%10'luk (v/v) etil alkolden geçirilerek bir sonraki uygulamaya kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır.

3.2.1.2. Seri Direnç Analizi

Her membran için belirlenen hidrolik geçirgenlik değerleri kullanılarak seri direnç analizi yapılmıştır. Seri direnç analizine göre akı; membranın iç direnci, kek direnci ile kirlilik direncinin toplamından oluşan toplam dirence bağlı olarak azalır (Cassano, Donato & Drioli, 2007a).

$$J = \frac{\Delta P}{\mu R_t} = \frac{\Delta P}{\mu(R_m + R_c + R_f)} \tag{3.3}$$

Denklemde; ΔP transmembran basınç farkı, μ permeat viskozitesi, R_m membranın iç direnci, R_c kek tabakası direnci ve R_f kirlilik direncidir.

Membran iç direnci, R_m, aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

$$R_m = \frac{1}{\mu_w L_{p0}} \tag{3.4}$$

Burada, μ_w saf suyun viskozitesi, L_{p0} ise kullanılmamış temiz PES yapıdaki membranın hidrolik geçirgenliğini göstermektedir.

Toplam direnç, R_t, ise brokoli suyu uygulamasından sonra elde edilen L_{p1} değeri kullanılarak aşağıdaki denklem ile belirlenmiştir.

$$R_t = \frac{1}{\mu_w L_{p1}} \tag{3.5}$$

Kek tabakası direnci, R_c, membranın su ile yıkanmasından sonra hesaplanan L_{p2} kullanılarak aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$R_c = R_t - R_m - R_f \tag{3.6}$$

$$R_m + R_f = \frac{1}{\mu_w L_{p2}} \tag{3.7}$$

R_f, kirlilik direnci, R_{frev} kimyasal yıkama ile uzaklaştırılan geri dönüşümlü kirliliklerin oluşturduğu direnç ile R_{firr} kimyasal yıkama ile uzaklaştırılamayan geri dönüşümsüz kirliliklerin oluşturduğu direncin toplamından oluşmaktadır. Bu nedenle bu

değerler kimyasal temizleme işleminden sonra belirlenen hidrolik geçirgenlik olan L_{p3} kullanılarak hesaplanmıştır.

$$R_m + R_{firr} = \frac{1}{\mu_w L_{p3}} \quad (3.8)$$

3.2.2. Ozmotik Distilasyon Sistemi ile Konsantrasyon

Ultrafiltrasyondan elde edilen permeat örnekleri kapiler membran modülü (MD 020 CP 2N, Microdyn, Germany) kullanılarak ozmotik distilasyon sistemi ile konsantre edilmiştir. Ozmotik distilasyonda kullanılan membran modülünün özellikleri Çizelge 3.2'de verilmiştir. Ozmotik distilasyon prosesinde permeat örnekleri membranın kabuk kısmından, hipertonik tuz çözeltisi ise membranın tüp kısmından ters akışlı olarak peristaltik pompalar (Masterflex, L/S, USA) kullanılarak sisteme beslenmiştir. Hipertonik tuz çözeltisi olarak kalsiyum klorür dihidrat çözeltisi (%65, w/w) kullanılmıştır. Sistemin her iki tarafında da akış hızı 30 L/saat olarak ayarlanmıştır.

Çizelge 3.2. Ozmotik distilasyonda kullanılan membran modülünün özellikleri

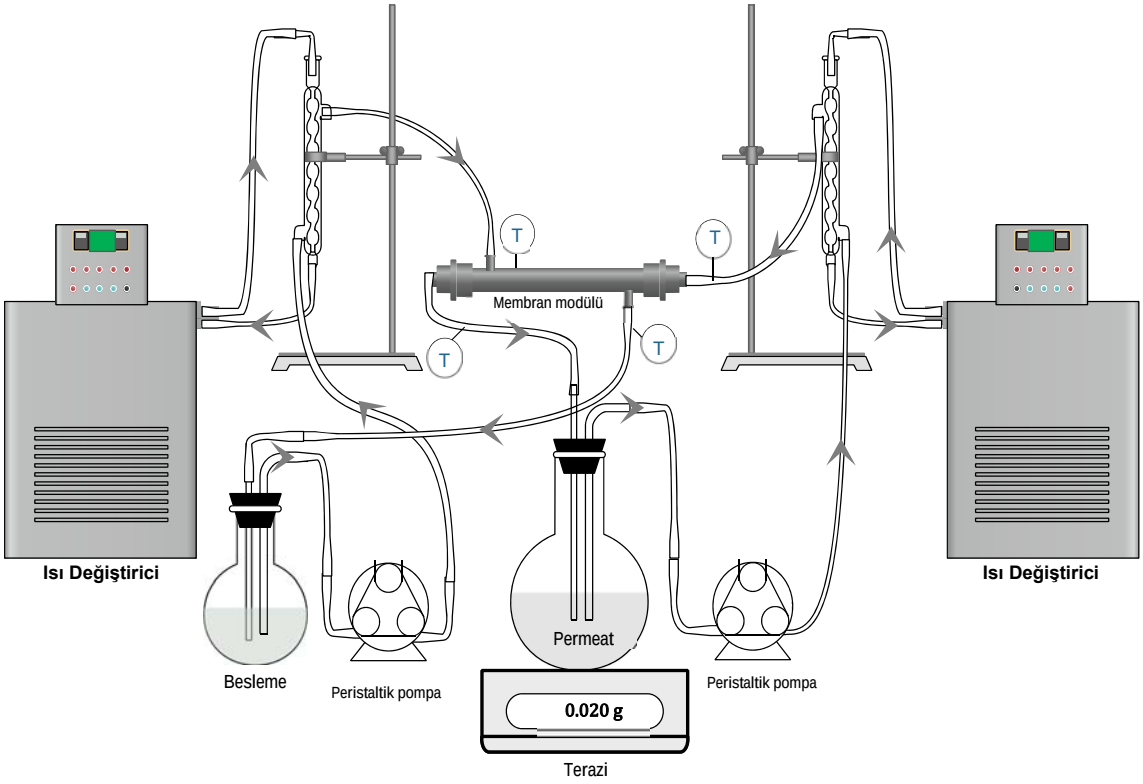
Konfigürasyon	Kabuk ve tüp
Materyal	
Housing	Polipropilen
Membran	Polipropilen
Potting	Polipropilen
Membran ve modül verileri	
Kapiler tüp sayısı	40
İç çap	1,8 mm
Gözenek çapı	0,2 μm
Membran iç alanı	0,1 m^2
Serbest akış alanı	1,0 cm^2
Modülün ölçüleri (DxL)	25x500 mm
1 m/s eksenel hızda besleme hacimsel akış hızı	360 L/saat
Membran çalışma koşulları	
Max. transmembran basıncı	1,6 bar
Operasyon sıcaklığı	5-40 °C

Ozmotik distilasyon prosesinin şematik gösterimi Şekil 3.3'de verilmiştir. Proses boyunca sürücü kuvvetin azalmasını engellemek amacıyla hipertonik tuz çözeltisinin ağırlığı brokoli suyu örneğinin ağırlığının 8 katı olarak seçilmiştir. Brokoli suyu ve hipertonik tuz çözeltisinin sıcaklığı iki adet ısı değiştirici (WiseCircu, Daihan, Korea) kullanılarak 25±1 °C'de sabit tutulmuştur. Sıcaklık membran modülünün giriş ve çıkışına yerleştirilen termometreler kullanılarak kontrol edilmiştir. Brokoli suyu ve hipertonik tuz çözeltisinin °Briks değerleri dijital refraktometre (Atago PAL-3, Tokyo, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. Hipertonik tuz çözeltisinin ağırlığındaki artış terazi kullanılarak zamana bağlı olarak takip edilmiş ve su permeat akısı (*J*) aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$J = \frac{1}{A} . \frac{\Delta m_{su}}{\Delta t} \tag{3.9}$$

Burada, $\frac{\Delta m_{su}}{\Delta t}$ permeat tarafına suyun transfer hızını, kg/saat, A membran alanını, m^2, göstermektedir.

Ozmotik distilasyon uygulamasından sonra, membran modülü 5 aşamalı bir temizleme prosedürü ile yıkanmıştır. İlk olarak membran modülünün tüm kısımlarından deiyonize su geçirilmiştir. Sonra %1'lik (w/w) NaOH ile 30 °C'de 1 saat yıkanmıştır. Kısa süreli deiyonize su ile yıkanıp, %1'lik sitrik asit çözeltisi ile 30 °C'de 1 saat yıkanmıştır. Son olarak sistem deiyonize su ile yıkanmıştır.



Şekil 3.3. Ozmotik distilasyon prosesinin şematik gösterimi

3.2.3. Kalite Analizleri

Brokoli suyu ve konsantre edilen permeat örnekleri arasında doğrudan karşılaştırma yapabilmek amacıyla, konsantre edilen örnekler yapılacak kalite analizleri öncesinde ön işlem görmüş brokoli suyu (kontrol) örneğine göre seyreltilmiştir. Sulforafan, fenolik bileşikler, L-askorbik asit ve organik asit analizi Agilent 1200 sistem Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) cihazı (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. HPLC sistemi kuaterner pompa (Agilent, G1311C), otomatik örnekleyici (Agilent G1329B), kolon termostatı (Agilent, G1316A) ve UV-dedektörden (Agilent, G1315D) oluşmaktadır.

3.2.3.1. pH ve Toplam Asitlik Tayini

Brokoli suyu örneklerinin pH değerleri pH metre (Mettler-Toledo SG-2 SevenGo, Switzerland) kullanılarak belirlenmiştir. Toplam asitlik tayininde, örnekler 0,1 N NaOH ile pH 8,1'e kadar titre edilmiş ve harcanan baz miktarından yararlanarak örneklerin toplam asitlikleri hesaplanmıştır. Brokoli suyunda baskın asit malik asit olduğundan, sonuçlar g malik asit/100 mL olarak ifade edilmiştir.

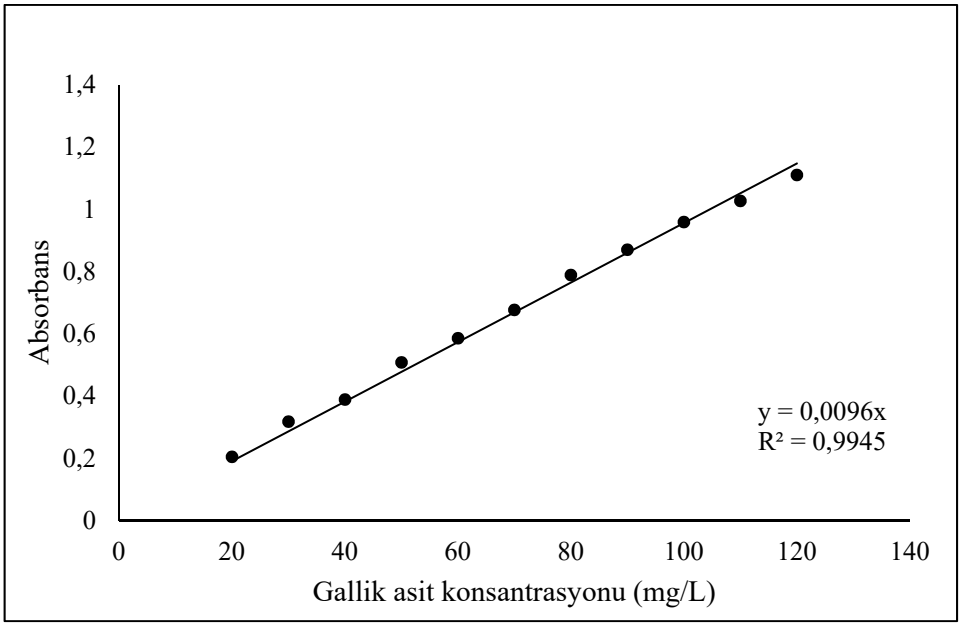
3.2.3.2. Renk Analizi

Örneklerin rengi, Minolta CM 3600d spektrofotometre cihazı (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. L^* değeri örneklerin parlaklık ve açıklık değerlerini göstermektedir (0=siyah, 100=beyaz). a^* değeri kırmızı/yeşil, b ise sarı/mavi koordinatlarını göstermektedir. Örnekler arasındaki toplam renk farkını ifade eden ΔE değeri ise aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\Delta E = \sqrt{[(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2]} \quad (3.10)$$

3.2.3.3. Toplam Fenolik Madde Analizi

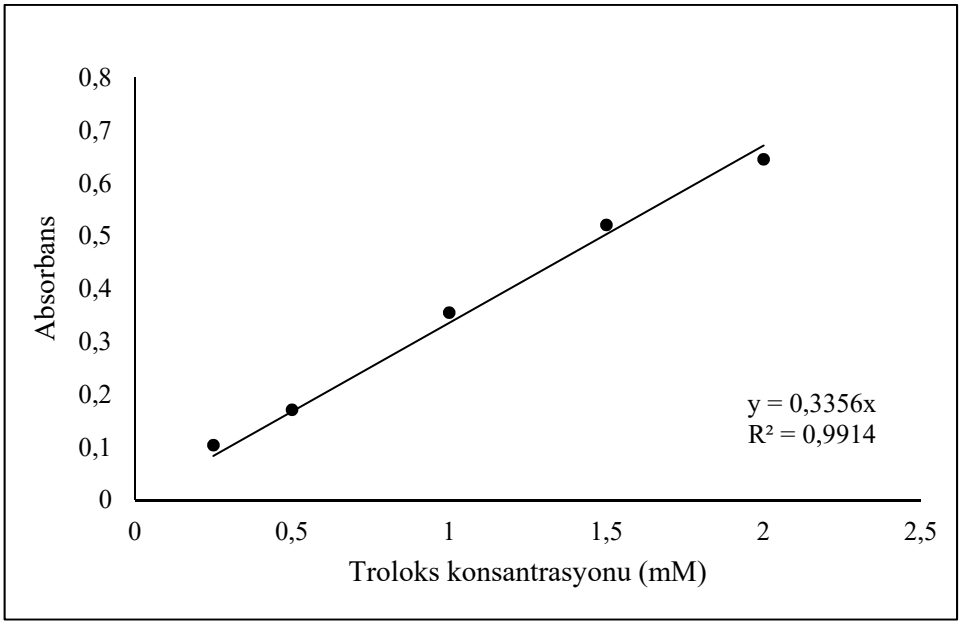
Toplam fenolik madde analizi Spanos, Wrolstad & Heatherbell (1996) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır. Yöntemin prensibi, fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ile kompleks oluşturması ve oluşan mavi rengin spektrofotometrede ölçülmesine dayanmaktadır. Brokoli suyu belirli bir oranda seyreltilerek 0,45 µm gözenek boyutunda naylon filtreden geçirilmiştir. Seyreltilmiş örnekten 1 mL alınarak üzerine 5 mL 0,2 N Folin-Ciocelteu reaktifi ve 4 mL doymuş sodyum karbonat (75 g/L) ilave edilerek vorteksle karıştırılmıştır. Elde edilen bu karışım 50 °C'de su banyosunda 5 dk bekletildikten sonra hemen soğutulmuştur. Karışımın absorbansı spektrofotometrede (Shimazdu, Japan) 760 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Brokoli suyu örneklerinde bulunan toplam fenolik madde miktarı, farklı konsantrasyonlarda (20-120 mg gallik asit/L) hazırlanan standart gallik asit eğrisinden elde edilen denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Gallik asit kalibrasyon eğrisi Şekil 3.4'de verilmiştir. Sonuçlar mg gallik asit/L olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.4. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

3.2.3.4. Toplam Antioksidan Aktivite Analizi

Brokoli suyu örneklerinde toplam antioksidan aktivite analizi Troloks eşdeğeri antioksidan aktivite (TEAC) yöntemine göre saptanmıştır (Re vd., 1999). ABTS radikali ($ABTS^{*+}$), 7 mM 2,2'-azinobis(3-etilbenzothiazolin–6-sülfonik asit) (ABTS) ile 2,45 mM potasyum persülfatın ($K_2S_2O_8$) karıştırılması ve elde edilen karışımın 16 saat süreyle karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmesi ile oluşturulmuştur. Yöntemin prensibi, oluşan $ABTS^{*+}$ radikalinin örnekte bulunan antioksidan aktivite gösteren bileşenler tarafından inhibisyonuna dayanmaktadır. $ABTS^{*+}$ radikal çözeltisi 734 nm'de absorbansı 0,70 (±0,02) olacak şekilde etanol ile seyreltilmiştir. 3 mL $ABTS^{*+}$ radikal çözeltisi ile 30 µL metanol ekstraktı karıştırılıp 6 dk sonundaki absorbans kaydedilmiştir. Trolox kalibrasyon eğrisi Şekil 3.5'de verilmiştir. Toplam antioksidan aktivite mmol Trolox/L (mM) cinsinden ifade edilmiştir.



Şekil 3.5. Troloks kalibrasyon eğrisi

3.2.3.5. Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Belirlenmesi

Brokoli suyunda fenolik madde analizi dos Reis vd., (2015) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır. Brokoli suyundaki fenolik bileşikler daha çok glikozit formunda bulundukları için, örneklere HPLC analizi öncesinde belirli sıcaklık ve sürede asit hidrolizi uygulanarak glikozidik bağlar hidrolize edilmiştir. Bu amaçla belirli bir miktar brokoli suyuna sulu metanolde hazırlanmış (%50, v/v) 10 mL 1,2 M HCl ve 2 mg askorbik asit eklenmiştir. Bu karışım 90 °C'de 3 saat bekletilerek asit hidrolizine tabi tutulmuştur. Süre sonunda örnek 0,45 μm gözenek boyutuna sahip politetrafloroetilen (PTFE) şırınga filtre yardımıyla süzülüp HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Mobil faz olarak 0,5 mL/dk akış hızında metanol (A) ve seyreltik trifloroasetik asit (B, 300 μL/L) kullanılmıştır. Fenolik madde analizinde kullanılan gradient akış programı Çizelge 3.3'de verilmiştir. Ayrım C18 ters faz kolon kullanılarak 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. Kromatogramlar fenolik asitler için 270 nm ve flavonoidler için 360 nm dalga boyunda ayrı ayrı kaydedilmiştir. Fenolik bileşiklerin tanımlanmasında; örnek ve standart bileşiklerin alıkonma süreleri ile spektrumları karşılaştırılmıştır. Standart bileşiklerin ölçüm ve tespit limitleri standart bileşiklere ait kalibrasyon eğrileri kullanılarak tespit edilmiştir. Asit hidrolizi öncesinde, kaffeoil-kuinik asit türevleri

klorojenik asit cinsinden, flavonoidler rutin cinsinden ve sinapik ve ferulik asit türevleri ise sinapik asit cinsinden hesaplanmıştır. Asit hidrolizi sonrasında ise örneklerde kamferol ve kuersetin aglikonları saptanmıştır. Fenolik bileşiklerin miktarları standart kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.3. Fenolik madde analizinde kullanılan gradient akış programı

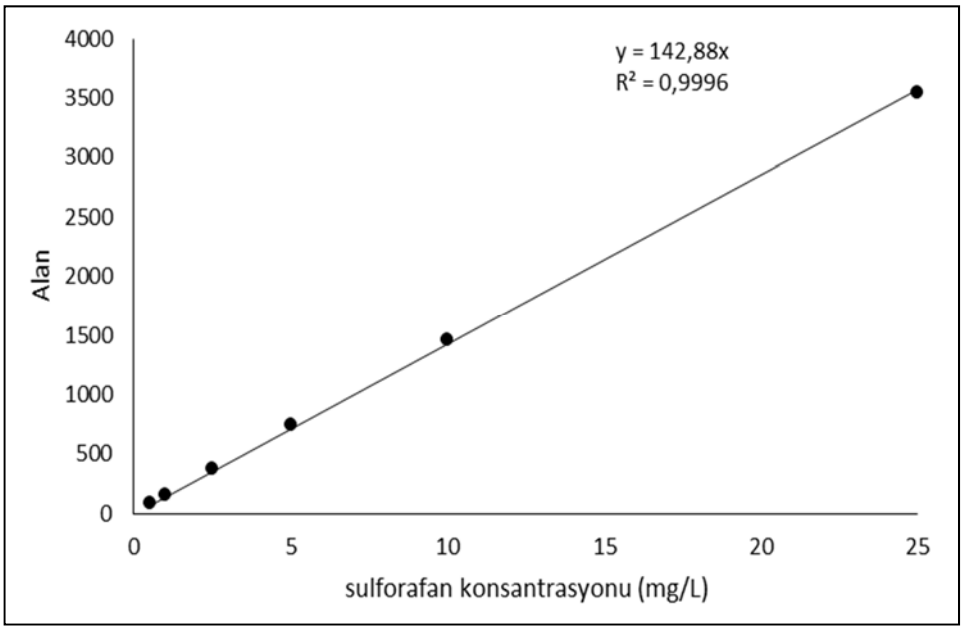
t, dk	Mobil Faz A, %	Mobil Faz B, %
0	30	70
15	30	70
20	40	60
40	50	50
60	50	50
75	55	45
76	30	70
90	30	70

3.2.3.6. Sulforafan Analizi

Brokoli suyu örneklerinde sulforafan analizi Sivakumar, Aliboni & Bacchetta, (2007) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır. Buna göre; belirli miktarda örnek 3 mL diklorometan (DCM) ile karıştırılarak 11068 *g*'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen diklorometan ekstraktı katı faz ekstraksiyona (solid phase extraction, SPE) tabi tutulmuştur. Bu amaçla silika bazlı SPE kartuş (Supelco, 3 mL, Sigma St. Louis, MO, USA) kullanılmıştır. 3 mL DCM ile ön şartlandırılmış kartuştan diklorometan ekstraktı geçirilmiştir. Daha sonra kartuş 3 mL etil asetat ile yıkanarak, örnek 3 mL metanolde toplanmıştır. Elde edilen metanol ekstraktı azot gazı altında kurutularak, kalıntı 1 mL asetonitrilde çözündürülmüştür. Asetonitril fazı 0,45 µm gözenek boyutunda naylon filtreden geçirilerek HPLC sistemine enjekte edilmiştir.

HPLC'de ayırım C18 (5 µm, 250x4,6mm) kolon kullanılarak 36 °C'de ve 202 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz asetonitril:su (30:70) karışımı olup akış hızı

0,5 mL/dk'dır. Standartlar 0,50-25,0 mg/L konsantrasyon aralığında hazırlanarak sulforafana ait kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Sulforafan kalibrasyon eğrisi

3.2.3.7. Askorbik Asit Analizi

Askorbik asit analizinde Kurilich vd., (1999) ve Sanchez-Vega, Elez-Martínez & Martín-Belloso (2015) tarafından önerilen yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır. Brokoli suyu ve %1'lik m-fosforik asit çözeltisi 1:1 oranında karıştırılarak 4 °C'de 11068 *g*'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmından 1 mL alınarak üzerine 1 mL %5'lik dithiothreitol (DTT) ilave edilip %1'lik m-fosforik asit ile hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır. Karışım 0,20 µm gözenek boyutunda naylon filtreden filtre edilerek HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Askorbik asit analizinde kullanılan HPLC çalışma koşulları Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Askorbik asit analizinde kullanılan HPLC çalışma koşulları

Kolon	Zorbax PLRP-S (5 µm, 250x4,6mm)
Kolon Sıcaklığı	30 °C
Mobil faz	Asetonitril:0,05 M KH_2PO_4 (70:30)
Mobil faz akış hızı	0,4 mL/dk
Dalga boyu	220 nm
Çıkış zamanı	7,4 dk

3.2.3.8. Organik Asit Analizi

Organik asit analizi için brokoli suyu örnekleri 0,01 N H_2SO_4 ile uygun oranda seyreltilmiştir. Seyreltilen örnekler 11068 *g*'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen supernatant 0,45 µm gözenek boyutunda naylon filtreden filtre edilerek HPLC sistemine enjekte edilmiştir. Organik asit analizinde kullanılan HPLC çalışma koşulları Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Organik asit analizinde kullanılan HPLC çalışma koşulları

Kolon	MetaCarb H Plus kolon (300x7,8mm)
Kolon Sıcaklığı	60 °C
Mobil faz	0,01 N H_2SO_4
Mobil faz akış hızı	0,4 mL/dk
Dalga boyu	210 nm

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Brokoli suyunun ultrafiltrasyonunda kullanılan membran ayırma sınırının ve ozmotik distilasyon ile konsantrasyon prosesinin, brokoli suyunun kalite özellikleri üzerine etkileri SPSS 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak tek yönlü

varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki farklar önemli bulunduğunda ortalamalar Duncan testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir (n=3).

BÖLÜM 4

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

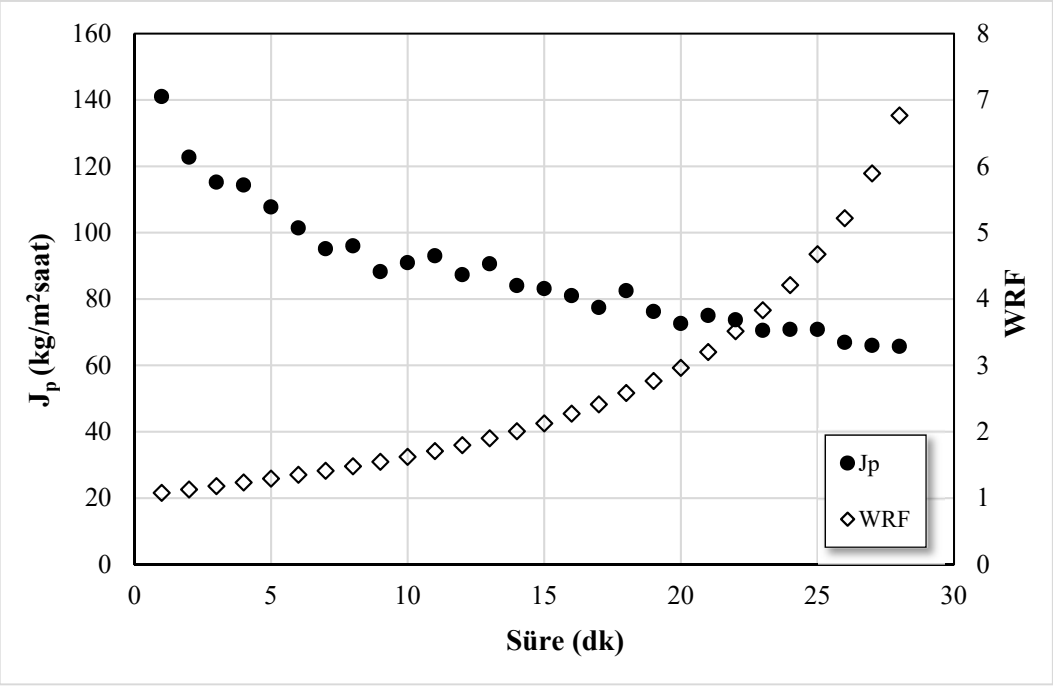
4.1. Brokoli Suyunun Ultrafiltrasyonu

Laboratuvar koşullarında üretilen brokoli suyu kademeli ultrafiltrasyondan önce santrifüj edilerek içeriğindeki asılı katı maddeler uzaklaştırılmıştır. Santrifüj uygulamasının amacı ultrafiltrasyon sırasında membranda oluşabilecek kirlenmeyi azaltmak ve membranın ömrünü uzatmaktır. Daha sonra brokoli suyu ilk olarak ön berraklaştırma için 100 kDa MWCO değerine sahip membrana beslenmiştir. 100 kDa membrandan elde edilen permeat (ön işlem görmüş brokoli suyu) kademeli olarak 50 kDa, 10 kDa ve 5 kDa MWCO değerine sahip membranlara beslenerek biyoaktif bileşen içeriği birbirinden farklı brokoli suyu fraksiyonları elde edilmiştir. Ultrafiltrasyonda kullanılan MWCO değerinin permeat akısı üzerine etkisi ve biyoaktif bileşikler üzerindeki seçiciliği incelenmiştir. Ultrafiltrasyonda kullanılan her bir membrana temizleme prosedürü uygulanarak hidrolik geçirgenlikleri belirlenmiştir. Hidrolik geçirgenlik değerlerinden yararlanarak seri direnç modeline göre kirlenme mekanizmaları incelenmiştir.

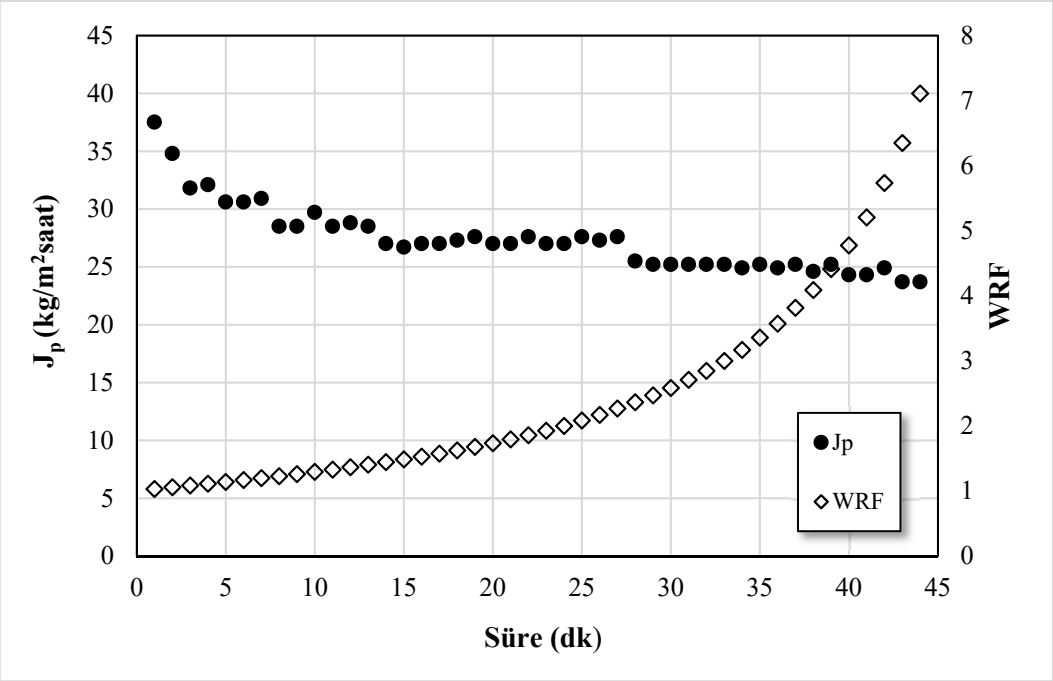
4.1.1. Ultrafiltrasyonda Akı Profili

Bu çalışmada TMP, akış hızı ve sıcaklık gibi proses koşulları sabit tutulduğundan ve kademeli ultrafiltrasyon yapıldığından, membranların performansları ve kirlenme dinamikleri esas olarak besleme bileşimi ve membran gözenek çaplarındaki farklılıklar

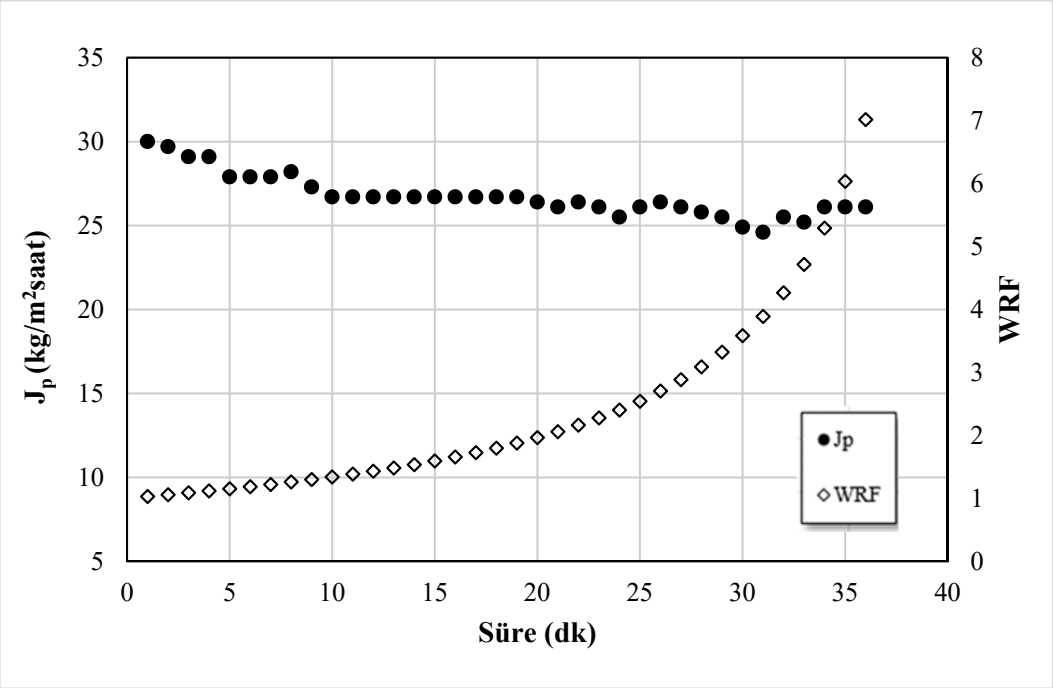
temelinde değerlendirilmiştir. 50 kDa, 10 kDa ve 5 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de verilmiştir. Genel olarak, başlangıç permeat akısındaki azalma oranının membran gözenek çapının küçülmesiyle birlikte azaldığı gözlenmiştir. İncelenen tüm ultrafiltrasyon membranlarında elde edilen akı-zaman grafiklerinde, akının ilk aşamada, yaklaşık WRF'nin 2'ye (Bkz. Bölüm 3.2.1) ulaştığı süreç boyunca, hızla ve sonrasında daha düşük bir oranda azalma gösterdiği 2 aşamalı bir azalma profili gözlenmiştir (Hilal vd., 2005).



Şekil 4.1. 50 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi



Şekil 4.2. 10 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi



Şekil 4.3. 5 kDa membranda permeat akısı ve WRF'nin zamanla değişimi

50 kDa membranda WRF'nin 2'ye ulaştığı ilk 15 dk'lık süreçte permeat akısı yaklaşık %45 oranında azalmıştır. Bu yüksek azalma oranı, membranın büyük gözeneklerinin tıkanma veya daralma kaynaklı kirlenmeye karşı daha duyarlı olduğunun bir göstergesidir. Ön işlem aşamasından geçirilen ve 100 kDa'dan daha küçük molekül ağırlığına sahip brokoli suyundaki bileşenler sürecin henüz başlangıcında 50 kDa membranın gözeneklerinde birikerek veya adsorbe olarak gözeneklerin kısmen veya tamamen tıkanmasına neden olmuştur (de Bruijn ve Borquez, 2006; Mondal, Rai & De, 2013). Beslemede bulunan kirletici parçacıkların membrana adsorpsiyonunda, van der Waals kuvvetleri, elektrostatik çekim ve fonksiyonel gruplara bağlı olarak kimyasal bağ oluşumu gibi çeşitli etkileşimler rol oynar. Kirleticilerin gözeneklere birikmesi veya adsorpsiyonu sonucunda membran porozitesinde ve geçirgenliğinde azalma görülür (de Bruijn ve Borquez, 2006; Shi, Tal, Hankins & Gitis, 2014). WRF'nin 2'den 7'ye ilerlediği 2. aşamada ise permeat akısı %18 oranında azalarak 65,7 kg/m^2saat seviyesine düşmüş ve süreç sonuna kadar kararlı hal akısına ulaşamamıştır. Bu durum membran ile kirletici parçacıkların hala etkileşimde olduğunun bir göstergesidir. Dolayısıyla 50 kDa membranda WRF'nin 2'den 7'ye kadar ilerlediği 2. aşamada akı azalmasında membran-parçacık etkileşiminin kek tabakası oluşumundan daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

10 kDa membranda permeat akısındaki azalma oranının 50 kDa membrana göre daha düşük olduğu görülmektedir. 10 kDa membranda 37,5 kg/m^2saat düzeyinde olan başlangıç permeat akısı WRF'nin 2'ye ulaştığı ilk 24 dk'lık süreç sonunda %28 oranında azalırken, WRF'nin 2'den 7'ye kadar ilerlediği 2. aşamada %12 oranında azalma göstererek yarı kararlı hal akısına ulaşmıştır. 10 kDa ultrafiltrasyon membranına ait permeat akısı profili, akı azalmasında kek tabakası oluşumunun ve gözenek kirlenmesinin birlikte etkili olduğunu göstermektedir. 10 kDa membranda besleme olarak 50 kDa membrandan elde edilen permeat kullanılmıştır. Brokoli suyunda bulunan 10 kDa MWCO değerinden daha küçük parçacıkların 10 kDa MWCO değerine sahip membranın gözeneklerinde adsorpsiyona sebep olarak gözenekleri daralttığı ve 10 kDa-50 kDa aralığındaki parçacıkların ise MWCO değeri membran gözeneklerinden büyük olduğu için membran yüzeyinde birikim yaparak kek tabakası oluşumuna sebep olduğu düşünülmektedir (Zhao vd., 2015).

En düşük başlangıç permeat akısı en küçük gözenek çapına sahip 5 kDa membranda elde edilmiştir. 30 kg/m^2saat düzeyindeki başlangıç permeat akısı WRF'nin

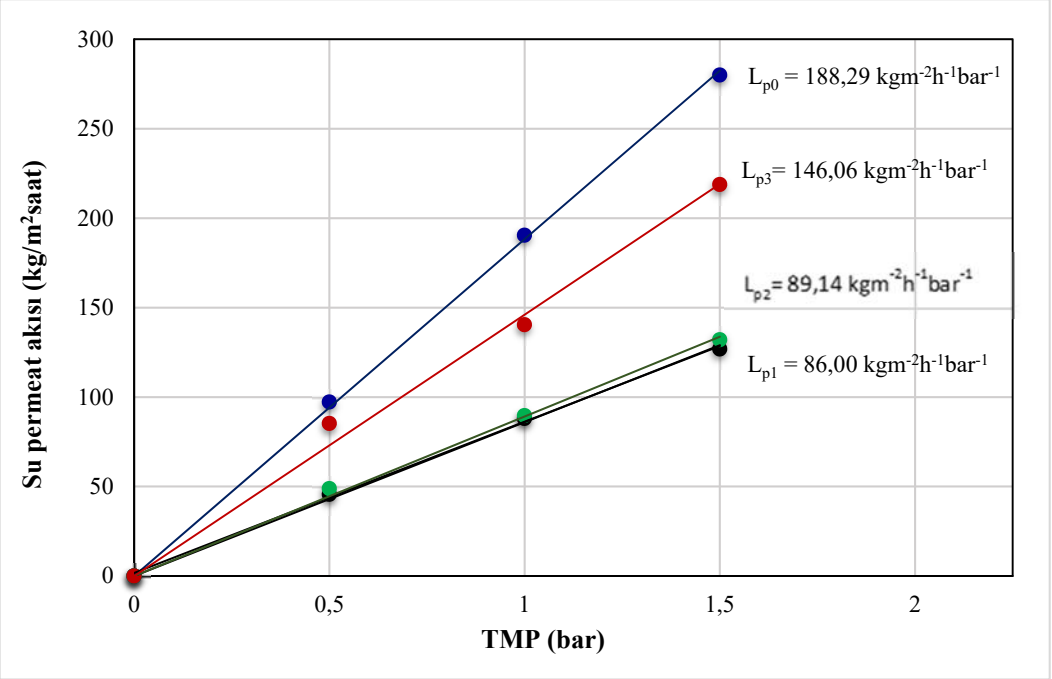
2'ye ulaştığı yaklaşık 20 dk'lık süreçte 26,1 kg/m^2saat seviyesine kadar düşerek bu noktada kararlı hal akısına ulaşmıştır. Ultrafiltrasyonda kullanılan diğer membranlar ile kıyaslandığında 5 kDa membranda başlangıç permeat akısı oldukça düşük seviyelerde kalmış ve süreç boyunca daha az oranda değişim göstermiştir. Bu membranda 10 kDa membrandan elde edilen permeatın besleme olarak kullanıldığı göz önünde bulundurulduğunda, beslemede bulunan kirletici parçacıkların çoğunlukla 10 kDa ile 5 kDa aralığında bulunduğu ve gözenek boyutundan geçemeyecek kadar büyük oldukları için membran yüzeyinde birikerek kek tabakası oluşumuna sebep oldukları düşünülmektedir (Mousa ve Al-Hitmi, 2007). Bu membranda kararlı hal akısına ulaşılması permeat akışına ekstra direnç oluşturan kek tabakasının sabit kalınlığa ulaştığının bir göstergesidir (Song, 1998). Kek tabakası ikinci bir membran rolünü üstlenerek taşınım ve ayırım mekanizmasını etkilemektedir (Guo vd., 2012).

Ultrafiltrasyonda elde edilen akı-zaman grafikleri toplu olarak değerlendirildiğinde, 50 kDa ve 10 kDa ayırma sınırına sahip membranlarda 5 kDa membrana göre ultrafiltrasyonun ilk dakikalarında daha hızlı bir düşüş gözlenmektedir. 50 kDa membranda kararlı hal akısına ulaşılmamışken, 10 kDa membranda yarı kararlı hal akısına ulaşıldığı ve 5 kDa membranda ise kararlı hal akısına ulaşıldığı görülmektedir. Bu sonuçlara göre, 50 kDa ve 10 kDa membranda 5 kDa membrana göre akı azalmasında gözenek tıkanması ve daralmasına bağlı kirlenme etkileri kek tabakası oluşumundan daha önemlidir. Bunun sonucunda ultrafiltrasyonda 50 kDa ve 10 kDa membranda biyoaktif bileşiklerin ayırım mekanizması membran yüzeyi-parçacık etkileşimine bağlı olarak gerçekleşmektedir. 5 kDa membranda gerçekleşen düşük başlangıç permeat akısı ve akının daha az oranda azalmasında başlıca kirlenme mekanizmasının kek tabakası oluşumu olduğu ve ayırımın ikinci bir membran gibi davranan kek tabakası ile kirletici parçacıklar arasındaki etkileşimden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde literatürde membran polimerinin hidrofobikliğinin ultrafiltrasyonun erken döneminde önemli olduğu ve bu ilk aşamada parçacıkların adsopsiyon tabakası oluşturarak akının düşük seviyelerde başlamasına sebep olduğu bildirilmektedir. Oluşan bu adsorpsiyon tabakası da membranın yüzey özelliklerini maskelemektedir (Choi ve Ng, 2008). Bu sonuca göre, 5 kDa membranda kullanılan beslemede bulunan kirletici parçacıklar ile 5 kDa PES membran arasında hidrofobik etkileşimlerin daha önemli olduğu düşünülmektedir. 50 kDa ve 10 kDa membranda ise membran ile kirletici parçacıklar

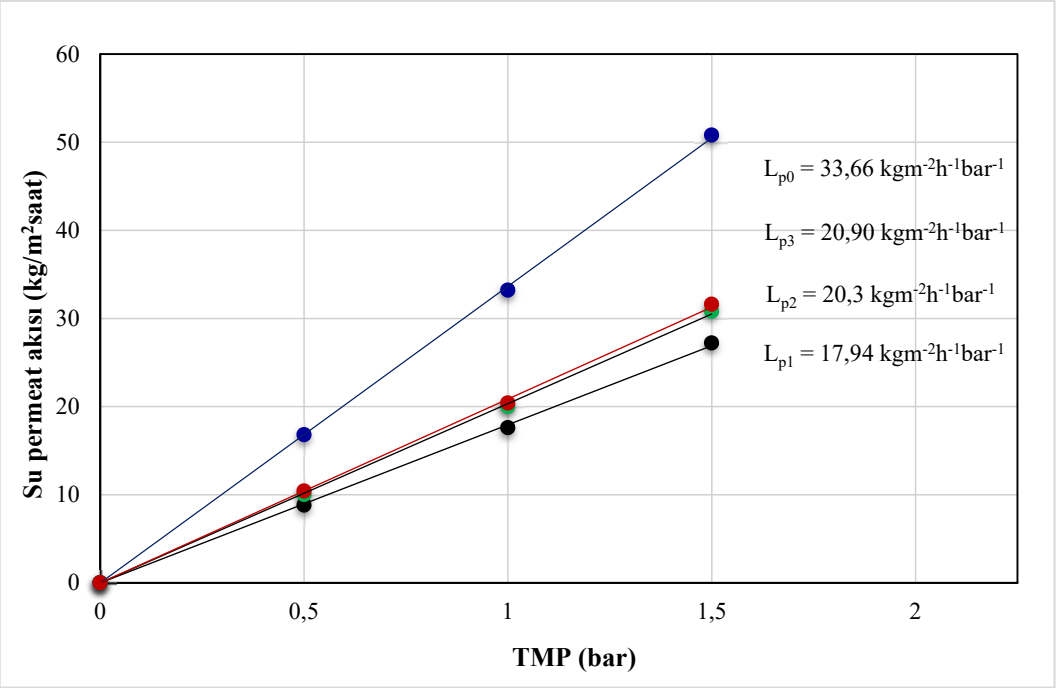
arasında elektrostatik etkileşimler, fonksiyonel grup varlığı (OH grubu) ve van der Waals kuvvetleri gibi diğer etkileşim mekanizmalarının önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

4.1.2. Hidrolik Geçirgenlik Performansı

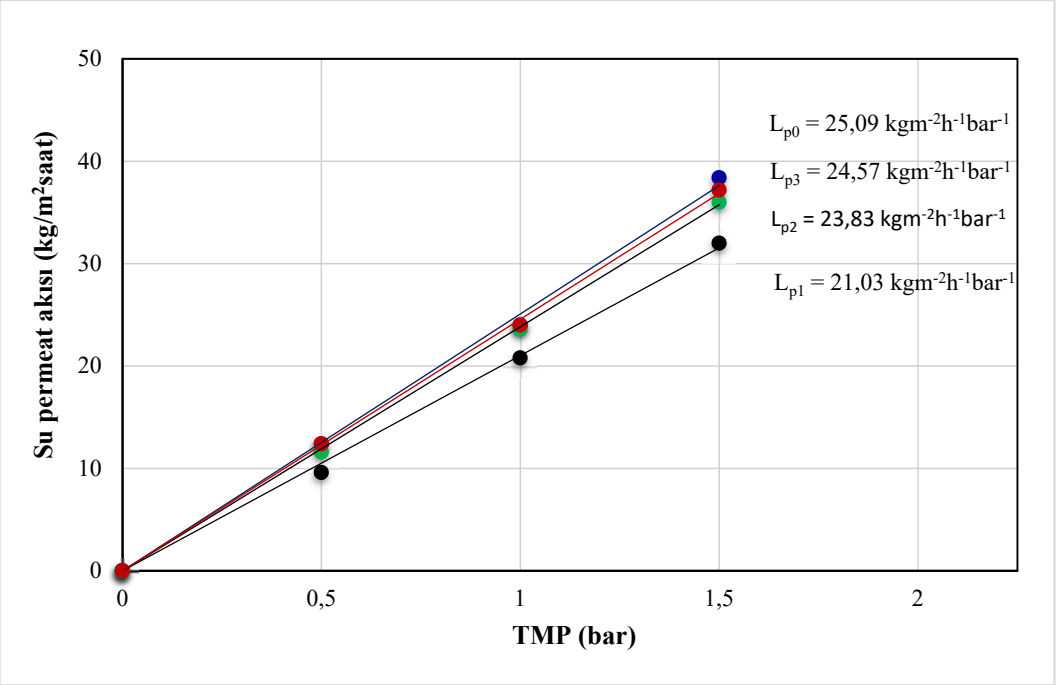
Brokoli suyunun ultrafiltrasyonunda kullanılan farklı MWCO değerine sahip membranların hidrolik geçirgenlikleri hesaplanmıştır. Kullanılan membranlar arasında 50 kDa membran 188,3 $kgm^{-2}saat^{-1}bar^{-1}$ ile en yüksek hidrolik geçirgenlik değerine sahiptir (Şekil 4.4). 10 kDa ve 5 kDa membranın gözenek boyutlarının küçük olmasından dolayı başlangıç hidrolik geçirgenlikleri 50 kDa membrana göre daha az olduğu Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da görülmektedir (Cheryan, 1998).



Şekil 4.4. 50 kDa membrana ait hidrolik geçirgenlik grafiği



Şekil 4.5. 10 kDa membrana ait hidrolik geçirgenlik grafiği



Şekil 4.6. 5 kDa membrana ait hidrolik geçirgenlik grafiği

Ultrafiltrasyon uygulamasından sonra hidrolik geçirgenlik değeri 50 kDa ve 10 kDa membranda sırasıyla %54,3 ve %46,9 oranında azalma gösterirken, gözenek boyutu daha küçük olan 5 kDa membranda azalma oranı %16,3 düzeyinde kalmıştır. Bu sonuca göre daha büyük gözenek boyutuna sahip olan 50 kDa ve 10 kDa membran, daha küçük gözenek boyutuna sahip 5 kDa membrandan daha fazla kirlenmiştir. Elde edilen bu bulgularla uyumlu olarak, ultrafiltrasyon uygulamasının ardından toplam akı azalması 50 kDa membranda %53,4 ve 10 kDa membranda ise %36,8 oranında saptanırken, bu değer 5 kDa membran için %13'dür (Bölüm 4.1.1). Literatür verilerine göre de daha büyük gözenek boyutuna sahip membranlarda daha fazla kirletici parçacığın gözenek içine girmesiyle, gözeneklerde kirlenmeye ve daralmaya yol açtığı bildirilmiştir (Laorko vd., 2010; Mondal vd., 2013; Rai, Majumdar, Sharma, Gupta & De, 2006).

Su ile yıkamadan sonra en fazla geri dönüşüm oranı %94,8 ile 5 kDa membranda elde edilmiştir. Bu sonuç 5 kDa membranda akı azalması üzerine başlıca kek tabakası oluşumunun etki ettiğini göstermektedir. Bölüm 4.1.1'de ayrıntılı olarak değinildiği gibi, 5 kDa membrana ait permeat akısının diğer membranlardan düşük seviyelerde olması ve süreç boyunca çok daha az oranda değişim göstermesi de yüzeyde kek tabakası oluştuğu görüşünü desteklemektedir. 5 kDa membranda besleme olarak kullanılan 10 kDa permeat örneğinde membran gözenek boyutundan daha büyük olan kirletici parçacıklar ultrafiltrasyonun daha başlangıcında kek tabakası oluşturarak akının düşük seviyelerde başlamasına sebep olmuş ve böylece akı-zaman grafiğinde ani akı azalması gözlenmemiştir. Literatürde de büyük molekül ağırlıklı parçacıkların kek tabakası oluşturmasından kaynaklanan ani başlangıç akı azalmasının gerçekleştiği çalışmalar mevcuttur (dos Santos Sousa, Cabral, Madrona, Cardoso & Reis, 2016; Onsekizoglu, 2013). Örneğin yeşil çay yapraklarından elde edilen ekstraktların ultrafiltrasyonunda ilk dakikalarda kek tabakası oluşumunun gerçekleştiği ve bunu takiben daha küçük parçacıkların membran gözeneklerine girmeye başladığı bildirilmektedir (dos Santos Sousa vd., 2016). Kek tabakası oluşumu su ile temizlenebilen bir kirlenme çeşidi olup bu membranda su ile yıkamanın ardından hidrolik geçirgenlik çok yüksek oranda (%94,8) geri kazanılmıştır.

Membranlar su ile yıkamanın ardından 0,5 N NaOH kullanılarak kimyasal temizleme işlemine tabi tutulmuşlardır. Kimyasal temizlemenin ardından hidrolik geçirgenlikte en düşük geri kazanım %62 ile 10 kDa membranda saptanmıştır. Bu sonuç

10 kDa membranda en önemli kirlenme mekanizmasının geri dönüşümsüz kirliliklerden kaynaklandığını göstermektedir (Bölüm 4.1.3). 10 kDa membranın gözenek boyutundan küçük olan kirletici parçacıkların membranın gözeneklerine adsorbe olmasıyla oluşan geri dönüşümsüz kirlenme unsurları kimyasal temizleme ile uzaklaştırılamamaktadır (Ennouri vd., 2015). Geri dönüşümsüz kirlenme oluşumuna neden olması muhtemel bileşenler kalite kontrol analizi sonuçlarında (Bölüm 4.3) detaylı bir şekilde açıklanacaktır.

4.1.3. Seri Direnç Analizi

Seri direnç analizine göre toplam direnç (R_t), membranın iç direnci (R_m), kek tabakası direnci (R_c), geri dönüşümlü (R_{frev}) ve geri dönüşümsüz kirlilik dirençlerinin (R_{firr}) toplamından oluşur (Cassano vd., 2007a). Ultrafiltrasyonda kullanılan membranlarda ortaya çıkan dirençlerin büyüklükleri ve toplam dirence oranları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranların dirençleri ve toplam dirence oranları

MWCO (kDa)	R_t ($x10^{12}$) (m^{-1})	R_m ($x10^{12}$) (m^{-1})	R_c ($x10^{12}$) (m^{-1})	R_{frev} ($x10^{12}$) (m^{-1})	R_{firr} ($x10^{12}$) (m^{-1})	R_m/R_t, %	R_c/R_t, %	R_f/R_t, %
50	4,19	1,91	0,15	1,57	0,55	45,67	3,53	50,80
10	20,06	10,70	2,37	0,44	6,56	53,31	11,80	34,89
5	17,12	14,35	2,01	0,46	0,30	83,83	11,75	4,42

MWCO: molekül ağırlığı ayırma sınırı, kDa: kilo dalton, R_t: toplam direnç, R_m: membran direnci, R_c: kek tabakası direnci, R_{frev}: geri dönüşümlü kirlilik direnci, R_{firr}: geri dönüşümsüz kirlilik direnci, R_f: geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz kirlilik dirençlerinin toplam direnci

Membranın kendisi membran boyunca suyun akışına karşı bir direnç oluşur. Membran iç direnci (R_m) membran gözeneklerinin şekil ve boyutuna, membran kalınlığına, mekanik ve kimyasal yapıya bağlı olarak değişir (Choi, Zhang, Dionysiou, Oerther & Sorial, 2005; De Bruijn, Salazar & Bórquez, 2005). Literatür verileri ile

uyumlu olarak, brokoli suyunun ultrafiltrasyonunda kullanılan temiz membranlara ait membran iç direncinin membran gözenek çapındaki azalmayla birlikte artış gösterdiği gözlemlenmiştir (De Barros, Andrade, Mendes & Peres, 2003; Rao vd., 2011).

10 kDa membran diğer membranlar arasında toplam direnci en fazla olan membrandır. Toplam direncin büyük bir kısmı membran direnci ve kirlilik direncinden (R_f) oluşmaktadır. Geri dönüşümsüz kirliliklerin oluşturduğu direncin toplam dirence oranı %32,70 olup, kirlenme direncinin büyük bir kısmının geri dönüşümsüz kirliliklerden oluştuğu görülmektedir. Geri dönüşümsüz kirliliklerin şiddeti kirletici parçacıklar ile membran arasındaki etkileşimlere bağlıdır. Geri dönüşümsüz kirlilikler membrana kuvvetli bir şekilde adsorbe olmuş kimyasal yıkama ile uzaklaştırılamayan kirlilikler olduğundan gözeneklerin daralmasına sebep olmaktadır (Shi vd., 2014). Bu çalışmada kalite kontrol analizi sonuçlarında belirlendiği üzere, geri dönüşümsüz kirlenmenin fenolik bileşiklerden kaynaklandığı saptanmıştır. Ultrafiltrasyon sırasında fenolik bileşiklerin kirlenme davranışının incelendiği bir çalışmada, membran kirlenmesi üzerine kirletici parçacık boyutunun gözenek boyutuna oranının önemli olduğu saptanmıştır. Membranın gözenek büyüklüğü arttıkça veya kirletici parçacıkların boyutu azaldıkça, kirleticilerin membran gözeneklerine ulaşma olasılığının arttığı ve gözenek tıkanmasından ziyade gözenek daralmasının gerçekleştiği bilinmektedir (Susanto, Feng & Ulbricht, 2009). Ultrafiltrasyonda kullanılan membranlar arasında 50 kDa permeatının besleme olarak kullanıldığı 10 kDa membranda geri dönüşümsüz kirlenmenin daha fazla gerçekleşmesi, PES membran ile geri dönüşümsüz olarak etkileşime giren kirletici parçacıkların temelde 10 kDa ile 5 kDa arasında molekül boyutuna sahip olduğunun göstergesidir.

50 kDa membranda ise kirlilik direncinin toplam dirence katkısı diğer membranlara göre oldukça yüksektir. Ancak kirlenmenin büyük bir kısmını geri dönüşümlü kirliliklerin oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca diğer membranlara göre bu membranda kek tabakasının toplam dirence oranı %3,53 ile en düşük seviyededir. Akı-zaman grafiği ve hidrolik geçirgenlik sonuçları ile de uyumlu olarak 50 kDa membranda akı azalmasında başlıca etki gözeneklerde oluşan kirlenmeye aittir. Bu membranda besleme olarak ön işlem görmüş brokoli suyu (santrifüj ve 100 kDa membrandan geçirilmiş brokoli suyu) kullanılmıştır. Literatürde de ön işlem uygulanarak büyük molekül ağırlıklı bileşenleri uzaklaştırılmış örneklerde kek oluşumundan ziyade diğer

kirlenme mekanizmalarının önemli hale geldiği vurgulanmaktadır (Baklouti, Ellouze-Ghorbel & Mokni, 2012; Cassano vd., 2007a). Örneğin depektinizasyon aşamasından sonra ultrafiltrasyon yöntemi ile berraklaştırılan kivi suyunda, geri dönüşümlü kirlenme direncinin (%29,4) geri dönüşümsüz kirlenme direnci (%2,75) ve kek tabakası direncinden (%2,23) daha baskın olduğu aktarılmaktadır (Cassano vd., 2007a).

50 kDa ve 10 kDa membranların aksine, 10 kDa permeat örneğinin beslendiği 5 kDa membranda ise kek tabakası direnci (%11,75) geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz kirlilik dirençlerinin toplamından (%4,42) daha önemlidir. Bu sonuçlar permeat akısındaki azalmanın başlıca sebebinin kek tabakası oluşumu olduğunu göstermektedir. Kek tabakası büyük molekül ağırlıklı partiküllerin membranın yüzeyinde birikmesiyle oluşan bir kirlenme tipidir ve membranın yüzeyindeki bu birikim ikinci bir membran gibi davranarak akı performansını azaltır ve membran seçiciliğini değiştirir (Guo vd., 2012). Fakat kek tabakası su ile yıkama ile uzaklaştırılabilen geri dönüşümlü bir kirlenmedir. Su ile yıkamadan sonra hidrolik geçirgenlikte elde edilen %94,8 oranında geri dönüşüm de bu membrandaki temel kirlenme mekanizmasının kek oluşumu olduğunu doğrulamaktadır.

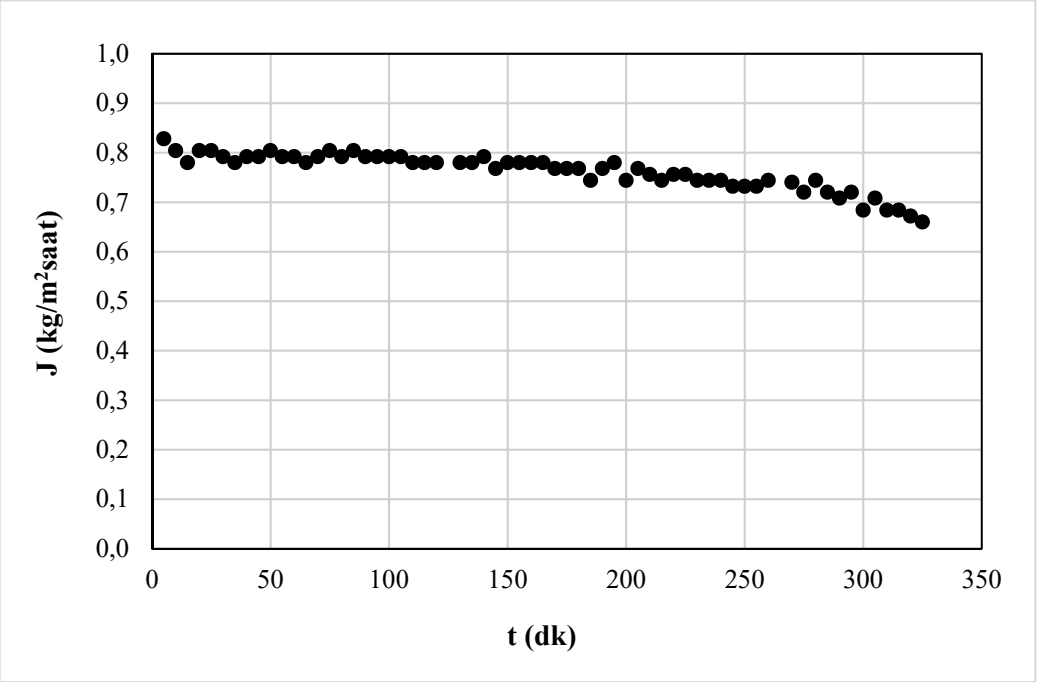
Literatürde meyve sularının ultrafiltrasyonunda kirlenme mekanizmasının belirlenmesinde seri direnç analizi modelinin kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır (Cassano vd., 2007a; De Bruijn, Venegas & Borquez, 2002; dos Santos Sousa vd., 2016; Taselli, Cassano & Drioli, 2007). Yapılan bu çalışmalarda kullanılan beslemenin bileşimi, proses koşulları, membran yapısı ve membran gözenek büyüklüğüne göre ultrafiltrasyonda farklı kirlenme mekanizmaları ortaya çıkmaktadır. Ultrafiltrasyonda hangi kirlenme mekanizmasının önemli olduğunun kirlenme modelleri kullanılarak saptanması, membran kirlenmesinin kontrol edilmesi ve ultrafiltrasyonun uzun süreli devam ettirilmesinde önem taşımaktadır. Kirlenme mekanizmasının belirlenmesi ile kullanılacak membranın seçimi, proses koşullarının değiştirilmesi veya beslemeye uygulanacak ön işlemler hakkında fikir edinilebilir.

4.2. Brokoli Suyunun Ozmotik Distilasyon ile Konsantrasyonu

Ultrafiltrasyondan elde edilen biyoaktif bileşen içeriği birbirinden farklı brokoli suyu permeat örnekleri (50 kDa, 10 kDa ve 5 kDa permeatı), atmosferik basınç altında ve oda sıcaklığında sulu çözeltilerden suyun seçici olarak uzaklaştırılmasında kullanılan ozmotik distilasyon prosesi ile konsantre edilmiştir. Ozmotik distilasyon sırasında zamana bağlı olarak evaporasyon akısı hesaplanmış, akıda gözlenen azalmanın sebepleri irdelenmiştir. Yine proses boyunca permeat örneklerinin ve hipertonik tuz çözeltisinin konsantrasyonlarında zamana bağlı meydana gelen değişimler kaydedilerek, bu değişimlerin akı üzerindeki etkileri saptanmıştır.

50 kDa MWCO değerine sahip ultrafiltrasyon membranından geçirilerek elde edilen permeat (7,1 °Briks) 325 dk sonunda 6 kat konsantre edilmiştir. 50 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profilindeki değişim Şekil 4.7'de ve besleme çözeltisi ile $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi Şekil 4.8'da verilmiştir. Ozmotik distilasyonda besleme ile hipertonik tuz çözeltisi arasındaki konsantrasyon farkı ne kadar fazla ise kütle aktarımı için gerekli olan sürücü kuvvet o kadar fazladır (Alves vd., 2004). Bu çalışmada 50 kDa permeat örneğinin kullanıldığı konsantrasyon prosesinde 64,7 °Briks konsantrasyona sahip hipertonik tuz çözeltisi kullanılarak başlangıç evaporasyon akısı 0,83 kg/m^2saat düzeyinde elde edilmiştir. 50 kDa permeat örneğinin ozmotik distilasyon prosesinde ilk 270 dk içerisinde evaporasyon akısı 0,74 kg/m^2saat seviyesine düşmüştür. Bu aşamada hipertonik tuz çözeltisinin konsantrasyonunda %5,7 oranında bir azalma gözlenmiştir. Ozmotik distilasyonda besleme akımındaki suyun hipertonik tuz çözeltisine geçmesinden dolayı hipertonik tuz çözeltisi zamanla seyrelmekte, besleme çözeltisinin konsantrasyonu ise artar. Bu nedenle süreç boyunca hidrofobik membranın iki tarafı arasında buhar basıncı farkı azalmakta ve bunun sonucunda buhar basıncının yüksek olduğu taraftan düşük olduğu tarafa doğru gerçekleşen buhar taşınımını sağlayan sürücü kuvvet azalır (Alves vd., 2004; Cassano, Conidi, Timpone, D'avella & Drioli, 2007b). Literatür verileri ile kıyaslandığında, evaporasyon akısında ilk aşamada gözlenen azalmanın (%10,8) oldukça düşük seviyede olduğu görülmektedir. Örneğin, Cassano, Conidi & Drioli (2011b) nar suyunun membran prosesleri ile klarifikasyonu ve konsantrasyonu üzerine yaptıkları bir çalışmalarında, ozmotik distilasyon ile konsantrasyonun ilk 80 dk'sında

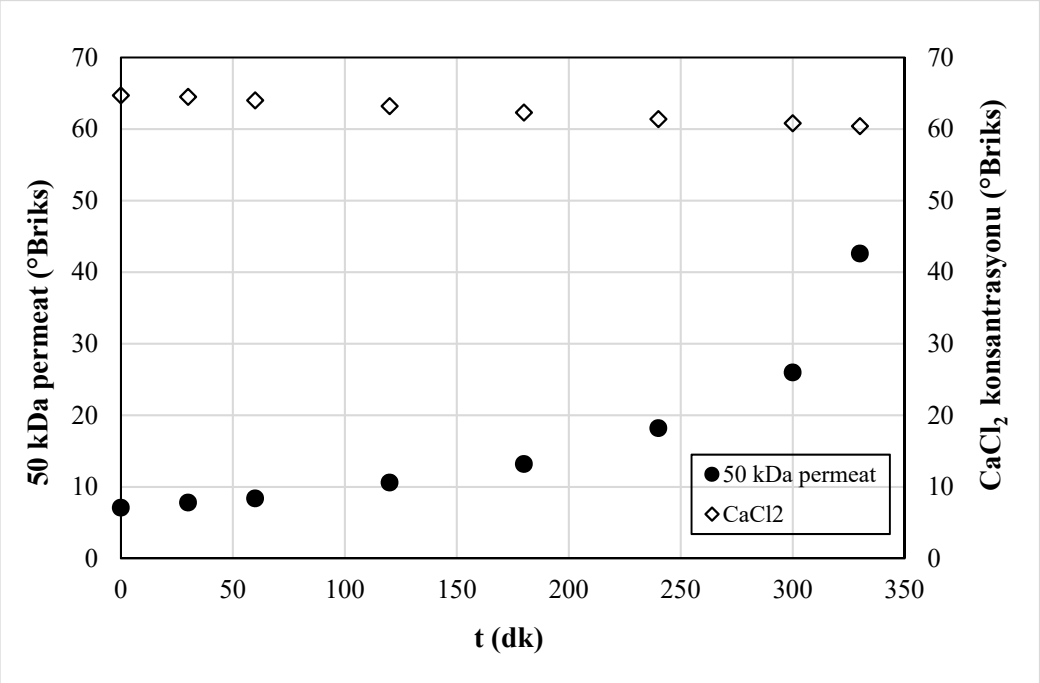
başlangıç evaporasyon akısında %35,3'lük ve hipertonik tuz çözeltisinde ise %14'lük azalma belirlemişlerdir. Bu çalışmada, hipertonik tuz çözeltisinin ağırlığının besleme çözeltisine göre sekiz kat fazla olması hipertonik tuz çözeltisindeki seyrelme oranını azaltmış ve böylece sürücü kuvvet azalmasına bağlı transmembran akısındaki azalma bir ölçüde sınırlandırılabilmiştir. Bu aşamada 50 kDa permeat örneğinin konsantrasyonu 7,1 °Briks'den yaklaşık 25 °Brikse yükselmiştir.



Şekil 4.7. 50 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profili

50 kDa permeat örneğinde ilk 270 dk'dan sonra ise, hipertonik tuz çözeltisinin konsantrasyonunda yalnızca %1,3'lük bir düşüş gerçekleşirken, evaporasyon akısında %10,8 oranında azalmanın sürdüğü gözlenmiştir. Hipertonik tuz çözeltisinin konsantrasyonu çok az oranda değişirken akıda gerçekleşen bu belirgin azalma, akıdaki azalmanın yalnızca tuz çözeltisinin konsantrasyonundaki azalma ile ilişkili olmadığının bir göstergesidir. Bu aşamada konsantrasyonu 25 °Briks'den yaklaşık 42,6 °Briks'e yükselen 50 kDa permeat örneğindeki viskozite etkileri hissedilmeye başlanmıştır. Meyve suyunun kuru madde içeriğindeki artış, meyve suyu viskozitesinde eksponensiyel bir artışa neden olur (Altan ve Maskan, 2005; Jiao vd., 2004). Viskozitenin artması ile besleme çözeltisinin buhar basıncı azalır ve sürücü kuvvetin azalmasıyla birlikte

evaporasyon akısı da azalır (Destani vd., 2013). Benzer şekilde, armut suyunun ozmotik distilasyon ile 33 °Briks'den 61,4 °Briks'e konsantrasyonu sırasında evaporasyon akısındaki %55'lik azalma meyve suyunun viskozitesindeki artış ile ilişkilendirilmiştir (Cassano vd., 2007b). Mikrofiltrasyon ve ultrafiltrasyon uygulamaları ile meyve sularından askıda katı maddeler ve pektinin ayrılmasıyla viskozitenin azaltılarak ozmotik distilasyonda evaporasyon akısının arttırıldığı çalışmalar vardır (Bailey, Barbe, Hogan, Johnson & Sheng, 2000; Galaverna vd., 2008). Bu çalışmada OD prosesi öncesinde brokoli ham suyu örneklerine yapılan santrifüj ve ultrafiltrasyon ön işlemleri sayesinde viskozite etkileri sınırlandırılarak akı performansı literatürdeki diğer çalışmalara göre (Hongvaleerat, Cabral, Dornier, Reynes & Ningsanond, 2008; Terki vd., 2018) daha iyi oranda korunabilmiştir. Ön berraklaştırma işlemleri ile brokoli suyunun yapısındaki büyük molekül ağırlıklı kolloidal ve asılı katı maddeler uzaklaştırılarak konsantrasyonun ilerleyen aşamalarında çözünür kuru maddedeki artışa bağlı olarak ortaya çıkan viskozite ve polarizasyon etkileri azaltılmıştır (Bailey vd., 2000; Onsekizoğlu, Bahceci & Acar, 2010).

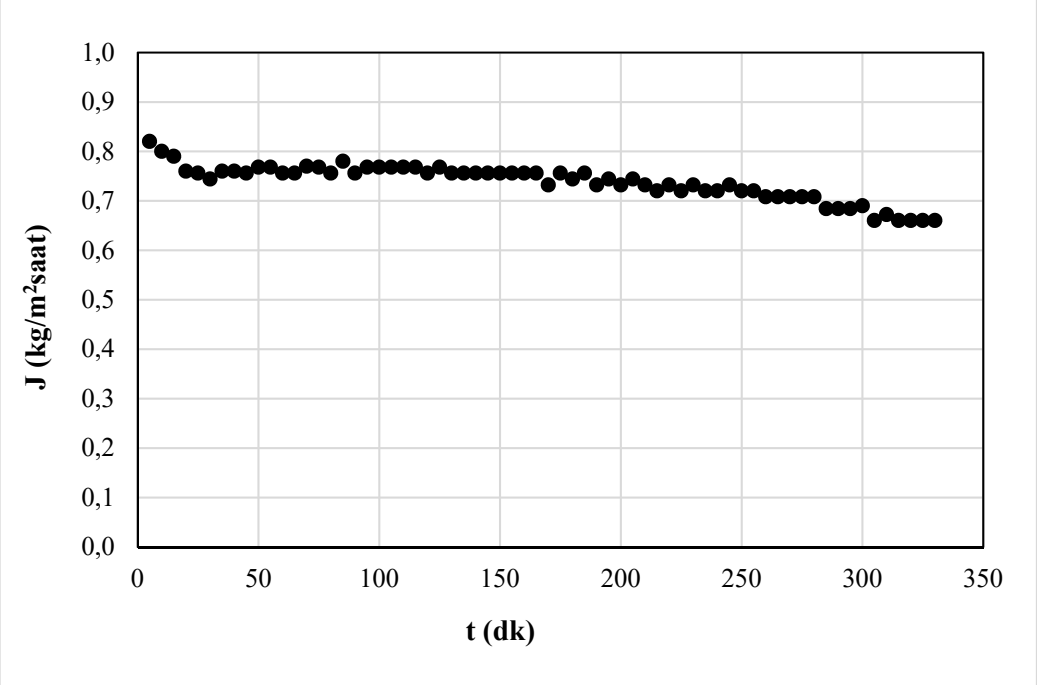


Şekil 4.8. 50 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda permeatın ve $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi

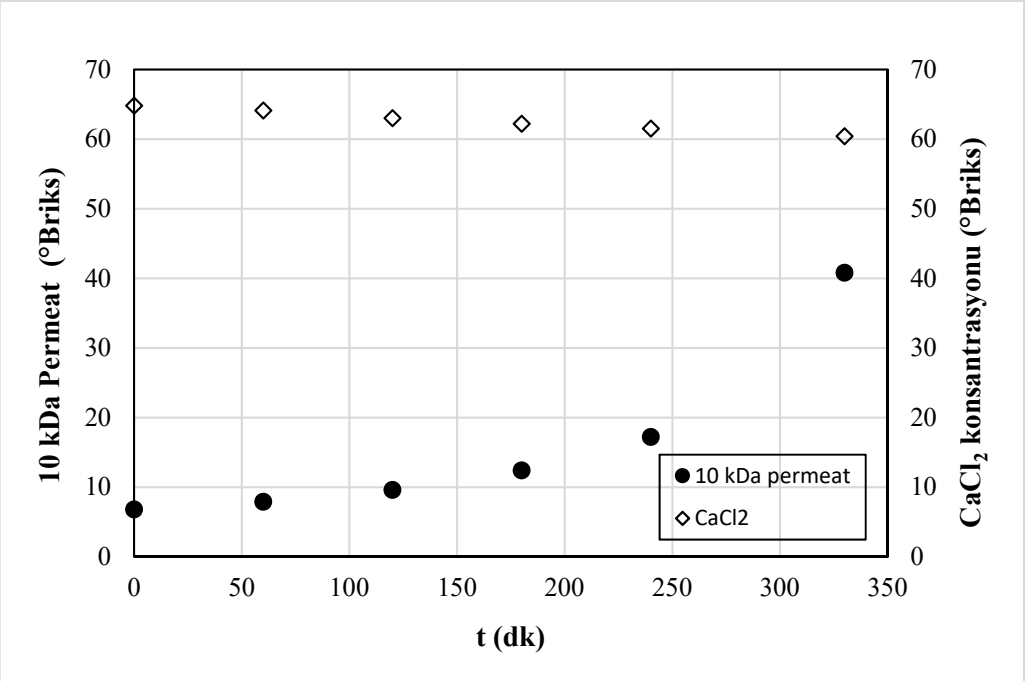
Elde edilen sonuçlara göre özetle, düşük suda çözünür kuru madde içeriklerinde evaporasyon akısı hipertonik tuz çözeltisi konsantrasyonundan etkilenmektedir

(Onsekizoglu, 2013; Vaillant vd., 2001). 30 °Briks üzerinde ise akı daha çok konsantrasyon seviyesinin artmasıyla birlikte meyve suyu viskozitesindeki artıştan etkilenmektedir. Laboratuvar ölçeğinde farklı konsantrasyonlardaki sukroz çözeltilerinin ozmotik distilasyon ile konsantrasyonu üzerine yapılan bir çalışma elde edilen bu sonuçları doğrulamaktadır (Courel vd., 2000). Ayrıca farklı meyve sularının (kivi, narenciye, havuç, passion meyvesi vb.) ozmotik distilasyonla konsantrasyonunda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Cassano ve Drioli, 2007; Cassano vd., 2007a; Vaillant vd., 2001).

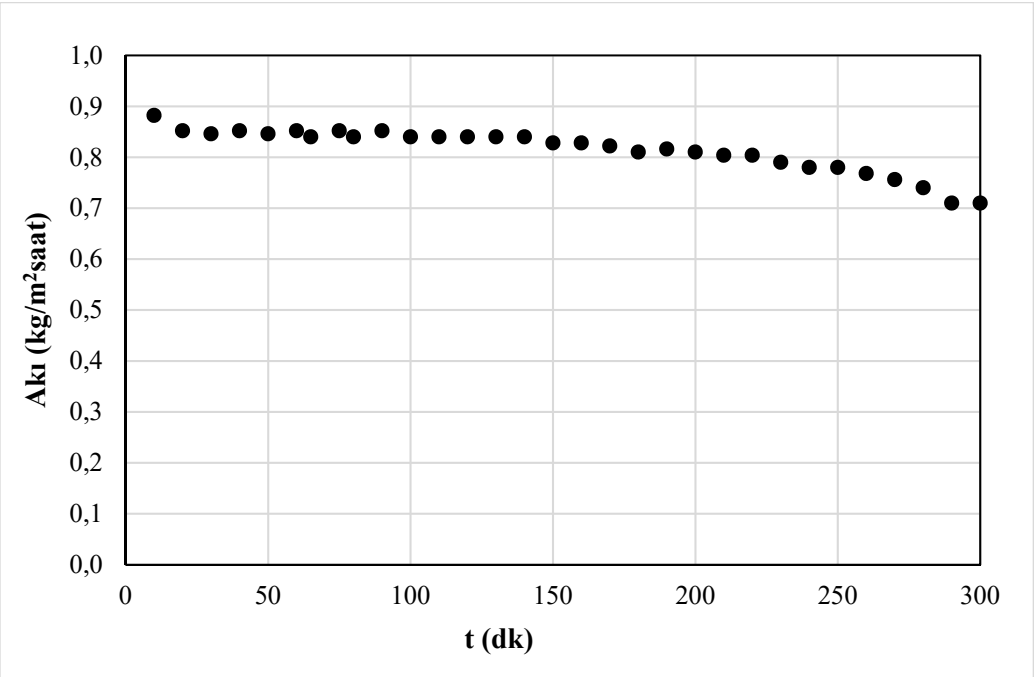
10 kDa ve 5 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profilindeki değişim sırasıyla Şekil 4.9 ve Şekil 4.11'de verilirken, 10 kDa ve 5 kDa permeat çözeltileri ile $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi ise sırasıyla Şekil 4.10 ve Şekil 4.12'de verilmiştir. 10 kDa permeat örneğinin kullanıldığı konsantrasyon prosesinde 64,8 °Briks konsantrasyona sahip hipertonik tuz çözeltisi kullanılarak başlangıç evaporasyon akısı 0,82 kg/m^{2}saat düzeyinde elde edilmiştir. Akı 330 dk'lık konsantrasyon prosesinin sonunda %19,5 oranında azalma göstererek 0,66 kg/m^{2}saat seviyesine düşmüştür. Bu sürede permeat örneği 40,8 °Briks'e kadar konsantre edilmiştir.



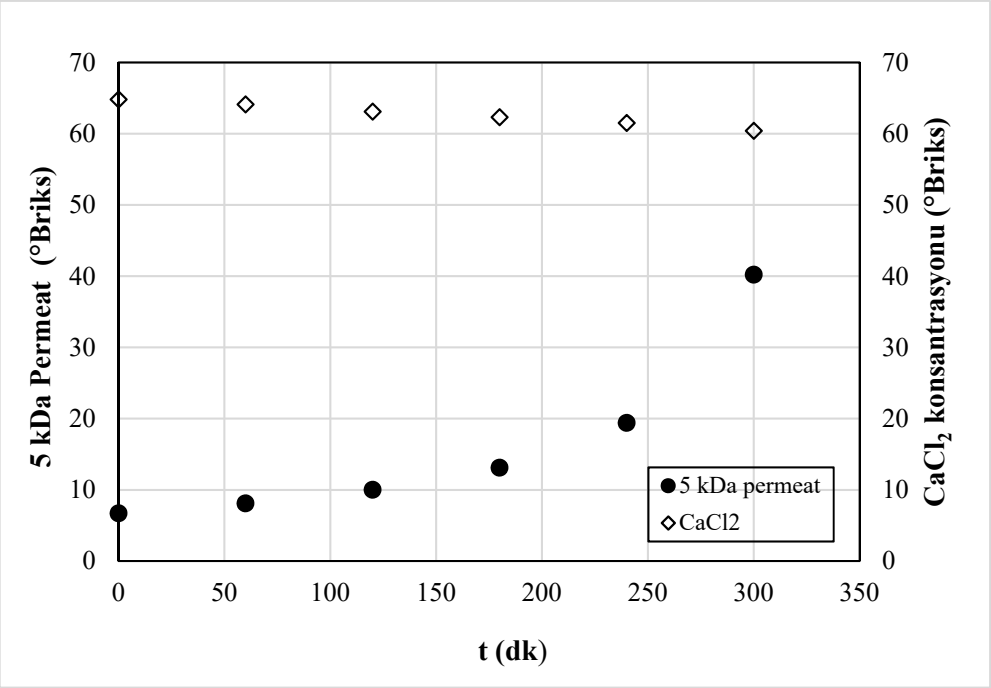
Şekil 4.9. 10 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profili



Şekil 4.10. 10 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda permeatın ve $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi



Şekil 4.11. 5 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda akı profili



Şekil 4.12. 5 kDa membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantrasyonunda permeatın ve $CaCl_2$'nin suda çözünür kuru maddesinin zamanla değişimi

5 kDa permeat örneğinin başlangıç suda çözünür kuru madde içeriği (6,7 °Briks) diğer membranlara göre en düşük seviyede ve $CaCl_2$ çözeltisinin başlangıç konsantrasyonu kullanılan bütün permeatlarda yaklaşık aynı olduğu için, su buharı basıncı farkı sürücü kuvvetle orantılı olarak, bu membranda başlangıç evaporasyon akısı 0,88 kg/m^{2}saat düzeyi ile en yüksek seviyede elde edilmiştir. Benzer şekilde farklı derişimlerdeki sukroz çözeltilerinin ozmotik distilasyonunda, en düşük başlangıç konsantrasyonuna sahip sukroz çözeltisinde en yüksek başlangıç evaporasyon akısı elde edildiği bildirilmiştir (Courel vd., 2000). 5 kDa permeat örneğinde evaporasyon akısı daha yüksek seviyede olduğundan 6 kat konsantrasyon prosesi daha kısa sürede (300 dk) tamamlanmıştır. 10 kDa ve 5 kDa permeat örneklerinin konsantrasyonunda gerçekleşen akı profili 50 kDa permeat örneğinde gerçekleşen iki aşamalı profille uyum göstermektedir. 50 kDa ve 10 kDa permeat örneklerinde viskozite etkileri 270 dk içerisinde hissedilmeye başlanırken, 5 kDa permeat örneğinde, başlangıç °Briks değerinin daha düşük olması sebebiyle (Çizelge 4.2) bu örnekte akı azalması üzerine viskozite etkilerinin daha geç gözlenmesi beklenebilirdi. Fakat evaporasyon akısının daha yüksek olması viskozite etkilerinin 250 dk'dan sonra hissedilmeye başlanmasına neden olmuştur.

4.3. Kalite Kontrol Analiz Sonuçları

4.3.1. Briks, pH ve Toplam Asitlik Sonuçları

Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin suda çözünür kuru madde değerleri üzerine etkisi Çizelge 4.2'de verilmiştir. Membran ayırma sınırının azalması ile brokoli suyu permeat örneklerindeki suda çözünür kuru madde miktarındaki azalmanın önemli olduğu görülmektedir ($P < 0,05$). Farklı MWCO değerine sahip ultrafiltrasyon membranlarından elde edilen permeatlar OD prosesi ile yaklaşık 6 kat konsantre edilerek biyoaktif bileşen içeriği zengin konsantreler elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin °Briks değerleri üzerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	°Briks
	Kontrol	7,2±0,1[a]
50 kDa	Permeat	7,1±0,2[a]
	Retentat	7,2±0,2
	Permeat OD	42,6±0,9
10 kDa	Permeat	6,8±0,0[b]
	Retentat	7,5±0,1
	Permeat OD	40,8±0,0
5 kDa	Permeat	6,7±0,0[b]
	Retentat	7,5±0,1
	Permeat OD	40,2±0,0

[a-b:] Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.

Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin pH ve toplam asitlik değerleri üzerine etkisi Çizelge 4.3'de verilmiştir. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranların MWCO değeri, brokoli suyu örneklerinin pH'sı üzerinde istatistiksel olarak önemli ($P > 0,05$) fakat oransal olarak düşük farklılıklara neden olmuştur. Kontrol örneğinin pH'sı 6,59 iken, 5 kDa permeat örneğinin pH'sı kontrol

örneğine göre %0,76 oranında azalarak 6,54 olarak tespit edilmiştir. Ultrafiltrasyon permeatları ile ozmotik distilasyonla konsantre edilen örneklerin pH değerleri arasında fark gözlenmemektedir ($P > 0,05$). Literatürde ultrafiltrasyon ve OD uygulamalarının ürünlerin pH'sı üzerine etki etmediğine ilişkin çalışmalar mevcuttur (Garcia-Castello, Cassano, Criscuoli, Conidi & Drioli, 2010; Hongvaleerat vd., 2008; Rai vd., 2006). Örneğin, siyah frenk üzümü suyunun ultrafiltrasyon ile berraklaştırılması aşamasında pH'sında farklılık gözlenmediği bildirilmektedir (Pap vd., 2012).

Çizelge 4.3. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin pH ve toplam asitlik değerleri üzerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	pH	Toplam asitlik (g malik asit/L)
	Kontrol	6,59±0,01^{a}	1,37±0,01^{bc}
50 kDa	Permeat	6,59±0,01^{a}	1,41±0,03^{ab}
	Retentat	6,59±0,00	1,49±0,02
	Permeat OD	6,56±0,02^{ab}	1,40±0,02^{ab}
10 kDa	Permeat	6,59±0,03^{ab}	1,35±0,02^{c}
	Retentat	6,65±0,01	1,43±0,01
	Permeat OD	6,55±0,01^{ab}	1,43±0,01^{a}
5 kDa	Permeat	6,54±0,02^{b}	1,16±0,02^{e}
	Retentat	6,61±0,01	1,40±0,07
	Permeat OD	6,54±0,02^{b}	1,30±0,02^{d}

$^{a\text{-}e}$: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$).
OD: ozmotik distilasyon

Brokoli suyunda yapılan HPLC ile organik asit sonuçlarına göre (Bölüm 4.3.8) brokoli suyundaki baskın organik asidin malik asit olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle toplam asitlik malik asit üzerinden hesaplanmıştır. 5 kDa membran kullanıldığı durumda toplam asitlikte kontrol örneğine göre belirgin bir azalma gözlenmiştir ($P < 0,05$). HPLC ile yapılan organik asit sonuçları da toplam asitlikteki azalmayı doğrular niteliktedir. Brokolide bulunan başlıca fenolik asitlerin hidroksisinnamik asitler olduğu ve bunların genellikle şeker ve organik asitlerle konjuge halde bulunduğu bilinmektedir (Cartea vd., 2010). Toplam asitlikteki azalma, 5 kDa membran yüzeyinde biriken büyük molekül

ağırlıklı fenolik bileşiklerin organik asitlerle konjugasyonuna bağlanabilir. Ultrafiltrasyon ve OD prosesi ile elde edilen permeat örneklerinin toplam asitlik değerlerinde değişim olmadığına dair literatür verileri bulunmaktadır (Hongvaleerat vd., 2008; Rai, Majumdar, Gupta & De, 2007; Taselli vd., 2007).

4.3.2. Renk Sonuçları

Renk, ürünün kabul edilebilirliğini ve uygulanan gıda prosesinin ürün üzerindeki etkilerini gösteren önemli bir kalite özelliğidir. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi Çizelge 4.4'de verilmiştir. Membran ayırma sınırı azaldıkça kademeli ultrafiltrasyonun bir sonucu olarak, berraklığın bir göstergesi olan L^* değerinin arttığı görülmektedir ($P < 0,05$). L^* değerinde OD prosesinde 5 kDa permeat örneği haricinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Benzer şekilde, portakal suyunun OD ile konsantrasyonunda L^* değerinin korunduğu rapor edilmiştir (Cisse, Vaillant, Perez, Dornier & Reynes, 2005).

Çizelge 4.4. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin renk değerleri üzerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	L^*	a^*	b^*	ΔE
	Kontrol	94,40±0,02^{a}	-4,07±0,13^{a}	28,98±1,07^{a}	-
50 kDa	Permeat	95,64±0,11^{b}	-4,03±0,29^{a}	24,45±0,41^{c}	4,72±0,66^{a}
	Retentat	94,13±0,94	-3,71±0,01	30,54±1,35	2,67±1,49
	Permeat OD	95,64±0,00^{b}	-3,68±0,01^{bc}	25,50±0,01^{b}	3,74±1,00^{a}
10 kDa	Permeat	95,96±0,43^{b}	-3,91±0,22^{ab}	24,71±0,28^{c}	4,61±0,58^{a}
	Retentat	92,07±0,02	-3,45±0,15	38,39±0,21	9,72±0,83
	Permeat OD	95,78±0,09^{b}	-3,85±0,05^{ab}	25,23±0,17^{bc}	4,02±0,80^{a}
5 kDa	Permeat	97,17±0,16^{c}	-3,67±0,01^{bc}	19,20±0,39^{e}	10,18±0,61^{c}
	Retentat	92,93±0,06	-3,24±0,01	35,88±0,01	7,12±1,03
	Permeat OD	96,43±0,00^{d}	-3,55±0,00^{c}	21,57±0,00^{d}	7,70±1,03^{b}

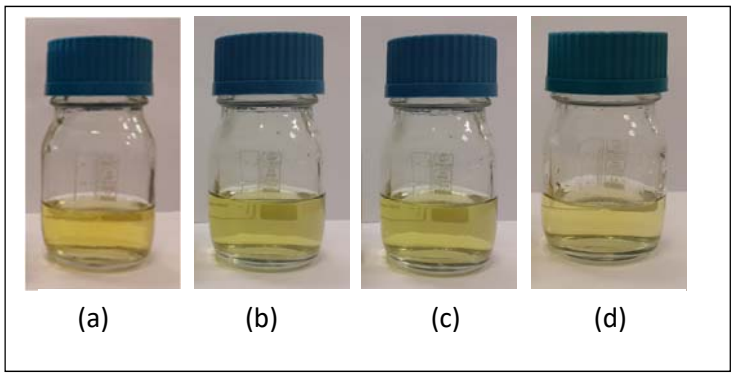
$^{a-e}$:Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.

Doğada en yaygın bulunan pigmentler arasında olan klorofil yeşil sebzelerin görünümünde ve kabul edilebilirliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte, asitli ortam, ışık, serbest radikaller, gıda işleme teknikleri ve klorofilaz aktivitesi gibi faktörler klorofilin yıkımını hızlandırır. Brokoli suyundaki klorofilin ısı etkisiyle parçalanması 60°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda meydana gelir (Weemaes, Ooms, Van Loey & Hendrickx, 1999). Van Loey vd., (1998) brokoli suyundaki klorofilin ısı etkisiyle birinci dereceden kinetiğe uygun şekilde parçalandığını bildirmişlerdir. Klorofil a ve b'nin (brokolideki klorofil a:b oranı 2,9:1'dir) sırasıyla feofitin a ve b'ye parçalandığı ve klorofil a'nın ısıl duyarlılığının klorofil b'den daha fazla olduğu bilinmektedir. Isıl işlemler sırasında klorofilin porfirin halkasının merkezi magnezyum atomu iki hidrojen atomu ile yer değiştirerek feofitine dönüşür ve üründe parlak yeşilden mat yeşil bir renge dönüşüm gözlenir (Weemaes vd., 1999). Ayrıca, yeşil renkli sebzelerin kloroplastlarında bulunan rengi kırmızıdan sarıya kadar değişen karotenoidler de sebzelerin rengine katkıda bulunur, ancak genellikle daha baskın olan klorofil pigmentleri karotenodilerin rengini maskeler (Fennema, 1996). Brokolinin de karotenoidler bakımından zengin olduğu bildirilmektedir (Podsedek, 2007). Bu çalışmada kırmızı-yeşil rengi ifade eden *a** değeri ısıl işlem içermeyen UF uygulamalarında korunmuştur. Bu da klorofilin kullanılan bütün membranlarda permeata geçtiğini göstermektedir. Sadece 50 kDa permeat örneğinin OD ile konsantrasyonunda başlangıçta -4,03 olan *a** değeri konsantrasyon sonunda -3,68 değerine düşerken ($P < 0,05$), *b** değeri 24,45'ten 25,50'ye yükselmiştir ($P < 0,05$). Bu durum molekül ağırlığı 32,65-37,77 kDa aralığında olan klorofilaz enziminin (Sharafi, Dehestani, Farmani & Parizi, 2017) sadece 50 kDa permeat örneğinde bulunması, OD prosesi boyunca aktivite göstererek klorofilin bir miktar parçalanmasına sebep olması ve böylece sarı renkli ksantofillerin belirgin hale gelmesi şeklinde yorumlanabilir. UF'de kullanılan diğer membranlara ait permeat örneklerinin OD ile konsantrasyonu sonundaki *a** değerinin değişimi ise istatistiksel öneme sahip değildir ($P > 0,05$).

Membran ayırma sınırı azaldıkça sarı-mavi rengin göstergesi olan *b** değerinin azaldığı görülmektedir ($P < 0,05$). Renk parametreleri ile karotenoidler arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada, brokolideki *b** değeri değişimlerinin başlıca β-karoten ve luteinden etkilendiği bildirilmiştir (Fernández-León, Fernández-León, Lozano, Ayuso & González-Gómez, 2012). Kademeli ultrafiltrasyon sonucunda *b** değerinin azalması karotenoid madde miktarının giderek azaldığını gösterir. Brokoli

suyunda bulunan karotenoidler molekül ağırlıkları küçük olmasına (536-568 g/gmol) rağmen ultrafiltrasyon membranlarında belirli oranlarda tutulmuşlardır. Benzer şekilde, kavun suyunun seramik mikrofiltrasyon membranı ile berraklaştırılmasında β-karotenin permeat fazında tespit edilemediği, retentat fazında ise β-karoten birikimine bağlı olarak *b** değerinin arttığı saptanmıştır. Bu durumu hidrofobik özellikteki β-karotenin membranla etkileşime girmesi ile ilişkilendirmişlerdir (Vaillant vd., 2005).

ΔE değeri toplam renk farkını ifade etmektedir. 50 kDa ile 10 kDa permeat örneklerinin ΔE değerleri arasında istatistiksel öneme sahip bir fark ($P > 0,05$) gözlenmemiştir. 5 kDa permeat örneğinin toplam renk farkı diğer örneklere göre istatistiksel açıdan ($P < 0,05$) önemlidir. Farklı MWCO değerine sahip ultrafiltrasyon membranlarından elde edilen permeat örneklerinin görsellerinden de bu renk farklılığı belirgin bir şekilde ayırt edilebilmektedir (Şekil 4.13). 5 kDa membranda toplam renk farkının fazla olması, 5 kDa permeat örneğinin *L** ve *b** değerlerinin kontrol örneğine göre oldukça farklı olmasından kaynaklanmıştır. Permeat örnekleri ile OD prosesi ile konsantre edilen örneklerin ΔE değerleri kıyaslandığında, OD prosesi 50 kDa ve 10 kDa permeat örneklerinin ΔE değerlerine etki etmemiş yani toplam renk farkı korunmuştur. Örneklerde toplam renk farkının korunması oda sıcaklığında gerçekleştirilen ozmotik distilasyon süresince Maillard reaksiyonu gerçekleşmediğini göstermektedir (Vaillant vd., 2005). Bu sonuç yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen konsantrasyon uygulamaları ile elde edilen sonuçlara göre oldukça dikkat çekicidir (Galeb, Wrolstad & Mcdaniel, 2002).

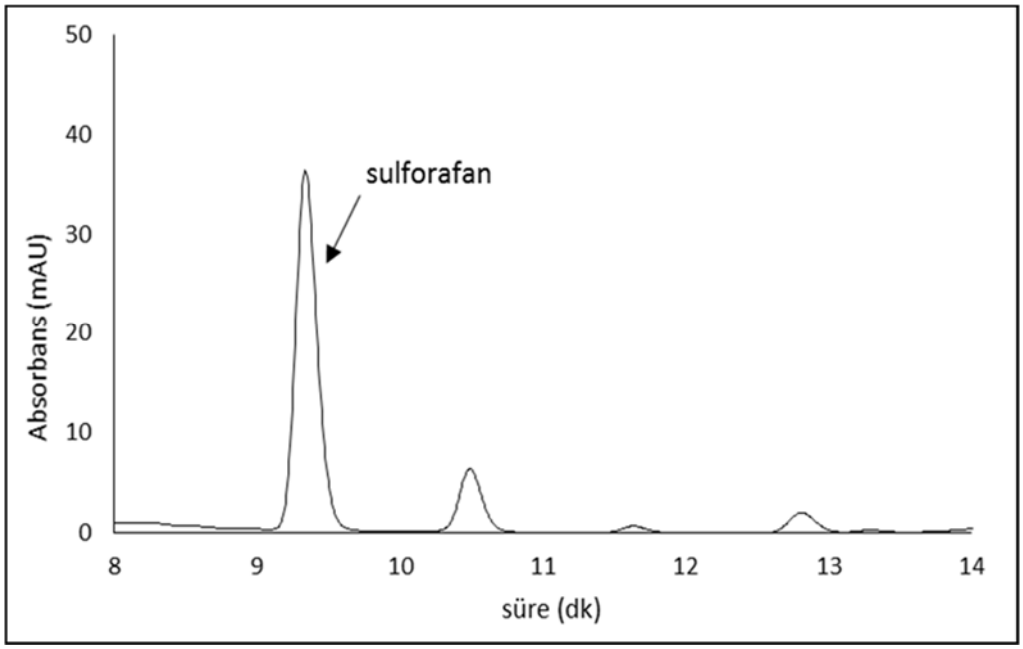


Şekil 4.13. Ultrafiltrasyon membranlarından geçirilerek elde edilen permeat örnekleri ((a)kontrol; (b) 50 kDa permeat; (c) 10 kDa permeat; (d) 5 kDa permeat).

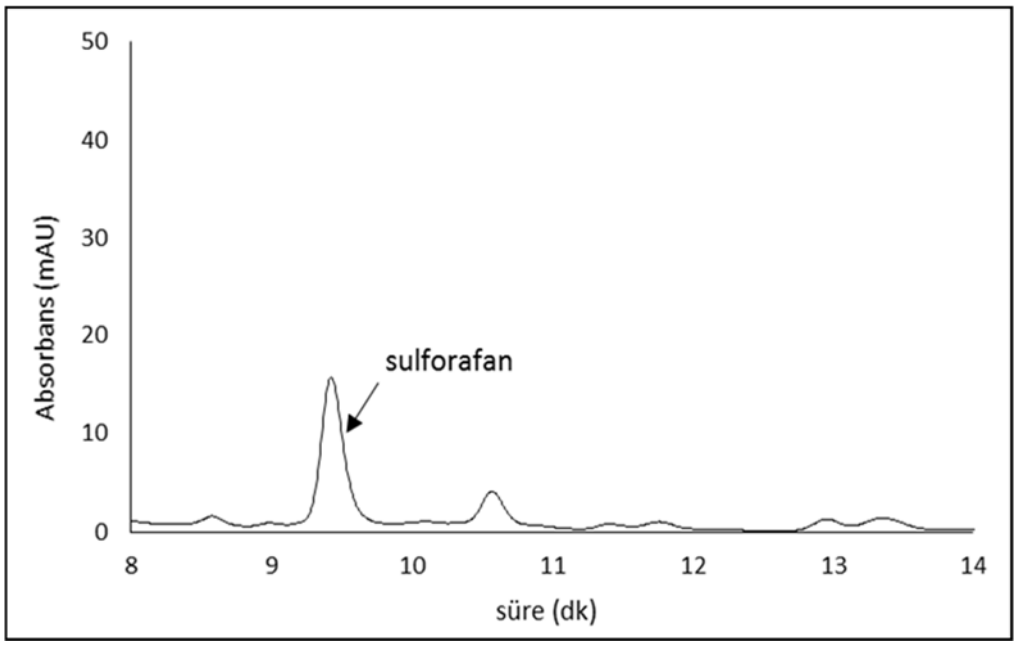
4.3.3. Sulforafan Sonuçları

Brokolide bulunan sulforafan çeşitli kanser hastalıklarında önleyici ve terapötik etkilere sahip olmasından dolayı son yıllarda büyük ilgi görmektedir. Ancak sulforafan molekülünün ısıya duyarlı olduğu bilinmektedir. 60 °C'de 10 dk'lık bir ısıl işlem ile %90 oranında parçalandığı bildirilmiştir (Van Eylen vd., 2007). Aynı şekilde, Jones, Frisina, Winkler, Imsic & Tomkins (2010) kaynatma, haşlama ve mikrodalgada pişirmeye tabi tutulan brokolinin sulforafan içeriğinin %90-98 oranında azaldığını saptamışlardır. Brokolide bulunan ve glukorafanin molekülünün sulforafana dönüşümünü sağlayan mirosinaz enzimi de ısıl konsantrasyon proseslerinde aktivitesini kaybederek sulforafan oluşumunu olumsuz yönde etkilemektedir (Herr, Lozanovski, Houben, Schemmer & Büchler, 2013). Örneğin haşlama işlemi ile mirosinaz enzim aktivitesinin neredeyse tamamen kaybedildiği ve bu durumun glukozinolat hidrolizinin inhibisyonu ile sonuçlandığına ilişkin çalışmalar mevcuttur (Dosz ve Jeffery, 2013; Van Eylen vd., 2007).

Bu nedenlerle sulforafan molekülünün biyoaktivitesinin korunması için geri kazanım süreçlerinin ısıl olmayan koşullarda yapılması büyük önem taşımaktadır. Diğer taraftan, sulforafanın insan sağlığı açısından önemli biyoaktif etkileri gösterebilmesi için vücuda yüksek miktarlarda alınması gerekmektedir. Örneğin, Herr vd., (2013) sulforafanın kanser önleyici etkisinden faydalanabilmek için günlük olarak altı pişmemiş brokoli başının tüketilmesi gerektiğini bildirmiştir. Bu çalışma kapsamında sulforafan brokoliden organik çözücü kullanımı gerektirmeyen ultrafiltrasyon uygulamaları ile geri kazanılmış ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ozmotik distilasyon prosesi ile konsantre edilmiştir. Sulforafan standardına ait kromatogram Şekil 4.14'de verilmiştir. Sulforafan için alıkonma süresi 9,247 dk olarak belirlenmiştir. Brokoli suyunda bulunan sulforafana ait kromatogram ise Şekil 4.15'de görülmektedir.



Şekil 4.14. Sulforafan standardına ait kromatogram



Şekil 4.15. Brokoli suyunda bulunan sulforafana ait kromatogram

Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin sulforafan miktarına etkisi Çizelge 4.5'de verilmiştir. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranların gözenek büyüklüğü, brokoli suyu örneklerinin sulforafan miktarında önemli bir farklılığa neden olmamıştır ($P > 0,05$). Ultrafiltrasyonda kullanılan bütün membranlarda sulforafan permeat fazına tamamen geçmiştir. Erkoç ve Erkoç (2005)

tarafından yapılan bir çalışmada sulforafan molekülünün net yükünün sıfır olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle sulforafan molekülünün negatif yüke sahip PES membran ile etkileşime girmediği ve molekül boyutunun (M_w: 177,3 g/mol) da kullanılan membranların MWCO değerinden küçük olması nedeniyle, UF'de sulforafan ayrımının gözenek içi kirlemeye katkıda bulunmadan, eleme etkisiyle yani moleküler boyuta göre gerçekleştiği düşünülmektedir. Ultrafiltrasyon uygulamasında kullanılan en küçük MWCO değerine sahip olan 5 kDa membranda dahi sulforafanın %95 oranında korunduğu saptanmıştır.

Ozmotik distilasyon ile ultrafiltrasyon permeatlarındaki sulforafan 6 kat konsantre edilmiştir. Konsantre edilen örneğin başlangıç suda çözünür kuru madde içeriğine kadar seyreltilmesiyle yapılan sulforafan analizi sonucunda, ozmotik distilasyon ile konsantrasyon prosesinin örneklerin sulforafan içeriğine etkisinin istatistiksel açıdn önemsiz olduğu gözlenmiştir ($P > 0,05$). Çalışmamızda sulforafan OD prosesi ile tamamen korunarak konsantre son üründe yaklaşık 9,00 mg/L düzeyinde sulforafan bulunmaktadır. Literatürde sulforafanın membran prosesleri ile geri kazanılıp konsantre edilmesine ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

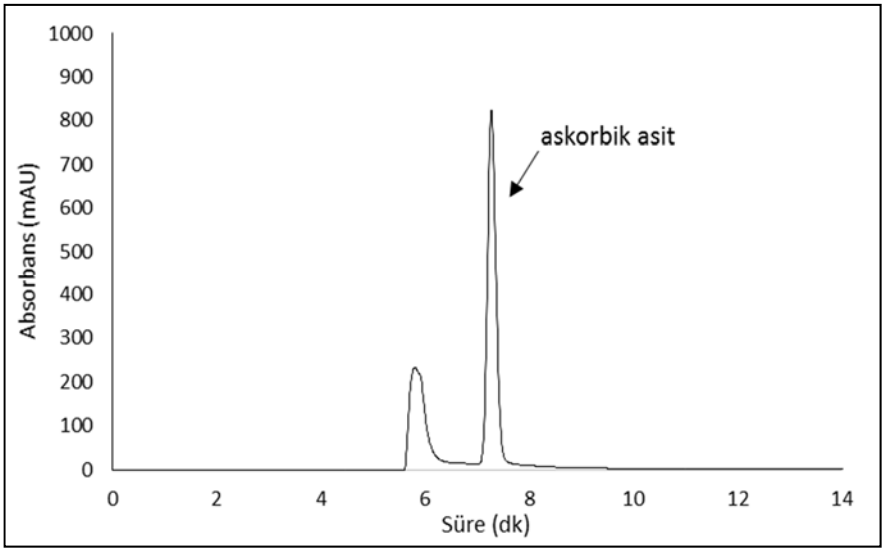
Çizelge 4.5. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin sulforafan miktarına etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Sulforafan (mg/L)
	Kontrol	1,48±0,03[a]
50 kDa	Permeat	1,46±0,05[a]
	Retentat	1,49±0,07
	Permeat OD	1,50±0,09[a]
10 kDa	Permeat	1,45±0,04[a]
	Retentat	1,51±0,00
	Permeat OD	1,49±0,01[a]
5 kDa	Permeat	1,41±0,01[a]
	Retentat	1,52±0,00
	Permeat OD	1,45±0,05[a]

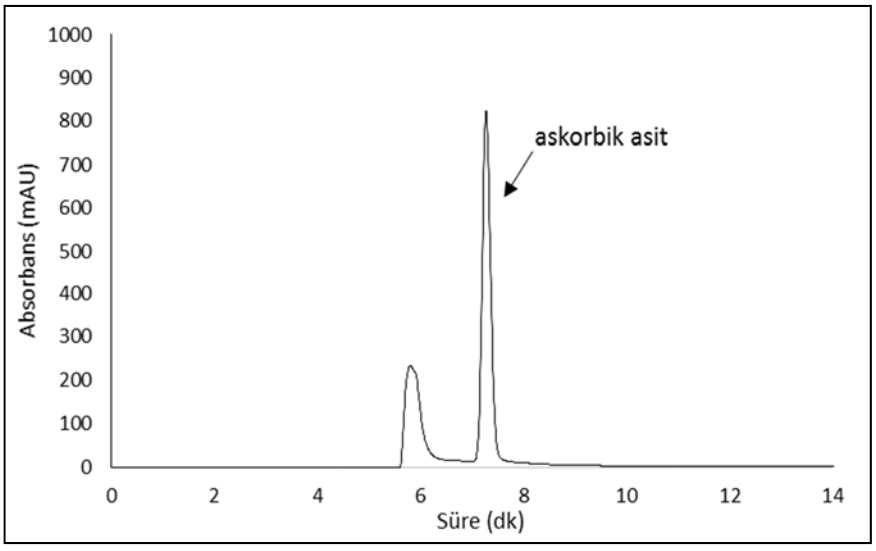
[a-a]: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.

4.3.4. Askorbik Asit Sonuçları

Brokoli hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli rol oynadığı bilinen askorbik asit bakımından zengin bir sebzedir. Brokolinin askorbik asit içeriği son derece değişken olup hasada, yetiştirme şartlarına, toprak durumuna ve hasat sonrası depolama koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Podsedek, 2007). Askorbik asit standardına ait HPLC kromatogramı Şekil 4.16'de verilirken, brokoli suyunda bulunan askorbik aside ait HPLC kromatogramı ise Şekil 4.17'de verilmiştir. Askorbik asidin tanımlanmasında standart bileşiğe ait spektrum ve alıkonma süresi ile örnekte saptanan piklerin spektrumları ve alıkonma süreleri karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.16. Askorbik asit standardına ait kromatogram



Şekil 4.17. Brokoli suyunda bulunan askorbik aside ait kromatogram

L-askorbik asit oksijene, ışığa, basınca, sıcaklığa, metal iyonlarına ve pH'ya duyarlıdır. Brokolide ise askorbik asit degradasyonunda askorbik asit oksidaz gibi enzimlerin diğer faktörlere göre daha önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Askorbik asit oksidaz enzimi varlığında L-askorbik asit oda sıcaklığında enzimatik olarak dehidroaskorbik aside okside olmaktadır (Munyaka vd., 2010). Ultrafiltrasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin askorbik asit miktarına etkisi Çizelge 4.6'da verilmiştir. 50 kDa permeat örneğinde bulunan askorbik asit miktarı kontrol örneğine göre %12,6 oranında azalmış ($P < 0,05$) ve bu membrandan sonra kullanılan MWCO değeri örneklerin askorbik asit içeriğine etki etmemiştir. Bu durum, askorbik asit oksidaz enziminin aktivitesini sadece 50 kDa permeat örneğinde göstermiş olduğunun bir göstergesidir. Askorbik asit oksidaz enzimin 10 kDa MWCO değerine sahip membran tarafından tamamen tutulduğu ve bu nedenle 50 kDa'dan daha küçük gözenek çapına sahip diğer membranlardan elde edilen permeatlardaki askorbik asit değişiminin istatistiksel açıdan önemsiz olduğu düşünülmektedir ($P > 0,05$). Bu çalışma ile uyumlu olarak, yapılan bir çalışmada kaktüs armut suyunun 10 kDa PS membran ile ultrafiltrasyonunda L-askorbik asit içeriğinde sadece %4'lük bir azalma gözlendiği bildirilmiştir (Cassano vd., 2007b).

Çizelge 4.6. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin askorbik asit miktarına etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Askorbik asit (mg/100 mL)
	Kontrol	105,97±0,92[a]
50 kDa	Permeat	97,96±1,51[bc]
	Retentat	104,43±1,68
	Permeat OD	101,21±1,41[b]
10 kDa	Permeat	98,10±1,65[bc]
	Retentat	103,64±1,20
	Permeat OD	98,55±0,30[bc]
5 kDa	Permeat	95,66±3,30[c]
	Retentat	95,41±2,54
	Permeat OD	94,00±5,52[c]

[a-c]: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.

Askorbik asidin sıcaklık değişimlerine duyarlı bir molekül olduğu ve kolayca parçalandığına ilişkin çeşitli çalışmalar mevcuttur. Evaporasyona (75 °C) tabi tutulan kivi suyu örneklerinin askorbik asit içerikleri başlangıç meyve suyuna göre önemli ölçüde azalmıştır. Kivi suyunun suda çözünür kuru madde miktarı 20 °Brikse ulaştığında askorbik asidin %65 oranında azaldığı, 42,8 ve 66,6 °Briks seviyelerinde ise sırasıyla %72 ve %87 oranında azaldığı bildirilmektedir (Cassano ve Drioli, 2007). Brokolideki askorbik asidin de ısıl işlem sırasında parçalandığına dair literatür verileri bulunmaktadır. Haşlamanın brokolinin bazı fonksiyonel özellikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla haşlama yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, kaynar su ve buhar uygulaması ile haşlanmış örneklerde askorbik asit kaybının haşlama süresiyle ilgili olduğu bulunmuştur. Başlangıçta ham brokolide yaklaşık 151,32 mg/100 g askorbik asit bulunduğu ve bu miktarın kaynar su ve buhar uygulamasıyla sırasıyla 80,13 mg/100 g ve 112,92 mg/100 g düzeyine düştüğü aktarılmıştır (Severini, Giuliani, De Filippis, Derossi & De Pilli, 2016).

Ultrafiltrasyon işlemlerinin ardından gerçekleştirilen ozmotik distilasyon ile konsantrasyon sonrasında askorbik asit miktarı, sistemin kapalı olması ve oda sıcaklığında çalışılmasından dolayı değişmemiştir ($P > 0,05$). Literatürde de askorbik asidin OD prosesi ile korunduğunu doğrulayan çalışmalar bulunmaktadır (Cassano ve Drioli, 2007; Munyaka vd., 2010; Ongaratto, Menezes, Borges & da Cunha Lage, 2018; Rodrigues vd., 2004; Vaillant vd., 2005).

Sonuç olarak ön işlem görmüş brokoli suyu (100 kDa permeat) örneğinin askorbik asit miktarı kullanılan ultrafiltrasyon membranlarında yaklaşık %90,3-92,6 oranında korunmuş, ozmotik distilasyon uygulamaları ile ise neredeyse tamamı korunmuştur. Sonuç olarak, askorbik asit, oda sıcaklığında gerçekleştirilen ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon proseslerinde korunmakta ve elde edilen konsantreler yüksek miktarda askorbik asit içermektedir. Bu durum, askorbik asidin sağlığa olumlu etkilerinin yanı sıra, mirosinaz enziminin aktivitesini arttırarak daha yüksek oranda sulforafan oluşumuna katkıda bulunması açısından da önem taşımaktadır (Shen vd., 2010).

4.3.5. Toplam Fenolik Madde Sonuçları

Toplam fenolik madde miktarı kültür seçimi, kültürün yetiştirilme mevsimi ve ürünün depolama koşulları gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Farklı brokoli çeşitleri arasındaki toplam fenolik madde miktarı %200'e kadar değişim göstermektedir (Koh vd., 2009). Brokolinin 80,76±1,17 mg/100 g düzeyinde toplam fenolik madde içerdiği ve bu miktarın araştırılan on farklı sebze arasında en yüksek olduğu bilinmektedir (Chu, Sun, Wu & Liu, 2002).

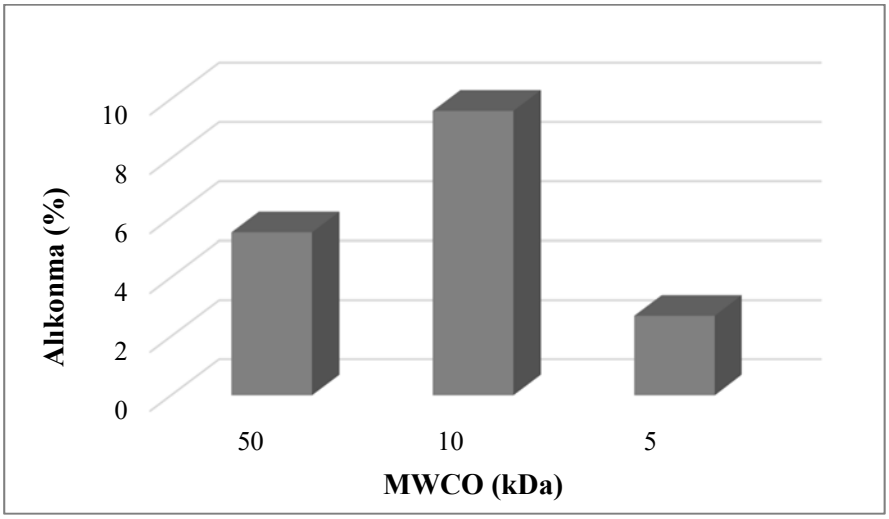
Ultrafiltrasyon uygulamalarında kullanılan membranların MWCO değeri küçüldükçe toplam fenolik madde miktarının azaldığı Çizelge 4.7'de görülmektedir ($P <$ 0,05). Toplam fenolik madde miktarında gözlenen azalma fenolik bileşiklerdeki azalma (Bölüm 4.3.6) ile de uyum içerisindedir. Brokoli suyu örneklerinin farklı MWCO değerindeki membranlardan ultrafiltrasyonu sonunda toplam fenolik madde miktarlarındaki azalma oranı %2,7-9,6 aralığında değişim göstermiştir. Membran kirlenme mekanizmalarını inceleyen seri direnç analizi sonuçları ile de uyumlu olarak, diğer membranlara göre toplam direnci daha yüksek olan 10 kDa UF membranının fenolik bileşikler üzerinde daha fazla oranda alıkoyma gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.18). Fenolik bileşiklere ait geri kazanım yüzdeleri sonuçlarına göre de en düşük geri kazanım 10 kDa membranda elde edilmiştir (Bölüm 4.3.9). Weis, Bird, Nyström & Wright (2005) yaptıkları çalışmalarında ultrafiltrasyon prosesinde başlıca kirletici parçacıkların fenolik bileşikler olduğunu saptamıştır. Kirlenme mekanizması ile polifenollerin alıkonması arasında güçlü bir ilişki olduğu ve kirlenme türündeki değişikliklerin polifenollerin alıkonmasında değişikliklere yol açtığı bildirilmektedir (Figueroa, Cassano & Drioli, 2011). Polifenoller yapılarında aromatik halka ve alifatik zincir bulundurmalarından dolayı hidrofobik yapıya sahiptir (Galanakis, 2015). Fenolik bileşiklerle hidrofobik yapıda olan PES membran arasındaki etkileşimlerin membranların alıkoyma seçiciliğini arttırdığı rapor edilmiştir (Galanakis, 2015; Susanto vd., 2009). Ayrıca, Susanto vd., (2009) polipropilen gibi daha hidrofobik yapıdaki membranlarla karşılaştırıldığında PES membranlarda benzen-benzen halka etkileşimlerinden kaynaklanan fenolik bileşik adsorpsiyonunun daha fazla gerçekleştiğini saptamışlardır. Bu çalışmada, 10 kDa membrandan elde edilen permeat örneğindeki toplam fenolik madde içeriğinin kontrol örneğine göre %15 oranında azaldığı saptanmıştır. Seri direnç

analizi sonucunda bu membranda saptanan geri dönüşümsüz kirlenmenin PES membran ile fenolik maddeler arasındaki etkileşimden kaynaklandığı ve permeatın fenolik madde içeriğindeki azalmanın kaynağının bu etkileşim olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.7. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarları üzerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Toplam fenolik madde (mg gallik asit/L)
	Kontrol	758,82±4,80[a]
50 kDa	Permeat	717,18±0,58[b]
	Retentat	714,30±1,56
	Permeat OD	701,17±3,52[c]
10 kDa	Permeat	648,30±1,65[d]
	Retentat	791,17±6,41
	Permeat OD	593,24±4,50[g]
5 kDa	Permeat	630,52±3,99[e]
	Retentat	768,63±5,01
	Permeat OD	600,76±6,27[f]

[a-g]:Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.



Şekil 4.18. Brokoli suyunun ultrafiltrasyonu sırasında toplam fenolik maddenin alıkonma oranları

Brokoli suyu örneklerinin OD ile 6 kat konsantrasyonu sonucunda ise toplam fenolik madde sonuçlarında oldukça düşük oranda azalmalar gözlenmiştir ($P < 0,05$). OD prosesi oda sıcaklığında gerçekleşen bir proses olduğundan toplam fenolik maddedeki değişim sınırlandırılabilmiştir. Örneğin 50 kDa membrandan elde edilen permeatın konsantre edilmesinden sonra elde edilen konsantrenin toplam fenolik madde miktarı permeat örneğinden sadece %2,2 daha azdır. Buradaki toplam fenolik madde miktarındaki azalmanın ya polifenol oksidaz enziminin aktivitesinden kaynaklandığı ya da fenolik bileşikler dışındaki diğer indirgen maddelerin konsantrasyon prosesinde miktarlarının azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu kapsamda, brokoliden elde edilen polifenol oksidaz enziminin sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektoforezi (SDS-PAGE) ile belirlenen molekül ağırlığının 51,3-57 kDa aralığında olduğu bildirilmiştir (Gawlik-Dziki, Szymanowska & Baraniak, 2007). 50 kDa membranın 50 kDa ve üzerinde molekül ağırlığına sahip olan bileşenleri %90 oranında tutabildiği göz önüne alındığında, 50 kDa permeat örneğinde polifenoloksidaz enziminin bulunma olasılığı düşük olmakla birlikte konsantrasyon sürecinin sonunda hacim azalmasına bağlı olarak membranın boşluk hacminde gezinen havadaki oksijenle etkileşime giren polifenoloksidaz enzimi fenolik bileşiklerde azalmaya sebep olmuş olabilir (Echavarria, Torras, Pagán & Ibarz, 2011). Buna karşılık, Bölüm 4.3.6 fenolik profili analizi sonuçlarına göre 50 kDa permeat örneğinde saptanan fenolik bileşiklerin ozmotik distilasyon prosesi sonunda miktarlarında herhangi bir değişim olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.8.ve Çizelge 4.9). Spektrofotometrik olarak yapılan toplam fenolik madde analizi sonuçlarının HPLC analizi ile belirlenen bireysel fenolik bileşiklerin toplamından daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durumun diğer indirgeyici bileşiklerin Folin-Ciocelteau reaktifi ile etkileşime girmesinden kaynaklandığı bilinmektedir (Conidi ve Cassano, 2015). Dolayısıyla ozmotik distilasyonda gözlenen toplam fenolik maddenin azalması fenolik bileşikler dışında diğer indirgen bileşiklerin miktarlarında gerçekleşen azalma ile ilişkilendirilebilir. 10 kDa ve 5 kDa permeat örneklerinin ozmotik distilasyonu sonunda toplam fenolik bileşik miktarındaki azalma oranının ise polifenoksidaz enziminden kaynaklanmadığı düşünülmektedir.

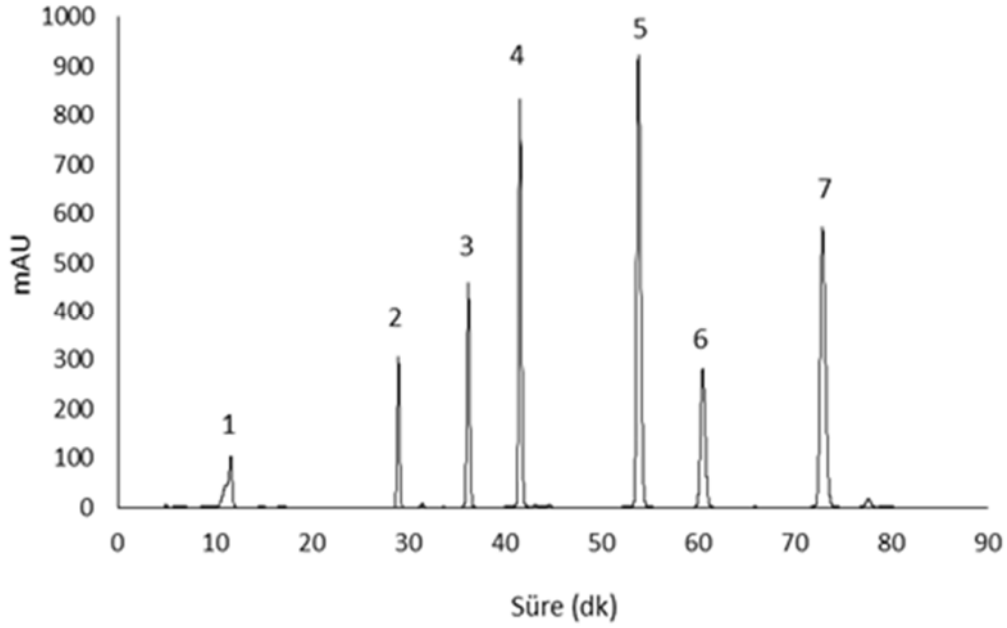
Literatürde ozmotik distilasyon ile konsantre edilen ürünlerin toplam fenolik madde miktarlarının değişimleri konusunda farklı sonuçlar mevcuttur. Vaillant vd., (2005) kavun suyunun ozmotik distilasyonla konsantrasyonunda fenolik bileşiklerin

yaklaşık %30 oranında azaldığını saptamışlardır. Bu kaybı, işlem sırasında beslemede bulunan polifenol oksidazlarla ilişkilendirmişlerdir. Adaçayı ekstraktı, cornelian vişne suyu gibi gıdalarda ise ozmotik distilasyon ile toplam fenolik maddenin korunduğuna ilişkin çalışmalara da rastlanmıştır (Bélafi-Bakó ve Boór, 2011; Torun vd., 2014).

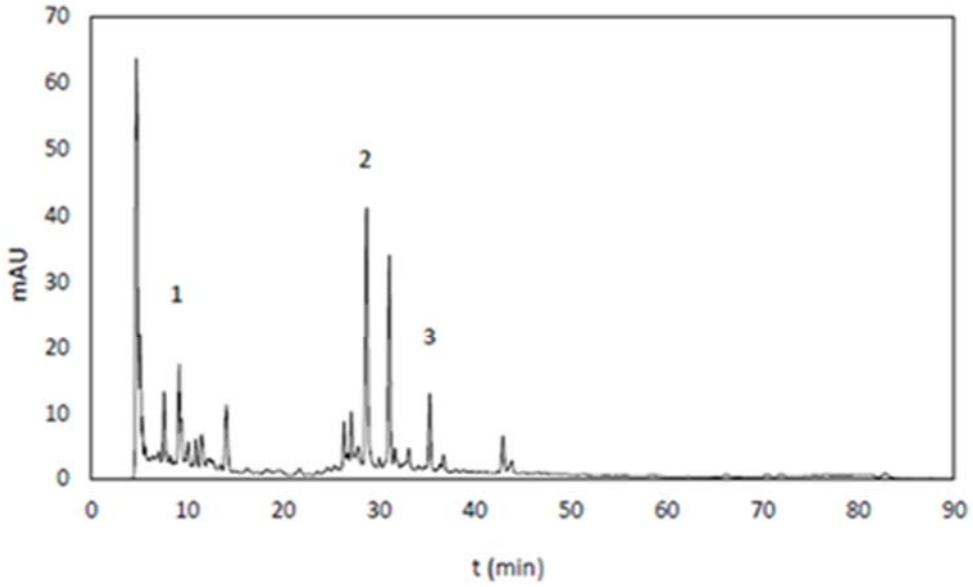
4.3.6. Fenolik Madde Sonuçları

Brokolide bulunan flavonoidler daha çok glikozit yapısında olduğundan doğrudan HPLC cihazında tespit edilebilmeleri için çok fazla sayıda referans maddeye ihtiyaç duyulmaktadır (Podsedek, 2007). Bu nedenle aglikon formlarının elde edilmesi için örneklere analiz öncesinde asit hidrolizi uygulanmıştır. Şekil 4.19'da fenolik madde standartlarına ait kromatogram verilmiştir. Asit hidrolizi öncesi ve sonrasında elde edilen HPLC kromatogramları ise Şekil 4.20'de görülmektedir. Fenolik bileşiklerin tanımlanmasında standart bileşiklere ait spektrumlar ve alıkonma süreleri ile örnekte saptanan piklerin spektrumları ve alıkonma süreleri karşılaştırılmıştır. Örneklerde asit hidrolizi uygulamasından önce sinapik asit, klorojenik asit ve rutin saptanırken, asit hidrolizi uygulamasından sonra ise flavonoidlerin flavonol grubuna ait olan kuersetin ve kamferol saptanmıştır. Literatürde brokoli suyunda bulunan fenolik bileşiklerin tanımlanması üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olmakla birlikte, brokolide bulunan fenolik bileşiklerin tanımlandığı çalışmalar mevcuttur. *Brassica* türlerinde, özellikle lahana ve brokolide önemli miktarda sinapik asit ve klorojenik asit bulunduğu bildirilmiştir (Ayaz vd., 2008; Vallejo vd., 2002). Bu çalışmada brokoli suyunda da fenolik asitlerden klorojenik asit ve sinapik asit varlığı tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada brokoli ekstraktlarına asit hidrolizi uygulandıktan sonra LC/UV-DAD/ESI-MS*n* ile yapılan fenolik analizi sonuçlarına göre, başlıca fenolik asitlerin sinapik, *p*-kumarik, kafeik ve ferulik asit olduğu, flavonoid aglikonların ise kamferol, kuersetin ve iz düzeyde izoramnetin olduğu aktarılmıştır (Vallejo, Tomás-Barberán & Ferreres, 2004). Bu çalışmada brokoli suyunda elde edilen bulgularla benzer şekilde, Koh vd., (2009) brokolide bulunan flavonollerin kamferol ve kuersetin olduğunu bildirmiştir. Bahorun, Luximon-Ramma, Crozier & Aruoma (2004), brokolideki kuersetin konsantrasyonunun kamferol konsantrasyonundan yaklaşık beş kat daha fazla olduğunu bildirmiştir. Brokolinin flavonoid içeriği genellikle çeşit, tarımsal üretim yöntemleri, hasat sonrası

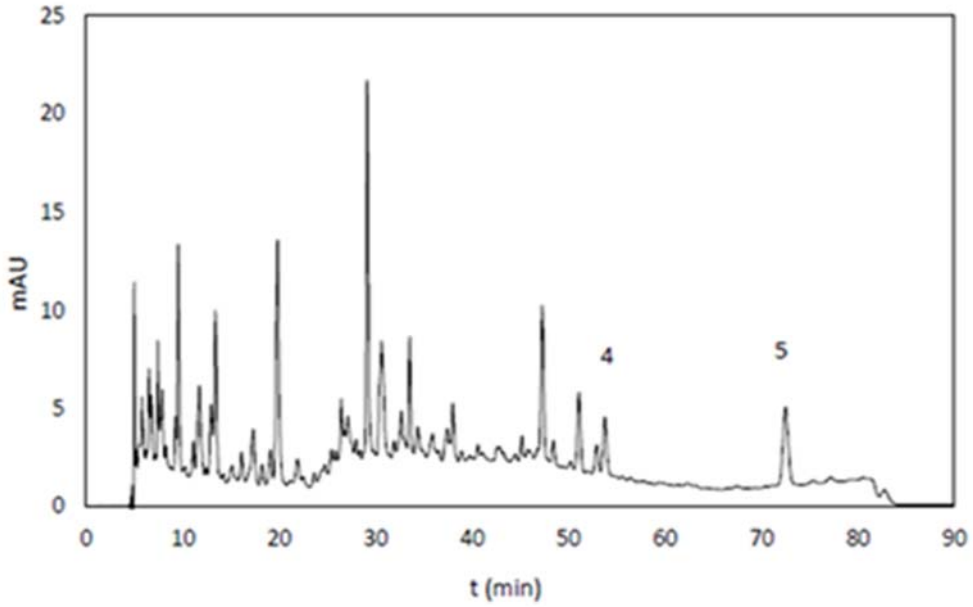
nakliye ve taşıma gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Özellikle genotip, gıdalardaki flavonoid düzeylerini belirleyen en etkili faktör olarak kabul edilmektedir (Koh vd., 2009). Kuersetin ve kamferol Brassica bitkilerinde genellikle o-glikozitler halinde bulunmaktadır (Cartea vd., 2010). Bu flavonoller insanlarda kardiyoprotektif ve antikanserojenik etkilere katkıda bulunan mekanizmalara katılmaktadır (Crozier, Jaganath & Clifford, 2009). Kuersetin düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu ve sitotoksisitesini inhibe etmekte ve koroner kalp hastalığı veya kanser riskini azaltmaktadır. Kuersetin, mirisetin ve rutinin geleneksel vitaminlerden daha güçlü antioksidanlar olduğu yapılan in vitro oksidasyon modelleri ile de gösterilmiştir (Miean ve Mohamed, 2001).



Şekil 4.19. Fenolik madde standartlarına ait kromatogram (1. klorojenik asit, 2. sinapik asit, 3. rutin, 4. mirisetin, 5. kuersetin, 6. luteolin, 7. kamferol).



(a)



(b)

Şekil 4.20. Brokoli suyunda bulunan fenolik maddelere ait kromatogram (a) asit hidrolizi öncesi, (b) asit hidrolizi sonrası (1: klorojenik asit, 2: sinapik asit, 3: rutin, 4: kuersetin, 5: kamferol).

Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin asit hidrolizi öncesindeki fenolik madde içeriklerine etkisi Çizelge 4.8'de ve ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin asit hidrolizi sonrasındaki fenolik madde içeriklerine etkisi ise Çizelge 4.9'da verilmiştir. Ultrafiltrasyon uygulamalarında kullanılan membranların MWCO değeri küçüldükçe fenolik maddelerin miktarlarının azaldığı görülmektedir ($P < 0,05$). Brokoli suyunda asit hidrolizi uygulamasının öncesinde en fazla bulunan fenolik asit klorojenik asit iken, asit hidrolizi sonrasında en fazla bulunan flavonoid kamferoldür. 5 kDa permeat örneğinde kuersetin ve kamferol bileşiklerinin konsantrasyonları tayin limitinin altında kaldığı için hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.8. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin asit hidrolizi öncesindeki fenolik madde içeriklerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Sinapik asit (mg/L)	Rutin (mg/L)	Klorojenik asit (mg/L)
	Kontrol	66,11±2,37^{a}	5,86±0,10^{a}	142,43±1,72^{a}
50 kDa	Permeat	62,67±0,03^{ab}	5,09±0,07^{b}	131,41±2,26^{b}
	Retentat	65,55±4,19	5,44±0,16	138,09±1,75
	Permeat OD	61,62±1,17^{b}	5,00±0,20^{b}	129,67±1,11^{b}
10 kDa	Permeat	54,22±1,57^{cd}	2,84±0,30^{c}	125,94±10,56^{b}
	Retentat	60,85±2,72	7,00±0,01	133,04±4,46
	Permeat OD	55,14±4,25^{c}	2,79±0,55^{c}	125,37±4,48^{b}
5 kDa	Permeat	50,22±3,12^{de}	1,57±0,37^{d}	126,06±2,93^{b}
	Retentat	50,81±3,63	4,28±0,17	134,92±2,20
	Permeat OD	49,61±1,35^{e}	1,70±0,10^{d}	125,73±5,16^{b}

$^{a-e}$: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.

Çizelge 4.9. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin asit hidrolizi sonrasındaki fenolik madde içeriklerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Kuersetin (mg/L)	Kamferol (mg/L)
	Kontrol	2,49±0,06[a]	5,04±0,21[a]
50 kDa	Permeat	2,41±0,02[b]	4,93±0,33[a]
	Retentat	2,62±0,06	5,53±0,06
	Permeat OD	2,42±0,03[ab]	4,75±0,15[a]
10 kDa	Permeat	1,66±0,07[c]	3,52±0,23[b]
	Retentat	2,53±0,02	4,42±0,12
	Permeat OD	1,67±0,06[c]	3,55±0,05[b]
5 kDa	Permeat	nd	nd
	Retentat	2,23±0,04	3,54±0,14
	Permeat OD	nd	nd

[a-c]: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon, nd: tespit edilemedi.

Ultrafiltrasyonda kullanılan her bir membran için fenolik bileşiklerin alıkonma oranları Çizelge 4.10'da özetlenmiştir. Örneklere asit hidrolizi uygulandıktan sonra tanımlanan kuersetin ve kamferol bileşiklerinin örneklerde hangi glikozit formunda olduğunun bilinmesi mümkün değildir. Örneğin kamferol bileşiği, brokoli suyu permeat örneklerinde kamferol-3-glikozit ve kamferol-5-glikozit vs. şeklinde bulunabilmektedir (Cartea vd., 2010). Bu nedenle bu bileşiklerin alıkonma oranlarına Çizelge 4.10'da yer verilmemiştir.

Çizelge 4.10. Fenolik bileşiklerin ultrafiltrasyon membranlarında alıkonma oranları

UF (MWCO)	Sinapik asit	Rutin	Klorojenik asit
50	5,2	13,1	7,7
10	13,5	44,0	4,2
5	7,4	44,9	-

Brokoli suyunda bulunan fenolik bileşiklerin farklı gözenek çapına sahip PES yapıdaki ultrafiltrasyon membranlarında farklı oranlarda (%4,2-44,9) alıkonulduğu açıkça görülmektedir. Brokoli suyunda bulunan fenolik bileşiklerin molekül ağırlıkları 224-354 g/gmol aralığındadır. 1 Dalton MWCO değerine sahip membranın yaklaşık 1 g/mol'e eşit olduğu bilindiğinden (Koyuncu, 2018), fenolik bileşiklerin molekül ağırlığı UF'da kullanılan membranların MWCO değerinden çok daha küçük olmasına rağmen, fenolik bileşikler membranlarda farklı oranlarda alıkonulmuştur. Fenolik bileşiklerin alıkonulmasının birçok sebebi vardır. Teoride polimerik membranlarla hedef bileşenlerin ayrılması bu bileşenlerin molekül ağırlığına ve eleme mekanizmasına bağlıdır. Bileşenlerin lineer zincir veya dallanmış konfigürasyonda bulunmaları, bu bileşenlerin efektif hacmine etki etmektedir. Bu nedenle aynı moleküler ağırlığına sahip bileşenlerin efektif hacimleri farklı olabilmekte ve filtrasyonu önemli ölçüde etkilemektedir (Acar ve Gökmen 2004). Bununla birlikte membranın sahip olduğu MWCO değeri bir bariyer olarak görülmemelidir. Besleme bileşiminde bulunan kirletici parçacıkların özellikleri ve membran polimerinin hidrofobikliği, membranın MWCO değerinin etkisini önemli derecede azaltır (Galanakis, 2015). Ayrıca sebzelerde fenolik bileşikler ester, amid ya da glikozit formlarında bulunabildiğinden molekül ağırlıkları serbest halde bulunduklarından oldukça fazla olabilir. Flavonoidler veya tanenler, proteinlerle birleşerek çözünür kompleksler oluşturabilirler. Oluşan bu kompleksler kolloidal boyutlara kadar büyüyebilir ve ultrafiltrasyonda kirlenme tabakası oluşumuna yol açar (Bazinet ve Doyen, 2017). Sonuç olarak, ultrafiltrasyon sırasında fenolik bileşiklerin alıkonulmasında sadece boyut özelliklerine dayanan eleme etkisinin değil, parçacık-parçacık ve membran-parçacık etkileşiminin de son derece önemli olduğu göz ardı edilmemelidir (dos Santos Sousa vd., 2016). Örneğin, polifenollerin yeşil çay yapraklarından saflaştırılması üzerine yapılan bir çalışmada 10 kDa ve 5 kDa MWCO değerine sahip UF membranları kullanılması durumunda polifenollerin neredeyse %100'ü tutulmuştur. 20 kDa ve 30 kDa membranda ise alıkonma oranı %70'den daha düşüktür. Yeşil çaydaki başlıca fenolik bileşikler olan kateşinler 290-458 Da arasında değişen moleküler boyuta sahip olduklarından, elde edilen bu büyük alıkonma oranlarının sadece moleküler boyuta bağlı olmadığı, polifenoller ile proteinler arasındaki etkileşimlerden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır (dos Santos Sousa vd., 2016). Başka bir çalışmada ise konsantre kan portakalı suyunun 15 kDa MWCO değerine sahip

PVDF yapıda membran kullanılarak yapılan ultrafiltrasyonunda hidroksisinnamik asitler ve flavanonlar korunmuş, antosiyaninler %23 oranında azalmıştır (Galaverna vd., 2008).

Membran kirlenme mekanizmasını incelediğimiz seri direnç analizi sonuçlarına göre (Bölüm 4.1.3), geri dönüşümsüz kirlenme oranı en fazla 10 kDa membranda gerçekleşmiştir. Fenolik bileşiklerin PES yapısındaki membrana çoklu hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve benzen-benzen halka etkileşimleri ile adsorbe olarak geri dönüşümsüz kirlenmeye neden olduğu düşünülmektedir. Adsorpsiyon, fenolik bileşiklerdeki hidroksil grup (verici) ile PES'in SO_2 grubunun oksijen atomunun (alıcı) hidrojen bağ yapması ve fenolik bileşiklerin yapısındaki benzen halkası ile PES'in yapısındaki benzen halkasının π-π istiflenmesi ile etkileşime girmesi sonucu gerçekleşmektedir (Huang, Huang, Liu, Luo & Xu, 2007; Susanto vd., 2009). π-π istiflenmesi yoluyla gerçekleşen benzen-benzen halkası etkileşimlerinin fenoliklerin adsorpsiyonunda sürücü kuvvet olduğu bildirilmektedir. Bu açıklamayı desteklemek için yapılan bir çalışmada benzen halkası içermeyen polipropilen (temas açısı: 120±8°) ve benzen halkası içeren PES membran (temas açısı: 41±5°) kullanılarak adsorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Eğer kirlenmede sürücü kuvvet hidrofobik-hidrofobik etkileşimler olsaydı, daha hidrofobik olan PP membranın daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi göstermesi gerekirdi. Fakat elde edilen sonuçlar, PES membran (19,9±2,1 mg/g) tarafından adsorbe edilen fenolik madde miktarının, PP membrandan (4,1±1,3 mg/g) önemli ölçüde daha fazla olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, fenolik bileşiklerin PES membrana adsorpsiyonunun başlıca benzen-benzen halkası etkileşiminden etkilendiğini göstermektedir (Susanto vd., 2009).

Bu çalışmada rutinin (kuersetin-3-rutinosid) UF'da kullanılan gözenek çapından bağımsız olarak en fazla alıkonulan ve Bölüm 4.3.9'da açıklanacağı üzere geri kazanımı en düşük olan fenolik bileşik olduğu belirlenmiştir. Rutin molekülünün molekül ağırlığı 610,52 g/gmol'dür ve yapısında diğer fenolik bileşiklere göre daha fazla sayıda hidroksil grubu ve benzen halkası içermektedir. Ayrıca rutin molekülünün iyonlaşma sabiti (pK_a: 6,633), sinapik asit (pK_a: 4,33) ve klorojenik asitten (pK_a: 3,452) daha yüksektir (Cai, Hou, Li, Lv & Sun, 2017; Nićiforović ve Abramovič, 2014). pK_a değeri ne kadar küçükse zayıf asidin o kadar kuvvetli olduğu aktarılmaktadır. Ortamın pH değeri pK_a değerine eşit olduğunda zayıf asit ile konjuge bazının eşit miktarda bulunduğu, düşük pH'larda asit konsantrasyonunun fazla olduğu ve yüksek pH'larda ise konjuge bazının

konsantrasyonunun fazla olduğu bilinmektedir (Watson, 2015). Bu kapsamda brokoli suyu permeat örneklerinin pH'sında rutin molekülünün pozitif yüklü formlarının, klorojenik asit ve sinapik asidin ise negatif yüklü formlarının daha fazla bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca, hidrofobik PES membranın zeta potansiyelinin mutlak değerinin pH artışıyla arttığı ve PES membranın pH 3,78, 4,78 ve 6,80'de negatif yüklü olduğu bildirilmiştir. PES membranın negatif yüküne bağlı olarak membran ve negatif iyonlar arasında elektrostatik itme ortaya çıkmaktadır (Salgın, Takaç & Özdamar, 2006). Bu durumda, brokoli suyu pH'sında diğer fenolik bileşiklerden farklı olarak pozitif yüke sahip rutin molekülü negatif yüklü membran yüzeyine daha kolay ulaşarak geri dönüşümsüz kirlenmeye sebep olmaktadır (Cai vd., 2017). Bütün bu nedenler göz önüne alındığında rutin bileşiğinin diğer fenolik bileşiklere göre daha fazla sayıda benzen halkası içermesi ve daha yüksek pK_a değerine sahip olması, UF sürecinde en düşük geri kazanım göstermesini açıklamaktadır.

Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9 incelendiğinde OD ile 6 kat konsantre edilen örneklerde, OD prosesi sonunda fenolik madde içeriklerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir ($P > 0,05$). OD prosesi oda sıcaklığında gerçekleştirilen bir konsantrasyon prosesi olduğu için fenolik bileşiklerde herhangi bir değişime sebep olmamıştır. Literatürde elde edilen bu bulguları doğrulayan çalışmalar bulunmaktadır. Konsantre kan portakalı suyunun OD prosesi ile konsantrasyonunda hidroksisinnamik asitler ve flavanonların korunduğu bildirilmektedir (Galaverna vd., 2008). Cissé vd., (2011b) tarafından yapılan bir çalışmada üzüm suyu, elma suyu ve roselle ekstraktının sırasıyla 66 °Briks, 57 °Briks, ve 61 °Brikse kadar ozmotik distilasyonla konsantrasyonunda, örneklerin polifenol ya da antosiyanin içeriği değişmemiştir. Benzer şekilde, OD ile konsantrasyonun kızılcık ve siyah frenk üzüm suyunun özellikle antosiyaninler başta olmak üzere fenolik madde içeriğine etki etmediği bildirilmektedir (Kozák, Békássy-Molnár & Vatai, 2009; Zambra vd., 2015).

4.3.7. Toplam Antioksidan Aktivite Sonuçları

Toplam antioksidan aktivitede, kontrol örneğinin başlangıç antioksidan aktivitesine göre sadece 10 kDa ve 5 kDa membran kullanıldığında azalma gerçekleşmiştir ($P < 0,05$, Çizelge 4.11). Toplam antioksidan aktivite 50 kDa, 10 kDa ve

5 kDa membranda sırasıyla %94,3, %89,2 ve %87,1 oranında korunmuştur. Literatürde, yapılan bu çalışmaya benzer şekilde, çeşitli meyve sularının ultrafiltrasyonu sürecinde toplam antioksidan aktivitenin önemli düzeyde korunduğuna yönelik bulgular mevcuttur. Örneğin, kan portakalı suyunun 100 kDa MWCO değerine sahip PS membranından ultrafiltrasyonu sonunda toplam antioksidan aktivitesinde yalnızca %8,2 oranında bir azalma saptandığı bildirilmektedir (Destani vd., 2013).

Çizelge 4.11. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin toplam antioksidan aktivite değerlerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Toplam Antioksidan Aktivite (mM)
	Kontrol	1,90±0,09[a]
50 kDa	Permeat	1,83±0,02[ab]
	Retentat	1,60±0,02
	Permeat OD	1,66±0,18[c]
10 kDa	Permeat	1,73±0,05[bc]
	Retentat	2,06±0,06
	Permeat OD	1,89±0,03[a]
5 kDa	Permeat	1,69±0,02[bc]
	Retentat	1,72±0,02
	Permeat OD	1,60±0,07[c]

[a-c]: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon

Brokoli suyu ultrafiltrasyonunda kullanılan membranların MWCO değerine bağlı olarak, fenolik bileşiklerde önemli düzeyde (%4,2-44,9) azalma olurken, antioksidan aktivitenin büyük ölçüde korunduğu gözlenmektedir. Bu durum iki şekilde açıklanabilir. Birincisi, ultrafiltrasyonda miktarları değişmeyen sulforafan ve askorbik asit brokoli suyunun antioksidan aktivitesine katkıda bulunan en önemli bileşiklerdir. İkincisi, brokoli suyunda bulunan diğer antioksidan bileşenler de antioksidan aktiviteye önemli ölçüde katkı sağlamaktadır. Sanchez-Vega vd., (2015), brokoli suyundaki antioksidan aktiviteye etki eden en önemli bileşiğin askorbik asit olduğunu bildirmektedir. Diğer taraftan, fenolik bileşiklerin C vitamini ve diğer antioksidanlara göre antioksidan aktiviteye daha

fazla katkıda bulunduğuna yönelik literatür verileri de mevcuttur (Cai vd., 2016; Sun, Powers & Tang, 2007).

Brokoli suyunun ozmotik distilasyon ile konsantrasyonundan sonra toplam antioksidan aktivitesinde az fakat önemli değişimler gerçekleşmiştir ($P < 0,05$). Brokoli suyundaki antioksidan aktivite, fenolik bileşikler, C vitamini ve karotenoidler gibi antioksidanların sinerjik etkisinden oluşmaktadır (Cai vd., 2016). Bu çalışmada permeat örneklerinin ozmotik distilasyonla konsantrasyonu sırasında sulforafan, C vitamini ve fenolik bileşik içeriği korunduğu göz önüne alındığında (Bölüm 4.3.3, Bölüm 4.3.4 ve Bölüm 4.3.6), ozmotik distilasyonda gerçekleşen antioksidan aktiviteki değişimler bahsi geçen bu bileşenler dışındaki antioksidan aktivite gösteren bileşenlerin ozmotik distilasyon prosesinde değişime uğradığını göstermektedir. Literatürde ozmotik distilasyon ile konsantre edilen örneklerin toplam antioksidan aktivitelerinin korunduğuna veya az oranda değiştiğine ilişkin çeşitli çalışmalara rastlanmıştır. Örneğin, yüksek düzeyde antioksidan içeren elma ve pancar suyunun OD ile konsantrasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, meyve suyu konsantrasyonundan sonra antioksidan aktivitesinde değişim gözlenmemiştir (Kujawa vd., 2015). Konsantre kan portakalı suyu üretiminde ise OD prosesinde %15 oranında azalma gerçekleştiği bildirilmiştir (Galaverna vd., 2008).

4.3.8. Organik Asit Sonuçları

Brokoli suyunda bulunan organik asitlerin HPLC ile tanımlanmasında fumarik asit, izositrik asit, malik asit, maleik asit, kuinik asit, okzalik asit, süksinik asit, tartarik asit ve sitrik asit standartları kullanılmıştır. Kullanılan bu standartlar arasından örneklerde sadece malik asit ve sitrik asit tespit edilmiştir (Çizelge 4.12). Brokoli suyundaki baskın organik asidin malik asit olduğu saptanmıştır. King ve Morris (1994) de brokolide bulunan başlıca organik asidin malik asit olduğunu ve bunu sitrik asidin takip ettiğini bildirmiştir. Brokoli suyu örneklerinde saptanan organik asitler molekül ağırlıklarının da çok küçük olmasından dolayı (134,10-192,10 g/gmol) 50 kDa membran kullanıldığında ultrafiltrasyon sonunda tamamen korunarak permeata geçmiştir. 10 kDa ve 5 kDa MWCO değerinde membran kullanıldığı durumda ise organik asit konsantrasyonlarında belirgin azalmalar saptanmıştır ($P < 0,05$). Aynı şekilde Bölüm 4.3.1'de görüldüğü üzere 10 kDa

ve 5 kDa membran kullanıldığında toplam asitlik değerinde de önemli bir azalma saptanmıştır. Toplam asitlikteki azalma malik ve sitrik asit konsantrasyonlarında gözlenen bu azalma ile ilişkilendirilmiştir. Fenolik bileşikler de en fazla 10 kDa ve 5 kDa membranda alıkonulduğu için, organik asitlerde gözlenen bu azalma fenolik bileşiklerin organik asitlerle konjugasyonuna bağlanabilir (Cartea vd., 2010).

Ozmotik distilasyon ile konsantrasyon prosesinden sonra ise Çizelge 4.12'den görüleceği üzere permeat örneklerinin organik asit miktarlarında değişim gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Elde edilen bu sonuç daha önce çeşitli meyve suları ile yapılan ozmotik distilasyon çalışmaları ile de uyum içindedir (Cassano vd., 2011b; Cisse vd., 2005; Onsekizoğlu, 2013).

Çizelge 4.12. Ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon uygulamalarının brokoli suyu örneklerinin organik asit içeriklerine etkisi

UF (MWCO)	Örnek	Malik asit (g/L)	Sitrik asit (g/L)
	Kontrol	2,10±0,04[a]	1,55±0,03[a]
50 kDa	Permeat	2,01±0,05[a]	1,43±0,09[a]
	Retentat	1,93±0,03	1,58±0,07
	Permeat OD	2,01±0,11[a]	1,52±0,05[a]
10 kDa	Permeat	1,81±0,04[b]	1,36±0,02[b]
	Retentat	2,06±0,10	1,93±0,05
	Permeat OD	1,81±0,09[b]	1,43±0,03[b]
5 kDa	Permeat	1,61±0,02[c]	1,20±0,03[c]
	Retentat	2,14±0,04	1,98±0,02
	Permeat OD	1,73±0,10[bc]	1,25±0,04[c]

[a-c]: Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler değişimin istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($P < 0,05$). OD: ozmotik distilasyon.

4.3.9. Geri Kazanım Yüzdeleri

Brokoli suyu permeat örneklerinin ultrafiltrasyonunda fenolik bileşiklere ait geri kazanım yüzdeleri Çizelge 4.13'de görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre geri

kazanım yüzdeleri %60,88-99,27 arasında değişim göstermektedir. Brokoli suyunda bulunan fenolik bileşikler arasında en düşük geri kazanım 10 kDa membran kullanıldığında elde edilmiştir. Buna göre, Bölüm 4.1.3'de belirlenen seri direnç analizi sonuçları ile de uyumlu olarak, 10 kDa MWCO değerine sahip membranda geri dönüşümsüz kirlenmenin diğer membranlara göre daha fazla olduğu ve geri dönüşümsüz kirlenmeye fenolik bileşiklerin sebep olduğu düşünülmektedir. Fenolik bileşikler arasında en düşük geri kazanım ise 10 kDa ve 5 kDa membran kullanıldığında sırasıyla %60,88 ve %66,34 olarak rutin bileşiğinde gerçekleşmiştir. Rutinin diğer fenolik bileşiklere göre yapısında daha fazla sayıda benzen halkası içermesi ve daha yüksek pKa değerine sahip olması, en düşük geri kazanıma sahip olan fenolik bileşik olmasına sebep olmuştur.

Çizelge 4.13. Brokoli suyu örneklerinin ultrafiltrasyonunda fenolik bileşiklere ait geri kazanım yüzdeleri

Fenolik Bileşik	UF (kDa)	Besleme (mg)	Permeat (mg)	Retentat (mg)	Geri Kazanım (%)
Kuersetin	50	1,79	1,46	0,23	94,9
	10	2,11	1,21	0,26	69,7
	5	-	-	-	-
Kamferol	50	3,65	3,00	0,54	96,83
	10	4,57	2,87	0,47	72,93
	5	-	-	-	-
Rutin	50	4,18	3,03	0,49	84,15
	10	4,38	1,94	0,72	60,88
	5	2,14	1,01	0,41	66,34
Klorojenik asit	50	101,18	80,67	12,87	92,45
	10	116,31	88,16	14,17	87,97
	5	95,11	81,46	12,95	99,27
Sinapik asit	50	44,74	37,84	5,65	97,20
	10	54,56	42,62	5,99	89,10
	5	40,95	32,45	4,88	91,16

Kullanılan diğer membranlara göre, 10 kDa membran fenolik bileşiklere karşı en fazla alıkoyma oranı gösterdiğinden, 50 kDa MWCO değerine sahip membranın diğer ultrafiltrasyon membranlarına göre permeat fazında daha yüksek miktarda fenolik bileşik içerdiği düşünülmektedir. Ayrıca 50 kDa permeat örneğinin antioksidan aktivite, sulforafan ve C vitamini içeriği de kontrol örneğine benzer özellikler taşımaktadır. Sonuç olarak 50 kDa MWCO değerine sahip membrandan elde edilen permeatın biyoaktif bileşen içeriğinin fazla olduğu ve elde edilen bu permeat örneğinin ozmotik distilasyonla konsantre edilerek biyoaktif bileşen bakımından zengin bir konsantrat elde edileceği düşünülmektedir.

Biyoaktif bileşen içeriği en zengin membranın 50 kDa membran olduğuna karar verilmesiyle birlikte, bu membran kullanılarak yapılan ultrafiltrasyonda permeat ve retentat akımlarında geri kazanılan biyoaktif bileşiklerin miktarları belirlenmiştir. 50 kDa MWCO değerine sahip membrana ait geri kazanım yüzdeleri Çizelge 4.14'de verilmiştir. Besleme olarak kullanılan ön işlem görmüş brokoli suyunun 50 kDa membranda ultrafiltrasyonu ile %86,5'lik kısmı permeat fazında toplanmıştır. Toplam fenolik madde, sulforafan, L-askorbik asit ve organik asitler permeat fazında %79,4-82,2 oranında geri kazanılmıştır. Geri kazanım yüzdelerine bakıldığında, beslemenin %99,7'si permeat ve retentat olarak elde edilmiştir. Geri kalan kısım membranda tutulmuştur. En düşük geri kazanım %92,5 ile L-askorbik asitte saptanmıştır. Askorbik asitte gerçekleşen %7,5 oranındaki kayıp ultrafiltrasyon sırasında askorbik asidin oksidasyonu ile açıklanabilir (Munyaka vd., 2010). Fenolik bileşiklere ait geri kazanım yüzdelerine bakıldığında, fenolik bileşiklerin 50 kDa membranda %84,15-97,20 oranında geri kazanıma ulaştığı görülmektedir. Bu sonuçlar 50 kDa membranda geri dönüşümsüz kirlenmenin 10 kDa membrana göre daha az gerçekleştiğini doğrulamaktadır. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada ultrafiltrasyon prosesinde gerçekleşen geri kazanımdaki kayıplar, deneysel hatalar ve meyve suyu bileşenleri ile UF membranı arasındaki etkileşimlerle ilişkilendirilmiştir (Cassano vd., 2007b).

Çizelge 4.14. 50 kDa MWCO değerine sahip membrana ait geri kazanım yüzdeleri

	Besleme	Permeat		Retentat		Geri kazanım
Kütle	761,3 g	658,9 g	%86,5	100,7 g	%13,2	%99,7
TFM	570,3 mg	466,6 mg	%81,1	71,1 mg	%12,5	%93,6
SFN	1,12 mg	0,95 mg	%81,1	0,15 mg	%13,3	%94,4
L-AA	801,5 mg	637,8 mg	%79,6	103,6 mg	%12,9	%92,5
Malik asit	1,59 g	1,31 g	%82,2	0,19 g	%12,1	%94,3
Sitrik asit	1,18 g	0,93 g	%79,4	0,16 g	%13,3	%92,7

TFM: toplam fenolik madde, SFN: sulforafan, L-AA: L-askorbik asit.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada brokolide bulunan sulforafan, fenolik bileşikler ve askorbik asit gibi biyoaktif bileşiklerin geri kazanılması hedeflenmiştir. Organik çözücü ekstraksiyonu, brokolide bulunan biyoaktif bileşenlerin ekstrakte edilmesinde kullanılan en yaygın teknik olmakla birlikte organik çözücü kullanımı ekstraktta kalıntı toksik çözücü kalmasına yol açmakta ve elde edilen ekstraktın gıdalarda kullanımını kısıtlamaktadır. Ayrıca bu teknikte kullanılan yüksek sıcaklıklar da ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin bozulmasına neden olmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada ısıya duyarlı biyoaktif bileşenlerin brokoliden geri kazanılmasında, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak ultrafiltrasyon prosesi kullanılmıştır.

Brokoli kanser önleyici ve terapötik potansiyele sahip olduğu bilinen sulforafan, fenolik bileşikler ve askorbik asit gibi biyoaktif bileşikleri önemli miktarda içermektedir. Bununla birlikte, bu bileşiklerin özellikle de sulforafanın terapötik etkili dozlarına ulaşabilmek için, brokoli yüksek miktarda ve düzenli olarak tüketilmelidir. Bu durumda, ultrafiltrasyon prosesi ile geri kazanılan biyoaktif bileşiklerin konsantre edilmesi gerekmektedir. Geleneksel konsantrasyon yöntemlerinde kullanılan yüksek sıcaklıklar ürünün renginde ve ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerinde kayba sebep olmaktadır. Son yıllarda konsantrasyon amacıyla kullanılan ters ozmoz prosesi ile yüksek ozmotik basıncın getirdiği sınırlamalar nedeniyle yüksek konsantrasyonlara ulaşılamamaktadır. Bu nedenle brokoli suyu örneklerinin konsantre edilmesinde oda sıcaklığında ve atmosferik basınç altında yüksek çözünür kuru madde seviyelerine kadar konsantrasyona imkan veren ve geleneksel evaporasyon uygulamalarına alternatif olarak kullanılan ozmotik distilasyon prosesi tercih edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada ısıya duyarlı biyoaktif bileşenler bakımından zengin olan brokoliden bu bileşenlerin geri

kazanılmasında ısıl olmayan ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon yöntemlerinin entegre bir şekilde kullanım potansiyeli araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk bölümünde ön işlem görmüş brokoli suyu kademeli olarak 50 kDa, 10 kDa ve 5 kDa MWCO değerine sahip PES yapıda membranlara beslenerek biyoaktif bileşen içeriği birbirinden farklı brokoli suyu fraksiyonları elde edilmiştir. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranların performansları akı-zaman grafiği, hidrolik geçirgenlik ve kirlenme mekanizmasının belirlendiği seri direnç analizi sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. En yüksek başlangıç permeat akısı gözenek boyutu en büyük olan 50 kDa membranda elde edilirken, başlangıç permeat akısındaki azalma oranı membran gözenek boyutunun küçülmesiyle birlikte azalma göstermiştir. Akı-zaman grafiklerine göre, 50 kDa ve 10 kDa membranlarda gözenek kirlenmesi, 5 kDa membranda ise kek tabakası oluşumu daha önemlidir. Bu durumda, 50 kDa ve 10 kDa membran ile yapılan ultrafiltrasyonda biyoaktif bileşiklerin ayırım mekanizmasının membran-parçacık etkileşimine bağlı olduğu, 5 kDa membranda ise kek tabakasının ayırım mekanizmasını etkilediği sonucuna varılmıştır.

Ultrafiltrasyon uygulamasından sonra hidrolik geçirgenlik değeri 50 kDa, 10 kDa ve 5 kDa membranda sırasıyla %54,3, %46,9 ve %16,3 oranında azalma göstermiştir. Su ile yıkamadan sonra hidrolik geçirgenlikte en fazla geri dönüşüm 5 kDa membranda elde edilmiş ve bu membranda akı azalmasına etki eden başlıca kirlenme mekanizmasının kek tabakası olduğunu doğrulamıştır. 5 kDa membranda beslemede bulunan büyük molekül ağırlıklı parçacıklar ultrafiltrasyonun daha başlangıcında kek tabakası oluşturarak akının daha düşük seviyelerde başlamasına sebep olmuş ve ani akı azalması akı-zaman grafiğinde gözlenmemiştir. Membranlara su ile temizlemenin ardından uygulanan kimyasal temizleme ile en düşük geri kazanım 10 kDa membranda saptanmıştır. Aynı şekilde seri direnç analizi sonuçları da membrana kuvvetli şekilde adsorbe olmuş kirliliklerden oluşan geri dönüşümsüz kirlenmenin en fazla 10 kDa membranda olduğunu göstermiştir. Bu sonuç membran ile kirletici parçacıklar arasındaki etkileşimin en fazla 10 kDa membranda gerçekleştiğine işaret etmektedir.

Çalışmanın ikinci bölümünde, farklı MWCO değerine sahip membranlar kullanılarak elde edilen biyoaktif bileşen içeriği birbirinden farklı brokoli suyu fraksiyonları, oda sıcaklığında gerçekleştirilen ozmotik distilasyon ile konsantre edilerek

birim hacimdeki biyoaktif bileşen içeriği zenginleştirilmiştir. 7,1-6,7 °Briks değerlerindeki permeat örnekleri ozmotik distilasyonla 6 kat konsantre edilerek 42,6-40,2 °Briks değerlerine sahip biyoaktif bileşen bakımından zengin konsantratlar elde edilmiştir. En yüksek başlangıç evaporasyon akısı en düşük suda çözünür kuru madde içeriğine sahip olan 5 kDa permeatta elde edilmiştir. Permeat örneklerinin ozmotik distilasyonla konsantrasyonunda akı azalması iki aşamalı bir profil sergilemiştir. Permeat örneklerinin konsantrasyonlarının 7 °Briks'den yaklaşık 25 °Briks'e yükseldiği ilk aşamada, akı azalması hipertonik tuz çözeltisinin konsantrasyonundaki azalmadan etkilenmiştir. Permeat örneklerinin konsantrasyonlarının yaklaşık 25 °Briks'den yaklaşık 42 °Briks'e yükseldiği ikinci aşamada ise hipertonik tuz çözeltisinin konsantrasyonu daha az oranda değişim gösterirken evaporasyon akısında belirgin azalmalar devam etmiştir. Bu aşamada artan viskozite ile buhar basıncının azaldığı dolayısıyla sürücü kuvvetin azalarak akı azalmasına sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Ozmotik distilasyonda gerçekleşen toplam akı azalması göz önüne alındığında, brokoli suyu örneklerine uygulanan santrifüj ve ultrafiltrasyon ön işlemleri ile brokoli suyunda bulunan büyük molekül ağırlıklı maddelerin uzaklaştırılması akı performansının literatür verilerine göre daha iyi oranda korunmasıyla sonuçlanmıştır.

Çalışmanın son kısmında farklı MWCO değerlerinden elde edilen permeat ve retentat örnekleri ile ozmotik distilasyon ile konsantre edilen permeat örneklerine kalite kontrol analizleri yapılarak, ultrafiltrasyonda kullanılan MWCO değerinin ve konsantrasyonda kullanılan ozmotik distilasyon prosesinin kalite özellikleri üzerine etkisi belirlenmiştir. Brokoli suyu permeat örneklerinin suda çözünür kuru madde içerikleri MWCO değerinin azalmasıyla birlikte azalma göstermiştir. MWCO değeri örneklerin pH değerine etki etmezken, 5 kDa membranda toplam asitlik kontrol örneğine göre azalmıştır. MWCO değerinin azalmasıyla L^* değerinin arttığı, b^* değerinin azaldığı ve a^* değerinin ise korunduğu saptanmıştır. L^* değerinin artması kademeli ultrafiltrasyon sonucunda berraklığın artmasıyla, b^* değerinin azalması karotenoid madde miktarının azalmasıyla ve a^* değerinin korunması ise klorofil miktarının değişmemesi ile ilişkilendirilmiştir. Ozmotik distilasyon ile konsantre edilen 10 kDa ve 5 kDa permeat örneklerinin pH, toplam asitlik ve renk değerlerinin bu süreçte yüksek düzeyde korunduğu belirlenmiştir. 50 kDa permeat örneğinin ozmotik distilasyonla konsantrasyonunda ise a^* ve b^* değerlerinde istatistiksel olarak önemli değişimler dikkat

çekmiştir. Bu sonuç klorofillaz enziminin ozmotik distilasyon prosesinde aktivite göstermesi ve ksantofillerin daha belirgin hale gelmesi ile ilişkilendirilmiştir. Sıcaklığa duyarlı olduğu bilinen sulforafan, ultrafiltrasyonda kullanılan bütün membranlarda permeat fazında tamamen geri kazanılmıştır. Sulforafan molekülü yüksüzdür ve molekül ağırlığı da oldukça küçük olduğu için, membranlarda ayrımı moleküler boyuta göre gerçekleşmiştir. OD prosesi ile konsantrasyonun permeat örneklerinin sulforafan içeriğine etkisi önemsiz bulunmuştur. Bu sonuç son yıllarda yüksek antioksidan kapasitesi ile dikkat çekmeye başlayan sulforafanın membran prosesleri ile kayıpsız olarak geri kazanılabileceğini göstermiştir. Askorbik asit içeriği 10 kDa ve 5 kDa membranda değişmezken, 50 kDa membranda askorbik asit oksidaz enzim aktivitesi sonucu %12,6 oranında azalmıştır. Askorbik asit ozmotik distilasyonla konsantrasyon prosesinde ise korunmuştur. Brokoli suyu örneklerinin toplam fenolik madde içeriklerinde ultrafiltrasyon ve ozmotik distilasyon proseslerinde oldukça düşük oranda azalmalar gözlenmiştir. Permeat örneklerinin toplam antioksidan aktivitesi kullanılan bütün membranlarda yüksek oranda korunurken, konsantrasyon sonunda önemli değişimler gözlenmiştir. Ozmotik distilasyonda antioksidan aktivitedeki değişim, sulforafan, askorbik asit ve fenolik bileşikler haricinde antioksidan aktiviteye sahip olan diğer bileşenlerdeki değişim ile ilişkilendirilmiştir. Brokoli suyu örneklerinin organik asit içerikleri 10 kDa ve 5 kDa membran kullanıldığında azalma göstermiş ve bu sonuç toplam asitlik sonuçları ile de doğrulanmıştır. Organik asitlerdeki azalma fenolik bileşiklerle organik asitlerin konjugasyonundan kaynaklanmıştır. Ozmotik distilasyon prosesi ise organik bileşikler üzerinde herhangi bir değişime sebep olmamıştır.

Brokoli suyunda fenolik bileşik olarak sinapik asit, klorojenik asit, rutin, kamferol ve kuersetin tanımlanmıştır. Brokoli suyunda bulunan fenolik bileşiklerin molekül ağırlıkları oldukça küçük olmasına rağmen, fenolik bileşikler PES yapıda ultrafiltrasyon membranlarında değişik oranlarda alıkonmuştur. Bu durumun başlıca sebeplerinin; fenolik bileşikler ile PES membran arasında hidrojen bağ oluşumu, benzen-benzen halka etkileşimleri ve hidrofobik etkileşimler olduğu sonucuna varılmıştır. Fenolik bileşikler arasından rutin ultrafiltrasyonda kullanılan membranların hepsinde en fazla alıkonulan bileşik olmuştur. Rutin bileşiğinin diğer fenolik bileşiklere göre, molekül ağırlığı yüksektir, yapısında daha fazla sayıda hidroksil grubu ve benzen halkası içermektedir. Ayrıca pK_a değeri de diğer fenolik bileşiklerden yüksek olduğundan negatif yüklü PES

membranla en fazla etkileşime giren bileşik olduğu kanısına varılmıştır. Ozmotik distilasyon sonrasında ise fenolik bileşik konsantrasyonlarında azalma gerçekleşmemiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde; ultrafiltrasyon sırasında en yüksek akı değeri 50 kDa membranda elde edilmiş ve ultrafiltrasyondan sonra kirlenmiş membrana uygulanan temizlik prosedüründen sonra bu membranın hidrolik geçirgenliği yüksek oranda geri kazanım göstermiştir. Ayrıca, 10 kDa membran özellikle fenolik bileşikler üzerinde önemli azalmalara (%4,2-44,0) sebep olduğu için, 50 kDa permeat örneğinin biyoaktif bileşen bakımından diğer membranlardan elde edilen permeat örneklerine göre daha zengin olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenlerle brokoli suyundan biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasında 50 kDa MWCO değerindeki membranın kullanılması ve bu membrandan elde edilen permeatın ozmotik distilasyon ile konsantre edilmesi ile biyoaktif bileşen bakımından zengin bir konsantrat elde edileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca ozmotik distilasyon oda sıcaklığında gerçekleştirildiğinden 50 kDa permeat örneğinin biyoaktif bileşen içeriğinde konsantrasyon sonunda önemli bir kayıp gerçekleşmemiştir.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar, brokoli suyundan biyoaktif bileşiklerin geri kazanımı ve konsantrasyonunda entegre membran sistemi (UF ve OD) kullanımının geleneksel ekstraksiyon ve konsantrasyon proseslerine alternatif olabileceğini ortaya koymuştur. Yüksek antioksidan kapasitesi nedeniyle son yıllarda gittikçe önem kazanan sulforafan bileşiğinin brokoliden geri kazanılması ve konsantre edilmesinde entegre membran proseslerinin kullanımını ilk kez bu çalışma kapsamında ele alınmıştır. Elde edilen konsantratın fonksiyonel gıda formülasyonlarında, nutrasötik ve farmasötik endüstrisinde kullanımı ile brokolinin katma değerinin yükselmesine de katkı sağlanabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinen biyoaktif bileşiklerin terapötik etki gösterdiği fakat toksisite göstermediği güvenli doz aralıklarının belirlenmesi üzerine geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Abdelrasoul, A., Doan, H., & Lohi, A. (2013). Fouling in membrane filtration and remediation methods. *Mass Transfer-Advances In Sustainable Energy and Environment Oriented Numerical Modeling içinde* (s. 195-218). InTech.

Acar, J. & Gökmen, V. (2004). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi, cilt 1: meyve ve sebze suları üretimi*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları.

Ahmad, A. L., Abdulkarim, A. A., Ooi, B. S., & Ismail, S. (2013). Recent development in additives modifications of polyethersulfone membrane for flux enhancement. *Chemical Engineering Journal*, *223*, 246-267.

Alarcón-Flores, M. I., Romero-González, R., Vidal, J. L. M., & Frenich, A. G. (2013). Multiclass determination of phytochemicals in vegetables and fruits by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, *141*(2), 1120-1129.

Altan, A., & Maskan, M. (2005). Rheological behavior of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice and concentrate. *Journal of Texture Studies*, *36*(1), 68-77.

Alves, V. D., Koroknai, B., Bélafi-Bakó, K., & Coelhoso, I. M. (2004). Using membrane contactors for fruit juice concentration. *Desalination*, *162*, 263-270.

Anonymous. (2018a). Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı, www.turkomp.gov.tr.

Anonymous. (2018b). http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001.

Avato, P., & Argentieri, M. P. (2015). Brassicaceae: a rich source of health improving phytochemicals. *Phytochemistry Reviews*, *14*(6), 1019-1033.

Ayaz, F. A., Hayırlıoglu-Ayaz, S., Alpay-Karaoglu, S., Grúz, J., Valentová, K., Ulrichová, J., & Strnad, M. (2008). Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chemistry*, *107*(1), 19-25.

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., & Azizi, F. (2013). Potential efficacy of broccoli sprouts as a unique supplement for management of type 2 diabetes and its complications. *Journal of Medicinal Food*, *16*(5), 375-382.

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Hosseinpanah, F., Rajab, A., Asghari, G., & Azizi, F. (2012a). Broccoli sprouts powder could improve serum triglyceride and oxidized LDL/LDL-cholesterol ratio in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *96*(3), 348-354.

Bahadoran, Z., Tohidi, M., Nazeri, P., Mehran, M., Azizi, F., & Mirmiran, P. (2012b). Effect of broccoli sprouts on insulin resistance in type 2 diabetic patients: a

randomized double-blind clinical trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *63*(7), 767-771.

Bahorun, T., Luximon-Ramma, A., Crozier, A., & Aruoma, O. I. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*(12), 1553-1561.

Bailey, A. F. G., Barbe, A. M., Hogan, P. A., Johnson, R. A., & Sheng, J. (2000). The effect of ultrafiltration on the subsequent concentration of grape juice by osmotic distillation. *Journal of Membrane Science*, *164*(1-2), 195-204.

Baklouti, S., Ellouze-Ghorbel, R., & Mokni, A. (2012). Clarification of pomegranate juice by ultrafiltration: study of juice quality and of the fouling mechanism. *Fruits*, *67*(3), 215-225.

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, *99*(1), 191-203.

Bazinet, L., & Doyen, A. (2017). Antioxidants, mechanisms, and recovery by membrane processes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(4), 677-700.

Becker, T. M., Jeffery, E. H., & Juvik, J. A. (2017). Proposed method for estimating health-promoting glucosinolates and hydrolysis products in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) using relative transcript abundance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(2), 301-308.

Bélafi-Bakó, K., & Boór, A. (2011). Concentration of Cornelian cherry fruit juice by membrane osmotic distillation. *Desalination and Water Treatment*, *35*(1-3), 271-274.

Bhattacharjee, C., Saxena, V. K., & Dutta, S. (2017). Fruit juice processing using membrane technology: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *43*, 136-153.

Bhattacharjee, S., & Hong, S. (2005). Fundamentals of particle fouling in membrane processes. *Korean Membrane Journal*, *7*(1), 1-18

Boivin, D., Lamy, S., Lord-Dufour, S., Jackson, J., Beaulieu, E., Côté, M., ... & Béliveau, R. (2009). Antiproliferative and antioxidant activities of common vegetables: A comparative study. *Food Chemistry*, *112*(2), 374-380.

Burmeister, W. P., Cottaz, S., Rollin, P., Vasella, A., & Henrissat, B. (2000). High resolution X-ray crystallography shows that ascorbate is a cofactor for myrosinase and substitutes for the function of the catalytic base. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(50), 39385-39393.

Cai, M., Hou, W., Li, Z., Lv, Y., & Sun, P. (2017). Understanding nanofiltration fouling of phenolic compounds in model juice solution with two membranes. *Food and Bioprocess Technology*, *10*(12), 2123-2131.

Cai, C., Miao, H., Qian, H., Yao, L., Wang, B., & Wang, Q. (2016). Effects of industrial pre-freezing processing and freezing handling on glucosinolates and antioxidant attributes in broccoli florets. *Food Chemistry*, *210*, 451-456.

Campbell, L., Howie, F., Arthur, J. R., Nicol, F., & Beckett, G. (2007). Selenium and sulforaphane modify the expression of selenoenzymes in the human endothelial cell line EAhy926 and protect cells from oxidative damage. *Nutrition*, *23*(2), 138-144.

Carr, A. C., & Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *69*(6), 1086-1107.

Cartea, M. E., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. (2010). Phenolic compounds in Brassica vegetables. *Molecules*, *16*(1), 251-280.

Cartea, M. E., & Velasco, P. (2008). Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry Reviews*, *7*(2), 213-229.

Cassano, A., De Luca, G., Conidi, C., & Drioli, E. (2017). Effect of polyphenols-membrane interactions on the performance of membrane-based processes. A review. *Coordination Chemistry Reviews*, *351*, 45-75.

Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2013). A membrane-based process for the valorization of the bergamot juice. *Separation Science and Technology*, *48*(4), 537-546.

Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2011a). Comparison of the performance of UF membranes in olive mill wastewaters treatment. *Water Research*, *45*(10), 3197-3204.

Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2011b). Clarification and concentration of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) using membrane processes. *Journal of Food Engineering*, *107*(3-4), 366-373.

Cassano, A., Donato, L., Conidi, C., & Drioli, E. (2008). Recovery of bioactive compounds in kiwifruit juice by ultrafiltration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *9*(4), 556-562.

Cassano, A., Donato, L., & Drioli, E. (2007a). Ultrafiltration of kiwifruit juice: operating parameters, juice quality and membrane fouling. *Journal of Food Engineering*, *79*(2), 613-621.

Cassano, A., Conidi, C., Timpone, R., D'avella, M., & Drioli, E. (2007b). A membrane-based process for the clarification and the concentration of the cactus pear juice. *Journal of Food Engineering*, *80*(3), 914-921.

Cassano, A., & Drioli, E. (2007). Concentration of clarified kiwifruit juice by osmotic distillation. *Journal of Food Engineering*, *79*(4), 1397-1404.

Cassano, A., Jiao, B., & Drioli, E. (2004). Production of concentrated kiwifruit juice by integrated membrane process. *Food Research International*, *37*(2), 139-148.

Castro-Muñoz, R., Yáñez-Fernández, J., & Fíla, V. (2016). Phenolic compounds recovered from agro-food by-products using membrane technologies: an overview. *Food Chemistry*, *213*, 753-762.

Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*. Lancaster, Pennsylvania: CRC Press.

Choi, J. H., & Ng, H. Y. (2008). Effect of membrane type and material on performance of a submerged membrane bioreactor. *Chemosphere*, *71*(5), 853-859.

Choi, H., Zhang, K., Dionysiou, D. D., Oerther, D. B., & Sorial, G. A. (2005). Influence of cross-flow velocity on membrane performance during filtration of biological suspension. *Journal of Membrane Science*, *248*(1-2), 189-199.

Chu, Y. F., Sun, J. I. E., Wu, X., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(23), 6910-6916.

Cisse, M., Vaillant, F., Perez, A., Dornier, M., & Reynes, M. (2005). The quality of orange juice processed by coupling crossflow microfiltration and osmotic evaporation. *International Journal of Food Science & Technology*, *40*(1), 105-116.

Cissé, M., Vaillant, F., Pallet, D., & Dornier, M. (2011a). Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International*, *44*(9), 2607-2614.

Cissé, M., Vaillant, F., Bouquet, S., Pallet, D., Lutin, F., Reynes, M., & Dornier, M. (2011b). Athermal concentration by osmotic evaporation of roselle extract, apple and grape juices and impact on quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *12*(3), 352-360.

Conidi, C., Drioli, E., & Cassano, A. (2018). Membrane-based agro-food production processes for polyphenol separation, purification and concentration. *Current Opinion in Food Science*, *23*, 149-164.

Conidi, C., Cassano, A., Caiazzo, F., & Drioli, E. (2017). Separation and purification of phenolic compounds from pomegranate juice by ultrafiltration and nanofiltration membranes. *Journal of Food Engineering*, *195*, 1-13.

Conidi, C., & Cassano, A. (2015). Recovery of phenolic compounds from bergamot juice by nanofiltration membranes. *Desalination and Water Treatment*, *56*(13), 3510-3518.

Conidi, C., Cassano, A., & Drioli, E. (2011). A membrane-based study for the recovery of polyphenols from bergamot juice. *Journal of Membrane Science*, *375*(1-2), 182-190.

Courel, M., Dornier, M., Herry, J. M., Rios, G. M., & Reynes, M. (2000). Effect of operating conditions on water transport during the concentration of sucrose solutions by osmotic distillation. *Journal of Membrane Science*, *170*(2), 281-289.

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, *26*(8), 1001-1043.

Davey, M. W., Montagu, M. V., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., ... & Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(7), 825-860.

De Barros, S. T. D., Andrade, C. M. G., Mendes, E. S., & Peres, L. (2003). Study of fouling mechanism in pineapple juice clarification by ultrafiltration. *Journal of Membrane Science*, *215*(1-2), 213-224.

De Bruijn, J., & Bórquez, R. (2006). Analysis of the fouling mechanisms during cross-flow ultrafiltration of apple juice. *LWT-Food Science and Technology*, *39*(8), 861-871.

De Bruijn, J. P. F., Salazar, F. N., & Bórquez, R. (2005). Membrane blocking in ultrafiltration: A new approach to fouling. *Food and Bioproducts Processing*, *83*(3), 211-219.

De Bruijn, J., Venegas, A., & Borquez, R. (2002). Influence of crossflow ultrafiltration on membrane fouling and apple juice quality. *Desalination*, *148*(1-3), 131-136.

Deng, Q., Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Orlien, V., Grimi, N., Vorobiev, E., ... & Barba, F. J. (2015). The effects of conventional and non-conventional processing on glucosinolates and its derived forms, isothiocyanates: extraction, degradation, and applications. *Food Engineering Reviews*, *7*(3), 357-381.

Destani, F., Cassano, A., Fazio, A., Vincken, J. P., & Gabriele, B. (2013). Recovery and concentration of phenolic compounds in blood orange juice by membrane operations. *Journal of Food Engineering*, *117*(3), 263-271.

Dinkova-Kostova, A. T., & Kostov, R. V. (2012). Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. *Trends in Molecular Medicine*, *18*(6), 337-347.

Do, D. P., Pai, S. B., Rizvi, S. A., & D'Souza, M. J. (2010). Development of sulforaphane-encapsulated microspheres for cancer epigenetic therapy. *International Journal of Pharmaceutics*, *386*(1-2), 114-121.

dos Reis, L. C. R., de Oliveira, V. R., Hagen, M. E. K., Jablonski, A., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. (2015). Carotenoids, flavonoids, chlorophylls, phenolic compounds and antioxidant activity in fresh and cooked broccoli (*Brassica oleracea* var. *Avenger*) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. *Alphina* F1). *LWT-Food Science and Technology*, *63*(1), 177-183.

dos Santos Sousa, L., Cabral, B. V., Madrona, G. S., Cardoso, V. L., & Reis, M. H. M. (2016). Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology*, *168*, 188-198.

Dosz, E. B., & Jeffery, E. H. (2013). Modifying the processing and handling of frozen broccoli for increased sulforaphane formation. *Journal of Food Science*, *78*(9), 1459-1463.

Drioli, E., Ali, A., & Macedonio, F. (2015). Membrane distillation: recent developments and perspectives. *Desalination*, *356*, 56-84.

Echavarria, A. P., Torras, C., Pagán, J., & Ibarz, A. (2011). Fruit juice processing and membrane technology application. *Food Engineering Reviews*, *3*(3-4), 136-158.

Ennouri, M., Hassan, I. B., Hassen, H. B., Lafforgue, C., Schmitz, P., & Ayadi, A. (2015). Clarification of purple carrot juice: analysis of the fouling mechanisms and evaluation of the juice quality. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(5), 2806-2814

Erkoç, Ş., & Erkoç, F. (2005). Theoretical investigation of sulforaphane molecule. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, *714*(2-3), 81-85.

Fahey, J. W., Zhang, Y., & Talalay, P. (1997). Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *94*(19), 10367-10372.

Fahey, J. W., & Talalay, P. (1999). Antioxidant functions of sulforaphane: a potent inducer of Phase II detoxication enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, *37*(9-10), 973-979.

Fennema, O. R. (1996). *Food Chemistry*. (3rd edition). Marcel Dekker, Inc. New York, Basel. Hongkong.

Fernández-León, M. F., Fernández-León, A. M., Lozano, M., Ayuso, M. C., & González-Gómez, D. (2012). Identification, quantification and comparison of the principal bioactive compounds and external quality parameters of two broccoli cultivars. *Journal of Functional Foods*, *4*(2), 465-473.

Field, R. (2010). Fundamentals of fouling. *Membranes for Water Treatment*, *4*, 1-23.

Figueroa, R. A. R., Cassano, A., & Drioli, E. (2011). Ultrafiltration of orange press liquor: optimization for permeate flux and fouling index by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, *80*(1), 1-10.

Frandsen, H. B., Markedal, K. E., Martín-Belloso, O., Sánchez-Vega, R., Soliva-Fortuny, R., Sørensen, H., ... & Sørensen, J. C. (2014). Effects of novel processing techniques on glucosinolates and membrane associated myrosinases in broccoli. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *64*(1), 17-25.

Galanakis, C. M. (2015). Separation of functional macromolecules and micromolecules: from ultrafiltration to the border of nanofiltration. *Trends in Food Science & Technology*, *42*(1), 44-63.

Galaverna, G., Di Silvestro, G., Cassano, A., Sforza, S., Dossena, A., Drioli, E., & Marchelli, R. (2008). A new integrated membrane process for the production of concentrated blood orange juice: Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *106*(3), 1021-1030.

Galeb, A. D., Wrolstad, R. E., & Mcdaniel, M. R. (2002). Composition and quality of clarified cantaaoupe juice concentrate. *Journal of Food Processing and Preservation*, *26*(1), 39-56.

Garcia-Castello, E., Cassano, A., Criscuoli, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2010). Recovery and concentration of polyphenols from olive mill wastewaters by integrated membrane system. *Water Research*, *44*(13), 3883-3892.

García-Payo, M., Izquierdo-Gil, M. A., & Fernández-Pineda, C. (2000). Wetting study of hydrophobic membranes via liquid entry pressure measurements with aqueous alcohol solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, *230*(2), 420-431.

Gianni, G., Silvestro, G., Cassano, A., & Stefano, S. (2008). A new integrated membrane process for the production of concentrated blood orange juice. *Food Chemistry*, *106*, 1021-1030.

Gawlik-Dziki, U., Szymanowska, U., & Baraniak, B. (2007). Characterization of polyphenol oxidase from broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*) florets. *Food Chemistry*, *105*(3), 1047-1053.

Gostoli, C. (1999). Thermal effects in osmotic distillation. *Journal of Membrane Science*, *163*(1), 75-91.

Gu, Z. X., Guo, Q. H., & Gu, Y. J. (2012). Factors influencing glucoraphanin and sulforaphane formation in Brassica plants: a review. *Journal of Integrative Agriculture*, *11*(11), 1804-1816.

Guo, L., Yang, R., Zhou, Y., & Gu, Z. (2016). Heat and hypoxia stresses enhance the accumulation of aliphatic glucosinolates and sulforaphane in broccoli sprouts. *European Food Research and Technology*, *242*(1), 107-116.

Guo, W., Ngo, H. H., & Li, J. (2012). A mini-review on membrane fouling. *Bioresource Technology*, *122*, 27-34.

Herr, I., Lozanovski, V., Houben, P., Schemmer, P., & Büchler, M. W. (2013). Sulforaphane and related mustard oils in focus of cancer prevention and therapy. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, *163*(3-4), 80-88.

Herr, I., & Büchler, M. W. (2010). Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: implications for prevention and therapy of cancer. *Cancer Treatment Reviews*, *36*(5), 377-383.

Heywood, V. H. (1978). Flowering plants of the world. Mayflower Book. New York, USA.

Hilal, N., Ogunbiyi, O. O., Miles, N. J., & Nigmatullin, R. (2005). Methods employed for control of fouling in MF and UF membranes: a comprehensive review. *Separation Science and Technology*, *40*(10), 1957-2005.

Hongvaleerat, C., Cabral, L. M., Dornier, M., Reynes, M., & Ningsanond, S. (2008). Concentration of pineapple juice by osmotic evaporation. *Journal of Food Engineering*, *88*(4), 548-552.

Huang, J., Huang, K., Liu, S., Luo, Q., & Xu, M. (2007). Adsorption properties of tea polyphenols onto three polymeric adsorbents with amide group. *Journal of Colloid and Interface Science*, *315*(2), 407-414.

Jaiswal, A. K., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S. (2012). A comparative study on the polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of *Brassica oleracea* vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, *47*(2), 223-231.

Jeffery, E. H., & Araya, M. (2009). Physiological effects of broccoli consumption. *Phytochemistry Reviews*, *8*(1), 283-298.

Jiao, B., Cassano, A., & Drioli, E. (2004). Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review. *Journal of Food Engineering*, *63*(3), 303-324.

Jones, R. B., Frisina, C. L., Winkler, S., Imsic, M., & Tomkins, R. B. (2010). Cooking method significantly effects glucosinolate content and sulforaphane production in broccoli florets. *Food Chemistry*, *123*(2), 237-242.

Juge, N., Mithen, R. F., & Traka, M. (2007). Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *64*(9), 1105-1127.

Kalbasi, A., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). Fractionation of monomeric and polymeric anthocyanins from concord grape (*Vitis labrusca* L.) juice by membrane ultrafiltration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(17), 7036-7042.

Kallifatidis, G., Rausch, V., Baumann, B., Apel, A., Beckermann, B. M., Groth, A., ... & Altevogt, P. (2009). Sulforaphane targets pancreatic tumour-initiating cells by NF-κB-induced antiapoptotic signalling. *Gut*, *58*(7), 949-963.

King, G. A., & Morris, S. C. (1994). Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *119*(5), 1000-1005.

Koffi, E. N., Le Guernevé, C., Lozano, P. R., Meudec, E., Adjé, F. A., Bekro, Y. A., & Lozano, Y. F. (2013). Polyphenol extraction and characterization of *Justicia secunda* Vahl leaves for traditional medicinal uses. *Industrial Crops and Products*, *49*, 682-689.

Koh, E., Wimalasiri, K. M. S., Chassy, A. W., & Mitchell, A. E. (2009). Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*, *22*(7-8), 637-643.

Koyuncu, İ. (2018). *Su/Atıksu arıtılması ve geri kazanılmasında membran teknoljileri ve uygulamaları, Cilt 1: Membran teknolojileri ve su arıtma*. Ankara: T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı.

Kozák, A., Békássy-Molnár, E., & Vatai, G. (2009). Production of black-currant juice concentrate by using membrane distillation. *Desalination*, *241*(1-3), 309-314.

Kujawa, J., Guillen-Burrieza, E., Arafat, H. A., Kurzawa, M., Wolan, A., & Kujawski, W. (2015).Raw juice concentration by osmotic membrane distillation process with hydrophobic polymeric membranes. *Food and Bioprocess Technology*, *8*(10), 2146-2158.

Kujawski, W., Sobolewska, A., Jarzynka, K., Güell, C., Ferrando, M., & Warczok, J. (2013). Application of osmotic membrane distillation process in red grape juice concentration. *Journal of Food Engineering*, *116*(4), 801-808.

Kurilich, A. C., Tsau, G. J., Brown, A., Howard, L., Klein, B. P., Jeffery, E. H., ... & Juvik, J. A. (1999). Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(4), 1576-1581.

Landete, J. M. (2013). Dietary intake of natural antioxidants: vitamins and polyphenols. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(7), 706-721.

Laorko, A., Li, Z., Tongchitpakdee, S., Chantachum, S., & Youravong, W. (2010). Effect of membrane property and operating conditions on phytochemical properties and permeate flux during clarification of pineapple juice. *Journal of Food Engineering*, *100*(3), 514-521.

Li, J., & Chase, H. A. (2010). Applications of membrane techniques for purification of natural products. *Biotechnology Letters*, *32*(5), 601-608.

Liang, H., Yuan, Q., & Xiao, Q. (2006a). Effects of metal ions on myrosinase activity and the formation of sulforaphane in broccoli seed. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *43*(1-4), 19-22.

Liang, H., Yuan, Q. P., Dong, H. R., & Liu, Y. M. (2006b). Determination of sulforaphane in broccoli and cabbage by high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*, *19*(5), 473-476.

Liu, R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, *134*(12), 3479-3485.

Liu, R. H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition*, *4*(3), 384-392.

Mannapperuma, J. D. (1997). Design and performance evaluation of membrane systems. Valentas, K.J., Rotstein, E., & Singh, R.P. (Ed.), *Handbook of Food Engineering Practice içinde* (s. 167-210). New York: CRC Press.

Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Gulewicz, P., Gulewicz, K., & Vidal-Valverde, C. (2008). Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(5), 1635-1644.

Matusheski, N. V., Swarup, R., Juvik, J. A., Mithen, R., Bennett, M., & Jeffery, E. H. (2006). Epithiospecifier protein from broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *italica*) inhibits formation of the anticancer agent sulforaphane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(6), 2069-2076.

Miean, K. H., & Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(6), 3106-3112.

Mondal, S., Rai, C., & De, S. (2013). Identification of fouling mechanism during ultrafiltration of stevia extract. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(4), 931-940.

Mousa, H. A., & Al-Hitmi, S. A. (2007). Treatability of wastewater and membrane fouling. *Desalination*, *217*(1-3), 65-73.

Mulder, M. (1996). *Basic Principles of Membrane Technology* (2. Baskı). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Munyaka, A. W., Makule, E. E., Oey, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2010). Thermal stability of L-ascorbic acid and ascorbic acid oxidase in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Journal of Food Science*, *75*(4), 336-340.

Myzak, M. C., & Dashwood, R. H. (2006). Chemoprotection by sulforaphane: keep one eye beyond Keap1. *Cancer Letters*, *233*(2), 208-218.

Nagaraj, N., Patil, B. S., & Biradar, P. M. (2006). Osmotic membrane distillation-A brief review. *International Journal of Food Engineering*, *2*(2), 1-22.

Nićiforović, N., & Abramovič, H. (2014). Sinapic acid and its derivatives: natural sources and bioactivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *13*(1), 34-51.

Nilsson, J. L. (1990). Protein fouling of UF membranes: causes and consequences. *Journal of Membrane Science*, *52*(2), 121-142.

Oliveira, C. S., Gomes, F. S., Constant, L. S., Silva, L. F., Godoy, R. L., Tonon, R. V., & Cabral, L. M. (2016). Integrated membrane separation processes aiming to concentrate and purify lycopene from watermelon juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *38*, 149-154.

Oliviero, T., Verkerk, R., Van Boekel, M. A. J. S., & Dekker, M. (2014). Effect of water content and temperature on inactivation kinetics of myrosinase in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Food Chemistry*, *163*, 197-201.

Ongaratto, R. S., Menezes, L., Borges, C. P., & da Cunha Lage, P. L. (2018). Osmotic distillation applying potassium pyrophosphate as brine. *Journal of Food Engineering*, *228*, 69-78.

Onsekizoglu, P. (2013). Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *Journal of Membrane Science*, *442*, 264-271.

Onsekizoğlu, P. (2012a). Membran distilasyon ve ozmotik distilasyon ile meyve suyu konsantrasyonu. *Gıda Dergisi*, *37*(2), 103-110.

Onsekizoglu, P. (2012b). Membrane distillation: principle, advances, limitations and future prospects in food industry. *Distillation-Advances from Modeling to Applications içinde* (s. 233-266). InTech.

Onsekizoglu, P., Bahceci, K. S., & Acar, M. J. (2010). Clarification and the concentration of apple juice using membrane processes: A comparative quality assessment. *Journal of Membrane Science*, *352*(1-2), 160-165.

Pagani, M. M., Rocha-Leão, M. H., Barbosa Couto, A. B., Pinto, J. P., Ribeiro, A. O., dos Santos Gomes, F., & Cabral, L. M. (2011). Concentration of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) juice by integrated membrane separation process. *Desalination and Water Treatment*, *27*(1-3), 130-134.

Pap, N., Mahosenaho, M., Pongrácz, E., Mikkonen, H., Jaakkola, M., Virtanen, V., ... & Keiski, R. L. (2012). Effect of ultrafiltration on anthocyanin and flavonol content of black currant juice (*Ribes nigrum* L.). *Food and Bioprocess Technology*, *5*(3), 921-928.

Pérez, C., Barrientos, H., Román, J., & Mahn, A. (2014). Optimization of a blanching step to maximize sulforaphane synthesis in broccoli florets. *Food Chemistry*, *145*, 264-271.

Podsedek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, *40*(1), 1-11.

Price, K. R., Casuscelli, F., Colquhoun, I. J., & Rhodes, M. J. (1998). Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (*Brassica olearacea*) and their fate during cooking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *77*(4), 468-472.

Rai, P., Majumdar, G. C., Gupta, S. D., & De, S. (2007). Effect of various pretreatment methods on permeate flux and quality during ultrafiltration of mosambi juice. *Journal of Food Engineering*, *78*(2), 561-568.

Rai, P., Majumdar, G. C., Sharma, G., Gupta, S. D., & De, S. (2006). Effect of various cutoff membranes on permeate flux and quality during filtration of mosambi (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juice. *Food and Bioproducts Processing*, *84*(3), 213-219.

Rao, L., Hayat, K., Lv, Y., Karangwa, E., Xia, S., Jia, C., ... & Zhang, X. (2011). Effect of ultrafiltration and fining adsorbents on the clarification of green tea. *Journal of Food Engineering*, *102*(4), 321-326.

Rausch, V., Liu, L., Kallifatidis, G., Baumann, B., Mattern, J., Gladkich, J., ... & Salnikov, A. V. (2010). Synergistic activity of sorafenib and sulforaphane abolishes pancreatic cancer stem cell characteristics. *Cancer Research*, *70*(12), 5004-5013.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, *22*(4), 375-383.

Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (1996). Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *Jama*, *275*(6), 447-451.

Rodrigues, R. B., Menezes, H. C., Cabral, L. M. C., Dornier, M., Rios, G. M., & Reynes, M. (2004). Evaluation of reverse osmosis and osmotic evaporation to concentrate camu–camu juice (*Myrciaria dubia*). *Journal of Food Engineering*, *63*(1), 97-102.

Sharafi, E., Dehestani, A., Farmani, J., & Parizi, A. P. (2017). Bioinformatics evaluation of plant chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation. *Applied Food Biotechnology*, *4*(3), 167-178.

Sahu, S. C., & Green, S. (1997). Food antioxidants: their dual role in carcinogenesis. *Oxidants, Antioxidants and Free Radicals*, 329-330.

Salgın, S., Takaç, S., & Özdamar, T. H. (2006). Adsorption of bovine serum albumin on polyether sulfone ultrafiltration membranes: Determination of interfacial interaction energy and effective diffusion coefficient. *Journal of Membrane Science*, *278*(1-2), 251-260.

Sánchez-Vega, R., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2015). Influence of high-intensity pulsed electric field processing parameters on antioxidant compounds of broccoli juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *29*, 70-77.

Severini, C., Giuliani, R., De Filippis, A., Derossi, A., & De Pilli, T. (2016). Influence of different blanching methods on colour, ascorbic acid and phenolics content of broccoli. *Journal of Food Science and Technology*, *53*(1), 501-510.

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review. *Journal of Functional Foods*, *18*, 820-897.

Shashirekha, M. N., Mallikarjuna, S. E., & Rajarathnam, S. (2015). Status of bioactive compounds in foods, with focus on fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *55*(10), 1324-1339.

Shen, L., Su, G., Wang, X., Du, Q., & Wang, K. (2010). Endogenous and exogenous enzymolysis of vegetable-sourced glucosinolates and influencing factors. *Food Chemistry*, *119*(3), 987-994.

Shi, X., Tal, G., Hankins, N. P., & Gitis, V. (2014). Fouling and cleaning of ultrafiltration membranes: a review. *Journal of Water Process Engineering*, *1*, 121-138.

Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, Y., & Jiang, Y. (2005). Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-Engineering and technology. *Food Reviews International*, *21*(1), 139-166.

Sivakumar, G., Aliboni, A., & Bacchetta, L. (2007). HPLC screening of anti-cancer sulforaphane from important European *Brassica* species. *Food Chemistry*, *104*(4), 1761-1764.

Song, L. (1998). Flux decline in crossflow microfiltration and ultrafiltration: mechanisms and modeling of membrane fouling. *Journal of Membrane Science*, *139*(2), 183-200.

Souza, A. L., Pagani, M. M., Dornier, M., Gomes, F. S., Tonon, R. V., & Cabral, L. M. (2013). Concentration of camu–camu juice by the coupling of reverse osmosis and osmotic evaporation processes. *Journal of Food Engineering*, *119*(1), 7-12.

Spanos, G. A., Wrolstad, R. E., & Heatherbell, D. A. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *38*(7), 1572-1579.

Sun, T., Powers, J. R., & Tang, J. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food Chemistry*, *105*(1), 101-106.

Susanto, H., Feng, Y., & Ulbricht, M. (2009). Fouling behavior during ultrafiltration of aqueous solutions of polyphenolic compounds. *Journal of Food Engineering*, *91*(2), 333-340.

Tasselli, F., Cassano, A., & Drioli, E. (2007). Ultrafiltration of kiwifruit juice using modified poly (ether ether ketone) hollow fibre membranes. *Separation and Purification Technology*, *57*(1), 94-102.

Terki, L., Kujawski, W., Kujawa, J., Kurzawa, M., Filipiak-Szok, A., Chrzanowska, E., ... & Madani, K. (2018). Implementation of osmotic membrane distillation with various hydrophobic porous membranes for concentration of sugars solutions and preservation of the quality of cactus pear juice. *Journal of Food Engineering*, *230*, 28-38.

Torun, M., Rácz, G., Fogarassy, E., Vatai, G., Dinçer, C., Topuz, A., & Özdemir, F. (2014). Concentration of sage (*Salvia fruticosa* Miller) extract by using integrated membrane process. *Separation and Purification Technology*, *132*, 244-251.

Totušek, J., Tříska, J., Lefnerová, D., Strohalm, J., Vrchotová, N., Zendulka, O., ... & Houška, M. (2011). Contents of sulforaphane and total isothiocyanates, antimutagenic activity, and inhibition of clastogenicity in pulp. *Czech Journal of Food Sciences*, *29*(5), 548-556.

Vaillant, F., Cisse, M., Chaverri, M., Perez, A., Dornier, M., Viquez, F., & Dhuique-Mayer, C. (2005). Clarification and concentration of melon juice using membrane processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *6*(2), 213-220.

Vaillant, F., Jeanton, E., Dornier, M., O'Brien, G. M., Reynes, M., & Decloux, M. (2001). Concentration of passion fruit juice on an industrial pilot scale using osmotic evaporation. *Journal of Food Engineering*, *47*(3), 195-202.

Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., & Ferreres, F. (2004). Characterisation of flavonols in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) by liquid chromatography–UV diode-array detection–electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *1054*(1-2), 181-193.

Vallejo, F., Tomás-Barberán, F., & García-Viguera, C. (2003). Health-promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(10), 3029-3034.

Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., & García-Viguera, C. (2002). Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*(11), 1293-1297.

Van Eylen, D., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2006). Temperature and pressure stability of mustard seed (*Sinapis alba* L.) myrosinase. *Food Chemistry*, *97*(2), 263-271.

Van Eylen, D., Oey, I., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2007). Kinetics of the stability of broccoli (*Brassica oleracea* cv. Italica) myrosinase and isothiocyanates in broccoli juice during pressure/temperature treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(6), 2163-2170.

Van Eylen, D., Oey, I., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2008). Effects of pressure/temperature treatments on stability and activity of endogenous broccoli (*Brassica oleracea* L. cv. *Italica*) myrosinase and on cell permeability. *Journal of Food Engineering*, *89*(2), 178-186.

Van Loey, A., Ooms, V., Weemaes, C., Van den Broeck, I., Ludikhuyze, L., Indrawati,, ... & Hendrickx, M. (1998). Thermal and Pressure−Temperature Degradation of Chlorophyll in Broccoli (*Brassica oleracea* L. *talica*) Juice: A Kinetic Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(12), 5289-5294.

Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., ... & Dekker, M. (2009). Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. *Molecular Nutrition & Food Research*, *53*(2), 219-219.

Vig, A. P., Rampal, G., Thind, T. S., & Arora, S. (2009). Bio-protective effects of glucosinolates–A review. *LWT-Food Science and Technology*, *42*(10), 1561-1572.

Watson, D. G. (2015). *Pharmaceutical Analysis E-Book: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*. Elsevier Health Sciences.

Weemaes, C. A., Ooms, V., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. (1999). Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated broccoli juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(6), 2404-2409.

Weis, A., Bird, M. R., Nyström, M., & Wright, C. (2005). The influence of morphology, hydrophobicity and charge upon the long-term performance of ultrafiltration membranes fouled with spent sulphite liquor. *Desalination*, *175*(1), 73-85.

Yochum, L., Kushi, L. H., Meyer, K., & Folsom, A. R. (1999). Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *American Journal of Epidemiology*, *149*(10), 943-949.

Yuan, G. F., Sun, B., Yuan, J., & Wang, Q. M. (2009). Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *Journal of Zhejiang University Science B*, *10*(8), 580-588.

Zambra, C., Romero, J., Pino, L., Saavedra, A., & Sanchez, J. (2015). Concentration of cranberry juice by osmotic distillation process. *Journal of Food Engineering*, *144*, 58-65.

Zhang, D., & Hamauzu, Y. (2004). Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*, *88*(4), 503-509.

Zhao, D., Lau, E., Huang, S., & Moraru, C. I. (2015). The effect of apple cider characteristics and membrane pore size on membrane fouling. *LWT-Food Science and Technology*, *64*(2), 974-979.

Zhou, Y., Yang, H., Li, Y., Lynch, B., & Jia, X. (2015). Broccoli seed extract: Genotoxicity and subchronic toxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *73*(1), 442-451.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı:	Emel YILMAZ
Doğum Yeri:	Edirne
Doğum Tarihi	09.07.1984
Medeni durumu:	Evli
Yabancı Dili:	İngilizce

Eğitim Durumu

Lise:	Edirne Lisesi (1999-2002)
Lisans:	Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2002-2007)
Yüksek Lisans:	Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Eylül 2007-Haziran 2010)

Çalıştığı Kurum

Trakya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Araştırma Görevlisi, 15.10.2009 - Halen

TEZ İLE İLGİLİ BİLİMSEL FAALİYETLER

SCI-SSCI veya SCI Expanded Kapsamındaki Yayınlar

Yilmaz, E. and Bagci, P.O. (2018). Production of phytotherapeutics from broccoli juice by integrated membrane processes. *Food Chemistry*, 242, 264-271.

Ulusal Konferans ve Sempozyumlar

Yilmaz, E. and Bagci, P.O. (2017). Ozmotik distilasyon ile brokoli suyu konsantresi üretimi. 5. Ulusal Membran Teknolojileri ve Uygulamaları Sempozyumu, MEMTEK 2017, 21-23 Eylül 2017, İstanbul/Türkiye.

Uluslararası Konferans ve Sempozyumlar

Onsekizoglu Bagci, P., Bagci, U. and Yilmaz, E. (2017). Antimicrobial potential of broccoli extracts. 10th Balkan Congress of Microbiology, 16-18 November, Sofia, Bulgaria.