

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

**ANDIZ PEKMEZİ ÜRETİMİNDE EKSTRAKSİYON AŞAMASININ  
CEVAP YÜZEY METODU KULLANILARAK OPTİMİZE EDİLMESİ**

**ESRA YÜKSEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**2013**

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

**ANDIZ PEKMEZİ ÜRETİMİNDE EKSTRAKSİYON AŞAMASININ  
CEVAP YÜZEY METODU KULLANILARAK OPTİMİZE EDİLMESİ**

**ESRA YÜKSEL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 2012.01.0102.014 proje numarasıyla Akdeniz Üniversitesi Bilimsel  
Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

**2013**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

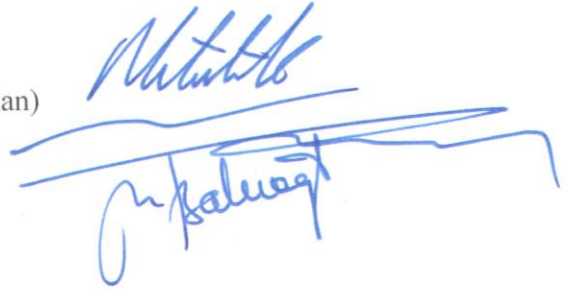
ANDIZ PEKMEZİ ÜRETİMİNDE EKTRAKSİYON AŞAMASININ  
CEVAP YÜZEY METODU KULLANILARAK OPTİMİZE EDİLMESİ

ESRA YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

Bu tez 01/07/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK (Danışman)  
Prof. Dr. Mustafa KARHAN  
Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU



## ÖZET

### ANDIZ PEKMEZİ ÜRETİMİNDE EKSTRAKSİYON AŞAMASININ CEVAP YÜZEY METODU KULLANILARAK OPTİMİZE EDİLMESİ

Esra YÜKSEL

Yüksek lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK

Temmuz 2013, 44 sayfa

Bu çalışmada andız pekmezi üretiminde ekstraksiyon aşamasının Cevap Yüze Metodu (CYM)'nun Box-Behnken dizaynı kullanılarak optimize edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla ekstraksiyon sıcaklığı (°C), meyve:su oranı (w/v) ve ekstraksiyon süresi (dk.) olmak üzere üç farklı değişkenin elde edilen ekstraktların suda çözünür kuru madde (SÇKM) içerikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı için 50 – 90 °C, meyve:su oranı için 1:4 – 1:9 (w/v) ve ekstraksiyon süresi için 30 – 180 dk. minimum ve maksimum noktalar olarak seçilmiştir. Bunun yanında elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde (TFM), pH ve titrasyon asitliği, antioksidan aktivite, sakaroz, glikoz ve fruktoz değerleri de belirlenmiştir. Denemeler sonucunda en yüksek SÇKM değerine (9,2 °Bx) 90 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 105 dk. süre sonunda ulaşılmıştır.

Elde edilen ekstraktların SÇKM içerikleri kullanılarak gerçekleştirilen optimizasyon çalışması sonucunda optimizasyon modeli oluşturulmuştur. Optimizasyon modelinin doğrulanması amacıyla 90 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 180 dk. süre ile gerçekleştirilecek olan bir ekstraksiyon denemesinde elde edilmesi gereken SÇKM değerinin 9,22 °Bx olduğu hesaplanmıştır. Yukarıdaki şartlar kullanılarak gerçekleştirilen doğrulama denemeleri neticesinde ekstraktların ortalama SÇKM değerlerinin 9,23 °Bx olduğu belirlenmiştir. Oluşturulan tahmin modeli ile gözlemlenen SÇKM değeri arasında % 99,92 oranında bir korelasyonun olduğu hesaplanmıştır.

Bunun yanında elde edilen ekstraktların TFM içerikleri 892,57 – 3968,37 mg/L, pH değerleri 4,82 – 4,95, titrasyon asitliği değerleri % 0,07 – 0,18, antioksidan aktivite değerleri ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)) yöntemi ile 6,15 – 25,05 (mM/mL), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yöntemi ile 7,96 – 24,70 (µL/mg) ve son olarak sakaroz, glikoz ve fruktoz içerikleri sırasıyla 5,78 – 18,07 g/L, 8,33 – 23,78 g/L, 9,15 – 26,12 g/L olarak belirlenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Andız, Ekstraksiyon, Optimizasyon

**JÜRİ:** Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK (Danışman)

Prof. Dr. Mustafa KARHAN

Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

## ABSTRACT

### OPTIMIZATION OF EXTRACTION PROCESS IN PRODUCTION OF JUNIPER MOLASSES USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY

Esra YÜKSEL

MSc Thesis in Food Engineering  
Supervisor: Asst. Prof. Dr. Nedim TETİK  
July 2013, 44 pages

This study reports on the optimization of extraction process in production of juniper molasses. For this purpose Box-Behnken design, which is a widely used form of Response Surface Methodology was used. The effect of three independent variables including temperature (°C), dilution rate (w/v) and time (min) on the total soluble solids (TSS) content were studied. For this, extraction temperature 50 – 90 °C, dilution rate 1:4 – 1:9 (w/v) and extraction time 30 – 180 min was selected as the minimum and maximum points. In addition total phenolic content, pH and titratable acidity, antioxidant activity and sucrose, glucose and fructose contents of extracts of juniper fruit were determined.

The highest value (9,2 °Bx) of soluble solids were obtained at 90 °C of extraction temperature, 1:4 of dilution rate and 105 minutes of extraction time. In addition an optimization model was calculated using soluble solids content values of extracts. To verify the optimization model, extracts were obtained at 90 °C of extraction temperature, 1:4 of dilution rate and 180 minutes of extraction time. According to the prediction model, 9,22 °Bx of TSS content is estimated using these conditions. Verification experiments were performed under these conditions and 9,23 °Bx of TSS content were determined. A 99,92 % of correlation rate was calculated between the predicted and observed values in terms of TSS content.

In addition, the lowest and highest values of the results of analyses were found to be 892,57 – 3968,37 mg/L for total phenolic content, 0,07 % – 0,18 % for titratable acidity, 4,82 – 4,95 for pH, 6,15 – 25,05 mM/mL for antioxidant capacity determined with the ABTS test, 7,96 – 124,70 mL/mg for antioxidant capacity determined with DPPH test. Sucrose, glucose and fructose contents were determined as 5,78 – 18,07 g/L, 8,33 – 23,78 g/L, 9,15 – 26,12 g/L, respectively.

**KEYWORDS:** Extraction, Juniper, Optimization

**COMMITTEE:** Asst. Prof. Dr. Nedim TETİK (Supervisor)  
Prof. Dr. Mustafa KARHAN  
Prof. Dr. M. Soner BALCIOĞLU

## ÖNSÖZ

Andız dünya üzerinde sınırlı bir alanda yayılışı olan önemli bir doğal ağaç türüdür. Ülkemizde çoğunlukla Akdeniz Bölgesi'nde yetişmekte ve yöre insanları tarafından çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Andız ağacının hayvanlara barınma ve beslenme ortamı oluşturması ve aynı zamanda sağlık açısından faydalarının bilinmesi ile her geçen gün önem kazanan bir bitkidir. Andız ağacının yetiştiği bölgelerde taze olarak tüketilemeyen andız meyveleri yöre halkı tarafından andız pekmezi üretimi amacıyla kullanılmakta, bunun yanında dal ve gövde odunu kullanılarak da andız katranı elde edilmekte ve bu ürünler çeşitli hastalıkların tedavisi amacıyla yüzyıllardır kullanılmaktadır.

Pekmez ülkemizde yaygın olarak üretilen ve tüketilen geleneksel bir gıda maddesidir. Genel olarak pekmez denilince üzüm pekmezi akla gelmesine rağmen çeşitli meyve türleri (dut, hurma, kayısı, keçiboynuzu, andız vb.) kullanılarak bu meyvelerin ismi ile adlandırılan pekmez çeşitleri de üretilmektedir. Andız pekmezi de bu ürünler arasında yer almaktadır. Her ne kadar diğer pekmez çeşitleri zengin besin içerikleri nedeniyle gıda olarak tüketilse de, andız pekmezinin sahip olduğu bazı fonksiyonel özellikteki bileşenler sebebiyle bir gıda maddesinden ziyade tedavi amacıyla kullanıldığı görülmektedir.

Andız pekmezinin geleneksel olarak üretimi, yöre halkı tarafından toplanan andız meyvelerinin parçalanması, su ile şıra eldesi ve kaynatılarak koyulaştırılması işlemlerini içermektedir. Son yıllarda geleneksel olarak yöre halkı tarafından gerçekleştirilen andız pekmezi üretimi yine yörede bulunan üreticiler tarafından endüstriyel ölçeğe taşınmıştır. Böylelikle daha kontrollü şartlar altında üretim mümkün hale gelmiştir. Ancak literatür incelemesi neticesinde andız pekmezi üretiminin optimize edilmesiyle ilgili az sayıda çalışmanın yapıldığı görülmüştür.

Bu çalışma kapsamında andız pekmezi üretim basamaklarından olan ekstraksiyon aşamasının optimize edilmesi amaçlanmış ve uygun ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Bu amaçla farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve ekstraksiyon süresi faktörleri Cevap Yüzey Metodu (CYM) kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre uygulanmış ve ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde, serbest şeker, suda çözünür kuru madde, pH ve titrasyon asitliği içerikleri ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bunun yanında her ne kadar ulusal literatürde verilmiş olsa da henüz uluslararası literatürde bulunmayan andız meyvelerinin serbest şeker içerikleri de belirlenmiştir.

Bu çalışma süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK'e değerli görüş ve tavsiyeleriyle bana yol gösterdiği için teşekkür ederim. Hayatımın her aşamasında yanımda olan, beni destekleyen ve hiçbir fedakarlığı esirgemeyen canım annem Meliha YÜKSEL'e ve babam Bekir YÜKSEL'e, bana her zaman neşesiyle moral veren sevgili kardeşim Halil YÜKSEL'e, en zor zamanlarımda yol gösteren sevgili ablam Şeyma UYAR ve eşi Akın UYAR'a ve yardımlarından dolayı Arş. Gör. Aslı ARSLAN KULCAN'a içtenlikle teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2.KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI.....	3
2.1. Andız Ağacı ( <i>Juniperus drupacea</i> L.).....	3
2.2. Juniperus Adının Etimolojisi.....	4
2.3. Andızın Yayılışı.....	4
2.4. Andız Ağacının Kullanım Alanları.....	5
2.5. Ülkemizde Pekmez Üretimi.....	6
2.6. Andız Pekmezi Üretimi ve Genel Özellikleri.....	6
2.7. Cevap Yüzey Metodu.....	8
2.8. Konuyla İlgili Diğer Çalışmalar.....	11
3. MATERYAL ve METOT.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.2. Metot.....	13
3.2.1.Cevap yüzey metodu (CYM).....	13
3.2.2. Ekstraksiyon metodu.....	14
3.2.3. Analiz yöntemleri.....	15
3.2.2.1. Tanımlayıcı analizler.....	15
3.2.2.2. Toplam fenolik madde tayini.....	15
3.2.2.3. Serbest şekerlerin HPLC ile belirlenmesi.....	15
3.2.2.4. Toplam antioksidan aktivite tayini (DPPH yöntemi).....	16
3.2.2.5. Toplam antioksidan aktivite tayini (ABTS yöntemi).....	16
3.2.2.6. Deneme Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların SÇKM İçerikleri ve Bu Veriler Kullanılarak Gerçekleştirilen Optimizasyon Çalışmaları.....	19
4.2. SÇKM Ekstraksiyonu İçin Oluşturulan Tahmin Modelinin Doğrulanması.....	25
4.3. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçerikleri.....	26
4.4. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri.....	28
4.5. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların DPPH Yöntemi Kullanılarak Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri.....	29
4.6. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların ABTS Yöntemi Kullanılarak Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri.....	32
4.7. Farklı Sıcaklık, Meyve:Su Oranı ve Süre Kullanılarak Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonucunda Elde Edilen Örneklerin Sakaroz, Glikoz ve Fruktoz İçerikleri.....	33
4.8. Antioksidan Aktivitelerin Karşılaştırılması.....	37

5.SONUÇ .....	39
6. KAYNAKLAR .....	41
ÖZGEÇMİŞ	



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

%	Yüzde
°Bx	Briks
°C	Celsius sıcaklık derecesi
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
cm	Santimetre
D	Devir
E	Eşdeğer
F	Faktör
Fe <sup>+2</sup>	Demir
g	Gram
ha	Hektar
IC <sub>50</sub>	Serbest radikal temizleme aktivitesi
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
m	Örnek miktarı
M	Molarite
Mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mm <sup>3</sup>	Milimetreküp
N	Normalite
NaOH	Sodyumhidroksit
nm	Nanometre
pH	Hidrojen iyonlarının negatif logaritması
sa	Saat
t	Süre
V	Hacim
w/v	Ağırlık/hacim
ε	Standart hata

## **Kısaltmalar**

ABTS	2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)
CYM	Cevap yüzey metodu
dk.	Dakika
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Demir indirgeyici antioksidan gücü
GAE	Gallik asit eşdeğeri
HMF	Hidroksimetilfurfural
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
MBC	Minimum inhibitör konsantrasyon
MIC	Minimum bakterisidal konsantrasyon
PBS	Fosfat buffer tuz
SÇKM	Suda çözünür kuru madde
SSA	Susuz sitrik asit
TBA	Tiyobarbiturik asit analizi
TEAC	Trolox eşdeğeri antioksidan kapasitesi
TFM	Toplam fenolik madde

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Juniperus drupacea</i> .....	3
Şekil 2.2. <i>Juniperus drupacea</i> yaprak ve meyveleri .....	4
Şekil 2.3. Andız pekmezi üretimi.....	7
Şekil 2.4. Andız pekmezi üretim akış şeması .....	7
Şekil 3.1. Andız meyvelerini kırmak için kullanılan makine ve iç kısım.....	13
Şekil 4.1. Tahmin edilen ve gözlemlenen SÇKM değerlerinin karşılaştırılması.....	20
Şekil 4.2. SÇKM ekstraksiyonun etkinliği üzerine sıcaklık ve meyve:su oranının etkisi .....	22
Şekil 4.3. SÇKM ekstraksiyonun etkinliği üzerine sıcaklık ve sürenin etkisi .....	23
Şekil 4.4. SÇKM ekstraksiyonun etkinliği üzerine süre ve meyve:su oranının etkisi ....	24
Şekil 4.5. Andız meyvesi ekstraktlarına uygulanan DPPH, ABTS ve TFM analizleri sonucunda gözlemlenen değerler .....	38

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Ekstraksiyon parametreleri için Box-Behnken CYM.....	14
Çizelge 4.1. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre ile ekstrakte edilen andız meyvesi ekstraktlarının SÇKM içerikleri .....	19
Çizelge 4.2. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların SÇKM değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve regresyon katsayıları.....	21
Çizelge 4.3. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin TFM içerikleri .....	26
Çizelge 4.4. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların TFM değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları.....	27
Çizelge 4.5. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin pH ve titrasyon asitliği değerleri .....	28
Çizelge 4.6. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların pH değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları.....	29
Çizelge 4.7. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların titrasyon asitliği değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları.....	29
Çizelge 4.8. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin antioksidan aktivite içerikleri.....	30
Çizelge 4.9. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları.....	31
Çizelge 4.10. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin antioksidan aktivite içerikleri.....	32
Çizelge 4.11. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı.....	33

- Çizelge 4.12. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin sakaroz, glikoz ve fruktoz içerikleri ..... 34
- Çizelge 4.13. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların sakaroz değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı ..... 35
- Çizelge 4.14. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların glikoz değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı ..... 35
- Çizelge 4.15. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların fruktoz değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı ..... 36



## 1. GİRİŞ

Andızın *Cupressaceae* (Pul yapraklılar) ailesine ait olduğu belirtilmektedir (Gültekin 2007). Pul yapraklılar ailesinin çok dallanan her zaman yeşil, küçük ağaç veya yerde sürünen çalılar halindeki bitkiler olduğu, bazı türlerinde yaprakların iğne, bazılarında ise pul şeklinde olduğu, diğer familyalardan farklı olarak sürgünlere çevrel veya karşılıklı olarak yerleştikleri görülmektedir (Gültekin 2007).

Andız meyveleri içerdiği başta flavanoid ve fenolik maddeler olmak üzere çeşitli fitokimyasallar ile insanlarda görülen bazı hastalıkların önlenmesi ve tedavisindeki etkileri sebebiyle genellikle tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Yesilada vd 1993). Andız meyvesi diğer meyvelerin aksine taze olarak tüketilememekte, odunundan antiseptik bir madde olan katran, kozalakların etli kısmından ise pekmez üretimi yapılmaktadır (Akkaya 2010).

Geleneksel gıdalarımızdan olan pekmezin şeker içeriği zengin meyvelerden elde edilen ekstraktların şeker veya başka bir katkı maddesi ilavesi yapılmaksızın kaynatılarak koyulaştırılmasıyla elde edilen bir ürün olduğu bildirilmiştir (Akkaya 2010). Gıda sanayinde pekmez üretiminin en önemli aşamalarından biri ekstraksiyon aşamasıdır. Ekstraksiyon aşamasının optimize edilmesi hammaddeden elde edilebilecek faydanın maksimum düzeyde olabilmesi açısından önemlidir.

Andız meyvelerinin özellikle antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri üzerine yapılan çalışmaların son yıllarda artış gösterdiği görülmektedir. Bu artışın en önemli sebeplerinden biri de antimikrobiyal ve antioksidan maddelerin doğal kaynaklardan elde edilme çabası olarak yer almaktadır. Bunun yanında zaten geleneksel olarak üretilen ve halk tarafından tıbbi amaçlarla kullanılan andız pekmezinin üretim aşamalarının iyileştirilmesi üzerine pek fazla sayıda çalışma yapılmadığı da görülmektedir.

Bu tez çalışmasında geleneksel olarak üretilen andız pekmezi üretiminde, üretim basamaklarından olan ekstraksiyon aşamasının CYM kullanılarak optimize edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla ekstraksiyonu etkileyen farklı meyve:su oranları, sıcaklık ve süre esas alınarak andız meyvesinden ekstrakta geçen SÇKM miktarı, TFM içeriği, antioksidan aktivite değerleri belirli aralıklarla alınan örneklerde saptanmış ve bu bileşenler yönünden en uygun olan ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir.





## 2.KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

### 2.1. Andız Ağacı (*Juniperus drupacea* L.)

*Cupressaceae* (Pul yapraklılar) ailesinin kozalak ve sürgün yapıları bakımından *Thujoideae*, *Cupressoideae* ve *Juniperoideae* şeklinde 3 alt aileye ayrıldığı, andız (*Arceuthos* Ant. Et Kotschy) cinsinin, *Juniperoideae* alt ailesinden olduğu belirtilmektedir. Bazı botanikçiler tarafından ardıç ağaçları (*Juniperus* L.) türü olarak da sayılmaktadırlar. Ancak kozalak yapısı, tohumlarının serbest olmaması ve tomurcuklarının pullarla örtülmüş olmasının andızı diğer ardıçlardan ayıran başlıca özelliklerden olduğu bildirilmiştir (Gültekin 2007).



Şekil 2.1. *Juniperus drupacea* (Kocakulak 2007)

Andız ağaçlarının 25 m boya ve 100 cm çapa ulaşabilen, genellikle piramidal tepe formuna sahip bir orman ağacı olduğu, tomurcuklarının yumurta şeklinde ve sivri pullarla örtülü olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında yapraklarının boyları 1 – 2,5 cm aralığında ve geniş iğne biçimindeki uçları sivri olmakla beraber üst yüzeylerinde belirgin iki beyaz stoma bandı bulunduğu, andız meyvelerinin kozalaklarının oldukça büyük (2 – 2,5 cm) olduğu ve ikinci yılda olgunlaştığı bildirilmiştir (Gültekin 2007). Andızın kozalak yapısı incelendiğinde etli kozalağın içinde yassı ve sert kabuklu, genellikle 3 olmak üzere 1 – 6 adet arasında tohum bulunduğu belirtilmiştir (Tutin vd 1964). Davis (1965), andız ağaçlarında erkek ve dişi çiçeklerin ayrı ayrı ağaçlarda bulunduğunu, erkek çiçekler sürgünlerin dip tarafında, kürecikler halinde toplu olarak bulunurken, dişi çiçeklerin sarımsı renkte, üçer üçer çevrel dizilmiş ve çok sayıda etli pullardan oluştuğunu belirtmiştir. Olgun kozalaklar büyüklüklerine bakarak ayırt edilemezken bu ayırım ancak renk ve görünüme bakılarak yapılabilir. Olgunlaşmamış kozalakların yeşil renkte olduğu; olgun kozalakların ise mavimsi mum tabakasıyla kaplı ve mor, kırmızı-kahve renkte oldukları bildirilmiştir (İzgi 2011).



Şekil 2.2. *Juniperus drupacea* yaprak ve meyveleri (Kocakulak 2007)

Akıncı vd (2004) ortalama meyve boyutlarının 23,70 mm bir geometrik ortalama çapa, 6422 mm<sup>3</sup> hacime, 0,947 küreselliğe, 1776 mm<sup>2</sup> arasında bir yüzey alanına, 25,18 mm uzunluğa ve 23,09 mm çapa, 5,98 g'lık bir ağırlığa ve 6015 g bin meyve ağırlığına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

## 2.2. *Juniperus* Adının Etimolojisi

Andız ağacının ilk olarak 1547 yılında Toroslarda Fransız bilim insanı Pierre Belon tarafından tanımlandığı, 1788 yılında da Labillardiere'in andıza Cassius dağında (Djebel Acra)'da rastladığı ve buna 1791'de *Juniperus drupacea* adını verdiği bildirilmiştir (Kocakulak 2007). *Juniperus* kelimesinin kökü hakkında iki değişik bilgi bulunmaktadır. Bunlardan ilki: Eski Roma'da "Sabiner" adı verilen halk o bölgede yetişen bir ardıç türünün (daha sonra *J. sabina* olarak belirtilmiştir) kozalak ve yapraklarını çocuk düşürücü olarak kullandıklarını ve ardıç cinsine isim verilirken bu bitkinin etkisinden esinlenerek latince "juvenis" genç, çocuk, "parere" ise erken doğum, doğma anlamına gelen bu iki kelime birleştirilerek ardıca "Juniperus" kelimesinin verildiği belirtilmiştir (Eliçin 1977). Diğer bir bilgi ise: *Juniperus*'ların sert ibreli ağaçlar olmaları nedeniyle Keltçe'de "kaba, sert" anlamına gelen "Juniperus" isminin verildiği şeklinde bildirilmiştir (Eliçin 1977).

## 2.3. Andızın Yayılışı

Andızın doğal olarak yalnızca; Türkiye, Suriye, Lübnan ve Yunanistan gibi Akdeniz ülkelerinde yetiştiği, Türkiye'de ise Doğu ve Orta Akdeniz bölgesinin dağlık kesimlerinde denizden 600 ile 1800 m rakım arasında Kahramanmaraş, Osmaniye, Hatay, Adana, Mersin, Konya, Karaman ile Antalya'nın doğusunda yayıldığı belirtilmektedir. Genelde ardıç (*Juniperus L.*) türleri, katran (*Cedrus libani A. Rich.*), karaçam (*Pinus nigra Arnold.*), kızılçam (*Pinus brutia Henry.*), göknar (*Abies cilicica Carr.*), meşe (*Quercus L.*) ve maki türleri ile karışık ormanlar oluşturmaktadırlar. Yoğun otlatma, yanlış yararlanma yöntemleri nedeni ile andızın yetişme alanının son yıllarda daraldığı da bildirilmiştir. Ülkemizde andızın egemen olduğu orman alanların yaklaşık 20000 ha olduğu, bunun yanında diğer türlerle grup olarak karışıma girdiği orman alanının ise en az 150000 ha civarında olduğu tahmin edilmektedir. Andız yayılış alanları; uzun süren yaz kuraklığı, yüksek eğim, olumsuz toprak özellikleri ve yoğun keçi otlatılması nedenleriyle son yıllarda sınırlı alanlarda kaldığı belirtilmiştir (Gültekin 2007).

Andız tohumlarının iri ve kanatsız oldukları için ağacın dibine düştükleri ve ancak yerinden alınarak götürüldüklerinde yayılışlarını gerçekleştirebildikleri belirtilmiştir. Bu tohumların kozalakların etinden temizlenmediği takdirde, 4 – 5 yıl süreyle çimlenmeden kalabildikleri ve yayıcı hayvanlarının kendilerini uygun ortamlara taşımalarını bekledikleri bildirilmiştir (Gültekin vd 2004).

Andızın yayılmasını sağlayan tohumlar doğal ortamda daha çok ayılar, keçiler, sincaplar ve kemirgenlerin etkinliğiyle gerçekleştiği tarafından belirtilmiştir (İzgi 2011). Andızın bu özelliği ile ana yayıcısı memeliler olan yegâne ibre yapraklı ağaç cinsi olduğu söylenebilir. Andız tohumlarını yayan hayvanların, kozalaklarının etli kısımlarını yedikleri ve bu sayede kozalak etinden kaynaklanan çimlenme zorluğunun ortadan kalktığı bilinmektedir. Keçilerin ise kozalakları bütün olarak yuttukları ve geviş getirme sırasında, etli kısımları temizlenmiş olan tohumları ağızlarından dış ortama bıraktıkları bilinmektedir. Sincap ve fare gibi kemirgenlerin ise kozalakların etli kısımlarını yemekle beraber, embriyoyu da yemek için tohumları mekanik olarak kırabildikleri ve bu kırma sırasında, genelde üç adet bulunan embriyodan bir ya da ikisini yerken diğerini bulamayıp dış ortama bıraktıkları bilinmektedir. Memelilerin bu özellikleri sayesinde andız meyvelerinin çimlenme sürecinin kısaldığı belirtilmektedir (Gültekin vd 2004).

Bir kg yaş kozalaktaki ortalama kozalak sayısının 147 adet olduğu, ortalama tohum veriminin ise % 39 olduğu bildirilmiştir. Bir adet tohumdaki sağlıklı embriyo sayısının en az 1 en fazla 4 ve ortalama 2,1 adet olduğu, hava kurusu tohumun ortalama bin tane ağırlığının ise ortalama 2674 g olduğu, 1 kg tohumda ortalama 374 adet tohumun olduğu ve andız tohumlarının dayanıklı olmaları nedeniyle en az 10 yıl süre ile saklanabildiği bildirilmiştir (Gültekin 2007). Andız kozalaklarının, olgunlaşma tarihinden başlamak üzere, ağaçların başlarından ekim, kasım, aralık kısmen de ocak aylarında, diplerinden ise bir yıl boyunca toplanabildiği ve bu süre zarfında tohumların çimlenme özelliklerini korudukları belirtilmektedir. Özellikle karların erimeye başladığı mart ayından itibaren kozalakların yöre halkı tarafından pekmez yapmak amacıyla kullanıldığı da bilinmektedir (Gültekin 2007).

#### **2.4. Andız Ağacının Kullanım Alanları**

Andız ormanlarının hayvanlarla yayılan diğer türlerde olduğu gibi birbirinden çok farklı genetik çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Bu çeşitlilik sayesinde andız ağaçları çok amaçlı olarak kullanılabilir. Farklı görünümdeki andız ağaçları kültüre alınarak park ve bahçelerin süslemesinde kullanılmakta, bunun yanında kent ormanları, yeşil kuşak ve yol ağaçlandırmaları yapılmaktadır. Andız ormanlarının uzun yaşamaları ve farklı görünümüyle anıtsal nitelik taşıdığı, bunun yanında çok değerli odunları sayesinde de odun kökenli sanayide, rüzgar, kar ve ses perdesi tesisinde kullanılabilirliği bildirilmiştir (Gültekin 2007). Andız odununun çok sert, dayanıklı ve az kokulu olması sebebiyle mobilyacılıkta yaygın olarak kullanıldığı da bildirilmiştir (İzgi 2011).

## 2.5. Ülkemizde Pekmez Üretimi

Ülkemizde pekmez üretiminin çok eskilere dayandığını, Osmanlı İmparatorluğu zamanında Mısır Çarşısı'nda soğuk algınlığı, göğüs nezlesi ve boğaz ağrısı için ilaç olarak kırmızı acı biber ile beraber kullanıldığı, Memlûkler devrinde ise içki çeşidi olarak pekmez tüketildiği bildirilmiştir (Karaca 2009). Pekmez ile ilgili Türkçe yazılı literatür ancak 1940'lı yıllarda yazılmaya başlanmıştır. 1940 yılında "üzüm pekmezleri üzerine teknik araştırmalar" başlıklı bir araştırma yapılarak geleneksel pekmez üretim yöntemleri belirtilmiş ve farklı bölgelerden sağlanmış olan pekmez örneklerinin bileşimleri araştırılmıştır. 1940'lı yıllardan sonra çeşitli meyvelerden üretilen pekmezler üzerine yapılmış olan araştırmaların bulunduğu da belirtilmiştir (Karaca 2009).

Meyve sularının konsantre edilmiş ve raf ömrü uzatılmış formu olan pekmez (Günel 2011) genel olarak meyve sırasının asitliğini gidermeden veya giderdikten sonra açık ya da vakumlu kazanlarda koyulaştırılarak elde edilmektedir. Üretim aşamalarının hammaddenin türüne ve yöreden yöreye değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Koca vd 2007). Pekmez üretimi için taze veya kurutulmuş üzüm, dut, incir, andız, keçiboynuzu, karpuz, şeker kamışı, kayısı, elma, erik gibi şekerli meyvelerinin kullanıldığı bildirilmiştir. Pekmez çeşitleri genellikle üretildiği meyvenin ismi ile anılmakta, yüksek miktarda şeker, mineral ve organik asit içermesi nedeniyle ve proteinler, aminoasitler ve fenolik bileşikler de bulundurması nedeniyle beslenmede önemli bir gıda maddesi olarak görülmektedir (Karaca 2009; Akkaya 2010; Günel 2011).

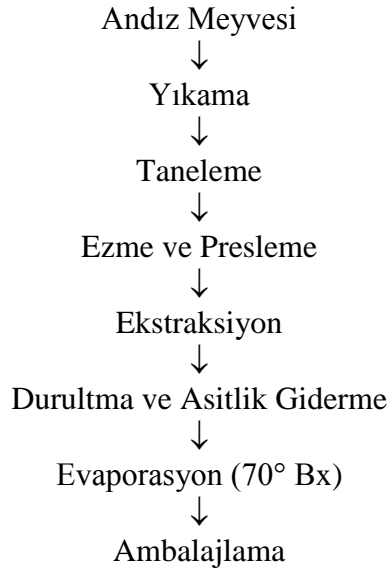
## 2.6. Andız Pekmezi Üretimi ve Genel Özellikleri

Tekeli'ye (2005) göre geleneksel yöntemlerle andız pekmezi üretimi için Eylül sonu ile Ekim başında olgunlaşan ve çuvallara doldurulan andız meyvelerinin kabukları el dövcekleri ile kırılmaktadır. Kırılan meyveler tekne, kazan, tencerelere konarak ağızlarına kadar su ile doldurulmakta ve iki gün bekletildikten sonra süzme teknesine alınmaktadır. Teknenin ağız deliği açılarak önünde şekerli suyun birikmesi sağlanmakta, dolan kaplar ateş üzerindeki kazanlara aktarılmaktadır. Kaynatma anında sıvı kaynadıkça kazanın yüzünde köpükler oluşmaktadır. Kazan yüzündeki oluşan köpükler saplı tas ile alınarak ve karıştırılmaya devam edilmektedir. Kaynama işlemiyle kazan içindeki suyun önemli bir kısmı buharlaşmakta ve pekmez üretimi gerçekleşmektedir. Andız pekmezi kırmızımsı koyu kahverenginde olmakla beraber altı kilo meyveden yaklaşık bir kilo pekmez elde edilmektedir.



Şekil 2.3. Andız pekmezi üretimi (Kocakulak 2007)

Ülkemizde geleneksel yöntemlerle andız pekmezi üretimi için meyvelerin yıkandıktan sonra ekstraksiyonu kolaylaştırmak amacıyla kırılıp ezildiği ve uygun oranda su ile karıştırılarak ekstraksiyon işleminin gerçekleştirildiği belirtilmektedir. Andız pekmezi üretiminde geleneksel yöntem ile yapılan ekstraksiyon işleminde sürenin uzun olduğu ve meyvelerdeki suda çözünür kuru maddenin yeterince ekstrakte edilememesi nedeniyle ekstraksiyon veriminin düşük olduğu belirtilmektedir. Geleneksel olarak kesikli metotla elde edilen ekstraktın klasik durultma yöntemleri ve asit giderme işlemi uygulandıktan sonra % 10-12 SÇKM madde içerdiği ve 70 °Bx'e kadar konsantre edildikten sonra cam kavanozlara veya metal kutulara doldurularak satışa sunulduğu belirtilmektedir (Topuz vd 2004; Turhan vd 2007). Şekil 2.4'te geleneksel yöntemlerle andız pekmezi üretim akış şeması verilmiştir.



Şekil 2.4. Andız pekmezi üretim akış şeması (Turhan vd 2007)

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğindeki Üzüm Pekmezi Tebliği'ne göre pH değeri 5,00 – 6,00 arasında olan pekmezlerin tatlı pekmez sınıfına girdiği, andız pekmezinin de

pH değerine göre tatlı pekmez sınıfına dahil olabileceği ancak diğer pekmezlerden farklı olarak buruk bir tada sahip olduğu belirtilmektedir (Kocakulak 2007). Bu burukluğun meyvenin ekstraksiyonu sırasında ekstrakte edilen polifenolik bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir (Akkaya 2010).

Andız pekmezinin hem toplam şeker içeriğinin hem de toplam invert şeker ve sakaroz miktarlarının üzüm, dut, incir ve harnup pekmezlerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum andız pekmezinin en önemli ayırt edici kalite karakteristiklerinden biri olmuştur. Genellikle pekmezlerin şeker içerikleri ile SÇKM içeriklerinin yakın olduğu, ancak andız pekmezinde ise arada belirgin bir fark olduğu, bunun nedeninin andız pekmezinde kırılma indisini etkileyen ancak şeker olmayan bileşiklerin (polialkoller, polifenoller, asitler, mineral maddeler vb.) yüksek oranda olmasından ileri gelebileceği belirtilmiştir (Özdemir vd 2004).

Akıncı vd (2004) andızın bazı besin maddelerince [şeker (34,97 g/100 g), kül (3,79 g/100 g), kalsiyum (1499 mg/kg), fosfor (1445 mg/kg) ve çinko (12,79 mg/kg)] zengin olduğunu belirtmişlerdir. Andız meyvelerinin yüksek miktarda tiamin, askorbik asit ve inositol ile riboflavin, pantotenik asit ve vitamin B6, düşük miktarda ise biotin ve folik asit içerdiği bildirilmiştir (Kocakulak 2007).

Turhan vd (2007) andız pekmezinin potasyum, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve sodyum içeriğinin keçiboynuzu, üzüm ve incir pekmezine göre daha zengin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca geleneksel yöntemlerle üretilen andız pekmezi örneklerinde hidrosimetilfurfural (HMF) konsantrasyonu oldukça düşük düzeyde (1,25 – 10,14 mg/kg) olduğunu; dut, üzüm ve incir pekmezleriyle karşılaştırıldığında HMF miktarının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Farklı tekniklerle üretilen andız pekmezlerinin TFM miktarlarının 1600 – 2070 mg/kg arasında değiştiği, kateşol, kateşin, epikateşin, quersetin, rutin, o-kumarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, klorogenik asit ve gallik asit olmak üzere 11 farklı fenolik madde belirlendiği bildirilmiştir (Özdemir vd 2004).

Andız meyvelerini antihelmintik (parazitlere karşı) (Yesilada vd 1993), antibakteriyel ve antioksidan (Miceli vd 2011) etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı andız meyve ve ürünlerinin bronşit, öksürük, sarılık, kaşıntı, egzama, astım, hemaroid, mide bulantısı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonları, ishal ve karın ağrısına karşı uzun yıllardır kullanıldığı da bildirilmiştir (Kocakulak 2007; Akkaya 2010). Kozan vd (2006) *Juniperus drupacea* meyvelerinin etanolik ekstraktlarının farelerde; kıl kurdu, *Syphacia obvelata* ve *Aspiculuris tetraptera*'ya karşı önemli antihelmintik aktivite gösterdiğini bildirmiştir.

## 2.7. Cevap Yüzey Metodu

Son yıllarda gıda sanayinde ekstraksiyon işlemlerinin optimizasyonu amacıyla CYM kullanılmakta ve çeşitli ekstraksiyon denemeleri bu yöntem kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

Şahan (2008) kimyasal teknolojiler açısından bakıldığında bir işletmede istenen kalitede ve verimde ürün elde edilmesi için pH, sıcaklık, derişim vb. gibi ayarlanabilen parametrelerin önem kazandığını belirtmiştir. Bu parametrelerin en uygun değerlerinin belirlenmesi için çok fazla deney yapılması gerekmektedir. Bu deneyler zaman, malzeme ve maliyeti artırmaktadır. Kimyasal bir reaksiyonda; eğer reaksiyon mekanizması hakkında yeteri kadar bilgi varsa, bu durumda başlangıç reaksiyon şartları ve sonuç arasında bir mekanistik model kurulabileceğini de eklemiştir.

CYM bilimsel çalışmalar ve mühendislik problemlerinin çözümünde araştırmacılar tarafından çokça başvurulmuş bir yöntemdir. Yöntem matematiksel ve istatistiksel verileri bir arada değerlendiren bir algoritmaya sahiptir. Endüstriyel alanda pek çok kullanım alanı vardır. Literatür çalışmalarında optimum deney şartlarını belirlemede son zamanlarda sıkça kullanıldığı belirtilmiştir (İsmail vd 1999). Bunun yanında CYM, yeni ürünlerin tasarımı, geliştirilmesi, formüle edilmesi, var olan ürünlerin ise üretim aşamalarının iyileştirilmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır (Myers ve Montgomery 1995). Bu yöntem ile parametrelerin prosese olan etkileri incelenip bu parametrelerin optimum seviyeleri belirlenebilmektedir (Uzunoğulları 2010).

Dağbağlı'nın (2009) bildirdiğine göre CYM'nin, 1951 yılında ilk olarak Box ve Wilson tarafından tanımlandığı, Box ve Wilson'ın (1951) ise CYM'nin temelini oluşturan eleme (screening), bölge araştırma (steepest ascent), işlemin/ürünün karakterize edilmesi ve optimizasyonunu kapsayan bir seri deneme felsefesini ortaya koyduğunu ve daha sonra Bradley'in (1958) ve Hunter'ın (1959)'un, CYM'de kullanılan istatistiksel ve matematiksel teknikleri açıkladığı bilinmektedir.

Myers ve Montgomery (1995) CYM'yi proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli bir takım istatistiksel ve matematiksel tekniklerin bir arada kullanıldığı bir yöntem olarak tanımlamıştır. Uzunoğulları (2010) CYM uygulamalarının bir aşamada elde edilen verilerin bir sonraki aşamada kullanılmasıyla oluşturulduğunu belirtmiştir. Metodu şu şekilde tanımlamıştır: İlk aşamada, bir takım fikirler öne sürülmekte ve sistemi karakterize edebilecek performans ölçüleri (cevap) ve bunlar üzerine etkili olabilecek faktörlerin ve değişkenlerin belirlenmesi gerekmektedir. Bu faktörlerin fazla olması durumunda ön denemelerle faktörlerin istatistiksel olarak en önemli bir kaç tanesi seçilebilmektedir. Bu denemeler "eleme (screening)" olarak adlandırılmakta ve araştırmanın ilerleyen kısımlarında daha az deneme yapılmış olmaktadır. Böylece hem zaman hem de maliyet kazanımı sağlanmaktadır.

CYM'nin ikinci aşamasında amaç, bağımsız değişkenlerin deneme bölgesi (region of interest) içerisinde belirlenen seviyelerinin sistemin cevabında oluşturdukları değer, optimum noktaya yakın sonuçları verip vermediğinin belirlenmesidir. Optimum noktaya yaklaştıkça, oluşturulan cevap yüzeyindeki eğrilik daha belirgin hale gelmektedir.

Optimum noktaya ulaşıldığında üçüncü aşamada işlem başlar. Bu noktada araştırmacı, optimum nokta çevresinde doğru bir şekilde yanıt fonksiyonunu tahminler. Gerçek cevap fonksiyonu, optimum nokta çevresinde önemli eğrilik göstermektedir. Bu eğriliğin tahmin edilmesinde genellikle ikinci dereceden modeller kullanılır. Bu modelde eğriliğin tahmin edilmesinde bir önceki aşamada uygulanan deneysel tasarıma

ek olarak deneysel noktaların eklenmesi gerekmektedir (Central Composite Rotatable Dizayn). Uygun bir model elde edildiğinde, bu model optimum nokta araştırmasında kullanılır (Uzunoğulları 2010).

*CYM'nin avantajları;*

- Daha az deney ile daha fazla bilgi elde edilebilmesi
- Bağımsız değişkenlerin etkilerini birlikte inceleme imkânı
- Sistemin matematiksel bir model ile tanımlanması, böylece bağımlı ve bağımsız değişken arasındaki ilişkinin bu model ile ifade edilebilmesidir (Uzunoğulları 2010).

*CYM'nin dezavantajları ise;*

- Doğrusal olmayan sistemlerin modellenmesinde başarılı olmaması
- Hiperbolik ya da çan eğrisi şeklinde simetrik olmayan fonksiyonlar ile modellenememesidir (Myers ve Montgomery 1995).

CYM'nin endüstride en çok kullanım alanı, farklı girdi değişkenlerinin kimi performans ölçümlerini ya da ürünün, prosesin kalite karakteristiklerini etkilediği durumlardır. CYM'nin pek çok gerçek uygulaması birden fazla cevap içerdiği belirtilmiştir (Myers ve Montgomery 1995).

Kul (2004) Box ve Behnken tarafından ortaya konan Box-Behnken deneme deseninin ikinci dereceden cevap yüzeylerinde model oluşturmak için etkili bir yöntem olduğunu belirtmiştir. Bu yöntemin en az üç düzeyli olması gerekmektedir. Box-Behnken deneme düzeninde faktörlerden birinin değeri merkez değerinde sabitlenirken diğer faktörlerin tüm düzeylerinin kombinasyonları uygulanmaktadır. Örneğin üç faktörlü deneme deseninde ilk önce A faktörünün düzeyi sabitlenmekte B ve C faktörlerinin tüm düzeylerinin kombinasyonları uygulanmakta daha sonra B ve C faktörlerinin düzeyleri merkezde sabitlenerek aynı işlemler uygulanmaktadır. Matrislerinin en son sütunlarında ise merkez nokta değerleri yer almaktadır (Kul 2004).

Box-Behnken deneme deseninde sonuçların değerlendirilmesinde regresyon analizi ve varyans analizinden yararlanıldığı belirtilmiştir. Bunun yanında sabit bağımlı değişkenlere karşı sonuçların grafik edilmesi sonucunda kontur plot (contour plot) grafiği elde edilerek sonuçların değerlendirilmesinin kolaylaştığı da eklenmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan doğruluk parametrelerinden birisi model sistemin gerçek cevaba uygun olup olmadığıdır. Bu duruma uyum eksikliğinden (lack of fit) kaynaklanan hatanın önemsiz olup olmadığına bakılarak karar verilmektedir. Bunun yanı sıra  $R^2$  değeri karşılaştırılmakta, değerlerin birbirine ve 1'e yakın olması çalışmanın da modele uygunluğunun derecesini gösterdiği belirtilmektedir (Myers vd 2009).



## 2.8. Konuyla İlgili Diğer Çalışmalar

Miceli vd (2011) Türkiye'den alınan *Juniperus drupacea* L. meyvelerinin metanol ekstraktının fenolik profilini ve biyolojik potansiyelini tanımladıkları bir çalışmada TFM içeriğinin ortalama olarak 48,06 mg GAE/g ekstrakt olduğunu, fenolik asitlerin TFM'nin % 60'ından fazlasını oluşturduğu ve tirosol'un başlıca fenolik asit olduğunu bildirmişlerdir. Flavonoidler içinde amentoflavone'un temel bileşen ( $927 \pm 0,35 \mu\text{g/g}$  ekstrakt) olarak belirlendiği bildirilmiştir. Ekstraktların antioksidan özellikleri farklı yöntemlerle incelenmiş ve DPPH testi ( $\text{IC}_{50}$  değeri  $0,38 \pm 0,02 \text{ mg/mL}$ ),  $\text{Fe}^{+2}$  şelat yeteneği ( $\text{IC}_{50}$   $2,26 \pm 0,06 \text{ mg/mL}$ ), ve TBA testi ( $\text{IC}_{50}$   $2,47 \pm 1,13 \mu\text{g/mL}$ ) olarak belirlenmiştir. *Artemia salina*'ya karşı sitotoksiste ( $\text{LC}_{50}$   $489,47 \pm 27,8 \mu\text{g/mL}$ ) vurgulanmış ve yüksek konsantrasyonlarda HepG2 hücreleri canlılığında önemli bir azalmanın olduğu görülmüştür. Ekstraktın, Gram-pozitif bakterilerine karşı iyi bir antibakteriyel etkinlik gösterdiği ve özellikle *Staphylococcus aureus*'un en duyarlı suş olduğu bildirilmiştir (Miceli vd 2011).

El-Ghorab vd (2008) andız meyvesi (*Juniperus drupacea* L.)'nin diklorometan ekstraktı içinde alfa-pinen (% 23,73), timol metil eter (% 17,32) ve camphor (% 10,12)'un, hegzan fraksiyonunda ise alfa-pinen (% 44,24)'in önemli bileşenler olduğunu bildirmişlerdir. Etil eter fraksiyonunda ise timol metil eter (% 22,27) ve camphor (% 19,65)'un önemli bileşenler olduğu belirtilmiştir. Andız meyvesinin diklorometan, petrol eteri ve etil alkol ekstraktları ise 0,5 mg/mL (*Candida albicans*'a karşı uçucu ekstraktı) – 1,2 mg/mL (*Aspergillus niger*'e karşı etanol ekstraktı) arasında değişen minimum inhibitör konsantrasyonları ile altı mikroorganizmaya karşı kayda değer bir antimikrobiyal aktivite sergilediği ve bu sebeple meyvenin yiyecek ve içecekler için doğal bir antioksidan takviyesi olabileceği bildirilmiştir.

Taviano vd (2011) çeşitli *Juniperus* (Cupressaceae) türlerinin enfeksiyon ve deri hastalıklarının tedavisinde ilaç olarak kullanılmakta olduğunu belirterek bu çalışmada, Türkiye'den elde edilen *Juniperus* türleri dallarının metanol ve sulu ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal potansiyelini incelenmiştir. Antioksidan özellikler farklı in vitro sistemler uygulanarak incelenmiştir. Toksikite, *Artemia salina* öldürücülüğü testine karşı incelenmiş olup bakteri ve mayalara karşı antimikrobiyal potansiyel ise minimum inhibitör konsantrasyon ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MIC/MBC) ölçümleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite ve fenolik madde içeriği arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Ekstraktların *Artemia salina*'ya karşı potansiyel olarak toksik olmadığı görülmüştür. En iyi antimikrobiyal ve anti-biyofilm aktivitenin *S. Aureus*'a karşı gösterildiği bildirilmiştir. Sonuçlar *Juniperus* türlerin doğal antioksidan ve antimikrobiyal kaynağı olarak kullanılabilir oldukları görülmüştür.

Topuz vd (2004) andız pekmezi üretiminde optimum ekstraksiyon koşullarını incelemişlerdir. Bu amaçla Antalya'nın Akseki ilçesinin Toros Dağları üzerinde bulunan Gümüşdamla Köyü sınırlarındaki orman alanlarından andız meyveleri temin edilmiştir. Andız pekmezi üretiminde ekstraksiyon işlemi her kademeye dört kez meyve yüklemesi baz alınarak 1/3, 1/5 ve 1/7 meyve/su (ağırlık/hacim) oranlarında yapılmış, bu işlem her kademe ve meyve yükleme için 25, 50 ve 80 °C sıcaklıklarda tekrar edilmiştir. Bu araştırma ile andız meyvelerinin ekstraksiyon işleminin, 1/3 meyve/su

(ağırlık/hacim) oranında, dört kademedeki, dört kez meyve yüklenerek yapılmasının uygun olduğu tespit edilmiştir. Bu koşullarda yürütülen ekstraksiyon işleminde her kademe ve her meyve yükleme için yaklaşık 120 dk. ekstraksiyon süresinin yeterli olduğu gözlemlenmiştir. Ekstrakt verimleri incelendiğinde 80 °C sıcaklıkta yapılan ekstraksiyonun daha verimli olmasına karşın ekstraktların koyun renkli ve bulanık olması nedeniyle ekstrakt verimleri bakımından birbirine yakın olan diğer iki sıcaklık uygulamasına kıyasla enerji gereksiniminin olmadığı 25 °C ekstraksiyon sıcaklığının uygun olduğu belirtilmiştir.

Akıncı vd (2004) ise andız meyvelerinin ekstraksiyonunda ekstraksiyon oranı ve ekstraksiyon veriminin 0,75 ile 1,82 °Bx/sa ve 5,5 ile 14,7 °Bx/100g arasında değiştiğini de bildirmişlerdir.

İzgi (2011) yaptığı çalışmada Anamur yöresinde geleneksel yöntemler ile yerel halk tarafından üretilmiş on iki farklı andız pekmezi kullanılarak, andız pekmezinin antioksidan aktivitesi, TFM miktarı ile bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini araştırmıştır. Çalışmada pekmez örneklerinde pH 4,87 – 5,94, kül % 2,14 – 3,93, titrasyon asitliği % 0,28 – 1,17, kuru madde % 61,52 – 79,2, SÇKM % 56,5 – 72,0, HMF 2,75 – 85,7 mg/kg, TFM 949 – 2100 mg/kg, toplam şeker % 41,5 – 54,72, invert şeker % 29,6 – 47,85, serbest radikal temizleme aktivitesi (IC<sub>50</sub>) 0,967 µg/mL olarak belirlenmiştir.

Andız meyvelerinin özellikle antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri üzerine yapılan çalışmaların son yıllarda artış gösterdiği literatür bilgilerinden anlaşılrsa da geleneksel olarak üretilen ve kullanılan andız pekmezinin üretim aşamalarının iyileştirilmesi üzerine pek fazla sayıda çalışma yapılmadığı da görülmektedir. Bu amaçla bu tez çalışmasında geleneksel olarak üretilen andız pekmezi üretiminde, üretim basamaklarından olan ekstraksiyon aşamasının CYM kullanılarak optimize edilmesi hedeflenmiştir. Ekstraksiyonu etkileyen farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve ekstraksiyon süresi faktörleri deneme desenine göre uygulanmış ve ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların SÇKM, TFM, pH ve titrasyon asitliği, antioksidan aktivite değerleri ve şeker içerikleri belirlenmiş ve alınan sonuçlar üzerinden en uygun ekstraksiyon koşulları oluşturulmuştur.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada Akdeniz bölgesinde özellikle Toroslar'da doğal olarak yetişen andız ağaçlarından elde edilen meyveler materyal olarak kullanılmıştır. Bu amaçla Akdeniz bölgesi Mersin ili Gülnar ilçesinde yetişen andız ağaçlarından elde edilen meyveler Antalya'da faaliyet gösteren ve Gülnar ilçesinden hammadde sağlayan yerel bir firmadan tedarik edilmiştir. Andız meyveleri sert yapıda olduklarından ekstraksiyon için parçalanmaları oldukça zordur. Bu sebeple meyveler tedarik edilirken yine aynı fabrika tarafından endüstriyel ölçekte öğütme işlemi uygulanmıştır.



Şekil 3.1. Andız meyvelerini kırmak için kullanılan makine ve iç kısmı (Kocakulak 2007)

Denemelerde eşit boyutlara yakın hammadde kullanımını sağlamak amacıyla öğütülmüş andız meyveleri sarsak elek (Retsch Technology GmbH, Dusseldorf, Germany) kullanılarak eleme işlemine tabi tutulmuştur. Eleme sonucunda en fazla miktarda öğütülmüş andız meyvesinin elde edildiği 2 mm (10 mesh) elek altı ile 1 mm (18 mesh) elek üstünde kalan öğütülmüş meyveler denemelerde kullanılmıştır. Eleme sonrasında ayrılan öğütülmüş andız meyveleri kullanılmaya kadar +4 °C' de muhafaza edilmiştir.

#### 3.2. Metot

##### 3.2.1.Cevap yüzey metodu (CYM)

Andız meyvelerinden ekstrakt eldesinde Box-Behnken CYM kullanılmıştır. Optimizasyon için Minitab İstatiksel Analiz Programı (16.1.1 Versiyonu) ve Design-Expert 8.0.7.1 Analiz Programı (Trial version, State-Ease Inc. Minneapolis, USA) kullanılarak deneme deseni belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Programa girilen minimum ve maksimum değerlerin belirlenmesinde ön deneme verilerinden yararlanılmıştır.

Çizelge 3.1 Ekstraksiyon parametreleri için Box-Behnken CYM

Değişken	Sembol	Kodlanmış seviyeler		
		-1	0	1
Sıcaklık (°C)	$X_1$	50 °C	70 °C	90 °C
Meyve:su oranı (w/v)	$X_2$	1:4	1:6,5	1:9
Zaman (t)	$X_3$	30 dk.	105 dk.	180 dk.

Genellikle, gıda sanayinde katı-sıvı ekstraksiyon çalışmalarında kullanılan 60 – 90 °C aralığı bu çalışmada da kullanılmıştır.

Meyve:su oranı yani seyreltme oranı için alt ve üst değer 1:4 ve 1:9 ve orta değer için 1:6 iken; ekstraksiyon sıcaklığı için alt ve üst değer 50 °C ve 90 °C orta değer 70 °C olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresi ise 30, 105 ve 180 dk. olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon denemelerinde seçilen parametreler için minimum ve maksimum noktalar programa girilerek deneme deseni ortaya çıkarılmıştır. Deneme esnasında ekstraksiyon süresince alınan örneklerde planlanan analizler gerçekleştirilmiş ve sonuçlar yine CYM kullanılarak yorumlanmıştır.

### 3.2.2. Ekstraksiyon metodu

Elekten geçirilmiş ve standart boyutlara sahip olmuş andız meyveleri CYM kullanılarak belirlenen farklı meyve:su oranları ve farklı sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirilmiş olan ekstraksiyon denemelerinde kullanılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi 55 L kapasiteli BS-31 model çalkalamalı su banyosu (Jeitech, Seoul, Korea) kullanılarak 100 D/dk.'da gerçekleştirilmiştir. Tüm denemelerde kullanılan ekstraksiyon sıcaklığı ve zamanı ayarlanarak ekstraksiyon denemeleri yapılmıştır. Denemeler için 25'er g andız meyvesi 370 mL kapasiteli kapaklı cam kavanozlar içerisine tartılmış ve üzerlerine denemeye başlamadan hemen önce, CYM'nin vermiş olduğu deneme desenini oluşturmak için sıcaklığı ekstraksiyon sıcaklığına ayarlanmış 100, 162,5 ve 225 mL saf su ilave edilmiş ve denemeler başlatılmıştır. Tüm ekstraksiyon denemeleri süresince su banyosu içerisindeki su seviyesini sabit tutmak amacıyla, belirli aralıklarla örnek alınırken, alınan örnek kavanozu sayısınca içerisi su dolu ve sıcaklığı ekstraksiyon sıcaklığı ile aynı olan kavanozlar çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiştir. CYM'ye göre farklı zamanlarda alınan kavanozlar kaba filtre kağıdı kullanarak hemen filtre edilmiş ve ekstraksiyon çözeltisinin ekstrakte edilecek matriksten ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen örnekler 28 mL kapasiteli plastik kapaklı örnek tüplerine alınmıştır. Tüplere alınan örneklerde bazı analizler vakit kaybetmeden gerçekleştirilirken diğer analizler için örnekler -18 °C'de analiz gerçekleştirilinceye kadar muhafaza edilmiştir.

### 3.2.3. Analiz yöntemleri

#### 3.2.2.1. Tanımlayıcı analizler

SÇKM miktarı Abbe refraktometresi (Atago, Tokyo, Japan) kullanılarak belirlenmiştir (Cemeroğlu 2007). Ekstraktların pH değerini belirlemek için örneklerden yeterli miktar alınarak oda sıcaklığında dijital pH metre (Thermo, MA, USA) ile ölçülerek belirlenmiştir (Cemeroğlu 2007). Titrasyon asitliği tayini için örneklerden yeterli miktar alınarak önceden ayarlanmış 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8,1 noktasına kadar titre edilerek harcama miktarı belirlenmiştir. Titrasyon asitliği susuz sitrik asit cinsinden (% SSA) hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007). Tüm analizler iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ Titrasyon asitliği} = \frac{V \times E \times F \times 100}{m}$$

Burada ;

V : Harcanan 0.1N NaOH miktarı (mL)

F : 0,1N NaOH'ın faktörü

E : 1 ml 0,1N NaOH'ın eşdeğer olan susuz sitrik asit miktarı (0,006404 g)

m : Titrasyonda kullanılan örnek miktarıdır.

#### 3.2.2.2. Toplam fenolik madde tayini

TFM'nin kolorimetrik tayininde Spanos ve Wrolstad (1992) tarafından tanımlanan spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla ön denemeler neticesinde belirlenen seyreltme oranına getirilen örneklerden bir tüpe 100 µL alınıp üzerine 900 µL destile su eklenecektir. Daha sonra 5 mL 0,2 N Folin – Cioceltau çözeltisi ve 4 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi (75 g/L) ilave edilecek ve tüp iyice karıştırıldıktan sonra 2 saat beklenerek spektrofotometrede (Shimadzu UV – 160A) 765 nm dalga boyunda okunacak absorbans değerinden ve gallik asit ile hazırlanacak kurveden yararlanılarak TFM miktarı (mg/L) hesaplanmıştır. Tüm analizler iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.2.3. Serbest şekerlerin HPLC ile belirlenmesi

Her bir işlem basamağından alınan örneklerde serbest şekerlerin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) tekniği ile belirlenmesinde (Tetik vd 2011) tarafından belirlenen yöntem kullanılmıştır. Kromatografi sisteminde hareketli faz olarak HPLC saflıkta su Millipore Milli-Q Plus system model su saflaştırma sistemi (Millipore, Espoo, Finland) kullanılarak elde edilmiştir. Hareketli faz rezervuarına alınan hareketli faz WiseClean® DH.WUC.N47H model ultrases su banyosu (Daihan, Seoul, Korea) kullanılarak degaze edilerek hareketli faz içerisinde bulanabilecek çözünmüş gazlar uzaklaştırılmıştır. Örneklerin analiz edilmesinde, LC 20A model pompa, SIL-20A model otomatik örnekleyici, RID-10A model refraktif indeks dedektör ve CTO-20A model kolon fırınından oluşan kromatografi sisteminden yararlanılmıştır. Örneklerin kromatografi cihazında uygun bir şekilde ayrılmasını sağlamak amacıyla size exclusion kromatografi tekniğine göre ayırım yapan bir analitik kolon (CARBOsep Coregel 87P, 7.8x300 mm, Transgenomic, NE ve bu analitik kolon ile aynı dolgu maddesine sahip bir koruyucu kolon (CARBOsep Coregel 87P, 4x20 mm,

Transgenomic, NE) sabit faz olarak kullanılmıştır. Hareketli faz akış hızı 0,6 mL/dk., kolon fırını sıcaklığı 85 °C, dedektör hücresi sıcaklığı ise 60 °C olarak ayarlanmıştır. Her bir enjeksiyonda örnekler kromatografi sistemine 20 µL hacminde enjekte edilmiş ve elüsyonun görülebilmesi amacıyla veriler 30 dk. süreyle kaydedilmiştir. Örneklerin sakaroz, glikoz ve fruktoz içerikleri harici standart metodu kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm analizler iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Kromatografi koşulları (Shimadzu, LC 20A Serisi)

Hareketli faz: Milli-Q su (izokratik), 0,6 mL/dk.

Analitik ve koruyucu kolon: Nucleogel 87P (300x7.8 mm ID, 20x4.0 mm ID)

Enjeksiyon hacmi: 20 µL,

Kolon fırını sıcaklığı: 85 °C

Dedektör: RID, hücre sıcaklığı: 60 °C

#### 3.2.2.4. Toplam antioksidan aktivite tayini (DPPH yöntemi)

Antioksidan aktivite tayini spektrofotometrik olarak DPPH radikalinin inhibisyonuna dayanan yöntemle gerçekleştirilmiştir (Maisuthisakul vd 2007). Bu amaçla elde edilen ekstraktan 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerden 100'er µL alınarak üzerine  $6 \times 10^{-5}$  M DPPH çözeltisi (metanol içerisinde hazırlanan) ilave edilmiştir. Daha sonra çözeltiler oda sıcaklığındaki karanlık bir yerde 30 dk. bekletilmiştir. Bu süre sonunda çözeltilerin absorbanı ( $A_{A(t)}$ ) spektrofotometrede 516 nm dalga boyunda okunmuştur. Bunun yanında örnek yerine çözücü ve yine 4 mL DPPH çözeltisi ilave edilerek elde edilen çözeltinin absorbanı ( $A_{C(0)}$ ) aynı dalga boyunda okunarak aşağıdaki formül yardımıyla inhibisyonu hesaplanmıştır (Yen ve Duh 1994).

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_{C(0)} - A_{A(t)}) / A_{C(0)}] \times 100 \quad t=30 \text{ dk.}$$

DPPH radikalinin % 50'sini inhibe eden ekstrakt konsantrasyonu olarak tanımlanan  $IC_{50}$  değeri ise 5 farklı konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlara karşı çizilen DPPH radikalinin % inhibisyon oranından elde edilen doğru denklemden hesaplanmıştır (Molyneux 2004; Bilušić Vundać vd 2007). Ayrıca aynı yöntemle Troloks standardının  $IC_{50}$  değeri hesaplanarak sonuç troloks eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

#### 3.2.2.5. Toplam antioksidan aktivite tayini (ABTS yöntemi)

Örneklerin toplam antioksidan aktivite ölçümleri ABTS yöntemi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilmiştir (Re vd 1999). Bu yöntemle göre, ilk olarak destile su içinde 7mM konsantrasyonda stok ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltisi hazırlanmıştır. ABTS radikal katyonu ( $ABTS^{\bullet+}$ ) elde etmek amacıyla stok çözelti 2.45 mM potasyum persülfat ( $K_2O_8S_2$ ) ile reaksiyona sokularak ve karışım kullanılmadan önce 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Ölçüm öncesinde  $ABTS^{\bullet+}$  çözeltisi 5mM fosfat buffer tuz (PBS) (pH 7,4) çözeltisi ile 734 nm'de  $0,700 \pm 0,02$  absorban verecek şekilde seyreltilmiştir. Stok örnek çözeltileri de yine PBS çözeltisi kullanılarak, 10 µL seyreltilmiş örnek eklendiğinde blank absorban değerinde % 40 – 60 inhibisyon

sağlayacak şekilde seyreltilmiştir. Daha sonra 1.0 mL seyreltilmiş ABTS<sup>•+</sup> çözeltisine ( $A_{734} = 0,700 \pm 0,02$ ) 10 µL 500 – 2000 µM konsantrasyonlarda Trolox standartları ve seyreltilmiş örnekler ayrı ayrı eklenerek 6 dk. beklenmiş ve bu süre sonunda yeniden absorbans değerleri okunmuştur. Her konsantrasyonda ölçümler 3 kez tekrarlanmıştır. Trolox standardı ve her örnek için % inhibisyon değerleri belirlenerek örneklerin antioksidan kapasitesi troloks eşdeğeri olarak hesaplanmış ve sonuç “TEAC değeri” olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.2.6. Deneme Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

Denemelerden sonra alınan örneklerde gerçekleştirilen analizler neticesinde elde edilen veriler Minitab İstatiksel Analiz Programı (16.1.1 Versiyonu) ve Design-Expert 8.0.7.1 Analiz Programı (Trial version, State-Ease Inc. Minneapolis, USA) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda denemelerde kullanılan parametreler için ekstraksiyonun optimizasyonu amacıyla bir model oluşturulmuştur. Oluşturulan modelin doğrulaması amacıyla, istatistik programının vermiş olduğu model kullanılarak 6 farklı deneme daha gerçekleştirilmiş ve örneklerin SÇKM içeriği belirlenmiştir. İstatistiksel program kullanılarak belirlenen modelin önerdiği parametre değerleri ile bir ekstraksiyon denemesi gerçekleştirildiğinde ulaşılması gereken SÇKM değeri ile doğrulama denemeleri neticesinde elde edilen SÇKM içerikleri karşılaştırılarak optimizasyon modelinin doğruluğu-kesinliği belirlenmiştir.





#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada andız meyvelerinin ekstraksiyonunda geleneksel ekstraksiyon parametreleri olan ekstraksiyon sıcaklığı, meyve:su oranı ve ekstraksiyon süresinin andız meyvesi ekstraksiyonu üzerine etkileri incelenmiş ve söz konusu parametreler için en yüksek SÇKM değerinin elde edilebileceği bir optimizasyon modeli oluşturulmuştur. Ayrıca elde edilen ekstraktlarda TFM, pH ve titrasyon asitliği, antioksidan aktivite ile sakaroz, glikoz, fruktoz değerleri de belirlenmiştir.

##### 4.1. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların SÇKM İçerikleri ve Bu Veriler Kullanılarak Gerçekleştirilen Optimizasyon Çalışmaları

CYM kullanılarak oluşturulan deneme desenine göre denemeler gerçekleştirilmiş ve ekstraktların SÇKM içerikleri belirlenmiştir. Örneklerin SÇKM değerleri, kavanozlardan alınan örneklerin kaba filtre kağıdından filtre edilip, ekstraktların yaklaşık 20 °C sıcaklığa ulaşmasının ardından belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre ile ekstrakte edilen andız meyvesi ekstraktlarının SÇKM değerleri

Örnek no	Sıcaklık (°C)	Meyve:su oranı (w/v)	Süre (dk.)	SÇKM (°Bx)
1	50	1:6.5	30	5,0
2	50	1:6.5	30	5,1
3	50	1:4	105	8,4
4	50	1:4	105	8,5
5	50	1:9	105	3,6
6	50	1:9	105	3,6
7	50	1:6.5	180	5,2
8	50	1:6.5	180	5,2
9	70	1:9	30	4,1
10	70	1:9	30	4,0
11	70	1:4	30	8,2
12	70	1:4	30	8,6
13	70	1:6.5	105	5,4
14	70	1:6.5	105	5,7
15	70	1:6.5	105	5,6
16	70	1:6.5	105	5,8
17	70	1:6.5	105	5,7
18	70	1:6.5	105	5,7
19	70	1:4	180	8,8
20	70	1:4	180	8,9
21	70	1:9	180	3,9
22	70	1:9	180	4,0
23	90	1:6.5	30	5,6
24	90	1:6.5	30	6,0
25	90	1:4	105	9,2
26	90	1:4	105	9,0
27	90	1:9	105	4,2
28	90	1:9	105	4,3
29	90	1:6.5	180	6,1
30	90	1:6.5	180	5,9

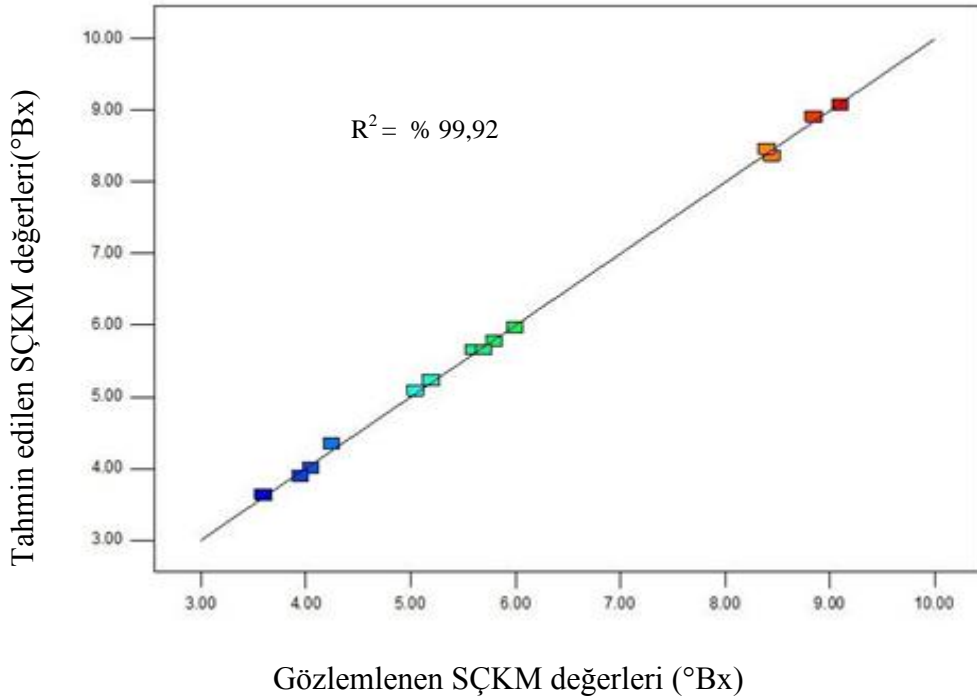
SÇKM için gerçekleştirilen bu optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen modele ait formül aşağıda verilmiştir.

SÇKM değeri\* ( $^{\circ}\text{Bx}$ ):  $5,62 + 0,36X_1 - 2,37X_2 + 0,081X_3 + 0,77 X_2^2 - 0,13X_2X_3 + \varepsilon$   
(Eşitlik 4.1).

\*:  $X_1$ - $X_3$  sembolleri Çizelge 3.1’de açık olarak ifade edilmiştir.  $\varepsilon$  ise standart hatadır.

Yukarıdaki eşitlik ile çalışmada kullanılan ana faktörlerin (sıcaklık, meyve:su oranı ve süre) kullanıldığı durumlarda hangi ana faktörlerin hangi değerlerde kullanılması sonucunda modele göre ulaşılabilecek SÇKM değeri hesaplanabilmektedir. Ancak bu formül oluşturulurken yapılan hesaplamalarda ana faktörler için kodlanmış değerler (-1, 0 ve 1) kullanıldığından formül kullanılarak yapılacak hesaplamalarda yine kodlanmış değerler kullanılarak hesaplama yapılması gerekmektedir.

Regresyon modeli kullanılarak tahmini SÇKM değerleri hesaplanmış ve bu çalışmada yapılan deneme sonucunda elde edilen değerler ile Şekil 4.1’de karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.1. Tahmin edilen ve gözlemlenen SÇKM değerlerinin karşılaştırılması

Şekil 4.1’den de anlaşılacağı üzere tahmin edilen ve gözlemlenen değerler arasında uygun bir korelasyonun olduğu görülmektedir (SÇKM için  $R^2$  değeri: 0,9992). Burada  $R^2$  değerinin % 99,92 olması bağımsız değişkenlerle (sıcaklık, meyve:su oranı ve süre) SÇKM değerinin nitelenebilir olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.1'de verilen her deneme sonucu elde edilen ekstraktlarda belirlenen SÇKM değerleri istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda önemli bulunan kaynaklara ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların SÇKM değerlerine ait varyans analiz sonuçları ve regresyon katsayıları

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	5,617	0,055	102,4	0,000
$X_1$	0,359	0,034	10,70	0,000**
$X_2$	-2,366	0,034	-70,42	0,000**
$X_3$	0,081	0,034	2,419	0,025*
$X_1^2$	-0,033	0,049	-0,674	0,508
$X_2^2$	0,767	0,049	15,50	0,000**
$X_3^2$	-0,090	0,049	-1,812	0,085
$X_1X_2$	-0,000	0,048	-0,000	1,000
$X_1X_3$	0,019	0,048	0,395	0,697
$X_2X_3$	-0,131	0,048	-2,763	0,012*
Lack of-fit				0,237

\*p<0,05 \*\*p<0,01

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

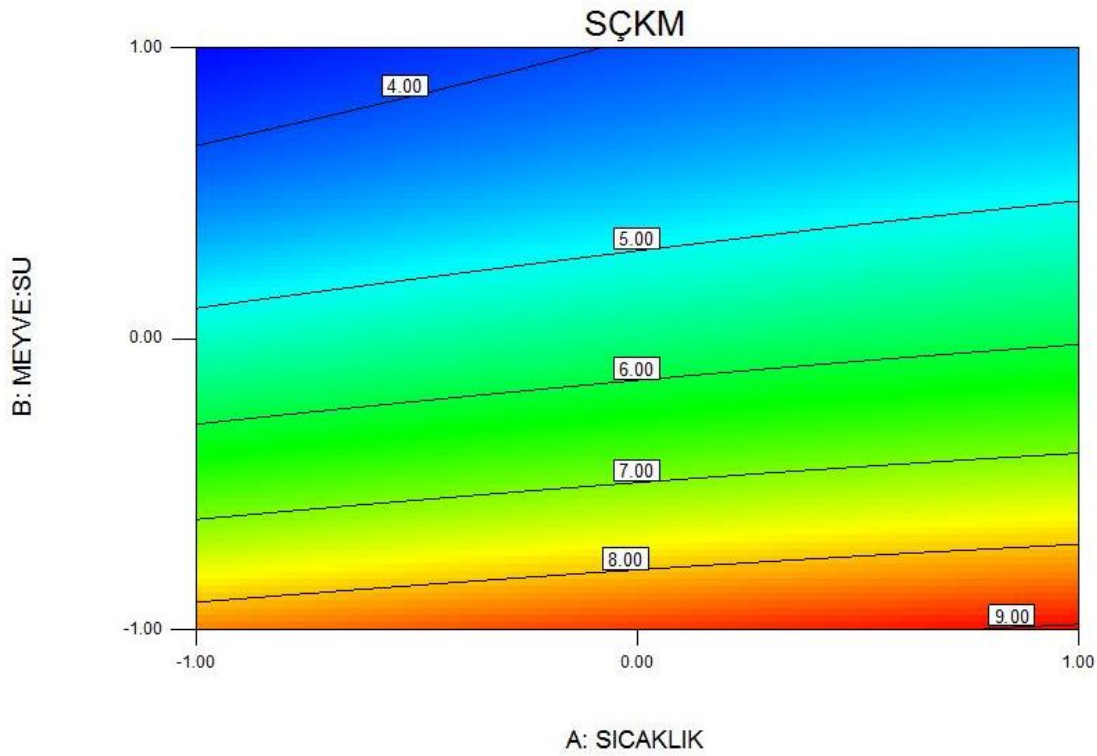
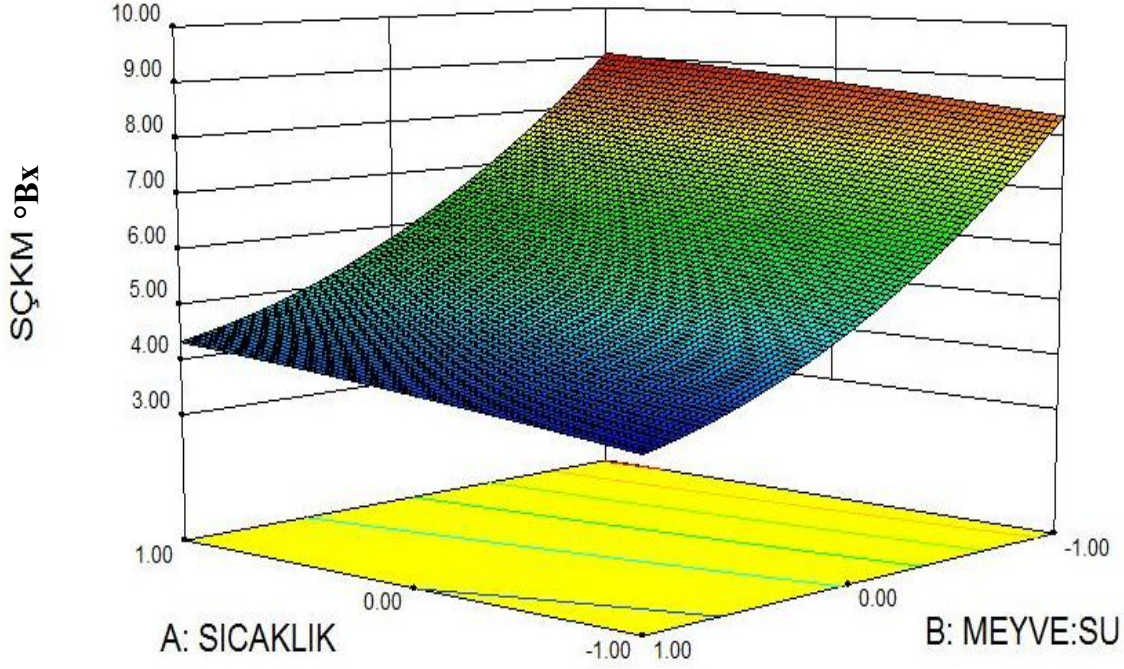
Farklı üretim koşullarıyla elde edilen andız meyvesi ekstraktlarının SÇKM değerleri üzerine bireysel olarak sıcaklık ve meyve:su oranı parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu (p<0,01), bunun yanında süre parametresinin de ekstraktların SÇKM değerleri üzerine istatistiksel olarak etkisi olduğu görülmektedir (p<0,05).

Buna ek olarak denemede kullanılan ana faktörlerin birlikte uygulanmasının SÇKM değerlerinde meydana getirebileceği etkilerin belirlenmesi amacıyla yapılan istatistiksel analizde ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksiyonları da incelenmiştir. İnceleme sonucunda örneklerin SÇKM değerleri üzerine meyve:su oranı ile meyve:su oranı interaksiyonu etkisinin önemli (p<0,01) olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda meyve:su oranı ile süre interaksiyonunun etkisinin de önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir. Önemli bulunan bu interaksiyonlar dışındaki diğer interaksiyonların ise örneklerin SÇKM değerleri üzerine etkilerinin önemsiz olduğu görülmektedir (P>0,05).

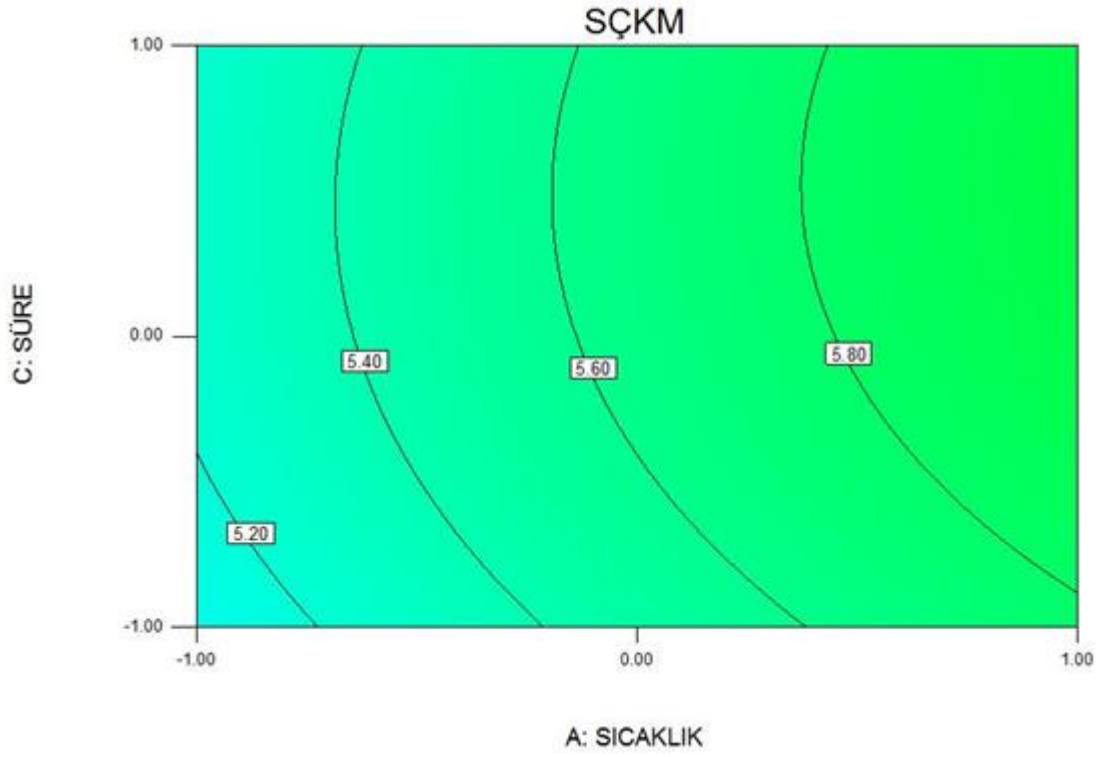
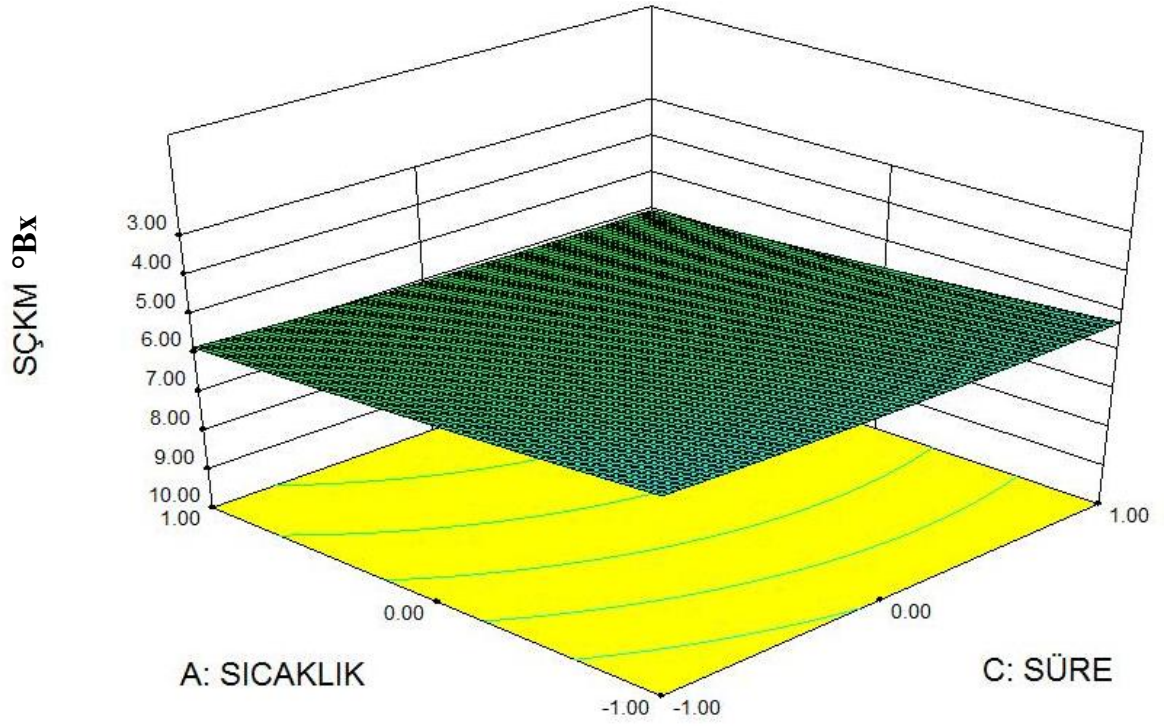
Meyve:su oranı, sıcaklık ve süre parametrelerinin artması örneklerin SÇKM içeriğinin artmasında doğru orantılı etki göstermiştir.

Denemede kullanılan ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksiyonları ve kontur plot (contour plot) grafikleri Şekil 4.2, 4.3 ve 4.4'te gösterilmiştir. Bu şekiller oluşturulurken her şekilde bulunan iki ana faktör dışında kalan diğer iki ana faktör optimizasyon modelinin hesaplamış olduğu optimize değerlerinde sabit tutulmuş ve böylece interaksiyonu incelenmek istenen ana faktörler arasındaki kıyaslama sağlanmıştır.

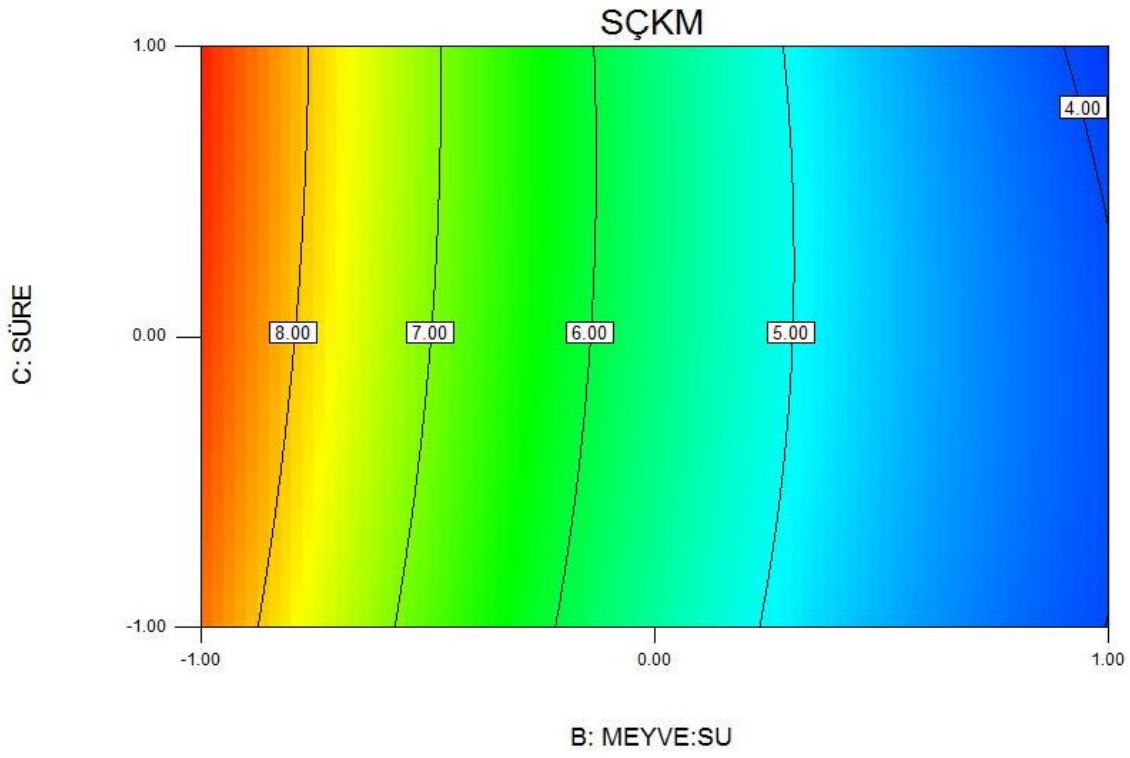
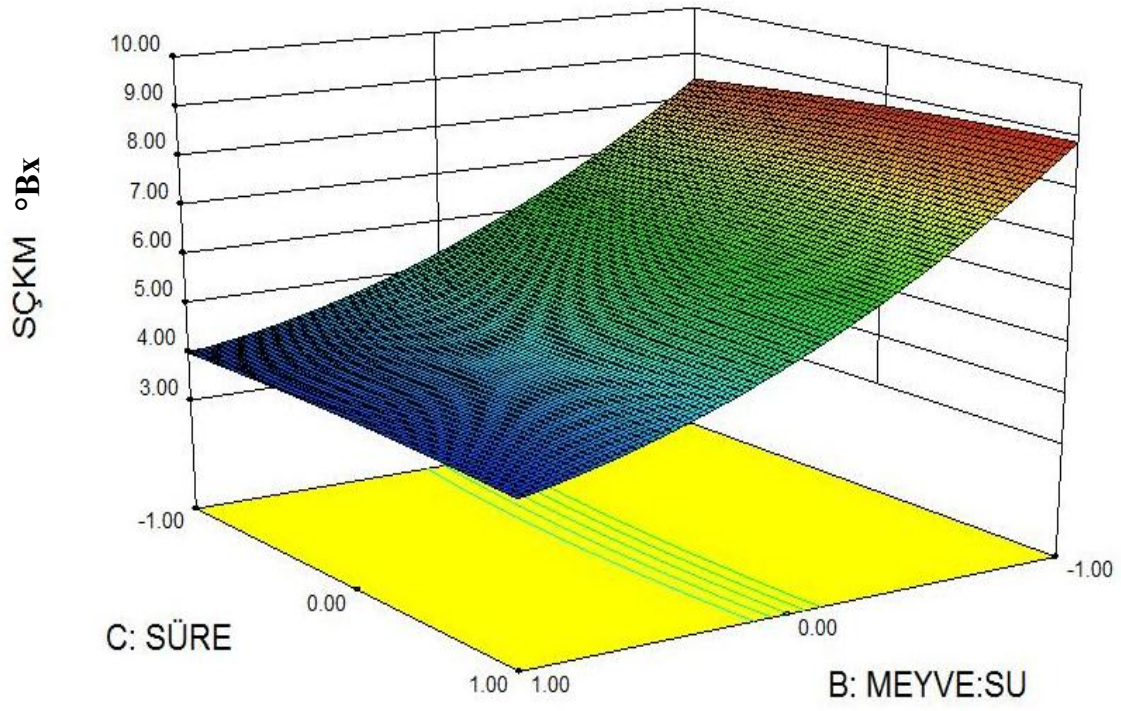
Farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen denemeler sonucunda artan ekstraksiyon sıcaklıklarında meyve matrisinden çözücüye daha fazla miktarda suda çözünebilir madde geçtiği görülmektedir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.2. SÇKM ekstraksiyonunun etkinliği üzerine sıcaklık ve meyve:su oranının etkisi



Şekil 4.3. SÇKM ekstraksiyonunun etkinliği üzerine sıcaklık ve sürenin etkisi



Şekil 4.4. SÇKM ekstraksiyonunun etkinliği üzerine süre ve meyve:su oranının etkisi

Denemede kullanılan diğ er ana faktörlerin (süre ve meyve:su oranı) sıcaklık faktörü ile SÇKM içeriklerinde meydana getirdiğ i değ iş iklikler Ş ekil 4.2 ve 4.3'te verilmiştir. Sıcaklık ile meyve:su oranının interaksyonu incelendiğ inde, her ne kadar istatistiksel olarak önemli görülme se de ( $P>0,05$  Ç izelge 4.2), sıcaklığ ın yaklaşık 90 °C olması durumunda meyve:su oranının artması daha yüksek SÇKM değ erine ulaşı lmasını sağ lamıştır (Ş ekil 4.2). Sıcaklık ve süre faktörlerinin artması örneklerin SÇKM değ erlerinin artmasında bireysel olarak etkili olmuş ken bu ana faktörler arasındaki interaksyon incelendiğ inde örneklerin SÇKM değ eri üzerine etkisinin önemli olmadığı görü lmektedir ( $P>0,05$ , Ç izelge 4.2) (Ş ekil 4.3).

Örneklerin SÇKM değ eri üzerine istatistiksel açıdan etkisi önemli bulunan meyve:su oranının diğ er ana faktörler ile olan interaksyonlarının SÇKM değ erleri üzerine etkileri Ş ekil 4.2 ve Ş ekil 4.4'te gösterilmektedir. Bu interaksyonlardan meyve:su oranı ile süre interaksyonunun (Ş ekil 4.4) ( $p<0,05$ , Ç izelge 4.2) ve meyve:su oranı ile meyve:su oranı interaksyonunun örneklerin SÇKM değ erini artırmada istatistiksel olarak önemli etkilerinin olduğu ( $p<0,01$ , Ç izelge 4.2) görü lmektedir. Ç izelge 4.1 incelendiğ inde en yüksek SÇKM değ erine (9,2 °Bx) 1:4 meyve:su oranında, 90°C ekstraksiyon sıcaklığ ında ve 105 dk. süre sonunda ulaşı ldığ ı görü lmektedir.

Baş ka bir ifade ile aynı miktarda meyve ve fakat farklı miktarlarda su kullanıldığ ı durumlarda su miktarı azaldıkça ekstraktların SÇKM içerikleri daha yüksek düzeyde bulunmuştur (Ç izelge 4.1).

Gerçekleştirilen varyans analizi neticesinde istatistiksel açıdan önemli bulunan ( $p<0,05$ ) ekstraksiyon süresi ana faktörünün diğ er ana faktörlerle olan interaksyonları Ş ekil 4.3, 4.4'te gösterilmektedir. Buna göre ekstraksiyon süresindeki artış a paralel olarak örneklerin SÇKM değ erlerinde artış gözlemlendiğ i belirlenmiştir.

#### **4.2. SÇKM Ekstraksiyonu İç in Oluşturulan Tahmin Modelinin Doğ rulanması**

CYM optimizasyon hesaplamalarında optimum SÇKM değ erine ulaş abilmek amacıyla bu çalış mada denenen ekstraksiyon parametreleri için optimum değ erler belirlenmiştir. Buna göre 90 °C ekstraksiyon sıcaklığ ı, 1:4 meyve:su oranı ve 180 dk. ekstraksiyon süresi (Composite desirability= 1) kullanılarak gerçekleştirilecek olan bir çalış mada tahmini elde edilecek olan SÇKM değ eri 9,22 °Bx olmalıdır.

Bu çalış mada elde edilen veriler kullanılarak oluşturulan modelin elde edilmesi amacıyla ekstraksiyon parametreleri için optimizasyon neticesinde verilen yukarıdaki şartlarda doğrulama testleri gerçekleştirilmiştir. Bu şartlar altında gerçekleştirilen doğrulama çalış maları sonucunda alınan 6 örneğ in SÇKM ortalaması 9,23 °Bx olarak belirlenmiştir. Buna göre doğrulama testleri sonucunda belirlenen SÇKM değ erinin regresyon modeli kullanılarak hesaplanan değ er ile uyumlu olduğu görü lmüştür.

### 4.3. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Elde edilen ekstraktlardan gerçekleştirilen TFM analizi sonucunda hesaplanan değerler Çizelge 4.3'te verilmiştir. Analiz sonuçlarında bulunan değerlere göre ekstraktların TFM içeriklerinin 892,57 mg/L ile 3968,37 mg/L düzeyinde değiştiği görülmektedir.

Çizelge 4.3. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin TFM içerikleri

Örnek no	Sıcaklık (°C)	Meyve:su oranı (w/v)	Süre (dk.)	TFM (mg/L)
1	50	1:6.5	30	1091,77
2	50	1:6.5	30	1140,98
3	50	1:4	105	2243,92
4	50	1:4	105	2270,23
5	50	1:9	105	897,59
6	50	1:9	105	892,57
7	50	1:6.5	180	1325,66
8	50	1:6.5	180	1275,47
9	70	1:9	30	1011,61
10	70	1:9	30	1136,60
11	70	1:4	30	2348,93
12	70	1:4	30	2190,08
13	70	1:6.5	105	1718,40
14	70	1:6.5	105	1686,24
15	70	1:6.5	105	1677,95
16	70	1:6.5	105	1670,65
17	70	1:6.5	105	1545,90
18	70	1:6.5	105	1524,46
19	70	1:4	180	2436,63
20	70	1:4	180	2346,98
21	70	1:9	180	1189,22
22	70	1:9	180	1072,28
23	90	1:6.5	30	2116,01
24	90	1:6.5	30	2249,52
25	90	1:4	105	3886,51
26	90	1:4	105	3968,37
27	90	1:9	105	2100,66
28	90	1:9	105	2011,49
29	90	1:6.5	180	2796,24
30	90	1:6.5	180	2723,15

Yukarıdaki çizelgede de görüldüğü gibi meyve:su oranının arttığı durumlarda örneklerin TFM içeriklerinin daha yüksek olduğu, bunun yanında sıcaklık ile süre artışının örneklerin fenolik madde içeriğinin artmasına doğru orantılı etki gösterdiği görülmektedir.



Çizelge 4.4. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların TFM değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	1637	53,61	30,54	0,000
$X_1$	669,6	32,83	20,40	0,000**
$X_2$	-711,2	32,83	-21,67	0,000**
$X_3$	117,5	32,83	3,580	0,002**
$X_1^2$	385,0	48,32	7,967	0,000**
$X_2^2$	261,7	48,32	5,415	0,000**
$X_3^2$	-182,4	48,32	-3,775	0,001**
$X_1X_2$	-127,3	46,43	-2,743	0,013*
$X_1X_3$	98,18	46,43	2,115	0,047*
$X_2X_3$	-16,41	46,43	-0,354	0,727
Lack of-fit				0,000

\*p<0,05 \*\*p<0,01

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Farklı üretim koşullarıyla elde edilen andız meyvesi ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine bireysel olarak sıcaklık, meyve:su oranı ve süre parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir (p<0,01). Buna ek olarak denemede kullanılan ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksiyonları incelendiğinde sıcaklık x sıcaklık, meyve:su oranı x meyve:su oranı, süre x süre interaksiyonlarının etkilerinin önemli (p<0,01) olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda sıcaklık x meyve:su oranı interaksiyonu ve sıcaklık x süre interaksiyonunun da önemli etkisinin (p<0,05) olduğu belirlenmiştir.

Miceli vd (2011) yapmış oldukları çalışmada Türkiye'den alınan *Juniperus drupacea* Labill. meyvelerinin metanol ekstraktının fenolik profilini incelemişler ve TFM içeriğinin  $48,06 \pm 0,99$  (mg GAE/g ekstrakt) olduğunu belirtmişlerdir. Miceli vd (2009) yapmış oldukları diğer bir çalışmada ise Türkiye'den alınan *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis*. Pall. meyvelerinin metanol ekstraktının TFM içeriğini incelemişler ve TFM içeriğini sırayla  $59,17 \pm 1,65$  (mg GAE/g ekstrakt) ile  $17,64 \pm 0,09$  (mg GAE/g ekstrakt) olarak bulmuşlardır.

Lesjak vd (2011) yapmış oldukları çalışmada Sırbistan'dan alınan *Juniperus sibirica* Burgsdorf kozalaklarının metanol ekstraktının fenolik profilini incelemişler ve kozalakların TFM içeriğinin  $62,13 \pm 9,47$  (mg GAE/g kuru ağırlık) olduğunu belirtmişlerdir.

Taviano vd (2011) yapmış oldukları araştırmada Antalya-Konya yolu arasındaki bölgeden alınan *Juniperus drupacea* Labill dallarının su ve metanol ekstraksiyon işlemi sonrası TFM madde içeriklerini incelemişlerdir. Su ile yapılan ekstraksiyon sonucu fenolik madde içeriğini  $98,74 \pm 0,49$  (mg GAE/g kuru ağırlık) olarak hesaplamışken metanol ile yapılan ekstraksiyon sonucu  $184,23 \pm 4,33$  (mg GAE/g kuru ağırlık) olarak hesaplamışlardır.

Bu çalışmadan elde edilen TFM içeriklerine ait değerlerin literatür bilgisinden daha düşük düzeylerde olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin ise yapılan çalışmada ham madde olarak *Juniperus drupacea* meyvesi ve ekstraksiyon çözeltisi olarak su kullanılmasına karşın literatür bilgisinde farklı ham maddelerin, ekstraksiyon

çözeltilisinin ve ekstraksiyon koşullarının kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4.4. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri

CYM kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışması sonucunda elde edilen örneklerde pH ve titrasyon asitliği (susuz sitrik asit cinsinden) analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin pH ve titrasyon asitliği değerleri

Örnek no	Sıcaklık (°C)	Meyve:su oranı (w/v)	Süre (dk.)	pH	Titrasyon asitliği
1	50	1:6.5	30	4,93	0,10
2	50	1:6.5	30	4,93	0,09
3	50	1:4	105	4,90	0,15
4	50	1:4	105	4,90	0,15
5	50	1:9	105	4,93	0,07
6	50	1:9	105	4,95	0,07
7	50	1:6.5	180	4,92	0,10
8	50	1:6.5	180	4,93	0,09
9	70	1:9	30	4,95	0,07
10	70	1:9	30	4,94	0,07
11	70	1:4	30	4,92	0,15
12	70	1:4	30	4,94	0,16
13	70	1:6.5	105	4,93	0,10
14	70	1:6.5	105	4,93	0,11
15	70	1:6.5	105	4,93	0,10
16	70	1:6.5	105	4,93	0,10
17	70	1:6.5	105	4,92	0,10
18	70	1:6.5	105	4,95	0,11
19	70	1:4	180	4,92	0,17
20	70	1:4	180	4,92	0,16
21	70	1:9	180	4,95	0,07
22	70	1:9	180	4,94	0,08
23	90	1:6.5	30	4,95	0,11
24	90	1:6.5	30	4,94	0,11
25	90	1:4	105	4,85	0,18
26	90	1:4	105	4,82	0,17
27	90	1:9	105	4,83	0,08
28	90	1:9	105	4,85	0,08
29	90	1:6.5	180	4,83	0,12
30	90	1:6.5	180	4,83	0,12

Örneklerin pH değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı Çizelge 4.5'teki veriler kullanılarak gerçekleştirilen varyans analizi sonuçlarından da görülmektedir (Çizelge 4.6). Varyans analiz sonuçları incelendiğinde hem ana faktörlerin hem de interaksiyonların örneklerin pH değerleri üzerinde herhangi bir farklılığa sebep olmadıkları anlaşılmaktadır ( $P>0,05$ ).

Çizelge 4.6. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların pH değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	4,932	0,290	17,02	0,000
$X_1$	-0,031	0,178	-0,173	0,865
$X_2$	-0,239	0,178	-1,349	0,193
$X_3$	0,234	0,178	1,317	0,203
$X_1^2$	0,210	0,261	0,803	0,431
$X_2^2$	-0,263	0,261	-1,006	0,327
$X_3^2$	-0,234	0,261	-0,895	0,381
$X_1X_2$	-0,009	0,251	-0,035	0,973
$X_1X_3$	-0,028	0,251	-0,110	0,914
$X_2X_3$	0,503	0,251	2,002	0,059
Lack of-fit				0,248

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Ancak örneklerin titrasyon asitliği değerleri kullanılarak gerçekleştirilen varyans analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.7) meyve:su oranının örneklerin titrasyon değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli bulunduğu ( $p<0,01$ ), diğer ana faktörlerin ve interaksiyonlarının ise etkisiz olduğu ( $p<0,05$ ) görülmektedir.

Çizelge 4.7. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların titrasyon asitliği değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	0,153	0,025	6,198	0,000
$X_1$	0,009	0,015	0,619	0,543
$X_2$	-0,044	0,015	-2,888	0,009**
$X_3$	0,003	0,015	0,206	0,839
$X_1^2$	-0,023	0,022	-1,028	0,316
$X_2^2$	-0,012	0,022	-0,523	0,607
$X_3^2$	-0,025	0,022	-1,140	0,268
$X_1X_2$	-0,004	0,021	-0,175	0,863
$X_1X_3$	0,003	0,021	0,117	0,908
$X_2X_3$	-0,001	0,021	-0,058	0,954
Lack of-fit				1,000

\*\* $p<0,01$

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

#### 4.5. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların DPPH Yöntemi Kullanılarak Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri

CYM kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışması sonucunda elde edilen örneklerde antioksidan aktivite analizleri DPPH yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin antioksidan aktivite içerikleri

Örnek no	Sıcaklık (°C)	Meyve:su oranı (w/v)	Süre (dk.)	DPPH (µL/mg)
1	50	1:6.5	30	107,75
2	50	1:6.5	30	108,07
3	50	1:4	105	7,96
4	50	1:4	105	8,03
5	50	1:9	105	124,70
6	50	1:9	105	122,97
7	50	1:6.5	180	88,69
8	50	1:6.5	180	90,55
9	70	1:9	30	111,26
10	70	1:9	30	111,44
11	70	1:4	30	58,49
12	70	1:4	30	58,98
13	70	1:6.5	105	66,34
14	70	1:6.5	105	66,56
15	70	1:6.5	105	70,56
16	70	1:6.5	105	68,51
17	70	1:6.5	105	67,54
18	70	1:6.5	105	66,15
19	70	1:4	180	60,25
20	70	1:4	180	60,75
21	70	1:9	180	97,84
22	70	1:9	180	98,45
23	90	1:6.5	30	57,74
24	90	1:6.5	30	55,04
25	90	1:4	105	31,84
26	90	1:4	105	32,13
27	90	1:9	105	61,57
28	90	1:9	105	61,90
29	90	1:6.5	180	47,03
30	90	1:6.5	180	47,08

Çizelge 4.8 incelendiğinde meyve:su oranı, sıcaklık ve sürenin artması durumunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinde artış görüldüğü ve buna bağlı olarak yüksek antioksidan aktiviteyi ifade eden daha düşük IC<sub>50</sub> değerlerinin elde edildiği görülmektedir. Nitekim Rodríguez vd (2005) IC<sub>50</sub> değerini başlangıç DPPH konsantrasyonunu % 50 azaltmak için gereken örnek konsantrasyonu veya miktarı olarak ifade etmiş ve antioksidan aktiviteyi belirlemede sıklıkla kullanılan bir değer olduğunu belirtmiştir. Bir başka ifade ile düşük IC<sub>50</sub> değerleri yüksek antioksidan aktiviteyi ifade etmektedir.

Çizelge 4.8'deki veriler kullanılarak gerçekleştirilen istatistiksel analiz neticesinde varyans analiz sonuçları elde edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayıları

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	67,61	3,692	18,31	0,000
$X_1$	-16,52	2,261	-7,308	0,000**
$X_2$	29,48	2,261	13,04	0,000**
$X_3$	-4,881	2,261	-2,159	0,043*
$X_1^2$	-9,081	3,328	-2,728	0,013*
$X_2^2$	-2,140	3,328	-0,643	0,528
$X_3^2$	16,71	3,328	5,022	0,000**
$X_1X_2$	-21,52	3,198	-6,731	0,000**
$X_1X_3$	2,239	3,198	0,700	0,492
$X_2X_3$	-3,742	3,198	-1,170	0,256
Lack of-fit				0,000

\*p<0,05 \*\*p<0,01

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Farklı üretim koşullarıyla elde edilen andız meyvesi ekstraktlarının antioksidan aktivite içerikleri üzerine, sıcaklık ve meyve:su oranı parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli oldukları (p<0,01) görülmektedir. Bunun yanında süre parametresinin de ekstraktların antioksidan aktivitesi üzerine diğer iki parametre kadar önemli olmasa bile etkili olduğu görülmektedir (p<0,05).

Aynı zamanda denemede kullanılan ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksiyonları da incelenmiştir. İnceleme sonucunda örneklerin antioksidan aktiviteleri üzerine süre x süre ve sıcaklık x meyve:su oranı interaksiyonlarının önemli etkilerinin (p<0,01) olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak sıcaklık x sıcaklık interaksiyonunun da önemli etkisinin olduğu görülmektedir (P>0,05).

Miceli vd (2011) yapmış oldukları çalışmada Türkiye'den alınan *Juniperus drupacea* Labill. meyvelerinin metanol ekstraktının antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemi ile belirlemişler ve genel olarak ekstraktların antioksidan aktivitelerinin IC<sub>50</sub> 0,38 ± 0,02 mg/mL olduğunu bildirmişlerdir.

Miceli vd (2009) yapmış oldukları diğer bir çalışmada ise Türkiye'den alınan *Juniperus communis* L. var. *communis* (Jcc) and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis*. Pall. (Jcs) meyvelerinin metanol ekstraksiyonunun in vitro antioksidan aktivitelerini inceledikleri bir çalışmada çeşitlerin antioksidan aktivite değerlerinin sırasıyla IC<sub>50</sub> 0,63 ± 0,09 mg/mL ve 1,84 ± 0,10 mg/mL olduğunu bildirmişlerdir.

Leşjak vd (2011) yapmış oldukları çalışmada Sırbistan'dan alınan *Juniperus sibirica* Burgsdorf kozalaklarının metanol ekstraktının antioksidan aktivitesini incelemişler ve kozalakların aktivitelerinin DPPH radikaline karşı iğnelere göre daha düşük (IC<sub>50</sub> 15,22 ± 0,88 µg/mL) olduğunu belirtmişlerdir.

Taviano vd (2011) yapmış oldukları araştırmada Antalya-Konya yolu arasındaki bölgeden alınan *Juniperus drupacea* Labill dallarının su ve metanol ekstraksiyon işlemi sonrası antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Su ile yapılan ekstraksiyonda antioksidan aktivite içeriği (IC<sub>50</sub> 0,898 ± 0,052 mg/mL) olarak bulunurken metanol ile

yapılan ekstraksiyon sonucu antioksidan aktivite içeriği ( $IC_{50}$   $0,120 \pm 0,002$  mg/mL) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak andız meyvelerinin metanol ekstraktlarının daha yüksek DPPH aktivitesi gösterdiği görülmektedir.

Yapılan bu çalışma neticesinde elde edilen ekstraktların  $IC_{50}$  değerlerinin  $7,96 \mu\text{L}/\text{mg}$  ile  $124,70 \mu\text{L}/\text{mg}$  arasında değiştiği, elde edilen bu sonuçların literatür bilgisinden farklı olmasının farklı türde meyve, meyve kısımları, ekstraksiyon çözeltisi ve ekstraksiyon koşulları kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4.6. Farklı Sıcaklık, Meyve:su Oranı ve Süre ile Elde Edilen Ekstraktların ABTS Yöntemi Kullanılarak Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri

Gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışmaları ve kullanılan CYM sonucunda elde edilen örneklerde antioksidan aktivite analizleri ABTS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin antioksidan aktivite içerikleri

Örnek no	Sıcaklık (°C)	Meyve:su oranı (w/v)	Süre (dk.)	ABTS (mM Trolox/mL)
1	50	1:6.5	30	7,23
2	50	1:6.5	30	7,20
3	50	1:4	105	11,36
4	50	1:4	105	11,55
5	50	1:9	105	6,15
6	50	1:9	105	6,18
7	50	1:6.5	180	7,76
8	50	1:6.5	180	8,13
9	70	1:9	30	9,12
10	70	1:9	30	9,04
11	70	1:4	30	13,24
12	70	1:4	30	13,14
13	70	1:6.5	105	10,51
14	70	1:6.5	105	10,28
15	70	1:6.5	105	10,13
16	70	1:6.5	105	10,22
17	70	1:6.5	105	10,21
18	70	1:6.5	105	10,50
19	70	1:4	180	12,19
20	70	1:4	180	12,79
21	70	1:9	180	7,61
22	70	1:9	180	7,31
23	90	1:6.5	30	11,65
24	90	1:6.5	30	11,91
25	90	1:4	105	25,05
26	90	1:4	105	24,72
27	90	1:9	105	10,94
28	90	1:9	105	11,02
29	90	1:6.5	180	14,75
30	90	1:6.5	180	14,94

Yukarıdaki çizelge incelendiğinde sıcaklık, meyve:su oranı ve süre parametrelerinin artmasıyla örneklerin antioksidan aktivitelerinin doğru orantılı olarak arttığı görülmektedir. Bulunan veriler kullanılarak gerçekleştirilen istatistiksel analiz neticesinde varyans analiz sonuçları elde edilmiş ve Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	10,31	0,623	16,57	0,000
$X_1$	3,714	0,382	9,730	0,000**
$X_2$	-3,542	0,382	-9,279	0,000**
$X_3$	0,185	0,382	0,486	0,633
$X_1^2$	1,477	0,562	2,629	0,016*
$X_2^2$	1,586	0,562	2,824	0,010*
$X_3^2$	-1,340	0,562	-2,385	0,027*
$X_1X_2$	-2,154	0,540	-3,990	0,001**
$X_1X_3$	0,589	0,540	1,081	0,292
$X_2X_3$	-0,229	0,540	-0,425	0,675
Lack of-fit				0,000

\*p<0,05 \*\*p<0,01

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Farklı üretim koşullarıyla elde edilen andız meyvesi ekstraktlarının antioksidan aktivite içerikleri üzerine sıcaklık ve meyve:su oranı parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu (p<0,01), buna karşılık süre parametresinin ekstraktların antioksidan aktivitesi üzerine etkisinin önemsiz olduğu görülmektedir (p<0,05).

Buna ek olarak ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksiyonları incelendiğinde örneklerin antioksidan aktiviteleri üzerine sıcaklık x meyve:su oranı interaksiyonunun önemli etkisinin (p<0,01) olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda sıcaklık x sıcaklık, meyve:su oranı x meyve:su oranı interaksiyonlarının ve süre x süre interaksiyonunun da önemli etkilerinin olduğu görülmektedir (P>0,05).

#### 4.7. Farklı Sıcaklık, Meyve:Su Oranı ve Süre Kullanılarak Gerçekleştirilen Ekstraksiyon Sonucunda Elde Edilen Örneklerin Sakaroz, Glikoz ve Fruktoz İçerikleri

Ekstraksiyon denemeleri neticesinde elde edilen örneklerde gerçekleştirilen serbest şeker analizi neticesinde örneklerin sakaroz, glikoz ve fruktoz içerikleri belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen örneklerin sakaroz, glikoz ve fruktoz içerikleri

Örnek no	Sıcaklık (°C)	Meyve:su Oranı (w/v)	Süre (dk.)	Sakaroz (g/L)	Glikoz (g/L)	Fruktoz (g/L)
1	50	1:6.5	30	10,48	11,95	12,83
2	50	1:6.5	30	9,97	11,54	12,45
3	50	1:4	105	13,11	21,85	24,29
4	50	1:4	105	13,23	22,09	24,37
5	50	1:9	105	6,50	9,30	10,31
6	50	1:9	105	6,42	9,33	10,48
7	50	1:6.5	180	6,24	14,59	15,97
8	50	1:6.5	180	5,78	13,69	15,04
9	70	1:9	30	7,74	9,25	10,34
10	70	1:9	30	7,65	9,08	10,10
11	70	1:4	30	14,82	19,59	21,36
12	70	1:4	30	15,94	21,08	23,37
13	70	1:6.5	105	9,13	12,94	14,36
14	70	1:6.5	105	9,16	13,36	14,39
15	70	1:6.5	105	9,43	13,66	15,22
16	70	1:6.5	105	9,48	13,82	15,17
17	70	1:6.5	105	9,26	13,45	14,85
18	70	1:6.5	105	9,42	13,38	14,75
19	70	1:4	180	10,91	23,29	25,41
20	70	1:4	180	11,16	23,78	26,12
21	70	1:9	180	6,19	9,28	10,35
22	70	1:9	180	6,45	9,84	10,75
23	90	1:6.5	30	11,12	11,63	12,91
24	90	1:6.5	30	12,64	12,69	14,06
25	90	1:4	105	18,07	19,82	21,46
26	90	1:4	105	17,41	19,30	20,88
27	90	1:9	105	7,81	8,33	9,15
28	90	1:9	105	8,10	8,52	9,39
29	90	1:6.5	180	11,41	12,72	13,94
30	90	1:6.5	180	10,78	12,23	13,28

Yukarıdaki çizelge incelendiğinde meyve oranının fazla, ekstraksiyon sıcaklığının yüksek ve sürenin uzun olduğu durumlarda daha yüksek miktarlarda sakaroz, glikoz ve fruktoz değerlerinin elde edildiği görülmektedir.

Örneklerin sakaroz değerleri kullanılarak gerçekleştirilen varyans analizi sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.13'te verilmiştir.



Çizelge 4.13. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların sakaroz değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Regresyon katsayısı	Standart hata	T	p değerleri
$\gamma_0$	9,315	0,243	38,33	0,000
$X_1$	1,600	0,149	10,75	0,000**
$X_2$	-3,612	0,149	-24,27	0,000**
$X_3$	-1,341	0,149	-9,011	0,000**
$X_1^2$	0,856	0,219	3,906	0,001**
$X_2^2$	1,161	0,219	5,300	0,000**
$X_3^2$	-0,369	0,219	-1,683	0,108
$X_1X_2$	-0,767	0,211	-3,641	0,002**
$X_1X_3$	0,856	0,211	4,069	0,001**
$X_2X_3$	0,742	0,211	3,524	0,002**
Lack of-fit				0,001

\*p<0,05 \*\*p<0,01

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Farklı üretim koşullarıyla elde edilen keçiyoynuzu ekstraktlarının sakaroz içerikleri üzerine bireysel olarak sıcaklık, meyve:su oranı ve süre parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir (p<0,01).

Buna ilaveten denemede kullanılan ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksiyonları incelendiğinde örneklerin sakaroz içerikleri üzerine sıcaklık x sıcaklık, meyve:su oranı x meyve:su oranı, sıcaklık ile meyve:su oranı, sıcaklık x süre interaksiyonlarının ve meyve:su oranı x süre interaksiyonunun önemli etkilerinin (p<0,01) olduğu belirlenmiştir. Önemli bulunan bu interaksiyonlar dışındaki süre x süre interaksiyonunun ise örneklerin sakaroz içerikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir (P>0,05).

Örneklerin glikoz içeriklerine farklı uygulamaların etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen varyans analizine ait veriler ise Çizelge 4.14’te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların glikoz değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Standart hata	Regresyon katsayısı	T	p değerleri
$\gamma_0$	13,43	0,202	66,37	0,000
$X_1$	-0,569	0,124	-4,592	0,000**
$X_2$	-6,117	0,124	-49,34	0,000**
$X_3$	0,787	0,124	6,351	0,000**
$X_1^2$	-0,820	0,183	-4,491	0,000**
$X_2^2$	2,202	0,183	12,07	0,000**
$X_3^2$	0,015	0,183	0,080	0,937
$X_1X_2$	0,380	0,175	2,170	0,042*
$X_1X_3$	-0,518	0,175	-2,956	0,008**
$X_2X_3$	-0,702	0,175	-4,003	0,001**
Lack of-fit				0,058

\*p<0,05 \*\*p<0,01

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Farklı üretim koşullarıyla elde edilen keçiyoynuzu ekstraktlarının glikoz içerikleri üzerine, sakaroz içeriğinde olduğu gibi, bireysel olarak sıcaklık, meyve:su

oranı ve süre parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir ( $p<0,01$ ).

Ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksyonları da incelendiğinde örneklerin glikoz içerikleri üzerine sıcaklık x sıcaklık, meyve:su oranı x meyve:su oranı, sıcaklık x süre interaksyonlarının ve meyve:su oranı x süre interaksyonunun önemli etkilerinin ( $p<0,01$ ) olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında sıcaklık x meyve:su oranı interaksyonunun ekstraktların glikoz konsantrasyonu üzerine etkili olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). Önemli bulunan bu interaksyonlar dışındaki süre x süre interaksyonunun ise örneklerin glikoz içerikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $P>0,05$ ).

Örneklerin fruktoz değerleri kullanılarak gerçekleştirilen varyans analizi sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve süre kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların fruktoz değerlerine ait varyans analiz tablosu ve regresyon katsayısı

Kaynaklar <sup>ab</sup>	Standart hata	Regresyon katsayısı	T	p değerleri
$\gamma_0$	14,79	0,258	57,314	0,000
$X_1$	-0,667	0,158	-4,220	0,000**
$X_2$	-6,651	0,158	-42,085	0,000**
$X_3$	0,841	0,158	5,319	0,000**
$X_1^2$	-0,958	0,233	-4,119	0,001**
$X_2^2$	2,458	0,233	10,568	0,000**
$X_3^2$	-0,022	0,233	-0,094	0,926
$X_1X_2$	0,509	0,224	2,277	0,034*
$X_1X_3$	-0,685	0,224	-3,066	0,006**
$X_2X_3$	-0,767	0,224	-3,431	0,003**
Lack of-fit				0,024

\* $p<0,05$  \*\* $p<0,01$

<sup>ab</sup>  $X_1$  sıcaklığı,  $X_2$  meyve:su oranını ve  $X_3$  ise ekstraksiyon süresi faktörlerini temsil etmektedir.

Farklı üretim koşullarıyla elde edilen keçiboynuzu ekstraktlarının fruktoz içerikleri üzerine, sakaroz ve fruktoz içeriklerinde de görüldüğü gibi, bireysel olarak sıcaklık, meyve:su oranı ve süre parametrelerinin etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmektedir ( $p<0,01$ ).

Ana faktörlerin birbirleriyle olan interaksyonlarının incelenmesi sonucunda örneklerin glikoz içerikleri üzerine sıcaklık x sıcaklık, meyve:su oranı x meyve:su oranı, sıcaklık x süre interaksyonlarının ve meyve:su oranı x süre interaksyonunun önemli etkilerinin ( $p<0,01$ ) olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında sıcaklık x meyve:su oranı interaksyonunun ekstraktların fruktoz konsantrasyonu üzerine etkili olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). Önemli bulunan bu interaksyonlar dışındaki süre x süre interaksyonunun ise örneklerin fruktoz içerikleri üzerine etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $P>0,05$ ).

#### 4.8. Antioksidan Aktivitelerin Karşılaştırılması

Antioksidan tayin yöntemlerinin karşılaştırılması için iki temel prensip ve birçok antioksidan tayin metodu bulunmaktadır. Huang vd (2005) antioksidanların indirgeyici kapasitelerini ölçmek için birden çok elektron transfer (ET) temelli yöntemlerin kullanılması ile sonuçlar arasında lineer ilişki görüldüğünü belirtmiştir. Yapılan araştırmalarda toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite (FRAP, TEAC ya da DPPH) arasında ilişki bulunduğu belirtilmiştir. Bu yöntemler benzer redoks reaksiyonlarını temel aldığı için indirgeyici antioksidan kapasiteyi ölçmek için çok sayıda yöntem kullanmanın gereksiz olduğunu fakat yaygın olarak kabul edilen ve geçerli bir yöntem kullanmanın önemli olduğunu göstermiştir.

Bu yöntemlerden en çok kullanılan ve dayandığı prensipler üzerinden birbirleriyle karşılaştırılabilirliği açısından uygun olan üç farklı antioksidan aktivitesi tayin metodu bu amaçla kullanılmıştır. Uygulanan metotlar sırasıyla:

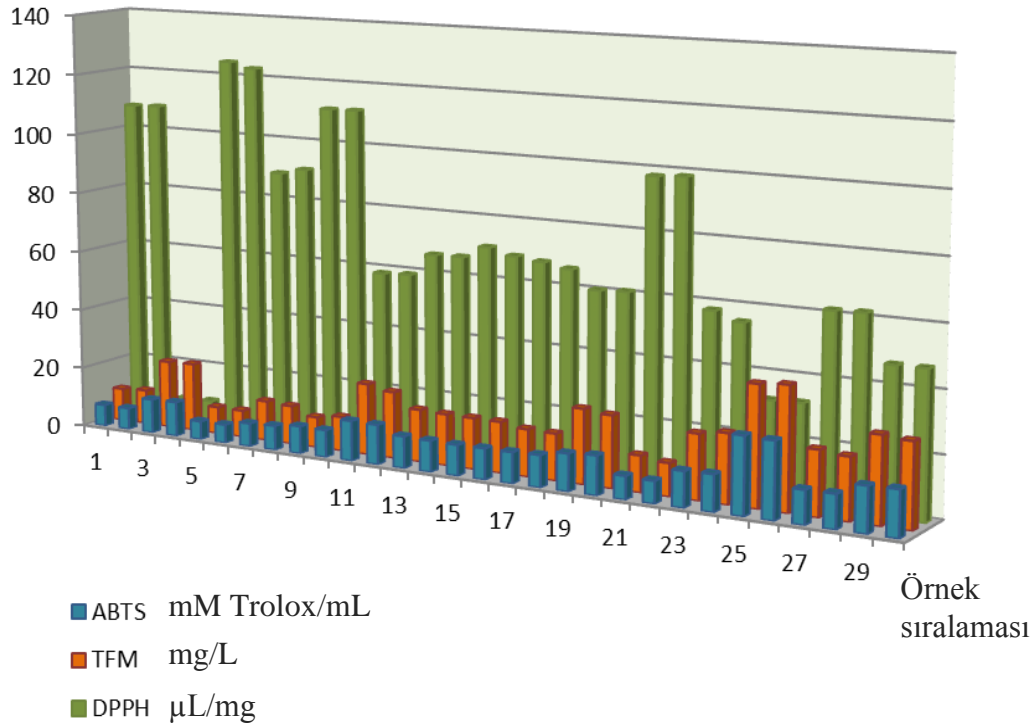
1. DPPH antioksidan tayin metodu
2. ABTS antioksidan tayin metodu
3. Folin-Ciocalteu TFM tespit yöntemi

Bu amaçla yapılan çalışmada andız meyvesi ekstraktlarına uygulanan DPPH ve ABTS analizleri sonucunda ekstraktlarda gözlemlenen antioksidan potansiyelleri ve TFM analizi sonucunda gözlemlenen fenolik potansiyelleri karşılaştırılmış ve sonuçlar arasındaki korelasyon incelenmiştir. Andız meyvesi ekstraktlarına uygulanan DPPH, ABTS ve TFM analizleri sonucunda gözlenen değerler Şekil 4.5'te verilmiştir.

Gülçin vd (2004) kararlı bir serbest radikal olan DPPH'in, antioksidan maddelerden elektron ve hidrojen radikallerini kabul ederek, kararlı moleküllere dönüştüğünü belirtmiştir. Antioksidan maddelerin, DPPH üzerindeki serbest radikal indirgeme kapasitelerinin, ölçülen absorbanstaki düşüşle kendini gösterdiğini de eklemiştir.

Prior ve Cao (1999) ABTS analizi yönteminin temelini 660, 734 ve 820 nm'de maksimum olan karakteristik uzun dalga boylu absorpsiyon spektrumu gösteren ABTS radikal katyonun absorbanasının antioksidan tarafından inhibisyonuna dayandığını belirtmişlerdir.

Magalhães vd (2008) TFM yönteminin fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a elektron transfer edilmesine dayandığını belirtmiştir. Mavi renkli kompleks oluşumunun 750-765 nm'de spektrofotometrik olarak belirlendiğini ve standart bileşik olarak genellikle gallik asit kullanıldığını eklemiştir.



Şekil 4.5. Andız meyvesi ekstraktlarına uygulanan DPPH, ABTS ve TFM analizleri sonucunda gözlemlenen değerler

Şekil 4.5 incelendiğinde DPPH yöntemi ile antioksidan analizi sonucunda en yüksek antioksidan aktiviteye 50 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 105 dk. sonunda elde edilen 3 ve 4 numaralı örneklerin ve 90 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 105 dk. sonunda elde edilen 25 ve 26 numaralı örneklerin sahip olduğu görülmektedir. En düşük antioksidan aktiviteye ise 50 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:9 meyve:su oranında, 105 dk. sonunda elde edilen 5 ve 6 numaralı örneklerin sahip olduğu anlaşılmaktadır. ABTS ve TFM analizleri sonucunda ise en yüksek antioksidan aktivite ile fenolik madde içeriğine 90 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 105 dk. sonunda elde edilen 25 ve 26 numaralı örneklerin sahip olduğu görülürken en düşük antioksidan aktivite ve fenolik madde içeriğine ise 50 °C ekstraksiyon sıcaklığında, 1:9 meyve:su oranında, 105 dk. sonunda elde edilen 5 ve 6 numaralı örneklerin sahip olduğu görülmektedir. Sonuçlardan da anlaşılacağı üzere uygulanan yöntemler ve etkileri arasında bir korelasyon olduğu ve birbirini desteklediği görülmektedir.

## 5.SONUÇ

Andız meyvesinde ekstraksiyon aşamasının optimizasyonu amacıyla en yüksek SÇKM değeri (9,2°Bx) 90 °C sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında 105 dk. sonunda elde edilmiştir. Andız meyvelerinin ekstraksiyonunda elde edilen ekstraktların SÇKM değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında en yüksek SÇKM değeri olan 9,2 °Bx'e yakın sonuçlar farklı çalışma parametrelerinde de elde edilmiştir. 70 °C sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 180 dk. sonunda 8,9 °Bx ve 50 °C sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında, 105 dk. sonunda 8,5 °Bx değerleri elde edilmiştir. Alınan bu sonuçlar ekstraksiyon yüksek sıcaklıkta yapılan ekstraksiyona alternatif olarak düşünülebilir.

Aynı zamanda elde edilen veriler kullanılarak bir optimizasyon modeli oluşturulmuş ve modelin uygunluğunun belirlenmesi amacıyla doğrulama testleri gerçekleştirilmiştir. Doğrulama testleri (90 °C sıcaklık, 1:4 meyve:su oranında 180 dk.) sonucunda elde edilen ekstraktların SÇKM değerinin (9,23 °Bx), optimizasyon modeli kullanılarak hesaplanan beklenen SÇKM değeri (9,22 °Bx) ile % 99,92 oranında korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Böylelikle herhangi bir zamanda farklı sıcaklık, meyve:su oranı ve ekstraksiyon süresi kullanılması durumunda elde edilecek ekstraktların SÇKM içeriklerinin ne olacağını matematiksel olarak hesaplanacağı doğrulanmış bir matematiksel model elde edilmiştir.

Bunun yanında elde edilen ekstraktların TFM, pH ve titrasyon asitliği içerikleri ve serbest şeker içerikleri de belirlenmiştir. Aynı zamanda antioksidan potansiyelleri (ABTS ve DPPH yöntemleri ile) belirlenmiş ve TFM sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Örneklerin antioksidan potansiyelleri DPPH, ABTS, TFM sonuçlarıyla kıyaslanmış ve sonuçlar arasında uygun bir korelasyon görülmüştür. Genel olarak en yüksek antioksidan aktiviteye en yüksek SÇKM değerinin elde edildiği 90 °C sıcaklıkta, 1:4 meyve:su oranında ve 105 dk. sonunda elde edilen ekstraktlarda ulaşılmıştır. En düşük antioksidan aktivite ise 50 °C sıcaklığında, 1:9 meyve:su oranında ve 105 dk. sonunda elde edilen ekstraktlarda görülmüştür. Buna ilaveten örneklerin pH ve titrasyon asitliği değerlerinde önemli bir değişimin görülmediği belirlenmiştir. Elde edilen ekstraktların şeker içerikleri incelendiğinde ise en yüksek sakaroz değerine (17,735g/L) en yüksek SÇKM değerinin elde edildiği şartlarda ulaşılmıştır. En yüksek glikoz ve fruktoz içeriklerine ise 70 °C sıcaklığında, 1:4 meyve:su oranında ve 180 dk. sonunda ulaşılmıştır (glikoz: 23,535g/L, fruktoz: 25,765 g/L).

Sonuç olarak, geleneksel yöntemlerle üretimi yapılan andız pekmezi üretiminde ekstraksiyon aşamasının optimize edilmesiyle endüstriyel üretimin daha verimli olacağı ve özellikle enerji ve zaman yönünden fayda sağlanacağı düşünülmektedir. Bunun yanında her ne kadar yoğun olarak konsantrasyon işleminde meydana geldiği bilinen HMF'nin, özellikle yüksek sıcaklık ve uzun sürelerin kullanıldığı ekstraksiyon aşamasında da oluştuğu göz önüne alındığında, yapılan optimizasyon çalışması neticesinde HMF içeriği daha düşük ekstraktların elde edilebileceği de düşünülmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

1. AKINCI, I., OZDEMIR, F., TOPUZ, A., KABAS, O. and CANAKCI, M. 2004. Some physical and nutritional properties of *Juniperus drupacea* fruits. *Journal of Food Engineering*, 65(3):325-331.
2. AKKAYA, Z. 2010. Pekmezin kurutulması sonucunda elde edilen ürünün karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 153 ss.
3. BILUŠIĆ VUNDAĆ, V., BRANTNER, A.H. and PLAZIBAT, M. 2007. Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some *Stachys* taxa. *Food Chemistry*, 104(3):1277-1281.
4. CEMEROĞLU, B. 2007. Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara.
5. DAĞBAĞLI, S. 2009. Beta-Galaktosidaz enzim üretiminin optimizasyonu ve saflaştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 216 ss.
6. DAVIS, P.H. 1965. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 1.Edinburgh University Press, 76-84 pp.
7. EL-GHORAB, A., SHAABAN, H.A., EL-MASSRY, K.F. and SHIBAMOTO, T. 2008. Chemical composition of volatile extract and biological activities of volatile and less-volatile extracts of juniper berry (*Juniperus drupacea* L.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13):5021-5025.
8. ELİÇİN, G. 1977. Türkiye doğal ardıç (*Juniperus* L.) taksonlarının yayılışları ile önemli morfolojik ve anatomik özellikleri üzerinde araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Orman Fakültesi Yayınları Yayın No: 2327/232.1977, 109 ss.
9. GÜLÇİN, İ., ŞAT, İ.G., BEYDEMİR, Ş., ELMASTAŞ, M. and KÜFREVİOĞLU, Ö.İ. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87(3):393-400.
10. GÜLTEKİN, H.C. 2007. Andız (*Arceuthos drupacea* (Labill) Ant. Et. Cotschy) ve fidan üretim teknikleri. Çevre ve Orman Bakanlığı, Ankara, 28 ss.
11. GÜLTEKİN, H.C., GÜLTEKİN, U.G. and DİVRİK, A. 2004. Andız ağacı; farkında olmadığımız estetik. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*:72-73.
12. GÜNAL, B. 2011. Keçiboynuzu pekmezinin püskürtmeli kurutucu ile kurutulması ve elde edilen tozların ekmek üretiminde kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 131 ss.

13. HUANG, D., OU, B. and PRIOR, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6):1841-1856.
14. İSMAİL, A., LINDER, M. and GHOUL, M. 1999. Optimization of butylgalactoside synthesis by  $\beta$ -galactosidase from *Aspergillus oryzae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 25(3-5):208-213.
15. İZGİ, N. 2011. Ev yapımı andız pekmezinin bileşimi, reolojik özellikleri, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 61 ss.
16. KARACA, I. 2009. Pekmez örneklerinde vitamin ve mineral tayini. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 128 ss.
17. KOCA, İ., KOCA, A.F., KARADENİZ, B. and YOLCU, H. 2007. Karadeniz bölgesinde üretilen bazı pekmez çeşitlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2:1-6.
18. KOCAKULAK, E. 2007. *Juniperus drupacea* Lab. uçucu yağı üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 124 ss.
19. KOZAN, E., KUPELİ, E. and YESİLADA, E. 2006. Evaluation of some plants used in Turkish folk medicine against parasitic infections for their in vivo anthelmintic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 108(2):211-216.
20. KUL, S. 2004. Cevap Yüzeyi Yöntemleri. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 101 ss.
21. LESJAK, M.M., BEARA, I.N., ORČIĆ, D.Z., ANAČKOV, G.T., BALOG, K.J., FRANCIŠKOVIĆ, M.M. and MIMICA-DUKIĆ, N.M. 2011. *Juniperus sibirica* Burgsdorf. as a novel source of antioxidant and anti-inflammatory agents. *Food Chemistry*, 124(3):850-856.
22. MAGALHÃES, L.M., SEGUNDO, M.A., REIS, S. and LIMA, J.L. 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613(1):1-19.
23. MAISUTHISAKUL, P., PONGSAWATMANIT, R. and GORDON, M.H. 2007. Characterization of the phytochemicals and antioxidant properties of extracts from Teaw (*Cratoxylum formosum* Dyer). *Food Chemistry*, 100(4):1620-1629.
24. MICELI, N., TROVATO, A., DUGO, P., CACCIOLA, F., DONATO, P., MARINO, A., BELLINGHIERI, V., LA BARBERA, T.M., GUVENC, A. and TAVIANO, M.F. 2009. Comparative analysis of flavonoid profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. *J Agric Food Chem*, 57(15):6570-6577.



25. MICELI, N., TROVATO, A., MARINO, A., BELLINGHIERI, V., MELCHINI, A., DUGO, P., CACCIOLA, F., DONATO, P., MONDELLO, L., GUVENC, A., DE PASQUALE, R. and TAVIANO, M.F. 2011. Phenolic composition and biological activities of *Juniperus drupacea* Labill. berries from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 49(10):2600-2608.
26. MOLYNEUX, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2):211-219.
27. MYERS, R.H. and MONTGOMERY, D.C. 1995. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments, John Wiley & Sons,. New York, 700 pp.
28. MYERS, R.H., MONTGOMERY, D.C. and ANDERSON-COOK, C.M. 2009. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments third edition. John Wiley & Sons, 680 pp.
29. ÖZDEMİR, F., TOPUZ, A., ŞAHİN, H. and GÖLÜKCÜ, M. 2004. Andız pekmezinin fenolik madde içeriği ve fonksiyonel gıda olarak önemi. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, Van, Türkiye, 144-149.
30. PRIOR, R.L. and CAO, G. 1999. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11):1173-1181.
31. RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. and RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10):1231-1237.
32. RODRÍGUEZ, R., JARAMILLO, S., RODRÍGUEZ, G., ESPEJO, J.A., GUILLÉN, R., FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J., HEREDIA, A. and JIMÉNEZ, A. 2005. Antioxidant activity of ethanolic extracts from several asparagus cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(13):5212-5217.
33. SPANOS, G.A. and WROLSTAD, R.E. 1992. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage - a Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9):1478-1487.
34. ŞAHAN, T. 2008. Atık sularda bulunan bazı ağır metallerin biyosorpsiyon ile uzaklaştırılması ve biyosorpsiyon koşullarının optimizasyonu. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 138 ss.
35. TAVIANO, M.F., MARINO, A., TROVATO, A., BELLINGHIERI, V., LA BARBERA, T.M., GUVENC, A., HURKUL, M.M., DE PASQUALE, R. and MICELI, N. 2011. Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts

of five *Juniperus* species from Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 49(10):1014-1022.

36. TEKELİ, A., 2005. Andız (*Arceuthos drupacea*). *Ant Orman Mühendisliği Dergisi*. 2005; 42:41.
37. TETİK, N., TURHAN, I., OZIYCI, H.R. and KARHAN, M. 2011. Determination of D-pinitol in carob syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(6):572-576.
38. TOPUZ, A., ŞAHİN, H., ÖZDEMİR, F. and GÖLÜKÇÜ, M. 2004. Andız pekmezi üretiminde optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, Van, Türkiye*, 178-183.
39. TURHAN, I., TETİK, N. and KARHAN, M. 2007. Andız pekmezi üretimi ve bileşimi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2:65-69.
40. TUTIN, T., HEYWOOD, V., BURGESS, N., VALENTINE, D., WALTERS, S. and WEBB, D. 1964. *Flora Europaea* 1. Cambridge. *The University Press*, 1:36-39.
41. UZUNOĞULLARI, P. 2010. Patates atığında *Aureobasidium pullulans* ile pullulan üretimi ve cevap yüzey yöntemi ile proses koşullarının optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 91 ss.
42. YEN, G.C. and DUH, P.D. 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3):629-632.
43. YESİLADA, E., HONDA, G., SEZİK, E., TABATA, M., GOTO, K. and IKESHIRO, Y. 1993. Traditional medicine in Turkey .4. Folk Medicine in the Mediterranean Subdivision. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(1):31-38.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Esra YÜKSEL Konya/Kulu ilçesinde 1988 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. Afyon Kocatepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2011 yılında Gıda Mühendisi unvanıyla mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.