T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

FARKLI EKSTRAKSİYON ŞARTLARININ KARAMUK MEYVESİNİN (*Berberıs crataegına* DC.) BİYOKİMYASAL KARAKTERİZASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Rabia SAY

Danışman
Prof. Dr. Mahmut KAPLAN
2.Danışman
Doç. Dr. Kevser KARAMAN

Yüksek Lisans Tezi

Eylül 2021
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

FARKLI EKSTRAKSİYON ŞARTLARININ KARAMUK MEYVESİNİN (*Berberıs crataegına* DC.) BİYOKİMYASAL KARAKTERİZASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Rabia SAY

Danışman
Prof. Dr. Mahmut KAPLAN
2.Danışman
Doç. Dr. Kevser KARAMAN

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi tarafından FYL-2020-10191 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Eylül 2021
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Rabia SAY

YÖNERGEYE UYGUNLUK

"Farklı ekstraksiyon şartlarının karamuk meyvesinin (*Berberis crataegina* DC.) biyokimyasal karakterizasyonu üzerine etkilerinin araştırılması" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan
Rabia SAY

Danışman
Prof. Dr. Mahmut KAPLAN

Tarla Bitkileri ABD Başkanı

Prof. Dr. Satı UZUN

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bana yol gösteren ve değerli deneyim ve tecrübelerini benimle paylaşarak bana yardımcı olan değerli danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Mahmut KAPLAN'a ve Doç. Dr. Kevser KARAMAN'a ile Dr. Safa KARAMAN'a, laboratuvar çalışmalarımda tüm olanaklarını kullanmaya müsaade eden Dr. Yılmaz İlaç ve ekibine teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım süresince bana destek olan sevgili aileme ve canım oğlum Kerem'ime sonsuz teşekkürü bir borç bilirim. Bu çalışmayı FYL-2020-10191 kodu ile maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Rabia SAY

Eylül, 2021-KAYSERİ

FARKLI EKSTRAKSİYON ŞARTLARININ KARAMUK MEYVESİNİN (*Berberis crataegina* DC.) BİYOKİMYASAL KARAKTERİZASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Rabia SAY

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2021
Danışman: Prof. Dr. Mahmut KAPLAN

ÖZET

Karamuk, dikenli çalı formunda yetişen ve mavi mor rengi ile başta antisiyoninler olmak üzere biyoaktif bileşenlerce oldukça zengin olan tıbbi ve aromatik bitki ailesinin bir üyesidir. Genel olarak çeşitli hastalıkların tedavisi veya önlenmesinde gıda takviyesi olarak toz ya da sıvı ekstre şeklinde yaygın kullanımı vardır. Bu çalışmada, karamuk bitkisinden toplanan meyvelerin farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktların temel biyokimyasal özelliklerinin araştırılması ve proses şartlarının çalışılan parametreler üzerindeki etkisinin yaygın bir kullanımı olan tepki yüzey yöntemi ile modellenerek optimum ekstraksiyon koşullarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın başlangıcında ekstraksiyon solventinin belirlenmesi amacıyla, kafes karışım deneme tasarımını kullanılarak üç farklı solvent ile (etanol, metanol ve su) ekstraksiyon işlemi yapılmış ve tasarımın optimizasyon prosedürü kullanılarak maksimum biyoaktivite sergileyen solvent karışımı ortaya konmuştur. Bu amaçla örneklerin toplam fenolik madde, antioksidan ve antiradikal kapasite ile toplam antosiyanin içerikleri tepki olarak çalışılmış ve çok faktörlü optimizasyon ile her bir biyoaktif parametrenin en yüksek değerinin elde edildiği solvent karışımı %70 metanol ve %30 su olarak belirlenmiştir. Daha sonra farklı ekstraksiyon koşullarınının etkisi araştırma amacıyla merkezi tümleşik deneme tasarımı kullanılmış ve proses değişkeni olarak sıvı/katı seviyesi (50-100 mL/g), ekstraksiyon süresi (10-90 dk) ve sıcaklığı seçilerek (25-75 ºC) bu değişkenlerin temel biyoaktif özellikler (toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, toplam antosiyanin madde miktarı, kondense tannin içeriği, DPPH ve ABTS radikali süpürme aktivitesi, demir indirgeme ve fosfomolibden yöntemi ile antioksidan kapasite ve linoleik asit oksidasyon inhibisyon aktivitesi) üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı 80,76-110,92 mg GAE/g, toplam flavonoid madde miktarı 77,71-120,35 mg KE/g, kondanse tannin miktarı 50,50-62,14 mg KE/g ve toplam antosiyanin miktarı 2,75-3,21 mg/g aralığında tespit edilmiş

olup, DPPH radikali süpürme aktivitesi %25,02-63,09, ABTS radikali süpürme aktivitesi ise 122,48-256,09 µgTE/g aralığında belirlenmiştir. Antioksidan kapasite değerleri ise demir indirgeme yöntemi için 66,12-110,83 mgAAE/kg aralığında, fosfomolibden yöntemi için 108,88-137,36 mgAAE/g aralığında, linolek asit oksidasyon inhibisyon değerleri ise %85,69-89,72 aralığında tespit edilmiştir. Genel olarak sıvı/katı seviyesindeki artış ile ekstraksiyon süre ve sıcaklığının artışı örneklerin biyoaktif değerlerinin yükselmesini sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Karamuk, ekstraksiyon, biyoaktivite, tepki yüzey yöntemi, optimizasyon

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT EXTRACTION CONDITIONS ON THE BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF BARBERRY FRUIT (*Berberis Crataegina* DC.)

Rabia SAY

Erciyes University Institute of Natural and Applied Sciences Graduate Thesis, September 2021
Supervisor: Prof. Dr. Mahmut KAPLAN

ABSTRACT

Barberry is a member of the medicinal and aromatic plant family, which grows in the form of a thorny bush and is rich in bioactive components, especially anthocyanins, with its blue purple color. In general, it is widely used in the form of powder or liquid extract as a food supplement for the treatment or prevention of various diseases. In this study, it was aimed to investigate the basic biochemical properties of the extracts obtained from the fruits collected from the barberry plant under different extraction conditions and to determine the optimum extraction conditions by modeling the effect of the process conditions on the studied parameters by the response surface methodology, which has a common use. In order to determine the optimum extraction solvent at the beginning of the study, three different solvents (ethanol, methanol and water) were used as a extraction solvent using the simplex lattice mixture design, and the solvent mixture exhibiting maximum bioactivity was revealed by using the optimization procedure of the design. For this purpose, the total phenolic content, antioxidant and antiradical capacity and total anthocyanin contents of the samples were studied in response and the solvent mixture in which the highest value of each bioactive parameter was obtained by multi-factor optimization was determined as 70% methanol and 30% water. Then, a central composite rotatable design was used to investigate the effect of different extraction conditions, and by choosing the liquid/solid level (50-100 mL/g), extraction time (10-90 min) and temperature (25-75 ºC) as process variables, the basic values of these variables were determined. The effects on bioactive properties (total phenolic content, total flavonoid content, total anthocyanin amount, condensed tannin content, DPPH and ABTS radical scavenging activity, antioxidant capacity and linoleic acid oxidation inhibition activity by iron reduction and phosphomolybdenum method) were determined. The total amount of phenolic substances of the samples is

80.76-110.92 mg GAE/g, the total amount of flavonoid substance is 77.71-120.35 mg KE/g, the amount of condensed tannin is 50.50-62.14 mg KE/g, and the total anthocyanin. Its amount was determined in the range of 2.75-3.21 mg/g, DPPH radical scavenging activity was determined as 25.02-63.09%, ABTS radical scavenging activity was determined in the range of 122.48-256.09 μgTE/g. The antioxidant capacity values are in the range of 66.12-110.83 mgAAE/kg for the iron reduction method, 108.88-137.36 mgAAE/g for the phosphomolybdenum method, and linoleic acid oxidation inhibition values are in the range of 85.69-89.72%. In general, the increase in the liquid/solid level and the increase in the extraction time and temperature provided a significant increase in the bioactive values of the samples.

Keywords: Barberry, extraction, bioactivity, response surface methodology, optimization,

İÇİNDEKİLER

FARKLI EKSTRAKSİYON ŞARTLARININ KARAMUK MEYVESİNİN (*BERBERİS CRATAEGINA* DC.) BİYOKİMYASAL KARAKTERİZASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK iii
KABUL VE ONAY iv
TEŞEKKÜR v
ÖZET vi
ABSTRACT viii
İÇİNDEKİLER x
KISALTMALAR xii
TABLOLAR LİSTESİ xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ xv
GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1.Literatür Çalışması 3
1.1.1.Karamuk (*Berberis crataegina* DC.) 3

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1 Materyal 13
2.2.1 Solvent optimizasyonu (Kafes karışım deneme tasarımı) 13
2.2.2 Farklı ekstraksiyon şartlarında karamuk ekstrelerinin üretimi 14
2.4 İstatistiksel Analizler ve Optimizasyon 23

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1 Solvent tipi ve seviyesinin karamuk meyvesinin biyoaktivitesi üzerine etkisi .. 24
3.2 Karamuk meyvesi ekstraksiyonu için en ideal solvent karışımının belirlenmesi 34
3.3 Ekstraksiyon şartlarının biyoaktif parametreler üzerindeki etkisi 36

3.3.1 Ekstraksiyon şartlarının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi 37
3.3.2 Ekstraksiyon şartlarının toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki etkisi 39
3.3.3 Ekstraksiyon şartlarının kondanse tannin miktarı üzerindeki etkisi 41
3.3.4 Ekstraksiyon şartlarının toplam antosiyanin miktarı üzerindeki etkisi..43
3.3.5 Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite (DPPH) üzerindeki etkisi.45
3.3.6 Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) üzerindeki etkisi 47
3.3.7 Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (demir indirgeme) üzerindeki etkisi 49
3.3.8 Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (fosfomolibden) üzerindeki etkisi 51
3.3.9 Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) üzerindeki etkisi.....53

4. BÖLÜM
TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

KAYNAKÇA 60
ÖZGEÇMİŞ.....65

KISALTMALAR

AA : Antioksidan aktivite

ABTS : 2,2-Azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) radikal süpürücü aktivite

ARA : Antiradikal aktivite

DI : Demir İndirgeme

DN : Deneme Noktası

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radikal süpürücü aktivite

TAM : Toplsm antosiyanin madde

TFM : Toplam fenolik madde içerik

TFvM : Toplam flavonoid madde

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Solvent optimizasyonu amacıyla uygulanan kafes karışım deneme tasarımı 14
Tablo 2.2. Proses değişkenlerinin seviyesini gösteren merkezi tümleşik deneme tasarımı 15
Tablo 3.1. Karamuk meyvesinin ekstraksiyonunda kullanılan solvent tipine bağlı olarak elde edilen ekstraktların biyoaktif özellikleri 24
Tablo 3.2. Solvent karışımının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 28
Tablo 3.3. Solvent karışımının antioksidan aktivite üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 32
Tablo 3.4. Solvent karışımının antosiyanin miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 34
Tablo 3.5. Maksimum biyoaktivite değerlerinin elde edildiği solvent karışımları 34
Tablo 3.6. Karamuk meyvesinin farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstre örneklerinin biyoaktif özellikleri 37
Tablo 3.7. Ekstraksiyon şartlarının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 38
Tablo 3.8. Ekstraksiyon şartlarının toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 40
Tablo 3.9. Ekstraksiyon şartlarının kondanse tannin miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 42
Tablo 3.10. Ekstraksiyon şartlarının toplam antosiyanin miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 44
Tablo 3.11. Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite (DPPH) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 46
Tablo 3.12. Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 48
Tablo 3.13. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (demir indirgeme) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 50
Tablo 3.14. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (fosfomolibden) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 52

Tablo 3.15. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES) nin verilerine göre B. crataegina DC' nın Türkiye'deki taksonomik dağılımı. 3
Şekil 1.2. Berberis crataegina DC. meyveleri. 4
Şekil 2.1. Karamuk meyvesinin ve öğütülmüş halinin genel görünümü 13
Şekil 2.2. Farklı proses şartlarında üretilen ekstraktların genel görünümü 16
Şekil 2.3. Gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi 17
Şekil 2.4. Kateşin standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi 18
Şekil 2.4. Kateşin standardı ile hazırlanan kondanse tannin kalibrasyon eğrisi 18
Şekil 2.5. Troloks standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi 20
Şekil 2.6. Askorbik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi 21
Şekil 2.7. Askorbik asit standardı ile hazırlanmış demir indirgeme gücü kalibrasyon eğrisi 22
Şekil 3.2. Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin toplam fenolik madde miktarlarındaki değişim 27
Şekil 3.3 Solvent tipine bağlı olarak antiradikal aktivite (% inhibisyon) değerlerindeki değişim 29
Şekil 3.4 Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin % inhibisyon değerlerindeki değişim 29
Tablo 3.3 Solvent karışımının antiradikal aktivite üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu 30
Şekil 3.5 Solvent tipine bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerindeki değişim 31
Şekil 3.6 Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin antioksidan aktivite değerlerindeki değişim 31
Şekil 3.7 Solvent tipine bağlı olarak toplam antosiyanin değerlerindeki değişim 33
Şekil 3.8 Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin antioksidan aktivite değerlerindeki değişim 33
Şekil 3.9 Solvent optimizasyonu prosesinde istenirlik fonksiyon değerlerinin değişimi 35
Şekil 3.10 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin toplam fenolik madde miktarındaki değişimi 37
Şekil 3.11 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin toplam flavonoid madde miktarındaki değişimi 39

Şekil 3.12 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin kondanse tannin miktarındaki değişimi 41
Şekil 3.13 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin toplam antosiyanin miktarındaki değişimi 43
Şekil 3.14 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antiradikal aktivite (DPPH) değerindeki değişimi 45
Şekil 3.15 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) değerindeki değişimi 47
Şekil 3.16 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite (demir indirgeme) değerindeki değişimi 49
Şekil 3.17 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite (fosfomolibden) değerindeki değişimi 51
Şekil 3.18 Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) değerindeki değişimi 53

GİRİŞ

Tıbbi ve aromatik bitkiler tüm dünyada hastalıkların iyileştirilmesi ve sağlığın korunması için modern ve geleneksel tıpta tercih edilmesinin yanı sıra bitkisel çay, gıda takviyeleri, çeşni olarak beslenmede; antioksidan, renklendirici, koruyucu olarak gıda üretiminde; kozmetik alanında, boyar madde olarak tekstil alanında ve daha birçok sanayi alanında geniş bir kullanım alanına sahiptir. Dünya sağlık örgütünün verilerine göre Dünyada 20.000 civarında tıbbi ve aromatik bitki bulunmakta olup bunlardan 4000 kadarı yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ülkemizde ise 12000 adet bitki türünden 4000 kadarı endemik olup, bunlardan da yaklaşık 1700 kadarı modern ve geleneksel tıp alanında kullanılmaktadır (Solak, 2016). Tıbbi ve aromatik bitkilerin yapısında yer alan biyoaktif bileşenlerin insan sağlığı açısından oldukça kıymetli olduğu bilinmekle birlikte tüm dünyada tüketimin artması, yetersiz beslenme ve sentetik maddelere duyulan güvensizlik tıbbi ve aromatik bitkilere olan talebin giderek artmasına neden olmuştur. Hastalıkların tedavi edilmesi için yapılan çalışmaların yanı sıra hastalıkların önlenmesinde de tıbbi aromatik bitkilerden fazlaca faydalanılmaktadır. Tıbbi aromatik bitkiler enfekte olmak, radyasyon, kimyasal madde ve UV ışığına maruz kalmak vs gibi stres durumlarında bazı sekonder metabolitler üretirler (Artık vd., 2016). Bu metabolitlerin en önemli grubu ise fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin çoğusunun antimikrobiyal, antiradikal ve antioksidan etkileri yüksek olmasının yanında gıdalarda tat, koku ve renk üzerine de etkileri vardır. Bilimsel adı *B. crataegina* DC. olan karamuk bitkisi Anadolu'nun değişik yörelerinde karamuk, karamık, diken üzümü, yılkı çalısı, amberparis, tavşan ekmeği gibi isimlerle de bilinmekte olup sahip olduğu önemli biyofonksiyonel özellikleri sebebiyle fitoterapi sahasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Genel olarak mavi mor yapısı sebebiyle antosiyance zengin olan karamuk meyvesi hem antioksidan hem de antiradikal özellikler sergilemesi sebebiyle de önemli bir tıbbi bitki konumumdadır.

Bu çalışmada karamuk meyvesinin konvansiyonel ekstraksiyonda proses

değişkenlerinin ürünün biyoaktif özelliklerinde meydana getirdiği değişimler ele alınmıştır. Bu bağlamda ilk önce karamuk meyvesi için en etkin solvent karışımı kafes karışımı deneme tasarımı ile tespit edilmiş ve sonrasında optimum solvent ile yapılan ekstraksiyon işleminde çeşitli proses değişkenlerinin (sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı) karamuk ekstresinin biyofonksiyonel özellikleri üzerindeki etkileri ele alınarak elde edilen veriler tepki yüzey yöntemi ile modellenmiştir.

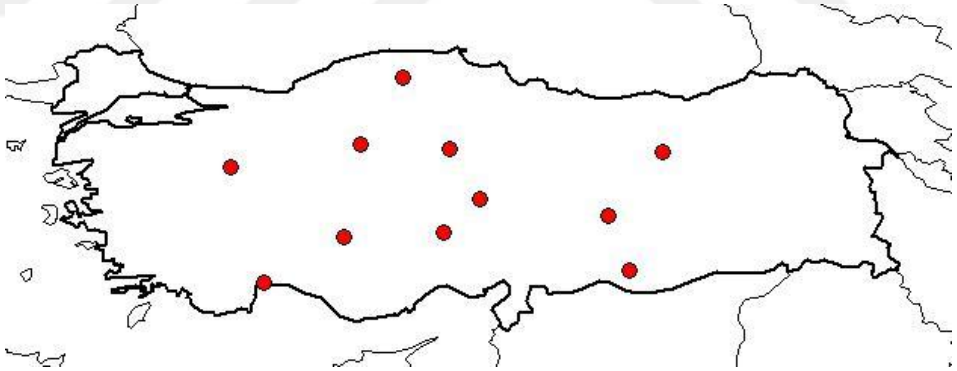
1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1.Literatür Çalışması

1.1.1.Karamuk (*Berberis crataegina* DC.)

Türkiye'deki Berberidaceae familyasında, doğal olarak dört Berberis türü bulunmaktadır (*B. vulgaris* L., *B. integerrima* Bunge, *B. cretica* L. ve *B. crataegina* DC.) (Gülsoy vd., 2011). Bunlardan biri olan *B. crataegina* DC. Türkiye'nin hemen her tarafında özellikle İzmir, Kırklareli, Ankara, Kastamonu, Çankırı, Kayseri, Konya, Niğde ve Sivas yörelerinde kendiliğinden yetişmektedir.



Şekil 1.1. Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TÜBİVES) nin verilerine göre B. crataegina DC' nın Türkiye'deki taksonomik dağılımı.

Bilimsel adı *B. crataegina* DC. olan bu bitki Anadolu'nun değişik yörelerinde karamuk, karamık, diken üzümü, yılkı çalısı, amberparis, tavşan ekmeği gibi isimlerle de bilinmektedirler (Baytop, 1999). Yaklaşık 2 m boyunda dikenli çalı tipinde (Gülsoy vd., 2011), 3'lü yaprakları ve 3'lü vertisillat dikenleri kısa sürgünlerde bulunmakta olup kısa sürgünleri her yıl yeniden çıkan bu bitki karapas hastalığını yapan Puccinia graminis mantarının ara konakçı bitkisi olmasıyla da bilinmektedir (İdiş, 2012). Kurak ve kayalık

yamaçlarla, çalılıklar arasında büyüklü küçüklü gruplar halinde bulunan *B. crataegina* DC. 800-1500 m rakımlarda yetişmektedir (Davis, 1982). Meyveler olgunlaşmamışken koyu kırmızı kahverengi (Anşin & Özkan, 1993), olgunlaştığında siyahtır (Gülsoy vd., 2011). Genç gövdeler üzerinde siyah lentiseller yoktur. Genellikle dikenler yapraklardan daha kısadır. Yapraklar çoğunlukla dar ters yumurta biçiminde 1-4 cm uzunluktadır. Kenarları kaba dişli veya tamdır. Çiçek kurulları 1-3 cm boyundadır. 6-15 çiçekten oluşmaktadır. Çiçeklenme Mayıs-Haziran aylarında olmaktadır. Eliptik yapıdaki meyve sonbaharda olgunlaşınca siyah bir renk alır (Davis, 1982). Meyvesi bir ya da birden fazla çekirdek içeren etli meyvelerdir. Bazılarında meyveler tek tek bulunurken bazılarında üzüm salkımı şeklinde görülür. Tadı hafif ekşidir (Baytop, 1999) (Şekil 2).



Şekil 1.2. Berberis crataegina DC. meyveleri.

B.crataegina bileşiminde fenolik asitler (kafeik asit, klorojenik asit), flavonoid bileşikler (karsetol, rutozit), alkoloitler (berberin, palmatin, barbamin, magnoflorin, jatrorhizin) (Ertürk, 1994) bulunmaktadır. Yapıdaki berberin alkoloidinin ve bitkinin ekstrelerinin güçlü antifungal aktivitesinin olduğu bildirilmiştir. (Toroğlu ve Çenet, 2006). Meyveleri tanen, organik asitler (sitrik, malik, laktik, tartarik asitleri) ki bu organik asitler meyvenin lezzet dengesini, kimyasal stabiliteyi ve pH'ı dolayısıyla meyvenin kalitesini önemli ölçüde etkiler. Ayrıca C vitamini ve yüksek oranda antosiyanin taşımaktadır. (Eroğlu, 2019). Karamuk bitkisinin içeriğindeki antosiyaninler sayesinde taze veya kurutulmuş kökleri veya kabuğunun boyar madde olarak kullanıldığı bildirilmiştir.

Berberis türlerinin tüm kısımlarının da şifalı bitki olarak oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bitkinin yaprakları, meyveleri ve kökleri karaciğer ve sindirim sistemi

bozuklukları (Gülsoy vd., 2011), kısırlık, diyare, baş ağrısı, kadın hastalıkları, mide, balgam söktürücü, safra kesesi, sarılık, tansiyon, düşürücü, hemoroit, solunum rahatsızlıkları gibi birçok hastalıkların tedavisinde kullanılır (Arslanoğlu ve Ayna, 2019). Bununla birlikte Berberis türlerinin antimikrobiyal, antihistaminik, antikolinerjik, antiinflamatuar ve vazodilatör olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Gülsoy vd., 2011).

Fenolik bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunan biyoaktif maddelerdir. Normal gelişim aşaması sırasında sentezlendiği gibi UV radyasyon, yaralanma, patojen saldırı ve böcek saldırısı gibi fizyolojik ve ekolojik baskılardan dolayı da üretilmektedir (Naczk and Shahidi 2004). "Fenolik" diğer bir ismiyle "polifenol" terimi, kimyasal olarak içerisinde fonksiyonel türevler (esterler, metil eterler, glikozitler vb.) içeren, bir veya daha fazla hidroksi grubu taşıyan bir aromatik halkaya sahip madde olarak tanımlanabilir (Ho, 2021). Bir tane hidroksil grubu içeren fenolik bileşiklere fenol ya da benzen adıyla anılır. Fenolik bileşikler yaygın olarak flovonoidler ve fenolik asitler şeklinde iki gruba ayrılarak sınıflandırılır. Bunlardan flovonoidler bitki fenollerinde en fazlaca ve yaygın olarak bulunan gruplardır (Artık vd., 2016:11).

Sarı (2016), bir çalışmasında *Berberis crataegina* DC.'nin sahip olduğu antosiyaninlerin stabilitesini yükseltmek amacıyla, farklı pigmentlere sahip olan ferrulik, tannik, gallik asitler gibi bazı fenolik asitler kullanılarak 90ºC sıcaklık altında, farklı molar oranlarda boyamıştır. Uygulanan fenolik asitler ve molar konsantrasyonlara bağlı olarak, kopigmente edilmiş numunelerde antosiyanin bozunması, kopigmente edilmemiş numunelere göre daha düşük bulunmuştur. Pigment sayılarındaki yükselme her bir fenolik bileşen için farklı sonuçlar vermiştir. Örneğin 1:100 gallik asit molar oranının, bozunmayı önlemede en etkili fenolik asit bileşiği olduğu, bunu 1:10 molar konsantrasyonda ferulik asit izlediği tespit edilmiştir.

Türkiye'nin Göller Bölgesi'ndeki Eğirdir Gölü havzasındaki *Berberis crataegina* DC. meyve ve yaprakların elementel bileşimini, fenolik bileşikleri ve organik asit konsantrasyonlarını belirlemek için yapılan bir çalışmada Kalsiyum ve potasyum sırasıyla yapraklarda ve meyvelerde en bol bulunan elementler olduğu belirlenmiştir. Yaprakların kalsiyum konsantrasyonu (11130,00 µg/g) meyvelere göre (2389.00 µg/g), meyvelerin potasyum konsantrasyonu (11210,00 µg/g) yapraklara göre (7857,00 µg/g)

daha yüksek olmuştur. Yaprak ve meyvelerin baskın ana fenolik bileşikleri sırasıyla rutin 170,87 mg/kg ve klorojenik asit 70,24 mg/kg olarak bulunmuştur. Meyvelerde ise en yüksek konsantrasyon rutin ve apigenin 7-O-glukozit oalarak belirlenmiştir. Yapraklardaki malik asit ve sitrik asit sırasıyla 4338.00 ve 155,00 µg/g olarak bulunmuştur (Gülsoy vd., 2011).

Charehsaz vd. (2015) Türkiye'nin Bayburt ilinden temin edilen kurutulmuş *B. crataegina* meyvelerinin iyileştirici etkilerinin araştırılması amacıyla metanol ile yapılan meyve eksraktları toplam fenolik ve flavonoid madde, toplam antosiyanidin miktarı ve antioksidan kapasitesi açısından değerlendirmişlerdir. Sonuçta B. crataegina meyvelerinin metanolik ekstraktının potansiyel bir antioksidan besin olabileceği ve ayrıca lipid peroksidasyonuna ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu bir rol oynayabileceği açıklanmıştır.

Karabulut (2018) bir çalışmasında Türkiye'nin Bayburt ilinde doğal olarak yetişen *B. vulgaris* ve *B. crataegina* meyvelerinin bazı fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir. Bu sonuçlara göre araştırılan iki tür meyveden *B. Crataegina* toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite bakımından daha yüksek değerlere sahiptir. Örneklerin su aktivitesi, kuru madde, vitamin C ve pH değeri sonuçları arasında farklılık gözlenmemiştir. Buna karşılık meyve türleri karşılaştırıldığında briks değeri, kül miktarı, glikoz ve malik asit değeri arasında farklılıklar tespit edilmiştir. HPLC ile fenolik madde profilleri belirlenen meyvelerde klorojenik asit miktarının fazla oranda çıktığı belirtilmiştir. Vanilik ve kafeik asit *B. crataegina* türünün, vanilik, kafeik ve gallik asitin ise *B. vulgaris* türünün baskın fenolik bileşenleri olduğu belirtilmiştir.

Gholizadeh-Moghadam, Hosseini ve Alirezalu (2019) çalışmalarında İran'dan toplanan 3 farklı türe ait 18 karamuk meyvesinin fitokimyasal ve antioksidan aktivitelerinin karakterizasyonunu değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre en yüksek toplam fenolik ve flavonoid miktarları G3 (*Berberis vulgaris*) meyve ekstraktlarından elde edilmiştir. En yüksek toplam antosiyanin içeriği ve antioksidan aktivite sırasıyla G8 (*B. vulgaris*) ve G16'da (*B. vulgaris*) gözlenmiştir. Fitokimyasalların (gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, sinnamik asit, rutin, apigenin ve kersetin) HPLC analizi, gallik asit ve p-kumarik asidin en bol bulunan fitokimyasal bileşikler olduğununu ortaya koymuştur.

Eroğlu (2019) bir çalışmasında Bayburt'un çeşitli bölgelerinde toplanan doğal olarak yetişmiş on bir (sekiz kızamık ve üç karamuk) meyvenin bazı önemli biyoaktif aktivitelerinin araştırmıştır. Yapılan bazı fizikokimyasal analiz sonuçlarına göre meyvelerin yetiştiği bölgelerin meyvelerdeki kuru madde, kül miktarı, pH ve su aktivitesi değerleri üzerinde etkii olduğunu ortaya koymuştur. Meyveler önce kurutulup daha sonra su ve etanol-su (80:20) ekstraksiyonları yapılmış ve bu örneklerde yapılan toplam fenolik madde ve antiradikal aktivite tayini analizlerinde de sonuçlar değişkenlik göstermiştir. Bu sonuçlara göre meyvelerde toplam fenolik madde 148,0-448,3 μg GAE/mg KM, $ABTS^{+}$ radikalini giderme aktivitesi %33,06-%92,85, β-karoten ağartma %62,83-%92,19, DPPH radikalini giderme aktivitesi %11,92-%40,44, aralığında belirlenmiştir. Fenolik madde profili oluşturulurken en çok klorojenik asit olmak üzere kafeik asit, trans-ferulik asit, gallik asit, vanilik asit, sringik asit ve sinapik asit fenolik bileşikleri tespit edilmiştir.

Doğal bir renklendirici olarak kırmızı renge alternatif olan *B. Crataegina* ekstresinin kullanımının araştırıldığı bir çalışmada marshmallow, sakız ve jelly örneklerinde %1, %5 ve %10 oranlarında karamuk ekstresi kullanılmıştır. Kontrol grubuna göre bu örneklerde toplam fenolik madde miktarı daha yüksek çıkmıştır. Yapılan tekstür analizlerine göre ise sakızlarda ve marshmallowlarda karamuk ekstresi ilavesinin sertlik değerini düşürdüğü, yine marshmallowlarda karamuk ekstresi ilavesinin yapışkanlık ve elastikiyet değerlerinin artırdığı görülmüştür. 2 ay yaşlandırma kabininde (30 °C ve %42 RH) bekletilen örneklerde kontrole kıyasla renk kaybı olduğu gözlenmiştir. Örneklerin yaşlandırma kabinine konulmadan önce ve sonra yapılan renk analizi sonuçlarına göre ise renk farklarını ifade eden ΔE değerinde ciddi bir değişim olduğu belirlenmiştir (Çoban, 2020).

Berberis crataegina L. (Siyah kızamık) ekstraktı ve sodyum nitritin birlikte kullanımının pişmiş dana sosislerinin kalitesi ve raf ömrü üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada sosis formülasyonlarına nitrit (30, 60 ve 90 mg kg^{-1}) ile birlikte farklı konsantrasyonlarda ekstrakt (30, 60 ve 90 mg kg^{-1}) eklenmiştir. Toplam canlı sayımlar, pH, kalıntı nitrit seviyesi, lipid oksidasyonu, renk ve duyusal veriler, 4°C'de 30 gün boyunca depolama sırasında kör ve kontrol numunelerine karşı çalışılmıştır. Çalışılan tüm numuneler için depolama sırasında nitrit seviyesinde kademeli bir düşüş gözlemlenmiş. 120 mg kg^{-1}, sodyum nitrit ile kontrol sosis numunesi

ile karşılaştırıldığında, bu çalışmadan ekstrakt kullanılarak hazırlanan numuneler benzer kızarıklık, ancak daha düşük renk açıklığı olduğunu göstermektedir. Numunelerin duyusal değerlendirmesi, kontrole benzer sonuçlar gösterdi. Buna göre, işlenmiş et ürünlerinde sodyum nitritin kızamık özü ile kısmen değiştirilmesi için potansiyel bir fayda vardır. (Khalehgi, 2016)

Bir çalışmada, Berberis meyvesinin güneşte kurutularak %9,59 ile %27,90 değerlerinde değişen nem içeriğinde bazı fiziksel özellikleri incelenmiştir. Artan nem içeriğine göre kurutulmuş meyve uzunluğu 7,19'dan 7,53 mm'ye; genişliği 3,42'dan 4,03 mm'ye, kalınlığı 2,78' den 3,02 mm'ye, geometrik ortalama çapı 4.05'den 4,51 mm'ye ve küreselliği 0.56'dan 0.62 mm'ye doğrusal olmayan bir şekilde yükselmiştir. 1000 tane ağırlığı 3,10'dan 4,89 g'a yükselmiş; gerçek yoğunluğu 769 kg'dan 845 kg'a ve yığın yoğunluğu 389 kg'dan 395 kg'a doğrusal olmayan bir şekilde artmıştır. Ayrıca kurutulmuş meyvelerin porozite değerleri doğrusal olmayan bir şekilde %49,40'tan %53,30'a yükselmiştir. En düşük statik sürtünme katsayısı çelik yüzeyde bulunmuştur. Durma açısı, nem içeriğindeki artışla doğrusal olmayan bir şekilde 20,14°'den 23,20°'ye yükselmiştir (Işıklı ve Yılmaz, 2011).

Mor (PB), kırmızı (RB) ve turuncu (OB) Berberis bitkisinin meyvelerinde fenolikler, antosiyaninler ve karotenoidler gibi biyoaktif bileşiklerin araştırıldığı bir çalışmada, Berberis meyvelerinin antioksidanlarının ve ACE (anjiyotensin dönüştürücü enzim) inhibitör bileşiklerinin in vitro sindirim yoluyla geçişleri sırasında biyoerişilebilirliğini değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Meyveler arasında PB, yüksek fenolik ve flavonoid içeriği nedeniyle en güçlü antioksidan aktiviteyi sergilemiştir. Toplam fenolik ve antosiyaninlerin sırası PB > RB > OB şeklindedir. Klorojenik asit, in vitro sindirimden sonra bile tüm meyvelerde ana fenolik bileşiktir. Tüm meyveler benzer miktarlarda toplam karotenoidlere (4,45 mgβ-karoten/100gDW) sahiptir. İn vitro sindirimden sonra fenoliklerin, antosiyaninlerin ve karotenoidlerin azalması, antioksidan aktivitenin azalmasına neden olduğu görülmüştür. Antosiyaninler, in vitro sindirimde en hassas bileşikler olarak bulunmuştur. ACE inhibisyon aktivitesi açısından, sadece RB in vitro sindirimden önce (%73,84) ve sonra (%65,51) ACE inhibisyonu sergilemiştir. RB ve OB numunelerinde hiç ACE inhibisyon aktivitesi tespit edilmedi. Berberis'in yaprakları ve dalları da %50'nin üzerinde ACE inhibitör aktivitesine sahiptir (Şensu vd., 2021)

Enkapsülasyon teknolojisinin karamuk (*Berberis crataegina)* hammaddesinde kullanıldığı ve bu enkapsüllerin dondurma üretiminde kullanıldığı bir çalışmada öncelikle karamuk hammaddesi aseton çözücüsünde ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen antosiyanince zengin ekstrakta iyonik jelasyon yöntemi uygulanarak enkapsilasyonu sağlanmıştır. Elde edilen kapsüller ve ekstraktan dondurma üretimi yapılmıştır. Kapsüller, ekstrakt ve üretilen dondurmalara 1.,30.,60., ve 90. günlerde 25 ºC, +4 ºC ve -18 ºC'de toplam antosiyanin, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve antioksidan kapasite analizleri gibi analizler yapılmıştır. Yapılan analiz sonuçlarına göre +4 ºC deki ekstraktlarda 90. günde fenolik kaybı %32,98; antosiyanin kaybı %26,75 iken; aynı şartlarda kapsüllerde fenolik kaybı %25,79; antosiyanin kaybı %7,5 olarak hesaplanmıştır. Dondurmalarda ise -18 ºC deki %2 ektsrakt ilaveli dondurmada 90. günde fenolik madde miktarı kaybı %43,71 olurken %1 ekstrakt ilaveli dondurmada bu oran %54,46, %1 kapsül ilaveli dondurmada fenolik madde miktarı kaybı %14,80 ve %0.5 kapsül ilaveli dondurmada bu kayıp %18.35 olarak belirlenmiştir. Antosiyanin kaybı ise -18 ºC deki %2 ektsrakt ilaveli dondurmada 90. günde % 16,78 olurken %1 ekstrakt ilaveli dondurmada bu oran %25,15, %1 kapsül ilaveli dondurmada %15,18 ve %0,5 kapsül ilaveli dondurmada bu kayıp %9,50 olarak belirlenmiştir. Yapılan analizler değerlendirildiğinde enkapsülasyon teknolojisinin antosiyanin stabilitesinin sağlanması ve kayıpların önlenmesi açısından iyi bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır (Okurkan, 2018).

Bir çalışmada *Berberis crataegina* DC.'nin aroma ve aroma aktif maddelerini tanımlamak amacıyla dklorometan ile temizleme ve tuzak ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. GC- MS kullanılarak örnekteki 22 bileşik nicel ve nitel olarak saptanmıştır. Temel kimyasal grup aldehitler olarak belirlenmiş, bunu aromatik alkoller ve lakton grubu takip etmiştir. B. crataegina'nın temel kokularının belirlenmesi için ise aroma özü seyreltme analizi uygulanmış, ekstraktta GC–MS– Olfaktometri kullanılarak sekiz temel koku tespit edilmiştir. Yine temel kimyasal grup aldehitler olarak belirlenmiştir. *B. crataegina*'da yüksek FD faktörleri baz alınarak genel aromaya katkıda bulunduğu tespit edilen temel kokular nonanal (FD = 1024; yeşil, çiçekli), heksanal (FD = 512; uçucu prodiklorometan anagreen) ve linalool (FD = 256; çiçekli, gül) olarak belirlenmiştir (Sönmezdağ vd., 2017).

Berberis crataegina DC.'nin tohum yağı ve meyve ekstraktı kitosan matrisine eklenerek kitosan bazlı yenilebilir filmler hazırlanmıştır. Üretilen filmler hem fizyokimyasal olarak (SEM, DSC, FT-IR, UV-vis, temas açısı ve mekanik analiz) hem de biyolojik olarak (anti-quorum algılama, antimikrobiyal ve antioksidan) karakterize edilmiştir. Diğer filmlere kıyasla kitosan bazlı film, daha yüksek termal stabilite, antioksidan, antimikrobiyal ve anti-quorum algılama aktivitesi ortaya koymuştur. *B. Crataegina* ekstraktından kitosan film hazırlanması UV-vis geçirgenliğini önemli ölçüde azaltmış buna karşılık gerilme mukavemeti değerlerini iyileştirmiştir. Kitosan-tohum yağı filminin hidrofobikliği, kitosan-kontrol filminden (84.67 ± 1.50) daha yüksek (92.64 ± 4.17) gözlenirken, kitosan-meyve özü filmi, kitosan filmden biraz daha düşük hidrofobiklik (73.82 ± 7.42) sergilemiştir. Bu çalışma kitosan-meyve özü filminin genel olarak yüksek termal stabilitesi, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi, *B. crataegina*' nın meyve özütünün geliştirilmiş fizikokimyasal ve biyolojik özelliklere sahip yenilebilir filmin üretimi için etkili bir bileşen olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Kaya vd., 2018).

Bir çalışmasında Tunceli ili ve ilçelerinden toplanan karamuk (*Berberis Crataegina* DC.) meyvesinden doğal gıda boyası elde etmiş ve bu gıda boyasını farklı ürünlere uygulamıştır. Çalışma kapsamında öncelikle karamuk meyvesinin toplam kuru madde, % kül, suda çözünür kuru madde (briks), pH, su aktivitesi (aw); karamuk meyve suyunda toplam fenolik madde, kateşin, kuersetin, kumarik asit, kafeik asit, fuktoz, glikoz miktarı ve DPPH radikali temizleme aktivitesi değerleri belirlenmiştir. Elde edilen gıda boyasında ise stabiliteyi etkileyebilecek olan sıcaklık, pH ve ortam oksijeni değerlerinin değişimine karşı duyarlılıkları araştırılmılştır. Belirli aralıkta yapılan pH ölçümlerine göre pH değişimi karşısında karamuk doğal gıda boyasının doğal rengini kaybettiği gözlenmiş, pH artışı karşısındaki stabilitesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. pH değeri 5 ve üzerindeki değerlerde ise yaklaşık 515 nm dalga boyunda yapılan ölçümlerde UV-GB spektrofotometresinde absorbans değeri belirlenememiştir. Gıda boyasının sıcaklık artışı ve ortam oksijenine karşı doğal rengini koruduğu ve stabilitesindeki değişiminin düşük olduğu absorbans değişiminden tespit edilmiştir (Aşam, 2015).

1.1.2.Tepki yüzey yöntemi

Bütün deneme tasarımlarının genel amacı prosese etki eden tüm faktörler değerlendirilerek proses uygulamada hata oranını en aza indirgemektir. Tepki yüzey yöntemi 1951 yılında kimya araştırmalarında optimizasyon çalışmaları sırasında Box ve Wislson tarafından tasarlanmıştır (Uzunoğulları, 2010). Birçok çalışmada fazlaca uygulama alanı bulan ve optimizasyon işlemlerinde etkin bir şekilde kullanılan matematiksel-istatistiksel bir modelleme yöntemidir. Tepki yüzey yöntemi genel olarak prosese etkisi olmayan faktörlerin elenmesi, kalan diğer mevcut faktörlerin irdelenmesi ve optimizasyonu aşamalarını kapsar (İçyer, 2012). İlk aşamada bağımsız değişkenler seçilerek bu değişkenlerin minimum ve maksimum sınır değerleri belirlenir, daha sonra deneme deseni çıkarılarak deneyler yürütülür ve proses cevap verilerine göre model oluşturulur (Çorbacıoğlu, 2020). Model üzerinde sistemi karakterize eden performans ölçüleri (yanıtlar) ve bu yanıtlar üzerinde etkili olabilecek faktörler belirlenir. Genellikle bu faktörler çok uzun bir liste oluşturmaktadır. Bu durumda, eleme (screening) denemeleri yapılarak bu faktörler arasından istatistiksel olarak en önemli olanlar seçilir. Elemeler sayesinde daha az sayıda esas deneme yapılacağından maliyet ve zaman açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. İkinci aşamada ise eleme denemelerinden sonra belirlenen en uygun bağımsız değişkenlerin doğrulanması amacı ile doğrulama deneyleri yapılır. Deneyler sonucunda bağımsız değişkenlerin doğrudan ve etkileşimli etkilerinin iki ve üç boyutlu çizimlerle gösterilerek bu değişkenlerin sistemin yanıtında oluşturdukları değerlerin, optimum noktaya ne kadar yakın sonuçlar verdiği belirlenmektir. (Çorbacıoğlu, 2020; Koç, 2008). Üçüncü aşamada ise, gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli bir eğrilik oluşturmaktadır. Bu eğriliğin tahminlenmesinde kullanılan modeller optimum noktanın araştırılmasında kullanılır (Koç, 2008)

Çoğunlukla deneysel çalışmalarda değişkenler ve değişkenlerin interaksiyonlarından kaynaklanan problemlerde bütün değişkenler tam faktöriyel olarak ele alınır. Tümüyle faktöriyel olarak kabul edilen bir çalışma ise daha fazla zaman, emek ve maliyet gerektirir. Fakat tepki yüzey yöntemi ile harcanan zaman, emek ve maliyeti düşürmek ve değişkenlerin tek veya interaksiyon halinde prosese etkilerini belirlemek mümkündür (Değirmencioğlu, & Yazgı, 2006). Bu yöntemin tercih edilmesinin temel sebebi, bağımsız değişkenlerin proses üzerindeki etkilerinin birlikte incelenebilmesi ve sistemin

matematiksel ve istatiksel bir model ile tanımlanarak bağımsız değişkenler ve proses cevabı arasındaki ilişkinin ifade edilebilmesine olanak sağlanmasından ileri gelmektedir (Myers ve ark., 2009).

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan karamuk meyveleri Kayseri'nin Yahyalı ilçesine bağlı Taşhan köyünün çeşitli bölgelerinden doğal olarak yetişen karamuk (*Berberis crataegina* DC.) bitkilerinden Ekim ayı ortalarında toplanmıştır. Toplanan meyveler oda sıcaklığında ve gölge altında kurumaya bırakılmış ve daha sonra tüm meyve şeklinde öğütülerek ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlar hemen analize alınmış ve analizler süresince de +4 ºC' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. Karamuk meyvesinin ve öğütülmüş halinin genel görünümü

2.2. Yöntem

2.2.1. Solvent optimizasyonu (Kafes karışım deneme tasarımı)

Karamuk meyvesi örneklerinin farklı ekstraksiyon şartlarındaki biyoaktif özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla öncelikle en uygun ekstraksiyon solventinin tespiti için kafes karışım deneme tasarımı kullanılarak üç farklı solventin (etanol, metanol ve su) farklı

kombinasyonlarını kapsayan karışımlar hazırlanmış ve en uygun solvent tipini belirlemek için ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan kafes karışım dizaynı (simplex lattice mixture design) ile oluşturulmuş deneme tasarımı Tablo 2.1'de gösterilmiştir. Tablo 2.1'de verilen tekli, ikili ve üçlü karışım solventler ile hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde, toplam antosiyanin miktarı, antiradikal aktivite ve antioksidan kapasite değerleri belirlenerek optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda 1 g toz örnek 60 ml ilgili solvent ve %1 formik asit ile muamele edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat süreyle çalkalayıcıda ekstraksiyon işlemine bırakılmıştır. Ardından santrifüj edilen örneklerden alınan süpernatantlar 0.45 µm'lik şırınga filtrelerden geçirilerek analize hazır hale getirilmiş ve elde edilen ekstraktlarda ilgili biyoaktif parametrelerin analizleri gerçekleştirilmiştir. Ortaya konan solvent karışımı sonraki örneklerin biyoaktivite testleri için gerekli olan ekstrakt eldesinde ana çözücü olarak kullanılmıştır.

Tablo 2.1. Solvent optimizasyonu amacıyla uygulanan kafes karışım deneme tasarımı

D.N.	A:Etanol	B:Metanol	C:Su
1	50.00	0.00	50.00
2	66.67	16.67	16.67
3	16.67	66.67	16.67
4	0.00	0.00	100.00
5	100.00	0.00	0.00
6	0.00	50.00	50.00
7	33.33	33.33	33.33
8	16.67	16.67	66.67
9	50.00	50.00	0.00
10	0.00	0.00	100.00
11	100.00	0.00	0.00
12	0.00	100.00	0.00
13	50.00	50.00	0.00
14	0.00	100.00	0.00
15	50.00	0.00	50.00

2.2.2 Farklı ekstraksiyon şartlarında karamuk ekstrelerinin üretimi

Bu çalışmada ekstraksiyon şartlarının karamuk meyvesinin biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması ve optimum şartların sağlanması amacıyla tepki yüzey yöntemi tabanlı merkezi tümleşik deneme tasarımı kullanılarak optimizasyon yapılmıştır. Solvent optimizasyonu sonrasında maksimum biyoaktivite gösteren solvent karışımının %70 metanol ve %30 su olduğu belirlenmiş bu karışıma %1 formik asit

ilavesi yapılarak kafes karışım deneme tasarımında solvent olarak bu karışım kullanılmıştır. Solvent belirlendikten sonra ekstraksiyon işlemi için proses değişkenleri sıvı/katı seviyesi (mL/g), süre (dk) ve sıcaklık (ºC) faktörleri olarak belirlenmiş ve kullanılan deneme tasarımı Tablo 2.2'de gösterilmiştir. Bu amaçla belirlenmiş solvent karışımı 1 g tartılan örneklere tablodan takip edilerek belirlenen hacimde eklenip, yine tablodaki uygun sıcaklık ve süre değerlerinde çalkalamalı su banyosu ile konvansiyonel ekstraksiyona tabi tutularak ekstrakte edilmiştir. Ardından santrifüj edilen örneklerden alınan süpernatantlar 0.45 µm'lik teflon filtrelerden geçirilerek analize hazır hale getirilmiş ve örnekler aşağıda belirtilen biyoaktif analizlere tabi tutulmuştur.

Tablo 2.2. Proses değişkenlerinin seviyesini gösteren merkezi tümleşik deneme tasarımı

D.N.	A:S/K seviyesi (mL/g)	B:Süre (dk)	C:Sıcaklık (ºC)
1	50	90	75
2	50	50	50
3	75	50	50
4	100	10	25
5	100	90	25
6	100	90	75
7	75	50	50
8	50	10	75
9	100	50	50
10	75	50	50
11	50	10	25
12	50	90	25
13	75	10	50
14	75	50	75
15	75	50	25
16	75	90	50
17	100	10	75

Konvansiyonel eksyraskiyon ile farklı proses şartlarında elde edilen ekstrakların görünümü Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

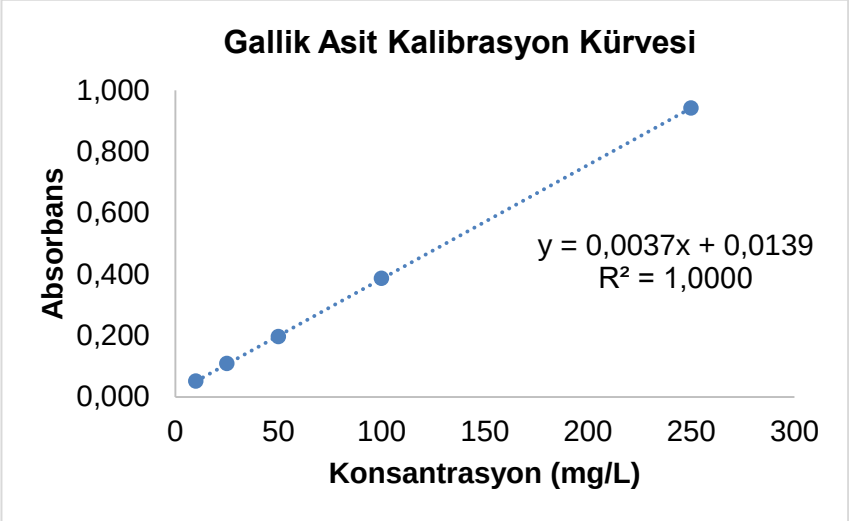


Şekil 2.2. Farklı proses şartlarında üretilen ekstraktların genel görünümü

2.2.3. Karamuk ektraktalarında biyoaktif analizlerin yapılması

2.2.3.1. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

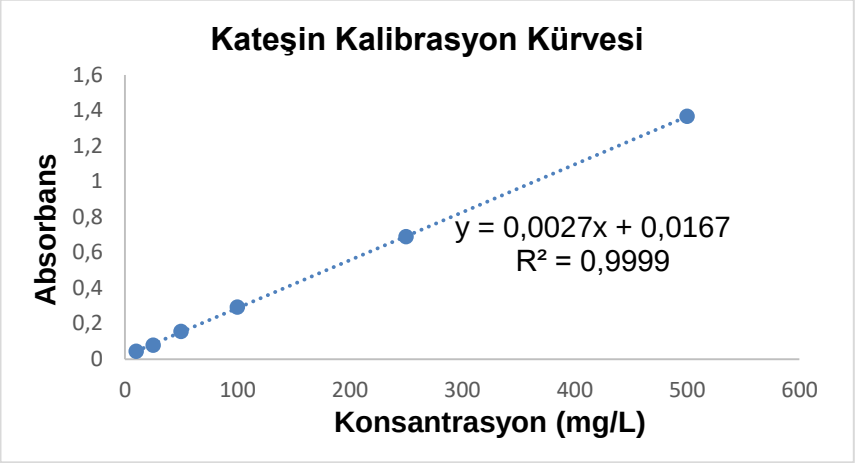
Örneklerin toplam fenolik madde içeriklerinin tespiti Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen metotda kısmi modifikasyonlar uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, optimize edilmiş solvent karışımı ile elde edilmiş olan sıvı ekstrakttan 0.2 ml alınmış, üzerine 1.8 ml saf su ve hemen üzerine 1 ml seyreltilmiş (1:10) Folin Ciocalteu ayıracı eklenmiştir. 5 dk süre sonunda örneklere 2 ml %2'lik Na_2CO_3 ilave edilmiş ve tüplerin ağızları sıkıca kapatılıp vortekslendikten sonra karanlık ortamda 2 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda örneklerin absorbans değerleri spektrofotometre ile (UV-1700, Shimadzu, Japonya) köre karşı okunmuş ve toplam fenolik madde miktarları önceden hazırlanmış gallik asit standart eğrisi kullanılarak (20-40-60-80-100-250-500 ppm konsantrasyonda 7 adet gallik asit standardı ile hazırlanmış) mg GAE/g kuru örnek olarak hesaplanmıştır. Gallik asite ait kalibrasyon eğrisi Şekil.2.3'de verilmiştir. Denemeler iki tekerrür ve dört paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.3. Gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi

2.2.3.2. Toplam flavonoid madde miktarının belirlenmesi

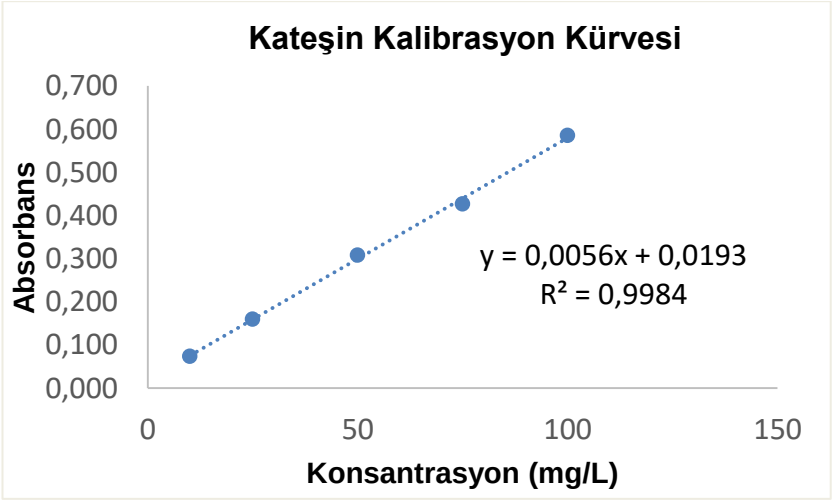
Örneklerin toplam flavonoid madde miktarı Zhinsen et al. (1999) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak belirlenmiştir. 0.5 ml örnek içeren deney tüpüne 2 ml su ve hemen ardından 0,15 ml sodyum nitrit (%5'lik) (Merck, Almanya), beşinci dakikada 0,15 ml alüminyum klorür (%10'luk) (Merck, Almanya), onbirinci dakikada 1 ml sodyum hidroksit (1 M) (Merck, Almanya) ilave edildikten sonra, tüplere 1,2 ml saf su ilave edilerek toplam hacim 5 ml'ye tamamlanmıştır. Oluşan karışımın absorbansı, şahit örneğine karşı, UV-Vis spektrofotometrede 510 nm de okunmuş ve toplam flavonoid miktarı kateşin (Sigma, ABD) ile hazırlanan kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak (20-40-60-80-100-250-500 ppm konsantrasyonlarında 7 adet kateşin standardı ile hazırlanmış) kateşin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Kateşine ait kalibrasyon eğrisi Şekil 2.4 de verilmiştir. Denemeler iki tekerrür ve dört paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.4. Kateşin standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi

2.2.3.3. Kondanse tannin miktarının belirlenmesi

Örneklerin kondanse tannin içerikleri Sun ve ark (1998) tarafından önerilen metot uygulanarak belirlenmiştir. Bu amaçla örnek ekstraktları 0.45 µm filtreden süzüldükten sonra 1 ml ekstrakt 2.5 ml vanilin (%1'lik ve metanol ile hazırlanmış) ile karıştırılarak üzerine 2.5 ml H_2SO_4 (%25'lik ve metanol ile hazırlanmış) eklenmiştir. Ardından örnekler 30 ºC deki su banyosunda 15 dk süreyle inkübe edildikten sonra absorbans değerleri 500 nm de kaydedilip kateşin ile hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisi kullanılarak sonuçlar mg kateşin / g örnek olarak hesaplanmıştır. Kateşine ait kalibrasyon eğrisi Şekil 2.4'de verilmiştir**.** Denemeler iki tekerrür ve dört paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.4. Kateşin standardı ile hazırlanan kondanse tannin kalibrasyon eğrisi

2.2.3.4. DPPH radikali süpürme aktivitesinin belirlenmesi

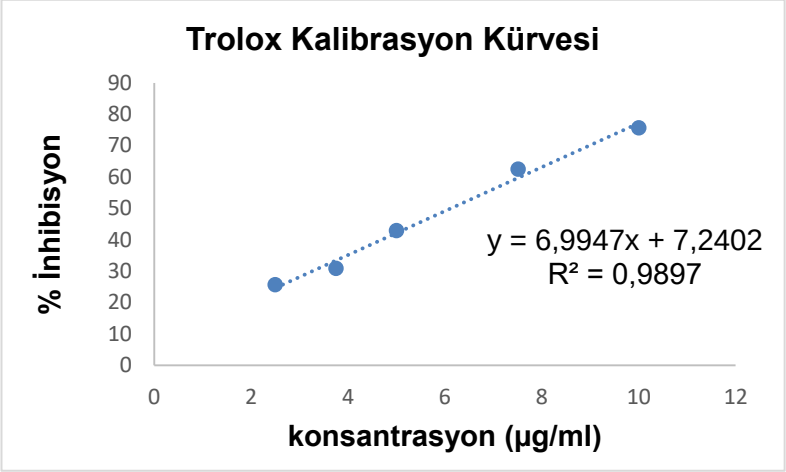
Örneklerin antiradikal aktivitesi Faller ve Fialho (2009) tarafından önerilen metot yardımıyla tespit edilmiştir. Bu amaçla deney tüpünde bulunan 0,1 ml ekstrakt, 3,9 ml DPPH (Sigma, ABD) solüsyonu (0,1 mM ve metanolde hazırlanmış) ile karıştırılıp ardından alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra, karanlık bir ortamda 30 dakika süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda deney tüplerinin absorbans değerleri, metanol ile sıfırlanmış UV-Vis spektrofotometrede 517 nm de belirlenmiştir. Denemeler iki tekerrür ve dört paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Örneklerin DPPH radikalini yakalama aktivitesi, % inhibisyon olarak aşağıda verilen formül vasıtasıyla hesaplanmıştır.

% Inhibisyon= $[(Abs_{control}-Abs_{ekstrakt})/Abs_{control}]$

2.2.3.5. $ABTS^{\cdot+}$ radikali süpürme aktivitesinin belirlenmesi

Analiz Wettasınghe ve ark. (2002); Mathew ve Abraham (2006)'nın uyguladığı yöntemler temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu metoda göre $ABTS^{\cdot+}$ radikal katyonu, $ABTS^{\cdot+}$ çözeltisinin persülfat ile oksidasyonu sonucunda oluşturulmuştur. 7 mmol $ABTS^{\cdot+}$ bir miktar suda çözülerek 2,45 mmol potasyum persülfat ile muamele edilmiştir. Karışım daha sonra oda sıcaklığında 16 saat koyu mavi renk oluşana kadar bekletilmiştir. Koyu mavi renkli bu çözelti, tampon çözelti (pH 7,4) ile absorbans 734 nm de 0,7 olana kadar seyreltilmiştir. Daha sonra bu seyreltilmiş çözeltiden 4 ml ($ABTS^{\cdot+}$ çözeltisi) alınarak 40µl uygun oranlarda seyreltilmiş örnek ekstraktı ile karıştırılmış ve 4. ve 10. dk larda absorbans spektrofotometrede 734 nm de okunmuştur. $ABTS^{\cdot+}$ radikal katyonundaki azalma yüzde olarak hesaplanmış ve sonuçlar TEAC (Troloks eşdeğer antioksidan kapasite) olarak verilmiştir. Trolox a ait kalibrasyon eğrisi Şekil 2.5'de verilmiştir. Denemeler 2 tekerrür 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

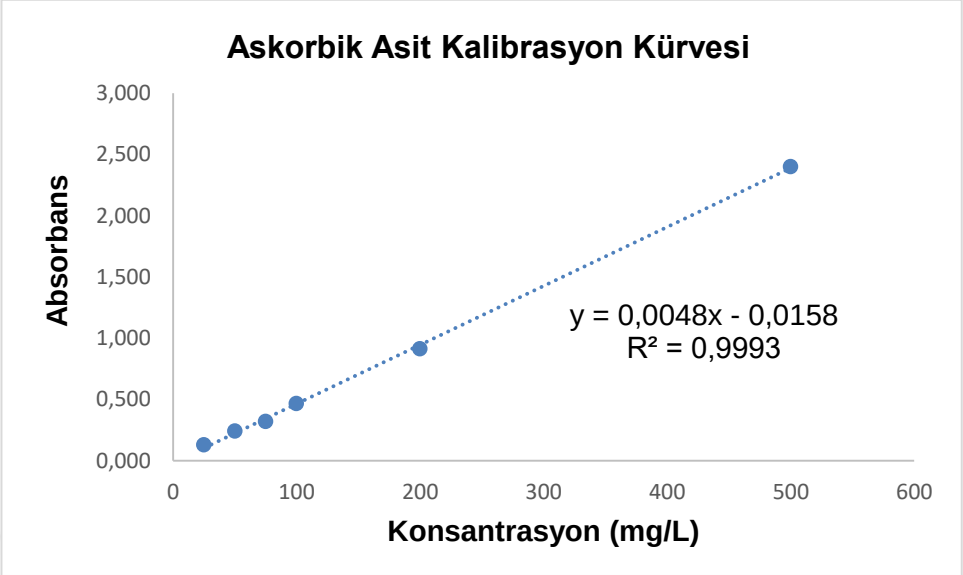
% $ABTS^{\cdot+}$ azalması = $[(Abs_{başlangıç}-Abs_{son})/ Abs_{başlangıç}] \times 100$



Şekil 2.5. Troloks standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi

2.2.3.6. Fosfomolibden yöntemi ile antioksidan kapasite

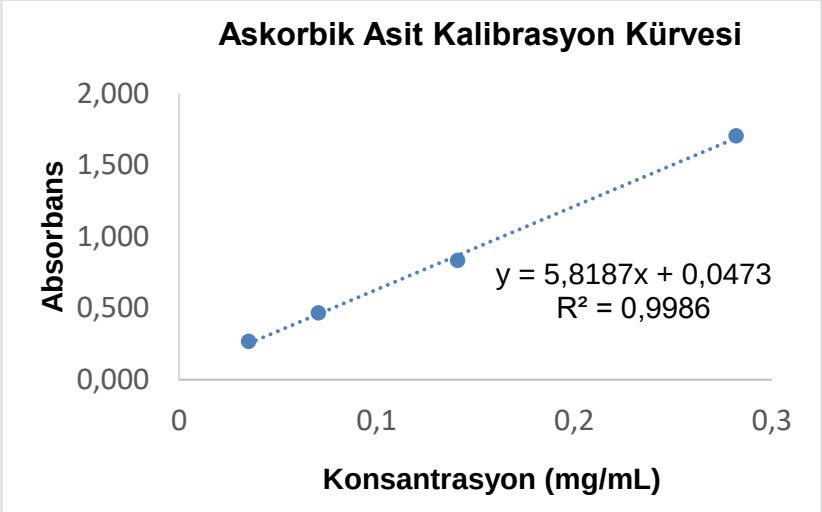
Prieto ve ark. (1999) tarafından geliştirilen yöntem ile örneklerin antioksidan kapasite değerleri tespit edilmiştir. Bu kapsamda ilk olarak reaktif çözeltisi hazırlanmıştır. 0,6 M sülfirik asit (30 ml), 28 mM sodyum fosfat (28 ml) ve 4 mM amonyum molibdat (40 ml) birleştirilip 100 ml ye su ile tamamlanır. Çözelti taze olarak hazırlanmalıdır. Sonrasında 0,4 ml örnek, 4 ml reaktif çözeltisi ile karıştırılmış ve test tüpleri vortekslendikten sonra su banyosunda 95 °C'de 90 dk inkübasyona bırakılmıştır. Soğuk suda hızlı soğutmadan sonra örneklerin absorbans değerleri 695 nm de UV-vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Antioksidan aktivite sonuçları askorbik asit standardı (25-50-75-100-200-500 ppm konsantrasyonlarında) ile çizilen kalibrasyon kürvesi kullanılarak mg askorbik asit eşdeğeri (mg AAE/kg) olarak verilmiştir. Askorbik asite ait kalibrasyon eğrisi Şekil 2.6 da verilmiştir. Denemeler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.6. Askorbik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi

2.2.3.7. İndirgeme gücü (redüktif potansiyel) ile antioksidan aktivitenin belirlenmesi

Antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden biri olan indirgeme gücü Oyaizu (1986)'nın uyguladıkları yöntem temel alınarak tespit edilmiştir. Çeşitli konsantrasyondaki örnek ve standart (askorbik asit) ekstraktlarının 1 ml'si 2,5 ml 0,2 M fosfat tampon çözeltisi (pH=6.6) ile karıştırılmıştır. Daha sonra 2,5 ml % 1 w/v potasyumferrisiyanid [$K_3Fe(CN)_6$] eklenerek 50 ˚C de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra reaksiyon karışımına 2,5 ml trikloroasetik asit (10% w/v) eklenerek 1000 *g* de 10 dk santrifüj edilmiştir. Bu çözeltinin üst kısmından 2,5 ml alınarak 2,5 ml distile su ve 0,5 ml %0,1 $FeCl_3$ eklendikten sonra 700 nm de absorbans değerleri kaydedilmiştir. Askorbik asitin çeşitli konsantrasyon aralığında (0,005-0.5 mg/ml) EtOH:Su (50:50 v/v) ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak sonuçlar askorbik asit eşdeğer cinsinden verilmiştir. Askorbik asite ait kalibrasyon eğrisi Şekil 2.7'de verilmiştir. Denemeler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.7. Askorbik asit standardı ile hazırlanmış demir indirgeme gücü kalibrasyon eğrisi

2.2.3.8. Linoleik asit oksidasyon inhibisyonu ile antioksidan aktivite

Gülçin ve ark. (2006) tarafından tanımlanan bu metot ile linoleik asitin antioksidan madde varlığında ve antioksidan madde olmadığı durumda okside olma derecesi belirlenerek antioksidan aktivitesi ölçülmektedir. Bu bağlamda 5 ml belirli konsantrasyondaki örnek ekstraktı alınmış ve 155 µl linoleik asit ,160 µl tween 20 ve 0,02 M pH= 7 olan fosfat tampon çözeltisinden 45 ml eklenerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımı ağzı kapalı plastik santrifüj tüpleri içerisinde 37 °C de inkübasyona bırakılıp inkübasyon sırasında çeşitli zaman aralıklarında 0,1 ml örnek alınarak üzerine 5 ml %75 v/v etanol, 0,1 ml %30 w/v amonyumtiyosiyanat ve 0,1 ml 0,02 M (% 3,5 HCl w/v içerisindeki) $FeCl_2$ eklenerek vortekslenmiştir. Burada lipit oksidasyonu sonucu oluşan peroksitler Fe^{+2} iyonlarını Fe^{+3} iyonuna yükseltger ve oluşan Fe^{+3} tiyosiyanat ile reaksiyona girerek 500 nm de maksimum renge sahip bir kompleks oluşturur. Bu nedenle karışımın absorbansı 500 nm de ölçülmüştür. Aynı koşullar antioksidan madde içermeyen kontrol örneği için de uygulanmış ve lipit peroksidasyonu inhibisyonu aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\%LPI = 100 - [Abs_{örnek} / Abs_{kontrol}) \times 100]$$

2.2.3.9. Toplam antosiyanin madde miktarının belirlenmesi (pH diferansiyel metodu)

Toplam antosiyanin içeriğini belirlemek için Fuleki ve Francis (1968) tarafından tanımlanan pH diferansiyel yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde antosiyanin pigmentlerinin ortamın pH değerlerine göre renk değiştirmeleri esas alınır. Örneklerin maksimum absorbans verdiği dalga boylarında farklı pH değerlerindeki ölçümler arasındaki fark, örneğin antosiyanin içeriği ile doğru orantılıdır. Bu bağlamda 1'er ml ekstrakt üzerine 0,02M Na_2HPO_4 ve 0,02 M NaH_2PO_4 ile hazırlanmış pH 1,0 ve pH 4,5 tamponları eş zamanlı olarak ilave edilmiş ve oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dk inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda tüm örneklerin absorbans değerleri eş zamanlı olarak 510 nm ve 700 nm de okunmuştur. Sonuçlar gram örnekte mg siyanidin 3-O- rutinozit cinsinden verilmiştir. Denemeler 2 tekerrür ve 4 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Toplam antosiyanin miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

Antosiyanin (mg/L)=$(\Delta A/\varepsilon * L)10^3$ * MW * SF

ΔA : Absorbans farkı ($A= ((A_{510nm}- A_{700nm})\ pH_{1,0}) – ((A_{510nm}- A_{700nm})\ pH_{4,5})$)

ε: Molar absorbans

L: Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı (=1)

MW : Molekül ağırlığı

SF : Seyreltme faktörü

2.4. İstatistiksel Analizler ve Optimizasyon

Karamuk meyvesinden hem solvent optimizasyonu hem de proses değişkenlerinin etkilerinin belirlenmesi Design Expert 7.1 istatistiksel yazılımı kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışılan proses değişkenlerinin lineer, interaksiyon ve kuadratik etkileri %95 güven aralığında yine aynı yazılım kullanılarak tespit edilmiştir.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Solvent tipi ve seviyesinin karamuk meyvesinin biyoaktivitesi üzerine etkisi

Karamuk meyvesinin ekstraksiyonunda kullanılmak üzere en etkili solventin belirlenmesi amacıyla etanol, metanol ve su solventlerinin tekli ve farklı oranlarda karışımları ile oluşturulan kafes karışım deneme tasarımına göre hazırlanan solvent karışımları ve bu solventlerle elde edilen ekstraktlarda yapılan biyoaktif analiz sonuçları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Karamuk meyvesinin ekstraksiyonunda kullanılan solvent tipine bağlı olarak elde edilen ekstraktların biyoaktif özellikleri

A:Etanol	B:Metanol	C:Su	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g)	DPPH (% Inh.)	AA (mg AAE/g)	Toplam Antosiyanin (mg/g)
50,00	0,00	50,00	76,25	36,66	119,18	3,01
66,67	16,67	16,67	82,31	40,14	132,60	3,49
16,67	66,67	16,67	85,40	41,48	139,49	4,16
0,00	0,00	100,00	51,75	21,79	101,32	2,94
100,00	0,00	0,00	56,99	25,51	105,63	2,83
0,00	50,00	50,00	85,53	39,49	138,07	4,02
33,33	33,33	33,33	84,59	40,54	134,50	3,73
16,67	16,67	66,67	82,22	36,70	130,17	3,60
50,00	50,00	0,00	79,23	37,71	132,77	3,53
0,00	0,00	100,00	53,16	20,85	99,83	2,85
100,00	0,00	0,00	55,35	26,10	99,66	2,78
0,00	100,00	0,00	83,59	39,51	133,86	3,86
50,00	50,00	0,00	80,75	33,52	129,11	3,57
0,00	100,00	0,00	82,85	38,06	137,44	3,89
50,00	0,00	50,00	74,55	33,71	124,72	3,45

Karamuk meyvesinde farklı solventler ile yapılan ekstraksiyon sonucunda örneklerin temel biyoaktif özelliklerinde dikkate değer değişimler meydana geldiği gözlenmiştir.

15 noktada etanol, metanol ve suyun tekli, ikili ve üçlü karışımları ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde, antiradikal aktivite, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin miktarı belirlenmiştir. Örneklerin toplam fenolik madde miktarları 51,75-85,53 mg GAE/g aralığında değişim göstermiş ve en yüksek değer metanol-su karışımı ile elde edilen karamuk ekstrelerinde gözlemlenirken, en düşük değerler sadece su ile hazırlanan ekstrakt örneklerinde tespit edilmiştir. Sadece etanol ile yapılan ekstraksiyonda ise örneklerin toplam fenolik madde miktarları da su ile hazırlanan ekstrelerin toplam fenolik madde miktarlarına oldukça yakın bulunmuştur (Tablo 3.1). Solvent karışımları ile yapılan ekstraksiyon işlemi ile ekstrelerin toplam fenolik madde miktarlarında tekli solventlere nazaran net değişimler olduğu belirlenmiştir.

Örneklerin DPPH radikalini süpürme aktiviteleri yine aynı şekilde dikkate değer bir varyasyon sergilemiş ve en yüksek antiradikal aktivite değeri üç solventin karışımı ile elde edilen ekstrelerde gözlemlenirken, en düşük radikal süpürme aktiviteleri sadece su ile elde edilen ekstrelerde belirlenmiştir. Pearson korelasyon analizi, örneklerin toplam fenolik madde miktarları ile antiradikal aktivite değerleri arasında önemli ve pozitif yönde bir korelasyon olduğunu göstermiştir ($p<0.05$, $r=0,963$).

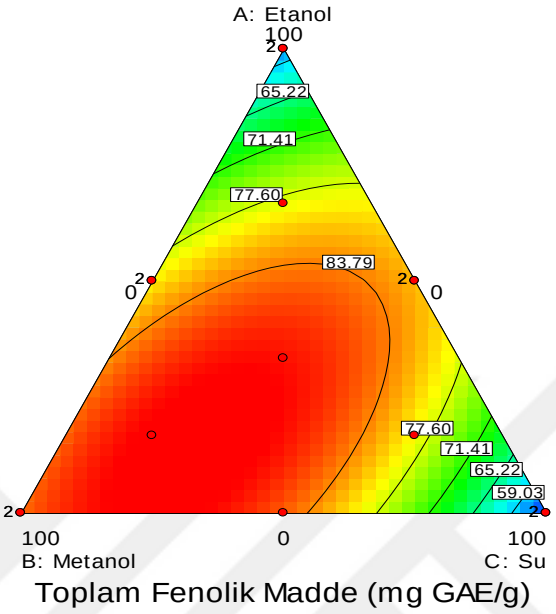
Karamuk ekstrelerinin fosfomolibden yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri 99,66-139,49 mg AAE/g aralığında değişim göstermiş ve en yüksek değerler karışım solventlerle elde edilirken, en düşük değerler etanol ve suyun tekli ekstraksiyonları ile elde edilen örneklerde tespit edilmiştir. Örneklerin antioksidan değerleri de toplam fenolik madde miktarlarına paralel olarak değişim göstermiş ve yapılan korelasyon analizi sonucunda toplam fenolik madde miktarları ile antioksidan aktivite değerleri arasında önemli ve pozitif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$, $r=0,981$).

Karamuk meyvesinde yapılan ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen ekstraktların mavi-mor renk sergilemesi sebebiyle, tüm örneklerde toplam antosiyanin analizi gerçekleştirilmiş ve örneklerin toplam antosiyanin değerlerinde de kullanılan solvente göre farklılıklar olduğu görülmüştür. Örneklerin toplam antosiyanin miktarları 2,78-4,16 mg/g aralığında değişim göstermiş ve en yüksek değerlerin solvent karışımları ile elde edilen ekstre örneklerinde olduğu gözlemlenirken, en düşük toplam antosiyanin

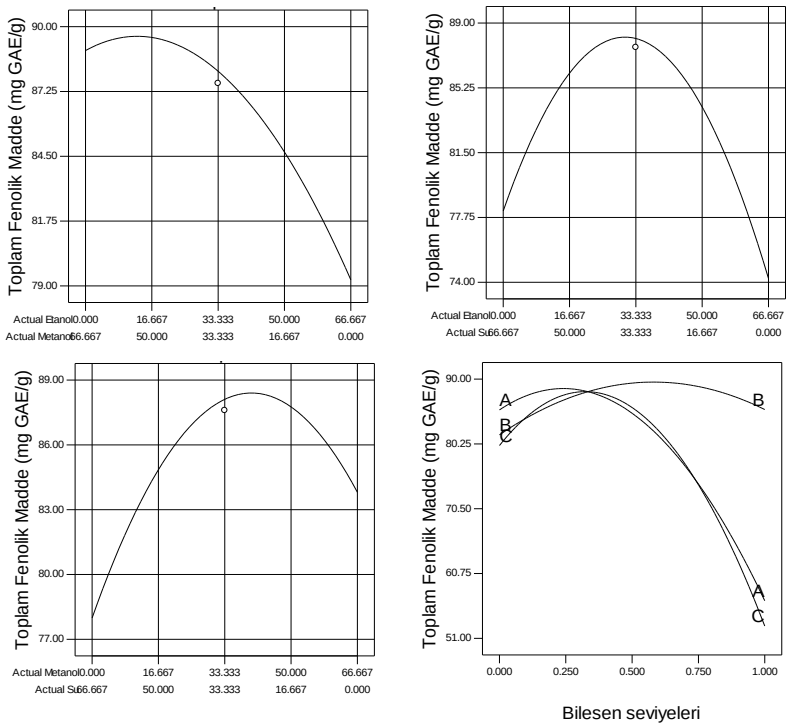
miktarları örneklerin doğrudan sadece su ya da etanol ile alınan ekstrelerinde ortaya çıktığı belirlenmiştir. Örneklerin toplam antosiyanin miktarları ile hem antiradikal aktivite ($p<0.05$, 0,847) hem de antioksidan aktivite ($p<0.05$, 0,945) değerleri arasında da pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür.

Karamuk örneklerinin farklı solvent tipleri ve bunların farklı oranlardaki karışımlarına bağlı olarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarındaki değişim Şekil 3.1 ve 3.2'de, bu etkilerin önem seviyelerini gösteren ANOVA sonuçları ise Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Kontuar grafikten de net olarak gözlemlendiği üzere örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında önemli bir değişim görülmüştür ($p<0.05$). Toplam fenolik madde miktarları özellikle metanolün baskın olduğu solvent karışımlarında daha yüksek seviyede belirlenmiş ve metanol varlığı ile karamuk meyvesinden daha etkin bir fenolik madde ekstraksiyonu sağlandığı tespit edilmiştir. Etanol ve su solventinin tek başına olduğu ya da baskın solvent olduğu karışımlarla yapılan ekstraksiyon işleminde ise daha düşük fenolik madde yoğunluğu belirlenmiştir. Şekil 3.2 ikili solvent karışımlarının farklı seviyelerinin karamuk ekstrelerinin toplam fenolik madde miktaraları üzerinden nasıl bir değişime yol açtığını göstermektedir. Etanol ve metanol solventlerinin kullanımı ile elde edilen örneklerde, solvent içerisinde etanol miktarı yükseldikçe ve doğal olarak metanol seviyesi azaldıkça ekstrelerin toplam fenolik madde değerlerinde önemli seviyede düşüş meydana geldiği görülmüştür. Etanol ve su ile oluşturulan karışımlarda ise hem etanol hem de suyun neredeyse eşit oranda olduğu solvent ile elde edilen ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları maksimum seviyede iken, etanol seviyesinin artması ve su miktarının azalması ile son ürünün toplam fenolik madde miktarı değerlerinde önemli bir azalma meydana gelmiştir. Metanol ve su ile hazırlanan örneklerde ise metanolün baskın solvent olduğu karışımda toplam fenolik madde miktarı maksimum seviyede tespit edilmiş ve her üç solventin karışımında ise etanol ve su miktarının artışı toplam fenolik madde miktarında düşüşe yol açmıştır. Her üç solvent tipi için solventlerin toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkilerinin istatistiksel olarak da oldukça önemli olduğu ($p<0.05$) gözlenmiş, ayrıca solventlerin ikili interaksiyonlarının da önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$, Tablo 3.2). Solvent tipinin karamuk ekstrelerinin toplam fenolik madde miktarları üzerindeki etkisini solvent tipi ve karışımdaki yüzdesel oranına bağlı olarak tahminlemek üzere geliştirilen regresyon denklemi de Tablo 3.2'de verilmiş ve ortaya konan modelin tahminleme

gücünün sahip olduğu yüksek determinasyon katsayısı sebebiyle (R^2=0,962) oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 3.1. Solvent tipine bağlı olarak örneklerin toplam fenolik madde değerlerindeki değişim



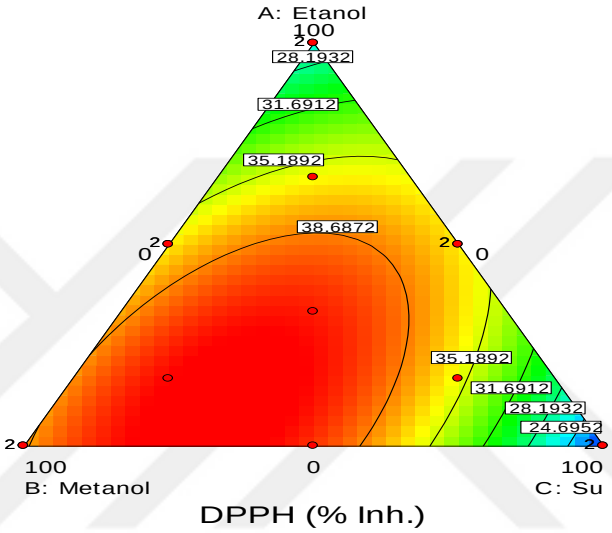
Şekil 3.2. Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin toplam fenolik madde miktarlarındaki değişim

Tablo 3.2. Solvent karışımının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

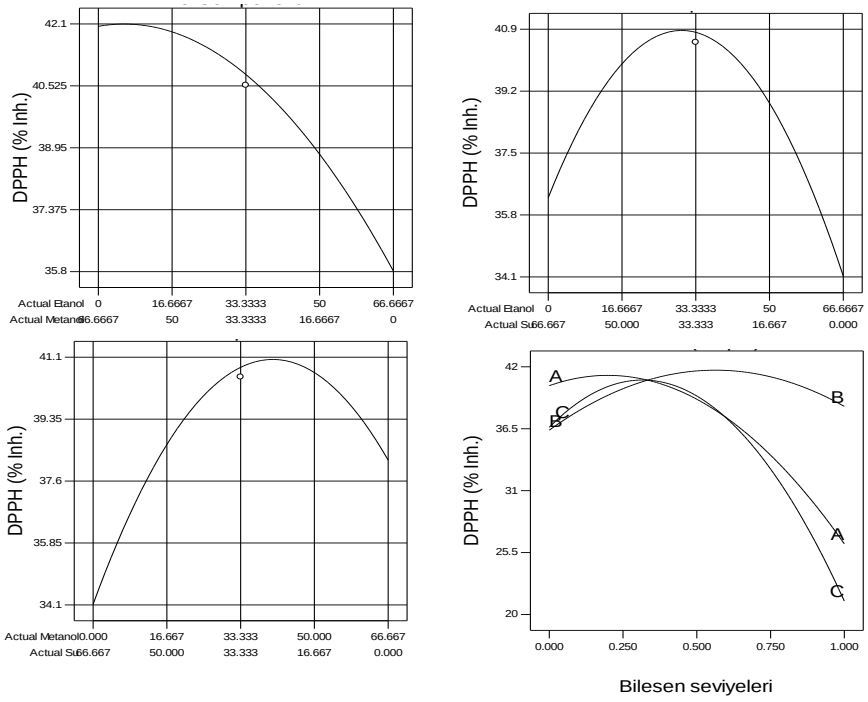
Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F	p-değeri Prob > F
Model	2519.3	5	503.9	46.6	< 0.0001
Lineer etki	1053.8	2	526.9	48.8	< 0.0001
AB	120.7	1	120.7	11.2	0.0086
AC	1082.9	1	1082.9	100.3	< 0.0001
BC	279.3	1	279.3	25.9	0.0007
Residual	97.2	9	10.8		
Uyum eksikliği	45.4	4	11.4	1.1	0.4495
Saf hata	51.8	5	10.4		
Cor Total	2616.5	14			
TFM (mg/g)=0,57A+0,85B+0,53C+0,00AB+0,01C+0,01BC (R^2=0,962)					

Karamuk örneklerinin yine farklı solvent tipleri ve bu solventlerin farklı seviyelerdeki karışımlarına bağlı olarak elde edilen ekstraktların DPPH radikalini süpürücü etkisini ortaya koyan % inhibisyon değerlerindeki değişim Şekil 3.3 ve 3.4'de, bu etkilerin önem seviyelerini gösteren ANOVA sonuçları ise Tablo 3.3'de gösterilmiştir. Kontuar şekilden de görüleceği üzere örneklerin antiradikal aktivitesini gösteren % inhibisyon değerleri metanol noktasına doğru önemli seviyede artış sergilerken, özellikle su ve etanol noktalarında, yani ekstraksiyon solventinde etanolün ve suyun tekli olarak hakim olduğu solvent ile elde edilen ekstrelerde antiradikal aktivite değerlerinin en düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarları ile antiradikal aktivite değerleri arasında önemli ve pozitif yönde bir korelasyon ($p<0.05$, $r=0,963$) olması nedeniyle de her iki biyoaktif parametrenin kontuar grafikleri birbirine oldukça benzer çıkmış, her iki parametre için de maksimum değerler metanolün baskın olduğu solvent karışımları ile elde edilmiştir. Şekil 3.4 karışım halindeki solventlerin hem cins hem de seviyeye bağlı olarak antiradikal aktivite üzerindeki etkisini net olarak göstermektedir. Görüldüğü üzere toplam fenolik madde miktarı değerlerine paralel olarak, etanol ile metanolün bir arada olması durumunda etanol seviyesinin artışı antiradikal aktivitede düşüşe yol açmış, metanol artırışı ile daha yüksek antiradikal aktivite değerlerine ulaşılmıştır. Etanol su karışımlarında eşit seviyelerde yüksek radikal süpürücü etki gözlenirken, etanolün artışı ya da suyun artışı yine düşüşe yol açmıştır. Metanol su ikilisinde ise metanolün baskın solvent olduğu karışımda daha yüksek antiradikal aktivite değerlerine ulaşılmıştır. Her üç solventin karışımında ise etanol ve

su miktarının oransal olarak yükselişi antiradikal aktivite değerlerini düşürmüştür. Her üç solvent tipi için solventlerin antiradikal aktivite üzerindeki etkilerinin istatistiksel olarak da oldukça önemli olduğu ($p<0.05$) belirlenmiş, ayrıca solventlerin ikili interaksiyonlarının da önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$, Tablo 3.3). Regresyon denkleminin ise yüksek determinasyon katsayısı (R^2=0,939) ile tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 3.3. Solvent tipine bağlı olarak antiradikal aktivite (% inhibisyon) değerlerindeki değişim



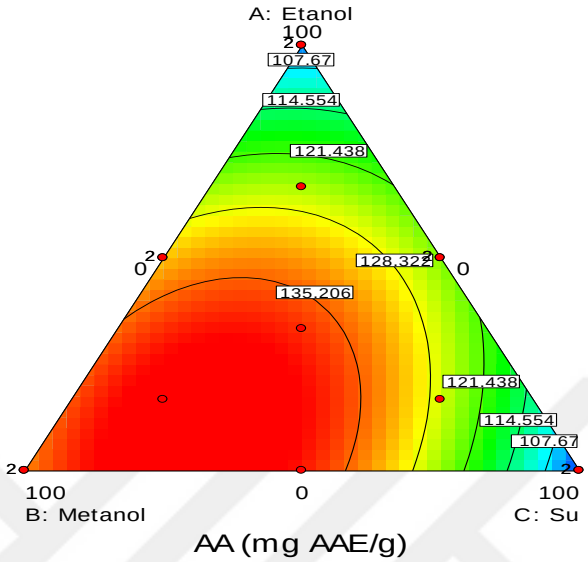
Şekil 3.4. Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin % inhibisyon değerlerindeki değişim

Tablo 3.3. Solvent karışımının antiradikal aktivite üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

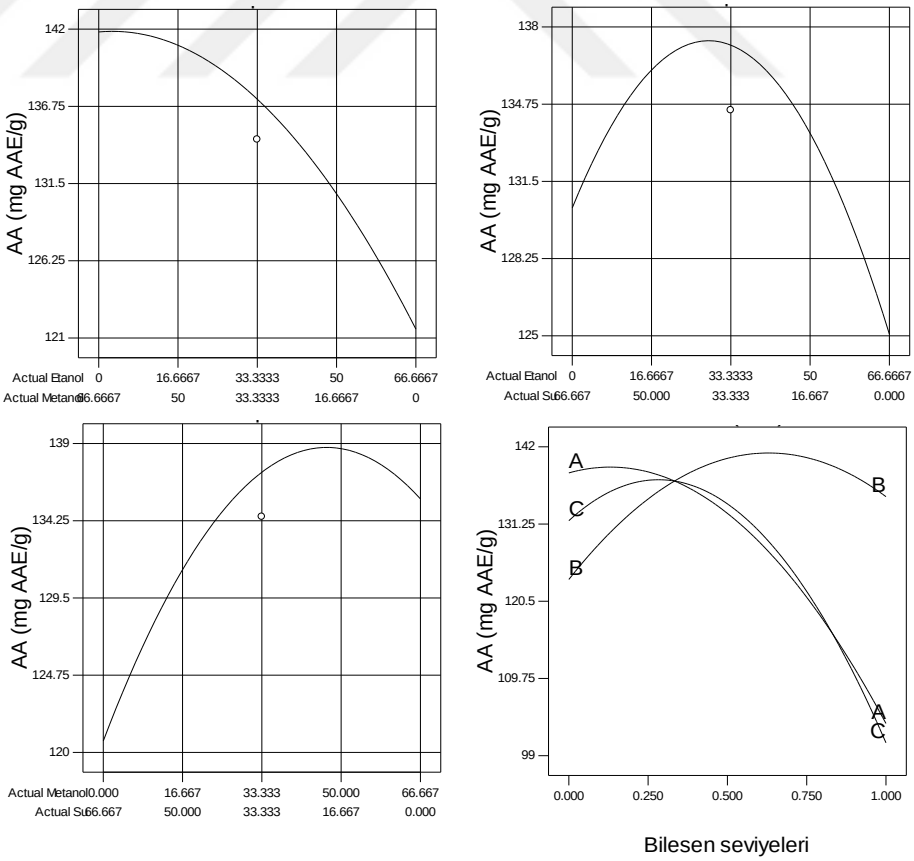
Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F	p-değeri Prob > F
Model	662.2	5	132.4	27.5	< 0.0001
Lineer etki	280.6	2	140.3	29.1	0.0001
AB	27.1	1	27.1	5.6	0.0419
AC	239.7	1	239.7	49.7	< 0.0001
BC	116.5	1	116.5	24.2	0.0008
Residual	43.4	9	4.8		
Uyum eksikliği	28.6	4	7.1	2.4	0.1800
Saf hata	14.8	5	3.0		
Cor Total	705.6	14			
ARA (%)=0,26A+0,38B+0,21C+0,00AB+0,01C+0,00BC (R^2=0,939)					

Şekil 3.5 ve 3.6 karamuk örneklerinin yine farklı solvent tipleri ve bu solventlerin farklı seviyelerdeki karışımlarına bağlı olarak elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerindeki değişimi, Tablo 3.4 ise bu etkilerin önem seviyelerini gösteren ANOVA sonuçları göstermektedir. Şekilden de görüleceği üzere örneklerin antioksidan aktivite değerleri metanol noktasına doğru önemli seviyede artış sergilerken, özellikle su ve etanol noktalarına doğru önemli seviyede ($p<0.05$) düşüş göstermiştir (Şekil 3.5). Yani ekstraksiyon solventinde etanol ve suyun tekli olarak major solvent olduğu karışım ile elde edilen ekstrelerde de hem toplam fenolik madde hem de antiradikal aktivite de olduğu gibi, antioksidan aktivite değerlerinin de en düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Şekil 3.6, ikili solvent karışımları ile üçlü karışımda solvent tipi ve seviyesine bağlı olarak antioksidan aktivitenin ne yönde değişim sergilediğini ortaya koymaktadır. Görüldüğü üzere, etanol ve metanol varlığında etanol seviyesinin artışı antioksidan aktivite değerini azaltırken metanol önemli ölçüde yükseltmiştir. Etanol su ikilisinde ise belirli seviyede ikili karışım değerinde antioksidan aktivite değeri maksimum seviye sergilerken iki solventinde artış ve azalışı ile birlikte antioksidan aktivite de önemli ölçüde düşüş sergilemiştir. Her üç solvent karışımında ise metanol ve su varlığı değerleri yükseltirken, karışıma etanol ilave edilmesi değerlerde düşüşe yol açmıştır. Her üç solvent tipi için solventlerin antioksidan aktivite üzerindeki etkilerinin istatistiksel olarak da oldukça önemli olduğu ($p<0.05$) tespit edilirken, solventlerin ikili interaksiyonlarının da önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$, Tablo 3.3). Regresyon

denkleminin ise yüksek determinasyon katsayısı (R^2=0,960) ile tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Solvent tipine bağlı olarak antioksidan aktivite değerlerindeki değişim

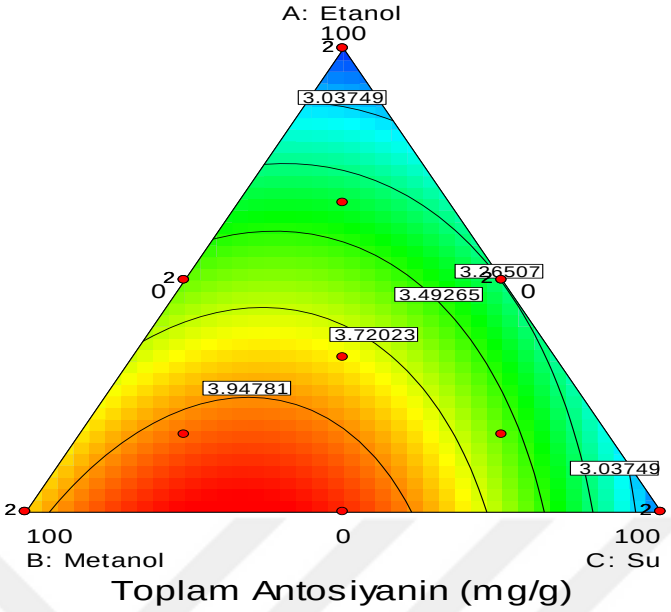


Şekil 3.6. Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin antioksidan aktivite değerlerindeki değişim

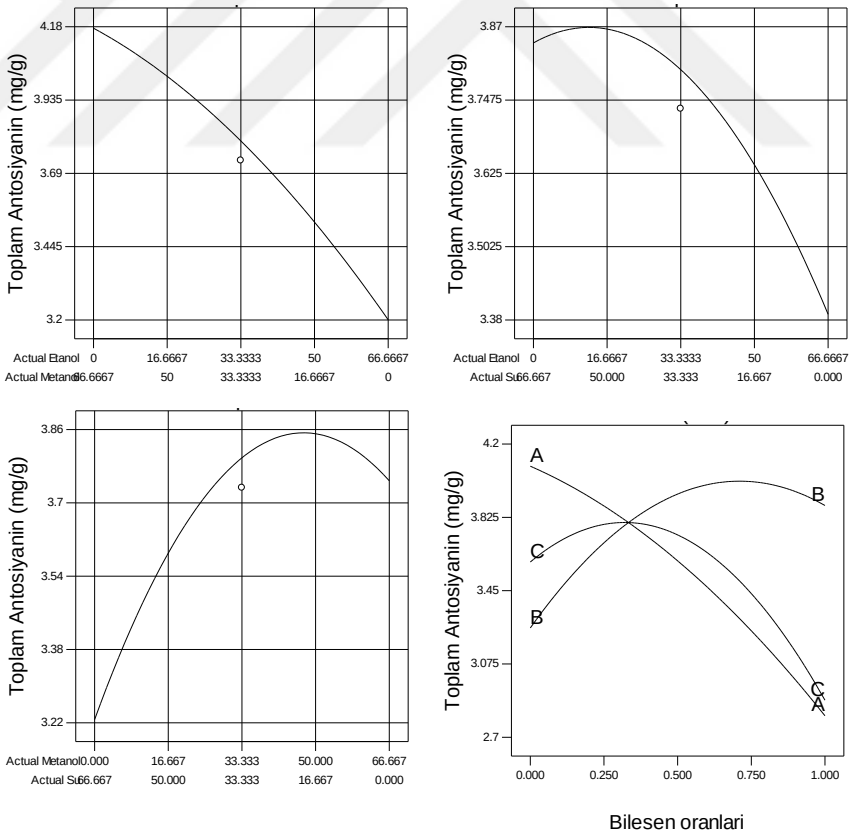
Tablo 3.4. Solvent karışımının antioksidan aktivite üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F	p-değeri Prob > F
Model	2967.9	5	593.6	42.6	< 0.0001
Lineer etki	1623.9	2	811.9	58.3	< 0.0001
AB	232.5	1	232.5	16.7	0.0027
AC	687.4	1	687.4	49.4	< 0.0001
BC	443.3	1	443.3	31.8	0.0003
Residual	125.4	9	13.9		
Uyum eksikliği	77.9	4	19.5	2.05	0.2250
Saf hata	47.4	5	9.5		
Cor Total	3093.3	14			
AA (mg/g)=1,03A+1,35B+1,01C+0,00AB+0,01C+0,01BC (R^2=0,960)					

Şekil 3.7 ve 3.8 karamuk örneklerinin yine farklı solvent tipleri ve bu solventlerin farklı seviyelerdeki karışımlarına bağlı olarak elde edilen ekstraktların toplam antosiyanin miktarlarındaki değişimi, Tablo 3.5 de bu etkilerin önem seviyelerini gösteren ANOVA sonuçları göstermektedir. Örneklerin toplam antosiyanin miktarları metanol ve su karışımını ifade eden kenara doğru önemli seviyede artış sergilerken, özellikle su ve etanol noktalarına doğru ise önemli seviyede ($p<0.05$) azalış göstermiştir (Şekil 3.7). Bu bağlamda antosiyaninlerin metanol ve su karışımının hakim olduğu solvent tipi ile daha iyi ekstrakrte edildiği, ekstraksiyon solventinde etanolün ya da suyun baskın solvent olması ile antosiyanin ekstraskiyonunun etkin bir şekilde yapılamadığı gözlenmiştir. Şekil 3.6, ikili solvent karışımları ile üçlü karışımda solvent tipi ve seviyesine bağlı olarak toplam antosiyanin miktarlarında ne yönde değişim sergilediğini göstermektedir. Görüldüğü üzere, etanol ve metanol karışımında etanol seviyesinin artışı toplam antosiyanin miktarı ciddi seviyede düşürürken metanol varlığında bu değer önemli ölçüde yükselmiştir. Etanol su ikilisinde ise toplam antosiyanin miktarları etanolün az, suyun ise çok olduğu solvent karışımında maksimum seviye sergilerken, etanolün artışı değerleri önemli ölçüde azaltmıştır. Her üç solvent karışımında ise metanol ve su varlığı değerleri maksimum seviyede tespit edilmiştir. Her üç solvent tipi için solventlerin toplam antosiyanin miktarı üzerindeki etkilerinin istatistiksel olarak da oldukça önemli olduğu ($p<0.05$) gözlemlenirken, solventlerin ikili interaksiyonlarının da önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$, Tablo 3.4). Regresyon denkleminin ise yüksek determinasyon katsayısı (R^2=0,947) ile tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.



Şekil 3.7. Solvent tipine bağlı olarak toplam antosiyanin değerlerindeki değişim



Şekil 3.8. Solvent tipi ve konsantrasyonu karşısında örneklerin antioksidan aktivite değerlerindeki değişim

Tablo 3.4. Solvent karışımının antosiyanin miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F	p-değeri Prob > F
Model	2.80	5	0.56	31.88	< 0.0001
Linear etki	1.93	2	0.97	55.06	< 0.0001
AB	0.09	1	0.09	5.29	0.0470
AC	0.25	1	0.25	14.34	0.0043
BC	0.52	1	0.52	29.53	0.0004
Residual	0.16	9	0.02		
Uyum eksikliği	0.05	4	0.01	0.60	0.6774
Saf hata	0.11	5	0.02		
Cor Total	2.96	14			
TAM (mg/g)=0,03A+0,04B+0,03C+0,00AB+0,00C+0,00BC (R^2=0,947)					

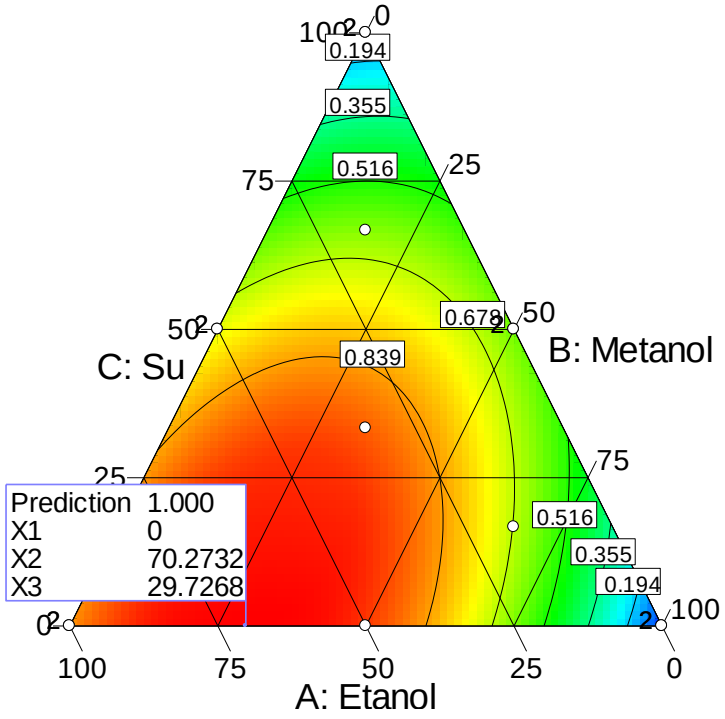
3.2 Karamuk meyvesi ekstraksiyonu için en ideal solvent karışımının belirlenmesi

Karamuk meyvesinin ekstraksiyonu Tablo 3.1 de verilen deneme tasarımına bağlı olarak farklı solvent tipi ve seviyelerinde karamuk meyvesinden konvansiyonel ekstraksiyon ile elde edilen ekstrelerde dört temel biyoaktif parametre (toplam fenolik madde, antiradikal aktivite, antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin miktarı) analiz edilmiş ve her bir parametrenin üzerinde solvent tipi ve seviyesinin etkileri hem grafiksel hem de değersel olarak yukarıda net olarak gösterilmiştir. Kafes karışım deneme tasarımı dikkate alınarak sistemin istenirlik fonksiyonu kullanılarak tüm parametrelerin dikkate alındığı bir optimizasyon prosedürü uygulanmış ve elde edilen ekstrelerde çalışılan tüm biyoaktif parametre değerlerinin maksimum ve minimum olacağı solvent karışım seviyeleri matematiksel olarak tespit edilmiştir. Tablo 3.5 biyoaktif parametrelerin maksimum değerleri alabileceği solvent karışım oranlarını göstermektedir.

Tablo 3.5. Maksimum biyoaktivite değerlerinin elde edildiği solvent karışımları

Etanol (%)	**Metanol (%)**	**Su (%)**	**TFM (mg GAE/g)**	**ARA (% Inh.)**	**AA (mg/g)**	**TAM (mg/g)**	**İstenirlik**
0.000	73.119	26.881	89.12	42.07	141.91	4.167	1.000
0.000	66.004	33.996	88.91	42.01	141.75	4.174	1.000
0.000	**70.434**	**29.566**	**89.31**	**42.10**	**141.95**	**4.179**	**1.000**
0.000	67.874	32.126	89.11	42.07	141.87	4.175	1.000
0.000	75.385	24.615	89.05	42.00	141.79	4.159	1.000

Tablo 3.5'de görüldüğü üzere karamuk meyvesinin ekstraksiyonunda etanol kullanımının düşük biyoaktivite sergileyen ürün eldesi, metanol ve su karışımının ise yüksek biyoaktivite sergileyen ürün eldesi sağladığı tespit edilmiştir. İstenirlik fonksiyonu tabanlı ve çoklu parametre optimizasyonu ile çalışılan tüm biyoaktif özellikler (toplam fenolik madde, antiradikal aktivite, antioskidan aktivite ve toplam antosiyanin miktarı) için maksimum değerlerin elde edilebileceği solvent karışımlarının metanol ve su ağırlıklı olduğu ve hiçbir solventte etanolün yer almadığı belirlenmiştir. Karamuk meyvesinin ekstraksiyonunda kullanılmak üzere yapılan solvent optimizasyonu işlemi neticesinde, karamuk ekstrelerinde hem toplam fenolik madde ve toplam antosiyanin madde miktarının maksimum seviyede olacağı ve bunlara paralel olarak en yüksek antiradikal ve antioksidan aktivitenin gözlemleneceği solvent karışımının metanol ve sudan oluşması ve bu solventlerin de %70 metanol:%30 su şeklinde karıştırılarak kullanılması gerektiği tespit edilmiştir. Şekil 3.9 gerçekleştirilen solvent optimizasyonu sonrasında hesaplanan istenirlik fonksiyonu değerlerinin solvent tipi ve seviyesine bağlı olarak değişimini göstermektedir. Şekilden de görüldüğü üzere optimum solvent olarak belirlenen %70 metanol:%30 su karışımı için istenirlik fonskiyonu değeri tam 1.000 olarak hesaplanmış bu değer su ve etanol noktalarına doğru azalış göstermiştir.



Şekil 3.9. Solvent optimizasyonu prosesinde istenirlik fonksiyon değerlerinin değişimi

3.3. Ekstraksiyon şartlarının biyoaktif parametreler üzerindeki etkisi

Karamuk meyvelerinin ekstraksiyon prosesi için kullanılacak solvent tipinin tespit edilmesinin ardından farklı ekstraksiyon şartlarında karamuk meyvesinde elde edilecek olan ekstraktların biyoaktif özelliklerinin ne yönde bir değişim sergileyeceğini ortaya koyabilmek amacıyla, üç farklı ekstraksiyon proses değişkeni (sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı) dikkate alınarak örnekler konvansiyonel ekstraksiyona tabi tutulmuş ve elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, kondanse tannin, antiradikal ve antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda merkezi tümleşik deneme tasarımı kapsamında elde edilen deneme dizaynı kullanılarak ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon prosesi için sıvı/katı seviyesi 50-100 mL/g, ekstraksiyon süresi 30-90 dk ve ekstraksiyon sıcaklığı ise 25-75 ºC aralığında belirlenmiş ve Tablo 2.2'de verilen deneme tasarımına göre karamuk meyvesi ekstraksiyona tabi tutulmuş ve herbir deneme noktasına göre hazırlanan karamuk ekstrelerinin karakterize edilen biyoaktif özelliklerine ait değerler Tablo 3.6'da gösterilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı (110,92 mg GAE/g) 100 mL/g katı/sıvı seviyesinde 75 ºC sıcaklıkta 90 dk süreyle yapılan ekstraksiyon işlemi sonunda tespit edilmiştir. En yüksek toplam flavonoid madde miktarı (120,35 mgCE/g) ise 50 mL/g seviyede ve 75 ºC sıcaklıkta 90 dk süren ekstraksiyon sonunda belirlenmiştir. En yüksek kondanse tannin ve toplam antosiyanin miktarının ise yine aynı şartlarda (50 mL/g, 75 ºC, 90 dk) hazırlanan örneklerde elde edildiği gözlenmiştir.

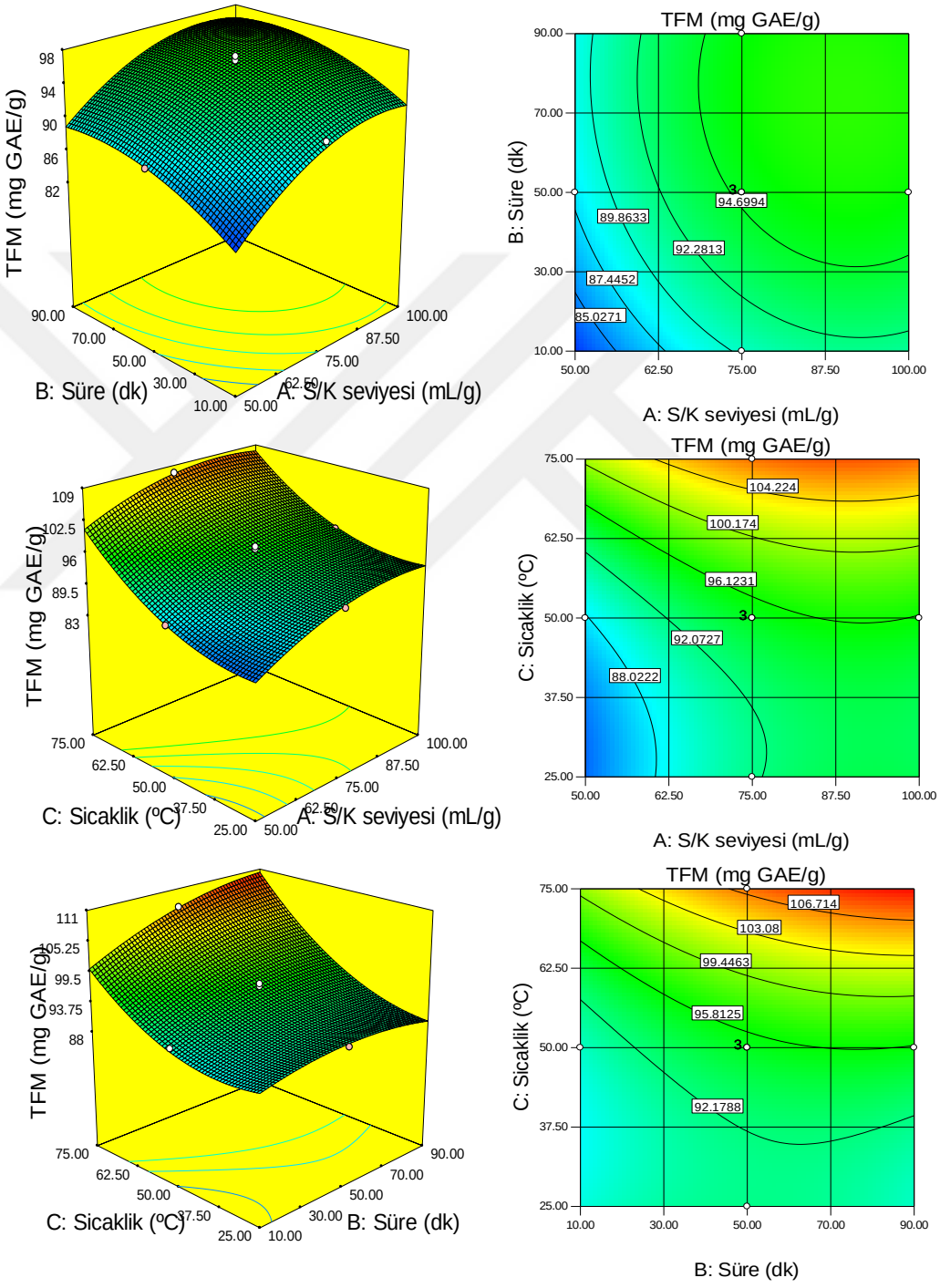
Tablo 3.6. Karamuk meyvesinin farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstre örneklerinin biyoaktif özellikleri

Run	A:S/K seviyesi (mL/g)	B:Süre (dk)	C:Sıcaklık (ºC)	TFM	TFvM	KT (mg KE/g)	TAM (mg/g)	AA-LAOI (%)	AA-FM (mg AAE/g)	AA-Dİ (mg AAE/kg)	ARA DPPH (%)	ARA-ABTS$^{\cdot+}$ (µgTE/g)
1	50	90	75	104.04	120.35	62.14	3.21	88.93	137.36	86.18	63.09	245.82
2	50	50	50	87.68	88.93	58.89	3.12	89.22	128.05	80.11	53.82	218.23
3	75	50	50	97.24	91.23	58.02	3.00	89.02	133.59	90.46	42.88	214.35
4	100	10	25	91.52	77.71	50.50	3.14	82.90	132.65	82.00	35.56	190.54
5	100	90	25	91.55	77.97	51.00	3.14	85.78	127.93	91.79	36.68	204.65
6	100	90	75	110.92	89.57	56.71	3.09	89.72	134.53	110.83	37.97	251.50
7	75	50	50	96.73	89.73	56.72	3.09	89.26	127.21	90.00	43.05	226.12
8	50	10	75	93.15	94.88	60.80	3.14	89.92	124.23	73.79	52.90	256.09
9	100	50	50	95.48	84.29	55.79	3.11	87.63	134.00	83.40	30.29	199.85
10	75	50	50	92.32	92.24	59.34	3.10	87.98	133.26	87.89	36.40	227.29
11	50	10	25	80.76	79.35	53.26	3.10	88.87	108.88	72.15	44.71	122.48
12	50	90	25	83.30	80.66	56.85	3.09	89.64	112.53	77.57	44.59	144.39
13	75	10	50	90.78	78.21	52.91	3.13	87.99	120.16	66.12	35.56	187.37
14	75	50	75	107.35	101.86	60.88	2.86	89.55	132.83	86.72	38.55	247.33
15	75	50	25	91.11	92.12	52.23	2.75	85.74	116.89	75.37	34.90	198.29
16	75	90	50	94.38	84.67	57.29	3.09	89.72	119.44	85.37	33.16	230.38
17	100	10	75	100.31	80.88	59.04	2.99	85.69	124.98	94.94	25.02	229.84

TFM: Toplam fenolik madde, TFlM: Toplam flavonoid madde, KT: Kondanse tannin, TAM: Toplam antosiyanin miktarı, AA-LAOI: Antioksidan aktivite-Linoleik asit oksidasyon inhibisyonu, AA-FM: Antioksidan aktivite-Fosfomolibden, AA-Dİ: Antioksidan aktivite-Demir İndirgeme, ARA-DPPH: Antiradikal aktivite-DPPH, ARA-ABTS: Antiradikal aktivite-ABTS.

3.3.1. Ekstraksiyon şartlarının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre toplam fenolik madde miktarlarındaki değişim hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin toplam fenolik madde miktarındaki değişimi

Tablo 3.7. Ekstraksiyon şartlarının toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

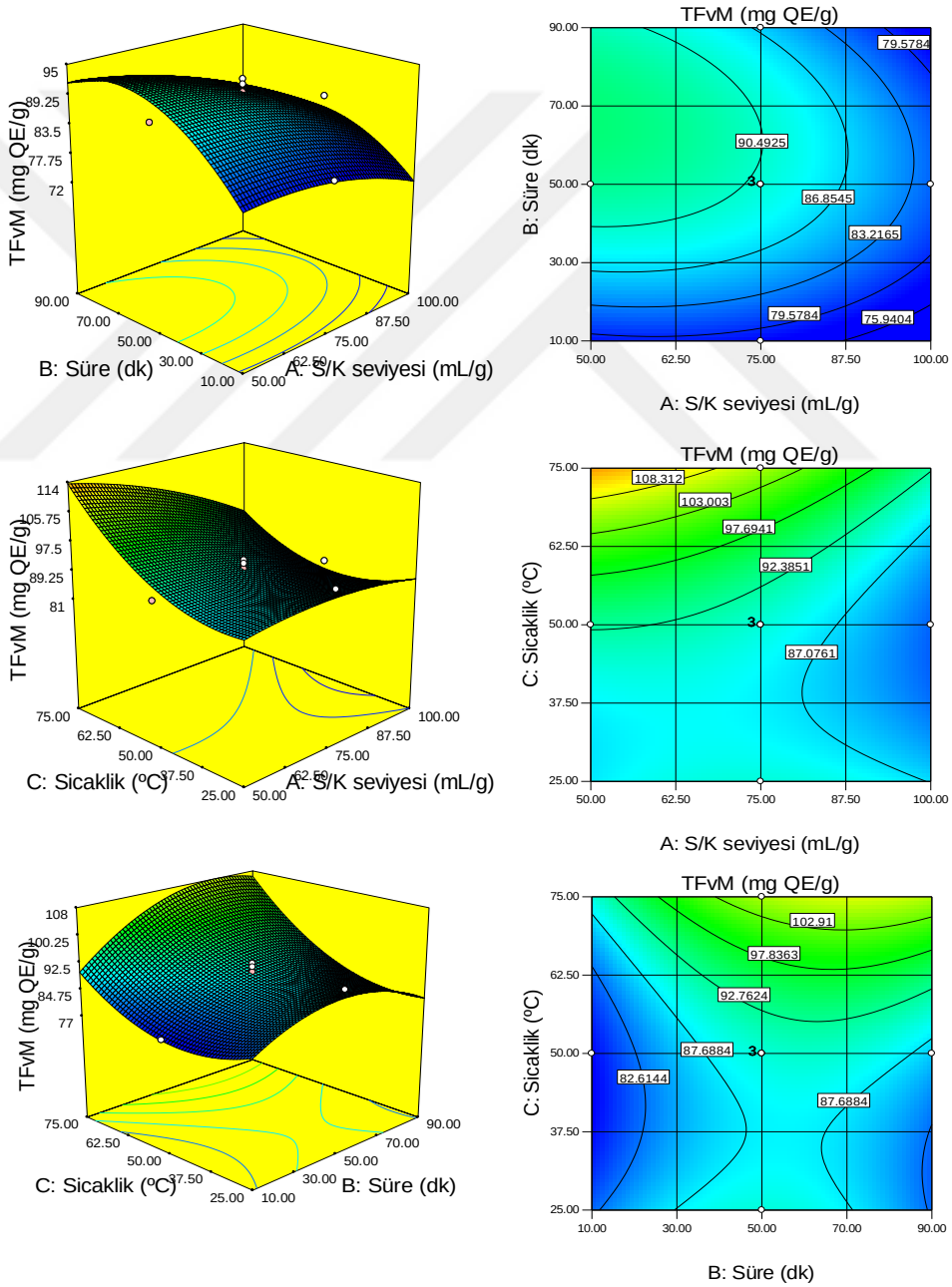
Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	963.47	9	107.05	38.91	< 0.0001
A-S/K seviyesi (mL/g)	166.72	1	166.72	60.60	0.0001
B-Süre (dk)	76.63	1	76.63	27.85	0.0012
C-Sıcaklık (ºC)	600,96	1	600,96	218,45	< 0,0001
AB	0,97	1	0,97	0,35	0,5721
AC	3,09	1	3,09	1,12	0,3244
BC	44,79	1	44,79	16,28	0,0050
A^2	25,69	1	25,69	9,34	
B^2	11,75	1	11,75	4,27	0,0776
C^2	55,63	1	55,63	20,22	0,0028
Residual	19,26	7	2,75		
Uyum eksikliği	4,60	5	0,92	0,13	0,9721
Pure Error	14,65	2	7,33		
Cor Total	982,73	16			
R^2	0,981				
TFM=95+4.08A+2.77B+7.75C-0.35AB-0.62AC+2.37BC-3.10A^2-2.09B^2+4.56C^2					

Tablo 3.6 ise çalışılan proses değişkenlerinin hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin önem derecelerini göstermektedir. Şekil 3.10'dan da görüleceği üzere örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresine göre dikkate değer değişimler gözlenmiştir. Sıvı/katı seviyesinin artışı, yani birim örnek başına eklenen solvent miktarının yükselmesi ile örneklerin toplam fenolik madde miktarlarının artış gösterdiği ve bu artışında istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0.05$, Tablo 3.7). Yine aynı şekilde ekstraksiyon süresi ve sıcaklığında sağlanan artışın da örneklerin toplam fenolik madde miktarının önemli seviyede artırdığı tespit edilmiştir ($p<0,05$, Tablo 3.7). İnteraksiyonlar arasında sadece süre ve sıcaklık interaksiyonunun etkisini önemli çıktığı ($p<0.05$), bunun yanında ise sıvı/katı seviyesi ile sıcaklık değişkenlerinin de kuadratik etkilerinin toplam fenolik madde miktarı üzerinde oldukça önemli olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Uyum eksikliğinin önemsiz çıkması ($p>0.05$) ve kullanılan modelin de istatistiksel olarak önemli çıkması ($p<0.05$), kullanılan dizaynın etkilerini açıklamada oldukça başarılı olduğunu göstermektedir. Proses değişkenlerinin toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.7'de gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının yüksekliği (R^2=0,981)

denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisini tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

3.3.2. Ekstraksiyon şartlarının toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre toplam flavonoid madde miktarlarındaki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.11'de gösterilmiştir.



Şekil 3.11. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin toplam flavonoid madde miktarındaki değişimi

Tablo 3.8. Ekstraksiyon şartlarının toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

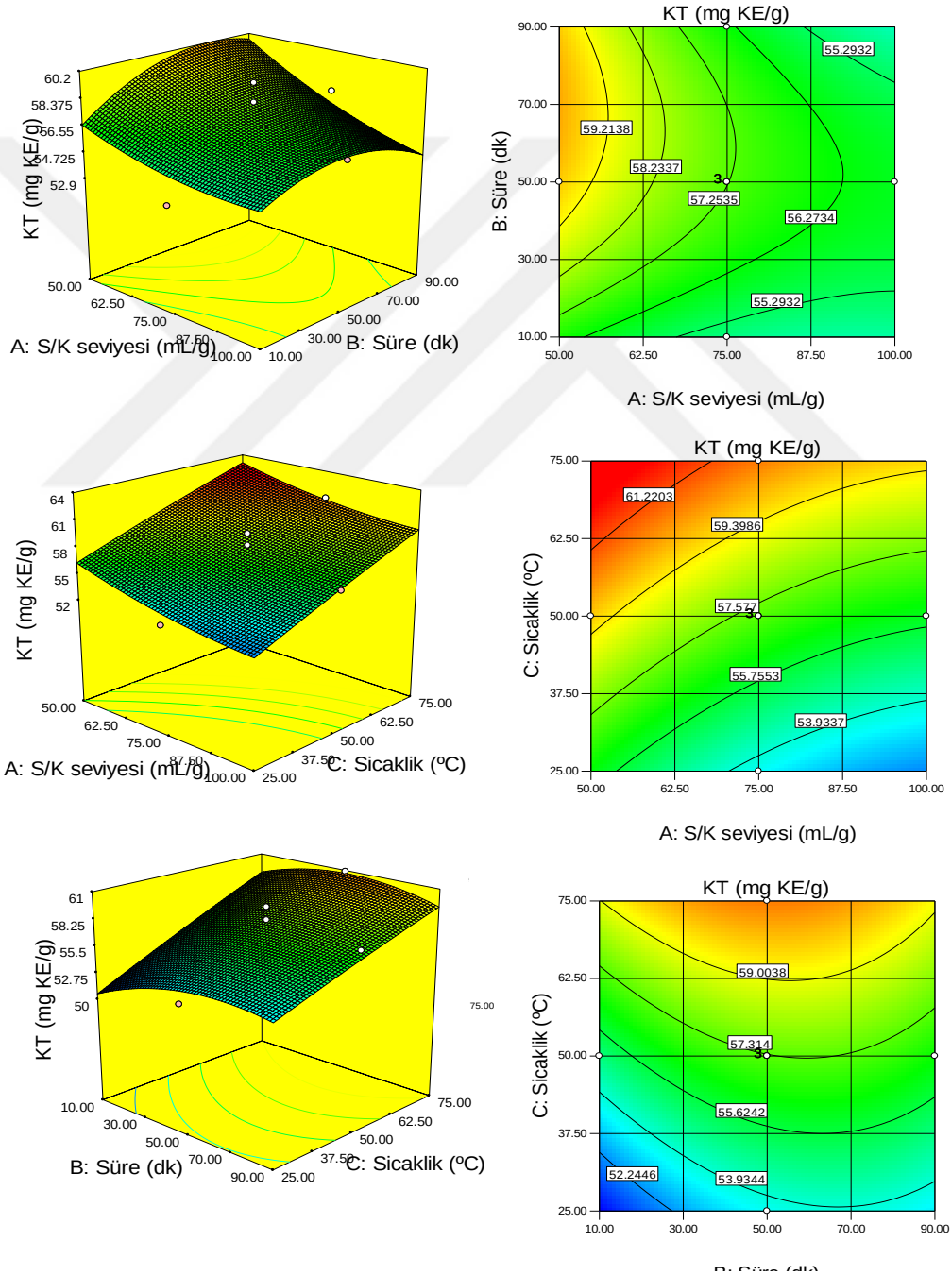
Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	1748.11	9	194.23	14.83	0.0009
A-S/K seviyesi (mL/g)	288.98	1	288.98	22.07	0.0022
B-Süre (dk)	177.98	1	177.98	13.59	0.0078
C-Sıcaklık (ºC)	635.70	1	635.70	48.55	0.0002
AB	39.70	1	39.70	3.03	0.1252
AC	204.60	1	204.60	15.62	0.0055
BC	132.72	1	132.72	10.13	0.0154
A^2	17.80	1	17.80	1.36	0.2818
B^2	160.72	1	160.72	12.27	0.0099
C^2	163.05	1	163.05	12.45	0.0096
Residual	91.67	7	13.10		
Uyum eksikliği	88.49	5	17.70	11.13	0.0845
Pure Error	3.18	2	1.59		
Cor Total	1839.78	16			
R^2	0,980				
TFvM=89,9-5,38A+4.22B+7.97C-2,23AB-5,06AC+4,07BC-2,58A^2-7,75B^2+7,80C^2					

Çalışılan proses değişkenlerinin hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri de Tablo 3.8'de gösterilmiştir. Karamuk ekstrelerinin toplam flavanoid madde miktarlarında sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresine göre dikkate değer değişimler tespit edilmiştir. Sıvı/katı seviyesinin artışı ile örneklerin toplam flavonoid madde miktarlarında da önemli bir azalış meydana gelmiştir ($p<0.05$, Tablo 3.8). Yine ekstraksiyon süresi ve sıcaklığının artışı ile örneklerin toplam flavonoid madde miktarının da önemli seviyede artırdığı görülmüştür ($p<0,05$, Tablo 3.8). Interaksiyonlar arasında sadece sıvı/katı seviyesi ile süre interaksiyonunun etkisinin önemsiz çıktığı ($p>0.05$), bunun yanında ise sıvı/katı seviyesinin kuadratik etkilerinin de toplam flavonoid madde miktarı üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Uyum eksikliğinin önemsiz çıkması ($p>0.05$) ve kullanılan modelin de istatistiksel olarak önemli çıkması ($p<0.05$), kullanılan dizaynın etkilerini açıklamada oldukça başarılı olduğunu göstermektedir. Proses değişkenlerinin toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.8'de gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının yüksekliği (R^2=0,980) denklemin proses değişkenlerinin farklı

seviyelerinin toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki etkisini tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

3.3.3. Ekstraksiyon şartlarının kondanse tannin miktarı üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre kondanse tannin miktarlarındaki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.12'de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin kondanse tannin miktarındaki değişimi

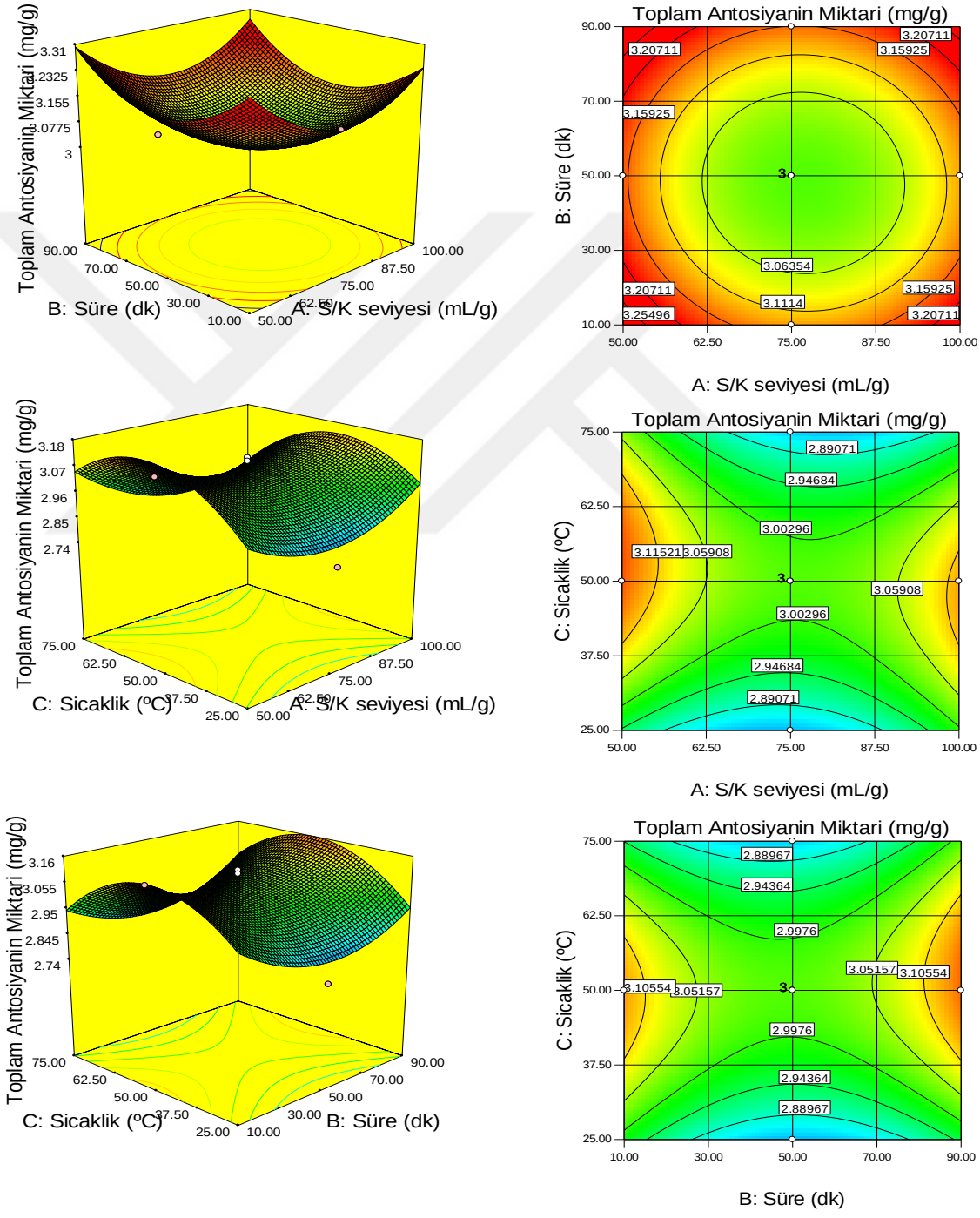
Tablo 3.9. Ekstraksiyon şartlarının kondanse tannin miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	186.97	9	20.77	10.30	0.0028
A-S/K seviyesi (mL/g)	35.74	1	35.74	17.72	0.0040
B-Süre (dk)	5.59	1	5.59	2.77	0.1401
C-Sıcaklık (ºC)	127.76	1	127.76	63.32	< 0.0001
AB	5.71	1	5.71	2.83	0.1364
AC	0.25	1	0.25	0.12	0.7346
BC	3.20	1	3.20	1.59	0.2481
A^2	1.09	1	1.09	0.54	0.4869
B^2	6.93	1	6.93	3.43	0.1063
C^2	0.06	1	0.06	0.03	0.8632
Residual	14.12	7	2.02		
Uyum eksikliği	10.69	5	2.14	1.25	0.5015
Pure Error	3.43	2	1.72		
Cor Total	201.10	16			
R^2	0,930				
$KT=57.3-1,89A+0,75B+3,57C-0,84AB+0,18AC-0,63BC+0,64A^2-1,61B^2-0,16C^2$					

Tablo 3.9 da ise proses değişkenlerinin hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin kondanse tannin içerikleri üzerine sıvı/katı seviyesi ve ekstraksiyon sıcaklığının etkisi önemli bulunurken ($p<0.05$), ekstraksiyon süresinin etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Sıvı/katı seviyesinin artışı ile örneklerin kondanse tannin miktarlarında bir düşüş gözlenmiş ($p<0.05$, Tablo 3.9), yine aynı şekilde ekstraksiyon sıcaklığının artışı ile örneklerin kondanse tannin içeriklerinde önemli seviyede yükseliş gözlenmiştir ($p<0,05$, Şekil 3.12, Tablo 3.9). Proses değişkenleri arasındaki hiçbir interaksiyon önemli bulunmazken, aynı şekilde her bir proses değişkeninin kuadratik etkileri de önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Kondanse tannin miktarı için de uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model de istatistiksel olarak önemli çıkmıştır ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin kondanse tannin miktarı üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.9'da gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının yüksekliği ($R^2=0,930$) denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin kondanse tannin miktarı üzerindeki etkisini tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

3.3.4. Ekstraksiyon şartlarının toplam antosiyanin miktarı üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre toplam antosiyanin miktarı değerlerindeki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.13'de gösterilmiştir.



Şekil 3.13. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin toplam antosiyanin miktarındaki değişimi

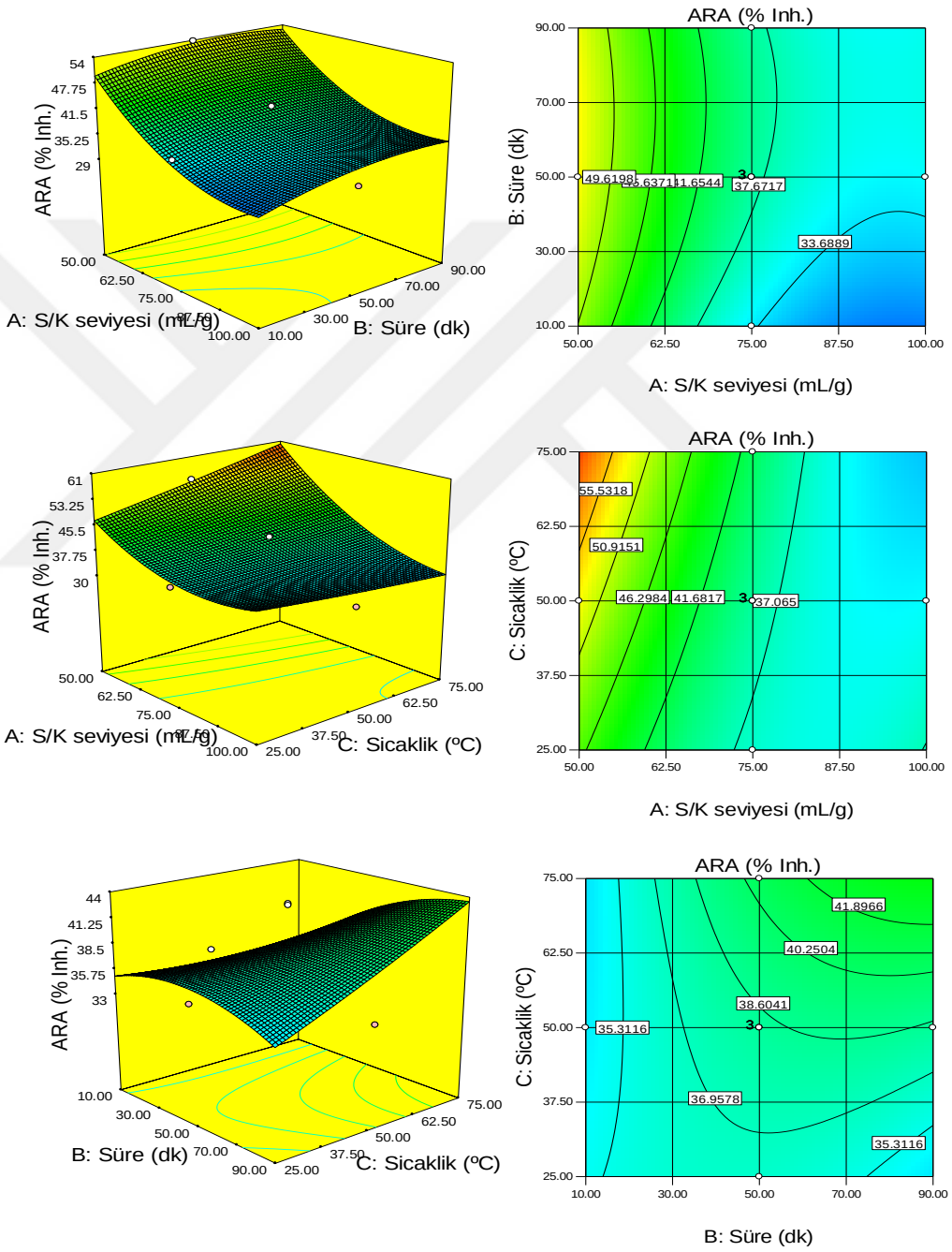
Tablo 3.10. Ekstraksiyon şartlarının toplam antosiyanin miktarı üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	0.173	9	0.019	4.221	0.0354
A-S/K seviyesi (mL/g)	0.003	1	0.003	0.747	0.4161
B-Süre (dk)	0.001	1	0.001	0.316	0.5918
C-Sıcaklık (ºC)	0.000	1	0.000	0.088	0.7754
AB	0.000	1	0.000	0.069	0.8011
AC	0.017	1	0.017	3.657	0.0974
BC	0.005	1	0.005	1.017	0.3467
A^2	0.047	1	0.047	10.347	0.0147
B^2	0.045	1	0.045	9.911	0.0162
C^2	0.081	1	0.081	17.928	0.0039
Residual	0.032	7	0.005		
Uyum eksikliği	0.025	5	0.005	1.577	0.4316
Pure Error	0.006	2	0.003		
Cor Total	0.204	16			
R^2	0,845				
TAM=3,02-0,02A+0,012B+0,01C+0,01AB-0,05AC+0,03BC+0,13A^2+0,131B^2-0,17C^2					

Tablo 3.10 da proses değişkenlerinin hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin antosiyanin içerikleri üzerine hiçbir proses değişkeni önemli bulunmamıştır($p>0,05$, Tablo 3.10). Proses değişkenleri arasındaki hiçbir interaksiyon önemli bulunmazken ($p>0.05$), tam aksine her bir proses değişkeninin kuadratik etkileri de önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Toplam antosiyanin miktarı için de uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model de istatistiksel olarak önemli çıkmıştır ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin antosiyanin miktarı üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.10'da gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısı (R^2=0,845) denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin antosiyanin miktarı üzerindeki etkisini tahminlemede kullanılabilir düzeyde olduğunu göstermektedir.

3.3.5 Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite (DPPH) üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre antiradikal aktivite (DPPH) değerlerindeki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.14'de gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antiradikal aktivite (DPPH) değerindeki değişimi

Tablo 3.11. Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite (DPPH) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

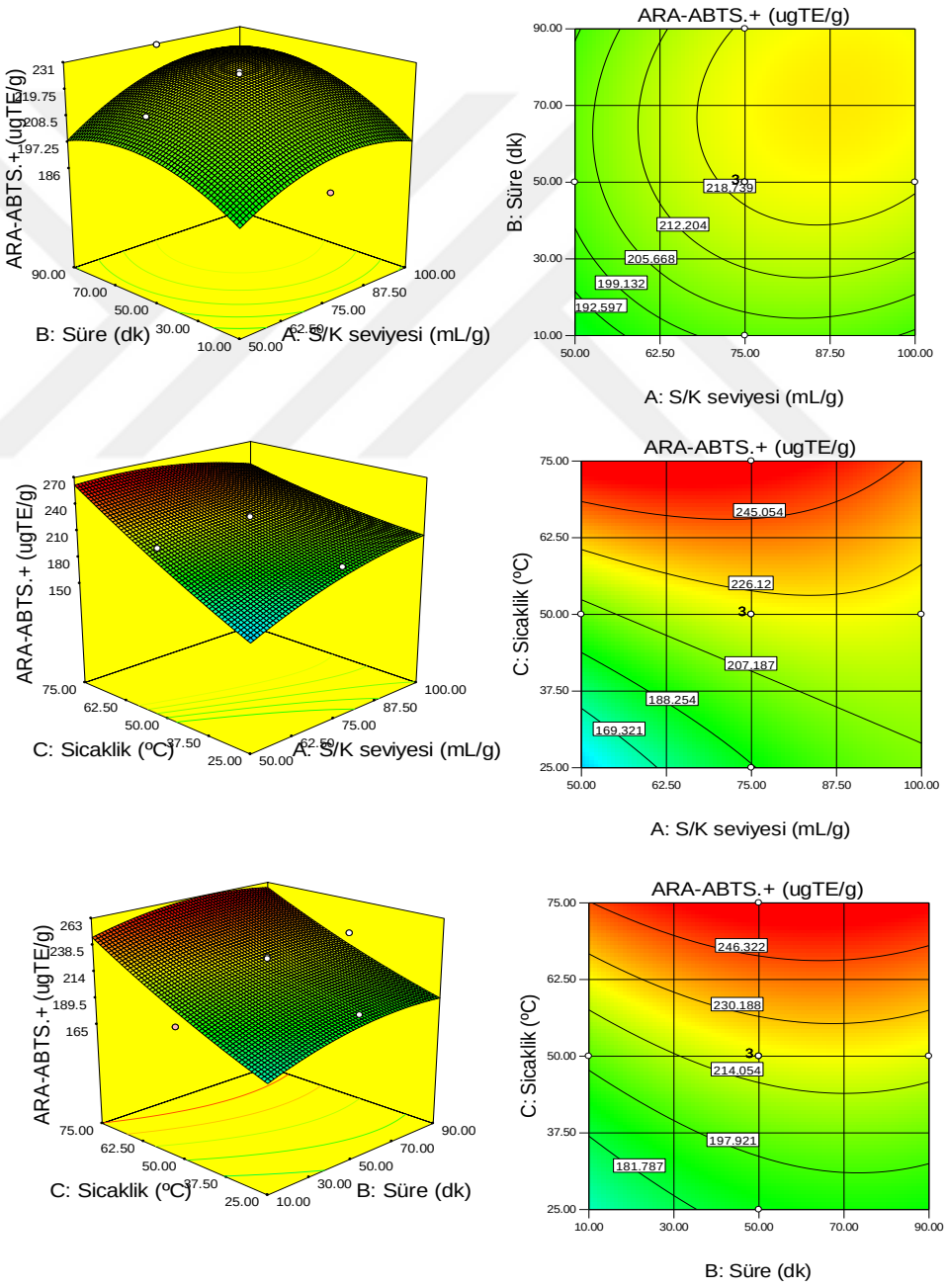
Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	1294.41	9	143.82	8.92	0.0043
A-S/K seviyesi (mL/g)	875.84	1	875.84	54.31	0.0002
B-Süre (dk)	47.25	1	47.25	2.93	0.1307
C-Sıcaklık (ºC)	44.48	1	44.48	2.76	0.1407
AB	2.00	1	2.00	0.12	0.7349
AC	161.39	1	161.39	10.01	0.0158
BC	61.17	1	61.17	3.79	0.0925
A^2	84.20	1	84.20	5.22	0.0562
B^2	11.68	1	11.68	0.72	0.4228
C^2	0.21	1	0.21	0.01	0.9121
Residual	112.88	7	16.13		
Uyum eksikliği	84.12	5	16.82	1.17	0.5205
Pure Error	28.76	2	14.38		
Cor Total	1407.28	16			
R^2	0,920				
ARA_{DPPH}=38,3-9,36A+2.17B+2.11C+0,5AB-0.4.49AC+2.77BC+5.61A^2-2.09B^2+0,28C^2					

Tablo 3.11 proses değişkenlerinin DPPH radikalini süpürme gücü üzerine hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin antiradikal aktivite değerleri üzerine sadece sıvı/katı seviyesinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0.05$), ekstraksiyon süre ve sıcaklığının etkisi önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Sıvı/katı seviyesinin artışı ile örneklerin DPPH radikalini süpürücü etkisinde önemli bir düşüş tespit edilmiştir ($p<0.05$, Tablo 3.11). Yine aynı şekilde ekstraksiyon sıcaklığının artışı ile örneklerin antiradikal aktivite değerlerinde bir artış gözlense de bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$, Şekil 3.14, Tablo 3.11). Proses değişkenleri arasındaki sadece sıvı/katı seviyesi ile sıcaklık arasındaki interaksiyon önemli bulunurken ($p<0.05$), proses değişkenlerinin kuadratik etkileri de önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). DPPH radikali süpürme etkisi için de uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model de istatistiksel olarak önemli çıkmıştır ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin antiradkila aktivite (DPPH) üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.11'da gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının yüksekliği (R^2=0,920) denklemin proses

değişkenlerinin farklı seviyelerinin antiradikal aktivite (DPPH) üzerindeki etkisini tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir

3.3.6. Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) değerlerindeki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.15'de gösterilmiştir.



Şekil 3.15. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) değerindeki değişimi

Tablo 3.12. Ekstraksiyon şartlarının antiradikal aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	19130.5	9	2125.62	7.69	0.0068
A-S/K seviyesi (mL/g)	798.80	1	798.80	2.89	0.1330
B-Süre (dk)	817.47	1	817.47	2.96	0.1292
C-Sıcaklık (ºC)	13706.9	1	13706.93	49.58	0.0002
AB	72.76	1	72.76	0.26	0.6237
AC	2770.46	1	2770.46	10.02	0.0158
BC	75.80	1	75.80	0.27	0.6167
A^2	244.90	1	244.90	0.89	0.3779
B^2	253.23	1	253.23	0.92	0.3704
C^2	47.51	1	47.51	0.17	0.6909
Residual	1935.21	7	276.46		
Uyum eksikliği	1832.77	5	366.55	7.16	0.1271
Pure Error	102.43	2	51.22		
Cor Total	21065.7	16			
R^2	0,908				

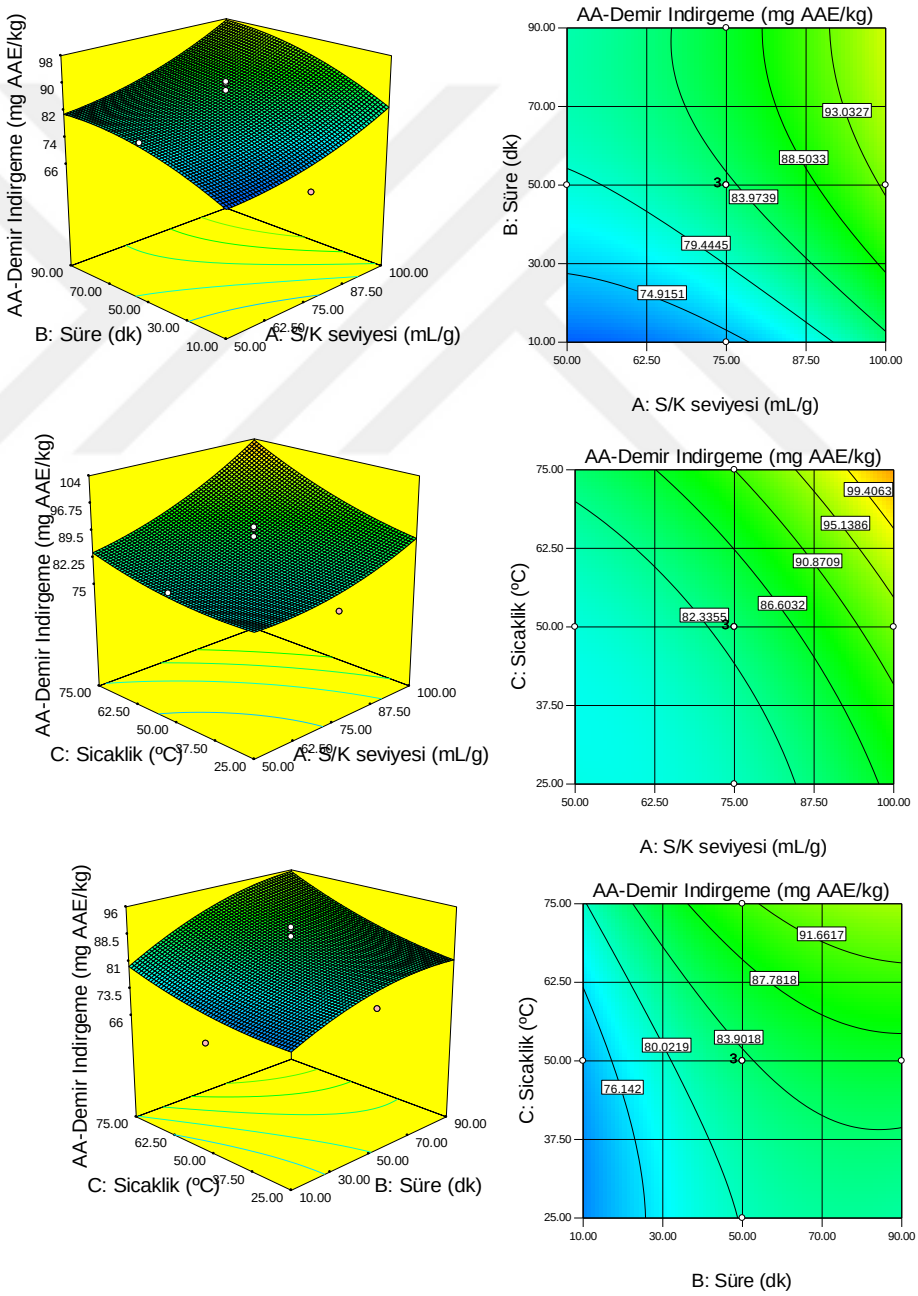
ARA_{ABTS}=220,3+8,94A+9,04B+37,2C+3,02AB-18,61AC-3,08BC-9,56A^2-9,72B^2+4,21C^2

Tablo 3.12'de proses değişkenlerinin $ABTS^{\cdot+}$ radikalini süpürme gücü üzerine hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin $ABTS^{\cdot+}$ radikali süpürme gücü üzerine sadece sıcaklık faktörünün etkisi istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0.05$), ekstraksiyon süre ve sıvı/katı seviyesinin etkisi ise önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Her ne kadar önemsiz bulunsa da sıvı/katı seviyesinin artışı ile örneklerin $ABTS^{\cdot+}$ radikalini süpürücü etkisinde de bir yükseliş tespit edilmiştir ($p<0.05$, Şekil 3.15, Tablo 3.12). Aynı şekilde ekstraksiyon sıcaklığının artışı ile örneklerin ABTS radikali için antiradikal aktivite değerlerinde önemli bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$, Şekil 3.15, Tablo 3.12). Sıvı/katı seviyesi ile ekstraksiyon süresi arasındaki interaksiyon önemli bulunurken ($p<0.05$), tüm proses değişkenlerinin kuadratik etkileri ise önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). $ABTS^{\cdot+}$ radikali süpürme etkisi için de uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model de istatistiksel olarak önemli çıkmıştır ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin antiradikal aktivite üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.12'de gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının yüksekliği (R^2=0,920) denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin antiradikal

aktivite ($ABTS^{\cdot+}$) üzerindeki etkisini tahminlemede etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

3.3.7. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (demir indirgeme) üzerindeki etkisi

Örneklerinin proses değişkenlerine göre antioksidan aktivite (demir indirgeme) değerlerindeki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.16'de gösterilmiştir



Şekil 3.16. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite (demir indirgeme) değerindeki değişimi

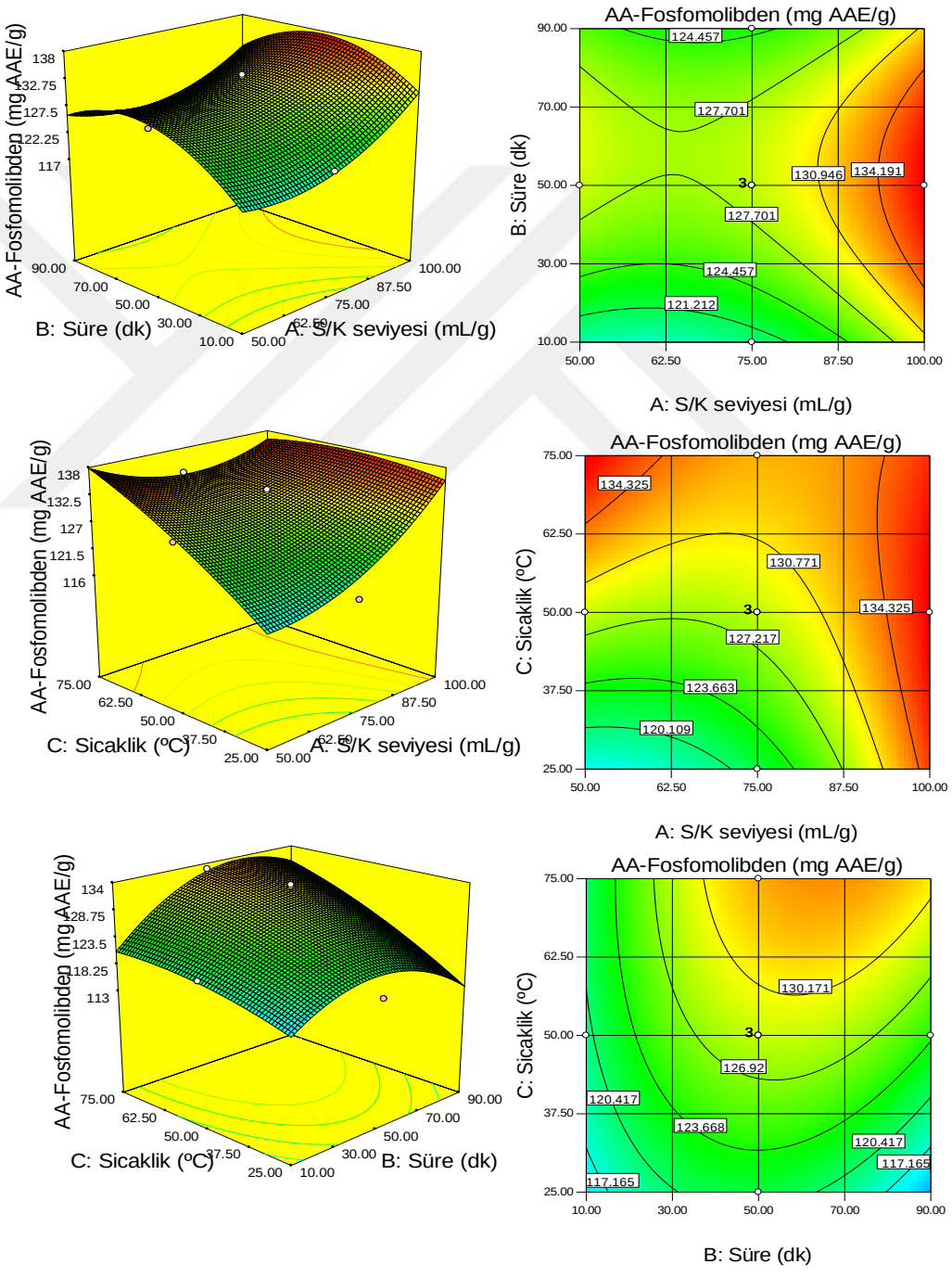
Tablo 3.13. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (demir indirgeme) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	1353.84	9	150.43	3.007	0.0804
A-S/K seviyesi (mL/g)	535.18	1	535.18	10.696	0.0137
B-Süre (dk)	393.46	1	393.46	7.864	0.0264
C-Sıcaklık (ºC)	287.19	1	287.19	5.740	0.0478
AB	7.75	1	7.75	0.155	0.7056
AC	59.03	1	59.03	1.180	0.3134
BC	21.37	1	21.37	0.427	0.5342
A^2	20.42	1	20.42	0.408	0.5432
B^2	28.24	1	28.24	0.564	0.4770
C^2	11.22	1	11.22	0.224	0.6502
Residual	350.23	7	50.03		
Uyum eksikliği	346.47	5	69.29	36.843	0.0266
Pure Error	3.76	2	1.88		
Cor Total	1704.07	16			
R^2	0,795				
AA-,DI=83,5+7,32A+6,27B+5,36C+0,98AB+2,72AC+1,63BC+2,76A^2-3,25B^2+2,05C^2					

Proses değişkenlerinin demir indirgeme yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesi üzerine hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri Tablo 3.13'de ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin demir indirgeme yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri üzerine çalışılan her üç proses değişkeninin de etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$, Tablo 3.13). Bu bağlamda bakıldığında, sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon süre ve sıcaklığında meydana gelen artış, örneklerin demir indirgeme potansiyellerini dolayısıyla antioksidan aktivitelerini önemli ölçüde yükseltmiştir ($p<0,05$, Şekil 3.16). Bununla birlikte proses değişkenlerinin hem interaksiyon etkileri, hem de kuadratik etkileri önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Demir indirgeme yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değeri için uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemli çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.13'de gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının değeri (R^2=0,795) denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisini tahminlemede kullanılabilir olsa da, etkinliği diğer parametrelere kıyasla daha düşük bulunmuştur.

3.3.8. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (fosfomolibden) üzerindeki etkisi

Karamuk örneklerinin proses değişkenlerine göre antioksidan aktivite (fosfomolibden) değerlerindeki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.17'de gösterilmiştir.



Şekil 3.17. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite (fosfomolibden) değerindeki değişimi

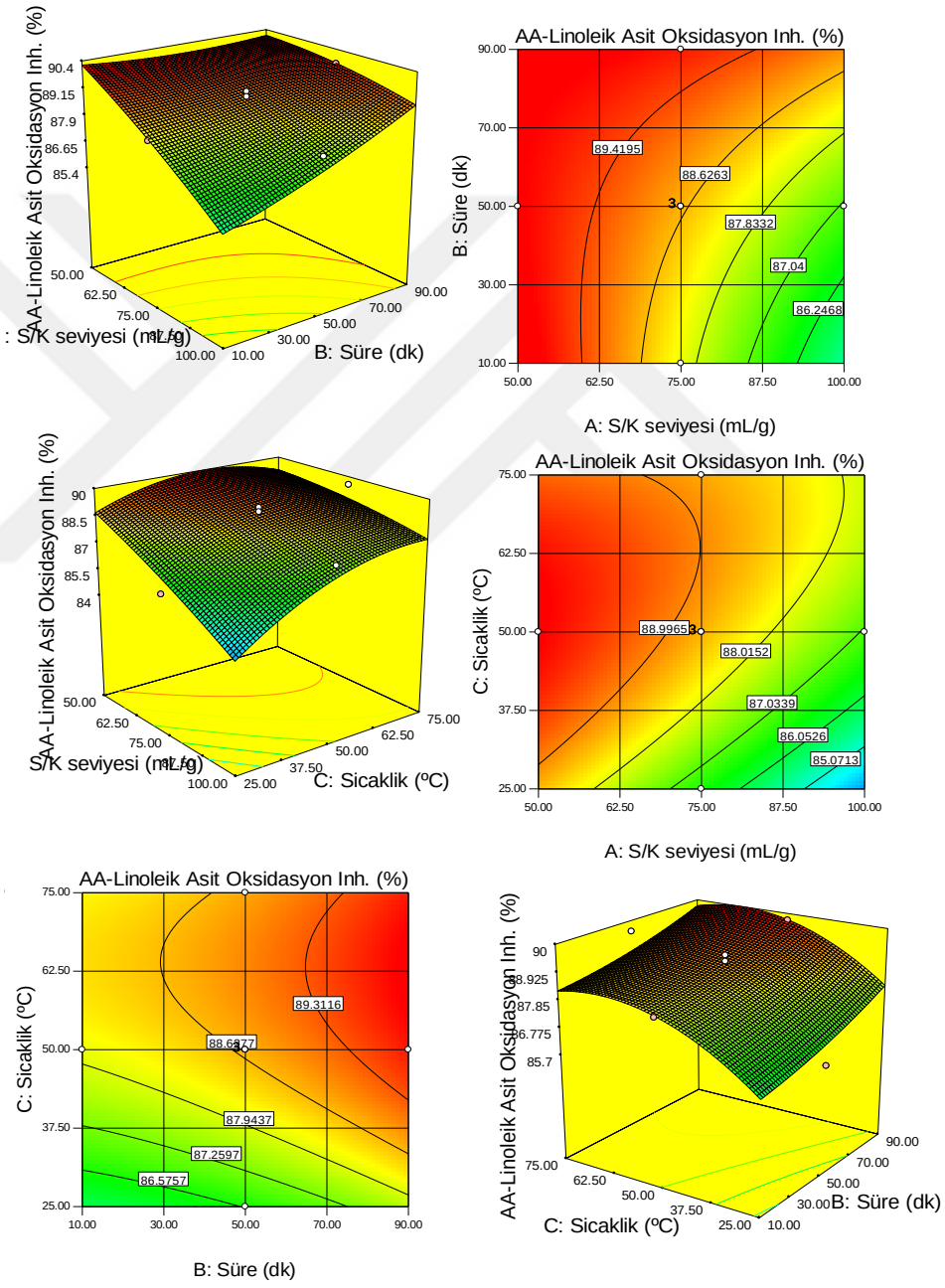
Tablo 3.14. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (fosfomolibden) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	997.33	9	110.81	6.73	0.0100
A-S/K seviyesi (mL/g)	185.17	1	185.17	11.24	0.0122
B-Süre (dk)	43.63	1	43.63	2.65	0.1476
C-Sıcaklık (ºC)	303.09	1	303.09	18.40	0.0036
AB	17.87	1	17.87	1.09	0.3321
AC	212.73	1	212.73	12.92	0.0088
BC	70.51	1	70.51	4.28	0.0773
A^2	55.79	1	55.79	3.39	0.1083
B^2	118.78	1	118.78	7.21	0.0313
C^2	6.85	1	6.85	0.42	0.5396
Residual	115.28	7	16.47		
Uyum eksikliği	89.47	5	17.89	1.39	0.4694
Pure Error	25.82	2	12.91		
Cor Total	1112.61	16			
R^2	0,896				
AA-,DI=83,5+7,32A+6,27B+5,36C+0,98AB+2,72AC+1,63BC+2,76A^2-3,25B^2+2,05C^2					

Proses değişkenlerinin fosfomolibden yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesi üzerine hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri Tablo 3.14'de ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin fosfomolibden yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri üzerine çalışılan üç proses değişkeninden sadece sıvı/katı seviyesi ve sıcaklık faktörlerinin etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$, Tablo 3.14). Şekil 3.17'den de görüldüğü üzere, sıvı/katı seviyesi ve ekstraksiyon sıcaklığının artışı ile, örneklerin fosfomolibden indirgeme potansiyelleri dolayısıyla antioksidan performansları önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0,05$, Şekil 3.17). Bunun yanında proses değişkenlerinden sıvı/katı seviyesi ile sıcaklığın interaksiyon etkileri ile süre faktörünün de kuadratik etkisi etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). İlgili antioksidan aktivite değeri için uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.17'de gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının değeri (R^2=0,896) denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisini tahminlemede kullanılabilir ölçüde bulunmuştur.

3.3.9. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) üzerindeki etkisi

Örneklerinin proses değişkenlerine göre antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) değerlerindeki değişimi hem üç boyutlu hem de kontuar grafik şeklinde Şekil 3.19'de gösterilmiştir.



Şekil 3.18. Ekstraksiyon şartlarına bağlı olarak örneklerin antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) değerindeki değişimi

Tablo 3.15. Ekstraksiyon şartlarının antioksidan aktivite (linoleik asit oksidasyon inhibisyonu) üzerindeki etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	sd	Ortalama kare	F Value	p-value Prob > F
Model	56.98	9	6.33	9.07	0.0041
A-S/K seviyesi (mL/g)	22.15	1	22.15	31.72	0.0008
B-Süre (dk)	7.08	1	7.08	10.14	0.0154
C-Sıcaklık (ºC)	11.81	1	11.81	16.92	0.0045
AB	6.35	1	6.35	9.10	0.0195
AC	5.11	1	5.11	7.32	0.0304
BC	0.05	1	0.05	0.07	0.8054
A^2	0.14	1	0.14	0.19	0.6722
B^2	0.11	1	0.11	0.16	0.6995
C^2	2.70	1	2.70	3.87	0.0899
Residual	4.89	7	0.70		
Uyum eksikliği	3.96	5	0.79	1.70	0.4105
Pure Error	0.93	2	0.47		
Cor Total	61.87	16			
R^2	0,921				
$AA=88,7-1,49A+0,84B+1,09C+0,89AB+0,80AC-0,08BC-0,23A^2+0,21B^2-1,00C^2$					

Proses değişkenlerinin linoleik asit oksidasyon inhibisyonu yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesi üzerine hem lineer hem de interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önem dereceleri Tablo 3.15'de ifade edilmiştir. Karamuk ekstrelerinin bu yöntem ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri üzerine çalışılan üç proses değişkenin de etkilerinin önemli olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$, Tablo 3.15). Proses parametrelerinden sadece sıvı/katı seviyesi faktöründe birim örnek başına düşen sıvı miktarının artışı ile, örneklerin linoleik asit oksidasyonunu önleme kapasitesi dolayısıyla antioksidan performansları önemli ölçüde düşüş sergilemiştir ($p<0,05$, Şekil 3.18). Bunun yanında proses değişkenlerinden ekstraksiyon süresi ve sıcaklığının artışı ile linoleik asit oksidasyonunu inhibe edici etki artmıştır ($p<0.05$). Sıvı/katı seviyesinin hem süre ile hem de sıcaklık ile interaksiyon etkileri de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

İlgili antioksidan aktivite değeri için uyum eksikliği değeri istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ($p>0.05$), bunun yanında kullanılan model de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Proses değişkenlerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisini tahminlemek amacıyla geliştirilen regresyon eşitliği de Tablo 3.18'de gösterilmiştir. Regresyon denklemi için hesaplanan determinasyon katsayısının değeri ($R^2=0,921$)

denklemin proses değişkenlerinin farklı seviyelerinin antioksidan aktivite üzerindeki etkisini tahminlemede kullanılabilir ölçüde bulunmuştur.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada tıbbi ve aromatik bitkiler sınıfında yer alan ve çalı formunda yabani olarak yetişen karamuk (*Berberis craetegina* DC.) meyvelerinin biyoaktif özelikleri üzerine konvansiyonel ekstraksiyon işleminde proses değişkenlerinin etkileri ele alınmış ve proses faktörlerinin temel biyoaktif parametreler üzerine olan etkileri tepki yüzey yöntemi kulanılarak modellenmiştir. Bu amaçla toplanıp kurutularak toz hale getirilen karamuk örneklerinden en iyi etken madde izolasyonu sağlayabilecek solvent karışımını belirleyebilmek amacıyla ekstraksiyon çalışmalarında en çok kullanımı bulunan etanol, metanol ve su ile oluşturulan ve tepki yüzey yöntemi tabanlı kafes karışım deneme tasarımına göre dizayn edilen farklı seviyelerdeki karışım oranları ile ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen ekstre örneklerinde toplam fenolik madde, DPPH radikalini süpürme aktivitesi, fosfomolibden yöntemi ile antioksidan aktivite ve son olarak da örneklerde toplam antosiyanin miktarı belirlenmiş ve tüm bu parametreler için maksimizasyon prosesi ile en yüksek değerlerin elde edilebileceği solvent karışımı tespit edilmiştir. Bu bağlamda karamuk meyvesi için en ideal karışımın %70 metanol+ %30 su olduğu belirlenmiştir. Daha sonra konvansiyonel ekstraksiyonda proses değişkenlerinin son ürün biyoaktif özellikleri üzerine etkisi belirlemek amacıyla üç temel proses değişkeni (sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon süre ve sıcaklığı) ele alınmış ve bu faktörlerin değişimi ile elde edilen ekstrelerin temel biyoaktif özellikleri tespit edilmiştir. Bu etkilerin tespti ve modellenmesi amacıyla da tepki yüzey yöntemi tabanlı merkezi tümleşik deneme tasarımından faydalanılmıştır. Bu yöntemde sıvı katı seviyesi 50-100 mL/g, ekstraksiyon süresi 10-90 dk ve ekstraksiyon sıcaklığı da 25-75 ºC aralığında seçilmiş ve deneme tasarımında yer alan noktalara göre ve optimum solvent karışımı ile ekstraksiyon işlemleri yapılarak ekstreler üretilmiş ve ilgili örneklerin toplam fenolik ve flavonoid madde ile kondanse tannin içerikleri belirlenerek farklı yöntemlerle antioksidan ve antiradikal aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Solvent optimizasyonu amacıyla yapılan çalışma kapsamında üç farklı solventin tekli, ikili ve üçlü miksleri ile yapılan karışımlar ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde solvent tipi ve karışım seviyesinin son ürünün biyoaktif özelliklerinde oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. %100 etanol ile yapılan ekstraksiyon işleminde toplam fenolik madde miktarı 56,17 mg GAE/g olarak ölçülürken bu değer %100 metanol için ortalama 83,22 mg GAE/g, %100 su için ise 52,46 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Solventlerin ikili karışımlarında ise bu değerlerin daha da yükseldiği gözlenmiş ve en yüksek fenolik madde miktarı 85,53 mg GAE/g değeri ile metanol:su karışımında gözlenmiştir. Aynı şekilde örnekleirn DPPH radikali süpürme aktivitesi değerleri %100 etanol ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen örnekte ortalama %25,81 olarak hesaplanırken, bu değer %100 metanol için %38,79, %100 su için ise %21,32 olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarında olduğu gibi antiradikal aktivite değerleri de solvent karışımlarında daha yüksek bulunmuş ve en yüksek değer (%41,48) metanolün baskın solvent olduğu her üç solventin karışımında tespit edilmiştir. Fosfomolinden yöntemi ile yapılan antioksidan aktivite değerleri için de benzer sonuçlar tespit edilmiş, %100 etanol, metanol ve su ile elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivite değerleri 102,6, 135,6 ve 100,6 mg AAE/g olarak kaydedilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değeri de yine metanolün baskın solvent olduğu her üç solventin karışımında tespit edilmiştir. Karamuk meyvesinin mavi-mor renk yapıda olması antosiyanin açısından zenginliğini gösterdiği için örneklerin solvent optimizasyonu kapsamında toplam antosiyanin miktarları da dikkate alınmış ve solvent tipine bağlı olarak elde edilen toplam antosiyanin değerlerinde de farklılıklar belirlenmiştir. Kullanılan solventlerin tekli ekstraskiyonlarında en düşük değerlerin %100 etanole ait olduğu, en yüksek toplam antosiyanin miktarının (4,16 mg/g) ise yine metanolün baskın solvent olduğu üçlü solvent miksi ile yapılan ekstraksiyonda tespit edildiği görülmüştür. Genel olarak solüsyon miksinde etanolün ve suyun baskın solvent olacak şekilde artışı ile son ürünlerin biyoaktif parametre değerlerinde düşüşler meydana gelmiş, metanolün baskın solvent olduğu karışımlarda ise daha yüksek biyoaktif değerlere ulaşılmıştır. Karamuk ekstrelerinin solvent optimizasyonu ile tepki olarak analize alınan toplam fenolik madde, toplam antosiyanin miktarı, antiradikal aktivite ve antioksidan kapasite değerlerinin tümü dikkate alınarak yapılan çoklu optimizasyon işlemi sonucunda tüm biyoaktif parametreler için maksimum değerlerin %70 metanol ve %30 su ile oluşturulan karışım solventi ile alındığını ortaya koymuştur.

Okurkan (2018) tarafından yapılan karamuk meyvesinin hammadde olarak kullanıldığı bir çalışmada karamuktan aseton yardımıyla elde edilen ekstrelerde toplam fenolik madde miktarı 16,63 mg GAE/g olarak rapor edilmiştir. Aynı çalışmada toplam antosiyanin miktarı ise 5,12 mg/g olarak belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise Karabulut (2018) karamuk meyvesinin %80 metanol ile hazırlanan ekstresinde toplam fenolik madde miktarı 73,55 mg GAE/g olarak kaydedilmiştir.

Optimimum solventin belirlenmesinin ardından konvansiyonel ekstraksiyon şartlarının son ürünün biyoaktif özellikleri üzerindeki etkisi yine tepki yüzey yöntemi tabanlı merkezi tümleşik deneme tasarımı ile belirlenmiş ve farklı sıvı/katı seviyesi, ekstraksiyon süre ve sıcaklığı değerlerinde örneklerin toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, kondanse tannin içerikleri ile antiradikal aktivite ve antioksidan kapasite değerleri belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı (110,92 mg GAE/g) 100 mL/g katı/sıvı seviyesinde 75 ºC sıcaklıkta 90 dk süreyle yapılan ekstraksiyon işlemi sonuında tespit edilmiştir. En yüksek toplam flavonoid madde miktarı (120,35 mgCE/g) ise 50 mL/g seviyede ve 75 ºC sıcaklıkta 90 dk süren ekstraksiyon sonunda belirlenmiştir. En yüksek kondanse tannin ve toplam antosiyanin miktarının ise yine aynı şartlarda (50 mL/g, 75 ºC, 90 dk) hazırlanan örneklerde elde edildiği gözlenmiştir.

DPPH radikalini süpürme aktivite gücü en yüksek olan ekstreler (%63,09) yine 50 mL/g seviyede, 75 ºC sıcaklıkta ve 90 dk süren ekstraksiyon sonunda belirlenmiştir. Bir başka antiradikal aktivite belirleme yöntemi olan $ABTS^{\cdot+}$ radikalini süpürme gücü en yüksek olan ekstreler (256,09 µg TE/g) 50 mL/g seviyede, 75 ºC sıcaklıkta ve 10 dk süre sonunda elde edilmiştir.

Antioksidan aktivite değerlerini belirleme yöntemlerinden biri olan demir indirgeme değeri en yüksek örnekler 110,83 mg AAE/kg ile 100 mL/g seviyede, 75 ºC sıcaklıkta ve 90 dk; bir diğer yöntem olan linoleik asit oksidasyon inhibisyonu değeri en yüksek örnekler % 89,92 ile 50 mL/g, 75 ºC, 10 dk; fosfomolibden yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitesi en yüksek ekstreler (137,36 mg AAE/g) 50 mL/g, 75 ºC, 90 dk şartlarda gerçekleştirilmiştir. Genel olarak ekstraksiyonda karamuk meyvesi için (*Berberis crataegina* DC.) sıcaklık ve süre artışının çözünürlüğü teşvik ederek ekstraksiyon verimini artırdığı söylenebilir.

Yapılan araştırmada *Berberis crataegina* meyvesinin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla öncelikle en ideal solvent seçilmiş, daha sonra optimum şartlar belirlenerek ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde karamuk meyvesinin yüksek oranda fenolik ve antosiyanin bileşenler içerdiği ve güçlü bir antioksidan yapıya sahip olduğu görülmüştür. Bu özellikleriyle hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde potansiyel bir fonksiyonel gıda olabileceği düşünülmektedir. Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde kendiliğinden yetişebilen karamuk meyvesi fonksiyonel niteliği değerlendirilebilecek bitkiler arasında yer almalı ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri gözlendikçe kullanım alanı daha da genişletilmelidir.

KAYNAKÇA

Anşin, R., & Özkan, Z. C. 1993. Tohumlu bitkiler (spermatophyta) odunsu taksonlar. (1. Baskı). Trabzon: KTÜ Orman Fakültesi Yayınları.

Arslanoğlu, S.F., Ayna, Ö.F., 2019. Anadolu Coğrafyasında Yayılış Gösteren *Berberis* Türleri ve Geleneksel Kullanımı. **International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2**(1): p. 36-42.

Artık, N., Anlı, R., Konar, N., Vural, N. 2016. Gıdalarda Bulunan Fenolik Bileşikler. Sidas Medya. İzmir.

Aşam, E. 2015. Karamuk (*Berberis crataegina* DC.) meyvesinden doğal gıda boyası eldesi. Tunceli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 85s, Tunceli.

Baytop, T., 1999. Türkiye'de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.

Charehsaz, M., Sipahi, H., Celep, E., Üstündağ, A., Cemiloğlu Ülker, Ö., Duydu, Y., Aydın, A., & Yesilada, E. 2015. The fruit extract of *Berberis crataegina* DC: exerts potent antioxidant activity and protects DNA integrity. **Journal of Pharmaceutical Sciences, 23**(1), 24 DOI 10.1186/s40199-015-0108-7

Çoban, B., 2020. Şekerleme Üretiminde Doğal Renklendirici Olarak Karamuk (*Berberis Crataegina*) Ekstresinin Kullanımı Üzerine Bir Araştırma. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 67s, Tekirdağ.

Çorbacıoğlu, C., 2020. Sera atıklarından Hızlı Piroliz İle Elde Edilen Biyoyağın Cevap Yüzey Yöntemi İle Optimizasyonu. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 83s, Antalya.

Davis, P. H., 1982. Flora of Turkey and the east aegean islands (7). Edinburgh: Edinburgh University Press.

Değirmencioğlu, A., Yazgı, A., 2006. Tepki yüzeyleri Metodolojisi "Optimizasyon Esaslı Çalışmalara İlişkin Teorik Esaslar ve Tarımsal Mekanizasyon Uygulamaları". **Tarım makinaları Bilimi Dergisi, 2**(2), 111-115.

Eroğlu, A., 2019. Yabani Kızamık (*Berberis vulgaris* L.) Ve Karamuk (*Berberis Crataegina* Dc.) Meyvelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri İle Antioksidan Ve Antimikrobiyal Kapasitesinin Tespit Edilmesi. Bayburt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 90s, Bayburt.

Ertürk, İ., 1994. *Berberis crataegina* (Karamuk) Üzerine Çalışmalar. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmokognozi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 100s, Ankara.

Faller, A.L.K., Fialho, E., 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. **Food Research International, 42** (1): 210-215.

Fuleki, T. and Francis, F. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. **J. Food Science, 33**, 72-77, 78-83.

Gholizadeh-Moghadam, N., Hosseini, B., ve Alirezalu, A., 2019. Classification of barberry genotypes by multivariate analysis of biochemical constituents and HPLC profiles.

Gulcın, I., Elias, S.R., and Gepdiremen, A., 2006. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (Chionanthus virginicus L.), **European Food Research and Technology, 223**: 759–767, (2006b).

Gülsoy, S., Özkan, G., & Özkan, K. 2011. Mineral Elements, Phenolics and Organic Acids of Leaves and Fruits from *Berberis crataegina* DC. **Asian Journal of Chemistry, 23**(7), 3071-3074. Rerieved from **https://www.researchgate.net/-publication/286771376**

Ho, C., 2021. Phenolic Compounds in Food. Department of Food Science, Cook College, Rutgers, The State University of New Jersey, New Brunswick, NJ 08903.

Işıklı, N.D ve Yılmaz, İ. 2014. *Some physical properties of sun-dried Berberis fruit (*Berberis crataegina). **Journal of Food Science and Technology, 51**, Issue 1, pp: 104–110.

İçyer, C., 2012. Nar Kabuğu Fenolik Bileşiklerinin Su İle Ekstraksiyonu Ve Ekstraktların Mikroenkapsülasyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 110s. Kayseri.

İdiş, E., 2012. Limon suyu ve Tampon Çözeltilerde Karamuk (*Berberis crataegina*) Antosiyaninlerinin Stabilitesinin Belirlenmesi. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 71 s, Sivas.

Karabulut, A., 2018. Bayburt ilinde doğal olarak bulunan *Berberis vulgaris* L. ve *Berberis crataegina* DC. yabani meyvelerinin biyokimyasal karakterizasyonu, Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 114s, Bayburt.

Kaya, M., Ravikumar, P., Ilk, S., Mujtaba, M., Akyuz, L., Labidi, J., Salaberria, A.M., Cakmak, Y.S., Erkul, S.K. 2018. *Production and characterization of chitosan based edible films from Berberis crataegina's fruit extract and seed oil.* **Innovative Food Science and Emerging Technologies. 45**, February 2018, Pages 287-297.

Khalehgi, A., Kasaai, R., Khosravi- Darani, K., Rezaei, K. 2016. Combined Use of Black Barberry (*Berberis crataegina* L.) Extract and Nitrite in Cooked Beef Sausages during the Refrigerated Storage. **Journal of Agricultural Science and Technology**. Volume 18, Issue 3, 601-614.

Koç B., 2008. Püskürtmeli Kurutma Yöntemi ile Yoğurt Tozu Üretim Koşullarının Optimizasyonu, Ege üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.

Myers, R.H., Montgomery D.C. Anderson-Cook, C.M., 2009, Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. John Wiley and Sons, 680s.

Naczk, M. and Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. **J. Chromatography A, 1054**, 94-111 s, Canada

Okurkan, M. 2018. Karamuk (Berberis Crataegina) *Antosiyaninlerinin Enkapsülasyonu ve Dondurma Üretiminde Kullanılabilirliğinin İncelenmesi.* Cumhuriyet

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 111s, Sivas.

Oyaizu, M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine, **Japan Journal of Nutrition, 44**, 307-315.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry, 269**(2): 337-341.

Red And Purple Barberries: Effect Of İn-Vitro Digestion On Antioxidants And ACE İnhibitors. Food Science and Technology. Volume:140

Sarı, F. 2016. The Copigmentation Effect of Different Phenolic Acids on *Berberis crataegina* Anthocyanins. **Journal of Food Processing and Preservation Volume 40**, issue 3.

Sharifi, F., & Poorakbar, L., 2015. The survey of antioxidant properties of phenolic compounds in fresh and dry hybrid Barberry fruits (*Berberis integerrima*×*vulgaris*). **Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 36**(3), 1609-1617.

Singleton, V.L., and Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phomolybdis-phosphotungistic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture, 16**, 144-158

Solak, M. 2016. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Çalıştayı. Afyonkarahisar.

Sönmezdağ, A.S., Kelebek, H., Selli S. (2017). *Volatile and key odourant compounds of Turkish Berberis crataegina fruit using GC-MSOlfactometry*. **Natural Product Research, 32**:7, 777-781.

Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M., Spranger, I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry 46**, 4267–4274.

Şensu, E., Kasapoğlu, K., Özgüven, G.M., demircan, e., Aslaner, A. ve Özçelik, B. 2021.

Tübives, (2017). Turkish Plants Data Service, **http://www.tubives.com.** Erişim Tarihi: 25.06.2021.

Uzunoğulları, P., 2010. Patates Atığında Aureobasidium pullulans ile Pullulan Üretimi ve Cevap Yüzey Yöntemi ile Proses Koşullarının Optimizasyonu, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.

Wettasinghe, M., Bolling, B., Pihak, L., Xiao, H. and Parkin, K., 2002. Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetrot (beta vulgaris L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50**, 6704-6709.

Zhishen J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry, 64** (4): 555-559.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Rabia Say

Uyruğu: Türkiye (T.C)

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Fen Bilimler Enstitüsü, Tarla Bitkileri ABD - Kayseri	2021
Lisans	ERÜ Mühendislik Fakültesi / Gıda Mühendisliği Bölümü - Kayseri	2018
Lise	Şht. Pyd. Teğ. Bekir Öztürk Süper Lisesi – Bünyan- Kayseri	2014

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2013-Halen	Dr. Yılmaz Tıbbi Bitkiler ve İlaç Hammaddeleri A.Ş.	Gıda Müh.

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

Kaplan, M., Yilmaz, M. M., **Say, R.,** Köprü, S., & Karaman, K. (2020). Bioactive properties of hydroalcoholic extract from Origanum onites L. as affected by glycerol incorporation. Saudi Journal of Biological Sciences, 27(8), 1938-1946.

Köprü, S., **Say, R.,** Karaman, K., Yilmaz, M. M., & Kaplan, M. (2020). Optimization of processing parameters for the preparation of clove (Syzygium aromaticum) hydroalcoholic extract: A response surface methodology approach to characterize the biofunctional performance. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 16, 100236.

Kaplan, M., Yılmaz, M. M., Köprü, S., Gözelle, H., Muhderem, G., &, **Uslu, R.,** (2018). Sıvı/Katı Oranı ve Etanol Konsantrasyonuna Göre Karahindiba (Taraxacum officinale) Tentürünün Verim ve Biyoaktivitesindeki Değişimin İncelenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5(2), 163-174.

Kaplan, M., Yilmaz, M. M., **Uslu, R.,** Köprü, S., Gözelle, H., & Muhderem, G. (2019). An optimization study for the production of Origanum onites tincture by response surface methodology: Effect of liquid/solid ratio, ethanol concentration and storage period. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(1), 11-22.