



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEYVE SUYU BERRAKLAŞTIRILMASINDA ENZİM ve ADSORBAN
KULLANIMI**

Aykut Tayfur ÇAĞLIK

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
EYLÜL - 2022



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MEYVE SUYU BERRAKLAŞTIRILMASINDA ENZİM ve ADSORBAN
KULLANIMI**

Aykut Tayfur ÇAĞLIK
ORCID:0000-0001-6764-9400

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Gül ÖZYILMAZ
ORCID: 0000-0002-2373-6219

HATAY
EYLÜL - 2022

02/09/2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Aykut Tayfur ÇAĞLIK

ÖZET

MEYVE SUYU BERRAKLAŞTIRILMASINDA ENZİM ve ADSORBAN KULLANIMI

Bu çalışmada kiraz, ananas ve kivi suyunun bulanıklığı, flavonoid madde, fenolik madde, indirgen şeker ve protein derişimi üzerine enzim (100-250-400 U) ve adsorban kullanımı, sıcaklık (25-40-55 °C) ve reaksiyon süresinin (60-120-180 dk) etkisi YYY (Yanıt Yüzey Yöntemi) ile optimal tasarım kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla Design Expert yazılımı kullanılmış kiraz için 22, ananas ve kivi için 23 deneyden oluşan çalışma seti oluşturulmuştur. Enzim karışımı olarak proteaz, selülaz, amilaz ve pektinaz enzimleri kullanılmıştır. Adsorban olarak sodyum alginat, silika jel, florasil ve kitosan denenmiş, bulanıklığı en çok düşüren adsorban olarak kitosan seçilmiştir. Design Expert yazılımı tarafından hazırlanan deney setlerinin her biri meyve sularına ayrı ayrı uygulanarak öncelikle sadece enzim karışımı eklenip sette belirli olan sıcaklık ve sürelerde bekletilmiş, enzimatik işleme uğramış meyve suları reaksiyon sonunda enzimlerin denatüre olması sağlandıktan sonra adsorbanlar eklenmiştir. Çalışmada elde edilen meyve sularının bulanıklık değerleri, indirgen şeker ve protein derişimleri ile flavonoid madde ve fenolik madde miktarları spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. YYY yapılan analizler sonucunda meyve sularında enzim kullanımı bulanıklığın azaltılmasını sağlamış; YYY setlerinde kullanılan adsorban miktarına bağlı olarak bulanıklığın arttığı belirlenmiştir. Kiraz suyunda fenolik madde ve flavonoid madde miktarları enzim ve adsorban miktarı, sıcaklık ve süre arttıkça artma eğilimi göstermiştir. Ananas suyunda flavonoid madde, kivi suyunda ise fenolik madde miktarları çalışma parametrelerinden etkilenmemiştir. Tüm meyve sularında enzim miktarı ve çalışma süresi arttıkça protein derişimi artmıştır.

2022, 61 sayfa

Anahtar Kelimeler: Meyve suyu, enzim, adsorban, yanıt yüzey yöntemi

ABSTRACT

USAGE of ENZYMES and ADSORBENTS in FRUIT JUICE CLARIFICATION

In this study, the use of enzymes (100-250-400 U), adsorbent, temperature (25-40-55 °C) and reaction time (60- 120-180 min) on the turbidity, flavonoid substance, phenolic substance, reducing sugar and protein concentration of cherry, pineapple and kiwi juice, effect was investigated using optimal design with RSM (Response Surface Methodology). For this purpose, a study set consisting of 22 experiments for cherry and 23 experiments for pineapple and kiwi were created using the Design Expert software. Protease, cellulase, amylase and pectinase enzymes were used as enzyme mixture. Sodium alginate, silica gel, florisil and chitosan were tried as adsorbent, and chitosan was chosen as the adsorbent that reduced the turbidity the most. Each of the experimental sets prepared by the Design Expert software was applied separately to the fruit juices, first only the enzyme mixture was added and kept at certain temperatures and duration in the set. The turbidity values, reducing sugar and protein concentrations, and flavonoid and phenolic substance contents of the fruit juices obtained in the study were determined spectrophotometrically. As a result of the analyzes made in RSM, the use of enzymes in fruit juices reduced turbidity; it was determined that the turbidity increased depending on the amount of adsorbent used in the RSM sets. The amount of phenolic and flavonoid substances in cherry juice showed a tendency to increase as the amount of enzyme and adsorbent, temperature and time increased. The amounts of flavonoid substances in pineapple juice and phenolic substances in kiwi juice were not affected by the study parameters. Protein concentration increased with increasing enzyme amount and working time in all fruit juices.

2022, 61 pages

Key Words: Fruit juice, enzyme, adsorbent, response surface methodology

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, varlığı ile benim için önemli bir rol model oluşturan, gerek yüksek lisans tez konumunun belirlenmesinde gerek araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımını esirgemeyen, engin fikirleriyle gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam Prof. Dr. Gül ÖZYILMAZ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince, laboratuvar çalışmalarında yapmış olduğu katkı ve yardımları nedeniyle Melina DÖNMEZ'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca tüm çalışmam boyunca desteğini her an hissettiğim sevgili eşim Melek ÇAĞLIK'a, oğlum Mustafa Efe ve kızım İlayda'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	14
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	14
3.2. Yöntem	14
3.2.1. Kiraz, Ananas ve Kivi Sularının Elde Edilmesi	15
3.2.2. Meyve Suyunun Berraklaştırılmasında Kullanılacak Adsorban Türünün Belirlenmesi	15
3.2.3. Meyve suyu kalitesine çalışma parametrelerinin etkilerinin YYY ile araştırılması	16
3.2.4. Meyve Sularında Yapılan Analizler	17
3.2.4.1. Bulanıklık Tayini	17
3.2.4.2. Meyve Sularında Flavonoid Madde Miktarı Tayini	17
3.2.4.3. Meyve Sularında Toplam Fenolik Madde Tayini	18
3.2.4.4. Meyve Sularında DNSA Yöntemi ile İndirgen Şeker Tayini	18
3.2.4.5. Meyve Sularında Protein Derişimi Tayini	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	19
4.1. Bulgular	19
4.1.1. Standart Eğriler.....	19
4.1.2. Çalışmada kullanılacak en uygun adsorban türünün belirlenmesi	21
4.1.3. YYY ile Çalışma Parametrelerinin Meyve Sularına Etkisinin araştırılması	22
4.1.3.1. Kiraz Suyu.....	22
4.1.3.1.1. Kiraz Suyu Bulanıklık Tayini	23
4.1.3.1.2. Kiraz Suyu İndirgen Şeker Derişiminin Değişimi.....	25
4.1.3.1.3. Kiraz Suyu Flavonoid Madde Miktarı Değişimi	27
4.1.3.1.4. Kiraz Suyu Fenolik Madde Miktarı Değişimi	29
4.1.3.2. Ananas Suyu	31
4.1.3.2.1. Ananas Suyu Bulanıklık Değerlerinin Değişimi	32
4.1.3.2.2. Ananas Suyu İndirgen Şeker Derişiminin Değişimi.....	34
4.1.3.2.3. Ananas Suyu Flavonoid Madde Miktarı Değişimi	36
4.1.3.2.4. Ananas Suyu Fenolik Madde Miktarı Değişimi	37
4.1.3.2.5. Ananas Suyu Protein Miktarı Değişimi	39
4.1.3.3. Kivi Suyu	41
4.1.3.3.1. Kivi Suyu Bulanıklık Değerlerinin Değişimi	42
4.1.3.3.2. Kivi Suyu İndirgen Şeker Derişiminin Değişimi.....	44

4.1.3.3.3. Kivi Suyu Flavonoid Madde Miktarı Değişimi	46
4.1.3.3.4. Kivi Suyu Fenolik Madde Miktarının Değişimi	48
4.1.3.3.5. Kivi Suyu Protein Miktarı Değişimi	50
4.2. Tartışma	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	61



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları	14
Çizelge 3.2. Kiraz suyunda kullanılan çalışma şartları	16
Çizelge 3.3. Ananas ve kivi suyunda kullanılan çalışma şartları	16
Çizelge 4.1. Kiraz suyu için oluşturulan çalışma setleri ve her set için elde edilen sonuçlar	23
Çizelge 4.2. Kiraz suyu bulanıklık değerlerinin ANOVA sonuçları (Lineer Model)	24
Çizelge 4.3. Kiraz suyu indirgen şeker değerlerinin ANOVA sonuçları (2FI Model) ...	26
Çizelge 4.4. Kiraz suyu flavonoid değerlerinin ANOVA sonuçları (2FI Model)	28
Çizelge 4.5 . Kiraz suyu fenolik madde miktarı ANOVA sonuçları (kuadratik model).30	
Çizelge 4.6. Ananas suyu için oluşturulan çalışma setleri ve her set için elde edilen sonuçlar	32
Çizelge 4.7. Ananas suyu bulanıklık değerlerinin ANOVA sonuçları (Kuatratik Model)	33
Çizelge 4.8. Ananas suyu indirgen şeker derişimi ANOVA sonuçları (Lineer Model) .35	
Çizelge 4.9. Ananas suyu flavonoid madde miktarı ANOVA sonuçları (Lineer Model)	37
Çizelge 4.10. Ananas suyu fenolik madde değerlerinin ANOVA analizi (Lineer Model)	38
Çizelge 4.11. Ananas suyunda protein derişimi ANOVA sonuçları (Kuatratik Model)40	
Çizelge 4.12. Kivi suyu için oluşturulan çalışma setleri ve her set için elde edilen sonuçlar	42
Çizelge 4.13. Kivi suyu bulanıklık değerleri ANOVA sonuçları (2FI Model)	43
Çizelge 4.14. Kivi suyu indirgen şeker derişimi ANOVA sonuçları (Lineer model)	45
Çizelge 4.15. Flavonoid madde değerlerinin ANOVA analizi (2FI Model)	47
Çizelge 4.16. Kivi suyu fenolik madde miktarı ANOVA sonuçları (Kuatratik Model) 49	
Çizelge 4.17. Kivi suyu indirgen şeker derişimi ANOVA sonuçları (Kuatratik model)51	
Çizelge 4.18. Yüzey grafiklerinde bağımlı değişkenlerin bağımsız değişkenlere bağlı olarak değişim eğilimi	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Pektinin yapısı.....	3
Şekil 1.2. Nişastanın yapısı	3
Şekil 1.3. Selüloz yapısı	4
Şekil 3.1. Tez kapsamında yapılan çalışmalar	15
Şekil 4.1. Bulanıklık standart grafiği (Formazin)	19
Şekil 4.2. İndirgen şeker standart grafiği	19
Şekil 4.3. Fenolik madde standart grafiği	20
Şekil 4.4. Flavonoid madde standart grafiği	20
Şekil 4.5. Protein standart grafiği.....	20
Şekil 4.6. Farklı adsorbanların meyve sularının bulanıklıkları üzerine etkisi.....	21
Şekil 4.7. Kiraz suyu bulanıklık yüzey grafikleri	24
Şekil 4.8. Kiraz suyu indirgen şeker miktarı yüzey grafikleri	27
Şekil 4.9. Kiraz suyu flavonoid miktarı yüzey grafikleri.....	29
Şekil 4.10. Kiraz suyu fenolik madde miktarı yüzey grafikleri	31
Şekil 4.11. Ananas suyu bulanıklık değeri yüzey grafikleri	34
Şekil 4.12. Ananas suyu indirgen şeker miktarı yüzey grafikleri	36
Şekil 4.13. Ananas suyu flavonoid miktarı yüzey grafikleri.....	37
Şekil 4.14. Ananas suyu fenolik madde miktarı yüzey grafikleri.....	39
Şekil 4.15. Ananas suyu protein miktarı yüzey grafikleri.....	41
Şekil 4.16. Kivi suyu bulanıklık değerlerinin yüzey grafikleri.....	44
Şekil 4.17. Kivi suyu indirgen şeker miktarı yüzey grafikleri	45
Şekil 4.18. Kivi suyu flavonoid madde miktarı yüzey grafikleri.....	48
Şekil 4.19. Kivi suyu fenolik madde miktarı yüzey grafikleri.....	50
Şekil 4.20. Kivi suyu protein madde miktarı yüzey grafikleri.....	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Derece Celsius
mg	: miligram
g	: gram
mL	: mililitre
µL	: mikrolitre
dk.	: Dakika
U	: Ünite
nm	: Nanometre

KISALTMALAR

YYY	: Yanıt Yüzey Yöntemi
2FI	: Çift faktör etkileşimli model
DNSA	: Dinitrosalisilik asit
V _E	: Enzim hacmi
M _A	: Adsorban miktarı
T	: Sıcaklık
t	: Süre
rpm	: Dakikadaki devir sayısı

1. GİRİŞ

Ülkemiz meyve çeşitliliği ve yaygınlığı açısından zengin bir üretim yeridir. Meyveler elde edilmesi kolay oldukları ya da bol ve ucuz oldukları dönemlerde daha zor elde edilebilecekleri zamanlar için belirli yollarla işlenerek değerlendirilmektedir. Meyve üretimini değerlendirmenin en verimli yolu meyve suyudur (Gülcü, 2008).

Son yıllarda meyve ve sebzelere duyulan ilgi giderek artmaktadır. Artan ilginin başlıca nedeni antioksidan içermeleri ve antioksidanların sağlıklı yaşam açısından son derece önemli olmasıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün “5 + a day” programı çerçevesinde günde en az 5 kez meyve, sebze ve türevi tüketilmesini önermektedir. Böylece meyve suyuna olan ilgi de artmaktadır. Çünkü meyve suyu; meyveye en yakın olan ya da meyveyi en iyi yansıtan içecektir (Taştan, 2014).

Türkiye Meyve Suyu Sektörü ve meyve işleyen diğer sektörler (meyveli gıda ve içecekler, reçel, kurutulmuş meyve/sebze, meyve sebze şoklama vb.) tüketim artışına bağlı olarak devam eden bir büyüme potansiyeline sahiptir. Ülkemizde işlenen başlıca meyveler elma, şeftali, kayısı, vişne, portakal ve nar olarak sıralanabilir (Mert, 2012).

Meyvenin meyve suyuna işlenmesindeki sebeplerden birisi meyve suyu bünyesinde yer alan değişik oranlardaki serbest suyun fiziksel olarak uçurulması ve bunun sonucunda elde edilen konsantre ile depolama, ambalajlama ve taşıma giderlerinin büyük ölçüde azaltılmasıdır (Arpaç, 2006).

Meyve suyunun durultulmasının ve berraklaştırılmasının amacı, beslenme fizyolojisi ve duyuşal açıdan ürünün özelliklerini mümkün olan en düşük düzeyde değiştirerek, stabil ve berrak meyve suyu üretmektir (Ekşi, 1988).

Herhangi bir gıdanın tüketici üzerindeki ilk etki onun görünüşü ile ilgilidir. Genellikle tüketiciler, besin değeri zengin ve berrak bir görünüme sahip meyve suyuna ilgi duymaktadır. Meyve suyu durultma işlemi uygulanıp uygulanmadığına göre berrak (durultulmuş) ve bulanık (pulplu) olarak iki tiptedir. Meyvenin doğal özelliği ve tüketim alışkanlığına bağlı olarak, bazı meyveler (elma, üzüm, vişne) daha çok berrak tipte, bazı meyveler (şeftali, kayısı, portakal) ise daha çok bulanık tipte işlenmektedir (Ekşi, 1988).

Meyve suları satışa sunulduğunda şişedeki görünümü ve tüketildiğinde vücuda alınacak besin maddeleri bileşiminin uygulanan durultma işlemiyle doğrudan ilgili

oluşu bu işlem basamağını, önemli ve çok titiz çalışılması gereken bir işlem haline getirmiştir.

Berrak meyve suyu ve konsantre meyve suyu üretiminde yüksek standartlar talep edilmektedir. Stabilite, berraklık ve renk gibi kriterler meyve suyu üretiminde büyük öneme sahiptir. Bu durumdan ötürü meyve suyu işleme teknolojisinde, özellikle durultma ve filtrasyon aşamalarının uygulanma kalitesi en üst düzeyde olmalıdır (Gülcü, 2008).

Durultma, berrak meyve suyu üretiminde en önemli işlem basamaklarındandır. Bu aşamada sıcak durultma (yaklaşık 50 °C) ve soğuk durultma (20 °C ve altı) uygulanabilir (Taştan, 2014; Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001).

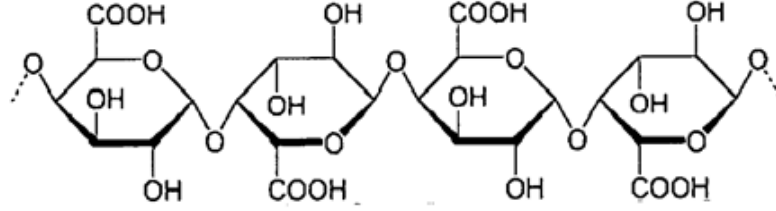
Meyve suyunun berraklaştırılması sırasında meyveler durultma işleminden önce çeşitli işlemlerden geçmektedir. Meyveler işlenmeye başlanmadan önce ayıklama ve yıkama gibi ön işlemlerden geçirilir. Daha sonra meyveler saplarından ayrılarak meyve değirmeninde mayşe haline getirilir. En verimli şekilde meyve suyu üretmek amacıyla elde edilen mayşeye enzimatik işlemler uygulanarak presleme aşamasına geçilir (Orhan, 2014; Deuel ve Plotto 2004).

Meyve suyunun berraklaştırılmasında presleme işleminin ardından, bulanıklığa neden olan etmenlerin uzaklaştırıldığı durultma işlemine geçilir. Durultma işlemi depektinizasyon ve berraklaştırma olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır (Orhan, 2014).

Meyve suyunda bulanıklığa sebep olan etmenler kimyasal ve biyolojik olmak üzere iki çeşittir. Kimyasal bulanıklık, meyve suyunda bulunan veya sonradan oluşan partiküllerin kimyasal kararsızlığı sonucu oluşur, biyolojik bulanıklık meyve suyunda mikroorganizmaların gelişmesi sonucu oluşur. Presleme esnasında, meyvede doğal olarak bulunan bileşiklerin bir kısmı pres posası ile ayrılırken bir kısmı da pres suyuna geçebilmektedir (Taştan, 2014; Gülcü, 2008).

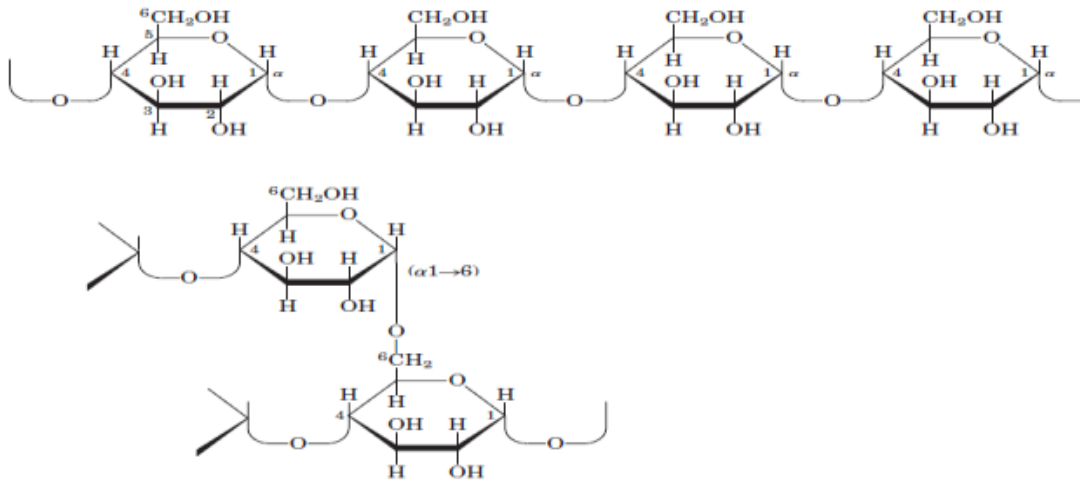
Meyve suyunda kimyasal bulanıklık; nişasta, polifenol, protein, pektin, bakır ve benzeri çok sayıdaki organik ve inorganik unsurun dahil olduğu kompleks oluşturma benzeri kimyasal reaksiyonlarla oluşmaktadır. Bunlar içinde en yaygın olanının ise protein polifenol kaynaklı bulanıklık olduğu ifade edilmektedir. Bunlar toplam etki olarak bulanık bir görüntü oluşturlar (Gülcü, 2008; Beveridge ve Tait, 1993;

Beveridge 1997; Gao ve ark., 1997, Siebert ve ark., 1996, Siebert 1999, Cemeroğlu ve Karadeniz, 2004).



Şekil 1.1. Pektinin yapısı

Pektin, monomerlerinin - 1,4-glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmasıyla oluşan bir hetero-polisakkarittir. Galakturonik asit ünitelerinden bir kısmı metanol ile esterleşmiş halde bulunurlar. Selüloz ve hemiselüloz gibi yüksek bitkilerin hücre duvarında bulunabilir. Pektinin yapısında rhamnogalakturonik asit, poligalakturonik asit, galaktanlar ve arabinogalaktanlar vardır (Yener, 2007).

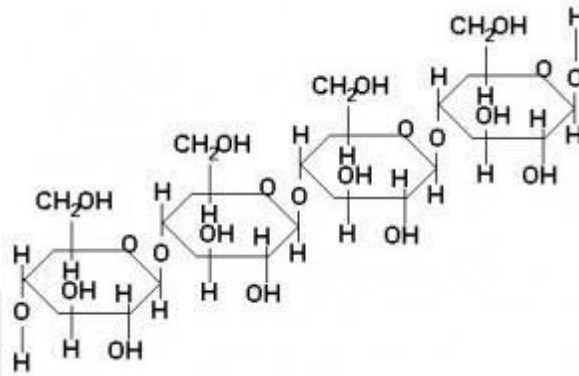


Şekil 1.2. Nişastanın yapısı

Niştasta, meyve suyunda değişik miktarlarda bulunan ve bulanıklığa neden olan diğer bir polisakkarittir. Glukoz birimlerinin bağlanma tarzına göre amilaz ve amilopektin olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır. Niştasta, olgunlaşmamış meyvelerde daha fazla bulunur ve olgunlaşmanın ilerlemesiyle meyvenin doğal amilaz enzimlerinin faaliyeti sonucu hidrolize olarak miktarı giderek azalır. Niştasta miktarı çok düşük düzeyde olmasına rağmen elma, armut gibi meyvelerin berrak meyve suyu ve konsantre işlenmelerinde önemli sorunlar oluşturmaktadır. Meyve sularında niştasta,

fungal bir α -amilaz ile veya amiloglukozidaz ile parçalanmaktadır (Gülcü, 2008; Ekşi, 1998; Cemeroğlu ve Karadeniz, 2004).

Organik bir kaynak olan selüloz, dünyada en çok bulunan bitkisel kaynaklı polisakkarittir. Selüloz sert bir madde olup fibröz yapıdadır, bitkilerin hücre duvarında yer almakta ve bitki biyokütlesinin yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadır. Mikrokristalin selüloz suda çözünmeyen suda hidrojen bağları ile sık paketlenmiş fiberler meydana getiren 15 ile 10.000 glukoz ünitesinden oluşan susuz glukoz zincirlerinden oluşmuştur.



Şekil 1.3. Selüloz yapısı

Selüloz yoğun ve karmaşık bir yapıda olması nedeniyle eğer öncesinde kimyasal veya mekanik şişme veya bozunma işlemine tabi tutulmamışsa hidrolize karşı oldukça fazla direnç gösterirler. Genel olarak doğal selüloz diğer polisakkaritler ile bağlantılıdır. Selülozlar bitki hücre duvarlarının iskelet yapısını oluştururlar (Yalçın, 2013).

Enzimler, basitinden en kompleksine kadar birçok biyolojik kimyasal reaksiyonu, ılımlı koşullar altında katalizleyebilen ve çoğu protein yapısında olan ayrıca canlılığa ve çevreye zarar vermeyecek şekilde reaksiyonlarını gerçekleştiren spesifik biyokatalizörlerdir. Enzimler, yeterli *in vitro* koşullarının sağlanması durumunda etkilerini gösterebilirler. Enzimler, substratlarına karşı yüksek seçicilik göstermeleri, ılımlı reaksiyon koşullarında yüksek aktivite gösterebilmeleri ve yüksek geri dönüşüm sayılarına sahip olmaları nedeniyle doğal ortamlarının dışındaki pek çok alanda da kullanılabilirler (Yalçın, 2013).

Amilazlar nişastada bulunan glikozid bağlarını hidroliz yoluyla parçalayan enzimlerdir (Özlü, 2013;). Amilazlar bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar gibi çok çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedir. Endüstride ise genellikle mikrobiyal kaynaklı enzimler talep edilmektedir. Amilazlar günümüzde biyoteknolojide, gıda,

tekstil ve kağıt endüstrilerindeki uygulamalarda sıkça kullanılabilmektedirler (Özlü, 2013).

Pektini parçalayan pektinazlar gıda endüstrisinde özellikle meyve sularının berraklaştırılmasında, meyve suyu üretiminde filtrasyonu kolaylaştırıp verimin artırılmasında, C vitamini sentezi için çıkış maddesi olan galakturonik asit eldesinde, şarap endüstrisinde, yağların ekstraksiyonunda, pigmentlerin ve selüloz fiberlerin hazırlanmasında, kahve ve çay fermantasyonunda fonksiyonel gıda maddeleri olarak oligosakkaritlerin üretiminde yeni uygulamalar için kullanılmaktadırlar (Telefoncu, 1997).

Selülozun hidrolizinde görevli enzimler, selülazlar olarak adlandırılmaktadır ve bu enzimler glikozil hidrolaz sınıfına (EC 3.2.1.x) ait enzimlerdir (Üstükcı, 2014).

Proteazlar, alınan besinlerdeki proteini, polipeptid zincirlerindeki amid bağlarını hidrolizleyerek parçalarlar. Yalnızca diyet protein sindiriminde ve hücrel protein döngüsünde değil, aynı zamanda organizmanın düzgün çalışması için önemli olan sayısız metabolik ve düzenleyici süreçler de yer almaktadırlar (Karagüler, 2019).

Çağımızda bilgisayar teknolojisinde yaşanan büyük gelişmeler sonucunda, optimizasyon yöntemlerinin fen, sosyal ve sağlık bilimlerinin her uygulamalarındaki kullanımı giderek artmıştır. Mühendisler zamanlarının pek çoğunu bilgisayarlar başında, sayısal modellemeler ve çözümler için harcamaya başlamışlardır. Yaşanan problemlerin hızlı ve az maliyetli çözümü konusunda 7 çeşitli araştırmalar yapılmış ve mevcut yöntemlerin geliştirilmesi amacıyla çözüme yönelik optimizasyon yöntemlerinin geliştirilmesi klasik optimizasyon yöntemlerinin çözemediği veya zaman aldığı düşünülerek bunlara alternatif, tamamen doğal olayların modellemesine yönelik ortaya atılan yapay zeka kavramının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Coşkun, 2007).

Deneyisel araştırmalarda sık kullanılan ve literatürde “Response Surface Methodology” (RSM) olarak geçen “Yanıt Yüzey Yöntemi” ilk olarak 1951 yılında Box ve Wilson tarafından geliştirilmiş ve tanımlanmıştır. Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY) mühendislerin, bilim adamlarının ve istatistikçilerin kullandığı, endüstriyel proseslerin geliştirilmesinde etkili olan bir yöntemdir (Taştan, 2014; Myers ve Montgomery, 1995).

YYY; proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli olan istatistiksel ve matematiksel tekniklerin bir arada kullanıldığı bir yöntemdir (Taştan, 2014; Myers ve Montgomery, 1995).

Bu çalışmanın amacı, meyve suyunun hidrolitik enzim karışımı ve adsorban ile etkileşimi sonrasında bulanıklık, flavonoid miktarı, toplam fenolik madde, indirgen şeker ve protein düzeylerindeki değişimleri Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY) ile araştırılmasıdır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Meyer ve ark. (2001), vişne suyunun berraklaştırılması amacıyla taze sıkılmış vişne suyunu 1000 g'den 35000 g'ye farklı hızlarda santrifüjlemiş ve bulanıklığın azaldığını tespit etmişlerdir. Daha sonra santrifüjlü ve santrifüjsüz meyve suyuna pektinaz, asit proteaz, bromelain, gallik asit ve jelatin-silika sol eklemişler, bulanıklık ve pus oluşumu üzerine etkilerini 32 farklı parametre ile araştırmışlardır. En berrak meyve suyunu jelatin-silika sol jel ile elde etmişlerdir. Hem ön santrifüjlenmiş vişne suyunun Novozym 89L proteaz ile işlenmesi hem de pektinaz ve gallik asidin birlikte eklenmesi, vişne suyunun berraklığını arttırmış ve bulanıklık seviyelerini azalttığını bulmuşlardır. Durulama ve inceltmeden önce meyve suyunun ön santrifüjlenmesi büyük öneme sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Sin ve ark. (2006), sapodilla suyunun enzimatik berraklaştırılmasında optimum koşulları oluşturmak için üç faktörlü bir merkezi kompozit tasarım kullanılmışlardır. Sapodilla suyuna farklı inkübasyon sürelerinde (30–120 dakika), farklı sıcaklık değerlerinde (30–50 °C) ve enzim konsantrasyonunda (% 0.03–0.10) pektinaz enzimi eklemişlerdir. Bu üç faktör ile bulanıklık, berraklık, viskozite ve renk üzerindeki etkileri değerlendiren bağımsız değişken olarak kullanmışlardır. Bulanıklık, berraklık, viskozite ve renk (L değerleri) değişikliklerini bağımsız değişkenlere göre tanımlayan önemli regresyon modelleri, belirleme katsayısı R^2 , 0.8'den büyük olarak oluşturmuşlardır. Sonuç olarak enzim konsantrasyonunun, tüm bağımlı değişkenler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu için, meyve suyunun özelliklerini etkileyen en önemli faktör olduğunu göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmada en iyi enzim berraklaştırma koşulunun % 0.1 enzim konsantrasyonu, 40 °C sıcaklık ve 120 dk. olduğunu bulmuşlardır.

Lee ve ark. (2006), YYY kullanarak muz suyunun enzimatik berraklaştırma sürecini optimize etmek için çalışmışlardır. Muz suyu, çeşitli enzim konsantrasyonlarında (% 0.01-0.1), sıcaklıklarda (30-50 °C) ve süre (30-120 dakika) içerisinde pektinaz ile harmanlamışlardır. Bu enzim işlemlerinin meyve suyunun filtrelenebilirliği, berraklığı, bulanıklığı ve viskozitesi üzerindeki etkisi, ikinci dereceden bir merkezi kompozit tasarımı kullanılarak incelemişlerdir.

Pinelo ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada endüstriyel olarak kullanılmak istenen vişne suyunda pektinaz, proteaz, Enzeco kullanarak bulanıklık, protein ve fenolik

maddeleri belirlemişlerdir. Durultma işleminden sonra 14 günlük bir soğuk depolama ile bulanıklığı değerlendirmişlerdir. Proteaz kullanarak bulanıklığın önemli ölçüde azaldığını; ancak soğuk depolama yaptıktan sonra proteazın etkisinin azaldığını rapor etmişlerdir. Buna karşılık ise pektinaz ilavesinin bulanıklık üzerindeki etkisi az olmakla birlikte depolama sırasında bulanıklığı önemli ölçüde azalttığını keşfetmişlerdir. Fenolik asit ilaveleri, pektinaz veya proteaz ile birlikte eklendiğinde bulanıklığın azaltılmasına katkıda bulunmuştur. Bununla birlikte, galik asit ve tanik asit birlikte eklendiğinde, bulanıklık oluşumuna neden olduğunu keşfetmişlerdir. Sonuç olarak proteinlerin vişne suyunda ani bulanıklık oluşumunda belirleyici bir rol oynadığını ve pektinin vişne suyunun soğuk depolanması sırasında bulanıklık gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermişlerdir.

Nagar ve ark. (2012); saflaştırılmış ksilanazın elma suyu, ananas suyu ve domates suyu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bir hiper-üretici *Bacillus pumilus* SV-85S'den elde edilen ksilanaz, endüstriyel uygulamalardaki potansiyelini değerlendirmek için saflaştırmışlardır. Ksilanazı, CM Sephadex C-50 aracılığıyla katyon değişim kromatografisi kullanılarak % 63.2 geri kazanımla 25.3 kat homojenliğe kadar saflaştırmışlardır. Saflaştırılmış ksilanaz, Doğal-PAGE üzerinde tek bir bant ve homojenliğini doğrulayan RP-HPLC'de tek bir tepe gösterdiğini elde etmişlerdir. Saflaştırılan enzim, SDS-PAGE üzerinde 23.6 kDa moleküler kütleye sahip tek bir bant ortaya çıkarmış ve bu sonucu, Sepharose 6B aracılığıyla jel filtrasyon kromatografisi ile doğrulamışlardır. Saflaştırılmış ksilanazın K_m ve V_{max} 'ı sırasıyla 1.0 mg/mL ve 333.3 IU/mL bulmuşlardır. Saflaştırılmış ksilanazın sıcaklık ve pH profilleri, termo ve alkaliye karşı kararlı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Saflaştırılmış ksilanaz elmada % 23.53, ananasta % 10.78 ve domateste % 20.78 oranlarında meyve suyunun verimini arttırmada etkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca bulanıklık ve akışkanlık bakımından elmada % 22.20, ananasta % 19.80, domateste % 14.30 oranlarında iyileşme elde etmişlerdir.

Jori ve ark. (2015), yüksek verimde ve berraklaştırılmış 1:1 oranındaki ananas ve mango suyunu hazırlamak amacıyla multi-enzim sistemi kullanmışlardır. Meyve suyuna değişen oranlarda selüloz (% 0.15-0.75) ve pektinaz (% 0.2-0.6) eklenerek (35-55 °C) aralığında 1 saat beklemişler ve meyve suyunun verimliliği ve berraklığı üzerine etkilerini YYY ile araştırmışlardır. Sonuçta meyve suyunun 1 saat boyunca 45.5 °C 'de

% 0.34 selüloz ve % 0.5 pektinaz enzimleri ile kombinasyonu ile berraklık ve verimlilikte sırasıyla % 81.92 ve % 88.53 artış elde etmişlerdir.

Sojitra ve ark. (2016), meyve suyunun berraklaştırması için 10 saat çapraz bağlama süresi ile 60 mM glutaraldehit konsantrasyonu ve amino işlevli manyetik nanoparçacıkla birlikte α -amilaz, pektinaz ve selüloz enzimlerinin ko-immobilize edilmesiyle manyetik trienzim nanobiyokatalizörü hazırlamışlardır. Hazırlanan nanobiyokatalizörü FT-IR, SEM ve XRD ile karakterize etmişlerdir. Sıcaklık (50-70 °C) ve pH (3-6) arasında yapılan çalışma ile yarılanma ömründe iki kattan fazla artış ve daha düşük pH'a karşı artan tolerans gösterdiğini keşfetmişlerdir. Ko-immobilize edilmiş enzimler, art arda sekiz defa kullanıldıktan sonra bile başlangıç aktivitesinin % 75'i kadarını koruduğunu rapor etmişlerdir.

Amin ve ark. (2017), *Penicillium notatum*'dan elde edilen hücre dışı bir ekzo-poligalakturonaz (ekzo-PG), endüstriyel uygulamalarda kullanılmak üzere katalitik aktivite ve termal kararlılığını geliştirmek için kovalent bağlama ve adsorpsiyon yöntemleri ile immobilize etmişlerdir. Kovalent immobilizasyonda, adsorpsiyona kıyasla daha yüksek bağlı aktivite (% 45.89) ve immobilizasyon verimi (% 71.6) elde etmişlerdir. Immobilize edilmiş ekzo-PG türevlerinin, pH 6.0 ve 50 °C 'de optimum aktivitesini gösteren serbest enzime kıyasla pH 5.5 ve 55 °C 'de maksimum aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Immobilizasyondan sonra enzimin substratına (K_{mapp}) ilgisi azalmış ve kovalent olarak immobilize edilmiş ekzo-PG'nin V_{max} 'ı % 66.7'ye düşerken adsorbe edilmiş enzimin V_{max} değerinin serbest enzim ile karşılaştırıldığında % 150 'ye kadar yükseldiğini bulmuşlardır. Her iki immobilizasyon tekniğinin de enzimin termal stabilite profilini büyük ölçüde geliştirdiğini ve 60 °C 'de, immobilize edilmiş ekzo-PG'ler 60 dakikalık ısıtmadan sonra başlangıç aktivitelerinin % 90'ından fazlasını korurken, serbest enzimin aynı sıcaklıkta herhangi bir aktivite göstermediğini bulmuşlardır. Sodyum-aljinata kovalent olarak immobilize edilmiş ve adsorbe edilmiş enzimlerin, birbirini izleyen yedi ardışık kullanımdan sonra mükemmel bir geri dönüşüm verimliliği gösterdiklerini ve başlangıç aktivitelerinin sırasıyla % 50.0 ve % 41.0'ını koruduğunu keşfetmişlerdir. Ayrıca, enzim immobilizasyonunun, çeşitli meyve sularında bulanıklık ve viskozite azalmasının yanı sıra berraklık artmasında da etkili olduğunu bulmuşlardır.

Taştan ve ark. (2017), Kitosan'ın berrak elma suyu üretiminde durultma maddesi olarak kullanımı araştırmışlar, YYY kullanarak optimum koşullar belirlenmiş ve 4 °C 'de depolama sırasında elma suyunun kalitesine etkilerini analiz etmişlerdir. Elma suyunu berraklaştırmak için YYY ile belirledikleri en uygun koşulların 191.6 mg kitosan/100 ml meyve suyu, 20 °C ve 30 dk işlem süresi olduğunu rapor etmişlerdir. Bulanıklık, pH, asitlik, renk, toplam monomerik antosiyanin, toplam fenolik ve protein içerikleri gibi kalite özelliklerindeki değişiklikleri değerlendirmişler ve geleneksel berraklaştırma ile karşılaştırmışlardır. *Alicyclobacillus acidoterrestris*, meyve suyu endüstrisinde önemli sağlık sorunlarına neden olmasından dolayı kitosanın *A. acidoterrestris* üzerindeki antimikrobiyal etkisini de berraklaştırma işlemi sırasında incelemişlerdir. Sonuç olarak enzimatik işleme gerek kalmadan doğrudan kitosan ilavesiyle berrak elma suyu üretiminin elde edilebileceğini göstermişlerdir. Bununla birlikte, berraklaştırma işlemi sırasında *A. acidoterrestris*'in mikrobiyal azalmasını anlamlı düzeyde önemli bulmamışlardır.

Dal Magro ve ark. (2018), pektinaz ve selülozün iki farklı manyetik biyokatalizör formunu hazırlamışlardır. Bunlar taşıyıcı içermeyen manyetik CLEA'lar (CLEA-MP*) ve glutaraldehitte aktifleştirilmiş manyetit (Enz-Glu-MP*)'dir. Biyokatalizörlerin manyetik özellikleri, immobilizasyon parametreleri, stabiliteyi üzüm suyu berraklaştırılması aracılığı ile karşılaştırılmıştır. Enz-Glu-MP*'nin, CLEA-MP*'den daha yüksek manyetik özellikler ile daha yüksek yüzey alanı ve gözenek hacmine sahip olduğu; öte yandan CLEA-MP*'nin, daha yüksek bağlı aktivite (selülozün %33.4'ü), daha yüksek termal kararlılık (2.39 stabilizasyon faktörü) ve tekrar kullanım kararlılık gösterdiği rapor edilmiştir.

Guo ve ark. (2019), *Talaromyces leycettanus* JCM12802'de yeni bir aspartik proteaz geni (Tlap) tanımlanmış ve *Pichia pastoris*'ten alınarak elde etmişlerdir. Substrat olarak kazein kullanıldığında, saflaştırılmış rekombinant Tlap'ın en yüksek aktiviteyi pH 3.0 ve 55 °C'de gösterdiğini bulmuşlardır. Elma, portakal, üzüm ve kivi sularında Tlap'nın kullanımı sonucunda, bulanıklık değerlerini 49.9 NTU'a kadar azaltarak bulanıklık oluşturan proteinlere karşı mükemmel proteolitik aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Bu olumlu enzimatik özellikler sayesinde TLAP 'yi meyve suyu endüstrisinde potansiyel kullanıma uygun olduğunu göstermişlerdir.

Zhu ve ark. (2019), üzüm ve kivi suyu prinasının HPLC-ESI-MS ile fenolik profilini ortaya çıkarmışlar ve bunların antioksidan özelliklerini DPPH, FRAP ve % OH süpürme analizleri ile araştırmışlardır. Antosiyaninler, flavonoller, flavan 3-oller ve fenolik asitler dahil olmak üzere toplam 32 bileşik tanımlamışlardır. Üzüm posasının antosiyanin monoglukozitleri, flavan-3-oller (kateşin, epikateşin ve prosiyanidin) ve flavonollerin (kersetin ve türevleri) önemli ölçüde yüksek miktarlarda bulmuşlar; kivi posasının ise daha yüksek miktarda kinik asit, kafeik asit ve türevlerini içerdiğini tespit etmişlerdir. Üzüm posası daha yüksek toplam fenolik içeriğe (TPC) sahip olmasına rağmen, kivi prinasına göre daha düşük OH % temizleme kapasitesi, ancak daha iyi DPPH % temizleme aktivitesi ve FRAP indirgeme gücü göstermiştir. Sonuç olarak, iki pirinanın, gıda üretimi için ucuz bir doğal antioksidan kaynağı olarak potansiyel olarak kullanılabileceğini bulmuşlardır.

Ahmed ve ark. (2020), pektinaz enzimini portakal suyu berraklaştırması için kullanmış ve berraklaştırma sürecini etkileyen faktörleri YYY ile optimize etmişlerdir. Yapılan çalışma sonunda enzimin en yüksek aktiviteyi 35 °C 'de, 25 dakika ve pH 5 'de gösterdiğini rapor etmişlerdir. Enzimin 30 °C 'de 1 saate kadar herhangi bir aktivite kaybetmediğini; 35 °C ve 40 °C 'de inkübe edildiğinde ise başlangıç aktivitelerinin sırasıyla % 82 ve % 67 'ye düştüğünü belirlemişlerdir. Pektinazın, asidik ortamda ve 25-40 °C sıcaklıkta meyve suyu işleme endüstrilerinde kullanılmaya uygun olduğu görülmüştür.

Hassan ve ark. (2020), *M. hiemalis* kaynaklı pektinaz ve ksilanazın genipin ile aktive edilmiş aljinat boncukları üzerinde immobilizasyonunu ve ardından elma suyu berraklaştırmasındaki etkinliğini araştırmışlardır. Modelleme ve optimizasyon için yapay sinir ağı (YSA) ile birleştirilmiş merkezi bir kompozit dönebiller tasarımı (CCRD) kullanmışlardır. Optimum enzim yüklemesi ve genipin konsantrasyonu sırasıyla 50 U/ml ve % 12 (w/v) olarak bulmuşlardır. İmmobilize edilmiş enzim preparasyonları başlangıç aktivitelerinin yaklaşık % 45'ini (pektinaz) ve % 49 'unu (ksilanaz) kaybetmiş; 5 tekrar kullanımdan sonra aktivitede düşüşler gözlenmeye başlamıştır. Elma suyunun maksimum berraklığı (% T660, % 84), pektinaz (50 U/ml meyve suyu) ve ksilanaz (20 U/ml meyve suyu)'ın birlikte kullanımıyla birlikte 57 °C 'de ve 100 dakikada elde etmişlerdir. Hareketsizleştirilmiş enzimler, biyoyuumluluk, geri kazanılabilirlik ve operasyonel-depolama stabilitesi açısından endüstriyel açıdan önemine değinmişlerdir.

Kubzdela ve ark. (2020), *Berberis amurensis* meyvesinin ultrason (frekans 20 kHz, genlik % 70, güç 140 W 10 dakika), ısıtma (80 °C, 5 dk.) ve enzimatik ön işlem (50 °C, 0.23 g/1000 g dozunda Rohapect 10l, maserasyon süresi 60 dk) yardımıyla elde edilen verim ve meyve suyundaki fenolik bileşikleri, askorbik asit içeriği ve antioksidan kapasitesini incelemişlerdir. Meyvelerde 25, meyve sularında 24 fenolik bileşik tespit etmişlerdir. Meyvedeki fenolik içeriği 636 mg/100 g ve klorojenik asit, 4-hidroksibenzoat ve kersetin-3-O-glikozit baskın olduğunu bulmuşlardır. Askorbik asit içeriği, 16.60 mg/ 100 g olduğunu bulmuşlardır. Meyve suyu presleme işleminin verimi % 56 ile % 60 arasında değiştiğini saptamışlar, enzimatik ve ısıl işlem ile meyve suyundaki en yüksek fenolik bileşiği elde etmişlerdir. Sonikasyon, ana antosiyanin olarak peonidin-3-O-glukozit dahil olmak üzere en yüksek antosiyanin içeriğiyle sonuçlandırılmışlardır. Pürenin ısıl işlemi, diğer yöntemlere göre daha düşük bir askorbik asit kaybıyla sonuçlandırmışlardır. Pektinoliz veya ısıl işleme tabi tutulan mayşeden elde edilen meyve suyunun, en yüksek antioksidan kapasiteyi sergilediğini bulmuşlardır.

Prajapati ve ark. (2021), Bakreshwer kaplıcasından *Bacillus subtilis* BK-3 suşu üreten pektinolitik bir enzim izole etmişlerdir. Pektinaz üretimi atık narenciye kabuğu bulunan sıvı bir ortamda daha fazla elde etmişlerdir. Pektinaz üretiminin, YYY optimizasyonundan sonra ilk üretime göre 2.47 kat arttığını ve SDS PAGE sonucu, pektinazın moleküler ağırlığının ~33 kDa olduğunu bulmuşlardır. Pektinazın pH 5 ve optimum sıcaklık 50 °C olan ortamda kararlılığını büyük oranda koruduğunu rapor etmişlerdir. Metal iyonları KCl ve MnCl₂ enzim aktivitesini pozitif yönde önemli ölçüde etkilediğini, solventin biyokatalitik performansını inhibe ettiğini keşfetmişlerdir. Pektinazın Km ve Vmax değerlerini sırasıyla 0.4770 mg mL⁻¹ ve 43.46 IU mL⁻¹ bulmuşlardır. Sonuç olarak çeşitli meyve sularında (karadut, elma, portakal ve ananas) pektinaz uygulaması sonrasında berraklık ve indirgen şeker derişiminin arttığını, bulanıklığın azaldığını bulmuşlardır. Sonuçta manyetik tri-enzim kullanılarak 150 dakikalık işlemle elma, üzüm ve ananas sularının berraklaştırılması işleminde bulanıklıkta sırasıyla % 41, % 46 ve % 53 oranında azalma olduğunu bulmuşlardır.

Ozyilmaz ve Gunay (2023), elma, üzüm ve armut sularının berraklaştırılması için ko-immobilize edilmiş amilaz, pektinaz ve selülaz enzimlerinin kullanımını araştırmışlardır. Enzimlerin ko-immobilizasyonunda 4 farklı yöntem uygulanmış ve en

yüksek verimi silika jel üzerinde immobilize edilen enzim sistemi göstermiştir. Ko-immobilize enzimlerin aynı sıcaklık ve sürede bulanıklık ve indirgen şeker üzerine etkisini Yanıt Yüzey Yöntemiyle Design Expert Software 8.0.7.1 programını kullanarak incelemişlerdir. Ko-immobilize enzimleri taze sıkılmış elma, armut ve üzüm suları ile kesikli reaktör sisteminde etkileştirmiş, zamana bağlı indirgen şeker derişimlerinin arttığını ve bulanıklık değerlerinin azaldığını rapor etmişlerdir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan fenol, potasyum dihidrojen fosfat, sodyum karbonat, alüminyum klorür Riedel-de-Haen firmasından, dinitro salisilik asit (DNSA), *Aspergillus aculeatus* kaynaklı pektinaz (> 3.800 Units/ml), *Trichoderma reesei* kaynaklı selülaz (700 units/g), *Aspergillus oryzae* kaynaklı α -amilaz (800 FAu/g), *Bacillus* sp. kaynaklı proteaz (1.5 AU-N/g), sodyum alginat, silikajel, florisil, kitosan Sigma Aldrich firmasından; sodyum hidroksit ve trisodyum sitrat dihidrat Merck firmasından tedarik edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları

Kullanılan Cihazlar ve Markaları	Kullanım Amaçları
UV/VIS spektrofotometre (Perkin Elmer Lambda)	Bulanıklık tayini ve biyokimyasal analizlerde kullanılmıştır.
İnkübatör (Memmert)	Reaksiyon sıcaklığının ayarlanmasında kullanılmıştır
Analitik terazi (Radwag)	Kimyasalların tartımında kullanılmıştır

3.2. Yöntem

Çalışmada kiraz, ananas ve kivi sularının önce enzim karışımı sonrasında da adsorban ile etkileşimi gerçekleştirilerek meyve suyu bulanıklık ve biyokimyasal özelliklerinin değişimi araştırılacaktır. Enzim ve adsorban miktarı, etkileşim süresi ve sıcaklığı olmak üzere 4 parametrenin meyve suyu özelliklerine olan etkisi YYY ile

araştırılacaktır. Şekil 3.1’de, tez kapsamında gerçekleştirilecek çalışmalar şematik olarak özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Tez kapsamında yapılan çalışmalar

3.2.1. Kiraz, Ananas ve Kivi Sularının Elde Edilmesi

Mevsiminde elde edilen meyveler özenle yıkandıktan sonra katı meyve sıkacağından geçirilerek meyve suları elde edilmiştir. Yapılan çalışmalar meyve suyu elde edildikten sonra başlamıştır.

3.2.2. Meyve Suyunun Berraklaştırılmasında Kullanılacak Adsorban Türünün Belirlenmesi

Çalışmada meyve suyunun berraklaştırılması amacıyla öncelikle sodyum alginat, silika jel, florisil ve kitosan olmak üzere 4 farklı adsorban denenmiştir. Meyve sularına her adsorbandan aynı miktarda eklenerek, her birinin bulanıklığı, adsorban eklenmemiş meyve suyu ile karşılaştırılmış, bulanıklıkta en fazla azalmayı sağlayan adsorban türü sonraki çalışmalarda kullanılmıştır.

3.2.3. Meyve suyu kalitesine çalışma parametrelerinin etkilerinin YYY ile araştırılması

Meyve suyunun bulanıklığı, flavonoid madde, fenolik madde, indirgen şeker ve protein derişimi üzerine enzim ve adsorban kullanımı, sıcaklık ve reaksiyon süresinin etkisi YYY ile optimal tasarım kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla Design Expert 8.0.7.1 (Seri No:0021-6578) yazılımı kullanılmış ve kiraz için Çizelge 3.2, ananas ve kivi suyu için Çizelge 3.3’de çalışma koşulları seçilmiştir. Design Expert yazılımı tarafından kiraz için 22, ananas ve kivi için 23 deneyden oluşan çalışma seti oluşturulmuştur. Bu çalışma setlerindeki parametreler kullanılarak meyve suları belirli enzim ve adsorban miktarı ile belirli bir sıcaklık ve süre etkileştirilmiş ve santrifüj edildikten sonra her örneğin bulanıklığı ölçülerek flavonoid madde miktarı, toplam fenolik madde miktarı, indirgen şeker ve protein derişimleri belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Kiraz suyunda kullanılan çalışma şartları

Değişkenler	Semboller	Değişkenlerin kodları		
		En düşük	Orta	En yüksek
		-1	0	+1
Enzim miktarı (µl)	A	100	250	400
Adsorban miktarı (mg)	B	1	3	5
Çalışma süresi (dk)	C	60	120	180
Sıcaklık (°C)	D	25	40	55

Çizelge 3.3. Ananas ve kivi suyunda kullanılan çalışma şartları

Değişkenler	Semboller	Değişkenlerin kodları		
		En düşük	Orta	En yüksek
		-1	0	+1
Enzim miktarı (µl)	A	100	250	400
Adsorban miktarı (mg)	B	0. 1	0.55	1
Çalışma süresi (dk)	C	60	120	180
Sıcaklık (°C)	D	25	40	55

Meyve suyu kalitesine enzim miktarı, adsorban miktarı, süre ve sıcaklığın etkisinin YYY ile belirlenmesi amacıyla kiraz için Çizelge 3.2, ananas ve kivi içinse Çizelge 3.3.'de verilen düzeyler Design Expert programına girilerek program tarafından oluşturulan çalışma setleri elde edilmiştir. Program tarafından hazırlanan deney setlerinin her biri meyve sularına ayrı ayrı uygulanarak öncelikle sadece enzim karışımı eklenip sette verilen sıcaklık ve sürelerde bekletilmiştir. Enzim karışımı olarak proteaz, selüloz, amilaz ve pektinaz enzimlerinin her birinden 250 U/ml olacak şekilde bir çözelti hazırlanmış ve bu çözelti bekletilmeden kullanılmıştır. Enzimatik işleme uğramış meyve suları reaksiyon sonunda kaynar su banyosunda 10 dk bekletilerek enzimlerin denatüre olması sağlanmış ve soğuk su banyosunda tekrar soğutulmuştur. Çalışma setindeki adsorbanlar tüplere eklenerek karıştırılmış ve 5 dk sonra 3000 rpm de 5 dk santrifüj edilerek alınan süpernatantlar bulanıklık ve biyokimyasal analizlerde kullanılmıştır.

3.2.4. Meyve Sularında Yapılan Analizler

3.2.4.1. Bulanıklık Tayini

Bulanıklık tayini için spektrofotometrede 650 nm'de absorbanslar ölçüldü. Absorbans değerlerinden bulanıklık birimine geçmek için 1000 NTU'luk standart formazin çözeltisiyle hazırlanan farklı derişimdeki çözeltilerin A_{650} değerleri ölçülerek standart eğri çizilmiştir.

3.2.4.2. Meyve Sularında Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Bu çalışmada flavonoid madde tayini Kamtekar ve ark. (2014) tarafından önerilen yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 0.5 ml örnek çözeltisi ile 2 ml saf su ve 0.15 ml % 5 NaNO_2 bir tüpte karıştırılmış, 5 dk sonra 0.15 ml % 10 AlCl_3 eklenmiştir. 1 dk. sonra 1ml 1M NaOH ile birlikte girdap karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 510 nm'de absorbansı okunmuş, kuersetin standardına göre sonuçlar hesaplanmıştır.

3.2.4.3. Meyve Sularında Toplam Fenolik Madde Tayini

Bu çalışmada fenolik madde tayini Kamtekar ve ark. (2014) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır. Bunun için 0.25 ml örnek çözeltisi ile 2.75 ml saf su ve 0.5 ml folin reaktifi bir tüpte karıştırılmış, 5 dk sonra 0.75 ml % 20 Na₂CO₃ eklenmiştir. Son olarak 1 ml su ile seyreltilip girdap karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra spektrofotometrede 750 nm’de absorbansı okunmuştur. Standart olarak gallik asit kullanılmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir.

3.2.4.4. Meyve Sularında DNSA Yöntemi ile İndirgen Şeker Tayini

Meyve suyunda indirgen şeker derişimi Miller (1951) tarafından önerilen DNSA yöntemi modifiye edilerek (Ozyilmaz ve ark. 2005) belirlenmiştir. DNSA Yöntemi ile indirgen şeker tayini yapmak için 0.25 ml örnek çözeltisi ile 0.5 ml DNSA reaktifi bir tüpte karıştırılmış, kaynar su banyosunda 10 dk tutulmuştur. Tüm tüpler aynı anda kaynar su banyosundan alındıktan sonra buz banyosunda 1 dk soğutulmuş ve 7 ml saf su ile seyreltilmiştir. Girdap karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra 20 dk bekletilen örneklerin absorbansları spektrofotometrede 575 nm’de okunmuştur. İndirgen şeker derişimleri glukoz çözeltisi kullanılarak çizilen standart eğri yardımı ile hesaplanmıştır.

3.2.4.5. Meyve Sularında Protein Derişimi Tayini

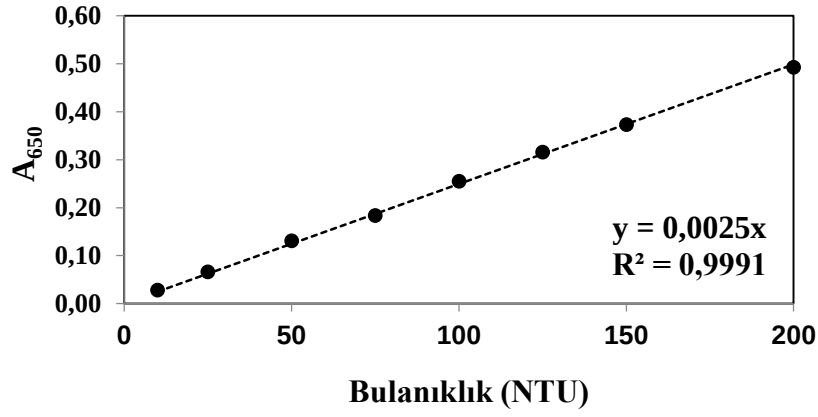
Bu çalışmada protein derişimi Lowry (1951) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için 0.05 ml örnek çözeltisi ile 0.45 ml saf su ile seyreltilmiş ve 2.5 ml alkali CuSO₄ çözeltisi ile karıştırılmıştır. 10 dk sonra 0.25 ml folin reaktifi eklenerek 20 dk sonra spektrofotometrede 750 nm’de absorbansı okunmuştur. Sonuçlar sığır serum albümin çözeltisi ile çizilen standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

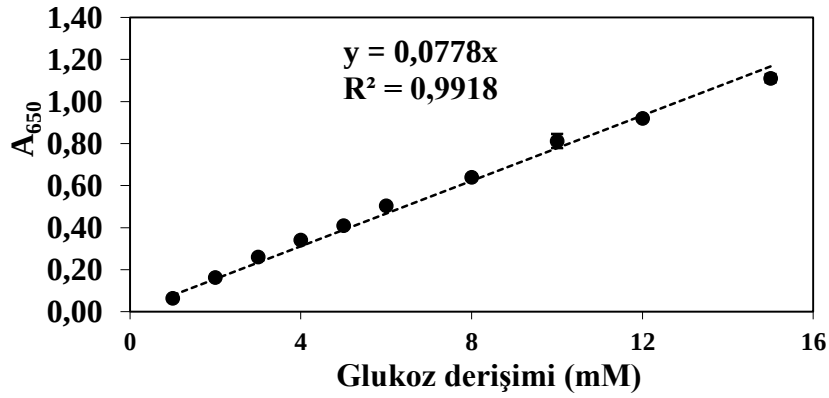
4.1. Bulgular

4.1.1. Standart Eğriler

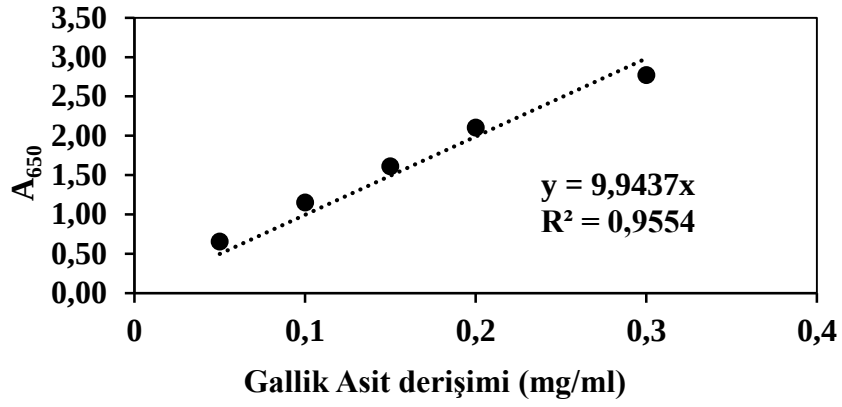
Çalışmalar için oluşturulan bulanıklık standart grafiği, DNSA standart grafiği fenolik madde standart grafiği, flavonoid madde standart grafiği ve protein standart grafiği sırasıyla şekil 4.1, şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.4, ve şekil 4.5’de verilmiştir.



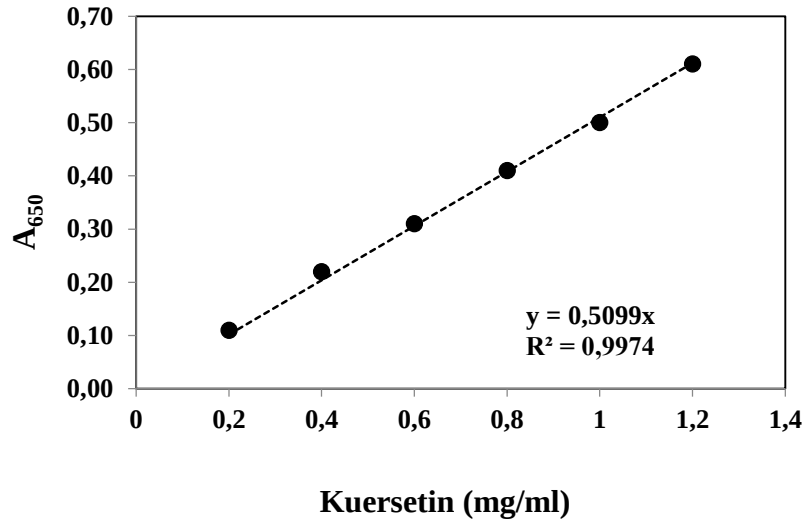
Şekil 4.1. Bulanıklık standart grafiği (Formazin)



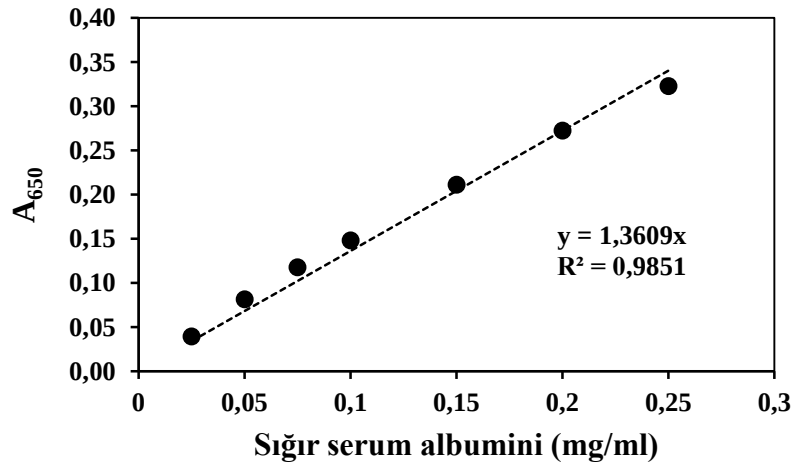
Şekil 4.2. İndirgen şeker standart grafiği



Şekil 4.3. Fenolik madde standart grafiğı



Şekil 4.4. Flavonoid madde standart grafiğı

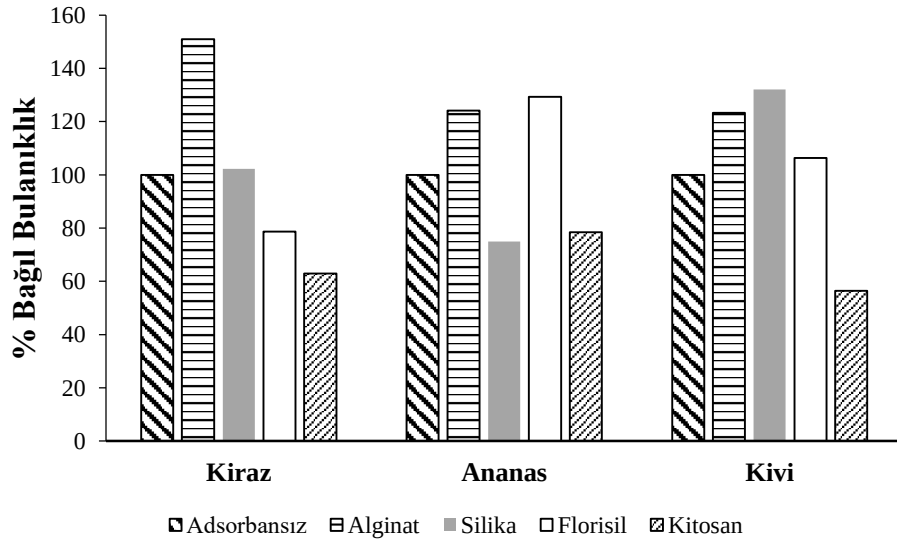


Şekil 4.5. Protein standart grafiğı

Meyve suyunun proteaz, amilaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile ve ayrıca adsorban ile etkileşimi sonrasında bulanıklık, toplam fenolik madde, indirgen şeker ve toplam flavonoid ve protein düzeyleri belirlenmiştir.

4.1.2. Çalışmada kullanılacak en uygun adsorban türünün belirlenmesi

Hazırlanan kiraz, ananas ve kivi sularına sodyum alginat, silika jel, florisil ve kitosan adsorbanlarından 2 mg/ml olacak şekilde konmuş ve 5 dk. sonunda 3000 rpm’de 5 dk santrifüjlenerek süpernatantların 650 nm’deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Şekil 4.2’de verilen standart eğri yardımı ile bağıl bulanıklık değerleri hesaplanarak sonuçlar Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı adsorbanların meyve sularının bulanıklıkları üzerine etkisi

Şekil 4.6’da görüldüğü gibi, alginat tüm meyve sularında bulanıklıkta artışa neden olmuştur. Silika jel kiraz suyunda bulanıklığı pek etkilemezken ananas suyunda bulanıklığı % 25 oranında azaltmış, kivi suyunda ise yaklaşık % 30 arttırmıştır. Florisil sadece kiraz suyunda bulanıklığı azaltmış; ananas ve kivi suyunda ise arttırmıştır. Her üç meyve suyunda da bulanıklığı azaltan tek adsorbanın kitosan olduğu görülmektedir. Dolayısı ile çalışmanın sonraki aşamalarında adsorban olarak kitosan kullanımına karar verilmiştir.

4.1.3. YYY ile Çalışma Parametrelerinin Meyve Sularına Etkisinin araştırılması

4.1.3.1. Kiraz Suyu

Kiraz suyunun bulanıklık ve biyokimyasal özelliklerine enzim ve adsorban etkisinin araştırılması amacıyla uygulanan YYY çalışma setleri ve her set için ölçülen parametreler Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Çizelgedeki çalışma şartları için ölçülen cevaplar (Bulanıklık değeri, flavonoid, fenolik madde, indirgen şeker ve protein derişimleri) programa girildiğinde her bir değışken için tahminleme yapmayı sağlayacak en uygun model önerilmiş ve verilerin ANOVA analizleri ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.

Çizelge 4.1. Kiraz suyu için oluşturulan çalışma setleri ve her set için elde edilen sonuçlar

Set No	Enzim μL	Adsorban mg/ml	Süre (dk)	Sıcaklık (C)	Bulanıklık (NTU)	İnd. şeker (mM)	Flavonoid (mM)	Top. fenolik madde (mg gallic asit/ml)
1	100	5	60	25	46,4	8.7	1.2	0.063
2	400	5	180	55	35.9	7.3	1.432	0.063
3	250	1	120	40	30.5	8.4	1.376	0.063
4	400	1	180	25	28.2	7.6	1.408	0.061
5	400	5	60	40	49.1	7.7	2.04	0.056
6	400	3	120	25	35.9	8.7	1.68	0.059
7	100	1	60	25	29.1	8.5	2.248	0.059
8	100	1	180	55	31.4	9.2	2.024	0.064
9	100	1	60	55	36.8	7.2	2.064	0.061
10	100	5	120	55	40.9	8.1	2.304	0.060
11	100	1	180	25	33.2	6.9	2.04	0.059
12	400	1	60	55	26.8	8.2	1.64	0.066
13	400	3	120	25	30.5	7.8	1.848	0.058
14	100	3	60	40	31.8	9.4	2.112	0.056
15	250	5	180	25	38.2	9.4	1.904	0.062
16	250	1	120	40	30.0	8.1	2.224	0.066
17	100	3	180	40	40.0	8.8	1.976	0.060
18	250	1	120	40	25.5	8.3	2.704	0.063
19	400	3	180	40	33.2	8.5	1.88	0.059
20	250	3	60	25	33.6	7.9	2.808	0.061
21	400	1	60	25	32.3	6.7	2.352	0.061
22	250	3	60	55	33.6	8.9	2.728	0.058

4.1.3.1.1. Kiraz Suyu Bulanıklık Tayini

Program tarafından çalışılan aralıkta geçerli olmak kaydıyla bulanıklığın tahminlenmesinde lineer modelin ve Eşitlik 4.1'in kullanılabileceği ortaya çıkmıştır. Eşitlikte V_E kullanılan enzim karışımının hacmine, M_A kullanılan adsorban miktarını (mg/ml), T sıcaklığa, t ise reaksiyon süresine karşılık gelmektedir.

$$\text{Bulanıklık} = 31.59667 - 0.00968 \times V_E + 2.877971 \times M_A - 0.01959 \times T - 0.0134 \times t \quad (4.1)$$

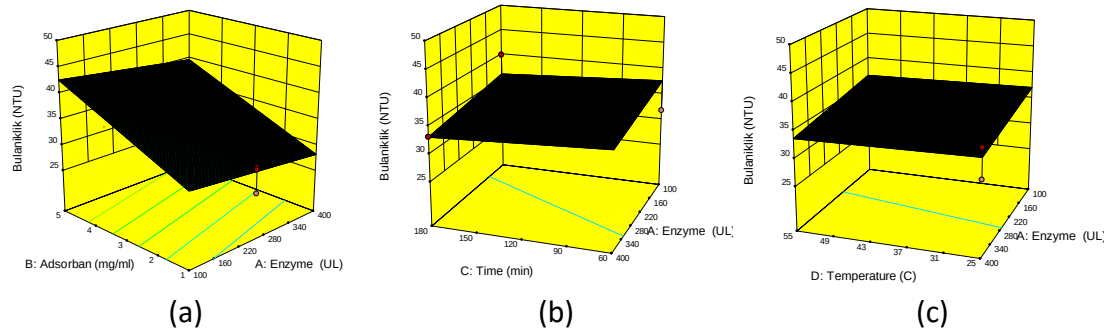
ANOVA değerlerine ait modelin uygunluğunun test edilmesi amacıyla belirlenen istatistiki veriler Çizelge 4.2’de verilmiştir.

YYY ile yapılan çalışmalarda ideal bir model için $p < 0.05$ (anlamlı) ve lack of fit değerinin 0.05’den büyük (anlamsız) olması gerekir. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, önerilen model bu anlamda kullanıma uygundur.

Çizelge 4.2. Kiraz suyu bulanıklık değerlerinin ANOVA sonuçları (Lineer Model)

Lineer model						
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler	F Değeri	p-değeri Prob > F	
Model	482.2132	4	120.5533	8.097045	0.0007	Anlamlı
A-Enzim	32.89681	1	32.89681	2.209537	0.1555	
B-Adsorban	456.29	1	456.29	30.64703	3.63E-05	
C-Sıcaklık	1.23692	1	1.23692	0.083079	0.7766	
D-Süre	10.17901	1	10.17901	0.68368	0.4197	
Kalıntı	253.1054	17	14.88856			
Model uygunsuzluğu	223.3588	14	15.9542	1.609007	0.3873	Anlamsız
Saf Hata	29.74667	3	9.915556			
Toplam	735.3186	21				

ANOVA analizinde kareler toplamı ne kadar büyükse, ilgili parametrenin yanıt üzerine etkisi de o denli yüksektir. Dolayısı ile Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi kiraz suyunda bulanıklık değeri en fazla kullanılan adsorban miktarından etkilenmektedir. Design Expert programına Çizelge 4.1’de verilen bulanıklık değerleri girildiğinde Şekil 4.7’de verilen yüzey grafikleri elde edilmiştir.



Şekil 4.7. Kiraz suyu bulanıklık yüzey grafikleri

Şekil 4.7’de görüldüğü gibi, adsorban derişimi arttıkça bulanıklık da artmıştır (a). Buna karşın enzim derişimi ve çalışma süresi arttıkça bulanıklığın hafifçe azaldığı görülmektedir (b). Çalışma sıcaklığı ve enzim miktarı yükseldikçe bulanıklık değeri hafifçe azalmıştır (c).

4.1.3.1.2. Kiraz Suyu İndirgen Şeker Derişiminin Değişimi

Çizelge 4.1 de verilen indirgen şeker miktarı değerleri Design Expert programında analiz edildiğinde indirgen şeker miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI olduğu belirlenmiştir.

İndirgen şeker miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.2’i önermiştir.

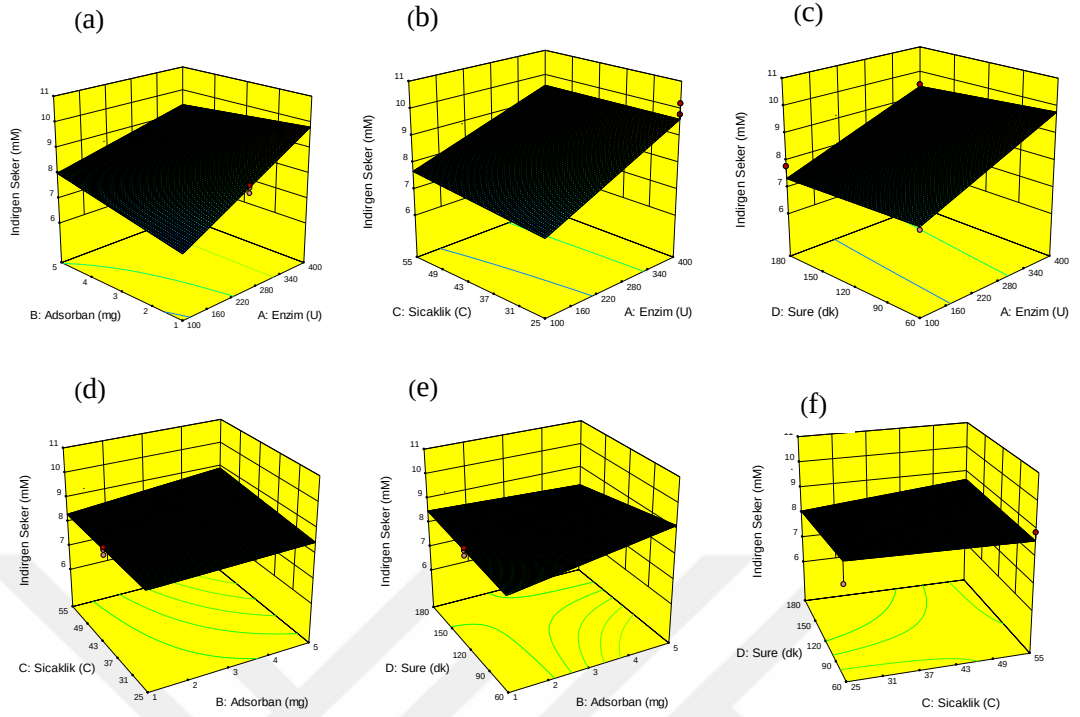
$$\begin{aligned} \text{İndirgen şeker derişimi} = & 5.00543 + 0.014456 \times VE + 0.60336 \times MA - \\ & 0.011169 \times T - 9.09854E - 004 \times t - 1.34354E - 003 \times VE \times MA - 9.09854E - \\ & 004 \times t - 1.34354E - 003 \times VE \times MA - 6.28341E - 005 \times VE \times T - 5.33607E - \\ & 006 \times VE \times t + 3.66921E - 003 \times MA \times T - 2.66850E - 003 \times MA \times t + \\ & 2.00398E - 004 \times T \times t \end{aligned} \quad (4.2)$$

Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi Çizelge 4.3’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde indirgen şeker madde miktarı üzerine en büyük etkiye enzim miktarının olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Kiraz suyu indirgen şeker değerlerinin ANOVA sonuçları (2FI Model)

Lineer model						
Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler	F Değeri	p-değeri Prob > F	
Model	25.2290	10	2.5229	12.0372	0.0001	Anlamlı
A-Enzim	15.9534	1	15.953	76.1156	2.84E-06	
B-Adsorban	0.4325	1	0.4325	2.0636	0.1786	
C-Sıcaklık	0.1860	1	0.1860	0.8875	0.3664	
D-Süre	0.2393	1	0.2393	1.1419	0.3081	
AB	1.5042	1	1.5042	7.1769	0.0214	
AC	0.2132	1	0.2132	1.0172	0.3348	
AD	0.0271	1	0.0271	0.1292	0.7259	
BC	0.1141	1	0.1141	0.5443	0.4761	
BD	0.9364	1	0.9364	4.4677	0.0582	
CD	0.3376	1	0.3376	1.6106	0.2306	
Kalıntı	2.3055	11	0.2096			
Model Uyumsuzluğu	2.1788	8	0.27233	6.4505	0.0765	Anlamsız
Saf Hata	0.1266	3	0.04222			
Toplam	27.5345	21				

İndirgen şeker derişiminin çalışma koşullarına bağlı değişimini gösteren yüzey grafikleri Şekil 4.8’de verilmiştir. Şekil 4.8’de çalışma parametrelerinin kiraz suyu toplam indirgen şeker miktarı üzerine etkisi gösterilmektedir. Düşük enzim miktarında adsorban miktarının belirgin bir etkisi olmasa da, yüksek enzim miktarında adsorban miktarı arttıkça indirgen şeker miktarı artmıştır (a). Sıcaklık ve çalışma süresinin indirgen şeker derişimine belirgin katkı yaptığı söylenemez (f).



Şekil 4.8. Kiraz suyu indirgen şeker miktarı yüzey grafikleri

4.1.3.1.3. Kiraz Suyu Flavonoid Madde Miktarı Değişimi

Çizelge 4.1’de verilen flavonoid madde miktarı değerleri Design Expert programında analiz edildiğinde flavonoid madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI olduğu belirlenmiştir

Flavonoid madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.3’ü önermiştir.

$$\begin{aligned} \text{Flavonoid miktarı} = & 2.564065 + 0.003467 \times VE - 0.45886 \times MA - 0.00088 \times T - \\ & 0.00409 \times t \times VE \times MA - 7.5E - 05 \times VE \times t - 2.3E - 05 \times VE \times T + \\ & 0.003024 \times MA \times T + 0.002435 \times MA \times t + 7.94E - 05 \times T \times t \end{aligned} \quad (4.3)$$

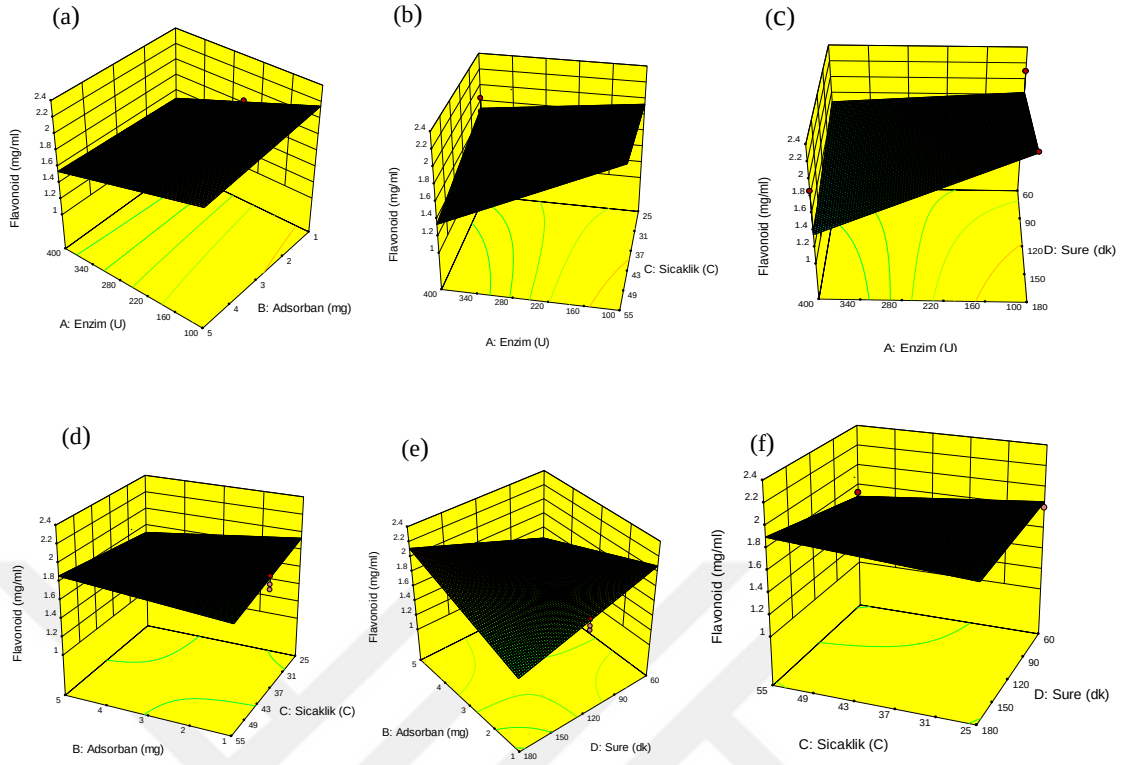
Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.4’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde flavonoid madde miktarı üzerine en büyük etkiye enzim miktarının olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Kiraz suyu flavonoid değerlerinin ANOVA sonuçları (2FI Model)

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler	F Değeri	p-değeri Prob > F	
Model	2.2718	10	0.2271	4.6171	0.0094	Anlamlı
A-Enzim	1.0534	1	1.0534	21.4095	0.0007	
B-Adsorban	0.0046	1	0.0046	0.0937	0.7652	
C-Sıcaklık	0.0029	1	0.0029	0.0605	0.8101	
D-Süre	0.0186	1	0.0186	0.3781	0.5511	
AB	0.0173	1	0.0173	0.3519	0.5650	
AC	0.3040	1	0.3040	6.1793	0.0302	
AD	0.5059	1	0.5059	10.2815	0.0084	
BC	0.0774	1	0.0774	1.5747	0.2355	
BD	0.7794	1	0.7794	15.8406	0.0022	
CD	0.0530	1	0.0530	1.0778	0.3215	
Kalıntı	0.5412	11	0.0492			
Model						
Uyumsuzluğu	0.5163	8	0.0645	7.7561	0.0598	Anlamsız
Saf Hata	0.0249	3	0.0083			
Toplam	2.8131	21				

Flavonoid derişiminin çalışma koşullarına bağlı değişimini gösteren yüzey grafikleri Şekil 4.9’de verilmiştir.

Şekil 4.9’da çalışma parametrelerinin flavonoid miktarı üzerine etkisi görülmektedir. Enzim derişimi ve sıcaklık arttıkça flavonoid miktarı azalmış (b); adsorban miktarı arttıkça artmıştır (e).



Şekil 4.9. Kiraz suyu flavonoid miktarı yüzey grafikleri

4.1.3.1.4. Kiraz Suyu Fenolik Madde Miktarı Değişimi

Çizelge 4.1’de verilen fenolik madde miktarı değerleri Design Expert programıyla analiz edildiğinde fenolik madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin kuadratik model olduğu tespit edilmiştir.

Flavonoid madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.4’ü önermiştir. Program tarafından kuadratik modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.5’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde fenolik madde miktarı üzerine en büyük etkiye sürenin olduğu belirlenmiştir.

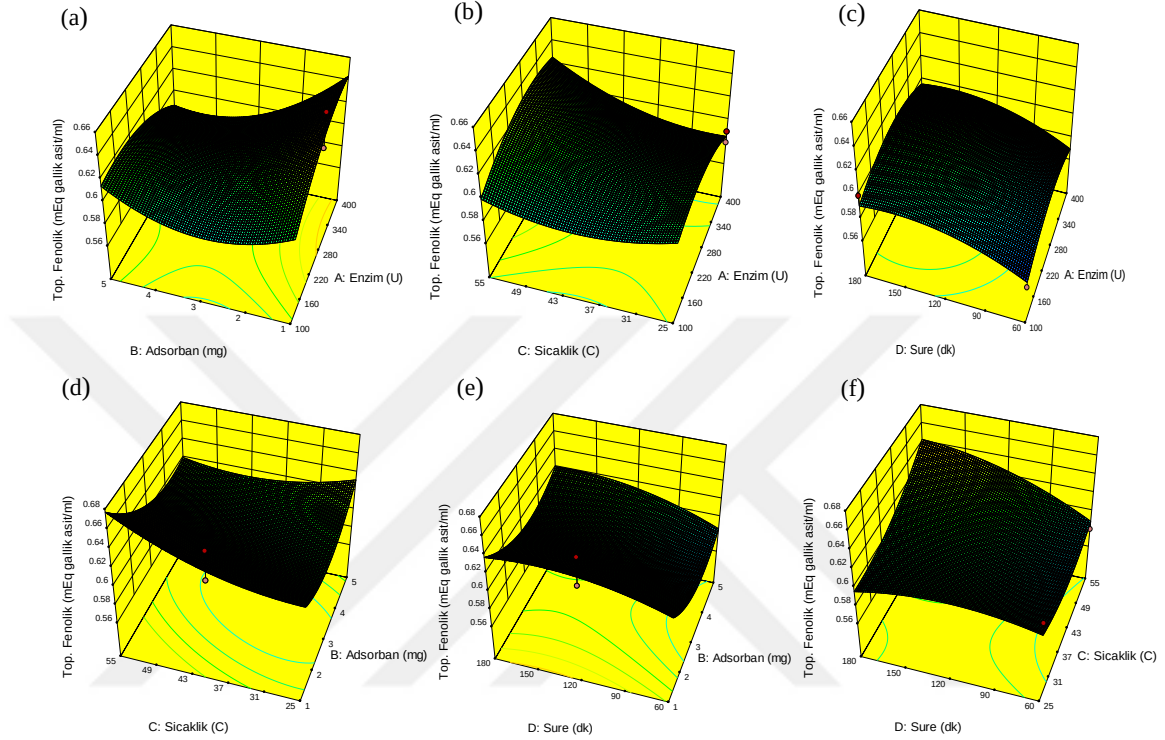
$$\begin{aligned}
\text{Top. Fenolik} = & 0.64973 + 2.95733E - 004xVE - 8.67853E - 003xMA - \\
& 5.09611E - 003xT + 2.29448E - 004xt - 5.38166E - 005x006VExT + \\
& 1.28599E - 008xVE \times t - 5.27648E - 004xMAxT + 3.17215E - 005xMA \times t + \\
& 1.52098E - 005xTxT - 6.08753E - 007xVE^2 + 5.55378E - 003xMA^2 + \\
& 5.43484E - 005xT^2 - 2.97054E - 006 \times t^2
\end{aligned} \tag{4.4}$$

Çizelge 4.5 . Kiraz suyu fenolik madde miktarı ANOVA sonuçları (kuadratik model)

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler	F Değeri	p-değeri Prob > F	
Model	0.0147	14	0.0010	5.4793	0.0153	Anlamlı
A-Enzim	8.32E-05	1	8.32E-05	0.4337	0.5312	
B-Adsorban	0.0017	1	0.0017	8.8721	0.0205	
C-Sıcaklık	0.0010	1	0.0010	5.7079	0.0482	
D-Süre	0.0023	1	0.0023	12.3148	0.0098	
AB	0.0023	1	0.0023	12.2058	0.0100	
AC	0.0009	1	0.0009	4.7250	0.0662	
AD	1.56E-07	1	1.56E-07	0.0008	0.9780	
BC	0.0022	1	0.0022	11.5359	0.0114	
BD	0.0001	1	0.0001	0.6362	0.4512	
CD	0.0018	1	0.0018	9.8698	0.0163	
A^2	0.0006	1	0.0006	3.2000	0.1167	
B^2	0.0019	1	0.0019	10.1224	0.0154	
C^2	0.0005	1	0.0005	2.8121	0.1374	
D^2	0.0003	1	0.0003	1.7473	0.2277	
Kalıntı	0.0013	7	0.0001			
Model Uyumsuzluğu	0.0006	4	0.0001	0.7994	0.5973	Anlamsız
Saf Hata	0.0006	3	0.0002			
Toplam	0.0160	21				

İndirgen şeker derişiminin çalışma koşullarına bağlı değişimini gösteren yüzey grafikleri Şekil 4.10'da verilmiştir. Şekil 4.10'da çalışma parametrelerinin kiraz suyu toplam fenolik madde bileşimine etkisi gösterilmektedir. Düşük enzim miktarında adsorban miktarının belirgin bir etkisi olmasa da, yüksek enzim miktarında adsorban miktarı arttıkça fenolik madde miktarı azalmıştır (Şekil 4.10-a). Düşük enzim miktarında sıcaklıkla fenolik madde miktarında önemli bir değişim gözlenmemişken,

Şekil 4.10(b)'de görüldüğü gibi yüksek enzim miktarında sıcaklık arttıkça fenolik madde miktarında artış olmuştur. Şekil 4.10 (f)'de görüldüğü gibi düşük sıcaklıkta sürenin fenolik madde miktarı üzerine belirgin bir etkisi olmasa da, yüksek sıcaklıkta zamana bağlı olarak artış gözlenmiştir.



Şekil 4.10. Kiraz suyu fenolik madde miktarı yüzey grafikleri

4.1.3.2. Ananas Suyu

Ananas suyunun bulanıklık ve biyokimyasal özelliklerine enzim ve adsorban etkisinin araştırılması amacıyla uygulanan yanıt yüzey yöntemi çalışma setleri ve her set için ölçülen parametreler Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Ananas suyu için oluşturulan çalışma setleri ve her set için elde edilen sonuçlar

Set No	Enzim (mL)	Adsorban (mg)	Sıcaklık (C)	Süre (dk)	Bulanıklık (NTU)	Flavonoid (mg /ml)	Top Fenolik	İndirgen	Protein (mg/ml)
							madde (mg /ml)	Şeker (mM)	
1	400	0.10	40	120	3.57	0.76	0.32	8.79	1.11
2	250	1.00	40	120	6.79	0.58	0.30	9.85	1.07
3	100	0.10	40	120	7.93	0.46	0.30	10.55	0.92
4	100	1.00	25	120	7.64	0.47	0.27	10.28	0.91
5	100	1.00	55	60	7.86	0.46	0.27	10.14	0.89
6	250	0.55	55	120	4.86	0.58	0.31	8.61	1.17
7	100	0.55	25	60	7.21	0.45	0.31	9.43	0.94
8	100	0.55	40	180	7.93	0.45	0.25	9.16	0.97
9	100	0.55	40	180	8.57	0.46	0.30	8.87	1.01
10	250	0.10	55	180	8.71	0.62	0.33	7.92	0.95
11	400	1.00	55	60	4.42	0.68	0.30	9.28	1.10
12	250	0.10	40	60	7.93	0.65	0.31	8.20	0.91
13	250	0.55	40	60	6.07	0.55	0.30	9.02	1.01
14	250	0.55	55	120	5.00	0.58	0.32	9.32	1.09
15	250	0.10	25	120	6.86	0.60	0.32	8.84	1.11
16	400	1.00	55	180	3.79	0.76	0.29	10.31	1.09
17	400	1.00	40	120	4.07	0.66	0.33	10.26	1.33
18	250	0.55	55	120	5.14	0.63	0.30	8.80	1.24
19	250	0.55	40	60	5.36	0.55	0.41	8.11	1.09
20	400	0.55	25	60	4.27	0.76	0.31	9.02	1.10
21	250	0.55	25	180	5.07	0.59	0.27	8.89	1.22
22	250	1.00	25	180	4.50	0.56	0.20	9.72	1.02
23	100	0.10	55	60	6.07	0.46	0.32	7.54	0.92

4.1.3.2.1. Ananas Suyu Bulanıklık Değerlerinin Değişimi

Design Expert programı tarafından ananas suyunun bulanıklık değerinin araştırılan parametreler cinsinden kuadratik modelle ikinci dereceden bir denklemle (Eşitlik 4.5) tahminlenebileceği önerilmiştir. ANOVA değerlerine ait modelin uygunluğunun test edilmesi amacıyla belirlenen istatistiki veriler Çizelge 4. 7’de verilmiştir.

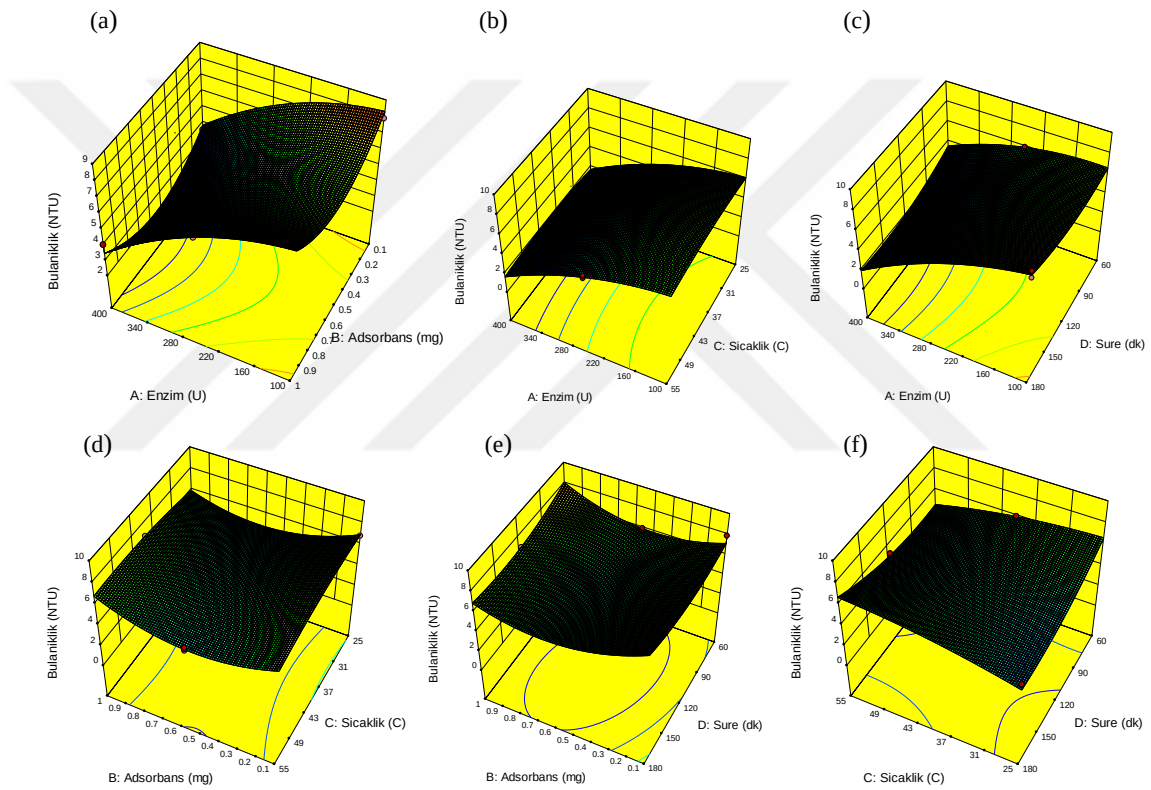
$$\begin{aligned}
\text{Bulanıklık} = & 11.67861 + 0.017316x \text{VE} - 8.43007x \text{MA} - 0.028121x \text{T} - \\
& 0.061891xt - 1.08317E - 003 \text{VExMA} - 2.91676E - 005x \text{VExT} - 8.84620E - \\
& 005x \text{VE} x t + 0.054633x \text{MA}x\text{T} - 0.020424x \text{MA}xt + 0.054633x \text{MA}x\text{T} - \\
& 0.020424x \text{MA}xt + 1.17534E - 003x \text{T}xt - 4.06254E - 005x \text{VE}^2 + \\
& 7.93177x \text{MA}^2x\text{T} + 1.99757E - 004t^2
\end{aligned} \tag{4.5}$$

YYY ile yapılan çalışmalarda ideal bir model için $p < 0.05$ ve lack of fit değerinin 0.05'den büyük olması gerekir. ANOVA verilerine göre model bu iki koşulu sağlamaktadır. Kareler toplamı göz önüne alındığında, bulanıklık değeri üzerine en büyük etkiye kullanılan enzim miktarı sahiptir. Ancak reaksiyon süresinin bulanıklık üzerine etkisi oldukça düşüktür.

Çizelge 4.7. Ananas suyu bulanıklık değerlerinin ANOVA sonuçları (Kuatratik Model)

Kaynak	Kareler		Ortalama	F	p-değeri	
	Toplamı	df	Kareler	Değeri	Prob > F	
Model	57.9919	14	4.1422	12.8299	0.0005	Anlamlı
A-Enzim	36.1060	1	36.1060	111.8319	5.58E-06	
B-Adsorban	0.1061	1	0.1061	0.3289	0.5820	
C-Sıcaklık	0.0216	1	0.0216	0.0671	0.8020	
D-Süre	0.0031	1	0.0031	0.0098	0.9232	
AB	0.0285	1	0.0285	0.0883	0.7738	
AC	0.0211	1	0.0211	0.0656	0.8042	
AD	2.5034	1	2.5034	7.7541	0.0237	
BC	0.7687	1	0.7687	2.3809	0.1613	
BD	1.2356	1	1.2356	3.8271	0.0861	
CD	6.5270	1	6.5270	20.2164	0.0020	
A^2	3.4943	1	3.4943	10.8230	0.0110	
B^2	9.2127	1	9.2127	28.5347	0.0006	
C^2	0.5971	1	0.5971	1.8495	0.2109	
D^2	2.5016	1	2.5016	7.7482	0.0237	
Kalıntı	2.5828	8	0.3228			
Model						
Uygunsuzluk	2.0803	4	0.5200	4.1393	0.0988	Anlamsız

Ananas suyunun bulanıklık değerlerinin çalışma koşullarına bağlı değişimini gösteren yüzey grafikleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Şekil 4.11’de görüldüğü gibi, adsorban derişimi arttıkça bulanıklık da artmıştır. Buna karşın enzim derişimi arttıkça bulanıklığın hafifçe azaldığı görülmektedir (Şekil 4.11-a). Enzim miktarı ve sıcaklık birlikte arttıkça bulanıklık azalmıştır (Şekil 4.11-b). Benzer sonuç enzim ve sıcaklık parametreleri için de gözlenmiştir (Şekil 4.11-c). Adsorban miktarının sıcaklık ve süre ile birlikte değişimi bulanıklık üzerinde belirgin bir değişime yol açmamıştır (Şekil 4.11-d,e).



Şekil 4.11. Ananas suyu bulanıklık değeri yüzey grafikleri

4.1.3.2.2. Ananas Suyu İndirgen Şeker Derişiminin Değişimi

Çizelge 4.6’da verilen indirgen şeker derişimi değeri Design Expert programında analiz edildiğinde indirgen şeker derişiminin çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin lineer model olduğu belirlenmiştir. İndirgen şeker miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.6’yı önermiştir.

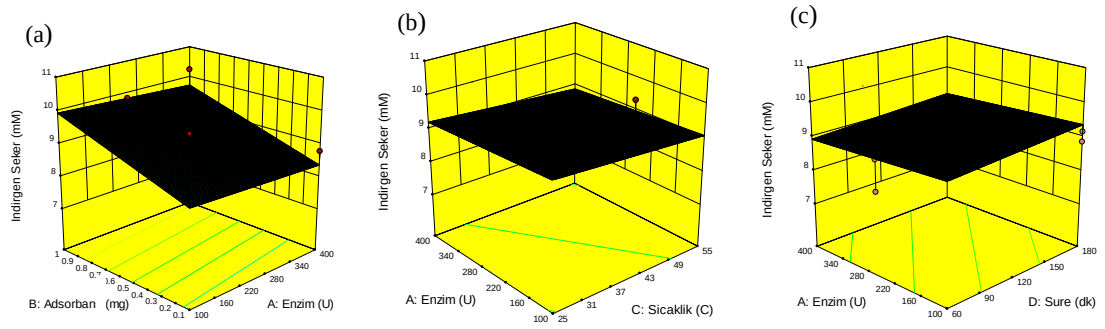
$$\text{İndirgen Şeker} = 8.71432 - 6.76350E - 004 \times VE + 1.52402 \times MA - 0.011275 \times T + 1.87178E - 003 \times t \quad (4.6)$$

Program tarafından lineer modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.8’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde indirgen şeker derişimi üzerine en büyük etkiye adsorban miktarının olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Ananas suyu indirgen şeker derişimi ANOVA sonuçları (Lineer Model)

Kaynak	Kareler		Ortalama		F		p-değeri
	Toplamı	df	Kareler	Değeri	Değeri	Prob > F	
Model	6.76	4	1.69	3.87		0.0193	Anlamlı
A-Enzim	0.12	1	0.12	0.27		0.6106	
B-Adsorban	5.88	1	5.88	13.48		0.0017	
C-Sıcaklık	0.39	1	0.39	0.90		0.3564	
D-Süre	0.17	1	0.17	0.40		0.5372	
Kalıntı	7.85	18	0.44				
Model Uyumsuzluğu	7.12	14	0.51	2.80		0.1653	Anlamsız
Saf Hata	0.73	4	0.18				
Toplam	14.61	22					

Şekil 4.12’de çalışma parametrelerinin ananas suyu toplam indirgen şeker miktarı üzerine etkisi gösterilmektedir. Adsorban miktarı arttıkça indirgen şeker miktarı artmış, enzim miktarının indirgen şeker derişimi üzerine pek etkisi olmamıştır (Şekil 4.12-a). Sıcaklık, çalışma süresinin ve enzim derişiminin etkisi (Şekil 4.12-b,c).



Şekil 4.12. Ananas suyu indirgen şeker miktarı yüzey grafikleri

4.1.3.2.3. Ananas Suyu Flavonoid Madde Miktarı Değişimi

Çizelge 4.6’da verilen flavonoid madde miktarı değerleri Design Expert programında analiz edildiğinde flavonoid madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI olduğu belirlenmiştir.

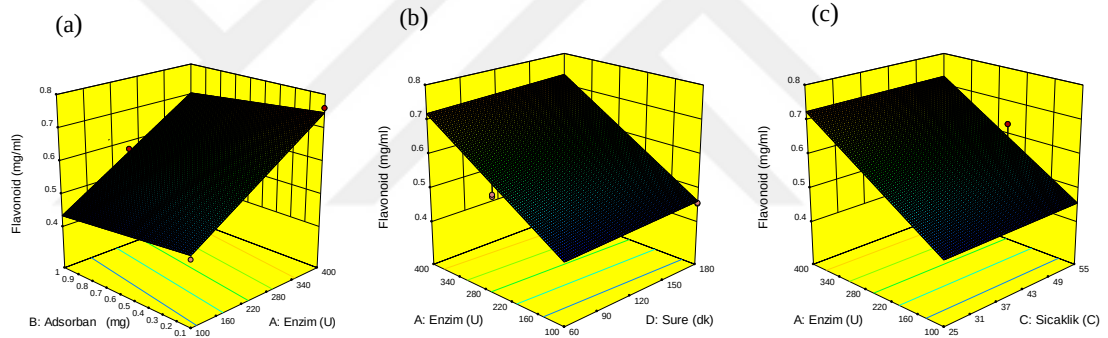
Flavonoid madde miktarını araştırılan parametrelerle ilgili olarak tahminlemek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.7’i önermiştir.

$$\text{Flavonoid} = +0.37001 + 9.05763E - 004 \times VE - 0.045942 \times MA + 1.14260E - 004 \times T + 1.24293E - 004 \times t \quad (4.7)$$

Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.9’da verilmiştir. Model için önerilen p değerinin 0.05’ten küçük (anlamlı); model uygunsuzluğunun p değeri 0.05’te büyük (anlamsız) olması modelin flavonoid derişiminin tahminlenmesi için ideal olduğunu ortaya koymaktadır. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde flavonoid madde miktarı üzerine en büyük etkiye enzim miktarının olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Ananas suyu flavonoid madde miktarı ANOVA sonuçları (Lineer Model)

Kaynak	Kareler		Ortalama	F	p-değeri	
	Toplamı	df	Kareler	Değeri	Prob > F	
Model	0.21	4	0.053	60.35	< 0.0001	Anlamlı
A-Enzim	0.21	1	0.21	238.38	< 0.0001	
B-Adsorban	5.340E-003	1	5.340E-003	6.06	0.0242	
C-Sıcaklık	4.012E-005	1	4.012E-005	0.046	0.8335	
D-Süre	7.608E-004	1	7.608E-004	0.86	0.3651	
Kalıntı	0.016	18	8.814E-004			
Model Uyumsuzluğu	0.014	14	9.824E-004	1.86	0.2892	Anlamsız
Saf Hata	2.111E-003	4	5.278E-004			
Toplam	0.23	22				



Şekil 4.13. Ananas suyu flavonoid miktarı yüzey grafikleri

Şekil 4.13’de çalışma parametrelerinin flavonoid miktarı üzerine etkisi görülmektedir. Enzim miktarı arttıkça flavonoid madde miktarı artmaktadır. Adsorban, süre ve sıcaklığın flavonoid madde miktarına belirgin bir katkı yaptığı söylenemez.

4.1.3.2.4. Ananas Suyu Fenolik Madde Miktarı Değişimi

Çizelge 4.6’da verilen fenolik madde miktarı değerleri Design Expert programıyla analiz edildiğinde fenolik madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI olduğu tespit edilmiştir.

Flavonoid madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.8'i önermiştir.

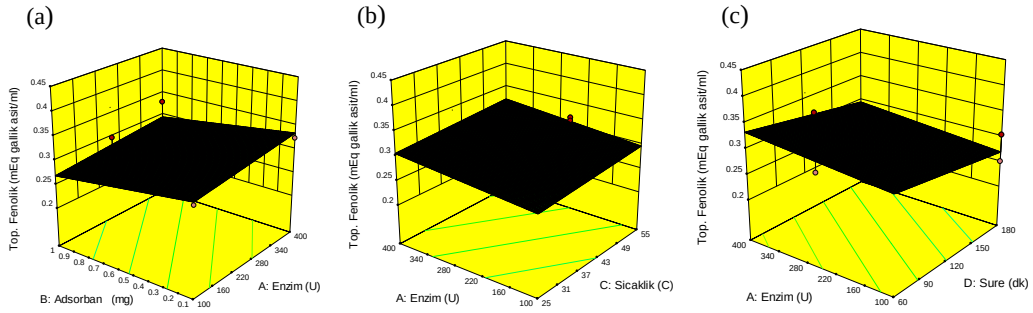
$$\text{Top. Fenolik madde} = +0.32066 + 8.55610E - 005 \times VE - 0.044227 \times MA + 5.48117E - 004 \times T - 3.14094E - 004 \times t \quad (4.8)$$

Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.10'da verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde fenolik madde miktarı üzerine en büyük etkiye adsorbanın olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. Ananas suyu fenolik madde değerlerinin ANOVA analizi (Lineer Model)

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kareler	F Değeri	p-değeri Prob > F	
Model	0.0132	4	0.0033	3.4608	0.0289	Anlamlı
A-Enzim	0.0018	1	0.0018	1.9528	0.1792	
B-Adsorban	0.0049	1	0.0049	5.1546	0.0357	
C-Sıcaklık	0.0009	1	0.0009	0.9616	0.3397	
D-Süre	0.0048	1	0.0048	5.0605	0.0372	
Kalıntı	0.0172	18	0.0009			
Model Uyumsuzluğu	0.0097	14	0.0006	0.3666	0.9279	Anlamsız
Saf Hata	0.0075	4	0.0018			
Toplam	0.0305	22				

Şekil 4.14'de çalışma parametrelerinin ananas suyu fenolik madde miktarı üzerine etkisi görülmektedir. Enzim miktarı arttıkça fenolik madde miktarı artmıştır (Şekil 4.14-a). Adsorban miktarı ve süre arttıkça fenolik madde miktarı azalmaktadır (Şekil 4.14-b). Sıcaklığın fenolik madde miktarı üzerine belirgin bir etkisi olmamıştır. Düşük reaksiyon süresi için, enzim miktarı arttıkça toplam fenolik madde miktarının arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.14-c).



Şekil 4.14. Ananas suyu fenolik madde miktarı yüzey grafikleri

4.1.3.2.5. Ananas Suyu Protein Miktarı Değişimi

Çizelge 4.6’ da verilen protein miktarı değerleri Design Expert programıyla analiz edildiğinde fenolik madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin kuadratik model olduğu tespit edilmiştir. Protein miktarının çalışılan parametrelerce tahminlenmesini sağlayan denklem Eşitlik 4.9’da verilmiştir.

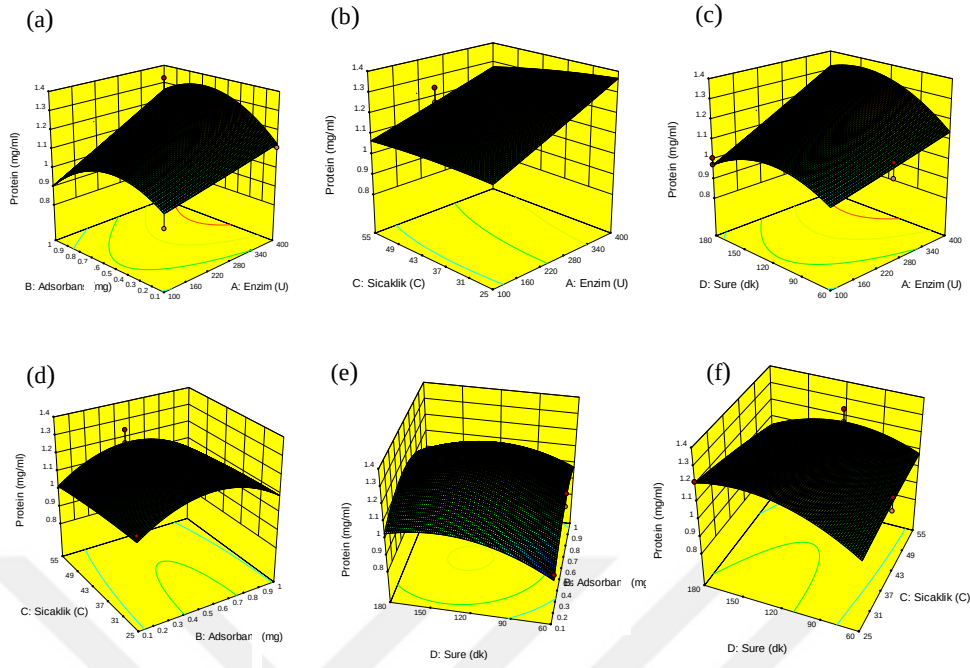
$$\begin{aligned} \text{Protein} = & +0.13266 + 3.38042E - 005xVE + 0.68746xMA + 0.010916xT + \\ & 9.06191E - 003xt + 8.12793E - 004xVExMA - 9.30468E - 006xVExT + \\ & 5.58724E - 006xVExt + 6.10995E - 004xMAxT - 1.31831E - 003xMAxt - \\ & 5.92201E - 005xTxt + 9.38187E - 008xVE^2 - 0.66469xMA^2 - 4.39494E - \\ & 005xT^2 - 2.78942E - 005t^2 \end{aligned} \quad (4.9)$$

Flavonoid madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.10’u önermiştir. Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Ananas suyunda protein derişimi ANOVA sonuçları (Kuatratik Model)

	Toplam		Ortalama	F	p-değeri	
Kaynak	Kareler	df	Kareler	değeri	Prob > F	
Model	0.28	14	0.020	5.17	0.0126	anlamalı
A-Enzim	0.10	1	0.10	27.40	0.0008	
B-Adsorban	1.208E-003	1	1.208E-003	0.32	0.5885	
C-Sıcaklık	6.310E-003	1	6.310E-003	1.66	0.2337	
D-Süre	0.018	1	0.018	4.66	0.0630	
AB	0.016	1	0.016	4.22	0.0740	
AC	2.156E-003	1	2.156E-003	0.57	0.4731	
AD	9.987E-003	1	9.987E-003	2.63	0.1438	
BC	9.615E-005	1	9.615E-005	0.025	0.8776	
BD	5.148E-003	1	5.148E-003	1.35	0.2782	
CD	0.017	1	0.017	4.36	0.0703	
A ²	1.864E-005	1	1.864E-005	4.900E-003	0.9459	
B ²	0.065	1	0.065	17.01	0.0033	
C ²	4.203E-004	1	4.203E-004	0.11	0.7481	
D ²	0.049	1	0.049	12.83	0.0072	
Kalıntı	0.030	8	3.803E-003			
Model Uyumsuzluğu	0.016	4	3.955E-003	1.08	0.4701	anlamsız
Saf Hata	0.015	4	3.651E-003			
Toplam	0.31	22				

Model için bulunan p değeri (<0.05) anlamalı, model uyumsuzluğu için bulunan p değeri (>0.05) anlamsız bulunmuş, bu haliyle kullanım açısından uygun olduğu görölmüşür. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde protein miktarı üzerine en büyük etkiyi enzim miktarının gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.15. Ananas suyu protein miktarı yüzey grafikleri

Şekil 4.15’de çalışma parametrelerinin ananas suyu protein derişimi üzerine etkisi görölmektedir. Şekil 4.15-a’da göröldüğü gibi, enzim miktarı arttıkça protein derişimi artmıştır. Şekil 4.15-b’de ise düşük enzim miktarında sıcaklığın protein derişimi üzerine etkisinin olmadığı; yüksek enzim miktarında ise sıcaklık arttıkça ananas suyu protein derişimi azaldığı görölmektedir. Süre ve enzim miktarı birlikte arttığında ananas suyu protein derişimi artmıştır (Şekil 4.15-c). Adsorban miktarı ve süre arttıkça protein madde miktarı azalmaktadır (Şekil 4.15-e). Sıcaklığın protein miktarı üzerine belirgin bir etkisi olmamıştır (Şekil 4.15-d,f).

4.1.3.3. Kivi Suyu

Çizelge 3.3’de verilen çalışma setleri şartlarına göre işlenen kivi suyuna ait bulanıklık değerleri ile flavonoid madde, toplam fenolik madde, indirgen şeker ve protein derişimleri ayrı ayrı belirlenmiş ve programa girilmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Kivi suyu için oluşturulan çalışma setleri ve her set için elde edilen sonuçlar

Set No	Enzim (mL)	Adsorban (mg)	Sıcaklık (C)	Süre (dk)	Bulanıklık (NTU)	Flavonoid	T.Fenolik	İndirgen	Protein
						Miktarı (mg /ml)	madde (mg /ml)	Şeker (mM)	Miktarı (mg/ml)
1	400	0.10	40	120	19.36	1.28	0.43	5.87	1.30
2	250	1.00	40	120	25.71	1.15	0.33	7.38	1.32
3	100	0.10	40	120	41.07	1.09	0.32	5.32	1.10
4	100	1.00	25	120	35.36	1.07	0.31	8.21	1.12
5	100	1.00	55	60	36.64	1.27	0.29	7.11	1.45
6	250	0.55	55	120	25.71	1.38	0.31	5.96	1.37
7	100	0.55	25	60	32.86	0.74	0.33	6.25	1.22
8	100	0.55	40	180	33.21	1.13	0.32	7.03	1.24
9	100	0.55	40	180	33.21	1.18	0.33	7.11	1.18
10	250	0.10	55	180	17.50	1.00	0.29	5.58	1.27
11	400	1.00	55	60	26.79	1.17	0.42	7.52	1.34
12	250	0.10	40	60	25.00	1.52	0.32	5.08	1.25
13	250	0.55	40	60	35.00	1.46	0.20	6.13	1.45
14	250	0.55	55	120	32.64	1.49	0.30	6.30	1.39
15	250	0.10	25	120	27.86	1.59	0.33	5.35	1.34
16	400	1.00	55	180	21.50	1.29	0.43	6.88	1.50
17	400	1.00	40	120	18.93	1.27	0.42	7.30	1.46
18	250	0.55	55	120	22.00	1.15	0.33	5.57	1.38
19	250	0.55	40	60	37.14	1.15	0.29	6.67	1.38
20	400	0.55	25	60	26.79	1.78	0.42	7.49	1.25
21	250	0.55	25	180	31.07	1.30	0.34	7.13	1.38
22	250	1.00	25	180	35.71	1.38	0.31	7.38	1.23
23	100	0.10	55	60	57.50	1.36	0.33	5.24	1.21

4.1.3.3.1. Kivi Suyu Bulanıklık Değerlerinin Değişimi

Çizelge 4.12’de verilen bulanıklık değerleri Design Expert programıyla analiz edildiğinde bulanıklık değerlerinin çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI model olduğu tespit edilmiştir.

Bulanıklık değerini tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.10’u önermiştir. Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.13’de verilmiştir.

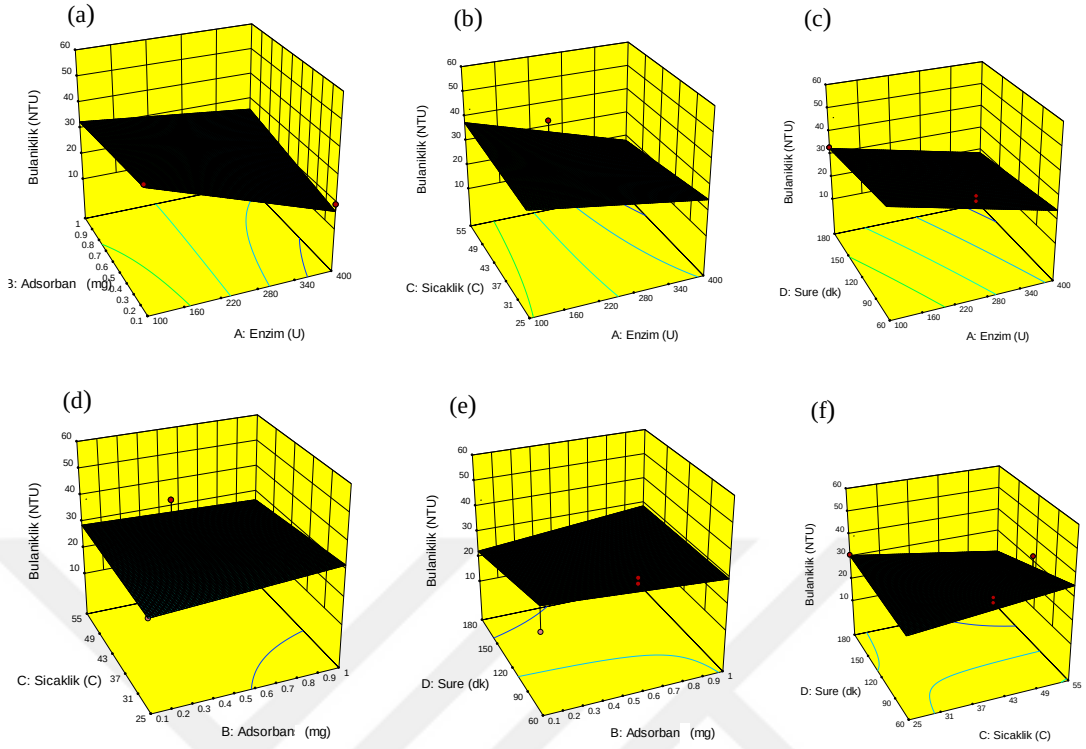
$$\text{Bulanıklık} = +29.39570 - 0.048704 \times VE + 17.40710 \times MA + 0.86525 \times T + 0.061510 \times t + 0.060998 \times VE \times MA - 1.02014 \times E - 003 \times VE \times T \quad (4.10)$$

YYY ile yapılan çalışmalarda ideal bir model için $p < 0.05$ ve model uyumsuzluğu p değerinin 0.05'den büyük olması gerekir. Çizelge 4.13'de görüldüğü gibi model bu kriterlere göre uygundur. Kivi suyu bulanıklık değerini en çok etkileyen parametrenin enzim miktarı olduğu Çizelge 4.13'de görülmektedir.

Çizelge 4.13. Kivi suyu bulanıklık değerleri ANOVA sonuçları (2FI Model)

	Toplam		Ortalama		F	p-değeri	
Kaynak	Kareler	df	Kareler	Değeri	Prob > F		
Model	1391.94	10	139.19	5.26	0.0043		anlamlı
A-Enzim	503.22	1	503.22	19.02	0.0009		
B-Adsorban	2.31	1	2.31	0.087	0.7726		
C-Sıcaklık	9.67	1	9.67	0.37	0.5567		
D-Süre	122.05	1	122.05	4.61	0.0528		
AB	96.98	1	96.98	3.67	0.0797		
AC	26.76	1	26.76	1.01	0.3344		
AD	0.97	1	0.97	0.037	0.8512		
BC	14.21	1	14.21	0.54	0.4776		
BD	34.05	1	34.05	1.29	0.2787		
CD	122.03	1	122.03	4.61	0.0529		
Kalıntı	317.49	12	26.46				
Model Uyumsuzluğu	256.83	8	32.10	2.12	0.2445		anlamsız
Saf Hata	60.65	4	15.16				
Toplam	1709.43	22					

Kivi suyunun bulanıklık değerlerinin çalışma parametrelerine bağlı olarak değişimini gösteren yüzey grafikleri Şekil 4.17'de verilmiştir. Reaksiyon süresi 180 dk iken enzim miktarı ve sıcaklık arttıkça bulanıklığın azaldığı görülmektedir. Buna karşılık adsorban miktarı arttıkça bulanıklık artmıştır.



Şekil 4.16. Kivi suyu bulanıklık değerlerinin yüzey grafikleri

Şekil 4.16-a’da görüldüğü gibi, adsorban derişimi arttıkça bulanıklık artmış; buna karşın enzim derişimi arttıkça bulanıklık belirgin olarak azalmıştır. Yüksek enzim derişiminde, süre arttıkça bulanıklık azalmıştır (Şekil 4.16-b). Sürenin ve sıcaklığın bulanıklık üzerinde bir etkisi olmadığı görülmektedir.

4.1.3.3.2. Kivi Suyu İndirgen Şeker Derişiminin Değişimi

Çizelge 4.12’de verilen indirgen şeker miktarı değerleri Design Expert programında analiz edildiğinde indirgen şeker miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin lineer model olduğu belirlenmiştir.

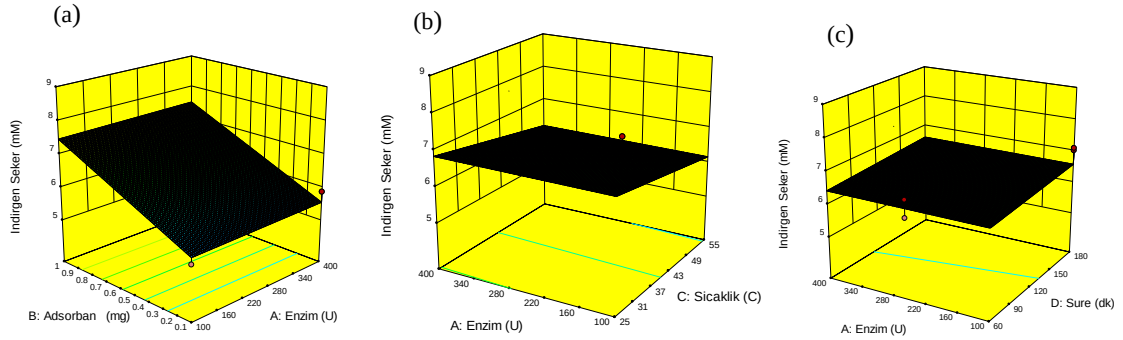
İndirgen şeker miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.11’i önermiştir. Program tarafından lineer model için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.14’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde indirgen şeker madde miktarı üzerine en büyük etkiye adsorban miktarının olduğu belirlenmiştir.

$$\text{İndirgen Şeker} = +5.97773 + 1.05765E - 004 \times \mathbf{VE} + 2.16981 \times \mathbf{MA} - 0.021912 \times \mathbf{T} + 1.58577E - 003 \times \mathbf{t} \quad (4.11)$$

Çizelge 4.14. Kivi suyu indirgen şeker derişimi ANOVA sonuçları (Lineer model)

	Toplam		Ortalama	F	p-değeri	
Kaynak	Kareler	df	Kareler	Değeri	Prob > F	
Model	14.34	4	3.58	19.20	< 0.0001	anlamlı
A-Enzim	2.865E-003	1	2.865E-003	0.015	0.9028	
B-Adsorban	11.91	1	11.91	63.82	< 0.0001	
C-Sıcaklık	1.48	1	1.48	7.91	0.0115	
D-Süre	0.12	1	0.12	0.66	0.4260	
Kalıntı	3.36	18	0.19			
Model uyumsuzluğu	2.94	14	0.21	2.01	0.2617	anlamsız
Saf Hata	0.42	4	0.10			
Toplam	17.70	22				

Kivi suyu için indirgen şeker derişimine ait yüzey grafikleri Şekil 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.17. Kivi suyu indirgen şeker miktarı yüzey grafikleri

Şekil 4.17-a’da adsorban miktarı ve enzim derişimin kivi suyu indirgen şeker derişimine etkisi görölmektedir. Adsorban miktarı arttıkça indirgen şeker miktarı artmış; enzim derişiminin etkisi gözlenmemiştir. Sıcaklık, çalışma süresi ve enzim derişiminin indirgen şeker derişimine belirgin bir katkı yaptığı görölmemektedir (Şekil 4.17-b,c).

4.1.3.3.3. Kivi Suyu Flavonoid Madde Miktarı Değişimi

Çizelge 4.12’de verilen flavonoid madde miktarı değerleri Design Expert programında analiz edildiğinde flavonoid madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI olduğu belirlenmiştir.

Flavonoid madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.12’yi önermiştir.

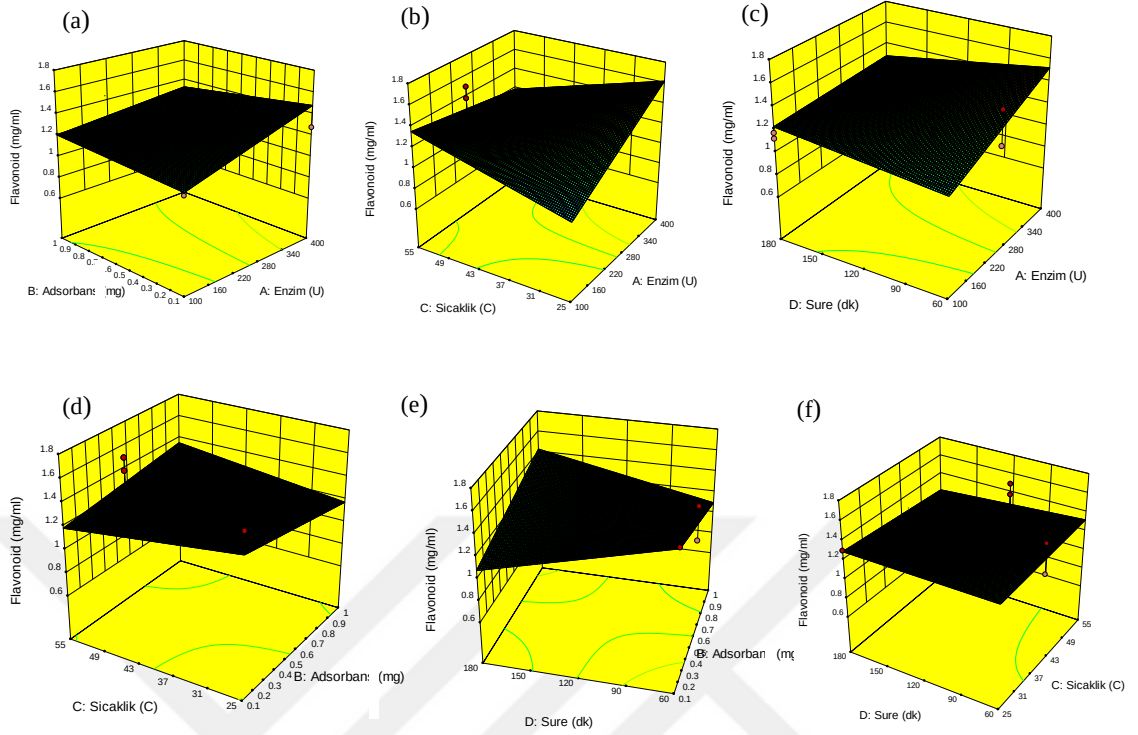
$$\begin{aligned} \text{Flavonoid} = & +0.45034 + 6.23932E - 003 \times VE - 1.22774 \times MA + \\ & 0.017935 \times T - 4.23089E - 004 \times t - 8.98858E - 004 \times VE \times MA - 9.15273E - \\ & 005 \times VE \times T - 1.05577E - 005 \times VE \times \text{Sure} + 0.014455 \times MA \times T + 7.01942E - \\ & 003 \times MA \times t - 2.98727E - 005 \times T \times t \end{aligned} \quad (4.12)$$

Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.15’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde flavonoid madde miktarı üzerine en büyük etkiye enzim miktarının sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sıcaklık ve enzim miktarının birlikte değişimi flavonoid madde miktarını önemli bir şekilde değiştirmektedir. Ancak sıcaklığın tek başına değişimi flavonoid madde miktarı üzerinde en az etkiye sahiptir. Model p değeri (<0.05) ve model uyumsuzluğu p değeri (>0.05) açısından önerilen modelin çalışılan parametrelerce ideal bir şekilde tahminlemede kullanılabileceği görülmektedir.

Çizelge 4.15. Flavonoid madde değerlerinin ANOVA analizi (2FI Model)

	Kareler		Ortalama		F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Kareler	Değeri	Prob > F		
Model	0.77	10	0.077	3.30	0.0269		anlamlı
A-Enzim	0.13	1	0.13	5.64	0.0351		
B-Adsorban	2.044E-003	1	2.044E-003	0.087	0.7725		
C-Sıcaklık	7.469E-004	1	7.469E-004	0.032	0.8611		
D-Süre	6.575E-003	1	6.575E-003	0.28	0.6056		
AB	0.021	1	0.021	0.90	0.3613		
AC	0.22	1	0.22	9.21	0.0104		
AD	0.052	1	0.052	2.21	0.1632		
BC	0.057	1	0.057	2.44	0.1440		
BD	0.16	1	0.16	6.77	0.0231		
CD	5.167E-003	1	5.167E-003	0.22	0.6467		
Kalıntı	0.28	12	0.023				
Model Uyumsuzluğu	0.17	8	0.021	0.76	0.6594		anlamsız
Saf Hata	0.11	4	0.028				
Toplam	1.05	22					

Şekil 4.18’de çalışma parametrelerinin flavonoid miktarı üzerine etkisi görülmektedir. Enzim miktarı arttıkça flavonoid madde miktarı artmaktadır (Şekil 4.18-a,b,c). Adsorban ve sıcaklığın birlikte değiştiği ve süre ve sıcaklığın birlikte değiştiği durumlarda flavonoid madde miktarında belirgin bir değişim görülmemektedir (Şekil 4.18-d,f). Şekil 4.18-e’de görüldüğü gibi reaksiyon süresi ve adsorban miktarı arttıkça kivi suyunun flavonoid miktarı artmıştır.



Şekil 4.18. Kivi suyu flavonoid madde miktarı yüzey grafikleri

4.1.3.3.4. Kivi Suyu Fenolik Madde Miktarının Değişimi

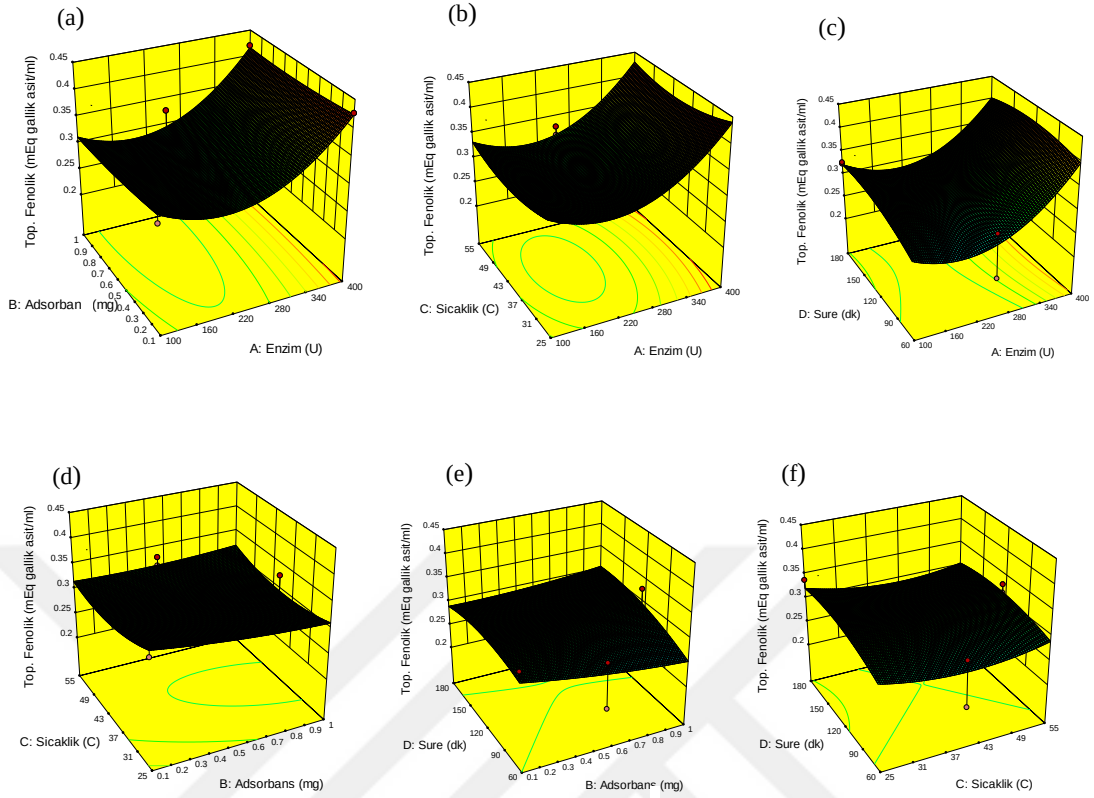
Çizelge 4.12’de verilen fenolik madde miktarı değerleri Design Expert programında analiz edildiğinde fenolik madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin kuadratik model olduğu belirlenmiştir.

Fenolik madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.13’ü önermiştir. Program tarafından kuadratik model için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.16’da verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde fenolik madde miktarı üzerine en büyük etkiye enzim miktarının olduğu belirlenmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Top. Fenolik} = & +0.52306 - 1.10797E - 003 \times VE - 0.18221 \times MA - 7.66384E - \\ & 003 \times T + 1.27813E - 003 \times t + 5.17423E - 005 \times VE \times MA - 1.02436E - \\ & 007 \times VE \times T - 9.42221E - 007 \times VE \times t + 1.40942E - 003 \times MA \times T + 5.76436E - \\ & 004 \times MA \times t - 3.32797E - 006 \times VE^2 + 0.025114 \times MA^2 + 8.73350E - 005 \times T^2 - \\ & 4.34415E - 006 \times t^2 \end{aligned} \quad (4.13)$$

Çizelge 4.16. Kivi suyu fenolik madde miktarı ANOVA sonuçları (Kuadratik Model)

	Toplam		Ortalama		F	p-değeri	
Kaynak	Kareler	df	Kareler	Değeri	Prob > F		
Model	0.056	14	4.030E-003	3.52	0.0395		anlamlı
A-Enzim	0.016	1	0.016	14.06	0.0056		
B-Adsorban	4.723E-004	1	4.723E-004	0.41	0.5384		
C-Sıcaklık	2.341E-004	1	2.341E-004	0.20	0.6629		
D-Süre	1.333E-003	1	1.333E-003	1.17	0.3117		
AB	6.507E-005	1	6.507E-005	0.057	0.8174		
AC	2.613E-007	1	2.613E-007	2.285E-004	0.9883		
AD	2.840E-004	1	2.840E-004	0.25	0.6316		
BC	5.116E-004	1	5.116E-004	0.45	0.5224		
BD	9.843E-004	1	9.843E-004	0.86	0.3806		
CD	5.233E-005	1	5.233E-005	0.046	0.8359		
A ²	0.020	1	0.020	17.14	0.0033		
B ²	9.236E-005	1	9.236E-005	0.081	0.7835		
C ²	1.660E-003	1	1.660E-003	1.45	0.2627		
D ²	1.183E-003	1	1.183E-003	1.03	0.3388		
Kalıntı	9.146E-003	8	1.143E-003				
Model Uyumsuzluğu	4.328E-003	4	1.082E-003	0.90	0.5402		anlamsız
Saf Hata	4.818E-003	4	1.205E-003				
Toplam	0.066	22					



Şekil 4.19. Kivi suyu fenolik madde miktarı yüzey grafikleri

Şekil 4.19’da çalışma parametrelerinin ananas suyu fenolik madde miktarı üzerine etkisi görülmektedir. Enzim miktarı arttıkça fenolik madde miktarı artmıştır. Adsorban miktarı, süre ve sıcaklığın fenolik madde miktarı üzerine belirgin bir etkisi olmamıştır.

4.1.3.3.5. Kivi Suyu Protein Miktarı Değişimi

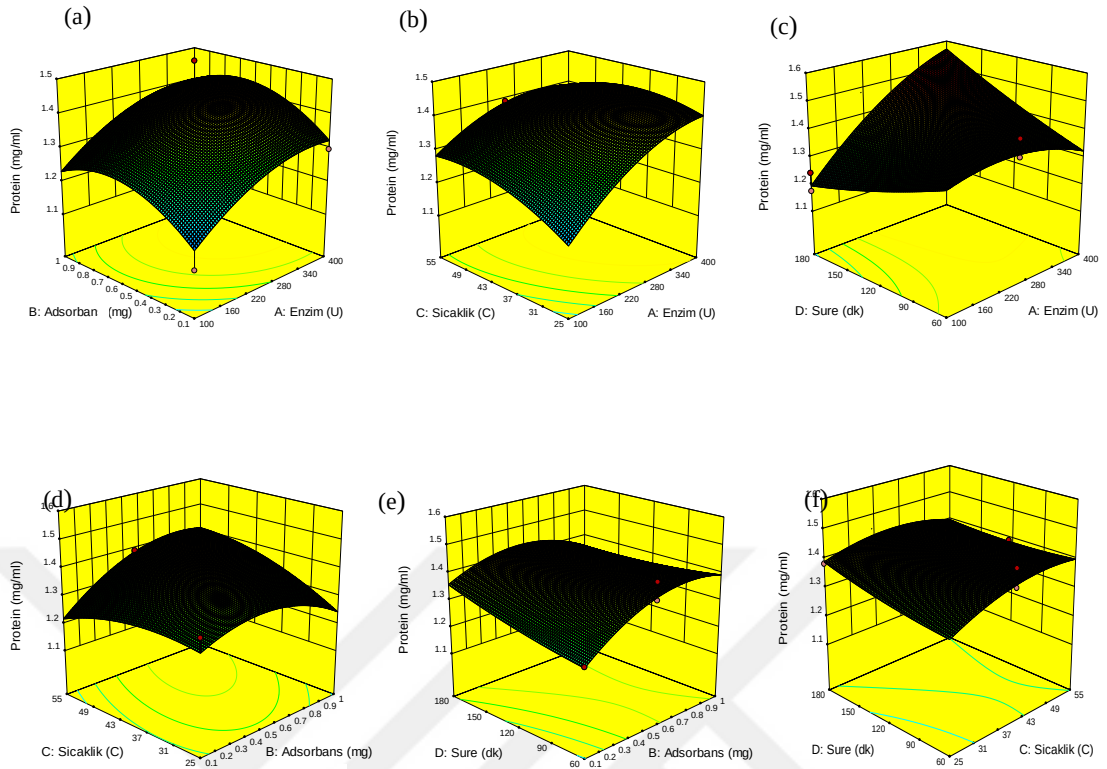
Çizelge 4.12’de verilen protein miktarı değerleri Design Expert programıyla analiz edildiğinde fenolik madde miktarının çalışma parametrelerince ifade edilmesinde en uygun modelin 2FI olduğu tespit edilmiştir.

Flavonoid madde miktarını tahmin etmek için Design Expert programı gerçek değişkenlere bağlı olarak eşitlik 4.14’ü önermiştir. Program tarafından 2FI modeli için yapılan ANOVA değerlendirmesi çizelge 4.17’de verilmiştir. Önerilen matematiksel modeldeki terimlerin cevap üzerine etkisinin en küçük kareler yöntemi kullanılarak araştırılan ANOVA testi sonuçları değerlendirildiğinde protein miktarı üzerine en büyük etkiye enzim olduğu belirlenmiştir.

$$\begin{aligned}
\text{Protein} = & +0.83988 + 8.42251E - 004xVE + 0.28914xMA + 0.016635xT - \\
& 1.68479E - 003xt + 1.58766E - 005xVExMA - 1.34575E - 005xVExT + \\
& 1.14484E - 005xVExt + 8.74116E - 003xMAxT - 1.33853E - 003xMAxt - \\
& 2.22337E - 005xTxt - 2.25376E - 006xVE^2 - 0.36244xMA^2 - 1.72188E - \\
& 004xT + 3.24395E - 006xt^2
\end{aligned} \tag{4.14}$$

Çizelge 4.17. Kivi suyu indirgen şeker derişimi ANOVA sonuçları (Kuadratik model)

Kaynak	Kareler		Ortalama		F	p-değeri
	Toplamı	df	Kareler	Değeri	Prob > F	
Model	0.24	14	0.017	6.14	0.0072	anlamalı
<i>A-Enzim</i>	0.048	1	0.048	17.22	0.0032	
B-Adsorban	0.013	1	0.013	4.57	0.0651	
C-Sıcaklık	5.860E-003	1	5.860E-003	2.11	0.1845	
D-Süre	4.300E-003	1	4.300E-003	1.55	0.2487	
AB	6.126E-006	1	6.126E-006	2.205E-003	0.9637	
AC	4.510E-003	1	4.510E-003	1.62	0.2384	
AD	0.042	1	0.042	15.09	0.0046	
BC	0.020	1	0.020	7.08	0.0287	
BD	5.307E-003	1	5.307E-003	1.91	0.2043	
CD	2.336E-003	1	2.336E-003	0.84	0.3860	
A ²	0.011	1	0.011	3.87	0.0847	
B ²	0.019	1	0.019	6.92	0.0301	
C ²	6.451E-003	1	6.451E-003	2.32	0.1661	
D ²	6.597E-004	1	6.597E-004	0.24	0.6391	
Kalıntı	0.022	8	2.778E-003			
<i>Model Uyumsuzluğu</i>	0.018	4	4.439E-003	3.97	0.1052	anlamsız
<i>Saf Hata</i>	4.472E-003	4	1.118E-003			
Toplam	0.26	22				



Şekil 4.20. Kivi suyu protein madde miktarı yüzey grafikleri

Şekil 4.20’de çalışma parametrelerinin ananas suyu protein miktarı üzerine etkisi görülmektedir. Enzim miktarı ve süre arttıkça protein miktarı artmış (c), adsorban miktarı ve süre arttıkça protein madde miktarı azalmaktadır. Sıcaklığın protein miktarı üzerine belirgin bir etkisi olmamıştır.

4.2. Tartışma

Bu çalışmada kiraz, ananas ve kivi sularının berraklaştırılmasında enzim ve sonrasında adsorban kullanımı ve bunun meyve sularının indirgen şeker, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve protein derişimleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Meyve sularında bulanıklığa neden olan selüloz, pektin, nişasta ve protein makromoleküllerinin parçalanmasında kullanılan enzimlerin etkinliği çalışma sıcaklığı ve çalışma süresinden de etkilenmektedir. Dolayısı ile çalışmada 4 bağımsız değişken olarak enzim ve adsorban miktarı, süre sıcaklık parametrelerinin meyve sularının bulanıklık, indirgen şeker, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve protein derişimleri üzerine etkileri YYY ile optimal tasarım ile araştırılmıştır.

Alginat, bentonit, kitosan, kazein, jelatin, sepiolit vb adsorbanların meyve sularının berraklaştırılmasında kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Mirzaaghaei ve ark. 2016, Domingues ve ark. 2012, Erkan-Koç ve ark. 2015, Diao ve ark. 2021). Çalışmanın başlangıcında meyve sularının berraklaştırılması için florosil, alginat, silika jel ve kitosan olmak üzere 4 farklı adsorban denendiğinde, tüm meyve sularında sadece kitosanın bulanıklık değerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Pozitif yüklü, biyobozunur ve non-toksik doğal bir biyopolimer olan kitosan deniz kabuklularında bulunan kitinin deasetilasyonu ile elde edilir (Domingues ve ark. 2012). Meyve sularının berraklaştırılmasında kitosanın kullanımı ile ilgili çalışmalar çok sayıda çalışma rapor edilmiştir (Domingues ve ark 2012, Yavaşer ve Karagözler 2020, Diao ve ark. 2021).

YYY çalışmalarının kiraz, ananas ve kivi sularına uygulanması sonucu elde edilen sonuçlar çizelge 4.18’de görülmektedir. Çizelgede bağımsız değişkenler olan enzim miktarı, adsorban miktarı, sıcaklık ve süre arttıkça bağımlı değişkenlerin değişim yönü verilmiştir (Krajewska 2004).

Meyve suyunda bulanıklığa genel olarak makromoleküller neden olduğundan, bu moleküllerin enzimatik parçalanması bulanıklıkta düşüşe neden olur. Çizelge 4.18 de de görüldüğü gibi meyve suyu ile etkileşen enzim derişimi arttıkça bulanıklık azalmıştır. Literatürde de benzer sonuçların elde edildiği çalışmalar rapor edilmiştir. Maktouf ve ark. limon suyunu pektinazla etkileştirdiklerinde bulanıklıkta % 47’lik bir azalma gözlemlemişlerdir. Yavaşer ve Karagözler (2020) elma suyunun berraklaştırmasında kitosana immobilize edilmiş papain enzimini kullanmışlar ve berraklaşmada % 31.4 oranında artış elde etmişlerdir. Ozyılmaz ve Gunay (2023), amilaz, pektinaz ve selüloz enzimlerinin ko-immobilize formlarını elma, üzüm ve armut suyunun berraklaştırılmasında kullanmış ve başlangıçtaki değerlerine göre bulanıklıkları sırasıyla % 33.33; % 42.22 ve % 27.08 oranına düştüğünü rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.18. Yüzey grafiklerinde bağımlı değişkenlerin bağımsız değişkenlere bağlı olarak değişim eğilimi

		Bulanıklık	İnd.Şeker	Flavonoid	Fenolik	Protein
KİRAZ	Enzim	↓	↑↑	↓	↓	↑
	Kitosan	↑	↑	–	↓	↓
	Sıcaklık	–	–	↓	↓	↑
	Süre	–	↓	↓	↓	↑
ANANAS	Enzim	↓	–	↑	↑	↑
	Kitosan	↘↗	↑	–	↓	↗↘
	Sıcaklık	–	–	–	↑	↓
	Süre	↓	–	–	↓	↗↘
KİVİ	Enzim	↓	–	↑↑	↘↗	↑
	Kitosan	↑	↑↑	↑	–	↗↘
	Sıcaklık	↓	↓	↑	–	↑
	Süre	–	–	↑	–	↑

Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi adsorban olarak kullanılan kitosan derişimi arttıkça kiraz ve kivi suyunda bulanıklık değerleri artmıştır. Ananasta ise kitosan derişimindeki artışa bağlı olarak bulanıklık önce düşmüş, daha yüksek derişimlerde ise bulanıklık değeri artmıştır. Bu durum kullanılan adsorban derişiminin nispeten yüksek olması ile açıklanabilir. Örneğin Domingues ve ark. (2012) çarkıfelek meyvesinin berraklaştırılmasında kitosan kullanmışlar ve kitosan miktarı 300 ppm’den 1000 ppm’e arttırıldığında bulanıklığın derişime bağlı olarak azaldığını belirlemişlerdir. Erkan-Koç ve ark. (2017) nar suyunun bulanıklığı 32 NTU iken kitosan ile etkileştirerek bulanıklığın 10.3 NTU’a düştüğünü rapor etmişlerdir.

Elde edilen bulgular, indirgen şeker derişimin enzim derişimine bağlı olarak kiraz suyunda önemli bir artışa neden olduğunu; ancak ananas ve kivi suyunda önemli bir derişim meydana getirmediği belirlenmiştir. Kiraz suyunun flavonoid madde miktarının tüm bağımsız derişkenlerdeki artışa bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Literatürde flavonoid madde derişiminin meyve suyunda enzimatik işleme bağlı olarak arttığının rapor edildiği çalışmalar mevcuttur (Amobonye ve ark. 2022, Rashima ve ark. 2022).

Yapılan çalışmada kiraz suyunda çalışılan tüm parametrelerdeki artışa bağlı olarak fenolik madde bileşiminin azaldığı görülmektedir. Benzer sonuçlar literatürde de mevcuttur (Erkan-Koç ve ark. 2015, Amobonye ve ark. 2022, Rashima ve ark. 2022).



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada kiraz, ananas ve kivi suyunun bulanıklık, flavonoid, fenolik madde, indirgen şeker ve protein derişimleri üzerine meyve suyu ile etkileştirilen enzim miktarı, adsorban miktarı, sıcaklık ve sürenin etkisi YYY ile araştırılmıştır. YYY ile bağımsız değişkenlerin eş zamanlı değişimlerinin cevap üzerindeki etkileri gerek istatistik ve gerekse grafiksel olarak ayrıntılı olarak ortaya konmuştur. Enzimatik işlem meyve suyunun berraklaştırılmasına olumlu katkı yaparken adsorban miktarının gerekenden fazla seçildiği ortaya çıkmıştır. Kitosan her üç meyve suyunda da bulanıklığın azalmasına katkıda bulunmuştur. Meyve sularının antioksidant özelliklerine büyük bir katkıda bulunan flavonoid ve fenolik bileşenlerin, enzim ve kitosanla yapılan işlem sonrasında kiraz suyunda azaldığı görülmüştür. Protein derişimleri genel olarak artmıştır.

Yapılan çalışmanın geliştirilmesi için yapılabilecekler:

- Enzimlerin ko-immobilize formları hazırlanarak enzimlerin ekonomik kullanımları araştırılabilir.
- Kitosan miktarları düşürülerek bulanıklığın giderilmesine katkısı arttırılabilir
- Enzimlerin farklı reaktör türlerinde meyve sularının berraklaştırma çalışmaları gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, A., Sohail, M., 2020. Characterization of pectinase from *Geotrichum candidum* AA15 and its potential application in orange juice clarification. **Journal of King Saud University – Science**, 32(1), 955-961.
- Amin, F., Bhatti, H.N., Bilal, M., Asgher, M., 2017. Improvement of activity, thermostability and fruit juice clarification characteristics of fungal exopolygalacturonase. **International Journal of Biological Macromolecules**, 95(1), 974-984.
- Amobonye, A., Bhagwat, P., Ruzengwe, F.M., Singh, S., Pillai, S., 2022. Pear Juice Clarification Using Polygalacturonase from *Beauveria bassiana*: Effects on Rheological, Antioxidant and Quality Properties. **Polish Journal of Food and Nutrition Science**, 1, 57-67.
- Arpaç, Ş., 2006. Elma suyu üretiminde uygulanan işlemlerin galakturonik asit içeriğine etkisi, **Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek lisans tezi, 73 s.
- Beveridge ve Tait, 1993. Structure and Composition of Apple Juice Haze. **Food Structure**, 12(1993), 195-198.
- Cemeroğlu, B. ve Karadeniz, F., 2001. Meyve Suyu Üretim Teknolojisi, **Gıda Teknolojisi Dergisi** Yayın No: 25, 384 s, Ankara.
- Coşkun, A., 2007. Yapay zeka optimizasyon teknikleri : literatür değerlendirmesi, **Gazi Üniversitesi Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fakültesi Bilgisayar Eğitimi Bölümü**, Ankara.
- Dal Magro, L., Silveria, V.C., Menezes E.W., Benvenuti, E.V., Nicolodi, S., Hertz, P.f., Klein, M.P., Rodrigues, R.C., 2018. Magnetic biocatalysts of pectinase and cellulase: Synthesis and characterization of two preparations for application in grape juice clarification. **International Journal of Biological Macromolecules**, 115(1), 35-44.
- Deuel, C.L., Plotto, A. 2004. Strawberries and raspberries. **Processing Fruits: Science and Technology**, 531-561.
- Diao, Y., Yu, X., Zhang, C., Jing, Y., 2021. Optimisation of the clarification of kiwifruit juice with tannic acid-modified chitosan. **Czech Journal of Food Sciences**, 3, 189-196.
- Domingues, R.C.C., Junior, S.B.F., Silva, R.B., Cardoso, V.L., Reis, M.H.M., 2012. Clarification of passion fruit juice with chitosan: Effects of coagulation process variables and comparison with centrifugation and enzymatic treatments. **Process Biochemistry**, 47, 467-471.
- Ekşi, A., 1988, Meyve suyu durultma tekniği, **Gıda teknolojisi derneği yayınları**, 127 s.
- Erkan-Koç, B., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., Özkan M., 2015. Effects of various protein- and polysaccharide-based clarification agents on antioxidative compounds and colour of pomegranate juice. **Food Chemistry**, 184, 37-45.
- Guo, Y., Tu, T., Yuan P., Wang, Y., Ren, Y., Yao, B., Luo, H., 2019. High-level expression and characterization of a novel aspartic protease from *Talaromyces leycettanus* JCM12802 and its potential application in juice clarification. **Food Chemistry**, 281(1), 197-203.

- Gülcü, M., 2008. Durultma yardımcı maddelerinin üzüm suyu kalitesi üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, **Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.**
- Hassan, S.S., Williams, G.A., Jaiswal, A.K., 2020. Computational modelling approach for the optimization of apple juice clarification using immobilized pectinase and xylanase enzymes. **Current Research in Food Science**, 3(1), 243-255.
- Jori, D.B., Pawar, A.V., Kudake, D.C., Kotgirkar, P.G., 2015. Multienzymatic Clarification of Blended Pineapple and Mango Pulp Using Response Surface Methodology. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research(IJBR)**, 6(1), 49-56.
- Kamtekar, S., Keer, V., Patil, V. (2014). Estimation of Phenolic content, Flavonoid content, Antioxidant and Alpha amylase Inhibitory Activity of Marketed Polyherbal Formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4 (09), 061-065.
- Karagüler, N.G.,2019. Recombinant production and characterization of serine protease enzyme from *Virgibacillus* sp. AGTR strain, Yüksek Lisans Tezi, **İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.**
- Krajewska, B., 2004. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. **Science Direct**, 35, 126-139.
- Kubzdela, E.R., Szwengiel, A., Ratajkiewicz, H., Nowak, K.,2020. Effect of ultrasound, heating and enzymatic pre-treatment on bioactive compounds in juice from *Berberis amurensis* Rupr. **Ultrasonics – Sonochemistry**, 63(1), 104971.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Rondall, R.J, 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **J. Biol. Chem.** 193:261-275
- Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A., & Baharin, B. S. 2006. Optimizing conditions for enzymatic clarification of banana juice using response surface methodology (RSM). **Journal of Food Engineering**, 73(1), 55-63.
- Maktouf, S., Neifar, M., Drira, S.J., Baklouti, S., Fendri, M., Chaabouni, S.E., 2014. Lemon juice clarification using fungal pectinolytic enzymes coupled to membrane ultrafiltration. **Food and Bioproducts Processing**, 92, 14-19.
- Mert, A., 2012. Vişne suyu konsantresi ile şeftali ve kayısı püre konsantrelerinin üretim aşamalarında uygulanan işlemlerin bileşimleri üzerine etkilerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.**
- Meyer, A.S., Köser, C., Adler-Nissen, J., 2001. Efficiency of Enzymatic and Other Alternative Clarification and Fining Treatments on Turbidity and Haze in Cherry Juice. **Food Biotechnology and Engineering Group**, 49(1), 3644-3650.
- Miller, G.L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, 31 (3): 426-428
- Myers, R.H., Montgomery, D.C., 1995. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. **New York: John Wiley**. 213-220.
- Mirzaaghaei, M., Goli, S.A.H., Fathi, M., 2016. Application of sepiolite in clarification of pomegranate juice: changes on quality characteristics during process. **Food Science Technology**, 51, 1666-1673.
- Nagar, S., Mittal, A., Gupta, V.K., 2012. Enzymatic Clarification of Fruit Juices (Apple, Pineapple, and Tomato) Using Purified *Bacillus pumilus* SV-85S Xylanase. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, 17(1), 1165-1175.

- Orhan, B., 2014. Nar ve Çilek sularının sıcak durultma yöntemiyle durultulması, Yüksek Lisans Tezi, **Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara.
- Ozyilmaz, G., Günay, E., 2023. Clarification of apple, grape and juices by co-immobilized amylase, pectinase and cellulase. **Food Chemistry**, 398(1), 133900.
- Ozyilmaz, G., Tükel, S.S., Alptekin, O., 2005. Activity and storage stability of immobilized glucose oxidase onto magnesium silicate, **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 35: 154-160 (2005)
- Özlü, A., 2013. α -amilaz enziminin kitosan ile hazırlanan kompozit taşıyıcılar üzerine kovalent olarak immobilizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, **Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Manisa.
- Pinelo, M., Zeuner, B., Meyer, A.S., 2010. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity. **Food and Bioprocess Technology**, 88(1), 259-265.
- Prajapati, J., Dudhagara, P., Patel, K., 2021. Production of thermal and acid-stable pectinase from *Bacillus subtilis* strain BK-3: Optimization, characterization, and application for fruit juice clarification. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 35(1), 102063.
- Rashima, R.S., Ong, W.L., Nadiyah, Z.A., Maizura, M., 2022. Effects of acidified blanching water and pectinase enzyme pretreatments on physicochemical properties and antioxidant capacity of Carica papaya juice. **Food Science**, 87, 1984-1695.
- Sin, H.M., Yusof, S., Hamid, N.S.A., Rahman, R.A., 2006. Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, 73(1), 313-319.
- Siebert, K.J., 1996. Formation of Protein-Polyphenol haze in beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 44: 1997-2005.
- Siebert, K.J., 1999. Effects of Protein-Polyphenol interactions on beverage haze, stabilization and analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 47 (2): 353-362.
- Sojitra, U.V., Nadar, S.S., Rathod, V.K., 2016. A magnetic tri-enzyme nanobiocatalyst for fruit juice clarification. **Food Chemistry**, 213(1), 296-305.
- Taştan, Ö., 2014. Berrak meyve suyu üretiminde durultma ajanı olarak kitosan kullanımının meyve suyu ve konsantresinin kalite özelliklerine etkilerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, İzmir.
- Taştan, Ö., Baysal, T., 2017. Chitosan as a novel clarifying agent on clear apple juice production: Optimization of process conditions and changes on quality characteristics. **Food Chemistry**, 237(1), 818-824.
- Telefoncu, A., 1997. Enzimoloji. Yüksek Lisans Tezi. **Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Aydın.
- Üstükarıcı, H., 2014. Thermotoga maritima sel12a selülaz enziminin katalitik özelliklerinin protein mühendisliği yoluyla geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İzmir.
- Yalçın, M. S., 2013. Selülaz enziminin relizyme ve sephabeads destekler üzerine immobilizasyonu ve karakterizasyonu, Doktora Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana.

- Yavaşer, R., Karagözler, A.A., 2020. Covalent immobilization of papain onto poly(hydroxyethyl methacrylate)-chitosan cryogels for apple juice clarification. **Food Sicence and Techonology International**, 1-13.
- Yener, F., 2007. Pektinaz enziminin farklı iki destek üzerine immobilizasyonu ve karakterizasyonu , Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana.
- Zhu, M., Huang, Y., Wang, Y., Shi, T., Zhang, L., Chen, Y., Xie, M., 2019. Comparison of (poly)phenolic compounds and antioxidant properties of pomace extracts from kiwi and grape juice. **Food Chemistry**, 271(1), 425-432.

