

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ASİTLİĞİ DÜZENLEMEK AMACIYLA LİMON SUYU EKLENEN KARADUT
SULARININ ANTOSİYANİN STABİLİTESİ ÜZERİNE TARÇIN, ZENCEFİL
VE KARANFİL EKSTRAKTLARININ ETKİSİ**

Kübra GÜVEN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2020**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ASİTLİĞİ DÜZENLEMEK AMACIYLA LİMON SUYU EKLENEN KARADUT SULARININ ANTOSİYANİN STABİLİTESİ ÜZERİNE TARÇIN, ZENCEFİL VE KARANFİL EKSTRAKTLARININ ETKİSİ

Kübra GÜVEN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Bu çalışmanın amacı; sitrik asit kaynağı olarak doğal limon suyu, kopigment olarak bitkisel kaynaklardan (tarçın, zencefil, karanfil, biberiye, mercanköşk ve nar kabuğu) elde edilen fenolik ekstraktların karadut nektarlarına eklenmesi ve 20°C’de 3 ay depolama süresince antosiyanin stabilitesi ile kopigmentasyonun incelenmesidir. Bu amaçla, monomerik antosiyanin miktarındaki, hiperkromik ve batokromik etkilerdeki, renk yoğunluğu ve polimerik renk değerlerindeki değişimler belirlenmiştir. Karadut nektarına limon suyu ve fenolik kaynaklar eklendiğinde bulanıklık artmıştır. Fenolik kaynakları içinde kontrol-1 (%40 karadut nektarı) örneğine kıyasla en fazla artış, zencefil, tarçın ve karanfil ekstraktı içeren örneklerde gözlemlenmiştir. Depolama süresince, kontrol-1 örneğine kıyasla antosiyanin stabilitesi; kontrol-4 (HCl eklenmiş) (%133.3), mercanköşk (%83.3), kontrol-2 (limon suyu eklenmiş) (%74.1), ferulik ve gallik asit (%61.1), kumarik asit (%51.9), kafeik asit (%38.9), biberiye ve kuersetin (%35.2), zencefil (%11.1) ve tarçın (%5.6) içeren örneklerde gözlenmiştir. Beklenenin aksine, limon suyu antosiyaninlerin stabilitesini artırmıştır. 6 hafta depolama sonunda kontrol-2 örneğine kıyasla; biberiye (%20.9), kontrol-4 (%8.0), ferulik asit (%2.5) ve mercanköşk (%0.3) ekstraktı içeren örneklerde hiperkromik etki belirlenmiştir. Ayrıca, bütün kontrollere kıyasla; biberiye, tarçın, karanfil ve kumarik asit içeren örneklerde 1 nm, mercanköşk ve kuersetin içeren örneklerde 0.5 nm bathokromik kayma belirlenmiştir. Antosiyaninlerdeki parçalanma; birinci derece kinetik modele, polimerik renk oluşumu ise, sıfırıncı derece kinetik modele uygun olarak gerçekleşmiştir. Depolama süresince monomerik antosiyanin miktarındaki azalışa paralel olarak, polimerik renk oranında önemli düzeyde artış kaydedilmiştir. Dolayısıyla polimerik renk oranındaki artış, kopigmentasyondan kaynaklanmıştır. Sonuç olarak; mercanköşk, biberiye ve tarçın ekstarktları ile limon suyu ve ferulik asidin kopigment olarak kullanılmasını önermekteyiz.

Eylül 2020, 135 sayfa

Anahtar Kelimeler: Karadut suyu, antosiyanin stabilitesi, kopigmentasyon, limon suyu, fenolik ekstraktları

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF CINNAMON, GINGER AND CLOVE EXTRACTS ON THE STABILITY OF ANTHOCYANINS IN BLACK MULBERRY JUICES ADDED LEMON JUICE TO REGULATE ACIDITY

Kübra GÜVEN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

The aim of this study is to add natural lemon juice as citric acid source and phenolic extracts from herbal sources (cinnamon, ginger, clove, rosemary, marjoram and pomegranate peel) as copigment and investigate anthocyanin stability and copigmentation during storage at 20°C for 3 months. For this, changes in monomeric anthocyanin contents, hyperchromic and bathochromic effects, color intensity and polymeric color were determined. Adding lemon juice and phenolic sources to black mulberry nectar increased turbidity. Among phenolic sources, comparing to control-1 (40% black mulberry nectar), highest increase was observed in samples containing ginger, cinnamon and clove extracts. During storage, anthocyanin stability was observed in control-4 (HCl added) (133.3%), marjoram (83.3%), control-2 (lemon juice added) (74.1%), ferulic and gallic acid (61.1%), coumaric acid (51.9%), caffeic acid (38.9%), rosemary and quercetin (35.2%), ginger (11.1%) and cinnamon (5.6%) samples. Surprisingly, lemon juice increased anthocyanin stability. After 6 weeks of storage, hyperchromic effect was determined in samples containing rosemary (20.9%), control-4 (8.0%), ferulic acid (2.5%) and marjoram (0.3%) extract, compared to control-2. Moreover, compared to all controls, 1 nm in bathochromic shift was determined in samples containing rosemary, cinnamon, clove and coumaric acid, and 0.5 nm in samples containing marjoram and quercetin. Anthocyanin degradation was fitted to first- but polymeric color to zero-order. Similar to increase in monomeric anthocyanin during storage, significant increase in polymeric color percentage was detected. Therefore, increase in polymeric color percentage was attributable to copigmentation. We recommend using marjoram, rosemary and cinnamon extracts, lemon juice and ferulic acid as copigments.

September 2020, 135 pages

Key Words: Black mulberry juice, anthocyanin stability, copigmentation, lemon juice, phenolic extracts.

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi, öneri ve tecrübesini esirgemeyen, meslek ve kişisel gelişimime büyük katkı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a (Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), laboratuvar analizleri konusunda büyük bir incelik ve özveriyle beni eğiten, tezimin her aşamasında bilgi ve içtenliğiyle beni yönlendiren ve tezime çok büyük katkı sağlayan, Sayın Doç. Dr. Meltem TÜRKYILMAZ'a (Ankara Üniversitesi Gıda Güvenliği Enstitüsü) içtenlikle teşekkürlerimi sunuyorum. Analizlerimde ve laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan ve laboratuvar çalışmaları boyunca bana yol arkadaşlığı yapan hocam Sayın Arş. Grv. Fatmagül HAMZAOĞLU'na, tezimin istatistiki analizlerinde bilgi ve deneyimlerine başvurduğum, sorularımı içtenlikle cevaplayan hocam Sayın Dr. Sümeyye ALAGÖZ KABAKCI'ya teşekkür ediyorum.

Lisans ve yüksek lisans sürecimde yol arkadaşım, destekçim ve yol göstericim olan, her türlü sorunuma ve derdime ortak olan ve her zaman içtenlikle yardımına koşan çok değerli dostum Handenur ÜNAL'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca beni her zaman özveriyle destekleyen sevgili annem Fatıma GÜVEN ve sevgili babam Ali GÜVEN'e, her konuda beni teşvik eden, yol gösteren ve dertlerimi kendi dertleri gibi görüp sabırla ilgilenen sevgili kardeşlerim ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan tüm aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

Kübra GÜVEN
Ankara, Eylül 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Karadut.....	3
2.2 Zencefil.....	5
2.3 Tarçın.....	6
2.4 Karanfil.....	8
2.5 Biberiye.....	10
2.6 Mercanköşk.....	12
2.7 Nar Kabuğu.....	13
2.8 Antosiyaninler ve Antosiyaninlerin Yapısı.....	14
2.9 Antosiyaninlerin Stabilitesini Etkileyen Faktörler.....	17
2.9.1 Yapısal etkiler.....	17
2.9.2 pH.....	18
2.9.3 Sıcaklık.....	19
2.9.4 Oksijen.....	19
2.9.5 Diğer faktörler.....	20
2.10 Kopigmentasyon.....	21
2.10.1 Kopigmentler.....	21
2.10.2 Kopigmentasyon türleri.....	22
2.11 Limon Suyu Bileşimi.....	23
2.11.1 Fenolik bileşikler.....	24
2.11.2 Askorbik asit (AA)	28
2.11.2.1 Askorbik asidin parçalanması.....	28
2.11.3 Sitrik asit.....	29
2.11.4 Uçucu yağlar.....	30
2.12 Limon Suyu Bileşiminin Antosiyaninlere Etkisi.....	30
2.12.1 Askorbik asit ve parçalanma ürünlerinin etkisi.....	30
2.12.1.1 Askorbik asit ve dehidro askorbik asit etkisi.....	31
2.12.1.2 Hidrojen peroksit etkisi.....	31
2.12.1.3 Furfural ve hidroksimetilfurfural etkisi.....	32
2.12.2 Fenolik bileşiklerin etkisi.....	32
2.12.3 Sitrik asit etkisi.....	34
2.12.4 Uçucu yağların etkisi.....	35
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	36
3.1 Materyal.....	36
3.1.1 Kopigmentler.....	36
3.1.2 Kimyasallar.....	36

3.2 Yöntem.....	37
3.2.1 Karadut suyu hazırlanması.....	37
3.2.2 Limon suyunun hazırlanması.....	38
3.2.3 Karadut nektarlarına kopigmentlerin ve limon suyunun ilavesi.....	39
3.2.4 Örneklerin pastörizasyonu ve depolanması.....	43
3.2.5 Fiziksel analizler.....	43
3.2.5.1 pH tayini.....	43
3.2.5.2 Berraklık düzeyinin belirlenmesi.....	43
3.2.6 Kimyasal analizler.....	43
3.2.6.1 Titrasyon asitliği.....	44
3.2.6.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini.....	45
3.2.6.3 Hiperkromik etki ve bathokromik değişimin belirlenmesi.....	45
3.2.6.4 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi.....	46
3.2.6.5 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	47
3.2.7 Kinetik parametrelerin hesaplanması.....	48
3.2.7.1 Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması.....	49
3.2.7.2 Yarılanma süresinin ($t_{1/2}$) hesaplanması.....	49
3.2.8 İstatistik değerlendirme.....	49
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	50
4.1 pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler.....	50
4.2 Berraklık Değerindeki Değişimler.....	53
4.3 Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarlarındaki Değişimler.....	55
4.4 Hiperkromik Etki ve Bathokromik Kaymadaki Değişimler.....	61
4.5 Antosiyaninlerin Parçalanma Ölçütlerindeki Değişimler.....	70
4.6 Toplam Fenolik Madde Miktarındaki Değişimler.....	80
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	83
KAYNAKLAR.....	84
EKLER.....	93
EK 1 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	94
EK 2 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarında, hiperkromik etki ve bathokromik kaymadaki değişime ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	97
EK 3 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişime ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	100
EK 4 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerlerindeki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri.....	103
EK 5 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarında, hiperkromik etki ve bathokromik kaymadaki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri.....	113
EK 6 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	135

SİMGELER DİZİNİ

ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
Al	Alüminyum
a_w	Su aktivitesi
C	Karbon
°C	Santigrat
Ca	Kalsiyum
Cu	Bakır
C*	Kroma değeri
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
Fe	Demir
H	Hidrojen
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
h*	Hue
K	Potasyum
k	Reaksiyon hız sabiti
K ₂ S ₂ O ₅	Bisulfit
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
NaOH	Sodyum hidroksit
nm	Nanometre
OCH ₃	Metoksil
OH	Hidroksil
P	Fosfor
r	Korelasyon katsayısı
Sn	Kalay
t _{1/2}	Yarılma süresi
Zn	Çinko

Kısaltmalar

AA	Askorbik asit
Briks	Suda çözünür kuru madde
Cy	Siyanidin
Cy-3-glu	Siyanidin-3-glukozit
Dak	Dakika
DHA	Dehidroaskorbik asit
Dp	Delfinidin
Dp-3-glu	Delfinidin-3-glukozit
FRAP	Ferric reducing antioxidant power (Plazmanın ferrik indirgeme kabiliyeti)
GC-MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi
GC-FTIR	Gas chromatography Fourier transform infrared spectroscopy (Gaz kromatografisi ve Fourier taşınım infrared spektroskopisi)
Glu	Glukozit
HMF	Hidroksimetil furfural
HPLC	High performance liquid chromatography (Yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi Kütle/Kütle Spektrometresi
Mv	Malvidin
Nh	Neohesperidosid
ORAC	Oksijen radikal emme kapasitesi
Pg	Pelargonidin
Pg-3-glu	Pelargonidin-3-glukozit
Pg-3,5-glu	Pelargonidin-3,5-diglukozit
PMFs	Polimeksiflavonlar
Pn	Peonidin
Pt	Petunidin
Rut	Rutinosid
RP-HPLC	Reverse phase high performance liquid chromatography (Ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi)
TMA	Toplam monomerik antosiyanin

TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity (Troluks eşdeğer antioksidan kapasitesi)
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ΔA	Hiperkromik etki
λ_{maks}	Bathokromik etki



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Antosiyanidin yapısı.....	14
Şekil 2.2 Antosiyanin genel yapısı.....	16
Şekil 2.3 Antosiyaninlerde yaygın olarak bulunan açıl grupları.....	17
Şekil 2.4 Antosiyaninlerin pH'ya bağlı kimyasal yapıları.....	18
Şekil 2.5 Antosiyanin interaksiyonları.....	22
Şekil 2.6 Limon meyvesindeki flavonoidler.....	25
Şekil 2.7 Limon meyvesinde bulunan diğer fenolik bileşiklerden bazılarının kimyasal yapıları.....	27
Şekil 2.8 AA'in çeşitli izomerleri.....	28
Şekil 2.9 AA'in parçalanma reaksiyonları.....	29
Şekil 2.10 Sitrik asidin yapısı.....	30
Şekil 3.1 Karadut suyu üretimi akım şeması.....	37
Şekil 3.2 Limon suyu üretimi akım şeması.....	38
Şekil 3.3 Kopigment kaynaklarının doğrudan eklenmesiyle karadut nektarlarının hazırlanması.....	40
Şekil 3.4 Kopigment ekstraktlarının hazırlanışı.....	41
Şekil 3.5 Kopigment kaynaklarından elde edilen ekstraktların eklenmesiyle karadut nektarlarının hazırlanması.....	42
Şekil 4.1 Kopigment eklenen karadut nektarlarının berraklık değerleri.....	54
Şekil 4.2 Kontrol-1 ile karanfil, tarçın, zencefil ve mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarlarının 20°C'de depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarında meydana gelen değişimler.....	56
Şekil 4.3 Karadut nektarlarının depolama süresince λ_{maks} değerlerindeki değişim.....	67
Şekil 4.4 Kontrol-1, kontrol-2, ferulik asit, karanfil ve mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarlarının 20°C'de depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarı ile polimerik renk oranları arasındaki doğrusal ilişki.....	79
Şekil 4.5 Kopigment eklenen karadut nektarlarının toplam fenolik madde miktarı değerleri.....	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Bazı önemli antosiyanidinler.....	15
Çizelge 2.2 Bazı önemli antosiyaninler.....	16
Çizelge 2.3 Bazı meyve ve sebzelerdeki bulunun başat antosiyaninler.....	16
Çizelge 2.4 Limon meyvesinde bulunan başlıca flavonoidler.....	26
Çizelge 2.5 Limon meyvesinde bulunan diğer diğer fenolik bileşikler.....	27
Çizelge 4.1 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince pH ve titrasyon asitliği değerlerindeki değişimler.....	52
Çizelge 4.2 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarındaki değişimler.....	57
Çizelge 4.3 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince TMA miktarındaki değişimleri ilişkin k ve $t_{1/2}$ değerleri.....	58
Çizelge 4.4 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince A_{maks} değerlerindeki değişimlere ilişkin k ve $t_{1/2}$ değerleri.....	62
Çizelge 4.5 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince hiperkromik etki ve batokromik kaymadaki değişimleri.....	64
Çizelge 4.6 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişimler.....	71
Çizelge 4.7 Farklı kopigment içeren karadut sularının 20°C’de 3 ay depolanması süresince renk yoğunluğundaki değişimlere ilişkin k ve $t_{1/2}$ değerleri.....	73
Çizelge 4.8 Farklı kopigment içeren karadut sularının 20°C’de 3 ay depolanması süresince polimerik renk miktarındaki değişimlere ilişkin k ve R^2 değerleri.....	76
Çizelge 4.9 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimlere ilişkin k ve R^2 değerleri.....	77
Çizelge 4.10 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince belirlenen toplam fenolik madde miktarları.....	81

1. GİRİŞ

Rekabetin giderek arttığı yiyecek-içecek pazarında, çekici ve stabil renk, gün geçtikçe önem kazanmakta ve tüketicilerin de tercihlerinde rol oynayan bir nitelik haline gelmektedir. Zira, gıdaların renginin; aynı zamanda onların koku, tekstür, flavor gibi özelliklerinin algılanmasında da etkili olduğu birçok çalışmada ortaya konulmuştur (Giusti ve Wrolstad 2003, Kırca 2004). Gıdalar, üretimde uygulanan işlemlerden özellikle ısı işlemlerden ve depolamadan etkilenmekte ve bunun sonucunda gıdaların renklerinde önemli kayıplar gözlenmektedir.

Özellikle son yıllarda tüketicilerin gıda katkı maddelerine kuşkuyla yaklaşması nedeniyle; bazı meyve suyu üreticileri asitliği düzenlemek amacıyla gıdalara, katkı maddesi olarak sitrik asit eklemek yerine, doğrudan limon suyu ve/veya misket limon suyu eklemeyi tercih etmeye başlamışlardır. Meyve sularında kullanılmasına izin verilen limon suyu ve/veya misket limon suyu miktarı, Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve Benzeri İçecekler Tebliği'nde (Anonim 2014) belirtilmiştir. Bu amaçla; son ürünün, yani meyve suyunun, 1 L'sine en fazla 3 g susuz sitrik asit içerecek şekilde limon suyu eklenebileceği ifade edilmiştir.

Bilindiği gibi; limon suyu sitrik asit yanında yüksek miktarda (50 mg/100 g) askorbik asit de içermektedir (Lee ve Kader 2000). Askorbik asit (AA); meyve, sebze ve çiçeklerin, kırmızı, mor ve mavi tonlarındaki renklerinden sorumlu olan antosiyaninler üzerine parçalayıcı etki göstermektedir (Choi vd. 2002). Bu nedenle; antosiyanin içeren ürünlerde asitlik düzenleyici olarak limon suyu kullanılması durumunda; antosiyanin stabilitesini artırıcı önlemler mutlaka alınmalıdır. Aksi halde; çok kısa sürede antosiyaninler parçalanacak; bir yandan ürünün rengi kısa sürede kahverengiye dönüşürken, diğer yandan yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan antosiyaninlerin tüketici sağlığı üzerine olumlu etkisi de ortadan kalkacaktır. Antosiyanin stabilitesini artırmada en etkili yöntemlerin başında kopigmentasyon gelmektedir. Antosiyaninler ile polifenoller (fenolik asitler, flavonoidler, flavonoller ve flavon alt grupları), alkaloidler, amino asitler, organik asitler ve bizzat antosiyaninlerin kendileri arasında oluşan ve “kopigmentasyon” olarak nitelendirilen birleşmeler sonucunda antosiyanin stabilitesi ve

ürünün renk yoğunluğu artmaktadır (Rein 2005). Kopigment özellik gösteren bileşikler arasında fenolik asitlerin yüksek kofaktör etkisine sahip olduğunun (Markovic vd. 2000) bilinmesine karşın, bu konuda ayrıntılı bir çalışma henüz yapılmamıştır (Rein 2005).

Bu çalışmada limon suyunda bulunan başta fenolik asitler olmak üzere, organik asitlerin antosiyaninlerle etkileşimi, buna bağlı olarak renkte ne tür değişimler olduğu incelenecektir. Bunun yanında, renk sorunun aşılmasında yüksek miktarda kopigment içeren ve yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinen tarçın, zencefil, karanfil, biberiye, mercanköşk ve nar kabuğundan elde edilen sulu ekstraktlar ile doğrudan gallik asit, ferulik asit, kumarik asit, kafeik asit ve kuersetin eklenmesiyle oluşan kopigmentasyonun çözüm olup olmayacağı araştırılacaktır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Karadut

Dut, Moraceae familyasından Morus cinsine aittir. Bilinen en az 100 çeşidi olan 24 Morus türü ve bir de alt tür vardır. Dut, Kuzey yarımkürenin subtropikal bölgelerinden ve Güney yarımkürenin tropik bölgelerine kadar çok çeşitli iklim, topografik ve toprak koşullarında yetişebilir. Birçok ülkede (özellikle Hindistan ve Çin), dut meyvesinden çok yapraklarıyla ipek böceği beslemek için yetiştirilmektedir. Bununla birlikte, ülkemiz ve Yunanistan da dahil olmak üzere çoğu Avrupa ülkesinde, dut; yapraklarından çok, meyve üretimi için yetiştirilmektedir (Ercisli 2004). Ülkemizin Orta ve İç Anadolu bölgeleri, başta *Morus alba* (beyaz dut), *Morus nigra* (karadut) ve *Morus rubra* (kırmızı dut) olmak üzere yüksek kaliteli dut meyvelerinin yetiştirilmesi için uygun iklim koşullarına sahiptir. Ülkemizde yetişen dut ağaçlarının %95'i *M. alba*, %3'ü *M. rubra* ve %2'si *M. nigra*'dır (Ercisli 2004). Ülkemizde, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı verilerine göre 2018 yılında 66.647 ton dut üretimi yapılmıştır (Anonim 2019a). Taze olarak tüketilmesi dışında, ülkemizde “dut pekmezi”, “dut pestili” ve “dut kömesi” gibi geleneksel ürünler dut meyvesinden yapılmaktadır. Kırmızı renkli dutlar ise, taze olarak tüketilmesinin yanında; marmelat, meyve suyu ve liköre işlenebileceği gibi doğal boya üretiminde ve kozmetik endüstrisinde de kullanılmaktadır (Ercişli ve Orhan 2005). Ülkemizde 2010 yılında 1.100 ton karadut, karadut suyuna işlenmiştir (Anonim 2011).

Dut ayrıca tıbbi bitki olarak da kullanılmaktadır. Meyveleri, kökleri ve kabukları, alternatif tıpta (özellikle Çin tıbbında) diyabet, hipertansiyon, anemi ve artrit tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca karadut meyvesi, ülkemizde ağız lezyonlarının tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, kırmızı dut ve karadutlar antosiyanin içeriği nedeniyle gıda endüstrisinde önemli bir yer edinmiştir. Bilindiği üzere, antosiyaninlerin antioksidan etkileri bulunmaktadır (Özgen vd. 2009). Bu özellikleri nedeni ile antosiyaninlerin koroner kalp hastalığı riskinin azaltılması, felç, bazı kanser türleri ve yaşlanma gibi sağlık sorunlarına olumlu yönde etkileri bulunmaktadır (Zafra-Stone vd. 2007).

Ercisli ve Orhan (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, karadutun birçok bileşim özelliği ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, karadutun ortalama meyve ağırlığının 4.37 g olduğu, nem miktarının %72.6, pH'sının ise, 3.52 olduğu ve toplam asitliğinin susuz sitrik asit cinsinden %1.4 olduğu saptanmıştır. Bunun yanında, aynı çalışmada, karadutlarda 14 farklı yağ asidi bulunmuş; baskın yağ asidinin linoleik asit (%61.85) olduğu, bunu da oleik asit (%14.75) ve palmitik asitin (%12.06) izlediği bulunmuştur. Ayrıca, 21.8 mg askorbik asit/100 g taze meyve, 1422 mg GAE/100 g taze meyve (toplam fenolik madde) ve 176 mg QE/100 g taze meyve (toplam flavonoid) içerdiği saptanmıştır. En fazla bulunan minerallerin ise; 922 mg/100 g ile K, 232 mg/100 g ile P ve 132 mg/100 g ile Ca olduğu da bu çalışmada ortaya konulmuştur.

Karadut meyvesinde bulunan başat antosiyaninlerin, siyanidin-3-O-glukozit ve siyanidin-3-O-rutinosit olduğu saptanmıştır (Lee vd. 2004). Ayrıca; karadutlarda, siyanidin-3-O-fosforit, pelargonidin-3-O-glukozit, pelargonidin-3-O-rutinosit, petunidin-3-O-rutinosit ve siyanidin-3-O-glurutinosit de bulunduğu bu çalışmada ortaya konulmuştur. Ülkemizde yapılan diğer bir çalışmada (Özgen vd. 2009), ülkemizde yetiştirilen 14 farklı karadutun bazı fizikokimyasal ve antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada; karadutların ortalama 5.77 g/100 mL fruktoz, 6.39 g/100 mL glukoz, 0.03 g/100 mL sakaroz, 12.2 g/100 mL toplam şeker, 0.16 g/100 mL malik asit, 0.005 g/100 mL askorbik asit, 1.87 g/100 mL sitrik asit ve 2.05 g/100 mL toplam asit içerdiği bulunmuştur. Reflektans renk değerleri ise ortalama olarak; L* değeri 18.4, a* değeri 18.3, b* değeri 5.5, kroma değeri (C*) 19.1 ve hue (h*) değeri ise, 16.4 olarak ölçülmüştür. Bunların dışında, toplam fenolik miktarı ortalaması “2737 mg GAE/g taze meyve”, toplam monomerik antosiyanin miktarı (TMA) ortalaması, “571 mg cy-3-glu/g taze meyve” olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivite ise, plazmanın ferrik indirgeme kabiliyeti (FRAP) değeri ise ortalama, “12.9 µmol TE/g taze meyve” ve Troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) değeri ise ortalama, “11.4 µmol TE/g taze meyve” olarak saptanmıştır.

2.2 Zencefil

Zencefil (*Zingiber officinale Roscoe*), Zingiberaceae familyasından, boyu 1 m'ye kadar yükselebilen kamış görünümünde, çok yıllık otsu bir bitkidir (Kaplan 2005). Zencefil, tropikal bölgelerde, özellikle de Güneydoğu Asya'da yetiştirilmektedir. Zencefilin kök sapından baharat ya da bitkisel ilaç elde edilmekte olup, 2014 yılında dünyada 2.156.453 ton zencefil üretilmiştir (Temel vd. 2018). Ülkemizde ise, son yıllarda deneme amaçlı zencefil üretimi gerçekleştirilmektedir. Malezya'da, 2000 yılı aşkın süredir şeker hastalığı, yüksek tansiyon, kanser ve diğer hastalıkları önlemek için zencefil, tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda, zencefilin antikanserojen, antimikrobiyal ve antiinflamasyon etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Zencefilde bulunan başlıca biyoaktif bileşikler; 6-gingerol (uçucu yağ), flavonoidler ve fenolik asitlerdir (Ghasemzadeh vd. 2010).

Çin'de yetiştirilen *Zingiberaceae Zingiber officinale Roscoe* türündeki zencefilin, toplam fenolik madde içeriği “0.63 g GAE/100 g kuru ağırlık” olarak bulunmuştur (Shan vd. 2005). Aynı çalışmada, fenolik maddeler içinde en fazla; fenolik uçucu yağlar (gingerol ve shagol) ile fenolik asitlerin (kafeik asit) olduğu saptanmıştır. Ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanılarak yapılan bu çalışmada zencefilde; fenolik asitler içinde en fazla olarak kafeik asit (15.5 mg/100 g kuru ağırlık) olduğu, diğer fenolik asitlerin ise, 25.3 mg/100 g kuru ağırlık düzeyinde olduğu saptanmıştır. Bunun yanında, uçucu yağlardan gingerolün ise, 187.3 mg/100 g kuru ağırlık düzeyinde olduğu belirlenmiştir.

Malezya'da üretilen zencefillerle (*Zingiber officinale*) yapılan çalışmada, iki farklı zencefil türünün (*Halia Bentong* ve *Halia Bara*) farklı koşullarda yetiştirilmesi sonucunda fenolik bileşiklerindeki değişimler belirlenmiştir (Ghasemzadeh vd. 2010). Bu çalışmada, başlıca flavonoidlerin; kuersetin, rutin, kateşin, epikateşin ve naringenin olduğu belirlenmiştir. Tanımlanan diğer fenolikler ise; kampferol, salisilik asit ve sinamik asit olduğu saptanmıştır. En fazla kuersetin, *Halia Bara* çeşidinin yapraklarında “1.123 mg/g kuru ağırlık” ve köksapında ise, “0.986 mg/g kuru ağırlık”

olarak saptanmıştır. Diğer önemli fenolik bileşiklerden rutin ise, “0.173–0.451 mg/g kuru ağırlık” arasında değiştiği bulunmuştur (Ghasemzadeh vd. 2010).

Yapılan bir çalışmada, kurutulmuş zencefil kök saplarının (rizom), ortalama %9 protein, %6 yağ, %70 karbonhidrat, %6 ham selüloz, %4.5 ham kül ve %2–3 oranında da uçucu yağ içerdiği saptanmıştır (Kaplan 2005). Zencefil rizomlarının ağız ve burunda oluşturduğu keskin tat ve kokunun kaynağı, iki farklı kimyasal gruptur. Bunlardan uçucu yağlar; terpenoidlerle karışık olup zencefillin kendine has tat ve kokusunu veren maddelerdir. Ağızda sıcaklık hissi veren ve uçucu yağ olmayan acı maddeler ise, gingerols ve zingerondur. Zencefilin başlıca aktif maddeleri; bisapolen, zingiberen, zingiberol olup, bu maddeleri şogaol, gingerol, sesquiphellandene, curcurnene, 6-dehidrogingerdion, galanolakton, gigesulfonik asit, neral, geraniol ve monoacydigalactosylcerds ve gingerglikolipid takip etmektedir. Bu aktif maddelerden gingerolun in vitro ve hayvanlar üzerinde yapılan denemelerinde, ağrı kesici, yatıştırıcı ve ateş düşürücü özelliği olduğu tespit edilmiştir.

Zencefilin Epstein-Barr virüs aktivitesini durdurması nedeni ile kanser önleyici özelliği bulunduğu da ortaya konulmuştur (Kaplan 2005). Zencefilin aktif maddelerinden, 6-gingerol ve 6-paradolün lösemiye önleme etkisi olduğu iddia edilmektedir. Bu etki, kanser hücrelerinin DNA sentezini bozma şeklinde gerçekleşmektedir. Ayrıca, zencefilin anti-inflamatuar etkisi olup, artrit ve baş ağrısını tedavi edici özelliği de bulunmaktadır. Zencefilin, antibakteriyel özelliği de bulunmaktadır. Bütün bu tıbbi özelliklerinin yanında baharat, pudra ve şekerleme endüstrisinde geniş kullanım alanı bulmaktadır.

2.3 Tarçın

Defnegiller familyasından anavatanı Güney ve Güneydoğu Asya olan, yaprak dökmeyen aromatik kokulu bir ağaç cinsidir. Tarçın, ağacın gövde ve dal kabuklarının dış kısmı sıyrıldıktan sonra kalan iç kabuğun kurutulup öğütülmesiyle elde edilir. Ayrıca kabuklarının iç içe konularak rulo gibi kıvrılmasıyla da çubuk tarçın elde edilir. Kokusu kuvvetli, keskin ve uzun süreli olup, tadı; tatlımsı ve yakıcıdır. Ülkemizde yetiştirilememektedir. Çin Tarçını (*Cortex Cinnamomum cassiae*) ve Seylan Tarçını

(*Cortex Cinnamomum zeylanicum* sinonimi *Cinnamomum verum*) olmak üzere başlıca iki cins tarçın kabuğu bulunmaktadır (Aydın 2011). Dünyada 2014 yılında 213.678 ton tarçın üretilmiştir (Temel vd. 2018). Yapılan bir çalışmada tarçının nem miktarı %5.1, kül miktarı %2.4, ham protein oranı %3.5, ham yağ oranı %4, ham lif oranı %33, azot içermeyen kompozisyon ise %52 olarak bulunmuştur (Gül ve Safdar 2009). Aynı çalışmada, tarçının mineral kompozisyonu ise; 134.7 mg K/g, 85.5 mg Mg/g, 83.8 mg Ca/g, 42.4 mg P/g, 20.1 mg Mn/g, 7 mg Fe/g ve 2.6 mg Zn/g olarak bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada *Cinnamomum zeylanicum*'un fenolik içeriği ve miktarı, sıvı kromatografi kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi ile; “16.14 µg kateşin/g kuru ağırlık”, “10.16 µg protokateşik asit/g kuru ağırlık”, “7.45 µg kuersetin/g kuru ağırlık”, “7.25 µg epikateşin/g kuru ağırlık”, “2.24 µg *p*-kumarik asit/g kuru ağırlık”, “1.19 µg *p*-hidroksibenzoik asit/g kuru ağırlık”, “0.73 µg rosmarinik asit/g kuru ağırlık”, “0.45 µg kafeik asit/g kuru ağırlık”, “0.33 µg ferulik asit/g kuru ağırlık” ve “0.12 µg klorojenik asit/g kuru ağırlık” olarak belirlenmiştir (Vallverdú-Queralt vd. 2014). Aynı çalışmada, toplam fenolik miktarı 5.82 mg GAE/g kuru ağırlık, antioksidan kapasiteleri ise, ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) de “4.13 mmol TE/g kuru ağırlık”, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ise “1.88 mmol TE/g kuru ağırlık” olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonunda, tarçının zengin bir fenolik kaynağı olduğu ve antioksidan kapasitesinin de oldukça yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Vallverdú-Queralt vd. 2014). Çin'de yetiştirilen *Cinnamomum cassia Presl inna* ve Endonezya'da yetiştirilen *Cinnamomum zeylanium N. cinnamon* (çubuk) türü tarçın ile yapılan bir çalışmada ise, toplam fenolik miktarı sırasıyla; “6.34 g GAE/100 g kuru ağırlık” ve “11.9 g GAE/100 g kuru ağırlık” olarak bulunmuştur (Shan vd. 2005). Ayrıca her iki türün başlıca fenolik içeriği; fenolik asitler, fenolik uçucu yağlar (2-hidroksisinamaldehit, sinnamil aldehit türevleri), flavan-3-ol şeklinde sıralanmaktadır. Aynı çalışmada; tarçında; kateşin türevleri “1058 mg/100 g kuru ağırlık”, sinnamil aldehitler “17.109 mg/100 g kuru ağırlık” ve kafeik asit “15.3 mg/100 g kuru ağırlık” olarak tespit edilmiş olup; tarçın çubuklarında ise, aynı fenolikler sırasıyla kateşin türevleri “454 mg/100 g kuru ağırlık”, kafeik asit “24.2 mg/100 g kuru ağırlık” ve “sinnamil aldehitler 16.162 mg/100 g kuru ağırlık” şeklinde tespit edilmiştir.

Kelebek bezelye çiçeği ile yapılan bir çalışmada, tarçın, kimyon ve zerdeçaldan elde edilen ekstraktlar, bu çiçekten hazırlanan antosiyanin ekstraktlarına farklı oranlarda eklenmiş ve böylece farklı antosiyanin:kopigment oranlarının kopigmentasyon etkisi incelenmiştir (Hassan vd. 2013). Kontrole kıyasla, hiçbir örnekte antosiyaninlerin maksimum dalga boyunda değişiklik gözlemlenmemiş, buna karşın hiperkromik kaymada artış gözlenmiş, en yüksek artış zerdeçal içeren ekstrakta (%61.41, 16:1 antosiyanin:kopigment oranında) gözlenmiş, bunu da tarçın (%17.04, 17:1 antosiyanin:kopigment oranında) ve kimyon ekstraktları (%16.08, 16:1 antosiyanin:kopigment oranında) izlemiştir.

Baharatların insan sağlığı üzerine olumlu etkisi yüzyıllardır bilinmektedir. *Cinnamomum zeylanicum* ve *Cinnamomum cassia* tarçın çeşidi kullanılarak yapılan bir çalışmada tarçının anti-inflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, antitümör, kardiyoprotektif, kolesterol düşürücü, hipoglisemik ve immünomodülatör etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir (Gruenwald vd. 2010). Ayrıca, tarçının sindirim sistemini koruyucu etkiye sahip olduğu da iddia edilmekte ve tip 1 ve tip 2 diyabet riskini azaltmada kullanılabileceği de önerilmektedir.

2.4 Karanfil

Yaygın olarak karanfil olarak bilinen *Syzygium aromaticum* (*S. aromaticum*) (*Eugenia caryophyllata*), Doğu Endonezya'daki Maluku adalarında yaygın olarak bulunan Mirtaceae familyasından 8–12 m civarında bir ağaçtır. Günümüzde en fazla karanfil üreten ülkeler; Endonezya, Hindistan, Malezya, Sri Lanka, Madagaskar, Tanzanya ile özellikle de Zanzibar adasıdır. Karanfilde bulunan başlıca fenolik bileşikler; flavonoidler, hidroksibenzoik asitler, hidroksisinamik asitler ve hidroksifenil propenlerdir. Eugenol, karanfilin her 100 g'da, 9383 ile 14.7 mg arasında değişen miktarlarda bulunan başat biyoaktif bileşiğidir. Fenolik asitler arasında ise, gallik asit yüksek miktarda bulunmaktadır (784 mg/100 g yaş ağırlık). Bununla birlikte, gallik asit türevleri olan hidrolize edilebilir tanenler de yüksek konsantrasyonlarda (2376 mg/100 g) bulunmaktadır. Karanfilde bulunan diğer fenolik asitler; kafeik, ferulik, elajik ve salisilik asitlerdir. Flavonoidler ise; kampferol, kuersetin ve bunların glikolize türevleri

olarak düşük miktarlarda bulunur. Karanfil çiçek tomurcuklarında %18'e varan miktarlarda esansiyel yağ bulunabilir. Kabaca, karanfil esansiyel yağ içeriği; öjenol (%89), öjenol asetat ve β -kariyofilenol (%5–15), α -humulen (%2.1), β -pinen, limonen, farnesol, benzaldehit, 2-heptanon ve etil heksanoattır (Cortés-Rojas vd. 2014). Malezya'da üretilen *Myrtaceae* *Eugenia caryophyllata* Thunb türündeki karanfil ile yapılan bir çalışmada, toplam fenolik madde miktarı "14.4 g GAE/100 g kuru ağırlık" olarak bulunmuştur (Shan vd. 2005). Bunun yanında aynı türde, gallik asit türevleri "2376 mg/100 g kuru ağırlık", asetil eugenol "2075 mg/100 g kuru ağırlık", gallik asit "784 mg/100 g kuru ağırlık", diğer flavonoidler "367 mg/100 g kuru ağırlık", kuersetin "28.4 mg/100 g kuru ağırlık" ve kaempferol "23.8 mg/100 g kuru ağırlık" şeklinde tespit edilmiştir.

Karanfilin farmakolojik etki aralığı geniş olduğu için önemli bir tıbbi bitkidir ve yüzyıllar boyunca bu amaçla kullanılmıştır. Karanfilin; antioksidan, antimikrobiyal, antiviral ve antinosiseptif (ağrıkesici) aktiviteleri yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Cortés-Rojas vd. 2014). Yapılan bir çalışmada, karanfilin toplam fenolik madde içeriğiyle antioksidan aktivitesi arasında yüksek bir korelasyon ($r=0.95$) olduğunu görülmüştür. Karanfil tomurcuklarının yüksek fenolik madde içeriğine (14.380 g GAE/100 g kuru ağırlık) ve antioksidan aktivitesine (169 tetraetilamonyum klorür mmol Trolox/100 g kuru ağırlık) sahip olduğu tespit edilmiştir (Shan vd. 2005). Karanfil yağının sentetik antioksidanlar ile antioksidan aktivitesinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, antioksidan kapasiteleri sırasıyla; karanfil yağı > butillendirilmiş hidroksitoluen > alfa tokoferol > bütillenmiş hidroksianisol > trolox olarak belirlenmiştir (Gülçin vd. 2012). Bu çalışma, karanfil yağının bilinen etkili sentetik antioksidanlardan çok daha fazla antioksidan aktivite gösterdiğini göstermiştir. Dorman ve Deans (2000), tarafından yapılan bir çalışmada; karabiber, sardunya, hindistan cevizi, kekik, kekik otu ve karanfilin antibakteriyel aktivitesi 25 tane Gram (+) ve Gram (–) bakteri suşu kullanılarak incelenmiş ve bu yağlar içerisinde en geniş antimikrobiyal aktiviteye kekik, kekik otu ve karanfilin sahip olduğu tespit edilmiştir. Karanfilin 13. yüzyıldan beri diş ağrılarını tedavi etmede de kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca karanfil, ağrı kesici ve antispazmodik olarak da kullanılmaktadır. Karanfilin bu özelliklerinin ana etken maddesi öjenol'dür (Rojas vd. 2014). Öjenolün (5 μ g/mL konsantrasyonda)

antiviral aktivitesi; *Syzygium aromaticum* ve *Geum japonicum* virüs suşlarında belirlenmiş ve başlıca etkisinin virüsün DNA polimeraz enzim sentezini inhibe etmesiyle gerçekleştirdiği belirlenmiştir (Kurokawa vd. 1998).

2.5 Biberiye

Laminacae (Labiatae) familyasından biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) önemli bir tıbbi ve aromatik bitki türüdür. Ülkemizde farklı isimlerle de (kuşdili, hasalban ve akpüren) adlandırılan biberiye 50–100 cm boyda, çalı görünüşte, kışın yaprağını dökmeyen ve çiçekleri soluk mavi renkli çok yıllık bir bitkidir (Baytop 1984). Fransa ve İspanya’da yetiştiriciliği yapılan biberiye, ülkemizde büyük bir kısmında yetiştiriciliği yapılmadan doğada kendi halinde yetişmektedir. Ülkemizde en çok güney ve batı kıyı şeridinde yetişen biberiye odun dışı orman ürünleri kategorisinde yer almaktadır (Başkaya vd. 2016). Ülkemizde 2015 yılında 278 ton biberiye hasat edilmiştir (Temel vd. 2018).

Fenolik madde içeriğinin belirlendiği bir çalışmada; biberiyenin (*Rosmarinus officinalis*) “156.9 µg rosmarinik asit/g kuru ağırlık”, 15.16 µg *p*-hidroksibenzoik asit/g kuru ağırlık, “12.58 µg kafeik asit/g kuru ağırlık”, 8.42 µg protokateşik asit/g kuru ağırlık, “5.57 µg *p*-kumarik asit/g kuru ağırlık”, 3.46 µg siringik asit/g kuru ağırlık, “1.99 µg ferulik asit/g kuru ağırlık”, 1.36 µg kuersetin/g kuru ağırlık” ve “1.07 µg klorojenik asit/g kuru ağırlık” içerdiği tespit edilmiştir (Vallverdú-Queralt vd. 2014). Aynı çalışmada, toplam fenolik madde miktarı, “5.02 mg GAE/g kuru ağırlık”, antioksidan kapasitesi ise, “2.39 mmol TE/g kuru ağırlık (ABTS yöntemi)” ve “1.98 mmol TE/g kuru ağırlık (DPPH yöntemi)” olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda biberiyenin zengin bir fenolik kaynağı olduğu ve antioksidan kapasitesinin de oldukça yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Yeni Zelanda’da yetiştirilen *Rosmarinus officinalis* L. *Rosemary* türündeki biberiye ile yapılan bir çalışmada, toplam fenolik madde içeriği, “5.07 g GAE/100 g kuru ağırlık” olarak bulunmuştur (Shan vd. 2005). Biberiyedeki başlıca fenolik bileşiklerin miktarının belirlendiği bu çalışmada; “1286 mg rosmarinik asit/100 g kuru ağırlık”, “1113 mg

epirasmanol/100 g kuru ağırlık”, “802 mg karnosol/100 g kuru ağırlık”, “655 mg karnosik asit/100 g kuru ağırlık”, “278 mg kaffeol türevleri/100 g kuru ağırlık”, “277 mg rosmadial/100 g kuru ağırlık”, “255 mg kateşin/100 g kuru ağırlık”, “98.5 mg diğer fenolik asitler/100 g kuru ağırlık”, “40.1 mg kafeik asit/100 g kuru ağırlık” ve “37.8 mg diğer flavonoidler/100 g kuru ağırlık” tespit edilmiştir (Shan vd. 2005).

Biberiyenin hangi fenolik bileşiklerinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Moreno vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, fenolik bileşikler su ile ekstrakte edilmiş ve *Staphylococcus aureus*’a karşı gösterilen antimikrobiyal aktivitenin rosmarinik asit’den kaynaklandığı ortaya konulmuştur. Bu etkinin, bu bakteri grubundaki enzim inaktivasyonu ile sağlandığı saptanmıştır. Biberiyenin antioksidan özelliği ise, (antioksidan) (AOX) aktivitesi ölçülerek belirlenmiş ve biberiyeden fenolik bileşikler aseton, metanol ve su ile ekstrakte edilmiş ve en yüksek antioksidan aktivitenin aseton ile sağlandığını, bunu ise metanol ve su ekstraksiyonun izlediği ortaya konulmuştur. En yüksek antioksidan aktivitenin aseton ile ekstraksiyon sonucunda sırasıyla; rosmarinik asit ve karnosik asidin sağladığı tespit edilmiştir (Moreno vd. 2006). Gachkar vd. (2007) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, *Rosmarinus officinalis* L.’den elde edilen esansiyel yağ bileşiminin %23.7 piperitone, %14.9 alfa pinen, %14.9 linalool, %7.43 1,8-cineole, %4.97 kamphor, %3.68 borneol ve %3.3 kamphene olduğu tespit edilmiş ve bu esansiyel yağların, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin olduğu gösterilmiştir.

Misket (*Vitis rotundifolia*) üzüm suyunun suda çözünür biberiye ekstraktı (%0–0.4, v/v) ve AA ile zenginleştirilmesi ile uygulanan ısıtma işlem ve yüksek basınç uygulamalarının kopigmentasyon ve meyve suyu kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir (Talcott vd. 2003). Bu çalışma sonunda, biberiye ekstraktı ile antosiyaninler arasında kolayca kopigment-antosiyanin kompleksleri oluşmuş ve artan antioksidan aktivite ile birlikte %10–27 arasında konsantrasyona bağlı olarak hiperkromik kaymalar (yani kopigmentasyon etkisi) görülmüştür. AA varlığı özellikle biberiye ekstraktlı örneklerde, antosiyanin, AA ve antioksidan aktivite kayıplarına neden olmuştur. Isıtma işlem ve yüksek basınç uygulamalarının bu bileşenler üzerine olumsuz etkisi olsa da, yüksek basınç uygulamaları sonucunda kalıntı oksidaz enzimlerinden kaynaklanan etki nedeniyle daha

fazla antosiyanin kaybı tespit edilmiştir. Her ne kadar fizikokimyasal özellikler biberiye ekstraktı ile artırılmış olsa da, AA varlığında antosiyaninlerin parçalanmasını önlemek için, önce kalıntı enzimlerin inaktive edilmesi gerektiği önerilmiştir.

2.6 Mercanköşk

Mercanköşk bitkisi (*Origanum majorana* L.), Mısır ve Doğu Akdeniz ülkelerinde yabani olarak yetişen çok yıllık otsu bir bitkidir (Vera ve Chane-Ming 1999). Çeşitli türleri, ülkemizde Trakya, Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yabani olarak yetişmektedir. Ülkemizde, güveyotu, keklikotu ve mercanköşk isimleriyle bilinir (Baytop 1984). Ticari olarak yağı, baharatı ve sosu üretilmektedir (Vera ve Chane-Ming 1999).

Reunion Adası'nda yetiştirilen *Origanum majorana* L. ile yapılan bir çalışmada; mercanköşkün esansiyel yağ içeriği; terpinen-4-ol (%38), cis-sabinen hidrat (%15), p-cymene (%7), γ -terpinen (%7), sabinen (%5), α -terpineol (%5) ve α -terpinen (%3) olarak belirlenmiş olup, bu yağların da toplam uçucu yağın yaklaşık %80'ini oluşturduğu ortaya konulmuştur (Vera ve Chane-Ming 1999). Diğer bir çalışmada, mercanköşkten metanol ile fenolik maddeler ekstrakte edilmiş ve başlıca fenoliklerin; apigenin (%35.23), metil rosmenat (%31.58), rosmarinik asit (%15.15), luteolin-7-o-rutinoz (%9.38), p-kumarik asit (%0.38), gallik asit (%0.29), klorojenik asit (%0.25), kafeik asit (%0.16) ve ferulik asit (%0.12) olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada, metanol ekstraksiyonu dışında, toplam fenolik madde içeriği farklı ekstraksiyon çözümleri kullanılarak da belirlenmiş; metanol ekstraktında “5.20 mg GAE/g kuru ağırlık”, etanol ekstraktında “4.65 mg GAE/g kuru ağırlık”, dimetil eter ekstraktında “4.55 mg GAE/g kuru ağırlık”, hekzan ekstraktında ise “3.3 mg GAE/g kuru ağırlık” olarak bulunmuştur. Antioksidan kapasitesi DPPH yöntemiyle belirlenmiş ve antiradikal gücü (ARP) metanolde 769, etanolde 400, dietil eterde 500 ve hekzanda 285 olarak belirlenmiştir (Roby vd. 2013).

2.7 Nar Kabuğu

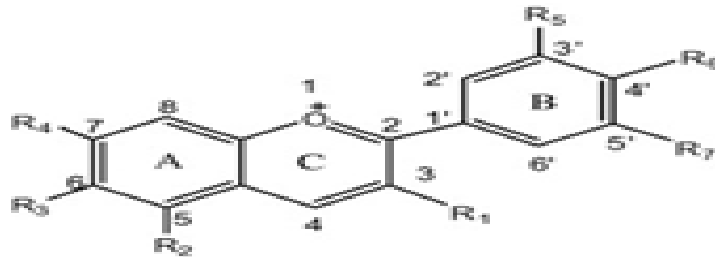
Nar (*Punica granatum* L.) *Punicaceae* ailesine ait olan uzunca yıllardan beri yetiştirilen bir meyvedir. Birçok tropikal ve subtropikal bölgede yaygın olarak yetiştirilmekte olup, son yıllarda nar üretiminde büyük artışlar (Zarei vd. 2011). Ülkemizde Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, 2018 yılında 537.847 ton nar üretimi yapılmıştır (Anonim 2019b). Narın ağırlığının ortalama %50'sini kabuğu ve iç zarlara oluşturmaktadır. Bu nedenle, meyve suyu endüstrisinde önemli düzeyde nar kabuğu atığı oluşmaktadır. Son yıllarda nar atıkları üzerine birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalar bu atıkların fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerinde yoğunlaşmıştır (Hasnaoui vd. 2014). Nar kabuğu; elajik tanenler, elajik asit ve gallik asit gibi önemli miktarda antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gösteren fenolik maddeleri içermektedir (Negi vd. 2013).

Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, narın farklı bölümlerinin (kabuk, dilim zarı ve çekirdek) farklı çözümler kullanılarak (aseton, aseton:su, (70:30, v:v), metanol, etanol ve su) polifenol içeriği, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri belirlenmiştir (Türkyılmaz vd. 2017). Yapılan bu çalışmada, nar kabuğunda gallik asit, punikalın, α -punikalajin, β -punikalajin ve elajik asit türevleri saptanmıştır. En fazla toplam fenolik madde miktarı (kabukta, 152 g/kg kuru ağırlık) ve en fazla antioksidan aktivite (ABTS metodu ile yine kabukta, 2519–2989 Mm/g kuru ağırlık) aseton:su (70:30, v:v) ile yapılan ekstraksiyonda tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, *Bacillus megaterium* ve *Staphylococcus aureus* karşı antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiş ve gram (+) bakterilerin gram (–) bakterilere kıyasla daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. En yüksek antibakteriyel aktivite, nar kabuğunda *Staphylococcus aureus*'a karşı agar kuyu difüzyon yöntemi ile 19.77–20.50 mm olarak belirlenmiştir. Nar kabuğunun yüksek antioksidan ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle sulu ekstraktlarının gıda katkısı ve koruyucusu olarak kullanılabileceği önerilmektedir. Buna karşın, Panichayupakaranant vd. (2010) yaptığı çalışmada, nar kabuğunun antibakteriyel, antienflamatuar ve anti-alerjik potansiyelleri belirlemiş, ancak sınırlı düzeyde mikroorganizma üzerine etkisi nedeniyle doğal koruyucu olarak kullanılmasını önermemişlerdir.

2.8 Antosiyaninler ve Antosiyaninlerin Yapısı

Antosiyaninler; meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renklerini veren, suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir (Cemeroğlu 2009). Antosiyanin, Yunanca'da antos=çiçek ve kianos=mavi anlamlarına gelen bitkilerin en önemli pigmentlerinden biridir. Antosiyaninler antioksidan aktiviteleri nedeniyle; kanser, şeker, nöronal ve kardiyovasküler hastalıkları önleyici etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Castañeda-Ovando vd. 2009).

Kimyasal açıdan antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikozitleridir. Antosiyaninler kısmi bir hidrolize uğratılırsa ve glikozit bağı ile bağlanmış bileşik ayrılırsa geriye antosiyanidin kalır ve bu kısma da aglikon denir. Diğer kısım yani aglikona bağlı kısım, çeşitli şekerlerden oluşmaktadır. Antosiyanidinlerin yapısını temelini 2-fenilbenzopirilium (flavilyum katyonu) oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak bütün antosiyanidinler flavilyum katyonundan türemiştir. Flavilyum katyonu $C_6C_3C_6$ karbon iskeleti ile karakterize edilir. Bu yapıdaki bileşiklere de, fenolik bileşikler denir (Cemeroğlu 2009). Antosiyanidinlerin temel yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Antosiyanidinlerin (aglikon) bir aromatik zincire (A) bağlı olan oksijen içeren bir heterosiklik zincir (C) ve buna C-C bağı ile bağlı üçüncü bir aromatik zincire bağlı halkadan oluşur (Castañeda-Ovando vd. 2009). Doğada yaygın olarak bulunan antosiyanidinler, Çizelge 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1 Antosiyanidin yapısı (Castañeda-Ovando vd. 2009)

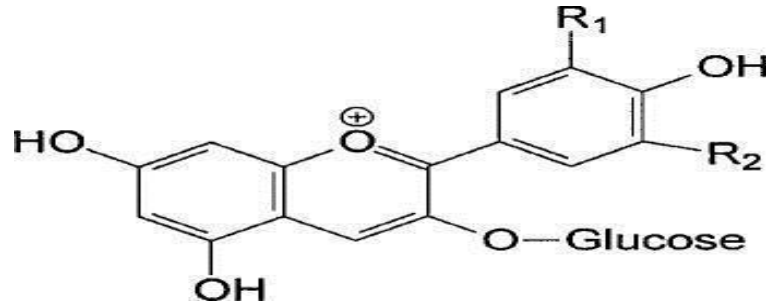
Çizelge 2.1 Bazı önemli antosiyanidinler (Castañeda-Ovando vd. 2009)

Antosiyanidin	Bağlı gruplar							Renk
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
Siyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu-kırmızı
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mavi-kırmızı
Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Mavi-kırmızı
Pelargodin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu
Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Turuncu-kırmızı
Petunidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Mavi-kırmızı

Doğada 23 adet antosiyanidin bulunmasına karşın, 500 den fazla antosiyanin bulunmaktadır. Bu farklılık moleküldeki hidroksil grubu sayısına, moleküle bağlanan şeker sayısına ve şekerin bağlanma pozisyonuna, ayrıca moleküldeki şekere bağlanan alifatik ve aromatik karboksilatların yapısına ve sayısına bağlıdır (Castañeda-Ovando vd. 2009). Genel olarak bitkilerde yaygın olarak rastlanılan antosiyanidinler; pelargodin (Pg), siyanidin (Cy), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv)'dir. Meyve ve sebzelerde en yaygın bulunan antosiyanidin %50 oranı ile Cy'dir. Dp, Pg ve Pn %12, Pt ve Mv ise %7 oranında bulunmaktadır (Castañeda-Ovando vd. 2009). Antosiyaninlerde çoğunlukla 4 farklı şekerden (bulunuş sıklığına göre glukoz, ramnoz, galaktoz ve arabinoz) birisi, ikisi veya üçü birlikte yer alabilmektedir. Ancak antosiyanin molekülüne çoğunlukla sadece bir şeker molekülü bağlıdır ve bu bazı istisnalar dışında daima 3. pozisyonundaki karbon atomunda yer almaktadır (Şekil 2.2).

Antosiyanidin molekülüne şeker bağlanmasıyla oluşan antosiyaninler bağlanan şekerin ismi ve bağlandığı pozisyonun belirtilmesiyle adlandırılır. Doğada en yaygın olarak bulunan antosiyanin siyanidinin 3. pozisyonuna bir glukoz bağlanmasıyla oluşan siyanidin-3-glukozittir ve kısaca "Cy-3-glu" olarak adlandırılır (Cemeroğlu 2009). Doğada yaygın olarak bulunan antosiyaninler, Çizelge 2.2, meyve ve sebzelerde bulunan başat antosiyaninler ise, Çizelge 2.3'de verilmiştir. Antosiyanidinlere bağlanan bileşikler sadece şekerlerle sınırlı değildir. Bazen, antosiyaninler sinamik asitler (kafeik,

p-kumarik, ferulik ve sinapik) veya alifatik asitler (asetik, malik, malonik, oksalik ve süksinik) ile de açillenebilmektedirler (Clifford 2000).



Şekil 2.2 Antosiyanin genel yapısı (Clifford 2000)

Çizelge 2.2 Bazı önemli antosiyaninler (Clifford 2000)

R ₁	R ₂	Antosiyanin
H	H	Pelargonidin-3-glukozit
OH	H	Siyanidin-3-glukozit
OH	OH	Delfinidin-3-glukozit
OCH ₃	H	Peonidin-3-glukozit
OCH ₃	OH	Petunidin-3-glukosit
OCH ₃	OCH ₃	Malvidin-3-glukosit

Çizelge 2.3 Bazı meyve ve sebzelerdeki bulunun başat antosiyaninler (Patrassa vd. 2010)

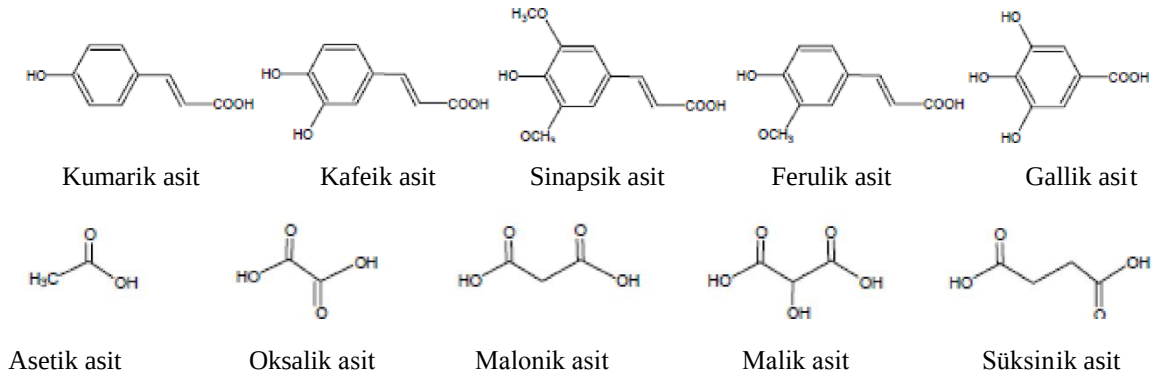
Meyve ve sebzeler	Başat antosiyanin
Çilek	Pelargonidin-3-glukozit
Böğürtlen	Siyanidin-3-glukozit
Ahududu	Siyanidin-3-glukozit
Kiraz	Siyanidin-3-rutinosit
Frenk üzümü	Siyanidin-3-rutinosit
Yaban mersini	Delfinidin-3-galaktosit
Kırmızı soğan	Siyanidin-3-glukozit
Kan portakalı	Siyanidin-3-glukozit

2.9 Antosiyaninlerin Stabilitelerini Etkileyen Faktörler

Bitkisel dokulardan izole edilmiş antosiyaninler oldukça kararsız olup, kolayca parçalanabilmektedir. Antosiyaninlerin yapay renklendiricilere alternatif olarak kullanılmaları ve insan sağlığına yararlı etkilerinden dolayı, antosiyaninlerin stabilitesi üzerine son yıllarda birçok araştırma yapılmıştır (Castañeda-Ovando vd. 2009). Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen başlıca faktörler; sıcaklık, pH, oksijen, antosiyanin yapısı, ışık, enzimler, diğer bileşikler (ışık, enzimler ve şekerler) ve kopigment varlığıdır (Rein 2005).

2.9.1 Yapısal etkiler

Aglıkona bağlı glikozil birimleri ve açıl grupları (Şekil 2.3) ve bunların bağlanma yeri, antosiyanin molekülünün kararlılığı ve reaktivitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca antosiyanidindeki hidroksil ($-OH$) ve metoksil ($-OCH_3$) gruplarının sayısı ve konumu pigment molekülünün kimyasal davranışını etkiler (Rein 2005).



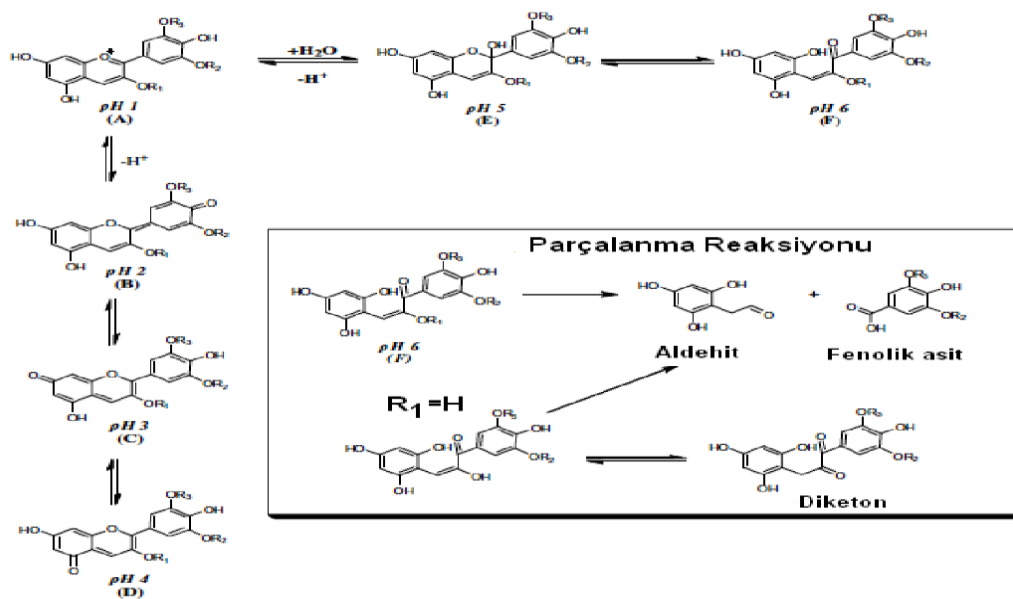
Şekil 2.3 Antosiyaninlerde yaygın olarak bulunan açıl grupları (Rein 2005)

Kimyasal yapıda meydana gelen metoksilasyon stabiliteyi artırırken, hidroksilasyon azaltmaktadır. Bu nedenle yüksek metoksilasyona sahip maldivin en stabil antosiyanidinken, delfinidin ise yüksek hidroksilasyon özelliğinden dolayı stabilitesi en düşük antosiyanidin olarak bilinmektedir (Ersus ve Yurdagel 2006). Kimyasal yapıda

meydana gelen metoksilasyon ve hidroksilasyon sadece stabilizasyonu etkilememekte, aynı zamanda renk yoğunluğunu da etkilemektedir. Moleküldeki hidroksil grubu arttıkça renk daha yoğun bir mavilik kazanırken, buna karşın metoksil grubu arttıkça kırmızı ton güçlenmektedir (Mazza ve Brouillard 1987). Bunun yanında, moleküldeki açıl gruplarının artması da antosiyaninlerin stabilitesini artırmaktadır (Mazza ve Miniati 1993).

2.9.2 pH

Antosiyaninler düşük pH derecelerindeki asidik ortamlarda, yüksek pH derecelerindeki alkali çözeltilerde olduğundan daha stabildir (Rein 2005). Bir çözeltideki antosiyanin 4 farklı formda ve denge halinde bulunur; hangi formun etkili olacağı ortamın pH değerine bağlıdır. Şekil 2.4'te de görüldüğü gibi, pH 1'de kırmızı renkteki flavilyum katyonu (A) baskındır ve bu katyon mor-kırmızı rengin oluşumunda etkilidir. Buna karşılık pH 2–4 aralığında quinoidal baz (B-D) baskın hale geçer ve mavi renk oluşurken, pH 5–6'da karbinol psödobaz (E) ve kalkon (F) adı verilen renksiz yapılar oluşmaktadır. Eğer pH değeri 7'den yüksek ise, antosiyaninler kendilerini oluşturan bileşiklere (antosiyanin, şeker ve açıl gruplarına) parçalanmaktadır (Castañeda-Ovando vd. 2009).



Şekil 2.4 Antosiyaninlerin pH'ya bağlı kimyasal yapıları (Castañeda-Ovando vd. 2009)

2.9.3 Sıcaklık

Antosiyaninler, sıcaklığa karşı çok duyarlıdırlar. Gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasında sıcaklığın artması ile antosiyaninlerin parçalanma hızı da artar. Antosiyaninlerin parçalanması genellikle birinci dereceden kinetik modele uymaktadır. Termal yolla antosiyanin parçalanması özellikle oksijen varlığında kahverenkli bileşiklerin oluşmasına neden olur (Rein 2005). Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada; 30, 45 ve 64°Bx değerlerinde, pH 4,3'te ve 4, 20 ve 37°C'lerde depolanan siyah havuç suyu konsantrelerinde antosiyanin parçalanmasının birinci dereceden kinetik modele uyduğu ve depolama sıcaklığı arttıkça antosiyaninlerin daha hızlı parçalandığı ortaya konulmuştur (Kırca vd. 2007). Örneğin, 4°C'de 30°Bx değerlerinde siyah havuç antosiyaninlerinin parçalanmasına ilişkin $t_{1/2}$ değeri 71.8 hafta iken, sıcaklığın 20°C'ye çıkması ile bu değer 18.7 hafta, sıcaklığın 37°C çıkması ile de 4.1 haftaya düşmüştür. Aynı çalışmada, siyah havuç suyu konsantrelerinin depolama süresince antosiyaninlerin parçalanma hızları, brix değerleri arttıkça yavaşlamıştır. Örneğin, 64°Bx değerindeki konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin parçalanması ilişkin $t_{1/2}$ değerleri 4, 20 ve 37°C sıcaklıklarda, sırasıyla 215 hafta, 35.9 hafta ve 4.0 hafta olarak bulunmuştur.

2.9.4 Oksijen

Oksijen, antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan diğer faktörlerinin etkisini artırır. Daha önce değinildiği gibi, oksijenin uzaklaştırılması antosiyaninleri termal yolla parçalanmasına karşı korur. Yüksek sıcaklık ve oksijenin varlığı, antosiyaninlerin renklerini kaybetmelerine neden olan en önemli iki faktördür. Antosiyaninler ayrıca oksijen radikalleri olan peroksi radikalleri ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonlarda antosiyaninler, antioksidan olarak etki gösterirler ve antosiyaninlerin bu özelliği kardiyovasküler hastalıklara karşı vücudun korunmasına katkı sağlar. Oksijen doğrudan antosiyaninleri parçalayabildiği gibi, oksijenin ortamda bulunan diğer maddeleri okside etmesiyle oluşan oksitlenmiş maddeler de antosiyaninlerle etkileşime girerek kahverengi bileşiklerin oluşumuna neden olabilir (Rein 2005).

2.9.5 Diğer faktörler

Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen diğer önemli faktörlerin başında; ışık, enzimler ve şekerler gelmektedir. Işık, antosiyaninleri iki farklı şekilde etkiler. Işık antosiyaninlerin biyosentezi için önemlidir, ama aynı zamanda antosiyaninlerin parçalanmalarını da hızlandırır. Antosiyaninler 24 saat pH 2.3'te oda sıcaklığında ışıklı ve karanlık ortamlarda tutulduğunda, karanlık ortamda rengini daha iyi korudukları gözlemlenmiştir (Rein 2005).

Enzimlerin inaktivasyonu, antosiyanin stabilitesini artırır. Antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan en önemli enzimler, glikozidazlardır. Bu enzimler antosiyaninlerin aglikon kısmı ile şeker kısmı arasındaki kovalent bağı parçalayarak, daha kararsız antosiyanidin oluşumuna neden olurlar. Peroksidazlar ve fenolazlar; örneğin fenol oksidaz ve polifenol oksidaz doğal olarak meyvenin yapısında bulunan ve antosiyaninleri parçalayan en önemli enzimlerdir. Sağlıklı bir hücrede antosiyaninler (vakuollerde) ve bu enzimler (lizozomlarda) farklı organellerde bulundukları için, enzimatik parçalanma meydana gelmez. Ancak, gıdaların işlenmesinde uygulanan parçalama ve sıcaklık uygulamaları sonucunda, hücre yapısı bozulmakta ve antosiyaninler ile bu enzimler bir araya gelerek antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. Antosiyanin parçalanmasında kinonlar da önemli rol oynar. Bilindiği üzere, fenolik maddelerin enzimatik yolla parçalanması, yani enzimatik esmerleşme, sonucunda kinonlar oluşmakta ve bu kinonlar da antosiyaninler ile reaksiyona girerek antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009).

Şekerler ve onların parçalanma ürünleri (furfural ve hidroksimetilfurfural-HMF) de, antosiyaninlerin parçalanma hızını artırır. Şekerler meyvelerin yapısında doğal olarak bulunduğu gibi, gıda üretim işlemleri sırasında da meyve ürünlerine eklenebilir. Şekerlerin parçalanma ürünlerinden furfural, diğer parçalanma ürünü olan HMF'a göre antosiyaninlerin parçalanma hızını daha çok artırır. Antosiyaninlerin şekerler ve askorbik asit ile parçalanmasıyla da esmer renkli polimer bileşikler oluşur (Rein 2005). Bu bileşiklerin etkisine daha sonra değinilecektir.

2.10 Kopigmentasyon

Buraya kadar antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan reaksiyonlar açıklanmıştı. Bu olumsuz etkilere karşı, antosiyaninlerin renklerini stabilize eden ve hatta renklerini artıran reaksiyonlar da bulunmaktadır. Bu reaksiyonların başında, kopigmentasyon olarak adlandırılan reaksiyonlar gelmektedir. Kopigmentasyon; ilk kez 1916 yılında Willstatter ve Zollinger tarafından incelenmiş ve bu çalışmada üzüme rengini veren oenin (mv-3-glu) tannin ve gallik asit ilavesiyle renk tonunun değiştiği saptanmıştır. Daha sonra, Robinson ve Robinson (1931), aynı antosiyaninin farklı çiçek yapraklarında farklı renk tonuna ve farklı antosiyaninlerin de bitkilerin farklı yerlerinde aynı renk tonuna neden olduklarını belirlemiştir. Bitki vakuollerinde bulunan serbest antosiyaninler, zayıf asidik pH koşullarının olduğu ortamlarda renksizdirler. Buna rağmen antosiyaninler, doğada renkli halde bulunurlar. Bunun başlıca nedeni, antosiyaninlerin bazı bileşiklerle reaksiyona girmesi ve bu reaksiyonlar sonucunda stabilizasyonlarının artmasıdır. Bu stabilizasyondan sorumlu olan bileşikler kopigment olarak adlandırılır ve bu bileşikler; meyve, sebze ve çiçeklerin yapısında doğal olarak bulunurlar. (Rein 2005). Kopigmentler çoğunlukla kendi başına renksizdir; fakat antosiyanin çözeltisine eklendiklerinde; antosiyanin stabilitesini ve çözeltinin renk yoğunluğunu artırır (Kırca 2004). Kopigmentasyon, hem renk yoğunluğunun artmasına (hiperkromik etki, A_{maks} değerindeki değişim) hem de antosiyaninlerin görünür bölgede maksimum absorbans gösterdikleri dalga boyunun (λ_{maks}) artmasına (batokromik etki) neden olur (Rein 2005).

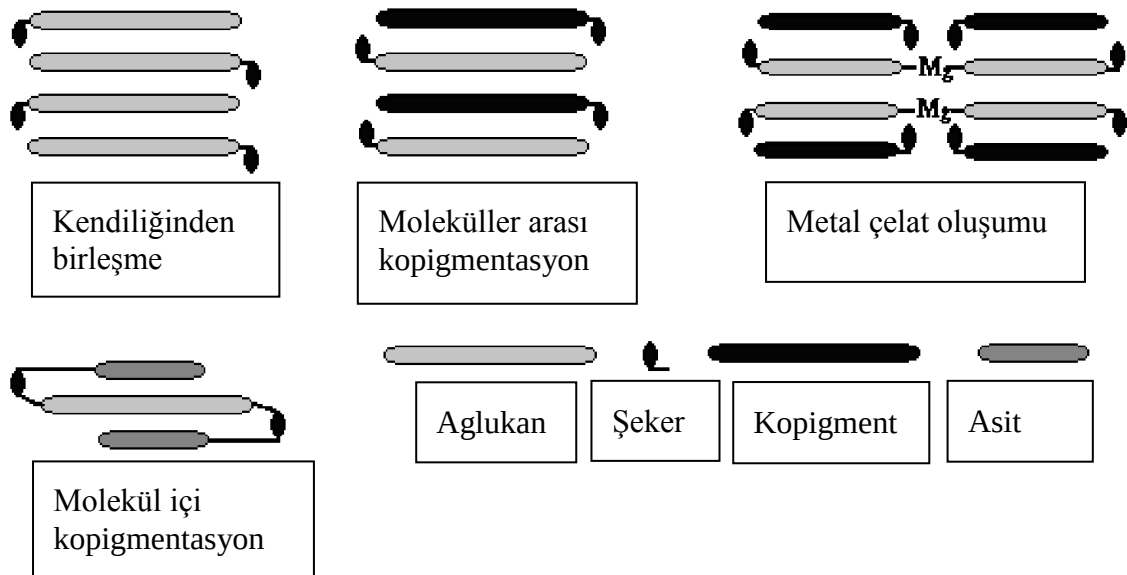
2.10.1 Kopigmentler

Kopigmentler genellikle renksiz olmalarına karşın, bazen az da olsa sarımsı renkte oldukları bilinmektedir. Genel olarak kopigmentler antosiyaninlerle beraber bitki dokusunda bulunurlar. Birçok bileşik, kopigment olarak etki göstermektedir. En etkin kopigmentlerin başında flavonoidler gelmekle beraber, bunun yanında alkaloidler, amino asitler, organik asitler ve nükleotidler de kopigment olarak etki göstermektedirler. Ayrıca antosiyaninler de, kopigment olarak davranarak diğer

antosiyeninlerle kompleks oluşturabilmektedirler (Cemeroğlu vd. 2009). Flavoneller arasında da, rutin ve kuersetin en etkili kopigmentlerdir (Rein 2005).

2.10.2 Kopigmentasyon türleri

Kopigmentasyon antosiyeninlerde 4 farklı yolla gerçekleşse de, en yaygın olan kopigmentasyon moleküller arası (intermolecular) ve molekül içi (intramolecular) kopigmentasyonlardır (Rein 2005). Bunun dışında, antosiyeninlerin kopigmentasyonunda, kendiliğinden birleşme (self-association) ve metal çelat oluşumları da söz konusudur (Castañeda-Ovando vd. 2009). Şekil 2.5’de, antosiyeninlerin yaptığı 4 farklı kopigmentasyon mekanizması görülmektedir (Rein 2005). Moleküller arası kopigmentasyon, renkli antosiyenin ve renksiz kopigment arasında gerçekleşir. Bu etkileşimde, kovalent bağ oluşmaz. Hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimler, moleküller arası kopigmentasyonun temel mekanizmalarıdır. Moleküller arası etkileşim, antosiyenin hem flavilum hem de kuinoidal formuyla oluşabilir (Rein 2005).



Şekil 2.5 Antosiyenin interaksiyonları (Rein 2005)

Molekül içi kopigmentasyon, antosiyanidin çekirdeği ile kromoforik olmayan aromatik asit arasında gerçekleşir. Bu kopigmentasyonda, antosiyaninlerin yapısında bulunan şeker gruplarına, ester bağıyla organik asitlerin bağlanmasıyla açillenmiş yapılar oluşmaktadır. Özetle, molekül içi kopigmentasyonda, açılasyon mekanizması ile antosiyaninlerin stabilizasyonunu sağlanmaktadır. Bu kopigmentasyonda, açıl grubu, antosiyaninin şeker grubuna güçlü kovalent bağla bağlanmaktadır. Molekül içi kopigmentasyonda oluşan bu kovalent bağ, moleküller arası kopigmentasyonda oluşan hidrojen bağdan çok daha kuvvetli olduğu için, antosiyanin stabilizasyonu, molekül içi kopigmentasyonda çok daha güçlü olmaktadır. Nötr pH'larda normalde renksiz olması gereken antosiyaninlerin, renkli olmalarının başlıca nedeni de, molekül içi kopigmentasyonla oluşan bu açillenmiş antosiyaninlerdir (Rein 2005).

“Kendiliğinden birleşme (self-association)” kopigmentasyonunda ise, antosiyanidin çekirdeği ile antosiyanidin çekirdeği ya da aromatik açıl grupları arasında molekül içi interaksiyon söz konusudur. Bu kopigmentasyon, özellikle şarapların olgunlaştırılması sırasında meydana gelmekte ve böylece şarapların renk yoğunluğu artmaktadır (Boulton 2001). Metal çelat kopigmentasyonu, gıda endüstrisinde çok az ilgi çeken bir kopigmentasyon türüdür. Bunun başlıca nedeni de, gıda ürünlerinde metal kontaminasyonunun istenmemesidir. Bu kopigmentasyon, sadece B halkasında birden fazla serbest hidroksil grubu içeren antosiyaninlerde (delfinidin-3-glukozit ve cy-3-glu) gerçekleşmektedir (Rein 2005). Antosiyaninlerle yaygın olarak kompleks oluşturan metaller; kalay (Sn), bakır (Cu), demir (Fe), alüminyum (Al), magnezyum (Mg) ve potasyum (K)'dur. Birçok çiçeğin rengi, kırmızı flavilyum tuzları ile mavi metal çelatlar arasındaki etkileşimden kaynaklanmaktadır (Rein 2005).

2.11 Limon Suyu Bileşimi

Turunçgil üretimi, yıllık yaklaşık 102 milyon tonluk üretim ile dünyanın en önemli meyve ağacı üretimidir. Tanaka tarafından oluşturulan morfolojik sisteme göre, limon; *Citrus limon* (L.) *Burm. f. Lemon* olarak sınıflandırılır. Limon; portakal ve mandalinalardan sonra üçüncü en önemli turunçgil türüdür (González-Molina vd. 2010).

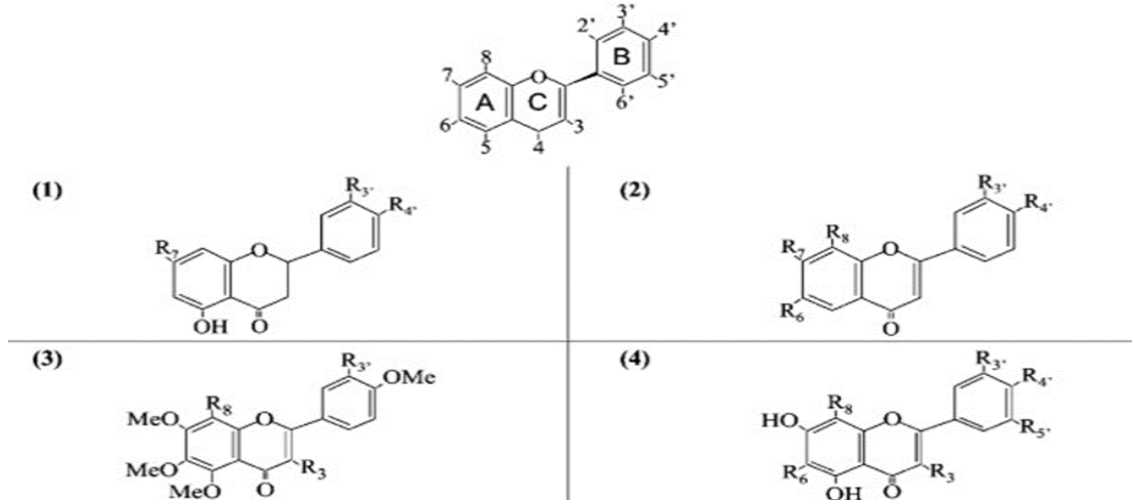
Ülkemizde 2018 yılında T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı verilerine göre 1.100.000 ton limon üretimi gerçekleştirilmiştir (Anonim 2019a).

Limon meyvesi; fenolik bileşikler (başlıca flavonoidler), askorbik asit, sitrik asit, mineraller, diyet lifi, uçucu yağlar ve karotenoidler olmak üzere birçok önemli bileşeni içerir. İnsan sağlığına yararlı etkileri, yani antioksidan aktiviteleri, içerdiği askorbik asit ve flavonoidlerle ilişkilendirilmiştir. Genel olarak, flavonoidler bakımından zengin limon meyvesi; özellikle obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve belirli kanser türleri gibi hastalıkların önlenmesinde rol oynarlar. Limon meyvesinin başat bileşenleri; diyet lifi (2.8 g/100 g), sitrik asit (5–6 g/100 mL), askorbik asit (40-50 mg/100 g), B grubu vitaminlerinden folik asit ve niasin (sırasıyla 53 ve 0.1 mg/100 g), mineraller ise Ca, K, Mg ve P (sırasıyla 26, 138, 8 ve 16 mg/100 g) olarak bulunmuştur (González-Molina vd. 2010). *Fino* ve *verna* limon çeşitlerinden elde edilen limonların “78 mg/100 mL” gibi yüksek bir askorbik asit içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Marı’n vd. 2002).

2.11.1 Fenolik bileşikler

Limonlarda bulunan başlıca fenolik bileşikleri, flavonoidler oluşturmaktadır. Flavonoidlerden de, limonlarda bulunan en önemli gruplar: flavonlar, flavonol ve flavanonlardır. Flavonoidlerin yapısında bulunan 2 aromatik halka (A ve B), piron ve hidropiron bağları ile “C” halkasına bağlıdır. Turunçgil türlerinde 60’den fazla flavonoid tanımlanmıştır. Şekil 2.6’da limon meyvesinde bulunan flavonoidlerin yapısı verilmiştir.

Limon meyvelerinde flavonoid miktarı çeşidine ve olgunluk aşamasına bağlıdır (González-Molina vd. 2010). Çizelge 2.4’de limon meyvesinde bulunan başlıca flavonoidler verilmiştir. Narenciye flavonoidleri, glikozil ve aglikon ünitelerinden oluşur ve meyve sularında glikozil türevleri (flavonoid glikozil) şeklinde bulunurlar. Glikozil formları 2 tiptir; L-ramnozil ve D-glukozil türevleridir. Bunlar neohesperidosides ve rutinosides olarak sınıflandırılır ve α -1,2 ve α -1,6 glikozidik bağlarla bağlıdır (González-Molina vd. 2010).



Şekil 2.6 Limon meyvesindeki flavonoidler (González-Molina vd. 2010)

Flavanonlar en çok bulunan turunçgil flavonoidlerdir (örneğin greyturda %98, misket limonunda %96 ve limonda %90). Flavanonlar zayıf asittir ve kolaylıkla asidik ve bazik ortamlarda izomerik kalkonlara dönüşebilirler. Limon sularında; hesperidin, neohesperidin ve homoeriodictyol 7-O-rutinosit'in iki izomeri tanımlanmıştır (González-Molina vd. 2010). Limon meyvesinden izole edilmiş iki C-glukozilflavon: diosmetin 6,8-di-C-glukozit ve diosmetin 6-C-D-glukozittir. Bu flavonlar misket limonlarında da bulunur, ama diğer narenciye meyvelerinde bulunmaz. Limon suyunda düşük miktarlarda visenin-2 ve diosmin tespit edilmiştir. Ayrıca, 6,8-di-C-glukozit olan chrysoeriol, apingenin-7 (malonilapiosil)-glukozit ve diosmetin 8-C-D-glukozit de tanımlanmıştır (González-Molina vd. 2010). Buna karşın, limon meyvesinde bulunan polimetoksil flavonlar (PMFs) ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Çalışmalarda sadece ya kabukta ya da limon meyvesinin yenilebilir kısmında, sinensetin, nobiletin, 3,5,6,7,8,3',4'-heptametoksiflavon, natsudaidain ve tangeretin tespit edilmiştir. Limon suyunda flavonollerden en fazla rutin ve mirisetin saptanmıştır. Kuersetin ve kampferol ise, hem kabuk da hem de meyve suyunda bulunmaktadır (González-Molina vd. 2010).

Çizelge 2.4 Limon meyvesinde bulunan başlıca flavonoidler (González-Molina vd. 2010)

Flavanonlar (1)	R ₇	R ₃ '	R ₄ '
Eriyositrin (Eriyodiktol 7-O-rut)	O-rut	OH	OH
Hesperedin (Hesperetin 7-O-rut)	O-rut	OH	0Me
Homoeriyodiktol 7-O-rut	O-rut	0Me	OH
Naringin (Naringenin 7-O-nh)	O-nh	H	OH
Neohesperidin (Hesperetin 7-O-nh)	O-nh	OH	0Me
Neoeriositrin (Eriyodiktol 7-O-nh)	O-nh	OH	OH
Narirutin (Naringenin 7-O-rut)	O-rut	H	OH

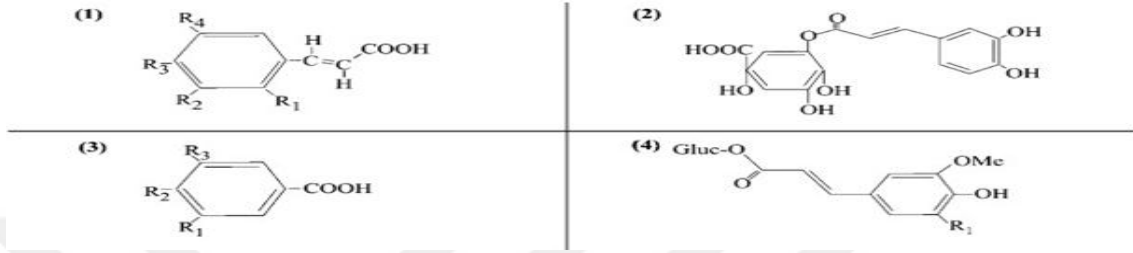
Flavonlar (2)	R ₆	R ₇	R ₈	R ₃ '	R ₄ '
Diosmetin 6,8-di-C-β-glu	Glu	OH	Gluc	OH	OMe
Diosmin (Diosmetin 7-O-rut)	H	0-rut	H	OH	OMe
Visenin-2 (Apigenin 6,8-di-C-glu)	Glu	OH	Glu	H	OH
Chrysoeriol 6,8-di-C-glu (Stellarin-2)	Glu	OH	Glu	OMe	OH
Luteolin 6,8-di-C-glu (Lusenin-2)	Glu	OH	Glu	OH	OH
Luteolin 7-O-rut	H	0-rut	H	OH	OH
Apigenin 7-(malonylapiosyl)-glu	H	0-Api-Glu	H	H	OH
Diosmetin 6-C-β-D-glu	Glu	OH	H	OH	OMe
Diosmetin 8-C-β-D-glu	H	OH	Glu	OH	OMe

Polimetoksil flavonlar (PMFs) (3)	R ₃	R ₈	R ₃ '
Sinensetin	H	H	OMe
Nobiletin	H	OMe	OMe
3,5,6,7,8,3',4'-Heptametoksiflavon	OMe	OMe	OMe
Natsudaïdain	OH	OMe	OMe
Tangeretin	H	OMe	H

Flavonoller (4)	R ₃	R ₆	R ₈	R ₃ '	R ₄ '	R ₅ '
Rutin (Kuersetin 3-O-rut)	O-rut	H	H	OH	OH	H
Kuersetin	OH	H	H	OH	OH	H
Kampferol	OH	H	H	H	OH	H
Mirisetin	OH	H	H	OH	OH	OH
Iso-/limositrol 3-β-D-glu	O-Glu	OMe	OMe	OH	OMe	H
Limositrin 3-β-D-glu	O-Glu	OMe	OMe	OMe	OH	H

*Glu:glukozid, rut: rutinosid, nh:neohesperidosid.

Limon suyunda bulunan diğ er fenolik bileşikler (Çizelge 2.5) ise; kafeik, ferulik, sinapik, *p*-kumarik, protokateşuik, *p*-hidroksibenzoik ve vanillik asitlerdir. Fenolik asitlerin yanında limon sularında 1-feruloil-β-D-glukopiranozit ve 1-sinapoil-β-D-glukopiranozit de tanımlanmıştır (González-Molina vd. 2010). şekil 2.7’de limon meyvesinde bulunan diğ er fenolik bileşiklerin yapısı verilmiştir.



şekil 2.7 Limon meyvesinde bulunan diğ er fenolik bileşiklerden bazılarının kimyasal yapıları (González-Molina vd. 2010)

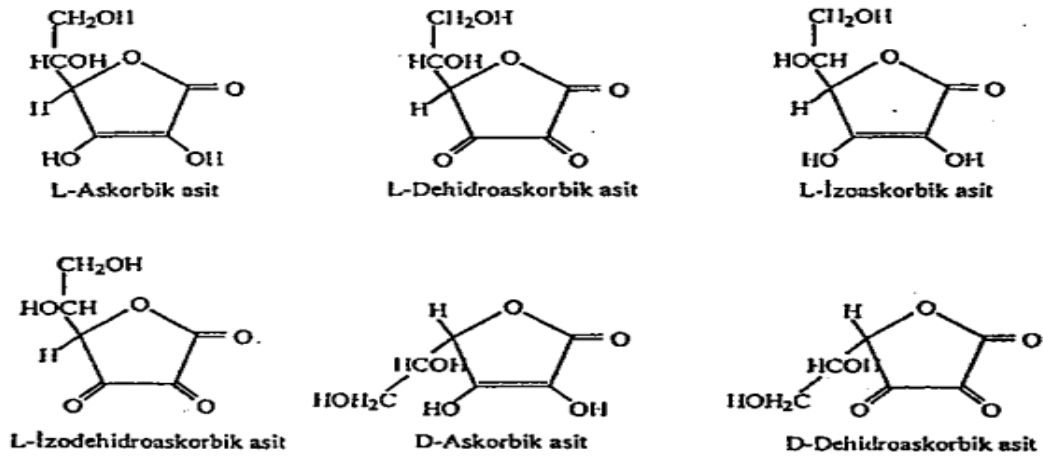
*Glu=Glukozid, 1: Hidroksinnamik asitler, 2: Klorojenik asit, 3: Benzoik asitler ve 4: Diğ erleri.

Çizelge 2.5 Limon meyvesinde bulunan diğ er fenolik bileşikler (González-Molina vd. 2010)

Hidroksinnamik asitler (1)	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Kafeik asit	H	H	OH	OH
Ferulik asit	H	H	OH	OMe
Sinapik asit	H	OMe	OH	OMe
<i>p</i> -Kumarik asit	H	H	OH	H
Klorojenik asit (2)				
Benzoik asitler (3)	R ₁	R ₂	R ₃	
Prokateşuik asit	H	OH	OH	
<i>p</i> -Hidroksibenzoik asit	H	OH	H	
Vanilikasit	H	OH	OMe	
Diğ�erleri (4)	R ₁			
1-Feruloil-β-D- glukopyraoside	H			
1-Sinapoly-β-D- glukopyroniside	OMe			

2.11.2 Askorbik asit (AA)

Limon suyu, çeşitten çeşide farklılık gösterse de genelde yüksek miktarda (50 mg/100 mL) AA içermektedir (Lee ve Kader 2000). AA'nın farklı izomerleri olup, doğada L-askorbik asit formunda bulunur. L-askorbik asit, kuvvetli indirgen özellik göstermektedir. Suda çözünürlüğü yüksektir. Bu özelliği, lakton halkasındaki karbonil grubu ile konjuge olan enediol yapısından kaynaklanmaktadır. AA'nın D izomeri, L izomerinin %10'u düzeyinde aktiviteye sahiptir. Diğer bir izomeri olan D-izo-askorbik asit ise vitamin aktivitesine sahip değildir. Bununla birlikte, L-askorbik aside benzer şekilde davrandığı için, birçok gıdaya antioksidan olarak eklenmektedir. AA, kimyasal yapısından dolayı birçok faktörün etkisi ile kolayca parçalanabilmekte ve tiyamin ile birlikte en duyarlı iki bileşikten birisidir (Kırca ve Cemeroğlu 2001). Şekil 2.8'de AA'nın çeşitli izomerleri verilmiştir.

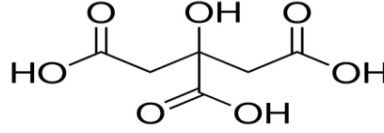


Şekil 2.8 AA'nın çeşitli izomerleri (Kırca ve Cemeroğlu 2001)

2.11.2.1 Askorbik asidin parçalanması

Sıcaklık, su aktivitesi (a_w), pH, ışık, çözünmüş oksijen konsantrasyonu, metal iyonları (özellikle Cu ve Fe), şekerler, fenolik bileşikler ve sülfidler AA'nın parçalanmasına neden olan faktörlerdir (Kırca ve Cemeroğlu 2001). Askorbik asit; aerobik, anaerobik ve enzimatik olmak üzere 3 yolla parçalanmaktadır. AA'nın parçalanma mekanizmaları,

sitrik asit içerir (González-Molina vd. 2010). Şekil 2.10'da sitrik asidin yapısı verilmiştir.



Şekil 2.10 Sitrik asidin yapısı

2.11.4 Uçucu yağlar

Limon meyvesinde ve kabuğunda çeşitli uçucu yağlar bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada limon meyvesinin uçucu yağ bileşimi; monoterpenler (kamfen, limonen, terpinolen, osimen), oksijenlenmiş monoterpenler (linalaol, kamfor, sitronellal, nerol, linalool), seskiterpenler (valensen, β -Limon), oksijenli seskiterpenler (karyofillen alkol, nonanol, 3-heptanon) ve diğer oksijenli bileşikler (n-nonanal, linoleik asit, bütül asetat, palmitik asit, sitral, sitropen) olarak tespit edilmiştir (González-Molina vd. 2010).

2.12 Limon Suyu Bileşiminin Antosiyaninlere Etkisi

2.12.1 Askorbik asit ve parçalanma ürünlerinin etkisi

AA varlığı, antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Rodriguez-Saona vd. 1999, Garzón ve Wrolstad 2002, Brenes vd. 2005). Jurd (1972) tarafından önerilen ve daha sonra Poei-Langston ve Wrolstad (1981) geliştirilen mekanizmada; antosiyaninlerin AA varlığında parçalanması, antosiyanin molekülünün 4. C'nu üzerinde AA'nın doğrudan kondensasyonu sonucu, iki bileşiğin de parçalanmasıyla sonuçlanır. Öte yandan, Iacobucci ve Sweeny'ye (1983) göre, AA'nın neden olduğu antosiyanin renginin kaybı, AA'nın bir moleküler oksijen aktivatörü olarak işlev gördüğü serbest radikal mekanizması ile piridil halkasının oksidatif ayrılmasıyla serbest radikal oluşumu ile açıklanmaktadır. Bu çalışmalardan farklı olarak, Shrikhande ve Francis (1974), flavonol varlığının, AA varlığında antosiyaninlerin parçalanmasında

koruyucu etki gösterdiğini, bunu da kondensasyon reaksiyonlarında antosiyaninlerin yerine flavanollerin reaksiyona girerek antosiyaninleri koruduğu ile açıklamışlardır. Ancak, AA ve parçalanması ile oluşan ürünler, ortamda koruyucu bileşiklerin olmadığı durumlarda antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Calcavanti vd. 2011). Antosiyanin parçalanması, AA'ın parçalanmasından 5 ila 10 kat daha hızlı olduğu ortaya konulmuştur (De Rosso ve Mercadante 2007). Iversen (1999), 20°C'de ışık altında saklanan siyah frenk üzümü nektarında, antosiyanin parçalanma hızının AA'inkinden 4 kat daha hızlı olduğunu saptamıştır. Metal iyonların varlığında, metal iyonu-antosiyanin komplekslerinin oluşumu, AA oksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (Sarma vd. 1997).

2.12.1.1 Askorbik asit ve dehidro askorbik asit etkisi

AA, oksijen ile reaksiyona girerek antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Markakis vd. 1957, Starr ve Francis 1968). Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, vişne ve nar suyu antosiyaninlerinin AA varlığında H₂O₂'in üç farklı konsantrasyonunda (4.65, 6.98 ve 9.31 mmol/L) ve iki farklı AA konsantrasyonunda (60 ve 80 mg/L) parçalanması incelenmiştir (Özkan 2002). 20°C'de vişne suyunda iki farklı AA konsantrasyonunda antosiyanin parçalanmasının önemli ölçüde değiştiği görülmüş ve vişne antosiyaninleri için 60 mg/L AA konsantrasyonunda t_{1/2} değerleri eklenen H₂O₂'in farklı konsantrasyonları için 450 dak üzerindeyken, 80 mg/L AA konsantrasyonunda ise t_{1/2} değerleri 8 dak'ya kadar azaldığı görülmüştür. Antosiyaninlerin parçalanmasından, DHA ve furfural gibi parçalanma ürünleri ile H₂O₂'in sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (Meschter 1953). Antosiyaninlerin AA ile reaksiyonu sonucu; esmerleşme ve polimerik renkte artış olmaktadır. Bununla birlikte, düşük sıcaklıklarda polimerik renk oluşumunun çok az olduğu saptanmıştır (Choi vd. 2002).

2.12.1.2 Hidrojen peroksit etkisi

H₂O₂'in sulu bir çözelti içinde ayrışması sonucu, yüksek oranda reaktif ürünler (perhidroksil anyon (HOO⁻), perhidroksil (*OOH) ve hidroksil (*OH) radikalleri)

oluşmaktadır (De vd. 1999). Sondheimer ve Kertesz (1952), *OH radikalının antosiyaninlerin oksidasyonundan ve parçalanmasından sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Von Elbe ve Schwartz (1996), enzimatik esmerleşme sonucu oluşan kinonların antosiyaninlerin parçalanmasına neden olduklarını bildirmişlerdir. Kinonlar fenolik bileşiklerin oksidasyonu ile oluşur. Fenolik bileşikler, kinonlar ve kinonların oluşma süreci H_2O_2 'in parçalanmasını hızlandırmaktadır (De vd. 1999). Bu nedenle fenolik bileşik içeren meyve sularında H_2O_2 'in antosiyaninleri parçalamasında iki faktör rol almaktadır. Birincisi; serbest radikaller ve $HOO^\cdot$ miktarı iken ikincisi ise; fenolik bileşiklerin oksidasyonu ile oluşan kinonların miktarıdır (Özkan 2002). Vişne ve nar sularına eklenen H_2O_2 'in farklı konsantrasyonlarında (4.65, 6.98 ve 9.31 mmol/L) antosiyaninlerin parçalanmasının birinci dereceden kinetik model izlediği saptanmıştır (Özkan 2002). Antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin $t_{1/2}$ değerleri kıyaslandığında her iki meyve suyunda da antosiyaninlerin H_2O_2 'e duyarlı olduğu görülmektedir. Aynı çalışmada, nar suyu antosiyaninlerine ($t_{1/2}$ =324 dak, 20°C ve 4.65 mmol/L H_2O_2 konsantrasyonunda) kıyasla, vişne antosiyaninleri ($t_{1/2}$ =418 dak, 20°C ve 4.65 mmol/L H_2O_2 konsantrasyonunda) H_2O_2 'e karşı daha dirençli olduğu gözlemlenmiştir.

2.12.1.3 Furfural ve hidroksimetilfurfural etkisi

Şekerlerin parçalanma ürünleri olan furfural ve HMF, düşük konsantrasyonlarda bile, antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Meschter 1953). Furfural ve HMF'in antosiyaninlerle reaksiyonu sonucu kahhverenkli bileşikler oluşmaktadır (Es-Safi vd. 2000). Malvidin 3-O-glukozit ile yapılan bir çalışmada, furfural ile HMF karşılaştırıldığında benzer bileşikler elde edilmiştir ve reaksiyonun furfural ile daha hızlı gerçekleştiği görülmüştür. (Meschter 1953).

2.12.2 Fenolik bileşiklerin etkisi

Genellikle meyvelerde başta renksiz flavonoidler olmak üzere, bazı fenolikler de, zayıf hidrojen ve hidrofobik bağlar ile antosiyaninlerle reaksiyona girerler (Sun vd. 2010). Bu durumu göstermek amacıyla, üzümde bulunan oenin (mv-3-glu) antosiyaninine, renk

stabilitesini artırmak için tanen ve gallik asit ilave edilmiş ve rengin kırmızıdan maviye değiştiği gözlenmiştir (Calcavanti vd. 2011).

Gris vd. (2007), tarafından yapılan bir çalışmada; Cabernet Sauvignon üzüm ekstrelerindeki antosiyaninlere kafeik asit ilavesinin önemli ölçüde antosiyaninlerin stabilitesini arttırdığı ortaya konulmuştur. Fenolik maddeler, antosiyaninlerle kopigmentasyon yaptıkları için şaraplarda, meyve sularında ve meyve ürünlerinin renklerinin geliştirmesi ve stabilitelerinin artırılması amacıyla kullanılmıştır (Cavalcanti vd. 2011). Antosiyaninlerin stabilitesini artıran en etkili kopigmentin, yapısında çok sayıda -OH grubu içeren flavonoidler olduğu belirlenmiştir (Gonzalez-Manzano vd. 2009). Eiro ve Heinonen (2002); gallik asit, elajik asit, klorojenik asit, ferulik asit, kafeik asit, kuersetin ve rutin iyi birer kopigment olduklarını bildirmişlerdir.

Tannik asit, ferulik asit, O-kumarik asit ve rutin kopigmentasyon etkilerinin 3-deoksifosiyandin çözeltisinde incelendiği bir çalışmada, antosiyaninlerin renk stabilitelerinin artırdığı belirlenmiştir (Awika 2008). Ahududu meyvesinden cy-3-glu ve siyanidin-3-fosforisid antosiyaninleri ekstrakte edilmiş ve bu ekstrakta eklenen beş farklı fenolik asidin (sinapik, ferulik, kafeik, kumarik ve gallik asit) renk yoğunluğunu artırdıkları gözlenmiştir (Sun vd. 2010). Eklenen fenolik maddelerin kopigmentasyon etkisi, hiperkromik ve bathokromik etkinin artmasıyla anlaşılmıştır. Bu çalışmada, sinapik ve ferulik asit, diğer fenolik asitlere (kafeik, kumarik ve gallik asit) göre daha güçlü kopigmentasyon etkisi göstermiştir. Maximum kopigment etkisi, pH 4'te ferulik asit ile gözlenmiştir.

Kırmızı frenk üzümü suyuna fenolik bileşiklerin (kateşol, 4-metil kateşol, kateşin ve gallik asit) 50:1 ve 100:1 (kopigment:antosiyanin) oranlarında eklenmesinden sonra, 30 gün boyunca +4°C'de depolama sonunda antosiyaninlerin stabilitesinin arttığı saptanmıştır. Kopigment eklenmemiş kontrol örneğinde depolama başlangıcında 44.34 mg/100 g antosiyanin olduğu saptanmış, aynı örneğin depolama sonunda ise, 38.87 mg/100 mL TMA içerdiği saptanmıştır. Buna karşın, kopigment olarak 100:1 oranında gallik asit eklenen meyve suyunda depolama sonunda en yüksek TMA içeriği (41.58 mg/100 g) bulunmuştur. Bu örneklerde, TMA'nın parçalanmasına ilişkin yarı ömür

süresi kontrol örneğinde 136.3 gün iken, kopigment eklenelerde ise, 183.1–323.5 gün arasında değişmektedir. En yüksek yarı ömrü süresi, 100:1 oranında gallik asit eklenen meyve suyunda 323.5 gün olarak bulunmuştur. 30 günlük depolama sonucunda kontrol örneğinde renk değişimi (ΔE^*) 0.991 iken, en düşük ΔE^* ; kateşol ve kateşin içeren örneklerde (sırasıyla 0.83 ve 0.86) bulunurken en yüksek ΔE^* , 50:1 oranında gallik asit eklenen örnekte (1.262) tespit edilmiştir (Kopjar ve Piližota 2009).

Pg-3-glu, cy-3-glu, mv-3-glu, cy-3-(2-ksilol-glukosi)-gal ve cy-3-(2-O-ksilol-6-kumariol glikozil)-gal ile 5 farklı fenolik asit (ferulik, kafeik, rosmarinik, klorojenik ve sinapik asit) kullanılarak yapılan bir çalışmada, 6 aylık depolama süresindeki antosiyaninler ile fenolik asitler arasındaki kopigmentasyon interaksyonu incelenmiştir (Eiro ve Heinonen 2002). Bu çalışmada, 1:100 (antosiyanin:kopigment) oranında yapılan eklemenin, diğer oranlara (1:50 ve 1:10) kıyasla en güçlü kopigmentasyon etkisi gösterdiği görülmüştür. Antosiyanin konsantrasyonunda artış, hem λ_{maks} 'ta hem de A_{maks} 'ta artışa neden olduğu görülmüş ve bu artışlar da kopigmentasyonun gerçekleştiği şeklinde değerlendirilmiştir. Mv-3-glu içeren çözeltilerde en fazla kopigmentasyon gerçekleşmiş araştırmacılar da bunu mv-3-glu'in yapısında B halkasında bulunan metoksil grubuna bağlamışlardır. Bu çalışmada, en güçlü kopigmentlerin ferulik ve rosmarinik asitler olduğu tespit edilmiştir. En etkili kopigmentasyon reaksiyonu mv-3-glu ile rosmarinik asit arasında gözlemlenmiştir. Rosmarinik asit eklenmesi ile renk çok stabil olmamakla birlikte, bu reaksiyonda; en büyük bathokromik kayma ($\lambda_{maks}=19$ nm) ve renk yoğunluğunun %260 artması ile en güçlü hiperkromik etki görülmüştür. Pg-3-glu'in renk yoğunluğu, ferulik ve kafeik asitlerin eklenmesiyle büyük ölçüde artmıştır (Eiro ve Heinonen 2002).

2.12.3 Sitrik asit etkisi

Organik asitlerin antosiyaninlerin renk stabilitesini artırdığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada mürver ve siyah frenk üzümü antosiyaninlerinin renk stabilitesi organik asit eklenen örneklerde incelenmiş ve organik asitlerin (0.2 M, pH 3.9) renk stabilitesini artırdığı görülmüştür (Hubbermann vd. 2005). Eklenen bu organik asitlerin antosiyaninler üzerine stabilize edici etkisi çoktan aza doğru; asetik asit > adipinik asit >

sitrik asit $\geq$ tartarik asit şeklinde olduğu saptanmıştır. AA dışında, eklenen diğer organik asitlerin antosiyanin stabilitesini artırdığı görülmüştür (Hubbermann vd. 2005).

2.12.4 Uçucu yağların etkisi

Uçucu yağların antosiyaninlerin parçalanmasını azalttığı ve renk stabilitesini artırdığı ileri sürülmektedir. Çilek meyvesi ile yapılan bir çalışmada, ekstrakte edilen çilek antosiyaninleri (cy-3-glu, pg-3-glu, cy-3-glu-suksinat ve pg-3-glu-suksinat) ve çilek fenolik bileşikleri (resveratrol, *p*-kumaril glukoz, elajik asit, elajik asit glukosid, kuersetin-3-glukosit, kuersetin-3-glukuronid, kampferol-3-glukosit ve kampferol-3-glukuronid) bulunan bir ortama uçucu yağ olarak öjenol, mentol, ve timol eklenmiştir (Wang vd. 2007). Bu işlemi takiben, çilekler 10°C'de 3 hafta boyunca depolanmış ve yapılan ölçümler sonucunda çileklerin bozulmalarının uçucu yağların antimikrobiyal etkisi ile yavaşladığı görülmüştür. Ayrıca antosiyanin miktarının ve antioksidan kapasitesinin artışı da gözlenmiştir. Antioksidan aktivite ORAC (Oksijen radikali emme kapasitesi) yöntemi ile belirlenemiş ve öjenol ve mentolün timole göre antioksidan aktiviteyi daha fazla artırdığı görülmüştür (Wang vd. 2007).

Literatürde; misket (*Vitis rotundifolia*) üzüm suyunda (Talcott vd. 2003), Cabernet Sauvignon üzüm ekstraktlarında (Gris vd. 2007), açai meyvesinde (Pacheo-Polencia ve Talcott 2010), ahududu meyvesinde (Sun vd. 2010), kırmızı frenk üzümünde (Kopjar ve Piližota 2009), kara havuç meyvesinde (İstanbul 2007), çilek ve vişne nektarlarında (Ertan vd. 2018 ve Ertan vd. 2020), nar sularında (Türkyılmaz vd. 2020) ve çilek, nar, karadut ve siyah havuç suları ile zenginleştirilmiş kefirlerde (Alagöz-Kabakçı vd. 2020) kopigmentasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmanın literatürdeki boşluğu doldurmasının yanında, meyve suyu endüstrisine ve ülke ekonomisine de katkı sağlayacağı umulmaktadır. Tüketicilerin son yıllarda gıda katkı maddelerine olan kuşkuları arttığı göz önüne alınarak çalışmanın meyve suyu üreticileri için fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada Alanya’da yetiştirilen koyu kırmızı renkli karadut (*Morus nigra*) ve Tümen Tarım firmasından (Mersin-Türkiye) temin edilen kütdden çeşidi limon (*Citrus limonum*) materyal olarak kullanılmıştır. Ayrıca kopigment olarak da çeşitli fenolik bileşikler (gallik asit, ferulik asit, kumarik asit, kafeik asit ve kuersetin) ile doğal fenolik bileşik kaynağı olarak tarçın, zencefil, karanfil, biberiye, mercanköşk ve nar kabuğu kullanılmıştır.

3.1.1 Kopigmentler

Kopigment olarak kullanılan gallik asit, ferulik asit, kumarik asit, kafeik asit ve kuersetin Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, A.B.D.) firmasından temin edilmiştir. Diğer doğal kopigment kaynaklarından tarçın (Organic ceylan cinnomon powder), zencefil (Zingiber officinale Roscoe powder) ve karanfil (Clove powder) Amazon firmasından (www.amazon.com, Seattle, WA, U.S.A.), biberiye (Bağdat Baharat Ltd., Ankara) ve mercanköşk (Karden Baharat; Ankara) ise, yurtiçi firmalardan temin edilmiştir. Buna karşın nar kabuğu ise, doğrudan Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü’nden (Batem, Antalya) temin edilen Hicaznar çeşidi narların, kabuklarının elle soyulmasıyla elde edilmiştir.

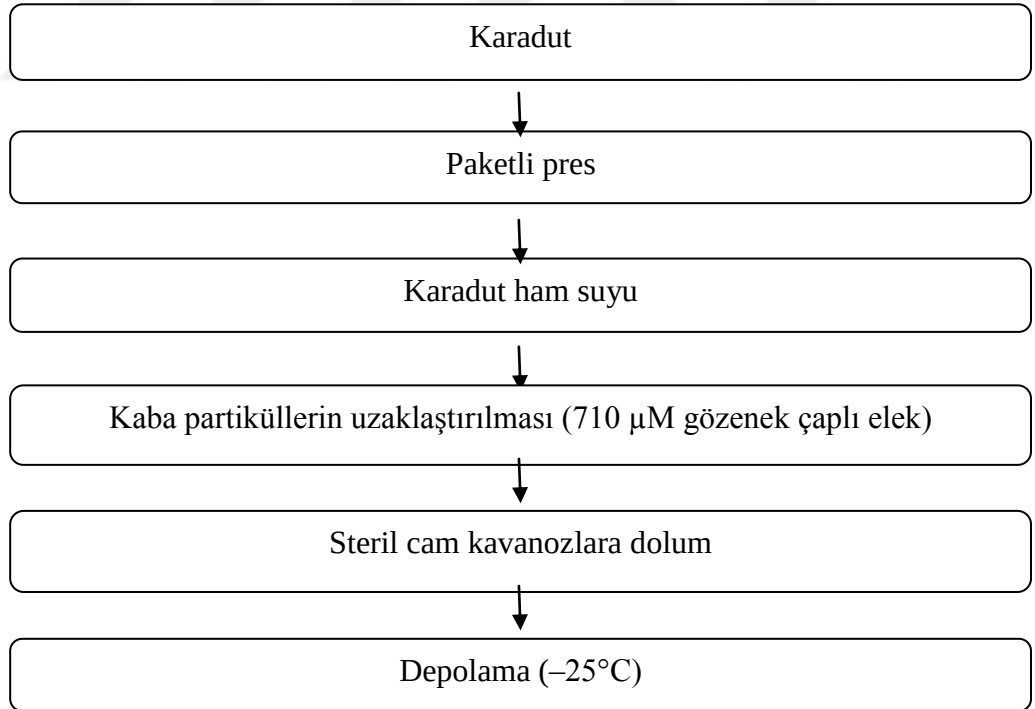
3.1.2 Kimyasallar

Çalışmamızda, analitik veya yüksek saflıkta kimyasallar kullanılmış olup, bu kimyasallar Merck (Merck KGaA, Darmstad, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Aşağıda ayrıntıları verilen analizlerin tümünde, ultra saf su (18.2 MΩ.cm) kullanılmıştır (Millipore Simplicity UV, Molsheim, Fransa).

3.2 Yöntem

3.2.1 Karadut suyu hazırlanması

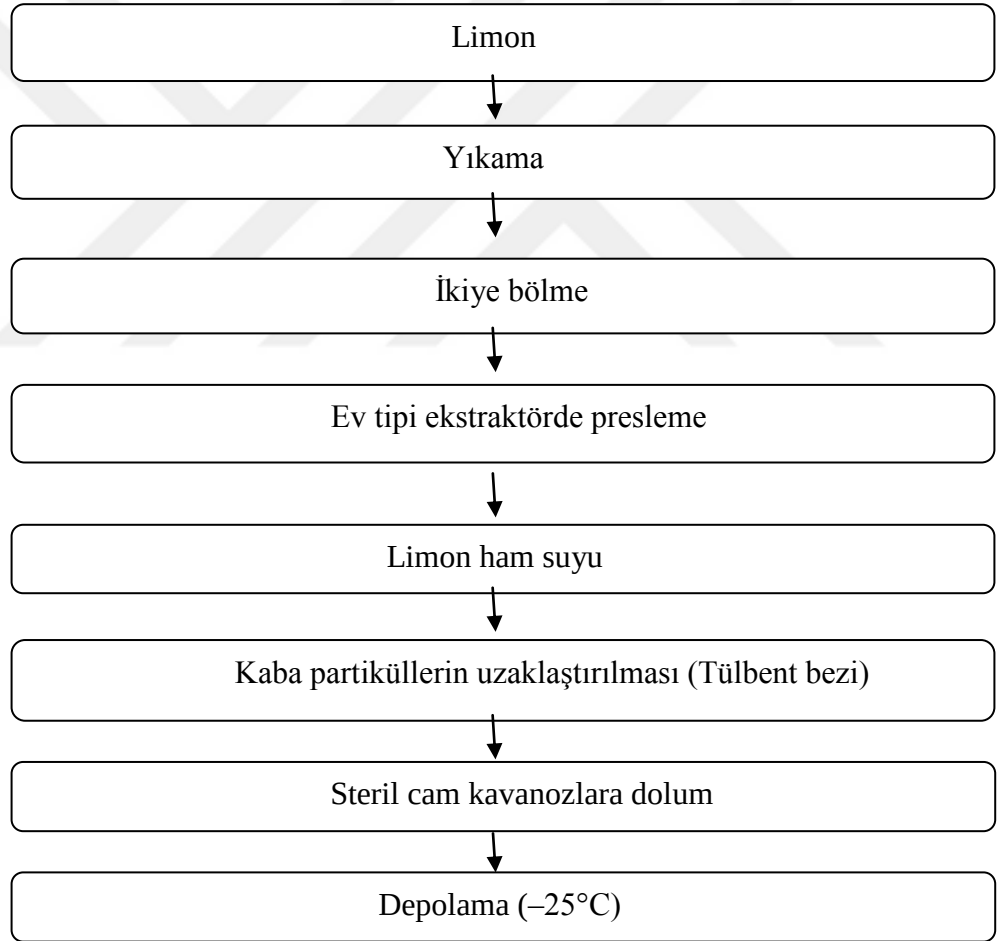
Alanya yöresinden hasat edilen karadutlar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde bulunan Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde herhangi bir işlem yapılmadan doğrudan paketli preste (Bucher-Guyer, Niederweningen, İsviçre) preslenerek, karadut ham suyu elde edilmiştir. Elde edilen karadut ham suları, 710 µm gözenek çapındaki elekten geçirilerek, kaba partiküllerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Karadut ham suları, cam kavanozlara doldurularak 85°C'de 2 dak süreyle su banyosunda (WB 14, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Almanya) pastörize edilmiş analizleri yapılana kadar –25°C'de derin dondurucuda (MDF-U731M, Panasonic Healthcare Co., Ltd., Tokyo, Japonya) muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1 Karadut suyu üretimi akım şeması

3.2.2 Limon suyunun hazırlanması

Tümen Tarım (Mersin-Türkiye) firmasından temin edilen kütdiken çeşidi limonlar yıkandıktan sonra, ikiye bölünüp ev tipi ekstraktörde (Cancan Ltd., Sakarya) preslenerek limon ham suyu elde edilmiştir. Daha sonra, kaba partiküllerin uzaklaştırılması için 7 katlı tülbent bezinden filtre edilmiştir. Sterilize edilmiş cam kavanozlara doldurulan meyve ham suları analizler yapılana kadar -25°C 'de derin dondurucuda (MDF-U731M) muhafaza edilmiştir. Limon suyu verimi, %47 olarak hesaplanmıştır.



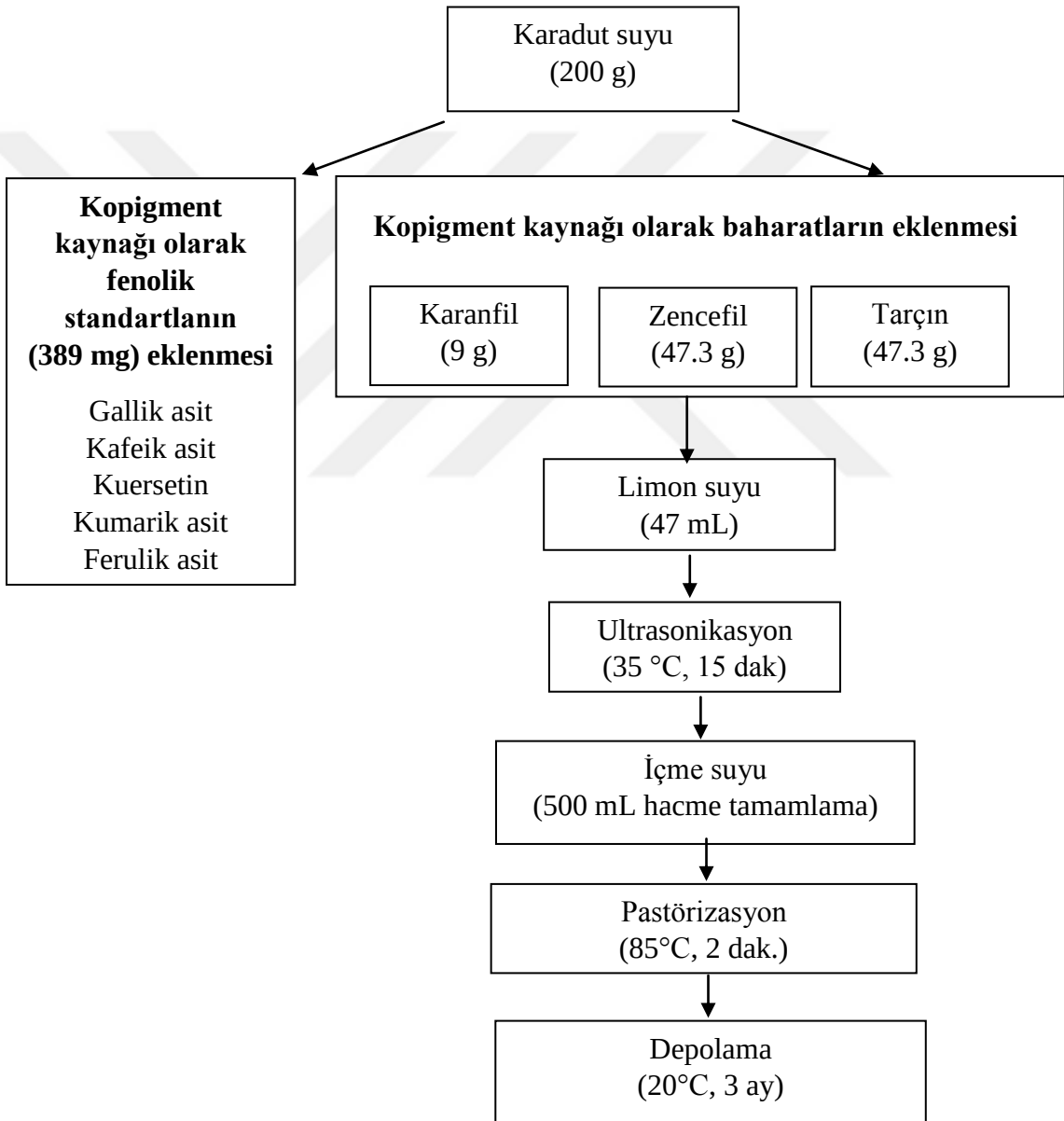
Şekil 3.2 Limon suyu üretimi akım şeması

3.2.3 Karadut nektarlarına kopigmentlerin ve limon suyunun ilavesi

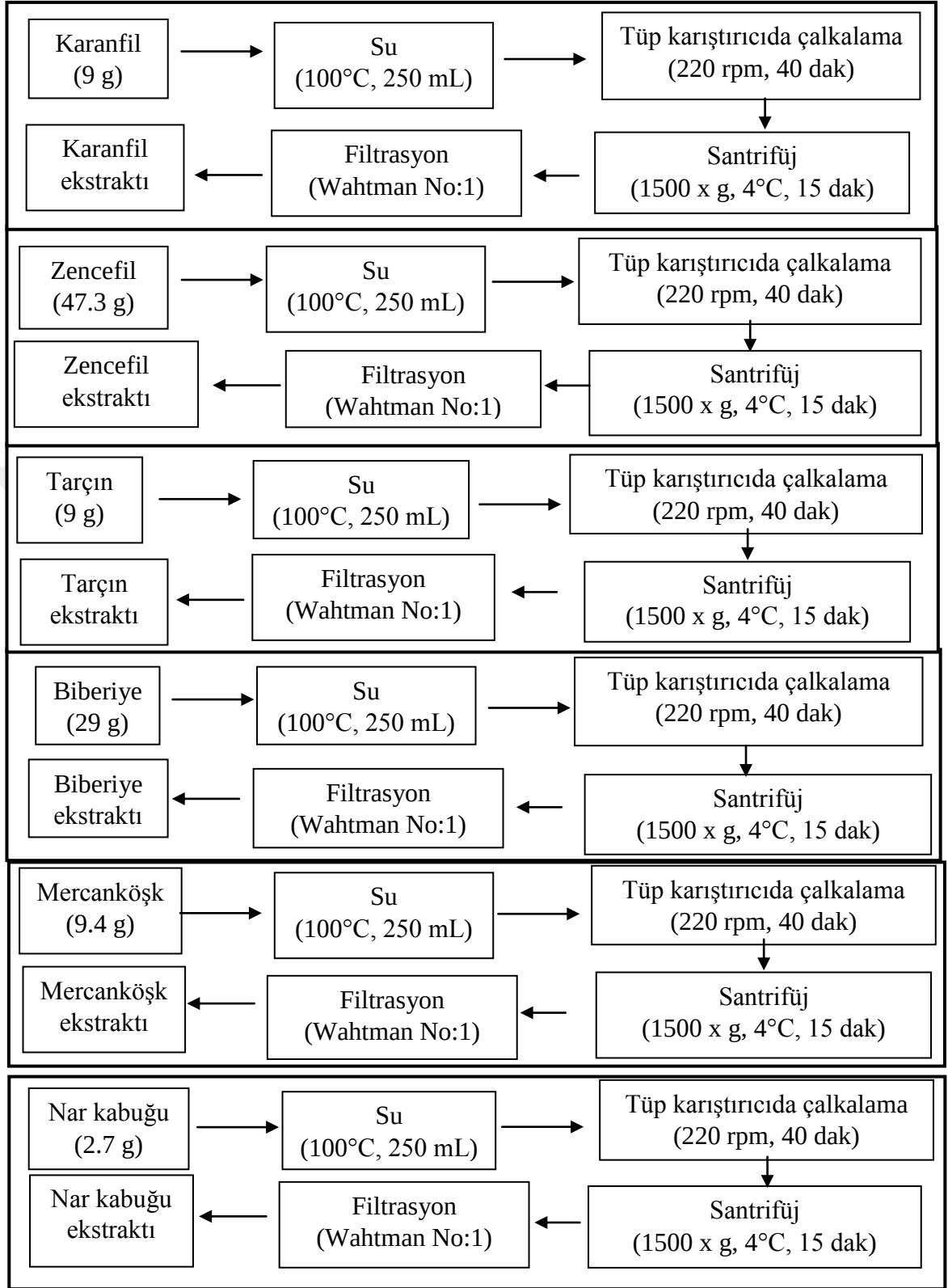
Karadut nektarlarına kopigmentlerin eklenişi iki farklı şekilde yapılmıştır. Bunlardan birincisinde; fenolik standartları ile karanfil, zencefil ve tarçın herhangi bir ekstraksiyon işlemi yapılmadan doğrudan karadut nektarlarına eklenmiştir. Eklenecek kopigment konsantrasyonunun belirlenmesinde; karadut nektarındaki antosiyanin oranı belirleyici olmuştur. Bu amaçla; karadut nektarlarının antosiyanin içeriği pH-diferansiyel yöntemiyle belirlenmiş (778 mg/L) ve son üründe 1:1 (antosiyanin:fenolik) oranına ulaşabilmek için antosiyanin içeriği ile aynı miktarda fenolik standartları doğrudan nektara eklenmiştir. Karanfil, zencefil ve tarçının ise; *Folin Ciocalteu* yöntemi ile toplam fenolik madde içerikleri belirlendikten sonra, karadut nektarının yine 778 mg/L düzeyinde fenolik madde içermesi için eklenmesi gereken karanfil (18 g/L), zencefil (94.6 g/L) ve tarçın (94.6 g/L) miktarları hesaplanmıştır. Bu baharatlar da doğrudan nektara eklenmiştir. Çalışma kapsamında her bir kopigment kaynağı için 500 mL karadut nektarı hazırlanmıştır. Örneklerin hazırlanışını gösteren akış diyagramı Şekil 3.3'te verilmiştir. Hazırlanan karadut nektarının Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu ve benzeri İçecekler Tebliği'nde izin verilen düzeyde (3 g/L) sitrik asit içerebilmesi için, çalışmamız kapsamında kullanılacak olan limon sularında HPLC ile sitrik asit analizi yapılmış ve 500 mL karadut nektarına 47 mL limon suyu eklenerek istenilen düzeyde sitrik asit içeriğine ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle; hesaplanan miktarda limon suyu karadut nektarına eklenmiştir.

Birinci üretim şeklinden farklı olarak ikinci üretim şeklinde ise; sadece kopigmentler doğrudan değil, ekstraktları hazırlandıktan sonra karadut nektarlarına eklenmiştir. Ekstraktların hazırlanışı detaylı olarak Şekil 3.4'te, bu yolla örneklerin hazırlanışını gösteren akış diyagramı ise, Şekil 3.5'te verilmiştir. İçeriğinde; kopigment kaynağı, limon suyu, askorbik asit ve HCl içermeyen doğrudan karadut suyu ve içme suyu kullanılarak hazırlanan karadut nektarları (%40, v/v) çalışmamızın birinci kontrol grubunu (Kontrol-1) temsil etmektedir. %40'luk (v/v) karadut nektarına 3 g/L sitrik asit içerebilmesi için 47 mL limon suyu eklenmesi ile de ikinci kontrol grubu (Kontrol-2) oluşturulmuştur. Karadut nektarlarına eklenen limon suyunun antosiyaninler üzerine gösterdiği etkiye limon suyunda bulunan askorbik asidin katkısını açıklayabilmek için

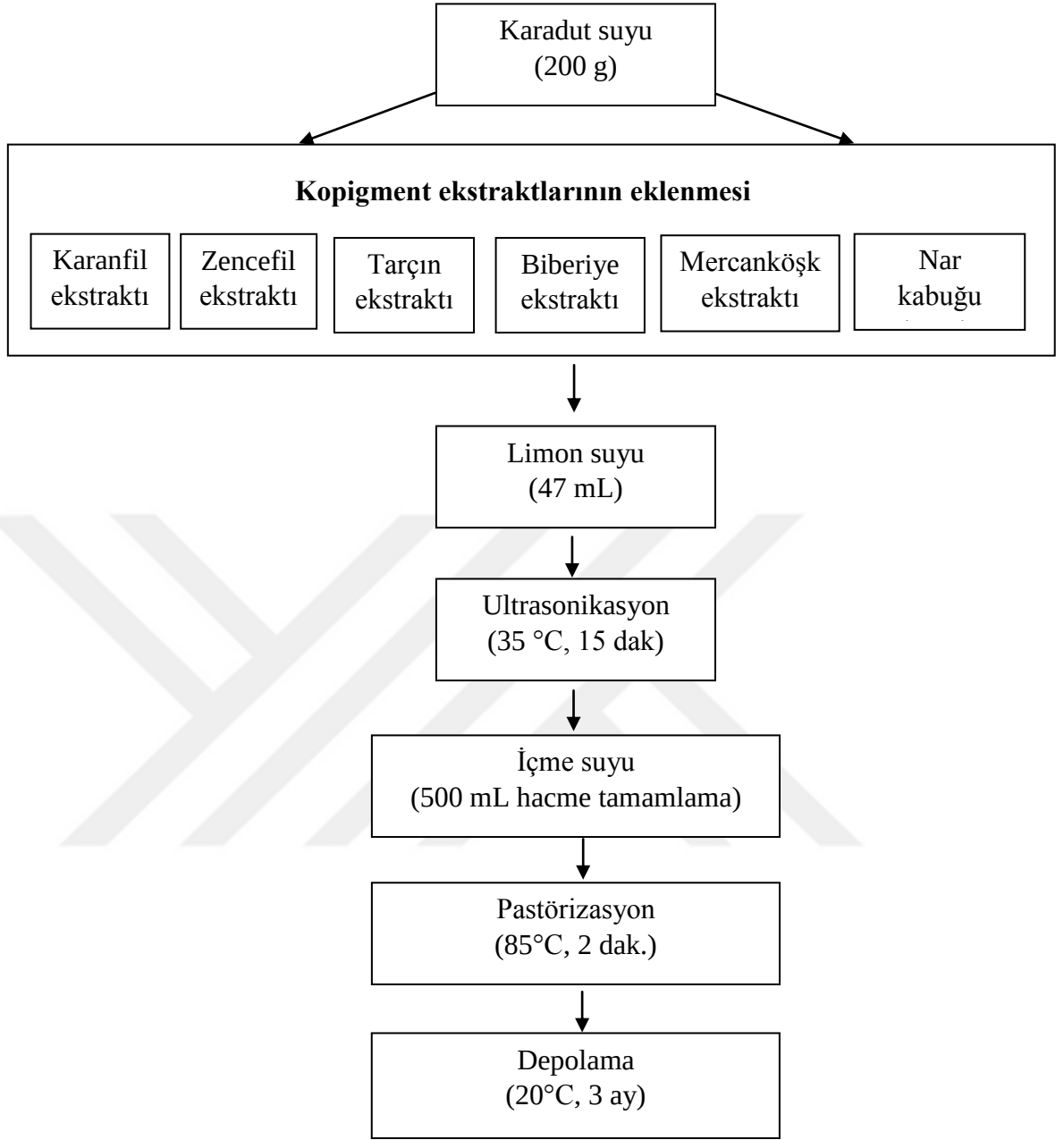
hazırlanan örnekler ise, çalışmanın üçüncü kontrol grubunu (Kontrol-3) oluşturmuştur. Bu örneğin hazırlanmasında gerekli olan askorbik asit miktarının belirlenebilmesi için öncelikle limon suyunun içerdiği askorbik asit miktarı HPLC ile analiz edilmiştir. Analiz sonucuna göre 47 mL limon suyunun 1.5 g askorbik asit içerdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle; 1.5 g askorbik asit 47 mL içme suyunda çözülmüş ve örneklerle aynen limon suyunun eklendiği aşamada limon suyu yerine eklenmiştir. Çalışmanın



Şekil 3.3 Kopigment kaynaklarının doğrudan eklenmesiyle karadut nektarlarının hazırlanması



Şekil 3.4 Kopigment ekstraktlarının hazırlanışı



Şekil 3.5 Kopigment kaynaklarından elde edilen ekstraktların eklenmesiyle karadut nektarlarının hazırlanması

dördüncü kontrol grubu (Kontrol-4) ise; karadut nektarlarına eklenen limon suyunun antosiyaninler üzerine gösterdiği etkiye limon suyunun pH'sının katkısını açıklayabilmek için hazırlanmıştır. Bu örneklerin hazırlanışında ise; içme suyuna HCl eklenerek pH'sı limon suyunun pH'sına (2.32) ayarlanmış ve pH ayarı yapılmış bu sudan 47 mL yine limon suyunun eklendiği aşamada limon suyu yerine eklenmiştir.

3.2.4 Örneklerin pastörizasyonu ve depolanması

Örnekler; 85°C’de 2 dak süreyle bir su banyosunda (WB 14, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Almanya) pastörize edilmiştir. Ardından buzlu su banyosunda kademeli olarak oda sıcaklığına soğutulan meyve suyu örnekleri sıcaklık salınımı $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ olan 20°C’deki sıcaklık kontrollü inkübatörde (MIR 253, Sanyo Co., Ltd., Osaka, Japonya) 3 ay süreyle depolanmıştır.

Uygulanılacak olan analizler aşağıda yöntemleriyle birlikte verilmiştir.

3.2.5 Fiziksel analizler

3.2.5.1 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (SevenCompact pH/Ion S220, MettlerToledo GmbH, Schwerzenbach, İsviçre) ile saptanmıştır. Bu amaçla, 4 mL %40’lık karadut suyu (her bir fenolik içeriği için ayrı ayrı) üzerine, 16 mL damıtık su ilave edilerek pH değeri belirlenmiştir.

3.2.5.2 Berraklık düzeyinin belirlenmesi

Karadut sularının berraklık düzeyi, 1 mL karadut suyu üzerine 9 mL damıtık su eklenerek elde edilen seyreltik örnekler kullanılarak spektrofotometre (ThermoScientific Evolution 201, Thermo Fisher Scientific Inc., Cambridge, İngiltere) yardımı ile 660 nm’de transmittans ölçümü yapılarak belirlenmiştir (Wang vd. 2009).

3.2.6 Kimyasal analizler

3.2.6.1 Titrasyon asitliği

pH ile izlenerek yürütülen potansiyometrik titrasyonla belirlenmiştir. Bu amaçla, pH tayini için hazırlanmış olan karadut suları ayarlı 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1’e

ulaşıncaya kadar titre edilmiştir. Karadut sularında titrasyon asitliğini belirlemek amacıyla, IFU (1968) tarafından meyve suları için önerilen yöntem kullanılmış ve titrasyon asitliği, susuz sitrik asit cinsinden “g 100 mL⁻¹” olarak hesaplanmıştır.

3.2.6.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen ve Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH diferansiyel metodu kullanılmıştır. Bu metodun ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH 1.0’de renkli oksonium formunun, pH 4.5’de ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortam pH 1.0 ve 4.5 olduğu zaman llen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır.

Öncelikle, karadut sularının absorbans değerini, birçok spektrofotometrenin linear sınırı olan 1.2 absorbans değerinin altına düşürmek amacıyla karadut sularından 1 mL alınarak üzerlerine 9 mL damıtık su eklenerek 1:10 oranında seyreltme yapılmıştır. Daha sonra, bu seyreltiklerden 1 mL alınarak, üzerlerine 9 mL 0.025 M potasyum klorür (pH 1.0) ve 0.4 M sodyum asetat tampon çözeltisi (pH 4.5) ayrı ayrı ilave edilmiş ve elde edilen seyreltikler Vortex (IKA Vortex Genius 3, Staufen, Almanya) ile karıştırıldıktan sonra, kendi haline 15 dak süreyle bırakılarak denge oluşması için bekletilmişlerdir. Bekleme süresi sonunda, seyreltikler 0.45 m gözenek çapındaki PVDF filtreden (Sartorius AG) filtre edildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (ultra saf su) aynı anda konulabildiği çift huzmeli (double-beam) spektrofotometre (ThermoScientific Evolution 201, Thermo Fisher Scientific Inc., Cambridge, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Absorbans lmleri, 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık spektrofotometre kvetlerinde (Brand Gmbh+CO, Postfach, Wertheim, Almanya) yapılmıştır. Araştırmamızda, $\lambda_{vis-maks}$ dalga boyu değeri; karadut antosiyaninleri için 512 nm olarak belirlenmiştir. Ölçümler, meyve suları antosiyaninlerinin $\lambda_{vis-maks}$ dalga boyunda ve düşük düzeydeki bulanıklığın belirlendiği 700 nm’de gerçekleştirilmiştir. Monomerik antosiyanin miktarı, karadut sularında başat olarak bulunan cy-3-glu cinsinden aşağıda verilen 3.1 No’lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)} = \frac{(A) (MW) (Sf) 1000}{(L) (\epsilon)} \quad (3.1)$$

Burada;

A: Absorbans farkı (pH 1.0 ve 4.5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı),

MW: Baz olarak alınan antosiyaninin molekül ağırlığı (g/mol),

Sf: Seyreltme faktörü,

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (L/(cm mg)),

L: Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı (cm),

Cy-3-glu'in molar absorbans değeri, $\epsilon = 29\ 600\ \text{L}/(\text{cm mg})$ ve molekül ağırlığı, MW=445.2 g/mol (Giusti ve Wrolstad 2001) alınarak hesaplama yapılmıştır.

3.2.6.3 Hiperkromik etki ve bathokromik değişimin belirlenmesi

Karadut sularının; UV-VIS spektrofotometre 400–600 nm aralığında, maksimum absorbans verdikleri dalga boyları ($\lambda_{\text{vis-maks}}$) ve bu dalga boyundaki absorbansları (A_{maks}) belirlenmiştir. Hiperkromik değişim (ΔA_{maks}); A_{maks} değerinde meydana gelen değişimi; bathokromik değişim ($\Delta \lambda_{\text{vis-maks}}$) ise, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ değerinde meydana gelen değişimi temsil etmektedir (Rein 2005).

Hiperkromik etki ve bathokromik değişimin belirlenmesinde “Toplam monomerik antosiyanin tayini” analizinde belirlenen seyreltme oranı kullanılmıştır. Karadut suları, 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile 1:10 (v:v) oranında seyreltilmiş ve 15 dak dengeleme sonunda; karadut suyunda bulunan antosiyaninlerin $\lambda_{\text{vis-maks}}$ dalga boyu ve bu dalga boyundaki A_{maks} değerleri, 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık spektrofotometre küvetleri kullanılarak (Brand GmbH+CO) belirlenmiştir.

3.2.6.4 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi

Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem kullanılarak; antosiyaninlerin parçalanma ölçütleri olarak kabul edilen "renk yoğunluğu," "polimerik

renk" ve "polimerik renk yüzdesi" gibi üç nitelik belirlenmiştir. Bu amaçla, karadut suları ultra saf su ile seyreltilerek, örneklerin maksimum absorbans verdiği dalga boyundaki ($\lambda_{vis-maks}$) absorbans değerinin spektrofotometrenin linear sınırı olan 1.2'nin altına getirilmesi sağlanmıştır. Seyreltilmiş örnekler 0.45 μm gözenek çaplı PVDF filtreden (Sartorius AG) filtre edilmiştir. 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık iki ayrı spektrofotometre küvetinin (Brand Gmbh+CO) her birine bu seyreltikten 2.8 mL konulmuştur. Küvetlerden birine 0.2 mL %20'lik bisülfite ($K_2S_2O_5$) çözeltisi (w/v), diğerine ise 0.2 mL ultra saf su ilave edilmiştir. Daha sonra karıştırılıp, 15 dak süreyle dengeye gelmesi için oda sıcaklığında bekletilmiştir. %20'lik $K_2S_2O_5$ çözeltisi ile örnekteki monomerik antosiyaninlerin renksiz "sülfonik asit kompleksi" oluşturması sağlanmıştır. Buna karşın, "polimerik antosiyanin-tanen" kompleksleri ve "melanoidin" pigmentleri ise, bisülfite karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Bisülfite uygulanan ve uygulanmayan örneklerin absorbans değerleri; esmer renkli bileşikler için 420 nm'de; monomerik antosiyaninler için karadut antosiyaninlerinin $\lambda_{vis-maks}$ değeri olan 512 nm'de; bulanıklık için ise, 700 nm'de ölçülmüştür. Ölçüm sonunda ise, aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" değerleri hesaplanmıştır.

Renk yoğunluğu: Bu değer, "bisülfite uygulanmamış küvette bulunan örneğin, $\lambda_{vis-maks}$ ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Renk yoğunluğu, aşağıda verilen eşitlik (3.2) kullanılarak hesaplanmıştır (Giusti ve Wrolstad 2001).

$$\text{Renk yoğunluğu} = [(A_{\lambda_{vis-maks}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times Sf \quad (3.2)$$

Burada;

Sf: Seyreltme faktörü

Polimerik renk: Bu değer, "bisülfite uygulanmış küvette bulunan örneğin, $\lambda_{vis-maks}$ ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Polimerik renk, aşağıda verilen eşitlik (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır (Giusti ve Wrolstad 2001).

$$\text{Polimerik renk} = [(A_{\lambda_{\text{vis-maks}}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.3)$$

Polimerik renk oranı: Polimerik renk oranı; polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı olarak tanımlanmaktadır. Bu değer ve polimerik renk değeri arttıkça, monomerik antosiyaninlerin parçalandığı ve esmer renkli pigmentlerin arttığı anlaşılmaktadır. Bu değer, aşağıdaki eşitlik (3.4) kullanılarak hesaplanmıştır (Giusti ve Wrolstad 2001).

$$\text{Polimerik renk oranı (\%)} = \frac{\text{Polimerik renk}}{\text{Renk yoğunluğu}} \quad (100) \quad (3.4)$$

3.2.6.5 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Örneklerde toplam fenolik madde miktarı, Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen *Folin-Ciocalteu* yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemin ilkesi, bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Fenolik bileşikler alkali bir ortamda *Folin-Ciocalteu* ayıracını indirgeyerek, kendileri oksitlenmiş forma dönüşmekte ve oluşan mavi renk, spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda şahide karşı absorbansı belirlenerek, standart kurve yardımıyla fenolik madde miktarı belirlenmektedir.

Örnekler için elde edilen absorbans değerleri, gallik asit standart eğrisini tanımlayan regresyon eşitliğinde yerine konularak fenolik bileşik miktarı “gallik asit” (GAE, gallik asit eşdeğeri) cinsinden hesaplanmıştır. Absorbans değeri birçok spektrofotometrenin linear sınırı olan 1.2' nin altına getirilmesi için seyreltme işlemi yapılmıştır. Daha sonra, 100 mL'lik ölçü balonuna 75 mL ultra saf su eklendikten sonra seyreltik örnekten 1 mL alınmış ve üzerine 5 mL *Folin-Ciocalteu* ayıracı eklenip, iyice çalkalandıktan sonra 3 dak kendi halince bekletilmiştir. Bu seyreltik üzerine 10 mL sodyum karbonat eklenip, ultra saf su ile hacme tamamlanmıştır. Daha sonra, 60 dak kendi halinde dengeye erişmesi için karanlık ortamda bırakıldıktan sonra spektrofotometrede (ThermoScientific Evolution 201) 720 nm dalga boyunda şahide karşı absorbansı ölçülmüştür. Bu işlemler 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık spektrofotometre küvetinde (Brand Gmbh+CO) yapılmıştır.

Toplam fenolik bileşik miktarı gallik asit standart eğrisini tanımlayan eşitlikten yararlanılarak ve seyreltme oranları ile çarpılarak aşağıdaki eşitlikten (3.5) hesaplanmıştır. Örneklerdeki toplam fenolik bileşik miktarları "mg gallik asit/L" cinsinden ifade edilmiştir.

$$\text{Fenolik bileşik miktarı (mg gallik asit/L)} = \frac{A - 0.0325}{0.0012} (\text{Sf}) \quad (3.5)$$

Burada;

A: 720 nm dalga boyunda okunan absorbans değerleri

3.2.7 Kinetik parametrelerin hesaplanması

Bu çalışmada, karadut sularına kopigment olarak eklenen fenolik bileşik ile sitrik asit kaynağı olarak eklenen limon suyunun karadut sularının 20°C’de depolanması süresince antosiyaninlerin parçalanması ile renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk yüzdelilerindeki değişimler belirlenmiştir. Bu amaçla, sıfırıncı ve birinci dereceden reaksiyon modelleri tanımlayan 3.6 ve 3.7 No’lu eşitlikler kullanılmıştır.

Sıfırıncı derece için:

$$C = \pm k_0 t + C_0 \text{ (parçalanma veya oluşum)} \quad (3.6)$$

Birinci derece için:

$$\ln C = \pm k_1 t + \ln C_0 \text{ (parçalanma veya oluşum)} \quad (3.7)$$

Bu eşitliklerde;

C_0 : Bileşenin başlangıçtaki konsantrasyonu (mg/100 g veya %),

C: Bileşenin t sürenin geçmesinden sonraki konsantrasyonu (mg/100 g veya %),

k : Reaksiyonun hız sabiti (mg/L hafta veya hafta⁻¹),

t : Süre (hafta).

3.2.7.1 Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması

Depolama süresince incelenen kalite kriterlerine ilişkin elde edilen verilerden depolama süreleri aritmetik ölçekli bir grafiğin “x” eksenine, konsantrasyon değerleri ise, “y” eksenine işlenmiştir. Benzer bir biçimde, depolama boyunca elde edilen konsantrasyon değerleri herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli "y" eksenine; depolama süreleri ise, aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenmiştir. Her iki grafikten elde edilen eğrilere “doğrusal regresyon analizi” uygulanarak, bu eğrileri tanımlayan eşitlikler hesaplanmıştır. Bu eşitliklerin eğim değerlerinden, 3.8 ve 3.9 No’lu eşitlikler kullanılarak, reaksiyon hız sabitleri (k) hesaplanmıştır.

$$k_o = \text{eğim} \quad (\text{Sıfırıncı derece}) \quad (3.8)$$

$$k_1 = (\text{eğim}) \times 2.303 \quad (\text{Birinci derece}) \quad (3.9)$$

3.2.7.2 Yarılanma süresinin ($t_{1/2}$) hesaplanması

İncelenen kalite kriterinin konsantrasyonunun yarıya düşmesi için gereken süre, “yarılanma süresi” olarak tanımlanır. Bu süre, sadece parçalanma reaksiyonları için hesaplanmakta ve reaksiyon süresince sabit kaldığı için birinci derece reaksiyonlar için anlamlı olmaktadır. Hesaplama aşağıda verilen 3.10 No’lu eşitlik kullanılmıştır.

$$t_{1/2} = -\ln (1/2) \times 1/k \quad (3.10)$$

3.2.8 İstatistik değerlendirme

Karadut suyu örneklerine eklenen farklı fenolik bileşiklerin ve limon suyunun, karadut sularının 20°C’de depolanması süresince belirlenen tüm kriterler üzerine etkisi, iki tekerrürlü faktöriyel düzende varyans analiz tekniği uygulanarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılıklar ise, Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir. İstatistik değerlendirme için, "SPSS" paket programı (IBM SPSS Statistics Version 22) kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Araştırmamızda karanfil, tarçın ve zencefilden elde edilen fenolik ekstraktlarındaki kopigmentler iki farklı yöntemle çözündürülmüştür. Birinci yöntemde, yalnızca sonikasyon işlemi ile kopigmentler meyve suyunda çözündürülüp, kopigmentleri içeren ekstraktlar tülbent bezinden filtre edilmişti. İkinci yöntemde ise, çalkalama ve santrifüj işlemleri ile kopigmentler çözündürülmüş, santrifüj tüplerinin üstündeki sıvı kısımlar (supernatant) alınarak bir vakum pompası yardımıyla filtre kağıdından filtre edilmiş ve elde edilen filtratlar doğrudan karadut nektarlarına eklenmişti. Bu nedenle birinci yöntemde elde edilen fenolik ekstraktlarının yeterli bir şekilde filtre edilmediği görülmüş ve karadut nektarı örneklerinde fazla tortu ve bulanıklık olduğu görülerek bu yöntem tercih edilmemiştir. Buna karşın, ikinci yöntemde elde edilen ekstraktlar karadut nektarlarına eklendiğinde, ölçülen TMA miktarında, hiperkromik, bathokromik, renk yoğunluğu ve berraklık değerlerindeki artış nedeniyle bu baharat ekstraktlarında spektrofotometrik ölçümlerde elde edilen verilerde ikinci yöntem ile elde edilen veriler kullanılmıştır.

4.1 pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler

%40'lık karadut nektarlarına her bir kopigment (gallik asit, ferulik asit, kumarik asit, kafeik asit, kuersetin ile tarçın, zencefil, karanfil, biberiye, mercanköşk ve nar kabuğu ekstraktları) 1:1 antosiyanin:kopigment oranında eklendikten sonra, sitrik asit kaynağı olarak da limon suyu eklenerek 20°C'de 3 ay boyunca depolanmış ve 2 hafta aralıklarla pH ve titrasyon asitliği ölçümleri yapılmıştır. pH ve titrasyon asitliği değerlerindeki değişimler, Ek.1'de verilmiş, elde edilen değerlere varyans analizi uygulanmış olup, gruplar arasındaki farklılığı incelemek amacıyla Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Çalışmamızın depolama başlangıcı ve sonundaki pH ve titrasyon asitliği verileri çizelge 4.1'de verilmiştir. Araştırmamızda depolama öncesinde kontrol-1 (%40'lık karadut nektarı) ve kontrol-2'nin (limon suyu eklenmiş karadut suyu) pH'sı 4.31 ve 3.53 iken titrasyon asitliği ise sırasıyla 0.2674 ve 0.8366 g 100 mL⁻¹ (susuz sitrik asit cinsinden)

olarak belirlenmiştir. %40'lık karadut nektarına limon suyu eklenmesi ile beklendiği üzere, pH'da azalma (3.53) görülürken, titrasyon asitliğinde ($0.8366 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$, susuz sitrik asit cinsinden) ise, yine beklendiği üzere artış görülmüştür.

Limon suyu bileşiminde; fenolik bileşikler (hidroksinamik, klorojenik, benzoik asit vb.), sitrik asit ($5\text{--}6 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$), AA ($0.0106 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), B grubu vitaminlerinden folik asit ($53 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (González-Molina vd. 2010) gibi asidik bileşenler bulunduğundan, pH'sı 2.32 olduğundan dolayı karadut nektarına eklendiğinde; karadut nektarının pH'sını düşürmüş, buna karşın titrasyon asitliğini artırmıştır. Kontrol-3'e limon suyu yerine limon suyunda bulunan miktar kadar AA, kontrol-4 ise limon suyu ile aynı pH'ya gelene kadar HCl eklendiğinden limon suyunda bulunan diğer asidik bileşikler olmadığı için pH'sı diğer limon suyu eklenen örneklerle göre daha az düşmüş ve titrasyon asitlikleri ise kontrol-3'te daha az yükselirken, kontrol-4'te ise titrasyon asitliği azalmıştır.

Yapılan bir çalışmada, İzmir (Tire) bölgesinden elde edilen karadut ham suyunda pH 3.42, titrasyon asitliği ise $1.17 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ (susuz sitrik asit cinsinden) olarak bulunurken, 20°C 'de 65 gün depolanan karadut suyu konsantrelerinde ise pH (3.33) ve titrasyon asitliğinde önemli bir değişim bulunmamıştır ($1.03\text{--}1.05 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) (Erbay 2011). Shangri La ve Pendula karadut çeşitleri ile yapılan bir çalışmada, pH'nın 4.88–5.68 arasında, titrasyon asitliğinin ise $0.09\text{--}0.37 \text{ g } \text{L}^{-1}$ (susuz sitrik asit cinsinden) arasında değiştiği ortaya konulmuştur (Şenol 2017). Bilindiği üzere çeşide, olgunlaşma düzeyine, iklim ve toprak koşullarına ve depolama koşullarına bağlı olarak meyvelerdeki pH ve titrasyon asitliği değişiklik göstermektedir. González-Molina vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, limon ve nar sularının pH'ları sırasıyla 2.45 ve 3.6; titrasyon asitlikleri ise 5.40 ve $0.34 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ (susuz sitrik asit cinsinden) olarak bulunmuş ve %25'lik limon suyu eklenmiş nar suyunda pH'nın 2.8'e düştüğü, titrasyon asitliğinin ise, $1.71 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ 'ye yükseldiği görülmüştür.

Depolama başlangıcında (Çizelge 4.1) kopigment eklenen örnekler, kopigment eklenmemiş kontrol-2 örneğinin pH'sı ile kıyaslandığında; kuersetin eklenen örneğin pH'sı aynı kalırken, nar kabuğu ekstraktı içeren örnek %2, karanfil ekstraktı içeren

Çizelge 4.1 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince pH ve titrasyon asitliği değerlerindeki değişimler

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	pH	Titrasyon asitliği
Kontrol-1*	0	4.31 ± 0.04 Ba	0.2674 ± 0.00 Dh
	10	4.38 ± 0.00 Aa	0.2939 ± 0.00 Cd
Kontrol-2**	0	3.53 ± 0.00 Cdef	0.8366 ± 0.00 Bcde
	10	3.56 ± 0.01 Bb	0.8671 ± 0.01 Ac
Kontrol-3***	0	4.04 ± 0.00 Ab	0.3480 ± 0.00 Bg
	8	3.98 ± 0.01 CDc	0.3941 ± 0.00 Ah
Kontrol-4****	0	4.30 ± 0.01 Aa	0.2452 ± 0.00 Ci
	8	4.22 ± 0.01 Cb	0.2849 ± 0.00 Aj
Kuersetin	0	3.53 ± 0.01 DEdefg	0.8342 ± 0.00 BCde
	10	3.56 ± 0.01 BCb	0.8720 ± 0.01 Ac
Kumarik asit	0	3.56 ± 0.06 ABcd	0.8471 ± 0.00 ABc
	10	3.56 ± 0.00 ABb	0.8583 ± 0.01 Ac
Kafeik asit	0	3.54 ± 0.01 Cde	0.8430 ± 0.00 Dcd
	10	3.56 ± 0.01 Bb	0.9418 ± 0.01 Aab
Gallik asit	0	3.54 ± 0.01 ABde	0.9105 ± 0.01 Ca
	10	3.55 ± 0.01 ABb	0.9466 ± 0.01 Ba
Ferulik asit	0	3.50 ± 0.01 Cefgh	0.8776 ± 0.00 Bb
	10	3.55 ± 0.01 Bb	0.9274 ± 0.00 Ab
Karanfil	0	3.48 ± 0.01 Bgh	0.8700 ± 0.00 Bb
	8	3.51 ± 0.01 ABg	0.8490 ± 0.00 Ce
Tarçın	0	3.49 ± 0.01 BCfgh	0.8417 ± 0.00 Acd
	8	3.50 ± 0.00 Ag	0.8312 ± 0.00 ABg
Zencefil	0	3.60 ± 0.00 ABc	0.8328 ± 0.00 Bde
	8	3.61 ± 0.00 Ad	0.8522 ± 0.00 Ae
Biberiye	0	3.60 ± 0.01 Ac	0.8271 ± 0.00 Be
	6	3.60 ± 0.00 Ad	0.8191 ± 0.01 BCf
Mercanköşk	0	3.55 ± 0.00 ABd	0.8166 ± 0.00 Bf
	8	3.57 ± 0.01 ABef	0.8878 ± 0.00 Acd
Nar kabuğu	0	3.46 ± 0.01 Ah	0.8409 ± 0.01 Acd
	8	3.46 ± 0.00 Ah	0.8466 ± 0.00 Aef

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. *****pH ve titrasyon asitliği, aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *****A–E: Aynı örnekteki, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). *****a–m: Farklı örneklerde, aynı depolama süresinde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). Titrasyon asitliği (g SSA/100 mL), susuz sitrik asit (SSA) cinsinden hesaplanmıştır.

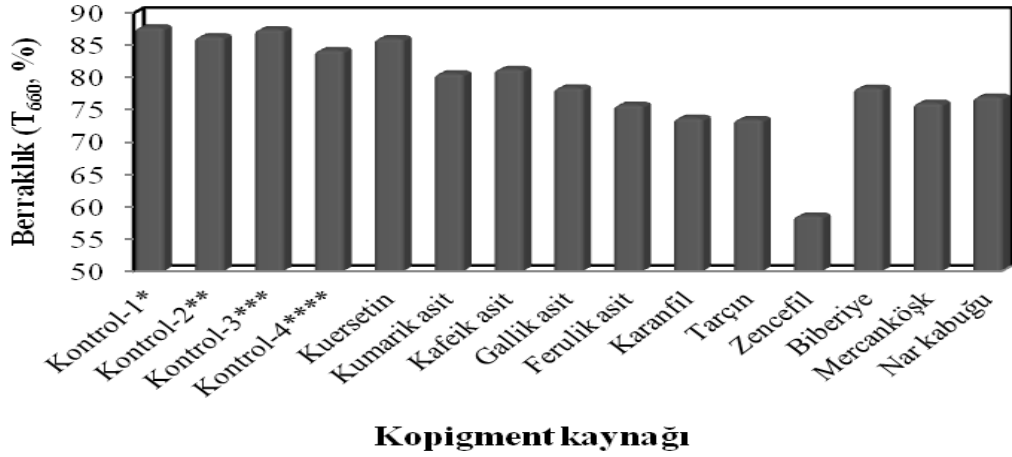
örnek %1.4, tarçın ekstraktı içeren örnek %1.1 ve ferulik asit eklenen örneğin pH'sı %0.8 azalmış, bunların dışındaki örneklerde ise artış (en fazla biberiye ve zencefil ekstraktı içeren örnekte %2) gözlemlenmiştir. Buna karşın titrasyon asitliğinde ise, mercanköşk (%2.4), biberiye, kuersetin ve zencefil içeren örneklerde azalma görülürken, en fazla gallik asit içeren örnekte (%8.8) olmak üzere, diğer kopigment eklenen örneklerde artış saptanmıştır.

Depolama süresince karadut nektarlarının pH değerlerinde önemli bir değişiklik olmazken, titrasyon asitliklerinde ise karanfil, tarçın ve biberiye ekstraktı içeren örnekler haricinde artış gerçekleşmiştir. Örneğin; 10 hafta depolama sonunda titrasyon asitlikleri; kontrol-1'de 0.2674 g 100 mL⁻¹'den 0.2939 g 100 mL⁻¹'ye, kontrol-2'de 0.8366 g 100 mL⁻¹'den 0.8671 g 100 mL⁻¹'ye ve ferulik asit eklenen örnekte ise 0.8776 g 100 mL⁻¹'den 0.9274 g 100 mL⁻¹'ye yükselmiştir. Diğer yandan, 8 hafta depolama sonunda titrasyon asitlikleri; karanfil ekstraktı içeren örnekte 0.8700 g 100 mL⁻¹'den 0.8490 g 100 mL⁻¹'ye, tarçın ekstraktı içeren örnekte 0.8417 g 100 mL⁻¹'den 0.8312 g 100 mL⁻¹'ye ve biberiye ekstraktı içeren örnekte ise 6 hafta depolama sonunda 0.8271 g 100 mL⁻¹'den 0.8191 g 100 mL⁻¹'ye düşmüştür.

4.2 Berraklık Değerindeki Değişimler

Preslenen meyve sularında meyve doku parçacıkları, protein-tanen kompleksleri, çözünmeyen proteinler, aktif enzimler, canlı ve ölmüş mikroorganizmalar süspansiyon halinde bulunduğu için bulanıklık oluşmaktadır. Ayrıca çalışmamızda meyve suyuna eklenen fenolik kaynaklarından gelen bulanıklık etmenleri de karadut nektarının berraklığını etkilemektedir. Karadut nektarına limon suyu ve farklı fenolik bileşikler ve fenolik kaynağı olarak farklı baharatlardan elde edilen ekstraktlar eklenerek depolanması sonucunda berraklık değerindeki değişimler Ek-1'de verilmiştir. Transmittans ölçümlerinde okunan absorbans değeri ne kadar küçükse örnek o kadar bulanık demektir. Depolama öncesinde berraklık değerleri berraktan bulanıklığa doğru şu şekilde bulunmuştur (şekil 4.1): kontrol-1 (87.8) > kontrol-3 > kontrol-2 > kuersetin > kontrol-4 > kafeik asit > kumarik asit > gallik asit = biberiye > nar kabuğu > mercanköşk > ferulik asit > karanfil > tarçın > zencefil (58.6). Araştırmamızda karadut

nektarına limon suyu eklenmesinin limon suyundan gelen meyve parçaları, protein-tanen kompleksleri gibi faktörler nedeniyle az da olsa (%1.7) bulanıklığı artırdığı görülmektedir. AA ve HCl eklenmesi de karadut nektarının bulanıklığını artırmıştır. Karadut nektarına eklenen fenolik bileşikler ve baharat ekstraktları hem sadece karadut suyunun hem de limon suyu eklenmiş karadut nektarının bulanıklığını artırmıştır.



Şekil 4.1 Kopigment eklenen karadut nektarlarının berraklık değerleri

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, karadut suyu konsantresinin 20°C’de depolama öncesinde bulanıklık değeri 29.5 NTU iken, 65 gün depolanması sonunda, bulanıklık değerinin tespit edilemeyecek kadar yüksek olduğu belirlenmiş, ayrıca depolama sıcaklığı arttıkça bulanıklık değerinin de arttığı ortaya konulmuştur (Erbay 2011). Meyve sularında yapılmış çalışmalar, fenolik maddelerin bulanıklıkta çok önemli rol oynadığını göstermektedir. Kontrol-1’e kıyasla en az bulanıklığı artıran fenolik kaynağı, kuersetin eklenen örnek (%1.9) iken, en fazla artıranın ise, zencefil ekstraktı eklenen örnek (%33.3) olduğu saptanmıştır. Depolama süresince berraklık değerinde dalgalanmalar olmasına rağmen zencefil (%13.8 artış), karanfil, mercanköşk ve nar kabuğu ekstraktı eklenen örnekler hariç, diğer kopigment eklenen karadut nektarı örneklerinin berraklıklarında depolama sonunda azalma olduğu yani örneklerin bulanıklıklarının arttığı gözlemlenmiştir.

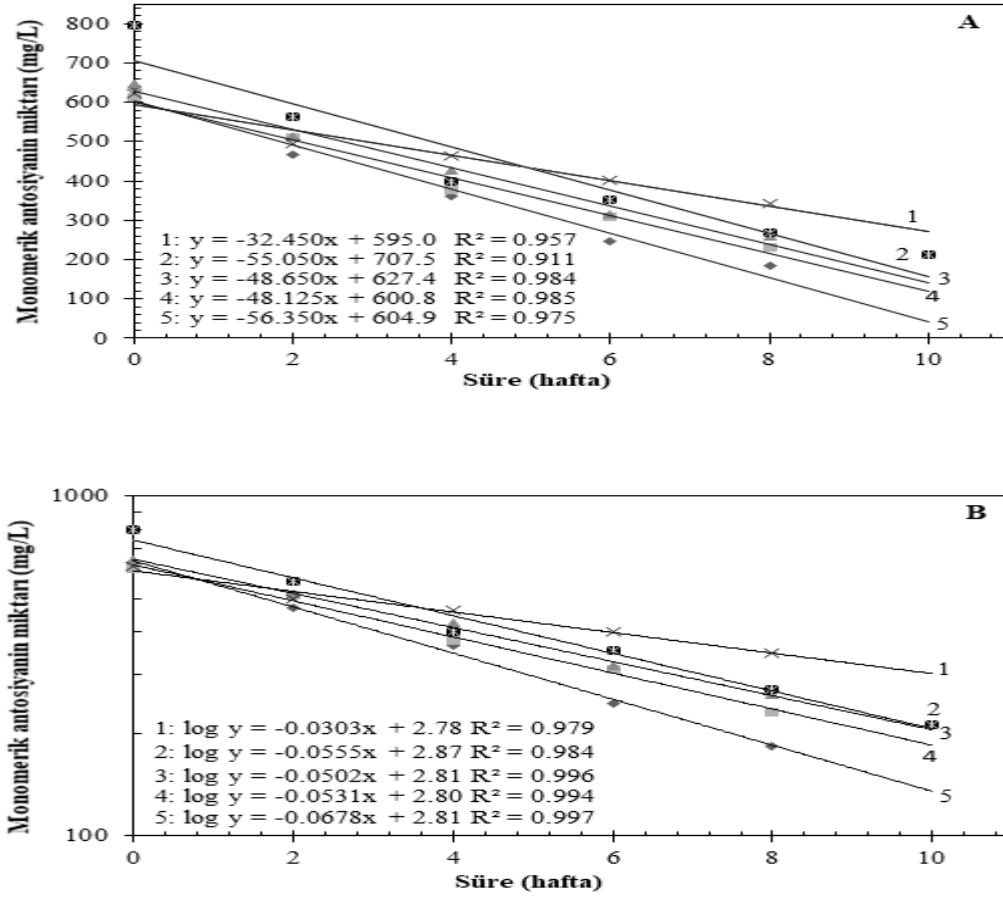
4.3 Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarlarındaki Değişimler

Karadut nektarlarına kopigment olarak fenolik kaynakların, sitrik asit kaynağı olarak da limon suyu eklenmesi ile 20°C’de 3 ay depolanması süresince TMA miktarlarına ait ölçüm sonuçları Ek-2’de verilmiştir. Depolama süresince TMA miktarında meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Hem aritmetik hem de yarı-logartitmik grafikten elde edilen eğrilere “doğrusal regresyon analizi” uygulanarak, bu eğrileri tanımlayan eşitlikler hesaplanmış ve R^2 değerlerinin kıyaslanması ile karadut nektarlarında antosiyanin kaybının birinci derece kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği saptanmıştır. Örnek olarak; kontrol-1, karanfil, tarçın, zencefil ve mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarlarının depolama süresince TMA miktarındaki değişimi gösteren grafikler (aritmetik ve yarı-logaritmik) şekil 4.2’de verilmiştir.

Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada da, -20, 4, 10 ve 20°C sıcaklıklarda depolanan karadut sularında antosiyanin kaybının birinci dereceden kinetik modelle tanımlandığı tespit edilmiştir (Erbay 2011). Benzer şekilde; 5, 20 ve 30 °C sıcaklıklarda depolanan siyah havuç konsantrelerinde (Türkyılmaz 2009), karadut, nar, çilek ve siyah havuç suyu içeren meyve ve sebze sularının ve kefirlerin 4°C depolanmasında (Alaggöz-Kabakcı vd. 2020), çilek suyu konsantrelerinin 25°C depolanmasında (Garzón ve Wrolstad 2002), açai meyvesinin 5, 20 ve 30°C’de depolanmasında (Pacheo-Polencia ve Talcott 2010) ve vişne suyu konsantrelerinin -20, 4 ve 20°C’de (Navruz vd. 2016) depolanmaları süresince antosiyanin kaybı birinci dereceden kinetik modelle tanımlanmıştır.

Çizelge 4.2 verileri incelendiğinde depolama başlangıcında; TMA verilerinde, en yüksek TMA miktarı 836.5 mg L⁻¹ ile biberiye ekstraktı içeren örnekte olduğu, bunu %40’lık karadut nektarı içeren kontrol-1 örneğinin 797.5 mg L⁻¹ değeriyle takip ettiği tespit edilmiştir. Biberiye ekstraktı içeren örnek, kontrol-1, 2, 3 ve 4 örnekleriyle kıyaslandığında depolama başlangıcında, sırasıyla TMA miktarlarında %4.9, 26.6, 51.4 ve 34.4’lük artış olduğu görülmüştür. Ayrıca kontrol-2’ye göre, kuersetin (%3.9) ve gallik asit (%1.5) içeren örneklerde de depolama başlangıcında artış saptanmıştır.

Kontrol-2 (limon suyu içeren) ile kontrol-4 (HCl içeren) kıyaslandığında, kontrol-4 örneğinde TMA miktarında depolama başlangıcında %5.8'lik bir azalma gözlenmiş ve bu azalmanın limon suyunun bileşiminin pH'dan bağımsız olarak fenolik içeriği ve içerdiği sitrik asit nedeniyle karadut nektarlarının TMA miktarını artırdığı görülmektedir. Aynı zamanda kontrol-2 ile kontrol-3 (AA içeren) kıyaslandığında, kontrol-3 örneğinin TMA miktarında depolama başlangıcında %17.4'lük azalış görülmekte ve bu azalışın limon suyundaki AA'in antosiyaninleri parçalamasını, limon suyunun diğer bileşenleri sayesinde azaltması olarak açıklanabilir. 6. hafta depolama verileri incelendiğinde; en yüksek TMA miktarının yine 494.5 mg L^{-1} ile biberiye



Şekil 4.2 Kontrol-1 ile karanfil, tarçın, zencefil ve mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarlarının 20°C 'de depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarında meydana gelen değişimler

1: Karadut nektarı + mercanköşk ekstraktı, 2: Kontrol-1: Karadut nektarı, 3: Karadut nektarı + zencefil ekstraktı, 4: Karadut nektarı + tarçın ekstraktı ve 5: Karadut nektarı + karanfil ekstraktı. **A** : Aritmetik, **B** : Yarı-logaritmik.

ekstraktı içeren örnekte olduğu, %40'lık karadut nektarı içeren kontrol-1 örneğinin ise, 351.5 mg L⁻¹ TMA içerdiği tespit edilmiştir. Biberiye ekstraktı içeren örnek, kontrol-1, -2, -3 ve -4 örnekleri ile kıyaslandığında; TMA miktarlarında 6. haftanın sonunda, sırasıyla %40.7, 21.6, 380 ve 10.9'lük artış görülmüştür. Kontrol-1'e göre kıyaslandığında, biberiye ekstraktı içeren örnekten sonra kontrol-4'ün dışında 6. haftanın sonunda en fazla artış, ferulik asit içeren örnekte (%15.9) görülmüş, bunu da sırasıyla; kontrol-2, mercanköşk, gallik asit, kuersetin, kumarik ve kafeik asit içeren örnekler izlemiştir. Ayrıca kontrol-2'ye göre kıyaslama yapıldığında, ferulik asit içeren örnekte 6. hafta sonunda %0.2'lik bir artış görülmektedir. Kontrol-2 ile kontrol-4 örneklerinin TMA miktarları kıyaslandığında, 6. hafta sonunda kontrol-2'de %9.7'lik bir azalma gözlenmiştir.

Çizelge 4.2 Karadut nektarlarının 20°C'de depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarındaki değişimler

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)	Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)
Kontrol-1*	0	797.5 ± 6.4 Ab	Kafeik asit	0	627.0 ± 5.7 A ₁
	6	351.5 ± 3.5 Df		6	352.0 ± 0.0 Df
Kontrol-2**	0	661.0 ± 7.1 Ae	Gallik asit	0	671.0 ± 0.0 Ad
	6	406.5 ± 0.7 Dc		6	396.0 ± 0.0 Cd
Kontrol-3***	0	552.5 ± 2.1 Al	Ferulik asit	0	649.0 ± 1.4 Af
	6	103.0 ± 1.4 Dk		6	407.5 ± 4.9 Dc
Kontrol-4****	0	622.5 ± 3.5 Ai	Biberiye	0	836.5 ± 2.1 Aa
	6	446.0 ± 2.8 Db		6	494.5 ± 2.1 Da
Kuersetin	0	686.5 ± 4.9 Ac	Mercanköşk	0	621.0 ± 0.0 Aij
	6	385.5 ± 2.1 De		6	400.5 ± 4.9 Dd
Kumarik asit	0	639.0 ± 5.7 Agh	Nar kabuğu	0	600.5 ± 3.5 Ak
	6	357.0 ± 0.0 Df		6	232.0 ± 0.0 Dj

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. *******:** Toplam monomerik antosiyanin miktarı, aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *******A-F :** Aynı örnekte, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). *******a-l:** Aynı depolama süresinde, farklı örneklerde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

20°C’de depolanan, pastörize edilmiş karadut ham suyu ile yapılan çalışmada TMA miktarı 1385 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur (Erbay 2011). Yapılan bir çalışmada farklı karadut çeşitleri kullanılmış ve TMA miktarları; Shangri La çeşidinde 2170 mg kg⁻¹, *Morus nigra* Pendula’da 470 mg kg⁻¹, kurutulmuş Pendula meyvelerinde 178 mg g⁻¹ bulunurken (Şenol 2017), laboratuvarımızda yapılan diğer bir çalışmada ise, %25’lik karadut suyunda 402.5 mg g⁻¹ TMA tespit edilmiştir (Alagöz-Kabakcı vd. 2020). Bu farklılığın sebebi; çeşidine, olgunlaşma düzeyine, iklim ve toprak koşullarına ve depolama koşullarına bağlı olarak meyvelerdeki TMA miktarının değişiklik göstermesidir. Karadut sularının depolanması süresince TMA’lerin parçalanmasına ait eşitlikler ve bu eşitliklerden hesaplanan kinetik katsayılar çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince TMA miktarındaki değişimleri ilişkin *k* ve *t*_{1/2} değerleri

Karadut örnekleri	- <i>k</i> (hafta ⁻¹)	<i>t</i> _{1/2} (hafta)
Kontrol-1**	0.128 (0.984)*	5.4
Kontrol-2***	0.073 (0.966)	9.4
Kontrol-3****	0.309 (0.975)	2.2
Kontrol-4*****	0.055 (0.964)	12.6
Kuersetin	0.094 (0.968)	7.3
Kumarik asit	0.085 (0.988)	8.2
Kafeik asit	0.093 (0.994)	7.5
Gallik asit	0.079 (0.934)	8.7
Ferulik asit	0.079 (0.989)	8.7
Karanfil	0.156 (0.997)	4.4
Tarçın	0.122 (0.994)	5.7
Zencefil	0.116 (0.996)	6.0
Biberiye	0.095 (0.952)	7.3
Mercanköşk	0.070 (0.979)	9.9
Nar kabuğu	0.149 (0.994)	4.6

*Parantez içinde verilen değerler TMA miktarında değişime ait eşitliğin R² değerleridir. ****Kontrol-1:** Karadut nektarı, *****Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu, ******Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA, *******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

Antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin $t_{1/2}$ değerleri (Çizelge 4.3) incelendiğinde, en fazla antosiyanin stabilitesinin çoktan aza doğru; kontrol-4 > mercanköşk > kontrol-2 > ferulik asit = gallik asit > kumarik asit > kafeik asit > biberiye = kuersetin > zencefil > tarçın > kontrol-1 > nar kabuğu > karanfil > kontrol-3 örneklerinde olduğu görülmektedir.

Kontrol-1 (%40'lık karadut nektarı) örneğindeki antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin $t_{1/2}$ değerleri diğer örneklerin $t_{1/2}$ değerleri ile kıyaslandığında, nar kabuğu, karanfil ve kontrol-3 örnekleri hariç, diğer tüm karadut nektar örneklerinde $t_{1/2}$ değerleri artmıştır. En fazla artış ise, kontrol-4 örneğinde (%133.3) gerçekleşmiş, bunu; kontrol-2 örneği (%74.1) izlemiştir. Fenolik madde eklenen örneklerde ise; en fazla artış mercanköşk ekstraktı içeren örnekte (%83.3) gerçekleşmiş, bunu da ferulik ve gallik asit içeren örnekler (%61.1) izlemiştir. Buna karşın, antosiyanin stabilitesindeki en az artış, tarçın ekstraktı içeren örnekte (%5.5) gözlenmiştir. Antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kontrol-2'ye (limon suyu içeren karadut nektarı) ait $t_{1/2}$ değerleri kıyaslandığında ise; kontrol-4 (HCI içeren) %34.0, mercanköşk ekstraktı içeren örnek ise, %5.3 oranında antosiyanin stabilitesini artırmıştır. Kontrol-4 göre kıyaslama yapıldığında ise $t_{1/2}$ değerinin hiçbirinde artış gözlemlenmemiştir. Bu durum depolama koşullarında limon suyunun asidik (pH 2.32) yapısının antosiyaninlerin stabilitesine en fazla katkı sağladığını göstermektedir. Antosiyaninler, asidik ortamlarda alkali ortamlara göre çok daha stabildir (Rein 2005). Ayrıca limon suyu beklenenin aksine karadut antosiyaninlerini parçalamamış ve limon suyunda bulunan fenolikler ve limon suyunun asitliği nedeniyle AA'nin parçalama etkisine karşı, antosiyaninlerin stabilitesine katkı sağlamışlardır. AA'nin antosiyaninleri parçalaması nedeniyle en düşük $t_{1/2}$ değeri (2.2 hafta); sadece AA içeren karadut nektarı olan kontrol-3'te görülmüştür. Literatürde; AA varlığı, antosiyaninlerin parçalanmasına neden olduğu birçok çalışmada ortaya konulmuştur (Sondheimer ve Kertesz 1952, Rodriguez-Saona vd. 1999, Garzón ve Wrolstad 2002, Özkan 2002, Brenes vd. 2005). AA, oksijen ile reaksiyona girerek oluşan parçalanma ürünleri ile (H_2O_2 vb.) antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Markakis vd. 1957, Starr ve Francis 1968). 20°C'de vişne suyunda iki farklı AA konsantrasyonunda antosiyanin degradasyonunun önemli ölçüde değiştiği, 60 mg/L AA konsantrasyonunda $t_{1/2}$ değerleri eklenen H_2O_2 'in farklı konsantrasyonları için 450

dak. üzerindeyken, 80 mg/L AA konsantrasyonunda ise $t_{1/2}$ değerleri 8 dak.'ya kadar azaldığı görülmüştür (Özkan 2002). Ayrıca Shrikhande ve Francis (1974), flavanol varlığının, AA varlığında antosiyaninlerin parçalanmasında koruyucu etki gösterdiğini, bunu da kondenzasyon reaksiyonlarında antosiyaninlerin yerine flavanollerin reaksiyona girerek antosiyaninleri koruduğu ile açıklamışlardır. Ancak, AA ve parçalanması ile oluşan ürünler, ortamda koruyucu bileşiklerin olmadığı durumlarda antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır (Calcavanti vd. 2011).

Araştırmamızda fenolik bileşiklerde en fazla antosiyanin stabilitesi sağlayan fenolik bileşiklerin, ferulik ve gallik asit ($t_{1/2}$ değerleri 8.7 hafta) olduğu saptanmıştır. Bu iki fenolik bileşik ve kullandığımız diğer fenolikler limon suyunda bulunmaktadır. Dolayısıyla gerek limon suyunda bulunan gerekse de doğrudan eklenen ferulik ve gallik asidin karadut antosiyaninlerinin stabilitesini en fazla artırdığı görülmektedir. Aynı zamanda araştırmamızda kullanılan baharatlardan ferulik ve gallik asit içeren mercanköşk ve biberiyenin de en yüksek $t_{1/2}$ değerlerine (9.9, 7.3 hafta) sahip olduğu, dolayısıyla karadut antosiyaninlerin stabilitesini en fazla artırdığı görülmektedir. Literatürde limon suyunda bulunan önemli fenolik bileşikler; kafeik, ferulik, sinapik, *p*-kumarik, protokateşuik, *p*-hidroksibenzoik ve vanillik asitlerdir (González-Molina vd. 2010). Biberiyenin (*Rosmarinus officinalis*) “156.9 µg rosmarinik asit/g kuru ağırlık”, 15.16 µg *p*-hidroksibenzoik asit/g kuru ağırlık, “12.58 µg kafeik asit/g kuru ağırlık”, 8.42 µg protokateşik asit/g kuru ağırlık, “5.57 µg *p*-kumarik asit/g kuru ağırlık”, 3.46 µg siringik asit/g kuru ağırlık, “1.99 µg ferulik asit/g kuru ağırlık”, 1.36 µg kuersetin/g kuru ağırlık” ve “1.07 µg klorojenik asit/g kuru ağırlık” içerdiği tespit edilmiştir (Vallverdú-Queralt vd. 2014). *Origanum majorana* L.'in (mercanköşk) başlıca fenoliklerin; apigenin (%35.23), metil rosmenat (%31.58), rosmarinik asit (%15.15), luteolin-7-*o*-rutinose (%9.38), *p*-kumarik asit (%0.38), gallik asit (%0.29), klorojenik asit (%0.25), kafeik asit (%0.16) ve ferulik asit (%0.12) olduğu belirlenmiştir (Roby vd. 2013).

Literatürde 20°C'de depolanan karadut suyu konsantrelerinde TMA'nin kaybına ilişkin $t_{1/2}$ değeri, 1.7 ay olarak bulunmuştur (Erbay 2011). Yapılan diğer bir çalışmada ise +4°C'de depolanan %10'luk karadut suyunda TMA'nin kaybına ilişkin $t_{1/2}$ değeri 31.4 hafta iken, %25'lik karadut suyunda 36.3 hafta olarak tespit edilmiştir (Alagöz-Kabakcı

vd. 2020). $t_{1/2}$ değerlerinde belirlenen farklılık çeşitli nedenlerden kaynaklı olabilmektedir. Bunlardan birincisi; birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleşen reaksiyonlarda hız, reaktan konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değişmektedir. İkincisi neden ise, karadutların antosiyanin miktarı ve dağılımının; karadut çeşidine, olgunlaşma düzeyine, iklim ve toprak koşullarına ve depolama koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermesidir.

Karadut meyvesinde bulunan başat antosiyaninler, cy-3-glu ve cy-3-rut'tur (Lee vd. 2004). Bu başat antosiyaninler yanında, karadutlarda, cy-3-pho, pg-3-glu, pg-3-rut, pt-3-glu ve cy-3-glu-rut de bulunmaktadır (Lee vd. 2004). Erbay (2011) tarafından yapılan çalışmada, karadut suyu üretiminde İzmir (Tire) yöresinden temin edilen karadutlar kullanılmış ve elde edilen karadut sularında, cy-3-glu (%51), cy-3-rut (%44) ve pg-3-glu (%5) saptanmıştır.

Antosiyanin yapısı göz önüne alındığında, yapısında bulunan hidroksil (–OH) veya metoksil (–OCH₃) grup miktarına göre antosiyanin stabilitesi de değişmektedir. Örneğin, delfinidin B halkasının yapısındaki OH grubu sayısının (2 tane OH grubu), siyanidin (1 tane OH grubu) ve pelargonidin'e (OH grubu içermemekte) göre fazla olması nedeniyle antosiyanin stabilitesinin daha düşük olduğu görülmüş olup; –OH sayısı arttıkça antosiyaninlerin stabilitesi azaldığı tespit edilmiştir (Castañeda-Ovando vd. 2009). Bu nedenle karadut antosiyaninlerinin stabilitesinin yüksek olduğu düşünülebilir. Açai meyvesinin 12 hafta boyunca farklı pH ve sıcaklıklarda depolanması sonucunda, antosiyaninlerin (cy-3-glu ve cy-3-rut) parçalanması birinci derece kinetik modeli izlerken; 20°C'de pH 3'te cy-3-glu'un $t_{1/2}$ değeri 12.0 gün iken, cy-3-rut'un ise 28.4 gün olarak belirlenmiş olup; cy-3-rut antosiyanin stabilitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Pacheo-Polencia ve Talcott 2010).

4.4 Hiperkromik Etki ve Bathokromik Kaymadaki Değişimler

Karadut nektarlarının 20°C'de 3 ay depolanması süresince; fenolik bileşik-antosiyanin kopigmentasyonu üzerine fenolik bileşikler, pH, limon suyu ve AA etkisini gösterebilmek amacıyla, karadut nektarlarında maksimum dalga boyu (λ_{maks} ,

batokromik kayma) ve λ_{maks} 'daki absorbands değerleri (A_{maks} , hiperkromik etki) depolama boyunca incelenmiş; verilerden (Ek-2) elde edilen eşitlikler ve bu eşitliklerden hesaplanan kinetik katsayılar çizelge 4.4'de verilmiştir. Doğrusal regresyon analizi sonucu elde edilen R^2 değerlerinin kıyaslanması ile, karadut nektarlarındaki antosiyaninlerin hiperkromik etki ve batokromik değişimlerinin birinci derece kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.4 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C'de 3 ay depolanması süresince A_{maks} değerlerindeki değişimlere ilişkin k ve $t_{1/2}$ değerleri

Karadut örnekleri	$-k$ (hafta ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hafta)
Kontrol-1**	0.099 (0.973)*	7.0
Kontrol-2***	0.057 (0.957)	12.2
Kontrol-3****	0.209 (0.981)	3.3
Kontrol-4*****	0.044 (0.963)	15.8
Kuersetin	0.074 (0.968)	9.4
Kumarik asit	0.064 (0.982)	10.8
Kafeik asit	0.067 (0.991)	10.4
Gallik asit	0.061 (0.905)	11.4
Ferulik asit	0.057 (0.994)	12.2
Karanfil	0.118 (0.997)	5.9
Tarçın	0.087 (0.995)	7.9
Zencefil	0.085 (0.996)	8.2
Biberiye	0.077 (0.932)	9.0
Mercanköşk	0.053 (0.981)	13.2
Nar kabuğu	0.112 (0.992)	6.2

*Parantez içinde verilen değerler A_{maks} miktarındaki değişime ait eşitliğin R^2 değerleridir. ****Kontrol-1:** Karadut nektarı, *****Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu, ******Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA, *******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

Çizelge 4.4 incelendiğinde; A_{maks} değerlerindeki azalmaya ait $t_{1/2}$ değerlerinin, TMA miktarının kaybına ait $t_{1/2}$ değerlerinin sıralaması ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Hiperkromik etkiye ait $t_{1/2}$ değerleri incelendiğinde, antosiyanin stabilitesinin çoktan aza

doğru; kontrol-4 > mercanköşk > kontrol-2 = ferulik asit > gallik asit > kumarik asit > kafeik asit > kuersetin > biberiye > zencefil > tarçın > kontrol-1 > nar kabuğu > karanfil > kontrol-3 örneklerinde olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmada, $t_{1/2}$ değerleri kontrol-1 (%40'lık karadut nektarı) örneğine kıyasla nar kabuğu, karanfil ve kontrol-3 örnekleri hariç diğer karadut nektarı örneklerinde en fazla; kontrol-4 (%125.7) ve kontrol-2 örneğinde (%74.3), fenolik eklenenlerde ise; en fazla mercanköşk ekstraktı içeren örnekte (%88.6) ve ferulik asit içeren örnekte (%74.3) antosiyanin stabilitesinde artışa neden olmuştur. Buna karşın, en az artış, tarçın ekstraktı içeren örnekte (%12.9) gözlenmiştir. Kontrol-2 (limon suyu içeren) örneğine göre, kontrol-4 (HCl içeren) örneğinde %29.5, mercanköşk ekstraktı içeren örnekte ise, %8.2 oranında antosiyanin stabilitesi artmıştır. Kontrol-4 (HCl içeren) örneğine göre kıyaslama yapıldığında ise, $t_{1/2}$ değerlerinin hiçbirinde artış gözlemlenmemiştir.

Araştırmanın depolama öncesi A_{maks} verileri (çizelge 4.5) incelendiğinde en yüksek değerin 0.598 ile biberiye ekstraktı içeren örnekte olduğu, bu durumun TMA verileri ile uyum sağladığı ve kontrol örnekleri (kontrol-1, -2, -3 ve -4) ile kıyaslandığında sırasıyla %5.5, 24.8, 46.2, 31.7'lik artış gerçekleştiği görülmüştür. Kontrol-2 (limon suyu içeren) örneği ile kıyaslandığında; biberiye ekstraktı içeren örnekten sonra en fazla artış gösteren kuersetin (%4.2) ve gallik asit (%2.1) içeren örneklerde belirlenmiştir.

Depolama öncesi A_{maks} verileri incelendiğinde; kontrol-4 (HCl içeren) örneği ile kıyaslandığında; biberiye ekstraktı içeren örnekten sonra en fazla artış gösteren, kuersetin (%9.9), gallik asit (%7.7), ferulik asit (%5.5), zencefil (%3.3) ve mercanköşk (%0.9) içeren örneklerde olduğu ortaya konulmuştur. Kontrol-3 (AA içeren) örneği ile kıyaslandığında ise, örneklerde en fazla artışlar gözlemlenmiştir (kuersetin %22, gallik asit %19.6, ferulik asit %17.1, zencefil %14.7, karanfil %13.2 ve mercanköşk %12). Buna karşın, kontrol-1 (%40'lık karadut nektarı) ile kontrol-2 (limon suyu içeren) kıyaslandığında; kontrol-2 örneğinde %15.5'lik bir azalma gözlemlenmektedir. Kontrol-2 (limon suyu içeren) ile kontrol-4 (HCl içeren) kıyaslandığında; kontrol-4 örneğinde %5.2'lik azalma gözlenmiş ve bu azalmanın limon suyunun pH'sından bağımsız olarak, fenolik madde ve sitrik asit içeriklerinin karadut nektarlarında A_{maks} 'ı artırmasından

Çizelge 4.5 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince hiperkromik etki ve batokromik kaymadaki değişimleri

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Hiperkromik etki (A_{maks})	Batokromik kayma (λ_{maks})
Kontrol-1*	0	0.567 ± 0.00 Ab	511.1 ± 0.1 Eabc
	6	0.288 ± 0.00 Dg	512.0 ± 0.0 Db
Kontrol-2**	0	0.479 ± 0.00 Ae	511.9 ± 1.1 ABa
	6	0.325 ± 0.00 Dd	512.0 ± 0.0 ABb
Kontrol-3***	0	0.409 ± 0.00 Ak	510.0 ± 0.0 Ccd
	6	0.118 ± 0.00 Dk	512.0 ± 0.0 Ab
Kontrol-4****	0	0.454 ± 0.00 Ahi	511.0 ± 0.0 Babcd
	6	0.351 ± 0.00 Db	512.0 ± 0.0 Ab
Kuersetin	0	0.499 ± 0.01 Ac	509.8 ± 1.1 Bd
	6	0.310 ± 0.00 De	512.5 ± 0.7 Aab
Kumarik asit	0	0.467 ± 0.01 Afg	511.0 ± 0.9 Dabced
	6	0.295 ± 0.00 Df	513.0 ± 0.0 ABa
Kafeik asit	0	0.464 ± 0.01 Afg	511.2 ± 0.3 ABabc
	6	0.299 ± 0.00 Df	512.0 ± 0.0 Ab
Gallik asit	0	0.489 ± 0.00 Ad	511.2 ± 0.5 Aabc
	6	0.321 ± 0.00 Cd	512.0 ± 0.0 Ab
Ferulik asit	0	0.479 ± 0.00 Ae	511.4 ± 0.4 ABab
	6	0.333 ± 0.00 Dc	512.0 ± 0.0 Ab
Karanfil	0	0.463 ± 0.00 Afg	512.0 ± 0.0 Ba
	6	0.222 ± 0.00 Di	513.0 ± 0.0 Aa
Tarçın	0	0.449±0.00 Ai	512.0 ± 0.0 Ca
	6	0.272 ± 0.00 Dh	513.0 ± 0.0 Ba
Zencefil	0	0.469 ± 0.00 Af	511.0 ± 0.0 Babcd
	6	0.276 ± 0.00 Dh	512.0 ± 0.0 Ab
Biberiye	0	0.598 ± 0.00 Aa	511.0 ± 0.0 Cabcd
	6	0.393 ± 0.00 Da	513.0 ± 0.0 Aa
Mercanköşk	0	0.458 ± 0.00 Agh	510.5 ± 0.7 Bbcd
	6	0.326 ± 0.00 Dd	512.5 ± 0.7 Aab
Nar kabuğu	0	0.438 ± 0.00 Aj	511.0 ± 0.0 Cabcd
	6	0.211 ± 0.00 Dj	512.0 ± 0.0 ABCb

Kontrol-1: Karadut nektarı. ****Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. *******:** A_{maks} ve λ_{maks} aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *******A-F:** Aynı örnekte, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$). *******a-l:** Aynı depolama süresinde, farklı örneklerde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

kaynaklanadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda kontrol-2 (limon suyu içeren) ile kontrol-3 (AA içeren) örnekleri kıyaslandığında; A_{maks} 'ta kontrol-3 örneğinde %14.6'lük azalma görülmekte ve bu azalma, limon suyundaki AA'nin antosiyaninleri parçalamasının limon suyundaki diğer bileşenler sayesinde azalmasıyla açıklanabilir.

Araştırmamızın 6. hafta A_{maks} verileri incelendiğinde (çizelge 4.5); 0. haftada olduğu gibi en fazla hiperkromik etki biberiye ekstraktı içeren örnekte olduğu (0.393) (kontrol-1, -2, -2 ve -4 örneklerine göre; sırasıyla %36.5, 20.9, 233 ve 12 artış) görülmüştür. 0. haftaya bakılarak biberiye ekstraktı içeren örneğin, kontrol-1 (%40'lık karadut nektarı) ve kontrol-3'e göre hiperkromik etkisini artırdığı, kontrol-2 (limon suyu içeren) ve kontrol-4 (HCl içeren) örneklerine göre de azalttığı görülmüştür. Kontrol-2 (limon suyu içeren) ile kıyaslandığında, biberiye ekstraktı içeren örnekten sonra kontrol-4 (HCl içeren) örneğinde %8, ferulik asit içeren örnekte %2.5, mercanköşk ekstraktı içeren örnekte %0.3 oranında hiperkromik etkinin arttığı görülmektedir. Kontrol-1 (%40'lık karadut nektarı) ile kıyaslandığında; zencefil, tarçın, karanfil ve nar kabuğu ekstraktı içeren örnekler dışında en fazla biberiye ekstraktı içeren örnekte, en az da kumarik asit (%2.4) içeren örnekte olmak üzere hiperkromik etki artmıştır.

Kontroller ile kıyaslandığında antosiyaninler ile fenolik kaynaklar (mercanköşk, biberiye ekstraktı içeren örnek, kontrol-2 (limon suyu içeren), ferulik asit ve gallik asit içeren örnekler) arasında kopigmentasyon gerçekleştiği görülmektedir. Bilindiği üzere moleküller arası kopigmentasyon, renkli antosiyanin ve renksiz kopigment arasında gerçekleşmektedir. Bu etkileşimde kovalent bağ oluşmamaktadır ve buna karşın hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimler, bu kopigmentasyonun temel mekanizmalarıdır. Moleküller arası etkileşim, antosiyaninin hem flavilum hem de kuinoidal formuyla oluşabilir (Rein 2005). Çalışmamızda kullanılan fenolik bileşiklerin içerdikleri -OH grupları nedeniyle, antosiyaninler ile hidrojen bağı oluşturduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, Misket (*Vitis rotundifolia*) üzüm suyunun suda çözünür biberiye ekstraktı (%0–0.4, v/v) ve AA ile zenginleştirilmesi sonucunda, biberiye ekstraktı fenolikleri ile üzüm suyu antosiyaninleri arasında kolayca kopigment-antosiyanin kompleksleri oluşmuş ve artan antioksidan aktivite ile birlikte %10–27 arasında konsantrasyona bağlı olarak hiperkromik kaymalar (yani kopigmentasyon etkisi)

görülmüştür (Talcott vd. 2003). AA varlığı özellikle biberiye ekstraktlı örneklerde; antosiyanin, AA ve antioksidan aktivitesi kayıplarına neden olmuştur.

Açai meyvesi antosiyaninlerinin (cy-3-glu (208 mg L⁻¹) ve cy-3-rut (311 mg L⁻¹)) renk stabiliteleri üzerine farklı kopigmentlerin etkisinin incelendiği diğer bir çalışmada, 3 farklı kopigment türü (fenolik asitler (protokateşik, *p*-hidroksi benzoik, vanilik, sirinjik ve ferulik asitler), prosiyanidin (dimerler ve trimerler) ve flavon-C-glikozit (isoorientin, orientin ve isovitexin)) kullanılmıştır (Pacheo-Polencia ve Talcott 2010). Bu çalışmada farklı pH değerleri (3.0, 3.5 ve 4.0) ile farklı sıcaklıklarda (5, 20 ve 30°C) depolanan meyvelerin antosiyanin parçalanma kinetiği incelenmiştir. Tüm pH ve sıcaklık değerlerinde, flavon-C-glikozit'in antosiyanin renginde ve stabilitesinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Fenolik asit ve prosiyanidin varlığının ise, ne renk ne de antosiyaninlerin depolama stabilitesi üzerine kayda değer bir etkisi olmadığı ortaya konulmuştur. Flavon-C-glikozit açısından zengin Afrika kıvıı çayı ve biberiye ekstraktının eklenmesi ile antosiyanin renginde yaklaşık %45 ve stabilitesinde yaklaşık olarak %40 artış olduğu saptanmıştır. Afrika kıvıı çayı ve biberiye ekstraktının (0.2%, v/v) eklenmesinin hiperkromik etkinin pH değerine göre farklı oranlarda artmasına neden olduğu tespit edilmiştir (Afrika kıvıı çayı, %45.5–pH 3.0, %30.2–pH 3.5 ve %14.7–pH 4.0 iken, biberiyede %27.5–pH 3.0, 21.1–pH 3.5 ve %10.7–pH 4.0).

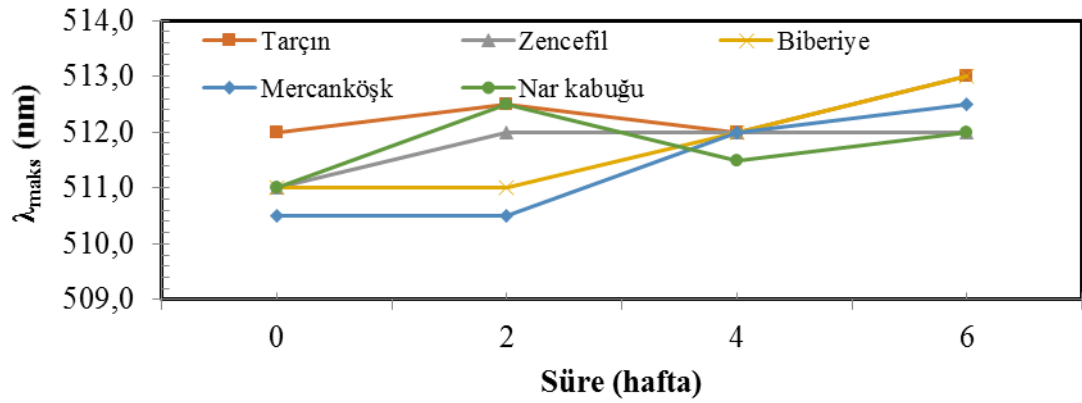
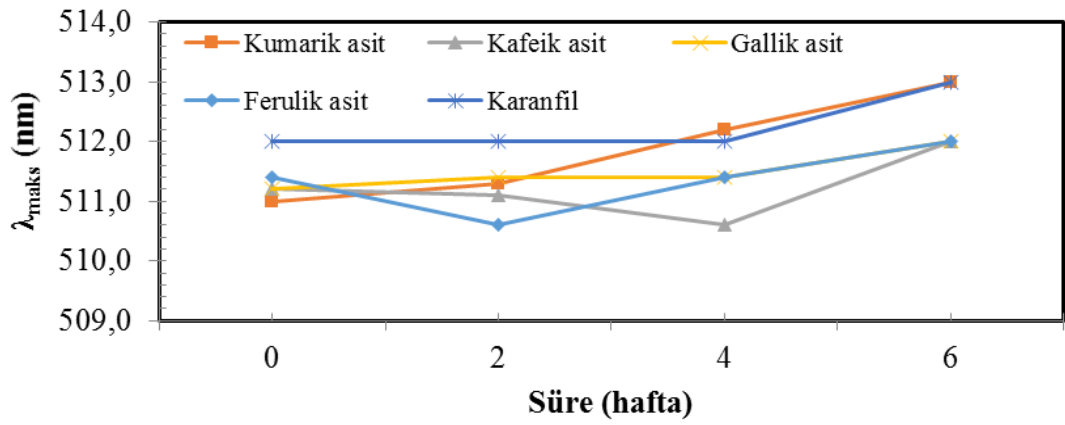
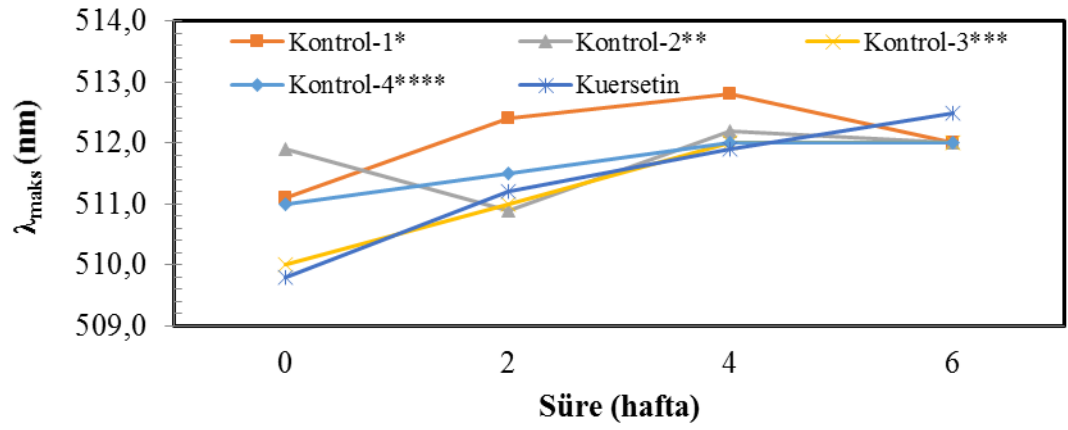
Karadut nektarlarında, depolama süresince TMA miktarı azalırken, A_{maks}'ında azaldığı saptanmıştır. İki kriter arasındaki korelasyonu belirlenmesi amacıyla, depolama süresince elde edilen TMA konsantrasyonları “x” eksenine, A_{maks} değerleri ise, “y” eksenine yerleştirilmiştir. Karadut nektarlarının TMA miktarındaki azalma ile A_{maks} azalma arasında çok kuvvetli bir korelasyonlar bulunmuştur [kontrol-1, kontrol-2, kuersetin, kumarik asit ve biberiye (r=0.998); kontrol-3 (r=0.990); kontrol-4, kafeik asit ve gallik asit (r=0.997); ferulik asit (r=0.995) ve karanfil, tarçın, zencefil, mercanköşk ve nar kabuğı (r=0.999)].

Çizelge 4.5'deki bathokromik veriler incelendiğinde, depolama öncesi kontrol-1 örneğine (λ_{maks}=511.1 nm) kıyasla, kontrol-2'de (λ_{maks}=511.9 nm) 0.8 nm lik artış, kontrol-3'te 1.1 nm azalış, kontrol-4'te de 0.1 nm azalış saptanmıştır. Bunun yanında,

fenolik bileşik eklenenler örneklerde ise; en fazla artış 0.9 nm ile karanfil ve tarçın ekstraktı içeren örneklerde, bunu 0.4 nm artış ile ferulik asit içeren örneğin izlediği gözlenmiştir. Buna karşın, kafeik ve gallik asit içeren örneklerde 0.1 nm'lik önemsiz bir artış görülürken, kumarik asit, zencefil, biberiye, nar kabuğu ekstraktı içeren örneklerde ise, 0.1 nm'lik önemsiz bir azalma tespit edilmiştir. En fazla azalma ise, 1.3 nm ile kuersetin içeren örnekte belirlenmiş, bunu da 0.6 nm ile mercanköşk ekstraktı içeren örnek takip etmiştir. Kontrol-2'ye kıyasla kontrol-3'te 1.9 nm'lik, kontrol-4'te ise, 0.9 nm'lik azalma, yalnızca karanfil ve tarçın ekstraktı içeren örneklerde 0.1 nm'lik önemsiz bir artış saptanmıştır. Dolayısıyla depolama öncesinde, limon suyunun pH'sından bağımsız olarak, fenolik içeriği nedeniyle karadut suyunda bulunan antosiyaninler ile kopigmentasyon sağladığı düşünülmektedir.

Araştırmamızda 6. hafta verileri incelendiğinde, tüm 4 kontrol örneğine ($\lambda_{maks}=512.0$ nm) kıyasla, en fazla bathokromik kayma gösteren örnekler; biberiye, tarçın, karanfil ve kumarik asit ($\lambda_{maks}=513.0$ nm) içeren örnekler (1 nm) olduğu, bunu da mercanköşk ekstraktı ve kuersetin içeren örneklerin (0.5 nm) izlediği belirlenmiştir. 8. hafta verileri incelendiğinde ise, kontrol-2 örneğine ($\lambda_{maks}=513.5$ nm) göre yalnızca kumarik asit, tarçın ve kontrol-1 örneklerinde 0.5 nm'lik bir bathokromik kayma görülürken, kontrol-4 ($\lambda_{maks}=512.0$ nm) örneğine göre ise, en fazla kayma; kumarik asit, tarçın ve kontrol-1 örneklerinde (2 nm) saptanmış, bunu da mercanköşk ve kontrol-2 örnekleri (1.5 nm), nar kabuğu ve kuersetinde içeren örnekler (1 nm), karanfil ve gallik asit içeren örnekler (0.5 nm) izlemiştir. Kontrol-3 ($\lambda_{maks}=506.0$ nm) örneğinde ise, λ_{max} değerinde azalma gözlemlenmiştir.

Araştırmamızda 6 hafta depolama süresince bathokromik kayma değerlerinde meydana gelen değişim şekil 4.3'te verilmiştir. 6 hafta depolama sonunda bathokromik kayma değerlerinde en fazla artış çokdan aza doğru; kuersetin (2.7 nm), mercanköşk, biberiye, kumarik asit, kontrol-3 (2 nm), nar kabuğu, karanfil, tarçın, zencefil, kontrol-4 (1 nm), kontrol-1 (0.9 nm), kafeik asit, gallik asit (0.8 nm), ferulik asit (0.6 nm) ve kontrol-2 (0.1 nm) örneklerinde görülmüştür.



Şekil 4.3 Karadut nektarlarının depolama süresince λ_{maks} değerlerindeki değişim

Kontrol-1**: Karadut nektarı, *Kontrol-2**: Karadut nektarı + Limon suyu, *****Kontrol-3**: Karadut nektarı + AA, ******Kontrol-4**: Karadut nektarı + HCl.

Kara havuç antosiyaninlerine ferulik asit eklenmesi ile 10, 20 ve 30°C sıcaklıklarda bekletilmesi ile kopigmentasyon gerçekleşmiş ve maksimum dalga boyunda (λ_{maks} -kopigment) kayma meydana geldiği görülmüştür (İstanbul 2007). Maksimum dalga boyundaki kayma değerleri ($\Delta\lambda_{maks}$ -kopigment) pH 1–5 aralığında 3–8.5 nm arasında gerçekleşmiştir. Kopigmentasyonun sıcaklıktan çok etkilenmediği, bununla birlikte en fazla kopigmentasyonun 10°C gerçekleştiği belirlenmiştir. HPLC analizlerinde kullanılan antosiyanin standartları dışında, yeni antosiyanin bileşiklerinin saptanamaması, oluşan kopigmentasyonun kovalent bağlanılma ile gerçekleşen moleküller içi kopigmentasyon olmadığını, zayıf etkileşimlerin etkili olduğu, yani moleküller arası kopigmentasyon olabileceğini göstermektedir. Ahududu meyvesinden ekstrakte edilen cy-3-glu ve cy-3-pho antosiyaninleri ile yapılan bir çalışmada, beş farklı fenolik asit kopigment olarak kullanılmış ve kopigmentlerin renk yoğunluğunu artırdıkları gözlenmiştir (Sun vd. 2010). Eklenen fenolik maddelerin kopigmentasyon etkisi, hiperkromik ve bathokromik etkinin artmasıyla anlaşılmıştır. Bu çalışmada, sinapik ve ferulik asit diğer fenolik asitlere (kafeik, kumarik ve gallik asit) göre daha güçlü kopigmentasyon etkisi göstermiştir. Maksimum kopigment etkisi, pH 4'te ferulik ve sinapik asitte gözlenmiştir. Kopigmentlerde görülen maksimum kopigmentasyonlar; gallik asit ve cy-3-glu arasında pH 4'te (hiperkromik etki-%22.9 ve batokromik kayma-1.2 nm artış) saptanırken, kumarik asit ve cy-3-glu arasında pH 4'te (hiperkromik etki-%27.7 ve batokromik kayma-2.2 nm artış), kafeik asit ve cy-3-glu arasında pH 4'te (hiperkromik etki-%41.0 ve batokromik kayma 4.0 nm artış), ferulik asit ve cy-3-glu arasında pH 4'te (hiperkromik etki-%63.9 ve batokromik kayma-6.6 nm artış) ve sinapik asit ve cy-3-glu arasında pH 4'te (hiperkromik etki-%110.5 ve batokromik kayma-8.7 nm) saptanmıştır.

Çalışmamızda kopigment eklenen örneklerin pH'sı 3.46 ile 3.60 arasında değişmektedir. Maksimum kopigmentasyonun gerçekleştiği pH aralıkları; 3-glikozitler için, 3.2–4.5; 3,5-diglikozitler için, 3.1–3.7; 3-ailglikozitler için, 4.0–4.5; 3-ailglikozit-5-glikozitler için, 3.1 ve 3-ailglikozit-5-ailglikozitler için ise, 3.2–4.7 civarındadır (Sun vd. 2010). Araştırmamızdaki pH değerleri, 3-glikozitler için uygun olan pH aralığındadır. Cy-3-rut ve cy-3-glu antosiyanin moleküllerinin protokateşik asit, *p*-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, sirinjik asit ve ferulik asit ile kopigmentasyonunun

incelendiği model sistemde (pH 3.0, 3.5 ve 4.0 ve sıcaklık; 5, 20 ve 30°C), ortamın pH değerinin 3.0'dan 3.5'e çıkması, antosiyanin parçalanmasına ait $t_{1/2}$ değerini 10.7'den 5.79'a düşürmüştür, yani antosiyaninlerin parçalanmasını %46 oranında artırmıştır (Pacheo-Polencia ve Talcott 2010).

Çalışmamızda, kopigment eklenen örnekler kontrol-2 örneği ile kıyaslandığında; düşük pH'sına rağmen nar kabuğu ekstraktı eklenen örneklerde, antosiyanin stabilitesi ve hiperkromik etki sağlanmazken yalnızca kontrol-2 ve kontrol-4 örneklerine göre renk yoğunluğu stabilitesi sağlanmıştır. Biberiye ekstraktı içeren örnek, yüksek pH'sına rağmen, depolama boyunca hiperkromik etki ve bathokromik kayma sağlamış ve renk yoğunluğunu artırmış, depolama boyunca ise, kontrol-1 örneğine kıyasla antosiyanin stabilitesi sağlamıştır. Karanfil ekstraktı içeren örnek, düşük pH'sına rağmen, antosiyanin stabilitesi ve hiperkromik etki sağlamazken, depolama süresince bathokromik kayma ve renk yoğunluğunda artışa neden olmuştur. Tarçın ekstraktı içeren örnek ise, düşük pH'sına rağmen, depolama boyunca renk yoğunluğunu artıran tek kopigment olurken, zencefil ekstraktı içeren örnek, yüksek pH'sına rağmen, renk yoğunluğu stabilitesi sağlamış, mercanköşk ekstraktı içeren örnek ise, yüksek pH'sına rağmen, antosiyanin stabilitesi, hiperkromik etki, bathokromik kayma ve renk yoğunluğu stabilitesi sağlamıştır.

4.5 Antosiyaninlerin Parçalanma Ölçütlerindeki Değişimler

Karadut nektarlarının depolanması süresince; fenolik bileşik-antosiyanin kopigmentasyonu üzerine fenolik bileşikler, pH, limon suyu ve AA etkisini gösterebilmek amacıyla, parçalanma ölçütlerindeki değişimler de incelenmiş ve elde edilen veriler varyans analizi uygulanmış olup, gruplar arasındaki farklılığı incelemek üzere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Ek-3). Depolama süresince karadut nektarlarının renk yoğunluğunda meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Depolama başlangıcındaki veriler (Çizelge 4.6) incelendiğinde, limon suyu ilavesinin yani kontrol-1 örneğine (5.1) kıyasla, kontrol-2 örneğinin (12.4) renk yoğunluğunu %143.1 oranında arttırdığı görülmektedir.

Çizelge 4.6 Karadut nektarlarının 20°C’de depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişimler

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Kontrol-1*	0	5.1 ± 0.0 Fl	0.94 ± 0.00 Fj	18.4 ± 0.0 Fa
	6	6.3 ± 0.0 Cm	2.01 ± 0.00 Ck	32.0 ± 0.1 Cc
Kontrol-2**	0	12.4 ± 0.0 Bf	1.20 ± 0.00 Fh	9.7 ± 0.0 Fk
	6	11.8 ± 0.0 Cf	2.24 ± 0.04 Ci	18.9 ± 0.3 Bl
Kontrol-3***	0	5.9 ± 0.0 Bk	0.85 ± 0.01 El	14.5 ± 0.2 Ec
	6	5.4 ± 0.0 Dn	3.76 ± 0.01 Bb	69.9 ± 0.4 Ba
Kontrol-4****	0	5.1 ± 0.0 El	0.89 ± 0.01 Ek	17.3 ± 0.1 Eb
	6	6.9 ± 0.0 Al	1.77 ± 0.01 Bl	25.6 ± 0.1 Bh
Kuersetin	0	11.5 ± 0.1 Bj	1.17 ± 0.01 Fi	10.2 ± 0.1 Fı
	6	11.2 ± 0.0 Ch	2.10 ± 0.00 Cj	18.8 ± 0.0 Cl
Kumarik asit	0	12.1 ± 0.0 Ag	1.22 ± 0.00 Eh	10.1 ± 0.0 Fı
	6	10.7 ± 0.1 Bj	2.01 ± 0.00 Ck	18.8 ± 0.1 Cl
Kafeik asit	0	12.6 ± 0.1 Be	1.80 ± 0.00 Fb	14.3 ± 0.1 Fd
	6	12.2 ± 0.0 Ce	3.38 ± 0.01 Cd	27.8 ± 0.1 Cf
Gallik asit	0	13.2 ± 0.2 Ad	1.29 ± 0.01 Ef	9.8 ± 0.0 Fjk
	6	11.8 ± 0.0 Bf	2.23 ± 0.00 Ci	18.9 ± 0.1 Cl
Ferulik asit	0	13.8 ± 0.0 Bc	1.73 ± 0.01 Fc	12.6 ± 0.1 Ff
	6	13.7 ± 0.0 BCb	3.57 ± 0.00 Cc	26.2 ± 0.1 Cg
Karanfil	0	14.3 ± 0.1 Aa	2.46 ± 0.03 Ea	17.2 ± 0.1 Eb
	6	11.6 ± 0.0 Cg	4.04 ± 0.01 Ba	34.8 ± 0.2 Bb
Tarçın	0	12.1 ± 0.0 Eg	1.20 ± 0.00 Eh	9.9 ± 0.0 Ej
	6	13.2 ± 0.0 Bc	3.34 ± 0.00 Be	25.3 ± 0.1 Bı
Zencefil	0	11.8 ± 0.0 Bi	1.64 ± 0.00 Ed	14.0 ± 0.1 Ee
	6	11.0 ± 0.0 Di	3.23 ± 0.01 Bf	29.3 ± 0.1 Be
Biberiye	0	14.2 ± 0.0 Cb	1.29 ± 0.01 Df	9.2 ± 0.1 Dl
	6	14.8 ± 0.0 Ba	3.07 ± 0.00 Ag	20.8 ± 0.0 Ak
Mercanköşk	0	11.9 ± 0.1 Eh	1.42 ± 0.00 Ee	12.0 ± 0.1 Eg
	6	12.8 ± 0.0 Ad	2.89 ± 0.01 Bh	22.6 ± 0.1 Bj
Nar kabuğu	0	11.7 ± 0.1 Ai	1.25 ± 0.01 Eg	10.7 ± 0.0 Eh
	6	10.1 ± 0.0 Ck	3.08 ± 0.00 Bg	30.6 ± 0.0 Bd

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. *****Parçalanma ölçütleri aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *****A–E: Aynı örnekte, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). *****a–o: Aynı depolama süresinde, farklı örneklerde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çalışmamızda depolama başlangıcında; AA ilavesinin yani kontrol-1 örneğine kıyasla kontrol-3 örneğinin (5.9), %15.6 oranında renk yoğunluğunu attırdığı belirlenmiştir. Kontrol-1 örneğine kıyasla, kontrol-4 örneğinde (5.1) yani pH'nın düşürülmesiyle renk yoğunluğunda herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Fenolik kaynakları eklenen örneklerin hepsinde (en fazla karanfil ekstraktı içerede (14.3) (%180.4), en az kuersetin (11.5) (%125.5)) içeren örnekte kontrol-1 örneğine kıyasla depolama başlangıcında artış saptanmıştır. Kontrol-2 örneğiyle kıyaslandığında ise, yine en fazla karanfil ekstraktı içeren örnek (%15.3) olmak üzere, biberiye (%14.5), ferulik asit (%11.3), gallik asit (%6.5) ve kafeik asit (%1.6) içeren örneklerde depolama başlangıcında artış görülmüştür. Buna karşın, kontrol-3 ve kontrol-4 örneklerine kıyasla ise, bütün örneklerde artış tespit edilmiştir. Dolayısıyla limon suyu (limon suyundaki fenolik bileşikler ve limon suyunun asitliği nedeniyle) ve fenolik kaynakların eklenmesi ile renk yoğunluğunun önemli miktarda arttığı ortaya konulmuştur.

Kopigmentasyon olduğunda renk yoğunluğunun arttığı bilinmektedir. Monomerik antosiyaninlere kopigmentlerin bağlanması ile oluşan polimerik yapının, monomerik antosiyaninlerin bulunduğu ilk durumdan daha fazla renk yoğunluğu değeri göstermesi kopigmentasyon etkisini doğrulamaktadır (Versari vd. 2007). 6. hafta verileri incelendiğinde, kontrol-1'e (6.3) kıyasla kontrol-3 (5.4) (%14.3) haricinde, tüm örneklerde renk yoğunluğunda artış saptanmış (kontrol-2'de (11.8) %87.3, kontrol-4'de (6.9) %9.5), kontrol-2 örneğine kıyasla ise biberiye, ferulik asit, tarçın, mercanköşk, kafeik asit içeren örneklerde artış gerçekleşmiştir.

Depolama başlangıcında (Çizelge 4.6), en yüksek renk yoğunluğu karanfil ekstraktı içeren örnekte (14.3) olurken 6 hafta depolama sonunda, en yüksek renk yoğunluğu biberiye ekstraktı içeren örnekte (14.8) olup kontrol-1 örneğine kıyasla %135 artarken, kontrol-2 örneğine (11.8) kıyasla da %25.4 artmıştır. Depolama süresince renk yoğunluğundaki değişim birinci dereceden kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği tespit edilmiş olup, bu değişimlere ilişkin k ve $t_{1/2}$ değerleri çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 ilişkin veriler incelendiğinde renk yoğunluğu stabilitesine ait $t_{1/2}$ değerleri çokdan aza doğru; mercanköşk > zencefil > kumarik asit > kontrol-1 > tarçın > kontrol-

3 > ferulik asit > nar kabuğu > gallik asit > kontrol-2 > kuersetin > kafeik asit > karanfil > biberiye > kontrol-4 örneklerinde olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.7 Farklı kopigment içeren karadut sularının 20°C’de 3 ay depolanması süresince renk yoğunluğundaki değişimlere ilişkin k ve $t_{1/2}$ değerleri

Karadut örnekleri	$(-k)$ (hafta ⁻¹)	$t_{1/2}$ (hafta)
Kontrol-1**	0.014 (0.935)*	50.2
Kontrol-2***	0.025 (0.731)	27.4
Kontrol-3****	0.018 (0.504)	39.6
Kontrol-4*****	0.048 (0.846)	14.5
Kuersetin	0.026 (0.675)	26.9
Kumarik asit	0.013 (0.690)	51.9
Kafeik asit	0.027 (0.915)	25.3
Gallik asit	0.023 (0.421)	29.8
Ferulik asit	0.020 (0.837)	34.2
Karanfil	0.031 (0.829)	22.3
Tarçın	0.017 (0.618)	41.2
Zencefil	0.012 (0.889)	56.8
Biberiye	0.032 (0.347)	21.8
Mercanköşk	0.009 (0.446)	77.2
Nar Kabuğu	0.023 (0.842)	30.7

*Parantez içinde verilen değerler renk yoğunluğu miktarındaki değişime ait eşitliğin R^2 değerleridir.
****Kontrol-1:** Karadut nektarı, *****Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu, ******Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA, *******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

En fazla renk yoğunluğu stabilitesi sağlayan mercanköşk ekstraktı içeren örnek kontrol örnekleri (kontrol-1, -2, -3 ve -4) ile kıyaslandığında; sırasıyla %53.8, 181.8, 95.0, 432.4 oranlarında artış sağlamıştır. Kontrol-1 örneği ile kıyaslandığında, mercanköşk ekstraktı içeren %53.8 örnekten sonra, zencefil ekstraktı içeren örnek %13.1 ve kumarik asit içeren örnek %3.4 artış sağlamıştır. Kontrol-2 örneği ile kıyaslandığında ise, mercanköşk, zencefil ve kumarik asit, ferulik asit (%24.8), nar kabuğu (%12) ve gallik asit (%8.8) içeren örneklerde artış sağlanmıştır. Kontrol-4 örneği ile kıyaslandığında ise, mercanköşk, zencefil, kumarik asit, ferulik asit, nar kabuğu, gallik asit, kuersetin

(%85.5), kafeik asit (%74.4), karanfil (%53.8) ve biberiye ekstraktı içeren örneklerde (%50.3) artış sağlanmıştır. Karadut nektarına limon suyu eklenmesi ile yani kontrol-1 örneğinin kontrol-2 örneğiyle kıyaslanmasında, renk yoğunluğu stabilitesini kontrol-2 örneğinin %45.4 azalttığı görülmektedir. Buna karşın, AA ilavesi yani kontrol-3 örneği ile kıyasında ise, %21.1 azalttığı, en fazla azalmanın ise kontrol-4 (%71.1) örneğinde gerçekleştiği görülmektedir. Tüm kopigmentler içinde yalnızca tarçın, biberiye ve mercanköşk ekstraktı içeren örneklerde depolama süresince renk yoğunluğunun arttığı görülmüştür. Tarçın, biberiye ve mercanköşk ekstraktı içeren örneklerde depolama süresince renk yoğunluğunun artması yanında, bathokromik kayma ve hiperkromik etki göstermesi ile kopigmentasyonun gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, İzmir Tire yöresinden temin edilen 20°C’de depolanan karadut suyu konsantrelerinde renk yoğunluğu 0 ve 138 gün depolama sonucunda sırasıyla; 70.34 ve 63.0 olarak, polimerik renk değerleri ise, 6.23 ve 19.08 olarak bulunmuştur (Erbay 2011). Laboratuvarımızda yapılan diğer bir çalışmada ise, 4°C’de depolanan %10’luk karadut suyu renk yoğunluğu 0 ve 12 hafta depolama sonucunda sırasıyla; 1.56 ve 1.17 olarak, polimerik renk değerleri ise 0.27 ve 0.31 olarak bulunurken, %25’lik karadut suyu ise renk yoğunluğu 0 ve 12 hafta depolama sonucunda sırasıyla; 4.28 ve 3.42 olarak, polimerik renk değerleri ise 0.68 ve 0.76 olarak tespit edilmiştir (Alagöz-Kabakcı vd. 2020).

Depolama süresince TMA miktarı ile renk yoğunluğu verileri arasındaki korelasyon incelenmiş; karadut nektarlarının TMA miktarı azalırken, renk yoğunluğunun da azaldığı belirlenmiştir. Karadut nektarlarının TMA miktarındaki azalma ile renk yoğunluğundaki azalma arasında genel olarak yüksek bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir [kontrol-4 ($r=0.981$), kontrol-1 ($r=0.953$), kafeik asit ($r=0.952$), zencefil ($r=0.904$), ferulik asit ($r=0.898$), kontrol-2 ($r=0.892$), nar kabuğu ($r=0.868$), kuersetin ($r=0.858$), karanfil ($r=0.829$), gallik asit ($r=0.726$), kontrol-3 ($r=0.713$), tarçın ($r=0.648$), kumarik asit ($r=0.635$), biberiye ($r=0.634$), mercanköşk ($r=0.569$)] olduğu tespit edilmiştir. Tarçın, biberiye ve mercanköşk ekstraktı içeren örneklerde TMA miktarı azalırken renk yoğunluğu arttığından bu örneklerdeki korelasyon daha düşük belirlenmiştir.

Depolama süresince karadut nektarlarında polimerik renkte meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama öncesinde (Çizelge 4.6) en düşük değerler kontrol-3 (0.85), kontrol-4 (0.89) ve kontrol-1 (0.94) örneklerinde belirlenirken, kopigment içerenlerde bunlara nazaran daha yüksek polimerik renk değerleri belirlenmiştir. En yüksek polimerik rengin depolama başlangıcında; sırasıyla karanfil (2.46), kafeik asit (1.8), ferulik asit (1.73), zencefil (1.64), mercanköşk (1.42), biberiye (1.29), gallik asit (1.29), nar kabuğu (1.25), kumarik asit (1.22), tarçın (1.20), kontrol-2 (1.20) ve kuersetin (1.17) içeren örneklerde olduğu belirlenmiştir. 6 hafta depolama sonunda ise, en yüksek polimerik renk, yine karanfil ekstraktı içeren örnekte (4.04) saptanırken, bunu kontrol-3 örneği (3.76) izlemiştir. 6 hafta depolama sonunda kontrol-2 kıyasla sırasıyla; mercanköşk, biberiye, nar kabuğu, zencefil, tarçın, kafeik asit, ferulik asit, karanfil ekstraktı içeren örneklerde polimerik rente artış gerçekleşmiştir. Kontrol-3 örneğinde AA varlığı nedeniyle, antosiyaninlerin parçalanmasıyla polimerik renkte belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Choi vd. (2002), antosiyaninlerin AA ile reaksiyonu sonucu; esmerleşme ve polimerik renkte artış olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda karadut nektarlarına kopigmentlerin eklenmesi ile hem renk yoğunluğunda hem de polimerik renk de artış gerçekleşmiştir. Bilindiği üzere kopigmentasyon gerçekleştiğinde renk yoğunluğu artmaktadır. Monomerik antosiyaninlere kopigmentlerin bağlanması ile oluşan polimerik yapının, monomerik antosiyaninlerin tek başına gösterdiği renk yoğunluğundan daha fazla renk yoğunluğu değeri göstermesi kopigmentasyonun gerçekleştiğini doğrulamaktadır (Versari vd. 2007). Dolayısıyla antosiyaninlerin polimerizasyonu yanında, antosiyanin parçalanması, esmer renkli pigmentlerin oluşumunun da bir göstergesi olan polimerik renk değerlerindeki artış, renk yoğunluğunda meydana gelen artış ile birlikte değerlendirildiğinde kopigmentasyonu gerçekleştiğini göstermektedir. Kopigment kaynaklarının etkileri incelendiğinde; tüm örneklerin kontrol-1 örneğine kıyasla, polimerik renk ve renk yoğunluğunda artışa neden olduğu, yani; eklenen kopigmentlerin karadut nektarlarında kopigmentasyon etkisi gösterdiği anlaşılmaktadır.

Depolama süresince polimerik renkte meydana gelen değişimin sıfıncı dereceden kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği tespit edilmiş ve polimerik renkteki değişimlere ilişkin kinetik parametreler çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelge 4.8’deki

kinetik veriler incelendiğinde, polimerik renkte meydana gelen artış hızı çoktan aza doğru; kontrol-3 (0.426 Abs hafta⁻¹) > kontrol-4 > tarçın > biberiye > ferulik asit > zencefil > nar kabuğu > mercanköşk > kafeik asit > karanfil > kumarik asit > kuersetin > kontrol-2 > gallik asit > kontrol-1 (0.111 Abs hafta⁻¹) örneklerinde olduğu görülmektedir. Polimerik renkte meydana gelen artış hızının en fazla AA içeren örnekte (kontrol-3) olmasının nedeni ise, AA'nın parçalanma ürünlerinin antosiyaninleri parçalaması ile oluşan esmer renkli polimerik bileşikler olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.8 Farklı kopigment içeren karadut sularının 20°C'de 3 ay depolanması süresince polimerik renk miktarındaki değişimlere ilişkin *k* ve R² değerleri

Karadut örnekleri	<i>k</i> (Abs hafta ⁻¹)	R ²
Kontrol-1*	0.111	0.839
Kontrol-2**	0.123	0.879
Kontrol-3***	0.426	0.959
Kontrol-4****	0.347	0.737
Kuersetin	0.124	0.970
Kumarik asit	0.125	0.960
Kafeik asit	0.207	0.960
Gallik asit	0.121	0.940
Ferulik asit	0.261	0.971
Karanfil	0.204	0.899
Tarçın	0.315	0.972
Zencefil	0.246	0.973
Biberiye	0.264	0.879
Mercanköşk	0.212	0.969
Nar Kabuğu	0.236	0.884

Kontrol-1:** Karadut nektarı, *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu, *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA, ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

Depolama süresince karadut nektarlarında polimerik renk oranında meydana gelen değişimler istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Depolama başlangıcında, en yüksek polimerik renk oranı kontrol-1 (%18.4), kontrol-4 (%17.3), karanfil (%17.2) ve kontrol-3 (%14.5) örneklerinde çoktan aza doğru sıralanırken; en düşük değerler

biberiye (%9.1), kontrol-2 (%9.7) ve gallik asit (%9.8) içeren örneklerde bulunmuştur. 6 hafta depolama sonunda ise, en yüksek polimerik renk oranı hızlı bir artışla kontrol-3 örneğinde (%69.9) belirlenmiştir. Kontrol-2 kıyasla 6 hafta sonunda; gallik asit, kuersetin ve kumarik asit içeren örnekler dışındakilerde polimerik renk oranında artış gerçekleşmiştir. Depolama süresince polimerik renk oranında meydana gelen değişimin sıfırdan kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği tespit edilmiş ve polimerik renk oranındaki değişimlere ilişkin kinetik parametreler çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelge 4.9'daki veriler incelendiğinde, polimerik renk oranında meydana gelen artış hızı çokdan aza doğru; kontrol-3 (8.590 % hafta⁻¹) > kontrol-4 > nar kabuğu > karanfil > tarçın > zencefil > ferulik asit > kafeik asit > biberiye > kontrol-1 > mercanköşk > kumarik asit > kuersetin > gallik asit > kontrol-2 (1.376 % hafta⁻¹) örneklerinde olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.9 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C'de 3 ay depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimlere ilişkin *k* ve *R*² değerleri

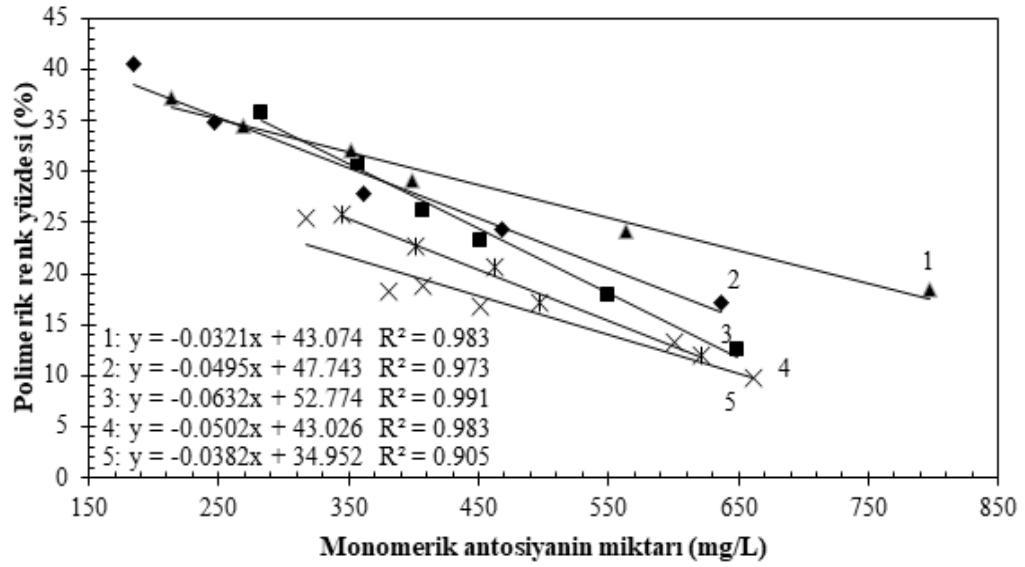
Karadut örnekleri	<i>k</i> (% hafta ⁻¹)	<i>R</i> ²
Kontrol-1*	1.836	0.968
Kontrol-2**	1.376	0.917
Kontrol-3***	8.590	0.977
Kontrol-4****	6.335	0.615
Kuersetin	1.506	0.991
Kumarik asit	1.516	0.991
Kafeik asit	2.199	0.994
Gallik asit	1.471	0.995
Ferulik asit	2.246	0.994
Karanfil	2.845	0.992
Tarçın	2.440	0.994
Zencefil	2.435	0.991
Biberiye	1.905	0.985
Mercanköşk	1.665	0.973
Nar Kabuğu	3.165	0.993

Kontrol-1:** Karadut nektarı, *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu, *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA, ******Kontrol-4:** Karadut nektarı+ HCl.

Erbay (2011) tarafından 20°C’de depolanan karadut suyu konsantrelerinde yapılan bir çalışmada, polimerik renk oranı sıfırıncı dereceden kinetik modele uyduğu ve k değerinin 0.2738 % gün⁻¹ olduğu saptanmıştır. 0, 85 ve 138 gün depolama sonucunda polimerik renk oranı sırasıyla; %8.37, 28.57 ve 30.41 olarak bulunmuştur. Laboratuvarımızda yapılan diğer bir çalışmada ise, +4°C’de depolanan %10 karadut suyu polimerik renk oranının da sıfırıncı dereceden kinetik modele uyduğu ve k değerinin 0.736 % hafta⁻¹ olduğu belirlenmiş ve 0 ve 12 hafta depolama sonucunda polimerik renk oranı sırasıyla; %17.09 ve 26.06 olarak bulunmuştur (Alagöz-Kabakcı vd. 2020). Aynı çalışmada, %25’lik karadut suyu içeren ise, k değerinin 0.494 % hafta⁻¹ olduğu görülmüş ve 0 ve 12 hafta depolama sonucunda polimerik renk oranı sırasıyla; %15.89 ve 22.12 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, depolama boyunca bütün örneklerde polimerik renk oranında artış meydana gelmiştir. Bilindiği üzere polimerik renk oranı ve polimerik renk değeri arttıkça, monomerik antosiyaninlerin parçalandığı ve esmer renkli pigmentlerin arttığı anlaşılmaktadır (Giusti ve Wrolstad 2001). Diğer yandan polimerik renk oranındaki artışın; antosiyaninlerin kopigmentlerle polimerizasyonundan, kopigmentasyondan veya antosiyanin parçalanmasından kaynaklandığı bilinmektedir (Kopjar vd. 2011). Depolama süresince karadut nektarlarının TMA miktarı azalırken, polimerik renk oranları artmıştır. Kontrol-1, kontrol-2, ferulik asit, mercanköşk ve karanfil ekstraktları içeren örneklerin depolanması süresince TMA miktarları ile polimerik renk oranları arasındaki grafik, şekil 4.4’te verilmiştir.

Grafiklerden elde edilen veriler, karadut nektarlarının TMA miktarındaki azalma ile polimerik renk oranındaki artış arasında yüksek negatif korelasyon olduğunu göstermiştir [kontrol-3 ($r=0.994$), ferulik asit ($r=0.991$), zencefil ($r=0.991$), tarçın ($r=0.985$), kontrol-1 ($r=0.983$), mercanköşk ($r=0.983$), kafeik asit ($r=0.982$), nar kabuğu ($r=0.977$), karanfil ($r=0.973$), kuersetin ($r=0.951$), kumarik asit ($r=0.932$), biberiye ($r=0.918$), gallik asit ($r=0.917$), kontrol-2 ($r=0.905$) ve kontrol-4 ($r=0.555$)]. En düşük korelasyon, kontrol-4 örneğinde saptanmıştır.



Şekil 4.4 Kontrol-1, kontrol-2, ferulik asit, karanfil ve mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarlarının 20°C'de depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarı ile polimerik renk oranları arasındaki doğrusal ilişki

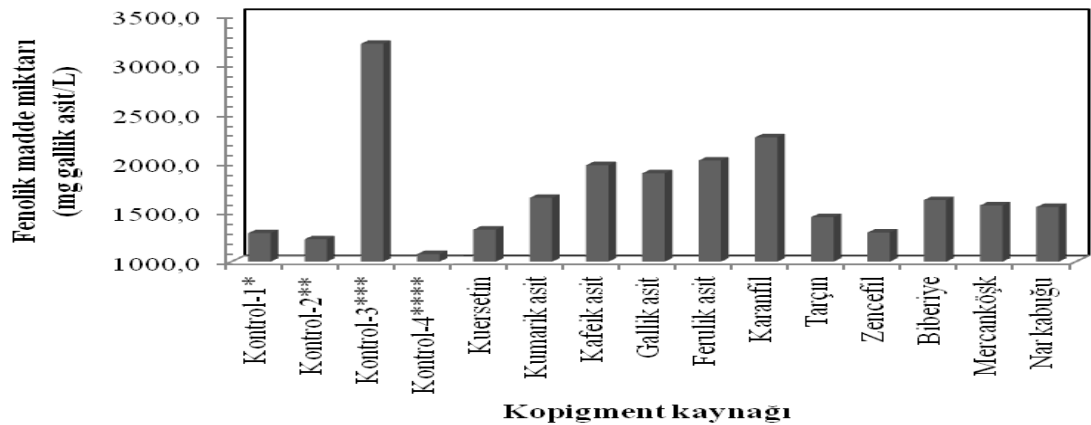
1: **Kontrol-1**: Karadut nektarı, 2: Karadut nektarı + karanfil ekstraktı, 3: Karadut nektarı + ferulik asit, 4: Karadut nektarı + mercanköşk ekstraktı, 5: **Kontrol-2**: Karadut nektarı + limon suyu.

Sonuç olarak, örneklerdeki polimerik renk oranlarındaki artışın TMA miktarındaki azalmaya bağlı olduğu görülmektedir. Ancak bu azalış monomerik antosiyaninlerin parçalanması sebebiyle olabileceği gibi, monomerik antosiyaninlerin polimerizasyonundan veya kopigmentasyonundan da kaynaklanabilir. Araştırmamızda depolama boyunca hem kontrol-1 hem de kontrol-2 örneğine kıyasla antosiyanin ve renk yoğunluğu stabilitesi sağlayan, hiperkromik etki ve bathokromik kayma gösteren ve renk yoğunluğu ile polimerik rengi artıran en iyi kopigmentin mercanköşk ekstraktı olduğu belirlenmiştir. Biberiye ekstraktı ise, kontrol-1 örneğine kıyasla antosiyanin stabilitesi sağlayan, hem kontrol-1 hem de kontrol-2 örneğine kıyasla hiperkromik etki ve bathokromik kayma gösteren ve renk yoğunluğu ile polimerik rengi artıran kopigment olmuştur. Tarçın ekstraktı ise, kontrol-1 örneğine kıyasla antosiyanin stabilitesi, kontrol-2 örneğine kıyasla renk yoğunluğu stabilitesi sağlayan, hem kontrol-1 hem de kontrol-2 örneğine kıyasla ise, bathokromik kayma gösteren ve renk yoğunluğu ile polimerik rengi artıran kopigment olmuştur. Buna karşın, ferulik asit ise, kontrol-1 örneğine kıyasla antosiyanin stabilitesi, kontrol-2 örneğine kıyasla renk yoğunluğu stabilitesi sağlayan, hem kontrol-1 hem de kontrol-2 örneğine kıyasla ise, hiperkromik etki gösteren ve renk yoğunluğu ile polimerik rengi artıran kopigment

olmuştur. Sonuç olarak, kopigmentlerin bazıları antosiyanin stabilitesi sağlamış ve renk yoğunluğunu artırmış, bazıları hiperkromik etki, bazıları ise, bathokromik kayma gösterdiklerinden dolayı, polimerik renk oranının artışının genel olarak kopigmentasyondan kaynaklandığı söylenilebilir.

4.6 Toplam Fenolik Madde Miktarındaki Değişimler

Karadut nektarlarına asitliği düzenlemek için limon suyu eklenmesinin yanında, antosiyanin stabilitesini artırmak için farklı kopigmentler eklenmiş ve depolama süresince belirli aralıklarla toplam fenolik madde miktarları “mg gallik asit L⁻¹” cinsinden *Folin-Ciocalteu* yöntemine göre belirlenmiştir (Çizelge 4.10). Depolama başlangıcındaki toplam fenolik madde miktarları karşılaştırıldığında (Şekil 4.5), depolama öncesinde karadut nektarlarının toplam fenolik madde miktarları çoktan aza doğru; kontrol-3 (3212.6 mg gallik asit L⁻¹) > karanfil > ferulik asit > kafeik asit > gallik asit > kumarik asit > biberiye > mercanköşk > nar kabuğu > tarçın > kuersetin > zencefil > kontrol-1 > kontrol-2 > kontrol-4 (1077.1 mg gallik asit L⁻¹) örnekleri şeklinde sıralanmaktadır. Beklendiği üzere fenolik kaynakların karadut nektarına eklenmesi fenolik madde miktarını artırmıştır. Kopigmentlerden en fazla toplam fenolik madde miktarını artıran, en fazla fenolik içerdiği bilinen karanfil ekstraktı (2262.1 mg GAE L⁻¹) olmuştur.



Şekil 4.5 Kopigment eklenen karadut nektarlarının toplam fenolik madde miktarları

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu.

*****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl

Çizelge 4.10 Farklı kopigment içeren karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince belirlenen toplam fenolik madde miktarları

Karadut örnekleri				
Süre (hafta)	Kontrol-1*	Kontrol-2**	Kuersetin	Kumarik asit
0	1289.6 ± 11.7	1227.1 ± 5.9	1325.1 ± 8.8	1648.0 ± 5.9
2	1156.3 ± 5.9	1212.6 ± 8.8	1208.4 ± 8.8	1443.8 ± 11.8
4	1000.0 ± 3.0	1073.0 ± 11.8	1002.1 ± 11.7	1254.2 ± 3.0
10	891.7 ± 3.0	1008.4 ± 8.8	964.6 ± 11.7	1116.7 ± 3.0
	Kafeik asit	Gallik asit	Ferulik asit	
0	1979.2 ± 14.7	1898.0 ± 11.8	2027.1 ± 23.6	
2	1850.0 ± 3.0	1931.3 ± 5.9	1985.5 ± 23.5	
4	1612.6 ± 8.8	1848.0 ± 23.5	1833.4 ± 2.9	
10	1529.2 ± 8.8	1637.5 ± 20.6	1604.2 ± 3.0	
	Karanfil	Tarçın	Zencefil	Biberiye*****
0	2262.5 ± 14.7	1452.1 ± 5.9	1295.9 ± 8.8	1625.0 ± 3.0
8	2231.3 ± 23.5	1427.1 ± 0.0	1202.1 ± 5.9	1587.6 ± 8.8
	Mercanköşk	Nar kabuğu	Kontrol-3***	Kontrol-4****
0	1570.9 ± 2.9	1554.2 ± 8.8	3212.6 ± 8.8	1077.1 ± 11.7
8	1506.3 ± 11.8	1587.5 ± 3.0	2510.5 ± 5.9	983.3 ± 3.5

Kontrol-1:** Karadut nektarı, *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu, *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA, ******Kontrol-4:** Karadut nektarı+ HCl. *****Toplam polifenol miktarı aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Toplam polifenol miktarı mg gallik asit L⁻¹cinsinden verilmiştir. *****Biberiyede 0 ve 6. haftalarda ölçüm yapılmıştır.

10 hafta sonunda, toplam fenolik madde miktarında en fazla azalış gösteren örnek, kontrol-1 (%30.9) örneği olurken, kontrol-2 (%17.9) örneği bunu izlemiştir. Fenolik madde eklenen örneklerde ise, en fazla artış kumarik asit (%32.2) ve kuersetin (%27.2) içeren örneklerde gözlenmiş, buna karşın, en az azalış gallik asit içeren örnekte (%13.7) ve ferulik asit içeren örnekte (%20.9) saptanmıştır. 8. hafta sonunda ise, toplam fenolik madde miktarında nar kabuğu ekstraktı içeren örnek (%2.1) hariç, diğer örneklerde en

fazla kontrol-3 (%21.9) ve kontrol-4 (%8.7) örneklerinde gerçekleşmiştir. Fenolik madde eklenenler örneklerde ise, zencefil ekstraktı içeren örnekte %7.2 oranında azalma tespit edilirken, en az azalma karanfil ekstraktı içeren örnekte (%1.4) ve tarçın ekstraktı içeren örnekte (%1.7) gerçekleşmiştir.

Kontrol-3 örneğinde karadut nektarına AA eklendiğinden, AA'de interferansa neden olduğu için en yüksek fenolik madde miktarı belirlenmiştir. *Folin-Ciocalteu* yönteminde sadece fenolik bileşikler değil, aynı zamanda diğer indirgen maddelerin de ölçümü yapıldığı için, bu yöntem ile olduğundan çok daha fazla fenolik madde tespit edilmektedir. Gerek fenolik maddelerin yapısal farklılıklarının gerekse de örneklerde oluşabilen farklı metabolitlerin absorbands değerinde farklılık oluşturacağı, yani fenolik madde miktarında farklıklar bulunabileceği belirtilmiştir ve örneklerde bulunan fenolik maddelerin yapısındaki hidroksil sayısı ve pozisyonu farklılık gösterdiğinde, *Folin-Ciocalteu* yöntemiyle elde edilen toplam fenolik madde miktarı sonuçlarında farklılıklar görülebilmektedir (Appg vd. 2001). Ayrıca ortamda bulunan şekerler, askorbik asit, tokoferol, kükürt dioksit, aromatik aminler, organik asitler gibi birçok indirgen madde interferansa neden olmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Erbay (2011), tarafından İzmir Tire yöresinden temin edilen karadut suyunda şeker içeriği yüksek olduğundan *Folin-Ciocalteu* yöntemi ile toplam fenolik madde içeriği saptanamazken, karadut ham suyunda fenolik madde içeriği 2756 mg L⁻¹ olarak tespit edilirken, pastörizasyon sonunda ise beklenildiği üzere azalarak 2606 mg L⁻¹ olarak tespit edilmiştir.

Baharatlardan ekstrakte edilerek sağlanan kopigmentlerde fenolik madde miktarında azalmanın daha az olmasının nedeni, baharatlarda bulunan diğer antioksidan etkisi olan bileşiklerden (uçucu yağlar (zencefilde 6-gingerol (Ghasemzadeh vd. 2010), karanfilde öjenol, öjenol asetat, β -kariyofilen, α -humulen, β -pinen, limonen, farnesol, benzaldehit, 2-heptanone ve etil hekzanoat (Cortés-Rojas vd. 2014), biberiyede piperitone, alfa pinen, linalool, 1,8-cineole, kamphor, borneol ve kamphene (Gachkar vd. 2007)) kaynaklandığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamızda elde edilen başlıca sonuçlar, aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

1. Karadut nektarlarına sitrik asit kaynağı olarak eklenen limon suyunun, beklenenin aksine, antosiyanin stabilitesini önemli düzeyde artırdığı belirlenmiştir. Bu nedenle karadut nektarlarında sitrik asit kaynağı olarak limon suyu kullanımı önerilmektedir. Antosiyanin stabilitesindeki artışın; limon suyunun karadut nektarının pH'sını düşürmesi ve düşük pH'larda antosiyanin stabilitesinin artmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. Ancak; bunun dışında; limon suyunda bulunan fenolik maddeler de antosiyanin stabilitesi üzerine olumlu etki göstermiş olabilir.

2. Depolama süresince limon suyu eklenmiş karadut nektarlarının antosiyanin stabilitesini en çok; mercanköşk, ferulik asit, gallik asit, kumarik asit, kafeik asit, biberiye ve kuersetin artırmıştır.

3. Biberiye ve mercanköşk ekstraktları depolama sonunda hem hiperkromik etki hem de bathokromik kayma göstermiş, renk yoğunluğunu ve polimerik renk oranını artırmıştır.

4. Ferulik asit ve kafeik asidin yanında biberiye, tarçın ve mercanköşkte bulunan fenolik maddelerin karadut antosiyaninleri ile polimerize olduğu ve bu polimerizasyonun renk yoğunluğunu artırdığı, yani kopigmentasyonun gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu nedenle, karadut nektarlarında; yüksek antosiyanin stabilitesi sağlanabilmesi için ucuz kopigment kaynakları olmaları nedeniyle, mercanköşk ve biberiye kullanımı önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Alagöz-Kabakcı S, Türkyılmaz M, Özkan M. 2020. Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage. Food Chemistry, 326.
- Anonim. 2011. Web sitesi: https://www.meyed.org.tr/files/bilgi_merkezi/sektorel_veriler/meyve_suyu_sektoru_raporu_2011.pdf, Erişim Tarihi: 22.10.2019.
- Anonim. 2014. Türk Gıda Kodeksi Meyve Suyu Ve Benzeri Ürünler Tebliği. Tebliğ no: 2014/34. Web sitesi: <https://www.mevzuat.com.tr>, Erişim Tarihi: 22.10.2019.
- Anonim. 2019a. Web sitesi: <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Bitkisel-Uretim/Tarla-Ve-Bahce-Bitkileri/Urunler-Ve-Uretim>, Erişim Tarihi: 22.10.2019.
- Anonim. 2019b. Web Sitesi: http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001, Erişim Tarihi: 13.11.2019.
- Appg, H. M., Govenor, H. L., D'ascenzo, M., Siska, E. ve Schultz, J. C. 2001. Limitations of Folin assays of foliar phenolics in ecological studies. Journal of Chemical Ecology, 27(4), 761–778.
- Aydın, Ö. 2011. Tarçın, kimyon ve sumak adlı baharat türlerinden elde edilen su, etanol-su, metanol ve kloroform ekstraktlarının in vitro antioksidan özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık-Biyokimya Anabilim Dalı, 98, Erzurum.
- Awika, J. M. 2008. Behavior of 3-deoxyanthocyanidins in the presence of phenolic copigments. Food Research International, 41(5), 532–538.
- Başkaya, Ş., Ayanoğlu, F. ve Bahadırılı, N. P. 2016. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinin uçucu yağ oranı, uçucu yağ bileşenleri ve antioksidan içeriğinde morfogenetik ve ontogenetik varyabilite. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(1), 12–20.
- Baytop, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 3255, Eczacılık Fakültesi Yayını, Yayın No: 3255, 520, İstanbul.
- Brenes, C. H., Del Pozo-Insfran, D. ve Talcott, S. T. 2005. Stability of copigmented anthocyanins and ascorbic acid in a grape juice model system. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(1), 49–56.
- Boulton, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. American Journal of Enology Viticulture, 52(2), 67–87.
- Cavalcanti, R. N., Santos, D. S. ve Meireles, M. A. A. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. Food Research International, 44(2), 499–509.

- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. L., Pàez- Hernández, M. E., Rodriguez, J. A. ve Galàn-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2009. Meyve ve sebzelerin bileşimi, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cemeroğlu, B. (ed.), Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:38, 74–174 s., Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Choi, M. H., Kim, G. H. ve Lee, H. S. 2002. Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Research International*, 35(8), 753–759.
- Clifford, M. N. 2000. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1063–1072.
- Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F. ve Oliveira, W. P. 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 90–96.
- De, A. K., Chaudhuri, B. ve Bhattacharjee, S. 1999. A kinetic study of the oxidation of phenol, o-chlorophenol and catechol by hydrogen peroxide between 298 K and 333 K: the effect of pH, temperature and ratio of oxidant to substrate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74(2), 162–168.
- De Rosso, V. V. ve Mercadante, A. Z. 2007. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. *Food Chemistry*, 103(3), 935–943.
- Dorman, H. J. D. ve Deans, S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316.
- Eiro, M. J. ve Heinonen, M. 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7461–7466.
- Erbay, B. 2011. Karadut antosiyaninlerinin ısı ve depolama stabilitesi. Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 143, Isparta.
- Ercisli, S. 2004. A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evaluation*, 51, 4194–35.
- Ercisli, S. ve Orhan, E. 2005. Natural mulberry (*Morus spp.*) production in Erzurum region in Turkey, In *Proceedings of the International Scientific Conference: Environmentally Friendly Fruit Growing*, 7–9 September, 129–135, Book of Abstracts Tartu, Estonia.

- Ercisli, S. ve Orhan, E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. Food Chemistry, 103, 1380–1384.
- Ersus, S. ve Yurdagel, Ü. 2006. Meyve ve sebzelerde bulunan antosiyaninlerin kimyasal yapısı ve stabilitesini etkileyen faktörler. Dünya Gıda, 10, 78–87.
- Ertan, K., Türkyılmaz, M., Özkan, M. 2018. Effect of sweeteners on anthocyanin stabilities and colour properties of sour cherry and strawberry nectars during storage. Journal of Food Science and Technology, 55(10), 4346–4355.
- Ertan, K., Türkyılmaz, M., Özkan, M. 2020. Color and stability of anthocyanins in strawberry nectars containing various co-pigment sources and sweeteners. Food Chemistry, 310.
- Es-Safi, N. E., Cheynier, V. ve Moutounet, M. 2000. Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. Journal of Agricultural Food Chemistry, 48(12), 5946–5954.
- Fuleki, T. ve Francis, F.J. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. Journal of Food Science, 33(1), 78–83.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A. ve Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry, 102, 898–904.
- Garzón, G. A. ve Wrolstad, R. E. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. Journal of Food Science, 67, 1288–1299.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. ve Rahmat, A. 2010. Synthesis of phenolics and flavonoids in ginger (*Zingiber officinale roscoe*) and their effects on photosynthesis rate. International Journal of Molecular Sciences, 11, 4539–4555.
- Giusti, M. M. ve Wrolstad, R. E. 2001. Unit F1.2., Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry, Wrolstad, R. E. and Schwartz, S. J. (eds.), John Wiley & Sons, 1–13, New York, NY, U.S.A.
- Giusti, M. M. ve Wrolstad, R. E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. Biochemical Engineering Journal, 14(3), 217–225.
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D. A. ve García-Viguera, C. 2010. Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 51(2), 327–345.

- González-Molina, E., Moreno, D. A. ve García-Viguera, C. 2009. A new drink rich in healthy bioactives combining lemon and pomegranate juices. *Food Chemistry*, 115(4), 1364–1372.
- Gul, S. ve Safdar, M. 2009. Proximate composition and mineral analysis of cinnamon. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(9), 1456–1460.
- Gülçin, İ., Elmastaş, M. ve Aboul-Enein, H. Y. 2012. Antioxidant activity of clove oil–A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry*, 5(4), 489–499.
- Gris, E. F., Ferreira, E. A., Falcão, L. D. ve Bordignon-Luiz, M. T. 2007. Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts in model systems. *Food Chemistry*, 100(3), 1289–1296.
- Gruenwald, J., Freder, J. ve Armbruester, N. 2010. Cinnamon and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(9), 822–834.
- Hasnaoui, N., Wathelet, B. ve Jimenez-Araujo, A. 2014. Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: dietary fibre composition, antioxidant capacity and functional properties. *Food Chemistry*, 160, 196–203.
- Hassan, N. D., Muhamad, I. I. ve Sarmidi, M. R. 2014. The effect of copigmentation on the stability of butterfly pea anthocyanins, *Key Engineering Materials, Advanced Materials Engineering and Technology II*, 594, 245–249. Trans Tech Publications, Switzerland.
- Hälvä, S. 1987. Studies on production techniques of some herb plants: I Effect of Agryl P17 mulching on herb yield and volatile oils of basil (*Ocimum basilicum* L.) and marjoram (*Origanum majorana* L.). *Agricultural and Food Science in Finland*, 59(1), 31–36.
- Hubbermann, E. M., Heins, A., Stöckmann, H. ve Schwarz, K. 2005. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. *European Food Research and Technology*, 223(1), 83–90.
- Iacobucci, G. A. ve Sweeny, J. G. 1983. The chemistry of anthocyanins and related flavylum salts. *Tetrahedron*, 39, 3005–3038.
- IFU. 1968. Analysen. Nr: 3 (Determination of titratable acidity). Internationale Fruchtsaft Union Juris Verlag, Zurich, Switzerland.
- Iversen, C. K. 1999. Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *Journal of Food Science*, 64, 37–41.
- İstanbul, Ö. 2007. Kara havuç (*Daucus carota* var L.) antosiyaninlerinin ferulik asit ile kopigmentasyonu. Yüksek lisans tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 46, Mersin.

- Jurd, L. 1972. Some advances in the chemistry of anthocyanin type plant pigments, In: Chemistry of Plant Pigments. Chichester, C. O. (ed.), Academic Press, 123–187, New York, NY, U.S.A.
- Kaplan, H. 2005. Zencefilin (*Zingiber Officinale Roscoe*) bitkisel özellikleri ve yetiştiriciliği. Derim, 22(2), 1–9.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 109, Ankara.
- Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2001. The mechanism of ascorbic acid degradation, Gıda, 26(4), 233–242.
- Kırca, A., Özkan, M. ve Cemeroğlu, B. 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. Food Chemistry, 101(1), 212–218.
- Kopjar, M., Bilić, B. ve Piližota, V. 2011. Influence of different extracts addition on total phenols, anthocyanin content and antioxidant activity of blackberry juice during storage. Croatian Journal of Food Science and Technology, 3(1), 9–15.
- Kopjar, M. ve Piližota V. 2009. Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage. Croatian Journal of Food Science and Technology, 1(2), 16–20.
- Kurokawa, M., Hozumi, T., Basnet, P., Nakano, M., Kadota, S., Namba, T., Kawana, T. ve Shiraki, K. 1998. Purification and characterization of eugenin as an anti-herpesvirus compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 284(2), 728–735.
- Lee, J. Y., Moon, S. O., Kwon, Y. J., Rhee, S. J., Park, H. R. ve Choi, S.W. 2004. Identification and quantification of anthocyanins and flavonoids in mulberry (*Morus* sp.) cultivars. Food Science and Biotechnology, 13(2), 176–184.
- Lee, S. K. ve Kader, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biology and Technology, 20, 207–220.
- Marín, F. R., Martinez, M., Uribealga, T., Castillo, S. ve Frutos, M. J. 2002. Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems. Food Chemistry, 78(3), 319–324.
- Markasis, P., Livingston, G. E. ve Fellers, C. R. 1957. Quantitative aspects of strawberry pigment degradation. Food Research, 22, 117–129.

- Markovic, J. M. D., Petranovic, N. A. ve Baranac, J. M. 2000. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5530–5536.
- Mazza, G. ve Brouillard, R. 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29(4), 1097–1102.
- Mazza, G. ve Miniati, E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. CRC Press, 362, London, United Kingdom.
- Meschter, E. E. 1953. Effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(8), 574–579.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S. ve Vojnov, A. A. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition, *Free Radical Research*, 40(2), 223–231.
- Navruz, A., Türkyılmaz, M. ve Özkan, M. 2016. Colour stabilities of sour cherry juice concentrates enhanced with gallic acid and various plant extracts during storage. *Food Chemistry*, 197, 150–160.
- Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K. ve Jena, B. S. 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*, 80, 393–397.
- Özgen, M., Serçe, S. ve Kaya, C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia Horticulturae*, 119(3), 275–279.
- Özkan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry*, 78(4), 499–504.
- Pacheco-Palencia, L. A. ve Talcott, S. T. 2010. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. *Food Chemistry*, 118, 17–25.
- Panichayupakaranant, P., Tewtrakul, S. ve Yuenyongsawad, S. 2010. Antibacterial, anti-inflammatory and anti-allergic activities of standardised pomegranate rind extract. *Food Chemistry*, 123, 400–403.
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C. ve Tiwari, B. K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21(1), 3–11.
- Poei-Langston, M. S. ve Wrolstad, R. E. 1981. Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin flavanol model system. *Journal of Food Science*, 46(4), 1218–1236.

- Rein M. J. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (dissertation), University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 87, Helsinki, Finland.
- Robinson, G. M. ve Robinson, R. 1931. A survey of anthocyanins. I. Biochemical Journal, 25(5), 1687–1705.
- Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H. ve Khalel, I. K. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Industrial Crops and Products, 43, 827–831.
- Rodriguez-Saona, L. E., Giusti, M. M. ve Wrolstad, R. E. 1999. Color and pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. Journal of Food Science, 64, 451–456.
- Sarma, A. D., Sreelakshmi, Y. ve Sharma, R. 1997. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation. Phytochemistry, 45(4), 671–674.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M. ve Corke, H. 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(20), 7749–7759.
- Shrikhande, A. J. ve Francis, F. J. 1974. Effect of flavonols on ascorbic acid and anthocyanin stability in model systems. Journal of Food Science, 39, 904–906.
- Singleton, V. L. ve Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3), 144–158.
- Sondheimer, E. ve Kertesz, Z. I. 1952. The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. Journal of Food Science, 17(1–6), 288–298.
- Starr, M. S. ve Francis, F. J. 1968. Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. Food Technology, 22, 1293–1295.
- Sun, J., Cao, X., Liao, X. ve Hu, X. 2010. Comparative analyses of copigmentation of cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-sophoroside from red raspberry fruits. Food Chemistry, 120(4), 1131–1137.
- Şenol, M. 2017. Karadut (*Morus nigra* L.) meyvelerinde antosiyaninlerin karakterizasyonu ve antioksidant özellikleri. Yüksek lisans tezi. Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 45, Mersin.
- Talcott, S. T., Brenes, C. H., Pires, D. M. ve Del Pozo-Insfran, D. 2003. Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(4), 957–963.

- Temel, M., Tınmaz, A. B., Öztürk, M. ve Gündüz, O. 2018. Dünyada ve Türkiye’de tıbbi-aromatik bitkilerin üretimi ve ticareti. Tarım ve Doğa Dergisi, 21, 198–214.
- Türkyılmaz, M., 2009. Siyah havuç konsantresi üretimi ve depolama sürecinde renkteki değişimler. Doktora hazırlık çalışması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 120, Ankara.
- Türkyılmaz, M., Hamzaoğlu, F., Özkan, M. 2020. Combined use of hydrocolloids in pomegranate juice and their effects on clarification and copigmentation. International Journal of Food Science and Technology, 55(4), 1426–1436.
- Türkyılmaz, M., Tağı, Ş. ve Özkan, M. 2017. Effects of extraction solvents on polyphenol contents, antioxidant and antibacterial activities of pomegranate parts. Akademik Gıda, 15(2), 109–118.
- Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Martínez-Huélamo, M., Alvarenga, J. F. R., Leal, L. N. ve Lamuela-Raventos, R. M. 2014. A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: Rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay. Food Chemistry, 154, 299–307.
- Vera, R. R. ve Chane-Ming J. 1999. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. Food Chemistry, 66(2), 143–145.
- Versari, A., Parpinello, G. P. and Mattioli, A. U. 2007. Characterisation of colour components and polymeric pigments of commercial red wines by using selected UV-Vis spectrophotometric methods. South African Journal of Enology and Viticulture, 28(1), 6–10.
- Von Elbe, J. H. ve Schwartz, S. J. 1996. Colorants. In: Food Chemsitry, Fennema, O. R. (ed.), 3rd ed., Marcel Dekker, Inc., 162–168, New York, NY, U.S.A.
- Wang, C. Y., Wang, S. Y., Yin, J. J., Parry, J. ve Yu, L. L. 2007. Enhancing antioxidant, antiproliferation, and free radical scavenging activities in strawberries with essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(16), 6527–6532.
- Wang, W. D., Xu, S. Y. ve Jin, M. K. 2009. Effects of different maceration enzymes on yield, clarity and anthocyanin and other polyphenol contents in blackberry juice. International Journal of Food Science and Technology, 44(12), 2342–2349.
- Wilska-Jeszka, J. ve Korzuchowska, A. 1996. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation-influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 203(1), 38–42.
- Wrolstad, R. E. 2004. Anthocyanin pigments-Bioactivity and coloring properties. Journal of Food Science, 69(5), 419–421.

- Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J. A. ve Bagchi, D. 2007. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular Nutrition Food Research*, 51(6), 675–683.
- Zarei, M., Azizil, M. ve Bashir-Sadr, Z. 2011. Evaluation of physicochemical characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit during ripening. *Fruits*, 66, 121–129.

EKLER

- EK 1 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları**
- EK 2 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarında, hiperkromik etki ve batokromik kaymadaki değişime ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları**
- EK 3 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişime ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları**
- EK 4 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerlerindeki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri**
- EK 5 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarında, hiperkromik etki ve batokromik kaymadaki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri**
- EK 6 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri**

EK.1 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	pH	Titrasyon asitliği (g SSA/100 mL)	Berraklık (T ₆₆₀ , %)
Kontrol-1*	0	4.31 ± 0.04 Ba	0.2674 ± 0.00 Dh	87.8 ± 0.0 Aa
	2	4.33 ± 0.01 Ba	0.2513 ± 0.00 Eh	44.4 ± 0.7 F ₁
	4	4.39 ± 0.01 Aa	0.2987 ± 0.00 Cf	53.1 ± 0.5 E ₁
	6	4.39 ± 0.01 Aa	0.3276 ± 0.00 Ah	60.2 ± 0.1 D ₁
	8	4.41 ± 0.01 Aa	0.3059 ± 0.00 Bi	65.2 ± 0.0 C _m
	10	4.38 ± 0.00 Aa	0.2939 ± 0.00 Cd	66.3 ± 0.2 B _f
Kontrol-2**	0	3.53 ± 0.00 Cdef	0.8366 ± 0.00 Bcde	86.3 ± 0.0 Ac
	2	3.52 ± 0.00 Cf	0.8230 ± 0.01 Be	42.5 ± 0.1 F _j
	4	3.56 ± 0.01 Bef	0.8656 ± 0.01 Ab	59.4 ± 0.3 E _j
	6	3.58 ± 0.01 Ae	0.8768 ± 0.01 Abc	60.7 ± 0.2 D _k
	8	3.58 ± 0.00 Aef	0.8800 ± 0.00 Ad	80.1 ± 0.0 B _c
	10	3.56 ± 0.01 Bb	0.8671 ± 0.01 Ac	70.4 ± 0.1 C _e
Kontrol-3***	0	4.04 ± 0.00 Ab	0.3480 ± 0.00 Bg	87.5 ± 0.1 Ab
	2	3.99 ± 0.01 BCc	0.3472 ± 0.00 Bg	83.7 ± 0.0 Da
	4	3.97 ± 0.00 Dc	0.3505 ± 0.00 Be	84.4 ± 0.1 Ba
	6	3.99 ± 0.00 Bc	0.3529 ± 0.00 Bg	82.5 ± 0.0 Ea
	8	3.98 ± 0.01 CDc	0.3941 ± 0.00 Ah	84.0 ± 0.0 Ca
Kontrol-4****	0	4.30 ± 0.01 Aa	0.2452 ± 0.00 Ci	84.2 ± 0.0 Ae
	2	4.30 ± 0.00 Ab	0.2468 ± 0.00 Ch	76.1 ± 0.0 Db
	4	4.26 ± 0.00 Bb	0.2744 ± 0.00 Bg	77.6 ± 0.4 C _c
	6	4.22 ± 0.01 Cb	0.2760 ± 0.00 Bi	75.2 ± 0.1 Ed
	8	4.22 ± 0.01 Cb	0.2849 ± 0.00 Aj	82.0 ± 0.0 B _b
Kuersetin	0	3.53 ± 0.01 DEdefg	0.8342 ± 0.00 BCde	86.1 ± 0.1 Ad
	2	3.52 ± 0.01 Ef	0.8262 ± 0.00 Cde	51.7 ± 1.7 E _g
	4	3.54 ± 0.00 CDg	0.8447 ± 0.01 BCc	70.0 ± 0.1 D _g
	6	3.57 ± 0.01 Be	0.8495 ± 0.01 Bde	72.0 ± 0.0 C _e
	8	3.59 ± 0.01 Ade	0.8479 ± 0.01 BCf	73.6 ± 0.0 C _h
	10	3.56 ± 0.01 BCb	0.8720 ± 0.01 Ac	81.2 ± 0.1 B _a

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı+ AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı+ HCl.

*****pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerleri, aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *****A–E: Aynı örnekteki, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

*****a–m: Farklı örneklerde, aynı depolama süresinde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). Titrasyon asitliği susuz sitrik asit (SSA) cinsinden hesaplanmıştır.

EK.1

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	pH	Titrasyon asitliği (g SSA/100 mL)	Berraklık (T ₆₆₀ , %)
Kumarik asit	0	3.56 ± 0.06 ABcd	0.8471 ± 0.00 ABc	80.6 ± 0.0 Ag
	2	3.52 ± 0.00 Bf	0.7788 ± 0.00 Df	57.2 ± 0.2 Ff
	4	3.57 ± 0.01 ABe	0.8198 ± 0.01 Cd	62.8 ± 0.3 Eı
	6	3.57 ± 0.01 ABe	0.8431 ± 0.01 ABe	68.4 ± 0.0 Dh
	8	3.59 ± 0.01 Ade	0.8342 ± 0.01 BCfg	69.0 ± 0.1 Cı
	10	3.56 ± 0.00 ABb	0.8583 ± 0.01 Ac	77.1 ± 0.1 Bb
Kafeik asit	0	3.54 ± 0.01 Cde	0.8430 ± 0.00 Dcd	81.3 ± 0.1 Af
	2	3.52 ± 0.01 Df	0.8728 ± 0.01Cb	50.5 ± 0.4 Fg
	4	3.55 ± 0.01 Cfg	0.8896 ± 0.01 BCa	58.4 ± 0.3 Ek
	6	3.56 ± 0.00 ABe	0.8816 ± 0.01 BCbc	63.7 ± 0.0 Dj
	8	3.58 ± 0.01 Aef	0.8976 ± 0.00 Bc	68.6 ± 0.2 Bj
	10	3.56 ± 0.01 Bb	0.9418 ± 0.01 Aab	65.9 ± 0.0 Cg
Gallik asit	0	3.54 ± 0.01 ABde	0.9105 ± 0.01 Ca	78.4 ± 0.1 Ah
	2	3.52 ± 0.01 Bf	0.8993 ± 0.00 CDa	47.5 ± 2.0 Eh
	4	3.57 ± 0.01 Ae	0.8840 ± 0.00 Da	73.4 ± 0.3BCe
	6	3.57 ± 0.01 Ae	0.8921 ± 0.01 CDb	63.6 ± 0.2 Dj
	8	3.56 ± 0.03 Af	0.9892 ± 0.01 Aa	75.2 ± 0.1 Bg
	10	3.55 ± 0.01 ABb	0.9466 ± 0.01 Ba	72.3 ± 0.3 Cc
Ferulik asit	0	3.50 ± 0.01 Cefgh	0.8776 ± 0.00 Bb	75.7 ± 0.1 Ak
	2	3.50 ± 0.01 Cfg	0.8760 ± 0.01 Bb	48.6 ± 0.5 Fh
	4	3.56 ± 0.01 ABef	0.8856 ± 0.01 Ba	59.8 ± 0.1 Ej
	6	3.56 ± 0.01 ABe	0.9161 ± 0.01 Aa	63.6 ± 0.3 Dj
	8	3.58 ± 0.01 Aef	0.9177 ± 0.01 Ab	66.5 ± 0.2 Cl
	10	3.55 ± 0.01 Bb	0.9274 ± 0.00 Ab	71.7 ± 0.1 Bd
Karanfil	0	3.48 ± 0.01 Bgh	0.8700 ± 0.00 Bb	73.7 ± 0.0 El
	2	3.49 ± 0.01 ABgh	0.8417 ± 0.00 Cc	75.8 ± 0.0 Db
	4	3.50 ± 0.00 ABh	0.8992 ± 0.01 Aa	77.9 ± 0.0 Ac
	6	3.51 ± 0.00 Af	0.8660 ± 0.01 Bcd	77.0 ± 0.0 Bb
	8	3.51 ± 0.01 ABg	0.8490 ± 0.00 Ce	76.0 ± 0.0 Cf
Tarçın	0	3.49 ± 0.01 BCfgh	0.8417 ± 0.00 Acd	73.5 ± 0.0 Al
	2	3.48 ± 0.00 Ch	0.8101 ± 0.01 Be	70.2 ± 0.0 Cd
	4	3.48 ± 0.00 Ci	0.8514 ± 0.01 Abc	70.6 ± 0.1 Bf
	6	3.49 ± 0.00 Bg	0.8441 ± 0.01 Ae	69.4 ± 0.1 Dg
	8	3.50 ± 0.00 Ag	0.8312 ± 0.00 ABg	68.0 ± 0.0 Ek

EK.1

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	pH	Titrasyon asitliği (g SSA/100 mL)	Berraklık (T ₆₆₀ , %)
Zencefil	0	3.60 ± 0.00 ABc	0.8328 ± 0.00 Bde	58.6 ± 0.0 Dm
	2	3.60 ± 0.01 Bd	0.8231 ± 0.01 Be	67.2 ± 0.1 Ce
	4	3.60 ± 0.00 ABd	0.8603 ± 0.00 Abc	68.3 ± 0.3 Bh
	6	3.61 ± 0.01 ABD	0.8360 ± 0.01 Bef	70.1 ± 0.1 Af
	8	3.61 ± 0.00 Ad	0.8522 ± 0.00 Ae	66.7 ± 0.4 Cl
Biberiye	0	3.60 ± 0.01 Ac	0.8271 ± 0.00 Be	78.4 ± 0.1 Bh
	2	3.58 ± 0.00 Bd	0.8101 ± 0.00 Ce	76.2 ± 0.0 Cb
	4	3.59 ± 0.00 Ad	0.8514 ± 0.00 Abc	79.7 ± 0.2 Ab
	6	3.60 ± 0.00 Ad	0.8191 ± 0.01 BCf	66.5 ± 0.5 Dı
Mercanköşk	0	3.55 ± 0.00 ABD	0.8166 ± 0.00 Bf	76.0 ± 0.2 Cj
	2	3.56 ± 0.02 ABe	0.8158 ± 0.01 Be	77.2 ± 0.2 Bb
	4	3.55 ± 0.01 Bfg	0.8199 ± 0.01 Bd	77.5 ± 0.0 Bc
	6	3.58 ± 0.01 Ae	0.8191 ± 0.01 Bf	76.0 ± 0.1 Cc
Nar kabuğu	8	3.57 ± 0.01 ABef	0.8878 ± 0.00 Acd	78.7 ± 0.0 Ad
	0	3.46 ± 0.01 Ah	0.8409 ± 0.01 Acd	77.0 ± 0.2 Bı
	2	3.44 ± 0.00 Ai	0.8401 ± 0.01 Acd	74.0 ± 0.0 Dc
	4	3.45 ± 0.00 Aj	0.8498 ± 0.00 Abc	76.1 ± 0.2 Cd
	6	3.46 ± 0.01 Ai	0.8393 ± 0.01 Aef	76.1 ± 0.0 Cc
	8	3.46 ± 0.00 Ah	0.8466 ± 0.00 Aef	77.8 ± 0.1 Ae

EK.2 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince monomerik antosiyanin miktarında, hiperkromik etki ve batokromik kaymadaki değişime ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)	Hiperkromik etki (A_{maks})	Batokromik kayma (λ_{maks})
Kontrol-1*	0	797.5 ± 6.4 Ab	0.567 ± 0.00 Ab	511.1 ± 0.1 Eabc
	2	563.5 ± 6.4 Bd	0.422 ± 0.00 Bd	512.4 ± 0.2 Ca
	4	399.0 ± 2.8 Cf	0.318 ± 0.00 Cf	512.8 ± 0.2 Ba
	6	351.5 ± 3.5 Df	0.288 ± 0.00 Dg	512.0 ± 0.0 Db
	8	269.0 ± 0.0 Eh	0.237 ± 0.00 Ef	514.0 ± 0.0 Aa
	10	213.0 ± 1.4 Fg	0.203 ± 0.00 Fd	514.0 ± 0.0 Aa
Kontrol-2**	0	661.0 ± 7.1 Ae	0.479 ± 0.00 Ae	511.9 ± 1.1 ABa
	2	601.0 ± 0.0 Bb	0.449 ± 0.00 Bb	510.9 ± 0.1 Bcd
	4	451.0 ± 4.2 Cd	0.355 ± 0.00 Cc	512.2 ± 1.2 ABab
	6	406.5 ± 0.7 Dc	0.325 ± 0.00 Dd	512.0 ± 0.0 ABb
	8	380.5 ± 4.9 Eb	0.310 ± 0.00 Ea	513.5 ± 0.7 Aab
	10	317.5 ± 2.1 Fa	0.275 ± 0.00 Fa	512.0 ± 0.0 ABc
Kontrol-3***	0	552.5 ± 2.1 Al	0.409 ± 0.00 Ak	510.0 ± 0.0 Ccd
	2	446.5 ± 3.5 Bk	0.338 ± 0.01 Bk	511.0 ± 0.0 Bcd
	4	213.0 ± 1.4 Ck	0.190 ± 0.00 Ci	512.0 ± 0.0 Aab
	6	103.0 ± 1.4 Dk	0.118 ± 0.00 Dk	512.0 ± 0.0 Ab
	8	52.0 ± 0.0 El	0.086 ± 0.00 Ei	506.0 ± 0.0 De
Kontrol-4****	0	622.5 ± 3.5 Ai	0.454 ± 0.00 Ahi	511.0 ± 0.0 Babcd
	2	513.5 ± 0.7 Bg	0.392 ± 0.00 Bgh	511.5 ± 0.7 ABbc
	4	483.0 ± 0.0 Cb	0.367 ± 0.00 Cb	512.0 ± 0.0 Aab
	6	446.0 ± 2.8 Db	0.351 ± 0.00 Db	512.0 ± 0.0 Ab
	8	386.5 ± 0.7 Ea	0.310 ± 0.00 Ea	512.0 ± 0.0 Ac
Kuersetin	0	686.5 ± 4.9 Ac	0.499 ± 0.01 Ac	509.8 ± 1.1 Bd
	2	582.0 ± 5.7 Bc	0.435 ± 0.00 Bc	511.2 ± 0.0 ABbcd
	4	404.0 ± 4.2 Cf	0.328 ± 0.01 Ce	511.9 ± 1.1 Aab
	6	385.5 ± 2.1 De	0.310 ± 0.00 De	512.5 ± 0.7 Aab
	8	324.5 ± 3.5 Ef	0.275 ± 0.01 Ed	513.0 ± 0.0 Aabc
	10	262.5 ± 2.1 Fe	0.237 ± 0.00 Fe	513.0 ± 0.0 Ab

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

****: Toplam monomerik antosiyanin miktarı, A_{maks} ve λ_{maks} aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. *****A-F : Aynı örnekte, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). *****a-l: Aynı depolama süresinde, farklı örneklerde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

EK.2

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)	Hiperkromik etki (A_{maks})	Batokromik kayma (λ_{maks})
Kumarik asit	0	639.0 ± 5.7 Agh	0.467 ± 0.01 Afg	511.0 ± 0.9 Dabcd
	2	506.0 ± 0.0 Bh	0.380 ± 0.00 Bi	511.3 ± 0.1 CDbcd
	4	430.0 ± 4.2 Ce	0.341 ± 0.00 Cd	512.2 ± 0.5 BCab
	6	357.0 ± 0.0 Df	0.295 ± 0.00 Df	513.0 ± 0.0 ABa
	8	303.0 ± 1.4 Eg	0.265 ± 0.00 Ee	514.0 ± 0.0 Aa
	10	274.5 ± 3.5 Fd	0.243 ± 0.01 Fc	512.0 ± 0.0 BCDc
Kafeik asit	0	627.0 ± 5.7 Aı	0.464 ± 0.01 Afg	511.2 ± 0.3 ABabc
	2	522.0 ± 1.4 Bf	0.401 ± 0.00 Bf	511.1 ± 0.1 ABbcd
	4	405.5 ± 2.1 Cf	0.334 ± 0.00 Cde	510.06 ± 0.5 Bc
	6	352.0 ± 0.0 Df	0.299 ± 0.00 Df	512.0 ± 0.0 Ab
	8	298.0 ± 1.4 Eg	0.270 ± 0.00 Ede	510.5 ± 0.7 Bd
	10	247.0 ± 2.8 Ff	0.237 ± 0.01 Fc	511.5 ± 0.7 ABcd
Gallik asit	0	671.0 ± 0.0 Ad	0.489 ± 0.00 Ad	511.2 ± 0.5 Aabc
	2	545.0 ± 1.4 Be	0.412 ± 0.00 Be	511.4 ± 0.6 Abcd
	4	390.5 ± 4.9 Cg	0.311 ± 0.00 Df	511.4 ± 0.0 Abc
	6	396.0 ± 0.0 Cd	0.321 ± 0.00 Cd	512.0 ± 0.0 Ab
	8	338.5 ± 3.5 De	0.284 ± 0.01 Ec	512.5 ± 0.7 Abc
	10	294.0 ± 2.8 Eb	0.260 ± 0.00 Fb	511.5 ± 0.7 Acd
Ferulik asit	0	649.0 ± 1.4 Af	0.479 ± 0.00 Ae	511.4 ± 0.4 ABab
	2	549.5 ± 2.1 Be	0.421 ± 0.00 Bd	510.6 ± 0.2 CDcd
	4	452.0 ± 5.7 Cd	0.366 ± 0.00 Cb	511.4 ± 0.4 ABbc
	6	407.5 ± 4.9 Dc	0.333 ± 0.00 Dc	512.0 ± 0.0 Ab
	8	357.5 ± 4.9 Ec	0.305 ± 0.00 Ea	510.0 ± 0.0 Dd
	10	282.0 ± 0.0 Fc	0.267 ± 0.00 Fab	511.0 ± 0.0 BCD
Karanfil	0	637.0 ± 1.4 Ah	0.463 ± 0.00 Afg	512.0 ± 0.0 Ba
	2	468.0 ± 0.0 Bj	0.364 ± 0.00 Bj	512.0 ± 0.0 Bab
	4	362.0 ± 0.0 Ci	0.298 ± 0.00 Cg	512.0 ± 0.0 Bab
	6	246.0 ± 1.4 Di	0.222 ± 0.00 Di	513.0 ± 0.0 Aa
	8	184.5 ± 0.7 Ek	0.183 ± 0.00 Eh	512.5 ± 0.7 ABbc
Tarçın	0	612.5 ± 3.5 Aj	0.449 ± 0.00 Ai	512.0 ± 0.0 Ca
	2	510.5 ± 3.5 Bgh	0.394 ± 0.00 Bg	512.5 ± 0.7 BCa
	4	377.5 ± 4.9 Ch	0.314 ± 0.01 Cf	512.0 ± 0.0 Cab
	6	309.0 ± 2.8 Dh	0.272 ± 0.00 Dh	513.0 ± 0.0 Ba
	8	232.0 ± 2.8 Ej	0.226 ± 0.00 Eg	514.0 ± 0.0 Aa

EK.2

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)	Hiperkromik etki (A_{maks})	Batokromik kayma (λ_{maks})
Zencefil	0	647.5 $\pm$ 3.5 Afg	0.469 $\pm$ 0.00 Af	511.0 $\pm$ 0.0 Babcd
	2	514.5 $\pm$ 2.1 Bg	0.397 $\pm$ 0.00 Bfg	512.0 $\pm$ 0.0 Aab
	4	425.5 $\pm$ 4.9 Ce	0.342 $\pm$ 0.00 Cd	512.0 $\pm$ 0.0 Aab
	6	316.5 $\pm$ 0.7 Dg	0.276 $\pm$ 0.00 Dh	512.0 $\pm$ 0.0 Ab
	8	260.0 $\pm$ 1.4 Ei	0.241 $\pm$ 0.00 Ef	512.0 $\pm$ 0.0 Ac
Biberiye	0	836.5 $\pm$ 2.1 Aa	0.598 $\pm$ 0.00 Aa	511.0 $\pm$ 0.0 Cabcd
	2	757.5 $\pm$ 3.5 Ba	0.559 $\pm$ 0.00 Ba	511.0 $\pm$ 0.0 Ccd
	4	551.5 $\pm$ 3.5 Ca	0.423 $\pm$ 0.00 Ca	512.0 $\pm$ 0.0 Bab
	6	494.5 $\pm$ 2.1 Da	0.393 $\pm$ 0.00 Da	513.0 $\pm$ 0.0 Aa
Mercanköşk	0	621.0 $\pm$ 0.0 Aij	0.458 $\pm$ 0.00 Agh	510.5 $\pm$ 0.7 Bbcd
	2	496.5 $\pm$ 3.5 Bi	0.387 $\pm$ 0.00 Bh	510.5 $\pm$ 0.7 Bd
	4	463.5 $\pm$ 3.5 Cc	0.365 $\pm$ 0.00 Cb	512.0 $\pm$ 0.0 ABab
	6	400.5 $\pm$ 4.9 Dd	0.326 $\pm$ 0.00 Dd	512.5 $\pm$ 0.7 Aab
	8	344.5 $\pm$ 3.5 Ed	0.295 $\pm$ 0.01 Eb	513.5 $\pm$ 0.7 Aab
Nar kabuğu	0	600.5 $\pm$ 3.5 Ak	0.438 $\pm$ 0.00 Aj	511.0 $\pm$ 0.0 Cabcd
	2	409.0 $\pm$ 0.0 Bl	0.326 $\pm$ 0.00 Bl	512.5 $\pm$ 0.7 ABa
	4	330.5 $\pm$ 2.1 Cj	0.275 $\pm$ 0.00 Ch	511.5 $\pm$ 0.7 BCbc
	6	232.0 $\pm$ 0.0 Dj	0.211 $\pm$ 0.00 Dj	512.0 $\pm$ 0.0 ABCb
	8	179.0 $\pm$ 0.0 Ek	0.178 $\pm$ 0.00 Eh	513.0 $\pm$ 0.0 Aabc

EK.3 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişime ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Kontrol-1*	0	5.1 ± 0.0 Fl	0.94 ± 0.00 Fj	18.4 ± 0.0 Fa
	2	6.5 ± 0.0 Ak	1.56 ± 0.00 El	24.1 ± 0.1 Ec
	4	6.3 ± 0.0 Bn	1.84 ± 0.03 Dj	29.1 ± 0.4 Db
	6	6.3 ± 0.0 Cm	2.01 ± 0.00 Ck	32.0 ± 0.1 Cc
	8	6.0 ± 0.0 Dl	2.05 ± 0.01 Bk	34.4 ± 0.2 Bd
	10	5.8 ± 0.0 Eg	2.17 ± 0.01 Af	37.3 ± 0.3 Aa
Kontrol-2**	0	12.4 ± 0.0 Bf	1.20 ± 0.00 Fh	9.7 ± 0.0 Fk
	2	13.6 ± 0.1 Ad	1.79 ± 0.01 Ei	13.2 ± 0.1 El
	4	11.4 ± 0.0 Eh	1.89 ± 0.01 Di	16.7 ± 0.1 Dı
	6	11.8 ± 0.0 Cf	2.24 ± 0.04 Ci	18.9 ± 0.3 Bl
	8	11.5 ± 0.0 Dd	2.10 ± 0.01 Bj	18.3 ± 0.0 Ck
	10	10.5 ± 0.0 Fc	2.66 ± 0.00 Ac	25.4 ± 0.0 Ad
Kontrol-3***	0	5.9 ± 0.0 Bk	0.85 ± 0.01 El	14.5 ± 0.2 Ec
	2	6.3 ± 0.0 Al	1.70 ± 0.01 Dj	27.1 ± 0.1 Da
	4	5.8 ± 0.0 Co	3.05 ± 0.02 Cc	52.8 ± 0.5 Ca
	6	5.4 ± 0.0 Dn	3.76 ± 0.01 Bb	69.9 ± 0.4 Ba
	8	5.2 ± 0.0 En	4.08 ± 0.00 Ab	79.0 ± 0.2 Aa
Kontrol-4****	0	5.1 ± 0.0 El	0.89 ± 0.01 Ek	17.3 ± 0.1 Eb
	2	6.3 ± 0.0 Cl	1.37 ± 0.00 Dm	21.9 ± 0.1 Dd
	4	6.6 ± 0.0 Bm	1.55 ± 0.01 Cm	23.5 ± 0.1 Cf
	6	6.9 ± 0.0 Al	1.77 ± 0.01 Bl	25.6 ± 0.1 Bh
	8	5.3 ± 0.0 Dm	4.16 ± 0.00 Aa	78.8 ± 0.2 Aa
Kuersetin	0	11.5 ± 0.1 Bj	1.17 ± 0.01 Fi	10.2 ± 0.1 Fı
	2	12.5 ± 0.1 Ag	1.65 ± 0.01 Ek	13.3 ± 0.1 El
	4	10.3 ± 0.0 Dj	1.79 ± 0.01 Dk	17.3 ± 0.1 Dh
	6	11.2 ± 0.0 Ch	2.10 ± 0.00 Cj	18.8 ± 0.0 Cl
	8	10.2 ± 0.0 Dh	2.25 ± 0.02 Bh	22.0 ± 0.1 Bj
	10	9.7 ± 0.0 Ee	2.49 ± 0.00 Ad	25.7 ± 0.1 Ad

Kontrol-1:** Karadut nektarı. *Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *****Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. ******Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl.

*****Parçalanma ölçütleri aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*****A–E: Aynı örnekte, aynı sütundaki değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

*****a–o: Aynı depolama süresinde, farklı örneklerde değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

EK.3

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Kumarik asit	0	12.1 ± 0.0 Ag	1.22 ± 0.00 Eh	10.1 ± 0.0 Fı
	2	10.6.0.1 Bj	1.24 ± 0.03 En	11.7 ± 0.1 En
	4	10.3 ± 0.0 Ck	1.67 ± 0.01 Dl	16.3 ± 0.1 Dı
	6	10.7 ± 0.1 Bj	2.01 ± 0.00 Ck	18.8 ± 0.1 Cl
	8	9.8 ± 0.0 Di	2.15 ± 0.00 Bi	21.9 ± 0.1 Bj
	10	9.5 ± 0.0 Ef	2.35 ± 0.01 Ae	24.7 ± 0.0 Ae
Kafeik asit	0	12.6 ± 0.1 Be	1.80 ± 0.00 Fb	14.3 ± 0.1 Fd
	2	13.8 ± 0.2 Ac	2.58 ± 0.00 Ec	18.8 ± 0.2 Eg
	4	12.2 ± 0.0 Ce	3.02 ± 0.03 Dc	24.8 ± 0.3 De
	6	12.2 ± 0.0 Ce	3.38 ± 0.01 Cd	27.8 ± 0.1 Cf
	8	11.3 ± 0.0 De	3.65 ± 0.01 Be	32.3, ± 0.1 Bf
	10	10.9 ± 0.0 Eb	3.98 ± 0.02 Ab	36.5 ± 0.1 Ab
Gallik asit	0	13.2 ± 0.2 Ad	1.29 ± 0.01 Ef	9.8 ± 0.0 Fjk
	2	13.2 ± 0.1 Ae	1.66 ± 0.03 Dk	12.6 ± 0.2 Em
	4	10.1 ± 0.0 Dl	1.66 ± 0.00 Dl	16.5 ± 0.0 Dı
	6	11.8 ± 0.0 Bf	2.23 ± 0.00 Ci	18.9 ± 0.1 Cl
	8	10.6 ± 0.0 Cg	2.30 ± 0.00 Bg	21.8 ± 0.1 Bj
	10	10.2 ± 0.0 Dd	2.49 ± 0.01 Ad	24.4 ± 0.1 Af
Ferulik asit	0	13.8 ± 0.0 Bc	1.73 ± 0.01 Fc	12.6 ± 0.1 Ff
	2	15.2 ± 0.1 Ab	2.72 ± 0.00 Eb	17.9 ± 0.1 Eh
	4	13.6 ± 0.0 Cb	3.16 ± 0.03 Db	23.3 ± 0.3 Df
	6	13.7 ± 0.0 BCb	3.57 ± 0.00 Cc	26.2 ± 0.1 Cg
	8	13.4 ± 0.0 Da	4.10 ± 0.01 Bb	30.8 ± 0.1 Bg
	10	12.5 ± 0.0 Ea	4.47 ± 0.01 Aa	35.7 ± 0.2 Ac
Karanfil	0	14.3 ± 0.1 Aa	2.46 ± 0.03 Ea	17.2 ± 0.1 Eb
	2	13.3 ± 0.0 Be	3.24 ± 0.00 Da	24.4 ± 0.0 Db
	4	13.4 ± 0.0 Bc	3.73 ± 0.00 Ca	27.9 ± 0.1 Cc
	6	11.6 ± 0.0 Cg	4.04 ± 0.01 Ba	34.8 ± 0.2 Bb
	8	10.1 ± 0.0 Di	4.10 ± 0.01 Ab	40.5 ± 0.1 Ab
Tarçın	0	12.1 ± 0.0 Eg	1.20 ± 0.00 Eh	9.9 ± 0.0 Ej
	2	12.8 ± 0.1 Cf	2.10 ± 0.00 Dh	16.4 ± 0.1 Dj
	4	13.8 ± 0.0 Aa	2.84 ± 0.01 Ce	20.6 ± 0.1 Cg
	6	13.2 ± 0.0 Bc	3.34 ± 0.00 Be	25.3 ± 0.1 Bı
	8	12.5 ± 0.0 Db	3.73 ± 0.01 Ac	29.9 ± 0.1 Ah

EK.3

Karadut örnekleri	Süre (hafta)	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Zencefil	0	11.8 ± 0.0 Bi	1.64 ± 0.00 Ed	14.0 ± 0.1 Ee
	2	11.8 ± 0.0 Ah	2.44 ± 0.00 Dd	20.6 ± 0.0 De
	4	11.4 ± 0.0 Cg	2.90 ± 0.00 Cd	25.4 ± 0.0 Cd
	6	11.0 ± 0.0 Di	3.23 ± 0.01 Bf	29.3 ± 0.1 Be
	8	10.9 ± 0.0 Ef	3.70 ± 0.01 Ad	34.0 ± 0.1 Ae
Biberiye	0	14.2 ± 0.0 Cb	1.29 ± 0.01 Df	9.2 ± 0.1 Dl
	2	15.5 ± 0.0 Aa	2.22 ± 0.00 Be	14.3 ± 0.0 Ck
	4	12.5 ± 0.0 Dd	2.16 ± 0.00 Ch	17.3 ± 0.0 Bh
	6	14.8 ± 0.0 Ba	3.07 ± 0.00 Ag	20.8 ± 0.0 Ak
Mercanköşk	0	11.9 ± 0.1 Eh	1.42 ± 0.00 Ee	12.0 ± 0.1 Eg
	2	12.5 ± 0.0 Bg	2.13 ± 0.01 Dg	17.1 ± 0.1 Dı
	4	12.0 ± 0.0 Df	2.48 ± 0.03 Cg	20.7 ± 0.2 Cg
	6	12.8 ± 0.0 Ad	2.89 ± 0.01 Bh	22.6 ± 0.1 Bj
Nar kabuğu	8	12.2 ± 0.0 Cc	3.16 ± 0.03 Af	25.8 ± 0.1 Aı
	0	11.7 ± 0.1 Ai	1.25 ± 0.01 Eg	10.7 ± 0.0 Eh
	2	11.3 ± 0.0 Bi	2.18 ± 0.00 Df	19.4 ± 0.1 Df
	4	11.2 ± 0.0 Bi	2.79 ± 0.01 Cf	24.9 ± 0.1 Ce
	6	10.1 ± 0.0 Ck	3.08 ± 0.00 Bg	30.6 ± 0.0 Bd
	8	8.6 ± 0.0 Dk	3.16 ± 0.00 Af	36.7 ± 0.1 Ac

EK.4 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince pH, titrasyon asitliği ve berraklık değerlerindeki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri

Kontrol-1* örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	6	0.015	0.03	8.563	0.011**
Hata	12	0.002	0.00		
Toplam	18	0.017			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.006	0.00200	78.250	0.000**
Hata	5	0.000	0.00002		
Toplam	9	0.006			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.013	0.00300	53.583	0.000**
Hata	5	0.000	0.00006		
Toplam	9	0.013			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.008	0.002	22.700	0.001*
Hata	6	0.000	0.004		
Toplam	11	0.008			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.004	0.0010000	21.000	0.001*
Hata	6	0.000	0.00004167		
Toplam	11	0.004			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.010	0.002	16.227	0.002*
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	0.011			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.00100	0.00000	14.000	0.006*
Hata	5	0.00005	0.00001		
Toplam	9	0.00105			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.00000	0.00006	6.000	0.038*
Hata	5	0.00005	0.00001		
Toplam	9	0.00005			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	0.00000	0.0000000	11.667	0.019*
Hata	4	0.00005	0.0000125		
Toplam	7	0.00005			

*(p<0.05)

Kontrol-1* örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.00800000	0.002000000	180.869	0.000**
Hata	6	0.00004992	0.000008320		
Toplam	11	0.00804992			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.005	0.00100000	14.296	0.003**
Hata	6	0.000	0.00007440		
Toplam	11	0.005			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.00300000	0.00100000	52.038	0.000**
Hata	5	0.00007714	0.00001543		
Toplam	9	0.00307714			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.00300000	0.0010000	104.579	0.000**
Hata	5	0.00003169	0.00006338		
Toplam	9	0.00303169			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.002	0.00000000	6.533	0.020*
Hata	6	0.000	0.00007478		
Toplam	11	0.002			

*(p<0.05)

Kumaraik asit içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.008	0.00200000	24.891	0.001*
Hata	6	0.000	0.00006440		
Toplam	11	0.008			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.011	0.00200000	28.213	0.000*
Hata	6	0.000	0.00007496		
Toplam	11	0.011			

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.016	0.00300000	35.582	0.000*
Hata	6	0.001	0.00009091		
Toplam	11	0.017			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.005	0.00100000	17.566	0.002*
Hata	6	0.000	0.00005933		
Toplam	11	0.005			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.004	0.00100000	26.777	0.001*
Hata	5	0.000	0.00003722		
Toplam	9	0.004			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.002	0.00100000	7.655	0.023*
Hata	5	0.000	0.00006718		
Toplam	9	0.002			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.002	0.00000000	15.924	0.005*
Hata	5	0.000	0.00002865		
Toplam	9	0.002			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	0.0020000	0.0010000	36.592	0.002*
Hata	4	0.0000688	0.0000172		
Toplam	7	0.0020688			

*(p<0.05)

Mercenköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.008	0.00200000	38.527	0.001*
Hata	5	0.000	0.00005098		
Toplam	9	0.008			

*(p<0.05)

Kontrol-1* örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2159.426	431.885	3167.291	0.000**
Hata	6	0.818	0.136		
Toplam	11	2160.244			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2506.659	501.332	18017.583	0.000**
Hata	6	0.167	0.028		
Toplam	11	2506.826			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	27.096	6.774	2785.226	0.000**
Hata	5	0.012	0.002		
Toplam	9	27.108			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	122.682	30.670	970.932	0.000**
Hata	5	0.158	0.032		
Toplam	9	122.840			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	1396.849	279.370	563.701	0.000*
Hata	6	2.974	0.496		
Toplam	11	1399.823			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	755.486	151.097	6057.797	0.000*
Hata	6	0.150	0.025		
Toplam	11	755.635			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	1068.447	213.689	3661.390	0.000*
Hata	6	0.350	0.058		
Toplam	11	1068.797			

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	1291.833	258.367	350.696	0.000*
Hata	6	4.420	0.737		
Toplam	11	1296.253			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	916.247	183.249	2654.640	0.000*
Hata	6	0.414	0.069		
Toplam	11	916.661			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	19.264	4.816	8421.239	0.000*
Hata	5	0.003	0.001		
Toplam	9	19.267			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	33.299	8.325	2165.434	0.000*
Hata	5	0.019	0.004		
Toplam	9	33.318			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	157.933	39.483	680.014	0.000*
Hata	5	0.290	0.058		
Toplam	9	158.223			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	215.031	71.677	1001.276	0.000*
Hata	4	0.286	0.072		
Toplam	7	215.317			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	10.669	2.667	146.288	0.000*
Hata	5	0.091	0.018		
Toplam	9	10.760			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin berraklık değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	15.460	3.865	272.227	0.000*
Hata	5	0.071	0.014		
Toplam	9	15.531			

*(p<0.05)

EK.5 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarında, hiperkromik etki ve batokromik kaymadaki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri

Kontrol-1* örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	465962.750	93192.550	5402.467	0.000**
Hata	6	103.500	17.250		
Toplam	11	466066.250			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	178601.417	35720.283	2198.171	0.000**
Hata	6	97.500	16.250		
Toplam	11	178698.917			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	379125.400	94781.350	22566.988	0.000**
Hata	5	21.000	4.200		
Toplam	9	379146.400			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	61610.600	15402.650	3582.012	0.000**
Hata	5	21.500	4.300		
Toplam	9	61632.100			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05)

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	260069.667	52013.933	3250.871	0.000*
Hata	5	96.000	16.000		
Toplam	9	260165.667			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren örneğin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	188533.750	37706.750	3507.605	0.000*
Hata	6	64.500	10.750		
Toplam	11	188598.250			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	204236.417	40847.283	5053.272	0.000*
Hata	6	48.500	8.083		
Toplam	11				

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	200772.667	40154.533	5126.111	0.000*
Hata	6	47.000	7.833		
Toplam	11	200819.667			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	176181.417	35236.283	2416.202	0.000*
Hata	6	87.500	14.583		
Toplam	11	176268.917			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	260584.000	65146.000	72384.444	0.000*
Hata	5	4.500	0.900		
Toplam	9	260588.500			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	188066.600	47016.650	3589.057	0.000*
Hata	5	65.500	13.100		
Toplam	9	188132.100			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	192419.600	48104.900	5466.466	0.000*
Hata	5	44.000	8.800		
Toplam	9	192463.600			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	159642.000	53214.000	6260.471	0.000*
Hata	4	34.000	8.500		
Toplam	7	159676.000			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	88021.600	22005.400	1774.629	0.000*
Hata	5	62.000	12.400		
Toplam	9	88083.600			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	219552.600	54888.150	15143.574	0.000*
Hata	4	17.000	3.400		
Toplam	9	219569.600			

*(p<0.05)

Kontrol-1* örneğinin hiberkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.181000	0.036000000	6213.154	0.000**
Hata	4	0.000035	0.000005833		
Toplam	9	0.181035			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. *(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.0660000	0.013000000	6870.965	0.000**
Hata	6	0.0000115	0.000001917		
Toplam	11	0.0660115			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. *(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.1570000	0.0390000	5388.986	0.000**
Hata	5	0.0000365	0.0000073		
Toplam	9	0.1570365			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. *(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.0230000	0.0060000	670.282	0.000**
Hata	5	0.0000425	0.0000085		
Toplam	9	0.0230425			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.100	0.02000000	673.375	0.000*
Hata	6	0.000	0.00002958		
Toplam	11	0.100			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.069	0.01400000	692.629	0.000*
Hata	6	0.000	0.00001983		
Toplam	11	0.069			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.073	0.01500000	780.930	0.000*
Hata	6	0.000	0.00001858		
Toplam	11	0.073			

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.075	0.01500000	858.124	0.000*
Hata	6	0.000	0.00001758		
Toplam	11	0.075			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	0.0610000	0.012000000	1359.015	0.000*
Hata	6	0.0000535	0.000008917		
Toplam	11	0.0610535			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.1010000	0.0250000	13235.868	0.000*
Hata	5	0.0000095	0.0000019		
Toplam	9	0.1010095			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.0660000	0.0160000	862.218	0.000*
Hata	5	0.0000095	0.0000019		
Toplam	9	0.0660095			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.06700	0.017000	2099.825	0.000*
Hata	5	0.00004	0.000008		
Toplam	9	0.06704			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	0.0610000	0.020000000	17985.889	0.000*
Hata	4	0.0000045	0.000001125		
Toplam	7	0.0610045			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.031000	0.0080000	533.099	0.000*
Hata	5	0.000073	0.0000146		
Toplam	9	0.031073			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin hiperkromik etkisinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	0.084000	0.021000	4192.070	0.000*
Hata	5	0.000025	0.000005		
Toplam	9	0.084025			

*(p<0.05)

Kontrol-1* örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	12.876	2.575	151.557	0.000*
Hata	6	0.102	0.017		
Toplam	11	12.978			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı . **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	49.6000000	12.40000000	123999001.0	0.000*
Hata	5	0.0000005	0.0000001		
Toplam	9	49.6000005			

Kontrol-3: Karadut nektarı + AA. *(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	15.284	3.057	6.521	0.020*
Hata	6	2.813	0.469		
Toplam	11	18.097			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	12.047	2.409	13.326	0.003*
Hata	6	1.085	0.181		
Toplam	11	13.131			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	4.876	0.975	13.859	0.003*
Hata	6	0.422	0.070		
Toplam	11	5.298			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	5.600	1.400	14.000	0.006*
Hata	5	0.500	0.100		
Toplam	9	6.100			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	1.5980000	0.4000000	39960001	0.000*
Hata	5	0.0000005	0.0000001		
Toplam	9	1.5980005			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	5.4990000	1.833000000	14662667.67	0.000*
Hata	4	0.0000005	0.000000125		
Toplam	7	5.4990005			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	13.600	3.400	8.500	0.019*
Hata	5	2.000	0.400		
Toplam	9	16.600			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin bathokromik kaymasının değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	5.000	1.250	6.250	0.035*
Hata	5	1.000	0.200		
Toplam	9	6.000			

*(p<0.05)

EK.6 Karadut nektarlarının 20°C’de 3 ay depolanması süresince antosiyanin parçalanma ölçütlerindeki değişime ilişkin varyans analizi çizelgeleri

Kontrol-1* örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2.518	0.504	3357.200	0.000**
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	2.519			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	11.394	2.279	1698.550	0.000**
Hata	6	0.008	0.001		
Toplam	11	11.402			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	1.459	0.365	985.97	0.000**
Hata	5	0.002	0.000		
Toplam	9	1.461			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	4.921	1.230	2796.227	0.000**
Hata	5	0.002	0.000		
Toplam	9	4.924			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	10.288	2.058	578.264	0.000*
Hata	6	0.021	0.004		
Toplam	11	10.310			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	8.360	1.672	510.525	0.000*
Hata	6	0.020	0.003		
Toplam	11				

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	10.197	2.039	386.625	0.000*
Hata	6	0.032	0.005		
Toplam	11	10.229			

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	20.781	4.156	812.270	0.000*
Hata	6	0.031	0.005		
Toplam	11	20.811			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	7.356	1.471	424.394	0.000*
Hata	6	0.021	0.003		
Toplam	11	7.377			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	22.191	5.548	3170.129	0.000*
Hata	5	0.009	0.002		
Toplam	9	22.200			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	3.474	0.868	413.560	0.000*
Hata	5	0.011	0.002		
Toplam	9	3.484			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	1.423	0.356	1482.250	0.000*
Hata	5	0.001	0.000		
Toplam	9	1.424			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	9.656	3.219	19807.051	0.000*
Hata	4	0.001	0.000		
Toplam	7	0.957			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	1.022	0.256	234.413	0.000*
Hata	5	0.005	0.001		
Toplam	9	1.027			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin renk yoğunluğu değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	12.371	3.093	2021.366	0.000*
Hata	5	0.008	0.002		
Toplam	9	12.378			

*(p<0.05)

Kontrol-1* örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2.061	0.412	2355.705	0.000**
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	2.062			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2.386	0.477	1684.565	0.000**
Hata	6	0.002	0.000		
Toplam	11	2.388			

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	15.136	3.784	25226.167	0.000**
Hata	5	0.001	0.000		
Toplam	9	15.137			

***Kontrol-3:** Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	13.085	3.27100	54518.917	0.000**
Hata	5	0.000	0.00006		
Toplam	9	13.085			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2.229	0.446	2546.943	0.000*
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	2.230			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2.263	0.453	2263.467	0.000*
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	2.265			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	6.208	1.242	4966.21	0.000*
Hata	6	0.002	0.000		
Toplam	11	6.209			

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	2.191	0.438	2190.967	0.000*
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	2.192			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	9.805	1.961	8403.914	0.000*
Hata	6	0.001	0.000		
Toplam	11	9.806			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	3.695	0.924	4398.762	0.000*
Hata	5	0.001	0.000		
Toplam	9	3.696			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	8.163	2.04100	40813.2	0.000*
Hata	5	0.000	0.00005		
Toplam	9	8.163			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	4.957	1.23900	15490.500	0.000*
Hata	5	0.000	0.00008		
Toplam	9	4.957			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	3.172	1.05700	21148.000	0.000*
Hata	4	0.000	0.00005		
Toplam	7	3.172			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	3.712	0.928	2320.150	0.000*
Hata	5	0.002	0.000		
Toplam	9	3.714			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	5.035	1.25900	25177.2	0.000*
Hata	5	0.000	0.00005		
Toplam	9	5.035			

*(p<0.05)

Kontrol-1* örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	485.757	97.151	2241.954	0.000**
Hata	6	0.260	0.043		
Toplam	11	486.017			

***Kontrol-1:** Karadut nektarı. **(p<0.05).

Kontrol-2* örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	288.187	57.637	3842.489	0.000**
Hata	6	0.090	0.015		
Toplam	11				

***Kontrol-2:** Karadut nektarı + Limon suyu. **(p<0.05).

Kontrol-3* örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	6036.756	1509.189	15720.719	0.000**
Hata	5	0.480	0.096		
Toplam	9	6037.236			

Kontrol-3: Karadut nektarı + AA. **(p<0.05).

Kontrol-4* örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	5216.170	1304.042	59274.659	0.000**
Hata	5	0.110	0.022		
Toplam	9	5216.280			

***Kontrol-4:** Karadut nektarı + HCl. **(p<0.05).

Kuersetin içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	319.434	63.887	6969.473	0.000*
Hata	6	0.055	0.009		
Toplam	11	319.489			

*(p<0.05)

Kumarik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	323.667	64.733	11097.171	0.000*
Hata	6	0.035	0.006		
Toplam	11	323.703			

*(p<0.05)

Kafeik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	685.764	137.153	5675.290	0.000*
Hata	6	0.145	0.024		
Toplam	11	685.909			

*(p<0.05)

Gallik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	302.720	60.554	6054.400	0.000*
Hata	6	0.060	0.010		
Toplam	11	302.780			

*(p<0.05)

Ferulik asit içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	5	707.657	141.531	5307.425	0.000*
Hata	6	0.160	0.027		
Toplam	11	707.817			

*(p<0.05)

Karanfil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	654.034	163.508	9083.806	0.000*
Hata	5	0.090	0.018		
Toplam	9	654.124			

*(p<0.05)

Tarçın ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	478.194	119.549	17078.357	0.000*
Hata	5	0.035	0.007		
Toplam	9	478.229			

*(p<0.05)

Zencefil ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	481.000	120.250	13361.111	0.000*
Hata	5	0.045	0.009		
Toplam	9	481.045			

*(p<0.05)

Biberiye ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	3	146.084	48.695	38955.667	0.000*
Hata	4	0.005	0.001		
Toplam	7	146.089			

*(p<0.05)

Mercanköşk ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	226.626	56.657	2575.295	0.000*
Hata	5	0.110	0.022		
Toplam	9	226.736			

*(p<0.05)

Nar kabuğu ekstraktı içeren karadut nektarı örneğinin polimerik renk oranı değerlerinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Süre	4	803.786	200.946	66982.167	0.000*
Hata	5	0.015	0.003		
Toplam	9	803.801			

*(p<0.05)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kübra GÜVEN

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 06.05.1991

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Ankara Anadolu Lisesi (2006–2009)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2010–2015)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2017–2020)

Çalıştığı Kurumlar

- Hilal Ekmek ve Unlu Mamüller Gıda İnşaat Pazarlama Sanayi, Gıda Mühendisi (2017)
- Coşkun Aş ve Gıda Sanayi Ticaret Limited Şirketi, Gıda Mühendisi (2017–2018)

Lisans Tezi

- Doğal Antimikrobiyal Madde Olarak Bitki Esansiyel Yağlarının Gıdalarda Kullanılması (Mühendislik Fakültesi Proje Yarışması Bölüm İkindiliği-2015)