

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR VE PORTAKALDAN OLUŞAN KARIŞIK MEYVE SUYUNA EKLENEN
AMİNO ASİTLERİN ANTOSİYANİNLERİN ISIL STABİLİTESİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Handenur ÜNAL

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2019**

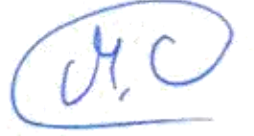
Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Handenur ÜNAL tarafından hazırlanan “**Nar ve Portakaldan Oluşan Karışık Meyve Suyuna Eklenen Amino Asitlerin Antosiyaninlerin Isıl Stabilitesi Üzerine Etkisi**” adlı tez çalışması 16/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Nevzat ARTIK

Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Serpil ŞAHİN

Orta Doğu Teknik Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

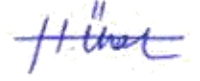
Prof. Dr. Özlem YILDIRIM

Enstitü Müdür Vekili

ETİK

Tezimi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün yayımladığı tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı ve tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru ve eksiksiz olduğunu, yazımda bilimsel etiğe gözettiğimi, faydalandığım kaynakları atıf yaparak açıkladığımı beyan ederim.

16.09.2019



Handenur ÜNAL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NAR VE PORTAKALDAN OLUŞAN KARIŞIK MEYVE SUYUNA EKLENEN AMİNO ASİTLERİN ANTOSİYANİNLERİN ISIL STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Handenur ÜNAL

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Bu çalışmanın amacı; 1:1 (v/v) oranında portakal suyu eklenmiş nar suyunun farklı sıcaklık (90°, 105° ve 150°C) ve sürelerde (sırasıyla; 30, 20, 10 dak) ısıtılması süresince, portakal suyundaki askorbik asit nedeniyle yüksek olan antosiyanin parçalanma hızının çeşitli amino asitlerin (aspartik asit, prolin ve valin) kopigmentasyon etkisinden faydalanılarak azaltılması potansiyelinin incelenmesidir. Bu amaçla, nar ve portakal suyundan oluşan karışık meyve suyu örneklerinde; kopigmentasyon etkisini belirlemek amacıyla; monomerik antosiyanin miktarı, hiperkromik ve batokromik değişimler, renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk oranı değerlerindeki değişimler belirlenmiştir.

Antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarılanma ömrünü; 105°C’de; aspartik asit 108 dak, valin 91 dak arttırırken, prolin 24.5 dak azaltmıştır. Genel olarak, ısıtma sıcaklığı arttıkça antosiyanin stabilitesinde azalma gözlenmiştir. Ancak; aspartik asit ve valin içeren örnekler 90°C’ye göre 105°C’de daha yüksek antosiyanin stabilitesi göstermiştir. 90° ve 150°C sıcaklıklarda, eklenen amino asitler, antosiyanin stabilitesini arttırmada etkili olamamıştır.

Kontrol grubunun A_{maks} değerlerinde tüm sıcaklıklar için %55.2–61.2 düzeyinde azalma saptanmıştır. A_{maks} değerlerinin azalma hızları için; 90°C’de kontrol grubuna göre, değişim görülmezken; 105°C’de aspartik asit eklenen örneklerde %41.7, valin eklenen örneklerde ise, %47.5 oranında daha az azalma görülmüştür. Sonuçlar, 105°C’de, aspartik asit ve valin içeren örneklerde kopigmentasyonun gerçekleştiği saptanırken, en iyi kopigmentasyonun ise, valin içeren örneklerde olduğu gözlenmiştir.

Isıtma boyunca, kontrol grubu ve amino asit içeren örneklerdeki polimerik renk oluşumunun kopigmentasyondan kaynaklandığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, nar ve portakal içeren karışık reçel yapılması durumunda, kopigment kaynağı olarak aspartik asit ve valin kullanımının antosiyanin stabilitesini önemli düzeyde artırabileceğini göstermektedir.

Eylül 2019, 76 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nar suyu, portakal suyu, antosiyanin, kopigment, askorbik asit, aspartik asit, prolin, valin, ısıl stabilite

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF AMINO ACIDS ADDED TO MIXED FRUIT JUICE CONSISTING OF POMEGRANATE AND ORANGE ON THE THERMAL STABILITY OF ANTHOCYANINS

Handenur ÜNAL

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

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

The purpose of this study was to investigate potential of various amino acids (aspartic acid, proline and valine), which have copigmentation effects, on the decrease high degradation rate of anthocyanins in orange juice added pomegranate juice (1:1, v/v) due to ascorbic acid content of orange juice during heating at 90°, 105° and 150°C for 30, 20, 10 min, respectively. For this purpose, monomeric anthocyanin content, hyperchromic and bathochromic changes, color density, polymeric color and polymeric color ratio values were measured in the mixed fruit juice samples consisting of pomegranate and orange juices to determine copigmentation effects.

At 105°C, aspartic acid increased half-life values for anthocyanin degradation by 108 min, valine by 91 min, and proline by 24.5 min. In general, as the heating temperature increased, decrease in anthocyanin stability was observed. However, aspartic acid and valine containing samples showed had higher anthocyanin stability at 90°C, as compared to 105°C. At 90° and 150°C, added amino acids were not effective on increasing anthocyanin stability.

Decrease (55.2–61.2%) in A_{max} values of control group was observed at all temperatures. While no change in A_{max} values of all amino acid added samples was observed at 90°C as compared to control groups, there was 41.7% less decrease determined in aspartic acid added samples and 47.5% in valine added samples at 105°C. Results showed that at 105°C, copigmentation was observed in aspartic acid and valine containing samples, but best copigmentation was achieved in valine containing samples.

Polymeric color formation during heating was found to arise from copigmentation in control group as well as amino acid containing samples. Results obtained from this study showed that using aspartic acid and valine as a copigment source can increase anthocyanin stability when jam is made from the mixture of pomegranate and oranges.

September 2019, 76 pages

Key Words: Pomegranate and orange juice, anthocyanin, copigment, ascorbic acid, aspartic acid, proline, valine, thermal stability

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın her aşamasında bilgi, tecrübe ve nezaketini esirgemeyen, bu süreçte kişisel gelişimimde de büyük katkıları olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a (Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü), tezimin her aşamasında bir sonraki adıma ışık tutan, yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen ve bütün bunları yaparken büyük bir sabır ve nezaketle yapan, en yoğun zamanlarında bile bana vakit ayıran, bütün kriz anlarında soğukkanlılıkla beni rahatlatan, verdiği emekle her zaman daha iyiyi hak ettiğine inandığım saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Meltem TÜRKYILMAZ'a (Ankara Üniversitesi, Gıda Güvenliği Enstitüsü) içtenlikle teşekkürlerimi sunuyorum. Analizlerimde ve laboratuvar çalışmalarında bilgileriyle bana yardımcı olan ve laboratuvar çalışmaları boyunca bana yol arkadaşlığı yapan ve destek olan hocam Sayın Arş. Grv. Fatmagül HAMZAOĞLU'na, her konuda bilgi ve desteğini veren, tatil günlerinde bile büyük bir sabır ve nezaketle çalışmalarım için elinden geleni fazlasıyla yapan, çalışmalarımı büyük bir cömertlikle benimle paylaşan hocam Sayın Dr. Sümeyye ALAGÖZ KABAKCI'ya teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans sürecimde benimle beraber yürüyen ve desteklerini esirgemeyen, her konuda beni sabırla dinleyen çok değerli arkadaşım Kübra GÜVEN'e ve bu süreçte bana destek olan iş arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Hayatım süresince beni her açıdan destekleyen sevgili annem ve babama, her konuda olduğu gibi çalışmalarımın her evresinde de beni çalışmaya teşvik eden, dertlerimi kendi dertleri gibi görüp ilgilenen sevgili kardeşlerim başta Rüveyda ÜNAL'a, Ahmet ÜNAL'a, Elif ÜNAL'a ve Yasemin ÜNAL'a ve beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan tüm aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

Projemizi destekleyen Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje Kodu:18B0427001) içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Handenur ÜNAL

Ankara, Eylül 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	i
SİMGELER DİZİNİ ve Kısaltmalar.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Ülkemizde Nar ve Portakal Üretimi.....	3
2.2 Nar ve Portakalın Sağlık Açısından Önemi ve Kimyasal Yapıları.....	4
2.3 Antosiyaninlerin Yapısı	5
2.4 Nar antosiyaninleri	9
2.5 Antosiyaninlerin Stabilesini Etkileyen Faktörler	10
2.5.1 Sıcaklık.....	10
2.5.2 Oksijen	11
2.5.3 pH	12
2.5.4 Işık	13
2.5.5 Enzimler	14
2.5.6 Metal iyonları	14
2.5.7 Antosiyanin yapısı ve konsantrasyonu.....	15
2.6 Askorbik Asit.....	15
2.6.1 AA'nın degradasyonu	17
2.6.2 AA'nın parçalanma ürünleri	20
2.7 AA'nın Antosiyanin Stabilesi Üzerine Etkisi	21
2.7.1 AA ve DHA	21
2.7.2 H ₂ O ₂	23
2.7.3 Furfural ve HMF.....	26
2.8 Kopigmentasyon.....	28
2.8.1 Antosiyaninler	29
2.8.2 Organik asitler	30
2.8.3 Fenolik bileşikler	30
2.8.4 Amino asitler	32

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1 Materyal.....	36
3.1.1 Nar ve portakal suyu	36
3.1.2 Kopigment kaynakları.....	36
3.1.3 Kimyasallar	36
3.2 Yöntem.....	36
3.2.1 Nar ve portakalın meyve suyuna işlenmesi.....	36
3.2.2 Nar suyuna kopigment ilavesi ve portakal suyunun eklenmesi.....	38
3.2.3 Kimyasal analizler	38
3.2.3.1 Hiperkromik ve batokromik etkinin belirlenmesi	38
3.2.3.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini	39
3.2.3.3 Antosiyanin parçalanma ölçütleri değerlerinin tespiti	40
3.2.4 Kinetik parametrelerin belirlenmesi.....	42
3.2.5 İstatistik değerlendirme.....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	44
4.1 Karışık Meyve Sularının Isıtma Süresince Monomerik Antosiyanin İçeriğindeki Değişim	44
4.2 Farklı Sıcaklıklarda Isıtma Süresince Nar ve Portakal Sularından Oluşan Karışık Meyve Sularında Antosiyanin Kopigmentasyonu ve Kopigmentasyon Etkisindeki Değişim.....	49
4.3 Karışık Meyve Sularında Renk Yoğunluğu, Polimerik Renk ve Polimerik Renk Oranındaki Değişimler	54
5. SONUÇ	59
KAYNAKLAR	60
EKLER	69
EK 1 Meyve sularının monomerik antosiyanin miktarlarına (mg/L) ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	70
EK 2 Meyve sularının ısıtma süresince batokromik (λ_{maks}) değişimine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	71
EK 3 Meyve sularının hiperkromik değişimine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	72
EK 4 Meyve sularının renk yoğunluğu değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	73
EK 5 Meyve sularının renk yoğunluğu değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları	74
EK 6 Meyve sularının renk yoğunluğu değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	76

SİMGELER DİZİNİ

A_{maks}	Hiperkromik Etki
a_w	Su aktivitesi
$^{\circ}C$	Santigrat
C	Karbon
Cu	Bakır
Fe	Demir
H	Hidrojen
H_2O_2	Hidrojen peroksit
k	Reaksiyon Hız Sabiti
Nm	Nanometre
-OCH ₃	Metoksil
-OH	Hidroksil
SO ₂	Kükürt dioksit
-SH	Sülfidril
λ_{maks}	Bathokromik etki

Kısaltmalar

AA	Askorbik Asit
A.B.D.	Amerika Birleşik Devletleri
Cy	Siyanidin
Abs	Absorbans
cy-3-glu	Siyanidin-3-glukozit
cy-3-diglu	Siyanidin-3,5-diglukozit
Ç	Çalkon
DHA	Dehidroaskorbik Asit
Dp	Delfinidin
HMF	Hidroksimetil furfural
KB	Karbinol psödobaz
PPO	Polifenolaksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Antosiyanin yapısı	6
Şekil 2.2 Doğada yaygın olarak bulunan antosiyanidinler.....	7
Şekil 2.3 Malvidin 3,5-diglukozit	8
Şekil 2.4 pH 3.7’de ısıtmayla hızlanan ve kumarin-3-glukozit oluşumuna neden olan reaksiyon	11
Şekil 2.5 Değişen pH değerlerine göre antosiyanin konsantrasyonundaki değişim	12
Şekil 2.6 Antosiyanin türleri arasındaki denge	13
Şekil 2.7 AA'nın çeşitli izomerleri	16
Şekil 2.8 AA'nın degradasyon mekanizması.....	17
Şekil 2.9 H ₂ O ₂ oluşumu	18
Şekil 2.10 H ₂ O ₂ katalizörlüğünde malvinin malvona dönüşümü	23
Şekil 2.11 Flavilyum tuzlarının oksidasyon ürünleri	24
Şekil 2.12 Enolik benzoatlardan benzoil esterleri oluşumu	24
Şekil 2.13 Baeyer-Villiger mekanizması	25
Şekil 2.14 Kumarin 3,5-diglukozit.....	25
Şekil 2.15 H ₂ O ₂ ile cy-3-glu tepkimesinin mekanizması.....	26
Şekil 2.16 Furfural ve HMF'nin kimyasal yapıları	26
Şekil 2.17 Cy ve furfural arasındaki kondensasyon reaksiyonları.....	28
Şekil 2.18 Kopigmentasyona katılan önemli organik asitlerin yapıları	30
Şekil 2.19 Kopigment olarak davranan önemli fenolik asitlerin yapıları	31
Şekil 2.20 Çalışmamızda kullandığımız amino asitlerin kimyasal yapıları.....	32
Şekil 3.1 Nar ve portakal suyu üretimi akım şeması.....	37
Şekil 4.1 Karışım meyve sularının antosiyanin stabilitesi üzerine farklı amino asit kaynakları ve ısıtma sıcaklıklarının etkisi	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Bazı temel antosiyanidinlerin meyve ve sebzelerde bulunma durumu ve renkleri.....	7
Çizelge 2.2 Aglikona bağlanan değişken gruplar ve bu değişkenlere bağlı olarak antosiyaninin aldığı isimler	8
Çizelge 4.1 Meyve sularının ısıtma işlemi öncesi toplam monomerik antosiyanin miktarları	44
Çizelge 4.2 Farklı sıcaklıklarda ısıtma süresince karışık meyve sularının parçalanmış antosiyaninlerine ait kinetik parametreler.....	46
Çizelge 4.3 Meyve suyu örneklerinin farklı sıcaklıklarda ısıtma öncesi ve sonrasındaki λ_{maks} (nm) değerleri	50
Çizelge 4.4 Meyve suyu örneklerinin farklı sıcaklıklarda ısıtma öncesi ve sonrasındaki A_{maks} (nm) değerleri	51
Çizelge 4.5 Meyve suyu örneklerinin A_{max} değerlerine ilişkin kinetik parametreler.....	53
Çizelge 4.6 90°C’de ısıtılmış ve farklı kopigment kaynağı ilave edilmiş meyve sularında parçalanma ölçütlerine ilişkin veriler	55
Çizelge 4.7 105°C’de ısıtılmış ve farklı kopigment kaynağı ilave edilmiş meyve sularında parçalanma ölçütlerine ilişkin veriler	56
Çizelge 4.8 150°C’de ısıtılmış ve farklı kopigment kaynağı ilave edilmiş meyve sularında parçalanma ölçütlerine ilişkin veriler	57

1. GİRİŞ

İşlenmiş veya işlenmemiş gıdaların günümüzde sadece besleyicilik, vücuda yararlılık veya tat açısından değerlendirilmediği; göze hitap etmeyen gıdaların günümüz tüketicisi tarafından tercih edilmediği bilinen bir gerçektir. Gıdanın albenisini artıran en önemli kriterlerden biri, aynı zamanda gıdanın kalitesi hakkında da fikir veren, rengidir. Gıdalarda renk değişimi; gıdalardaki bozulmanın göstergesi olabilir. Bu nedenle, tüketici tarafından gıdanın renginin beğenilebilecek düzeyde olması gereklidir.

Çiçek, meyve ve sebzelerde bulunan ve bunların kırmızı, mor ve mavi renklerinden sorumlu olan pigmentler antosiyaninlerdir (Cemeroğlu vd. 2001). Bu pigmentler doğada doğal olarak bulunan renk maddeleri olmalarının yanında narın besleyici değerine de katkıda bulunmaktadır.

Antosiyaninler stabilitesi çok düşük olan; yani, kolayca değişime uğrayabilen bileşiklerdir (Rein 2005). Yapıdaki veya renkteki değişim çeşitli etkenlerle gerçekleşir. Bunlar; antosiyaninin yapısı, pigment konsantrasyonu, pH, sıcaklık, askorbik asit (AA) varlığı, kopigment varlığı, metal iyonları, enzimler, oksijen, şekerler ve şekerlerin parçalanma ürünleri (furfural ve hidrosimetilfurfural, HMF) ile kükürt dioksit (SO₂) gibi etkenler olabilir (Mazza ve Miniati 1993). Bu etkenlerin bazıları antosiyanin stabilitesine olumlu etki gösterirken, bazıları da olumsuz etki gösterip antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. AA, antosiyanin stabilitesi üzerine olumsuz etki göstermektedir. Kendisi okside olurken antosiyaninlerin parçalanmasına neden olur ve stabiliteelerini azaltır.

Meyve suyu gibi bazı gıdalara; besin değerini arttırmak, oksidasyonu (Rein 2005) ve enzimatik esmerleşme reaksiyonlarını engellemek (Özkan 2004, Kırca 2004) amacıyla AA eklenmektedir. Bununla birlikte, AA ve antosiyanin bir arada bulunduğu ortamda oksijen de varsa iki maddenin birbiriyle etkileşime girdiği ve bu etkileşim sonucunda antosiyaninlerin parçalandığı; bunun sonucunda da gıdanın renginin

karakteristik kırmızı-mavi rengini kaybettiği, fonksiyonel özelliklerinde ve besin değerinde kayıplar meydana geldiği bilinmektedir (Garcia-Viguera ve Bridle 1999, Pacheco-Palencia vd. 2007). Bu yüzden nar suyu gibi yoğun antosiyanin içeren ve bunun yanında portakal suyu gibi yoğun AA içeren ürünlerden yapılacak karışımlarda antosiyaninlerin kaybını engellemek için önlemler alınmalıdır. Bu önlemlerden biri de, antosiyaninleri bağlayıp daha stabil olmalarını sağlayan ve bunun yanında renk yoğunluğunu arttıran kopigment kaynaklarının ürüne eklenmesidir. Bu nedenle bu çalışmanın amacı; nar ve portakal suyundan oluşan karışık meyve sularına kopigment madde olarak ilave edilecek çeşitli amino asitlerin (aspartik asit, prolin ve valin), yüksek sıcaklıklarda (90°, 105° ve 150°C) ve farklı sürelerde antosiyanin stabilitesi üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Uygulanan sıcaklıklar boyunca meyve suyunun renk yoğunluğu ve stabilitesi kopigmentasyon etkisi ile artırılarak, renk bozulmasının önlenmesi amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Ülkemizde Nar ve Portakal Üretimi

Ülkemiz, meyve suyuna işlenen meyve miktarı bakımından dünyada üst sıralarda yer almaktadır. Ülkemizde, tropik meyveler dışında meyve suyu ve nektarına işlenecek birçok meyvelerin üretilmesi nedeniyle, meyve suyu endüstrisi diğer gıda endüstrilerine göre çok daha gelişmiştir.

Ülkemizde meyve suyu ve nektarlarına işlenen meyvelerin başında vişne, elma, kayısı, şeftali, nar, portakal, üzüm ve gelmektedir.(Anonim 2011). Bu meyvelerden özellikle nara olan ilgi ve buna bağlı olarak artan talep son yıllarda bu meyvenin üretiminde de artışa neden olmuştur. TÜİK 2019 verilerine göre; 1988 yılında 1989 meyve veren ağaçtan 45,000 ton üretim yapılırken, 2018 yılında 13,574 meyve veren ağaçtan 537,847 ton nar üretimi yapılmıştır. Nar üretimi ile çeşitli kaynaklarda farklı üretim değerleri verilmektedir. Son üretim verilerine göre, ülkemiz bu üretim miktarıyla dünyada 8. sırada yer almıştır (Anonim 2019). Nar üretimine benzer şekilde, ülkemizde nar suyu üretimi de hızla artmaktadır. 2006 yılında, ülkemizde 46.6 bin ton nar meyve suyuna işlenirken, 2010 yılında ise, 78.7 bin ton nar işlenmiştir (Akdağ 2011).

Dünyada portakal, meyve suyu işlemede en çok tercih edilen turunçgildir. Son istatistiki verilere göre ülkemizde 1 milyon 900 bin ton üretilmektedir (TÜİK 2019). Dünyada en önemli portakal üreticisi 17 milyon ton ile Brezilya olup bunu Çin (7,8 milyon ton), Hindistan (7,3 milyon ton) ve ABD (6,1 milyon ton) takip etmektedir. Akdeniz havzasında en fazla üretimi İspanya 3,5 milyon ton ile gerçekleştirmektedir. Ülkemiz portakal üretiminde 1,9 milyon ton üretim ile 10. sırada yer almakta (TÜİK 2019) ve bu üretim miktarı ile dünya üretiminin %2.5'ini gerçekleştirmektedir (Anonim, 2017). Ülkemizde 2006 yılında 37,800 ton portakal meyve suyuna işlenirken, 2010 yılında bu rakam %42 oranında artarak 53,800 ton olmuştur (Akdağ 2011). Üretilen nar ve

portakalın önemli miktarı meyve suyuna işlendiği için, bu iki meyvenin de endüstriyel önemi bulunmaktadır.

2.2. Nar ve Portakalın Sağlık Açısından Önemi ve Kimyasal Yapıları

Nar, sahip olduğu yüksek antioksidan aktivite sayesinde özellikle kalp-damar hastalıkları ve kanser gibi kronik hastalıkları önleyici etkisi bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar narın bileşiminde bulunan ve antioksiadan aktivite gösteren polifenollerin (özellikle hidrolize olabilen tanenlerin elajitanen grubu ile antosiyaninler) damarlarda oluşan dejenerasyonu, prostat kanserini ve aynı zamanda kireçleme oluşumunu engellediği (Malik vd. 2005), hücreleri otooksidasyon sonucu oluşan serbest radikallere karşı koruduğu, kandaki glukoz seviyesini regüle edebildiği, hücreler arası koordinasyonundan sorumlu protein ve peptidlerin bir bölümünün oluşumunda rol aldığı ve kemik eklemine oluşan iltihabı engelleyebildiği (Coşkun 2006), Alzheimer ve kalp hastalıklarının iyileştirilmesinde olumlu etki gösterdiği ve birçok kanser rahatsızlıklarına karşı vücut direncini artırdığını (Singh vd. 2008) göstermiştir.

Nar meyvesinin %52'sini nar daneleri oluştururken, danelerin %78'i meyve eti, %22'si çekirdek; bileşim olarak ise %79'u su, %18'i karbonhidrat, %1.1'i protein ve %0.9'u yağdan oluşmaktadır (Turfan 2008). Nar suyu antosiyanin bakımından oldukça zengindir ve antosiyanin çeşidi olarak da en çok delfinidin, siyanidin ve pelargonidin 3-glukozitleri ve 3,5-diglukozitleri (Du vd. 1975) içerir. Sağlık açısından önemli olan bu bileşiklerin yanında bünyesinde 1 g/L sitrik asit içerir (El-Nemr vd. 1990). Nar, AA (7 mg/L) bakımından fakir bir üründür (El-Nemr vd. 1990). İçerdiği bu maddelerin yanında kalsiyum, magnezyum, potasyum gibi yaşamsal mineraller; folin, folat, K vitamini, gibi vücut için gerekli mineral ve vitaminler açısından da zengin bir üründür.

Portakalın da içinde bulunduğu turunçgiller taze olarak tüketimlerinin yanında işlenerek meyve suyu, marmelat ve reçel olarak da tüketilmekte ve aynı zamanda kozmetik

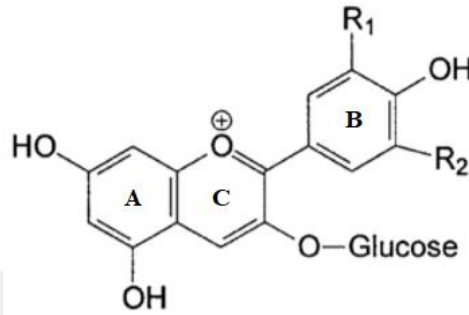
sanayinde de ham madde olarak kullanılmaktadır (Akgün, 2006). Portakalın meyve suyu veya taze olarak tercih edilmesinin nedeni, insan sağlığına olumlu etkisinin her geçen gün daha fazla anlaşılmasıdır. Bünyesinde bulunan AA (53.2 mg/100 g) güçlü bir indirgen madde olup (Packer ve Puchs 1997), serbest radikallerin ve vücuttaki kararsız oksijen moleküllerinin etkilerini yok eder; dokuların bağlantı noktalarında kollajen üretiminde rol alır, buna bağlı olarak da yaraların, kırıkların iyileşmesine yardımcı olur, eksikliğinde ise skorbüt hastalığına neden olduğu bilinmektedir (Packer ve Puchs 1997). Portakal hem düşük kalorisi ve doymuş yağ içeriği (0 g/100 g) hem de zengin lif içeriği (2.4 g/100 g) ile kilo kontrolüne yardımcı olurken, aynı zamanda lif içeriği toksik maddelerin vücuttan hızlıca uzaklaştırılmasını sağlayarak bağırsağı kanserden korur (Usman ve Davidson 2014). Yine içeriğindeki A vitamini (225 IU/100 g) ve B-kompleks vitaminleriyle (0.2 mg/100 g) kansere karşı koruma sağlar, potasyum ve kalsiyum gibi minerallerle de kalp hızını ve kan basıncını dengeleyip, vücuttaki sodyum seviyesinin artmasını engelleyerek kontrol altında tutar (Usman ve Davidson 2014).

2.3 Antosiyaninlerin Yapısı

Antosiyaninler; Yunanca'da anthos=çiçek ve kionos=mavi (Mazza ve Miniati 1993, Castañeda-Ovando vd. 2009, Cavalcanti vd.2011) anlamına gelen; suda çözünen, flavonoid olarak bilinen bitki bileşimlerinin en büyük ve yaygın gruplarından birisi olup (Mazza ve Miniati 1993, Clifford 2000), aynı zamanda birçok meyve, sebze ile çiçeklerin kırmızı, mor ve mavi renklerinden sorumlu renk maddeleridir (Glover ve Martin 2012). Antosiyaninler özellikle meyvelerde bulunmakla birlikte, aynı zamanda sebzelerde, köklerde, yumrulara, soğanlarda, baklagillerde ve tahıllarda da bulunmaktadır. Antosiyanin içeren bazı yaprak ve çiçekler dünyanın bazı bölgelerinde geleneksel gıda olarak tüketilmektedir (Bridle ve Timberlake 1997).

Antosiyaninler diğer flavonoid bileşiklerle aynı yapısal özelliklere sahiptir ve diğer flavonoidler gibi yapısal olarak C₆C₃C₆ biriminden oluşan karbon iskeleti ile karakterize edilirler (Geissman 1962). Bununla birlikte; diğer flavonoidlerden farklı olarak

antosiyeninler görünür bölgedeki ışığı güçlü bir şekilde absorbe eder ve böylece farklı birçok renkte görülürler (Brouillard 1982). Antosiyeninler 2-fenilbonzopirilyum ya da flavilyum tuzlarının polihidroksil ve polimetoksil türevlerinin glikozitleridir (Mazza ve Miniati 1993) (Şekil 2.1). Antosiyeninlerin esas bölümü aglikonu olup, pembeden-mora kadar olan renklerin nedeni de, yapısında konjuge çift bağları içeren flavilyum katyonudur (Rein 2005).

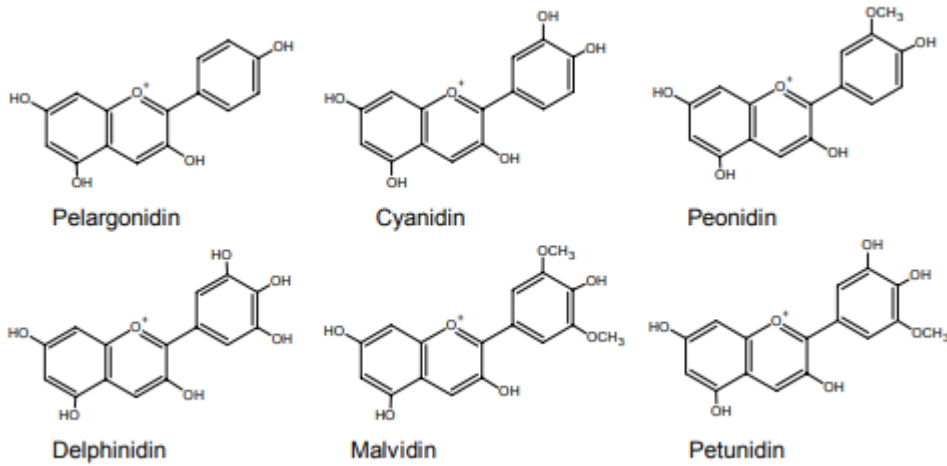


Şekil 2.1 Antosiyenin yapısı (Cavalcanti 2011)

Antosiyanidinler olarak da bilinen aglikon, doğada serbest olarak çok az bulunur ve genellikle şeker ve organik asitler antosiyanidinlere bağlanarak, antosiyaninleri oluştururlar. Antosiyaninler, antosiyanidinler göre suda çok daha iyi çözünürler. Flavilyum katyonunun R₁ ve R₂ pozisyonuna farklı hidroksil (-OH) ya da metoksil (-OCH₃) gruplarının bağlanmasıyla doğadaki en yaygın 6 antosiyanidin oluşur. Yapıdaki -OH ve -OCH₃ sayısı antosiyanidin rengini belirler. Çizelge 2.1'de bazı temel antosiyanidinlerin hangi meyve ve sebzelerde bulunduğu ve renkleri gösterilmiştir. Bu antosiyanidinlerin meyve ve sebzelerde dağılımı en yüksekten en düşüğe doğru şu şekilde sıralanmaktadır; siyanidin (%50), peonidin (%12), delfinidin (%12), pelargonidin (%12), petunidindir (%7), malvidin (%7) (Castañeda-Ovando vd. 2009) (Şekil 2.2). Çizelge 2.2'de ise; aglikona bağlanan farklı gruplar ve bu gruplara bağlı olarak antosiyaninin aldığı isimler verilmiştir.

Çizelge 2.1 Bazı temel antosiyanidinlerin meyve ve sebzelerde bulunma durumu ve renkleri (Wang vd. 1997)

Bileşik	Renk	Meyve ve sebze
Delfinidin	Mavimsi kırmızı	Konkord üzümü, yaban mersini, siyah frenk üzümü
Siyanidin	Turuncu kırmızı	Çilek, böğürtlen, siyah frenk üzümü, vişne, kırmızı lahana, yaban mersini, kızılçık, mürver, konkord üzümü, mısır, kuş üzümü, ahududu, kırmızı soğan
Pelargonidin	Turuncu	Çilek, mısır
Malvinidin	Mavimsi kırmızı	Üzüm, yaban mersini
Peonidin	Kırmızı	Vişne, kızılçık, tatlı patates, erik



Şekil 2.2 Doğada yaygın olarak bulunan antosiyanidinler (Rein 2005)

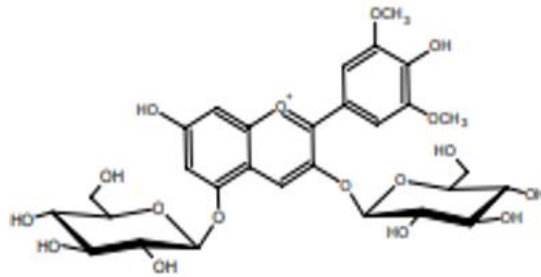
Yukarıda da bahsedildiği gibi, antosiyanidin molekülünün ikinci halkasındaki OH grubundaki hidrojen (H) yerine şeker bağlanırsa antosiyanin oluşur. Antosiyanin molekülüne en çok bağlanan şekerler; glukoz, galaktoz, ramnoz ve arabinozdur (Brouillard 1982, Clifford 2000). Bu monosakkaritler tek tek antosiyaninlere bağlanabilirken, aynı zamanda birden fazla şeker de antosiyaninlere bağlanarak, diglukozitler (örneğin, 6-O- α -L-ramnosil-D-glukozit ve 2-O- β -D-glukozil-D-glukozit) (Clifford 2000)] ve hatta triglukozitler oluşabilir (Brouillard 1982, Mazza ve Miniati 1993). Antosiyanidin glikozitlerinin en yaygın 4 grubu: 3-monozitler, 3-biyositler, 3,5-

diglikozitler ve 3,7-diglikozitler'dir (Mazza ve Miniati 1993). Antosiyaninler, aglikona bağlanan bu şekerlerin konumu ve adı dikkate alınarak adlandırılmaktadırlar (Clifford 2000).

Çizelge 2.2 Aglikona bağlanan değişken gruplar ve bu değişkenlere bağlı olarak antosiyaninin aldığı isimler (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-glukozit
OCH ₃	OCH ₃	Malvidin-3-glukozit

Malvidin antosiyanidinine 3 ve 5 pozisyonlarına bağlanan iki glukozdan oluşan malvidin 3,5-diglukozidin kimyasal yapısı Şekil 2.3'te gösterilmiştir. Antosiyanin molekülündeki OH gruplarının sayısı, bu OH gruplarının ne kadar metilasyon gerçekleştirdiği; moleküle bağlanan şekerlerin yapısı, sayısı, bağlanma yeri; moleküldeki şekerlere bağlanan alifatik ve aromatik asitlerin sayısı ve yapısı antosiyaninler arasındaki farklılığı belirlemektedir (Mazza ve Miniati 1993).



Şekil 2.3 Malvidin 3,5-diglukozit (Rein 2005)

Bazen antosiyanin molekülündeki şekerlere; ferulik, *p*-kumarik, kafeik ya da sinapik asitler ile *p*-hidroksibenzoik, malonik veya asetik asitler bağlanarak, açıl gruplarını oluşturmaktadır (Brouillard 1982). Bu organik asitler çoğunlukla antosiyanin molekülündeki C3 şekerine bağlansa da, bazen de şekerin 6-OH grubu veya daha düşük ihtimalle 4-OH grubuna da bağlanabilmektedir (Giusti ve Wrolstad 2003). Bu açillenme antosiyanin molekülünün satbilitesini artırmaktadır. Açıl grubu içeren antosiyaninler özellikle kırmızı lahana, kırmızı turp ve siyah havuçta yaygın olarak bulunmaktadır (Türkyılmaz 2009).

2.4 Nar Antosiyaninleri

Nar, yapısında yoğun antosiyanin içermekte ve çeşitten çeşide farklılık gösterse de narın temel antosiyaninleri; siyanidin, delfinidin ve pelargonidinin 3-glukozit ve 3,5-diglukozitleridir (Du vd. 1975).

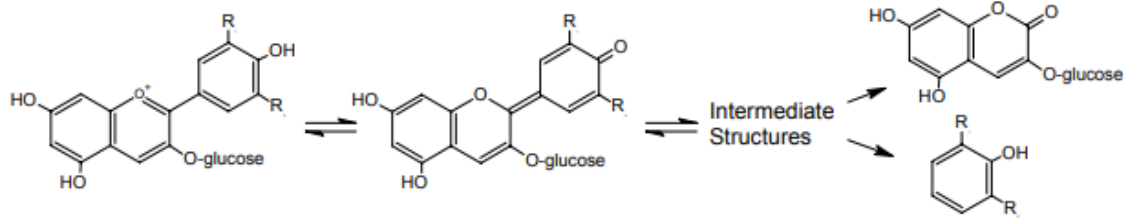
Ülkemizde en yaygın olarak yetiştirilen ve meyve suyuna işlenen nar çeşidi olan Hicaz nardaki toplam monomerik antosiyanin miktarı, 274 mg/L olarak hesaplanmıştır. Nar suyunda; 6 adet anyosiyanin bileşiği, 3 adet diglikozit ve 3 adet de glikozit yapısında olmak üzere belirlenmiştir. Toplam monomerik antosiyaninlerin önemli bir miktarını %41.6 ile siyanidin 3,5-diglikozit oluşturmuştur. Bu bileşiğin miktarı, 113.91 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu bileşiği çoktan aza doğru cy-3-glu (66.35 mg/L), delfinidin 3,5-diglikozit (57.06 mg/L), pelargonidin 3,5-diglikozit (25.23 mg/L), delfinidin 3-glikozit (6.61 mg/L) ve pelargonidin-3-glikozit (4.72 mg/L) izlemiştir (Kelebek ve Canbaş 2010). Diğer yandan 8 farklı İran çeşidinde yapılan bir çalışmada, başat antosiyanin delfinidin-3,5-diglikozit olarak belirlenmiştir (Legua vd. 2010). Benzer şekilde Harborne (1967) yaptığı çalışmada, narın başat antosiyaninini delfinidin 3,5-diglikozit olarak belirlemiştir. Martí vd. (2001) ise, Mollar çeşidi (İspanya çeşidi) narın başat antosiyaninini cy-3-glu olarak belirlemiştir. Yapılan bu çalışmalar, narın çeşidine göre, narın ve narlardan elde edilen nar sularının antosiyanin içeriklerinin değişebildiğini göstermektedir.

2.5 Antosiyaninlerin Stabilitelerini Etkileyen Faktörler

Antosiyaninler birçok faktörün etkisi ile kolayca parçalanabilmektedirler. Bu faktörlerin başında sıcaklık, oksijen ve pH gelmektedir (Rein 2005). Ayrıca antosiyaninler; enzimler, metal iyonları, AA, hidrojen peroksit ve ışık tarafından da parçalanabilmektedirler. Antosiyaninlerin stabilitesi üzerine, antosiyaninin yapısı ve konsantrasyonu da etkilidir. Antosiyaninler parçalandıklarında gerek kendilerine özgü renklerini gerekse de sağlık üzerine olan olumlu etkilerini kaybetmektedirler. Aşağıda antosiyaninlerin stabilitesine etki eden faktörler kısaca açıklanmıştır.

2.5.1 Sıcaklık

Özellikle meyve suyu üretiminde pastörizasyon ve depolama gibi sıcaklığın olduğu işlemler nedeniyle, sıcaklığın antosiyaninler üzerindeki etkisi son derece önemlidir. Antosiyaninler sıcaklığın etkisiyle renksiz hale gelirler. Renk bozulması ile sıcaklık arasında logaritmik bir ilişki vardır (Mescher 1953). Proses sıcaklığındaki her 10°C'lik artışın, antosiyaninlerin parçalanma hızını genel olarak 2 kat artırdığı belirtilmektedir (Cemeroğlu vd. 1994). Bununla birlikte, Turfan (2008) nar sularının depolanmasında, sıcaklığın 10°C artmasının, antosiyaninlerin parçalanma hızını 3.5 kat (yaklaşık) arttırdığını belirlemiştir (Turfan 2008). pH 2–4 arasında sıcaklık artışı; antosiyaninlerin glikozil kısımlarını kaybetmesine neden olmaktadır (Adams 1973). Glikozil kısmını kaybeden antosiyaninler daha az stabil olduğundan renk kaybı yaşanmaktadır (Rein 2005). Şekil 2.4'te, termal degradasyon sonucu oluşan kumarin-3-glukozitin reaksiyonu verilmiştir (Rein 2005).



Şekil 2.4 pH 3.7’de ısıtmayla hızlanan ve kumarin-3-glukozit oluşumuna neden olan reaksiyon (Rein 2005)

Sadilova vd. (2007) pH 3.5’te ve pH 1’de 95°C’de 6 saat ısıtılmış siyah havuç, mürver yemişi ve çilek ekstraktlarıyla yaptıkları çalışmada; ısıtmanın antosiyaninler üzerine etkisini belirlemişlerdir. En fazla asillenmiş antosiyanin içeren siyah havuç antosiyaninlerinin ısıtmaya karşı daha dayanıklı olduğu (en yüksek $t_{1/2}$ değeri) tespit edilmiştir. Isıtılmış mürver yemişi ve çilek ekstraktlarında ise, çalkon glikozitleri tespit edilmiştir. Asillenmiş antosiyaninler için asil-glikozit kısmı önce flavilyum molekülünden ayrılmış ve bütün ekstraktlar için, termal degradasyon ürünleri olarak fenolik asitler ve floroglukanaldehyt sırasıyla B ve A halkasının kalıntıları olarak belirlenmiştir.

Sıcaklığın antosiyaninler üzerine doğrudan etkisi dışında, dolaylı etkisi de bulunmaktadır. Gıdaya uygulanan ısıtma işlemlerinde doğrudan antosiyaninlerin parçalanmasının yanı sıra furfural ve hidrokümetil furfural (HMF) gibi karbohidratların parçalanma ürünleri de oluşur; bunlar da antosiyaninlerle tepkimeye girerek parçalanmalarına neden olurlar (Shenoy 2018).

2.5.2 Oksijen

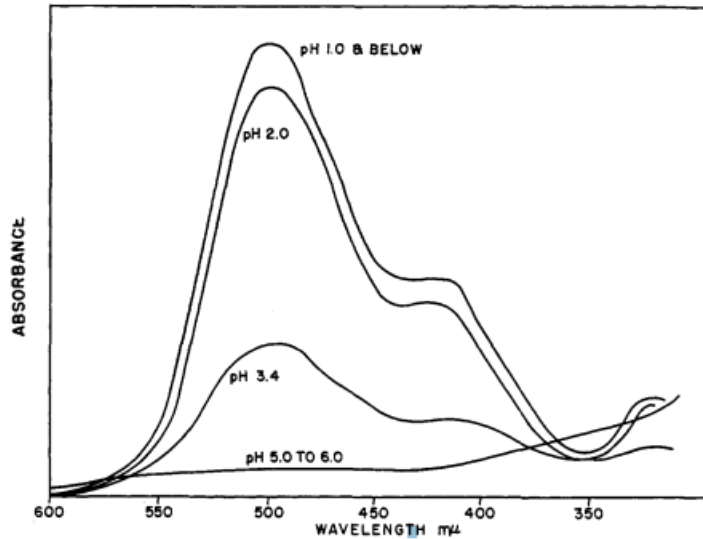
Oksijen antosiyanin stabilitesine olumsuz etki gösteren en önemli faktörlerden biridir. Antosiyaninlerin C halkasında bulunan doymamış yapıya oksijen etki ederek renksiz çalkon yapılarının oluşmasına neden olur. Antosiyaninlerin parçalanmasında, oksijen ve

sıcaklık birlikte diğer tüm faktörlere göre en büyük etkiyi göstermektedir (Rein 2005). Aynı zamanda oksijenin antosiyanin stabilitesini azaltmasında pH da etkilidir; yüksek pH'larda oksijen, antosiyaninlerin stabilitesini azaltmakta daha etkilidir (Markasis, 1982).

Oksijen doğrudan antosiyaninleri parçalayabildiği gibi oksijenin ortamda bulunan diğer maddeleri okside etmesiyle oluşan oksitlenmiş maddeler de antosiyaninlerle etkileşime girerek renksiz ve kahverengi bileşiklerin oluşumuna neden olabilir (Rein 2005). AA'nın okside olması sonucu oluşan DHA, H₂O₂ (hidrojen peroksit) gibi oksitlenmiş maddelerin antosiyaninleri etkilemesi bu duruma örnek olarak verilebilir.

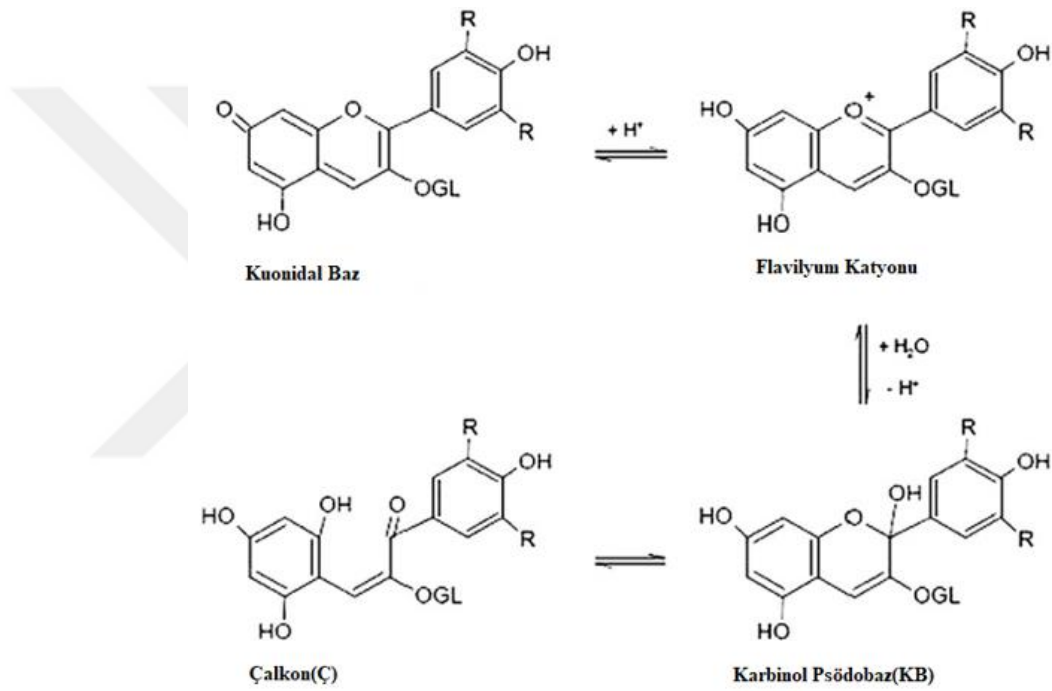
2.5.3 pH

Ortamın pH derecesi antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Antosiyaninler asidik ortamda, alkali ortama göre daha stabildir (Rein 2005). Asitliğin artması pigmentin stabilitesi üzerinde koruyucu etki göstermektedir (Şekil 2.5) (Meschter 1953).



Şekil 2.5 Değişen pH değerlerine göre antosiyanin konsantrasyonundaki değişim (Meschter 1953)

Denge halinde olan dört antosiyanin türü, ortam pH'sına bağlı olarak denge durumu renksiz karbinol psödobaz (KB) ve Ç formlarına doğru dönüşür (Bridle ve Timberlake 1997) (Şekil 2.6). Asidik koşullar altında ($\text{pH} < 2$) antosiyanin, flavilyum katyonu olarak kırmızı renkte bulunur ve pH değerinin artmasıyla hızlı bir şekilde yapısındaki protonu kaybedip mavi ya da mor renkteki kuonidal baza dönüşür. Flavilyum katyonunda hidrasyon sonucu ise, renksiz çalkon (Ç) ile dengeye ulaşan karbinol ya da psödobaz oluşur (Şekil 2.6) (Cavalcanti 2011).



Şekil 2.6 Antosiyanin türleri arasındaki denge (Cavalcanti vd. 2011)

2.5.4 Işık

Antosiyaninlerin biyosentezi için ışık elzem olmakla birlikte antosiyanin parçalanmasını hızlandırmaktadır (Markasis 1982, Bechtold ve Mussak 2009). Üzüm suyunda yapılan bir çalışmada karanlıkta bekletilen antosiyanin pigmentlerinin %30'nun, ışıkta bekletilenlerin ise %50'sine yakınının parçalandığı; en çok pigment kaybı ise floresan

ışıkta olduğu gözlemlenmiştir (Palamidis ve Markakis 1975). Yani karanlık ortamda, ışıklı ortama göre daha az antosiyanin parçalanmaktadır. Yapılan çalışmalar, şeker içeren ortamlarda, ışığın antosiyaninler üzerine olumsuz etkisinin arttığını göstermiştir (Amr ve Al-Tamimi 2007, Cavalcanti vd. 2011).

2.5.5 Enzimler

Enzimler, birçok reaksiyonun hızını artıran katalizörlerdir. Antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan başlıca enzimler; peroksidaz, polifenol oksidaz (PPO) enzimleridir (Kader vd. 1997). Antosiyaninler, ortamda bulunan diğer fenoliklerin oksidasyonu ile oluşan *O*-kinonlar ile reaksiyona girerek parçalanabilmektedirler. Yapılan çalışmalar PPO enziminin ılımlı bir ısıtma ile aktivitesini kaybettiğini göstermiştir (Patras vd. 2010). Bunun dışında, antosiyanidaz olarak da adlandırılan glukosidazlar da, antosiyaninlerin yapısındaki şeker ve aglikon arasındaki bağı parçalamaktadırlar. Parçalanma gerçekleştiğinde antosiyanidin (aglikon) tek başına kararsız bir şekilde kalır ve bunun sonucu önemli düzeyde renk kaybı gerçekleşir.

2.5.6 Metal iyonları

Antosiyaninler demir (Fe), kalay, bakır (C) ve aliminyum ile metal kompleksi oluşturarak stabilitelerini arttırabilirler (Markakis 1974). Bazı kompleksleri oluşturma yeteneğinin antosiyaninlerin B halkasındaki orto-dihidroksil düzenlenmesiyle ilişkili olduğu ve bu orto-dihidroksil yapı siyanidin, delfinidin ve petunidinin yapısında bulunurken, yani bu üç antosiyanidin metal-antosiyanin kompleksi oluştururken, glikozitleri oluşturabilirken; malvidin, pelargonidin ve peonidin ise, bu yapıyı içermediklerinden metallerle kompleks oluşturamamaktadır (Boulton 2001). Gıda endüstrisinde antosiyanin-metal kompleksleri, genel olarak istenmeyen bir durum olup, antosiyanin içeren gıdalara metal kontaminasyonun olduğu şeklinde

değerlendirilmektedir. Bunun yanında, sağlık açısından zararlı olmayacak düzeyde metal eklenerek antosiyaninlerin stabiliteyi artırılabilir (Castañeda-Ovando vd. 2009).

2.5.7 Antosiyanin yapısı ve konsantrasyonu

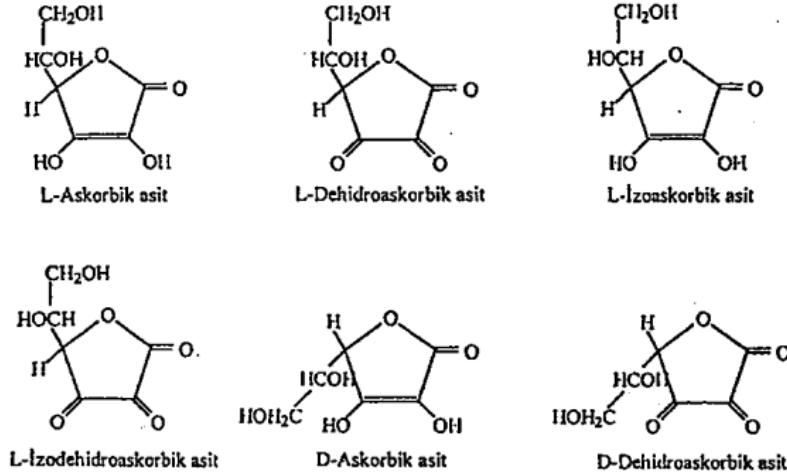
Antosiyaninlere bağlanan maddelerin çeşidi ve bu maddelerin bağlanma biçimleri, antosiyaninlerin stabiliteyi üzerine etkilidir. Hidroksilasyon derecesinin de antosiyanin stabilitesi üzerinde önemli etkisi olup, bu etki -OH gruplarının sayısı arttıkça stabilitenin azalması şeklindedir (Cavalcanti vd. 2011). -OCH₃ gruplarının artması ise stabiliteyi arttırmaktadır.

Ortamdaki antosiyaninlerin konsantrasyonu, hem stabilize hem de renk tonuna etki etmektedir etkilidir. Yüksek antosiyanin konsantrasyonu, bir yandan renk üzerinde koruyucu etki gösterirken (Giusti ve Wrolstad 2003) diğer yandan renk yoğunluğunu da arttırmaktadır. Bu etkilerin moleküller arası kopigmentasyon veya kendiliğinden birleşme yoluyla oluştuğu sanılmaktadır (Mazza ve Miniati 1993).

2.6 Askorbik Asit

AA ayrışabilir iki protonu bulunan hekzanoik şeker asididir (Pisoschi vd. 2014). Formülü C₆H₈O₆'dır. AA'daki 4 ve 5 asimetric karbon sayesinde dört adet izomeri oluşturabilir; D ve L enantiomerleri ve izoaskorbik asit bu şekilde oluşur. Doğal olarak oluşan askorbat ise L konfigürasyonuna sahiptir (Linskens ve Jackson 1987). AA'nın iki izomeri olan D-Askorbik asit ve L-izoaskorbik asit C vitamini aktivitesi göstermedikleri için şimdiye kadar ticari olarak ilgi görmemiştir (Schuler 1990). C vitamini (L-Askorbik asit) ise, γ - lakton yapısında olan AA'nın L enantiyomerini temsil eden, suda çözünen, antioksidan olan biyokimyasal ve işlevsel olarak aktif formudur (Pisoschi vd. 2014). C vitamininin enediol özelliği (lakton halka ile konjuge olan karbonil grubu) bu özelliği

sağlamaktadır (Kırca ve Cemeroğlu 2001). Eğer L-Askorbik asit okside olursa dehidroaskorbik asit (DHA) oluşur (Schuler 1990). AA hızlıca parçalanıp yeni bileşiklere dönüşebilmektedir. Şekil 2.7'de AA'nın çeşitli izomerleri gösterilmektedir.



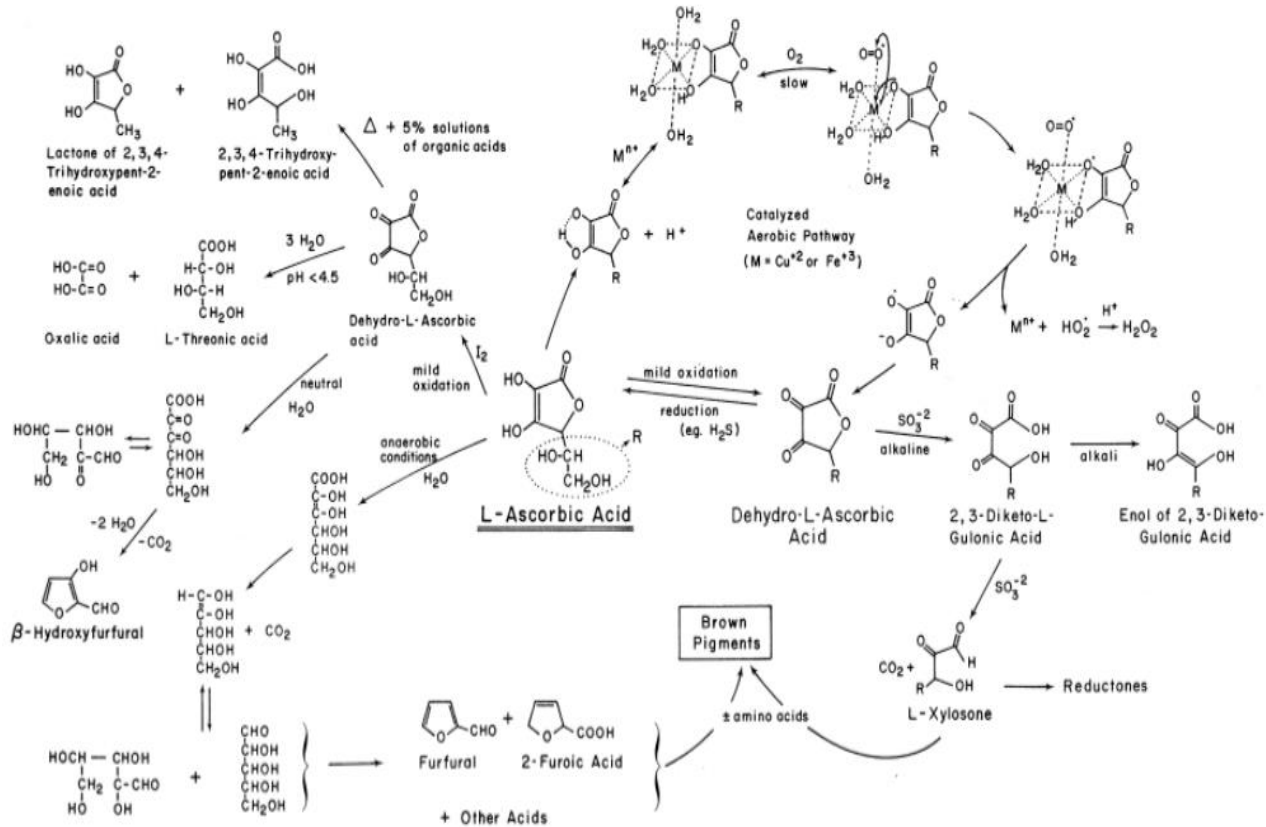
Şekil 2.7 AA'nın çeşitli izomerleri (Kırca ve Cemeroğlu 2001)

AA, oksijeni bağlayarak oksijenin diğer bileşikleri parçalamasını önlemektedir. Bu özelliği ile fenolik ve flavor bileşiklerini oksidasyona karşı koruduğundan dolayı gıdalarda antioksidan olarak kullanımı çok yaygındır (Pisoschi vd. 2014). Şarap üzerinde yapılan çalışmalar, AA'nın fenolik bileşiklerin oksidasyonunu doğrudan engellemesinden çok, antioksidan özelliği sayesinde şarapta oluşan moleküler oksijeni bağlamasından kaynaklandığını göstermiştir (Pisoschi vd. 2014).

AA'nın kendisi antosiyaninlerin stabilitesini azaltıp parçalanmasını hızlandırdığı gibi parçalanma ürünleri de bu etkileri göstermektedir. Burada parçalanma mekanizması ve parçalanma ürünleri açıklanacak olup bu ürünlerin antosiyanin stabilitesi üzerinde nasıl bir etkide bulunduğu tartışılacaktır.

2.6.1 AA'nın degradasyonu

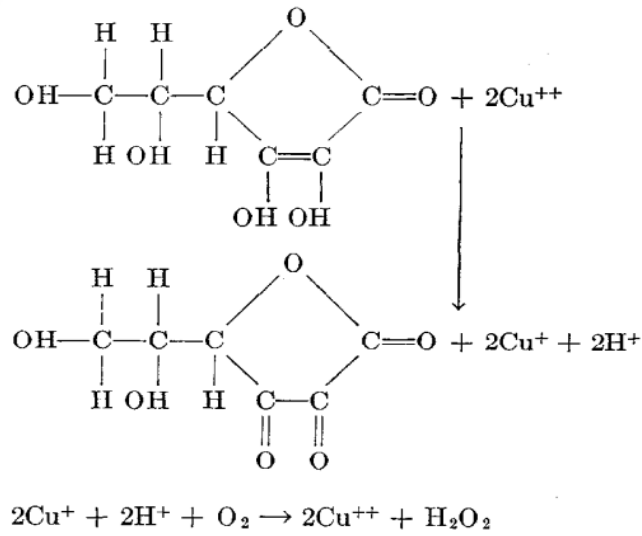
AA kararsız bir yapıda olması nedeniyle birçok faktörün etkisiyle hızla parçalanmaktadır. Parçalanma aerobik degradasyon, anaerobik degradasyon ve enzimatik degradasyon olmak üzere 3 farklı şekilde meydana gelmektedir. Aerobik ve asit koşullarda AA, DHA'ya okside olur ve DHA'nın hidrolize olmasıyla 2,3-diketo-L-gulonik asit oluşur (Deutsch 1998). Daha sonra, halkanın kırılması ve su molekülünün eklenmesiyle de DHA'nın delaktonize formu oluşur (Yuan ve Chen 1998). Daha ileri aşamalarda ise, furfural oluşur. Furfural hem amino asitlerle reaksiyona girerek enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarına katılmakta, hem de polimerize olarak esmer bileşikler oluşturabilmektedir (Cemeroğlu ve Acar 1986) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8 AA'nın parçalanma mekanizması (Bauernfeind ve Pinkert 1970)

Furfural gibi hidroksimetilfurfural (HMF) da AA'nın parçalanma ürünlerinden birisidir (Eskin 1990). HMF oluşumunun bazı araştırmalarda sıfırıncı derece, bazılarında birinci derece, bazılarında ise ikinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleştiği belirlenmiştir (Burdurlu vd. 2006).

DHA'da AA gibi vitamin özelliği gösterir (Kırca ve Cemeroğlu 2001, Mercali vd. 2014). AA'nın DHA'ya dönüşüm reaksiyonu geri dönüşümlüdür. Ancak; DHA, AA'ya sadece pH 6.5'in altındayken tekrar dönüşebilir; bu pH'nın üzerinde DHA vitamin aktivitesini kaybeder. Bununla birlikte; DHA'nın hidrolize olması geri dönüşümsüzdür ve bu reaksiyon sonucu vitamin aktivitesini kaybeder (Udenfriend vd. 1952). AA'nın DHA'ya dönüşümünde H kaybı olursa hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşur. Bu reaksiyon Şekil 2.9'da gösterilmiştir. Cu⁺² ve Fe⁺³ gibi metaller katalizörlüğünde gerçekleşen bu reaksiyon çok az miktarda metalle bile çok fazla hızlanmaktadır. Ayrıca; Fe⁺³, Cu⁺²'a göre oksidasyona karşı daha reaktiftir (Khan ve Martell 1967).



Şekil 2.9 H₂O₂ oluşumu (Udenfriend vd. 1952)

H₂O₂, oksijen gibi davranarak nitrojen atmosferinde AA'yı degrade edebilir. H₂O₂, çok aktiftir ve hemen reaksiyona girerek asıl hidroksilasyon reaksiyonuna girecek maddeleri

oluşturur (Udenfriend vd. 1952). Bu nedenle H_2O_2 'in ortamda fazla olması AA degradasyonunu hızlandırır (Özkan vd. 2004).

Aerobik koşullardan farklı olarak anaerobik koşullarda; DHA önemli miktarda oluşmaz. Onun yerine halkanın kırılıp su molekülünün eklenmesiyle AA degrade olur ve dekarboksilasyon ve moleküller arası yeniden düzenlenme ve dehidrasyonla furfural meydana gelir (Yuan ve Chen 1998) (Şekil 2.9). Ara ürün olarak ksilozon, 3-deoksipentozan, fuankarboksilik asit oluşur; bu bileşikler de amino asitlerle reaksiyona girerek esmer renkli bileşikler oluştururlar (Kırca ve Cemeroğlu 2001). Aerobik koşullarla başlayan AA'nın parçalanma süreci oksijenin bitmesiyle, çoğu zaman depolama sırasında anaerobik koşullarda devam eder. Enzimatik yolla AA'nın parçalanması başta AA oksidaz, daha sonra sitokrom oksidaz peroksidaz ve fenol oksidaz gibi enzimler tarafından katalize edilmektedir (Kırca ve Cemeroğlu 2001).

AA'nın degradasyonunu; sıcaklık, su aktivitesi (a_w), pH ve ışık gibi fiziksel faktörler yanında oksijen, fenolik bileşikler, şekerler, metal iyonları ve sülfidler gibi kimyasal faktörler de etkilemektedir. Gerek proses gerekse depolama sıcaklığının artmasıyla AA degradasyonu hızlanmaktadır (Udenfriend vd. 1952, Martí vd. 2001, Choi vd. 2002, Talcott 2003, Sadilova vd. 2009). AA stabilitesi genel olarak sıcaklığın azalmasıyla artsa da, yapılan çalışmalar dondurularak depolanan gıdalarda bile AA kaybının meydana geldiğini göstermiştir (Hui 2006). Sıcaklığın etkisine benzer şekilde; a_w arttıkça da AA parçalanma hızı artmaktadır. Bu artışın nedeni; sulu fazın seyreltilmesiyle viskozitenin azalması ve böylece reaktantların hareket edebilirliklerinin artması (mobilitenin artması) olduğu iddia edilmektedir (Kırca ve Cemeroğlu 2001).

Işığın AA degradasyonuna çok büyük bir etkisi bulunmamaktadır. Oksijen varlığının AA degradasyonu üzerindeki etkisi ise, daha çok diğer faktörlere bağlıdır. Bilindiği gibi AA hem aerobik hem de anaerobik ortamda degrade olabilmektedir. pH derecesi de, AA degradasyonunu etkileyen faktörlerden birisidir. Huelin (1953) geniş bir pH aralığında AA degradasyonunu incelemiş, en hızlı degradasyonun pH 3–4 arasında

olduğunu belirlemiştir. Ayrıca AA'nın anaerobik parçalanma ürünleri olan CO₂ miktarının pH üzerine sınırlı bir etkisinin olduğu, furfuralın oluşumun ise, pH'nın artmasıyla birlikte azaldığını, pH 5–6'da furfural oluşumunun ihmal edilebilecek düzeye indiğini saptamıştır (Kırca ve Cemeroglu 2001).

Sıcaklık, ışık ve pH derecesi gibi çevresel faktörler dışında; gıdanın bileşimi de AA parçalanması üzerinde önemli etkiye sahiptir. Fenolik bileşiklerin alt gruplarından olan flavonoller metal iyonlarıyla çelat yapma yeteneğindedirler (Özkan vd. 2004). Bu nedenle; flavonoller metal iyonlarının AA'yı parçalanması üzerindeki olumsuz etkisini önleyerek, AA'yı stabilize edici bir özelliğe sahiptir (Kırca ve Cemeroglu 2001). Fenolik maddeler gibi, şekerlerin AA degradasyonuna etkisi şeker çeşidine ve sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, glukoz, sakaroz ve sorbitol düşük sıcaklıklarda (23°, 33° ve 45°C) AA'yı parçalanmaktan korurken, yüksek sıcaklıklarda (70°, 80° ve 90°C) aktif karbonlarıyla AA parçalanmasını hızlandırmaktadır (Hui 2006). Sülfidler ise; AA'nın enzimatik olmayan yolla esmerleşmesini önleyen en önemli bileşiklerdendir (Hui 2006). Meyve sularına eklenen SO₂, Cu iyonları varlığında AA oksidasyonu ile oluşan H₂O₂'i azaltarak dolaylı yoldan AA'yı oksidasyona karşı korumaktadır (Kırca ve Cemeroglu 2001). Ancak, bilindiği üzere, meyve sularına sülfid eklenmesi yasaklanmıştır. Sülfidler ise; AA'nın enzimatik olmayan yolla esmerleşmesini önleyen en önemli bileşiklerdendir (Hui 2006).

2.6.2 AA'nın parçalanma ürünleri

Nötr ve asit çözeltilerde AA'nın degradasyon ürünleri çoğunlukla furan ve türevleridir. Aerobik degradasyonla DHA, 2,3-diketo-L-gulonik asit ve bu maddenin oksidasyonu ile oksalik asit oluşur. H₂O₂ ise; AA'nın DHA'ya okside olması sonucu oluşur. Anaerobik degradasyonla furan, ksilozon, 3- deoksipentozan meydana gelir. Furfural ve HMF hem aerobik hem de anaerobik degradasyonla oluşan bileşiklerdendir.

2.7 AA'nın Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Etkisi

Bu bölümde AA ve parçalanma ürünlerinden bazılarının antosiyaninler üzerine nasıl etki ettiği açıklanmıştır.

2.7.1 AA ve DHA

AA'nın antosiyanin parçalanma hızını artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Meschter 1953, Martı' vd. 2002, Choi vd. 2002, Talcott vd. 2003, Sadilova vd. 2009, Leong vd. 2017). Sondheimer ve Kertesz (1952)'e göre en fazla antosiyanin kaybı, AA oksidasyonuna en uygun koşullarda gerçekleşmektedir. Parçalanmamış AA varlığında, antosiyanin kaybının önemli düzeyde olmadığı ortaya konulmuştur (Rababah vd. 2005). Bu durum; antosiyanin kaybı üzerine AA'nın kendisinden çok, AA'nın oksidasyonu sonucunda oluşan ürünlerin neden olduğunu göstermektedir (Jackman vd. 1987). Antosiyanin ve AA arasındaki reaksiyon çoğunlukla oksijen varlığında gerçekleşse de (Markasis vd. 1957, Starr ve Francis 1968), oksijensiz ortamda (Markasis vd. 1957) da gerçekleşebilmektedir. Bununla birlikte antosiyanin degradasyonunda oksijen ve AA'in birlikte bulunmasının sinerjik etki yaptığı gösterilmiştir (Starr ve Francis 1968). AA'in parçalanması sonucunda oluşan H₂O₂ ve DHA gibi renksiz ve stabilitesi düşük olan ürünler antosiyaninler ile reaksiyona girerek, antosiyaninlerin rengini kaybetmesine neden olmaktadır (Poei- Langston ve Wrolstad 1981).

Sıcaklık, AA ve antosiyaninler arasındaki tepkimeyi etkilemektedir. Sıcaklığın artmasıyla antosiyaninler hızla parçalanmaktadır. Sıcaklığın artışı ile renkli antosiyanin renksiz Ç formuna dönüşmektedir (Jackman ve Smith 1996). Martı vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada; AA eklenen nar suyunda, antosiyaninlerin yüksek sıcaklıkta daha hızlı parçalandığı, buna karşın düşük sıcaklıkta antosiyaninlerin daha stabil olduğu ortaya konulmuştur.

+4°C'de depolanan meyve suyuna eklenen AA'nın, antosiyanin kaybına etkisinin çok önemli düzeyde olmadığı gözlenmiştir (Choi vd. 2002). Bazı araştırmacılar AA'nın düşük sıcaklıklarda antosiyanini parçalamak yerine, onu stabilize ettiğini ileri sürmektedirler (Jackman vd. 1987). Bu konuda yapılan bir araştırmada, AA'in antosiyaninlerin rengine önemli bir etkisinin olmadığı, sadece eklendiği ilk aşamada rengin biraz koyulaştığı gözlemlenmiştir (Sistrunk ve Cash 1970).

Ortamda bulunan eser miktarda Fe ve Cu'nun AA parçalanmasına neden sebep olduğu bilinmemektedir (Rababah vd. 2005). Buna benzer şekilde, Shrikhande ve Francis (1974) antosiyaninlerin de AA degradasyonunda gerçekleşen zincir reaksiyonlarında Cu iyonları gibi (Silverblatt vd. 1943) davranarak, antosiyaninleri parçalayabileceğini ileri sürmüştür (Jackman vd. 1987).

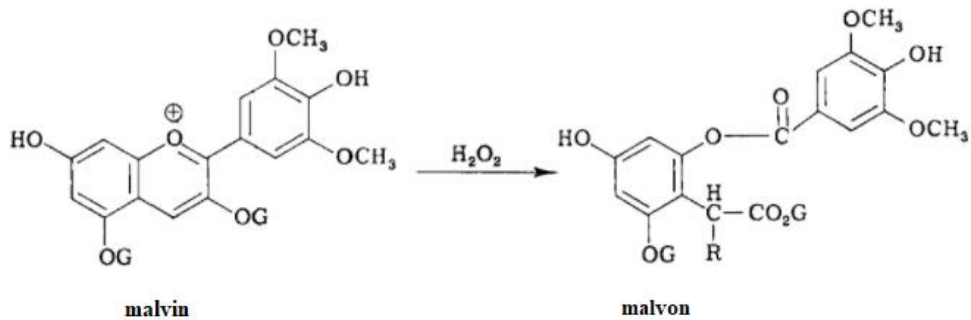
AA'nın DHA'ya dönüşümünde H kaybı olduğunda, H₂O₂ oluşacağına daha önce değinilmişti. Bu yüzden reaksiyonun AA ile mi yoksa DHA ile mi başladığı çok önemlidir. Sondheimer ve Kertesz (1952) çilek sularında yaptıkları bir çalışmada, AA'nın DHA'ya okside olurken oluşan H₂O₂'nin çilek suyundaki başat antosiyanin olan pelargonidin 3-monoglukozidin parçalanmasında rol alabileceğini ortaya koymuşlardır. Farklı miktarlarda AA ve DHA eklenen çilek sularında renk kaybı incelendiğinde; AA eklenen örneklerde renk kaybının, DHA eklenen örneklere göre daha fazla olduğu görülmüştür.

Flavonoller, AA ve antosiyaninlerin karşılıklı parçalanma reaksiyonlarını engelleyici etki gösterir. Bu etki flavonollerin antioksidan aktivitesi ve kopigment olarak davranma yeteneğiyle açıklanmaktadır. Flavonoid bileşikler ve antosiyaninler arasındaki zayıf etkileşim (kopigmentasyon), AA ve antosiyanin kompleksinin oluşumunu engellemekte ya da engelleyemese de en azından yavaşlatmaktadır. Bu sayede hem pigment hem de AA stabilizasyonu sağlanmaktadır (Jackman vd. 1987).

2.7.2 H₂O₂

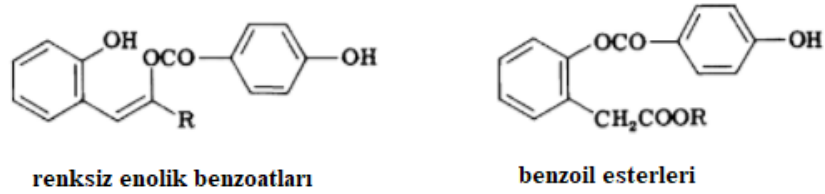
H₂O₂, antosiyaninlerin stabilitesini azaltan diğerk bir maddedir. Bunun başlıca nedeni, flavilyum tuzlarının elektron eksikliğinden dolayı peroksitlerin etkisine çok açık olmasıdır (Jurd 1972). Sondheimer ve Kertesz (1952), AA'nın aerobik degradasyonu sonucu oluşan H₂O₂ varlığında antosiyaninleri hızla parçalandığını ortaya koymuşlardır. H₂O₂'in antosiyanin stabilitesine etkisi antosiyanin kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Nitekim; vişne, nar ve çilek antosiyaninlerinin H₂O₂ etkisine karşı stabiliteilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, vişne antosiyaninleri en stabil bulunurken, bunu nar ve çilek antosiyaninleri izlemiştir (Özkan vd. 2002).

H₂O₂'in antosiyaninlerle reaksiyonunda renksiz bileşikler oluşmaktadır. Buna örnek olarak, renkli malvinin, renksiz malvona dönüşmesi verilebilir (Karrer ve Meuron 1932) (Şekil 2.10). H₂O₂ içeren sulu çözeltide malvidin-3,5-diğlukozidin heterosiklik halkasına H₂O₂'in nükleofilik etkisi antosiyaninin 2 ve 3 pozisyonlarının arasında kırılma şeklinde gerçekleşmektedir (Hrazdina, 1970). Bunun sonucunda; trihidroksimadelik asidin esterleri ya da malvonun *o*-benzoiloksifenil asetik asit formu oluşmaktadır (Jackman vd. 1987). Bu reaksiyon pH 1–3 arasında gerçekleşmektedir.

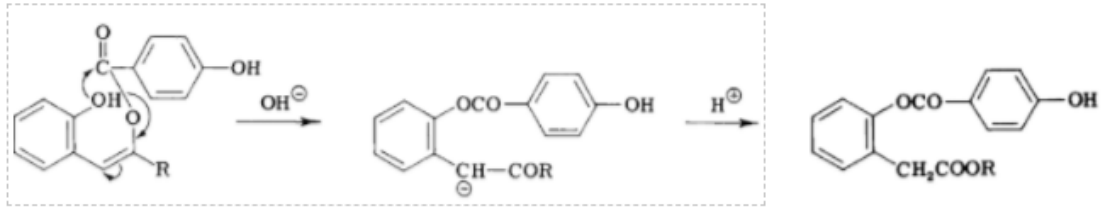


Şekil 2.10 H₂O₂ katalizörlüğünde malvinin malvona dönüşümü (R=H ya da -OH, bilinmeyen) (Pridham 1965)

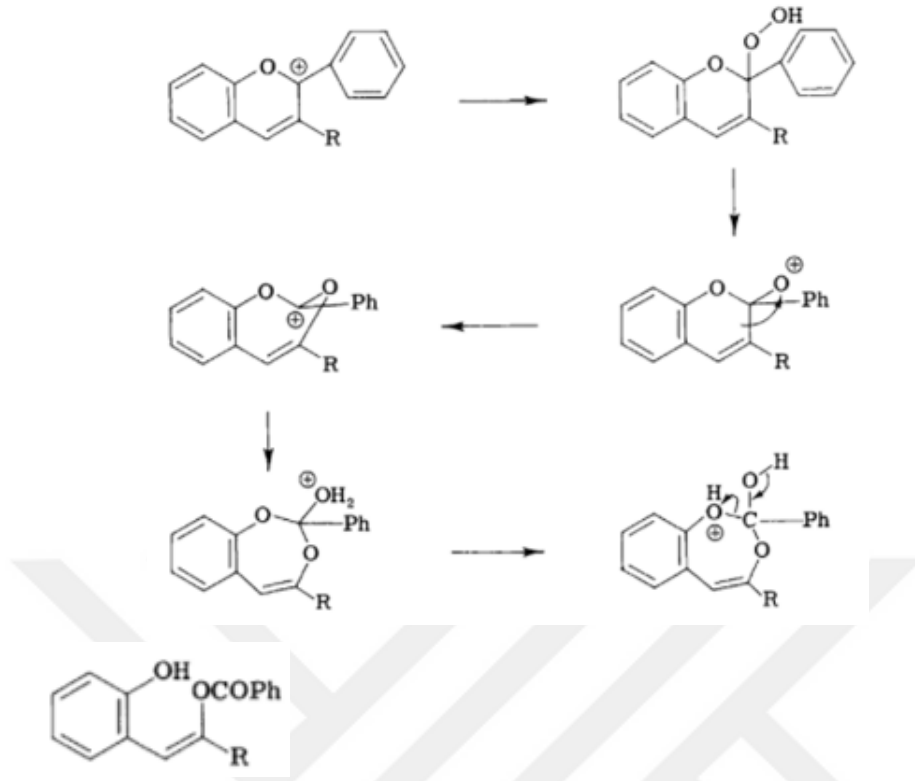
Malvinin malvona dönüşümü dışında, 3-süstitüe (bağlı) flavilyum tuzları renksiz enolik benzoatlara ve malvona benzeyen benzoil esterlerine okside de olabilmektedir (Jurd 1972). Şekil 2.11'de bu bileşiklerin kimyasal yapıları verilmiştir. Ayrıca Şekil 2.12'de enolik benzoatlardan benzoil esterleri oluşumu da gösterilmektedir. Flavilyum tuzlarının enolik benzoatlara oksidasyonunun Baeyer-Villiger Mekanizması (Şekil 2.13) ile gerçekleştiği, bu mekanizmayla birlikte B halkasının kaybolmasıyla kumarin (kumarin-3,5-diglukozit gibi, Şekil 2.14) oluştuğu bildirilmiştir.



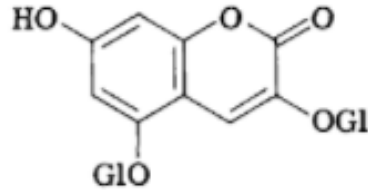
Şekil 2.11 Flavilyum tuzlarının oksidasyon ürünleri (Jurd 1972)



Şekil 2.12 Enolik benzoatlardan benzoil esterleri oluşumu (Jurd 1972)

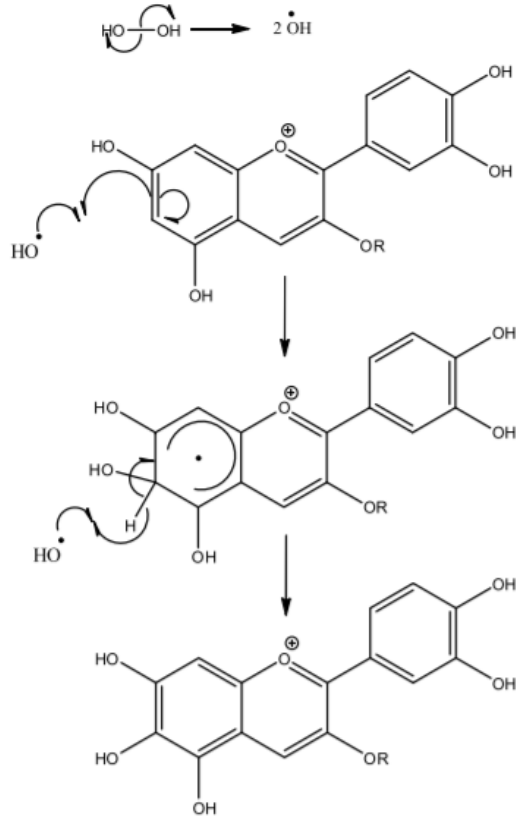


Şekil 2.13 Baeyer- Villiger mekanizması (Jurd 1972)



Şekil 2.14 Kumarin 3, 5- diglukozit (Jurd 1972)

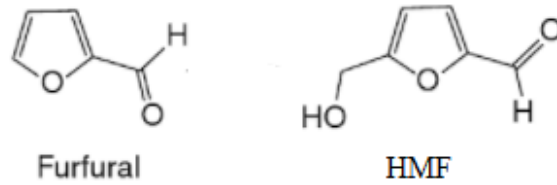
Jurd (1972)'un önerdiği reaksiyon mekanizmasında, halkanın kırılması renk kaybına neden olurken; son ürün olarak da pentavalent (5 değerli) karbon oluşmaktadır. Bu reaksiyona karşı, Stebbins vd. (2016) siyanidin-3-O- β -glukozit (cy-3-glu) ve AA ile yaptıkları bir çalışmada yeni bir mekanizma önermiştir. Bu mekanizmada Fe veya Cu ile katalizlenen reaksiyonda oluşan H_2O_2 'in parçalanma ürünü olan hidroksi radikali (OH^*), cy-3-glu'in orto konumunda olan C-6 pozisyonuna etki edip; “Bileşik 1” adını verdikleri maddeyi oluşturmaktadır (Şekil 2.15). Bu maddenin de antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan *o*-kinonların oluşumunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Von Elbe ve Schwartz 1996).



Şekil 2.15 H_2O_2 ile cy-3-glu tepkimesinin mekanizması (Stebbins vd. 2016)

2.7.3 Furfural ve HMF

Daha önce de değinildiği üzere, furfural ve HMF, AA degradasyon ürünlerindedir. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları, Şekil 2.16'da verilmiştir.

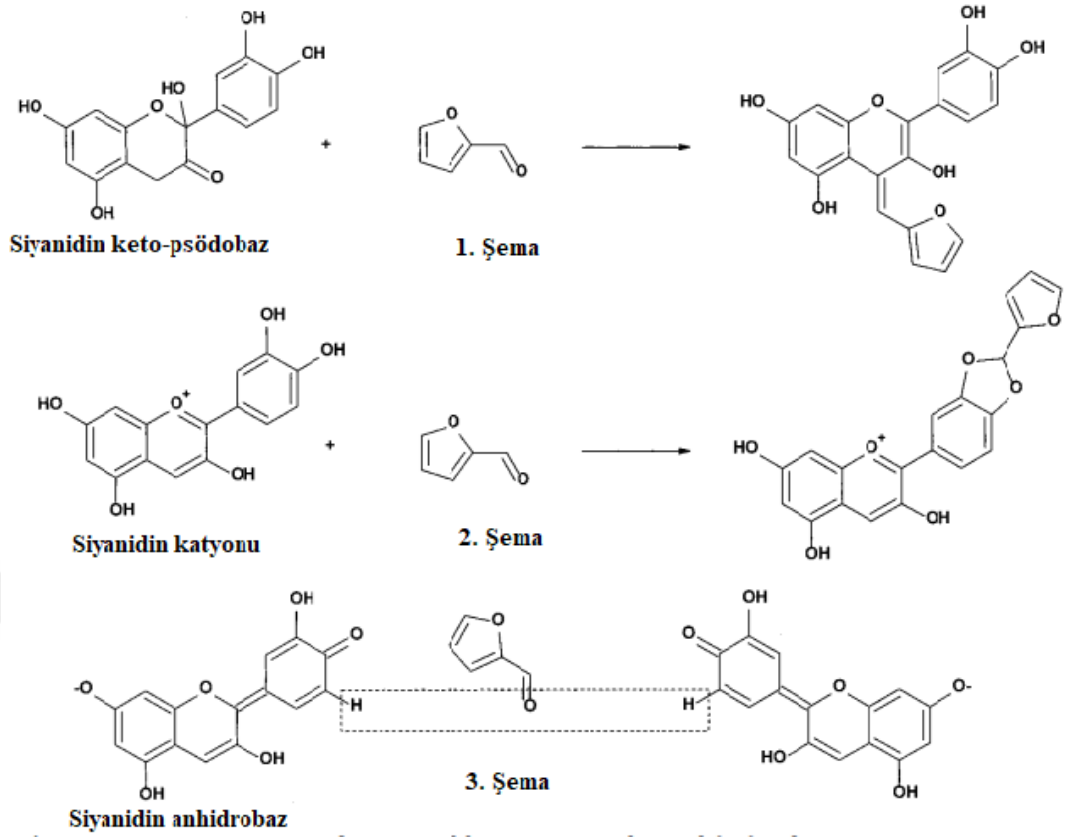


Şekil 2.16 Furfural ve HMF'nin kimyasal yapıları (Clark ve Deswarte 2015)

Furfural ve HMF, antosiyaninlerle reaksiyona girip, antosiyaninlerin farklı yollarla parçalanmalarına neden olmaktadır. Sıcaklığı artmasıyla, bu bileşiklerin oluşumu da arttırmaktadır. Narenciye suyu ekstaktlarıyla yapılan bir çalışmada, depolama sırasında AA kaybıyla HMF oluşumu arasında önemli bir korelasyon (0.780-0.967) saptanmıştır ($p < 0.05$) (Burdurlu vd. 2006). Yine aynı çalışmada, depolama sıcaklığının artmasıyla AA miktarının azaldığı, HMF miktarının ise, arttığı gözlemlenmiştir.

Meschter (1953) tarafından çilek sularında yapılan bir çalışmada, furfural ve HMF'nin her ikisinin de antosiyanin kaybına neden olduğu, ancak; bu etkinin yüksek miktarda (1200 mg/kg furfural ve 1200 mg/kg HMF) furfural ve HMF eklenmesi durumunda gerçekleştiği ortaya konulmuştur. Bunu da; furfural ve HMF'nin çileklerde bulunan ve AA gibi antosiyaninlerin stabilitesini azaltan maddelere oranla düşük miktarda bulunmasına bağlamıştır. Bu iki maddenin etkisi kıyaslandığında ise, furfuralın HMF'ye göre daha az miktarlarda daha çok antosiyanin kaybına neden olduğu belirlenmiştir.

Furfural ve HMF'nin antosiyaninlerle reaksiyonu sonucunda koyu kahverengi bileşikler oluşmaktadır (Es-Safi vd. 2000). Es-Safi vd. (2000), furfural ya da HMF ve antosiyaninler arasında çeşitli kondensasyon mekanizmalarının önerildiğini ve bunlardan birinin de Tinsley ve Bockian (1960) tarafından önerilen bir mekanizma olduğunu bildirmiştir. Şekil 2.17'de yer alan şema 1'de siyanidin keto-psödobaz ile furfuralın önerilen kondenzasyon reaksiyonu gösterilmektedir. Aynı zamanda araştırmacıların önerdikleri başka bir mekanizma olan antosiyaninin B halkasının iki -OH grubuyla tepkimeye giren furfuralın reaksiyonu da, şema 2'de (Şekil 2.17) gösterilmektedir. Önerilen diğer bir mekanizma olan iki siyanidin anhidrobaz ile reaksiyona giren furfural da şema 3'te (Şekil 2.17) gösterilmektedir.



Şekil 2.17 Cy ve furfural arasındaki kondensasyon reaksiyonları (Tinsley ve Bockian 1960)

2.8 Kopigmentasyon

Antosiyaninler, kopigment olarak adlandırılan maddelerle kopigmentasyon reaksiyonuna girerek daha stabil bir yapıya kavuşurlar. Böylece; sıcaklık, pH, AA gibi stabilitelelerini azaltan faktörlere karşı daha stabil hale gelirler. Kopigmentasyon reaksiyonu, kopigment özelliği gösteren madde ile antosiyaninin arasında oluşan etkileşim sonucu gerçekleşmektedir. Kopigment olarak davranan başlıca moleküller; flavonoidler, polifenoller, amino asitler, organik asitler ve antosiyaninlerin kendisidir (Mazza ve Miniati 1993). Kopigmentin asıl görevi, flavilyum katyonu ile renksiz kuonidal baz (KB) arasındaki hidrasyon reaksiyonunu kontrol etmektir (Mazza ve Miniati 1993).

Kopigmentler çoğunlukla kendi başına renksizdir; fakat antosiyanin bulunan ortamlara eklendiklerinde; antosiyanin stabilitesini ve renk yoğunluğunu arttırırlar (Kırca, 2004). Renk yoğunluğunun artması, hiperkromik etkiyi (ΔA) (aynı zamanda A_{maks} değerindeki değişimi ifade eder) ve antosiyaninlerin görünür bölgedeki maksimum dalga boyunun (λ_{maks}) değişimi olarak açıklanan batokromik etki (mavileşme etkisi) ile ölçülmektedir (Rein 2005).

Kopigmentasyon etkileşimi dört farklı yolla gerçekleşebilir. İlk olarak, eğer kopigment diğer bir antosiyaninse kendiliğinden birleşme ya da molekül içi etkileşim oluşur. İkinci olarak, etkileşim metal ile olduğunda kompleks oluşur. Üçüncü olarak, kopigmentin serbest elektron çiftiyle bulunması durumunda moleküller arası etkileşim oluşur. Son olarak da, en kompleks durum olan aglikon, şeker, kopigment ve protonlarla kopigmentasyon oluşur (Castañeda-Ovando vd. 2009). Aşağıda, kopigment olarak davranan moleküllerin etki mekanizmaları açıklanmıştır.

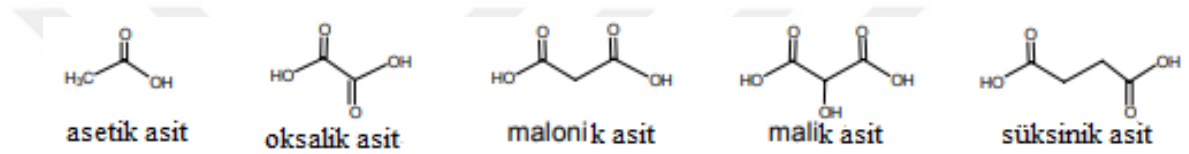
2.8.1 Antosiyaninler

Antosiyaninler kendi aralarında etkileşime girerek daha stabil yapılar oluşturabilirler. Burada antosiyanin molekülü bir kopigment gibi davranmaktadır. Asen vd. (1972) yaptıkları bir çalışmada, antosiyanin konsantrasyonunu 10^{-4} 'ten 10^{-2} 'ye artırarak renk yoğunluğunda 300 kat artış gözlemlemişler ve böylece kopigmentasyonun gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır (Rein 2005). Antosiyaninlerin kendiliğinden birleşmesi, yani antosiyaninlerin kopigmentasyonu şarapların olgunlaşmasında da oluşmakta ve kopigmentasyonun olgunlaşmış şarabın rengine katkıda bulunduğu öne sürülmektedir (Bechtold ve Mussak 2009).

Antosiyaninler molekül içi kopigmentasyonla da daha stabil bir yapıya kavuşabilmektedirler. Bu reaksiyon, antosiyaninin flavilyum katyonu ile kuonidal baz formu arasındaki etkileşim ile oluşur (Asen vd. 1972). Burada önemli olan antosiyaninin yapısıdır. Örneğin, antosiyaninin glikozilasyon derecesinin artmasının kopigmentasyon etkisini arttırdığı belirtilmiştir (Mazza ve Brouillard 1990).

2.8.2 Organik asitler

Organik asitler yapısında karboksil (-COOH) grubu taşıyan organik bileşiklerdir. Meyve ve sebzelerin yapısında yaygın olarak bulunurlar. Çoğu mikroorganizmanın gelişimini engellemesi nedeniyle, organik asitler gıdalarda koruyucu olarak kullanılmaktadırlar (Theron ve Lues 2010). Bu özelliğinin yanında, organik asitler antosiyaninlerle kopigmentasyon etkileşimine girip antosiyaninlerin stabilitesini arttırmırlar. Şekil 2.18'de kopigmentasyona katılan önemli organik asitler verilmiştir.



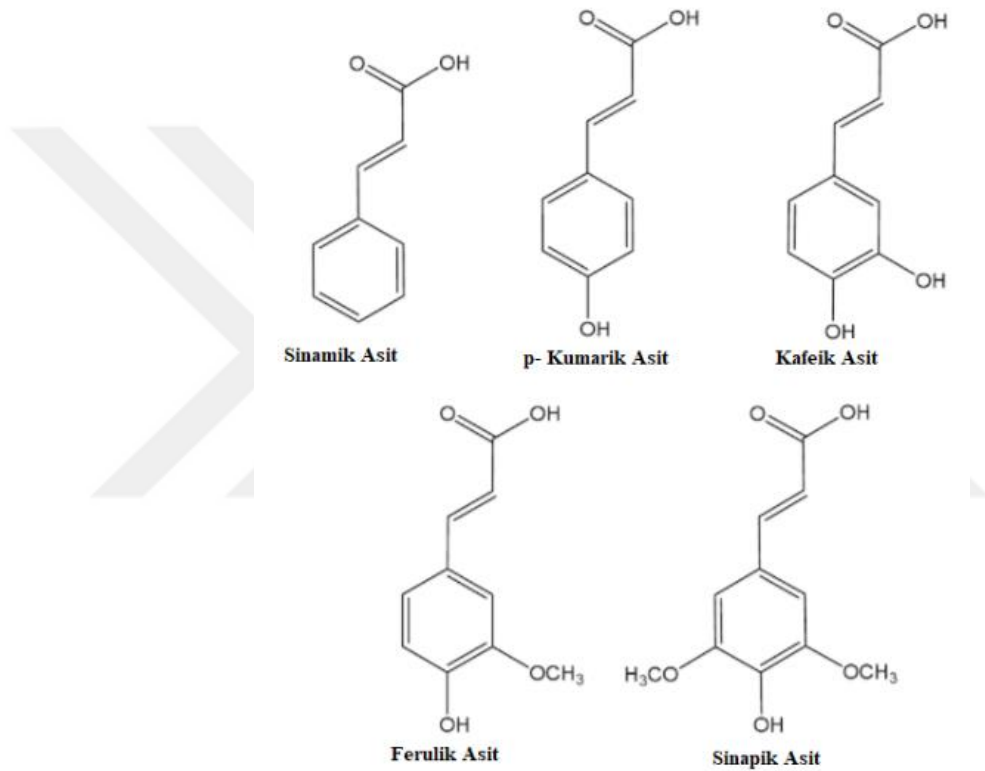
Şekil 2.18 Kopigmentasyona katılan önemli organik asitlerin yapıları (Rein 2005)

Organik asitler, antosiyaninin glikozil birimlerine ester bağları ile bağlanırlar, bu reaksiyona antosiyaninin açillenmesi de denilmektedir (Rein 2005). Antosiyanin stabilitesi ve renk yoğunluğu, antosiyaninlerdeki organik asitler gibi açil gruplarının artmasına bağlı olarak artış göstermektedir (Mazza ve Miniati 1993).

2.8.3 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler; bitkilerin büyümesi, gelişmesi ve korunmasında işlevleri olan geniş bir molekül grubunu temsil etmektedir (Vermerris ve Nicholson 2008). Fenolik maddeler üç gruba ayrılmaktadırlar, bunlar; hidroksisinamik asitler, hidroksibenzoik asitler ve flavonoidlerdir. Flavonoidler beş kısımda incelenmekte olup bunlar; kateşinler, flavonoller, antosiyanidinler, proantosiyanidinler (löykoantosiyanidinler) ve flavanonlardır (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Fenolik bileşikler kopigment olarak davranabilen bileşikler olup, bu özellikleri ile antosiyanin stabilitesini arttırmaktadır (Sadilova vd. 2009). Yapılan birçok çalışmada, fenolik maddelerin şaraplarda, meyve sularında ve meyve ürünlerinde bulunan antosiyaninlerle etkileşime girerek, gerek antosiyaninlerin stabilitelerini artırdıkları gerekse de renk yoğunluğunu artırdıkları ortaya konulmuştur (Cavalcanti vd. 2011). Kopigment olarak davranan önemli fenolik asitlerin yapıları, Şekil 2.19'da gösterilmektedir.



Şekil 2.19 Kopigment olarak davranan önemli fenolik asitlerin yapıları

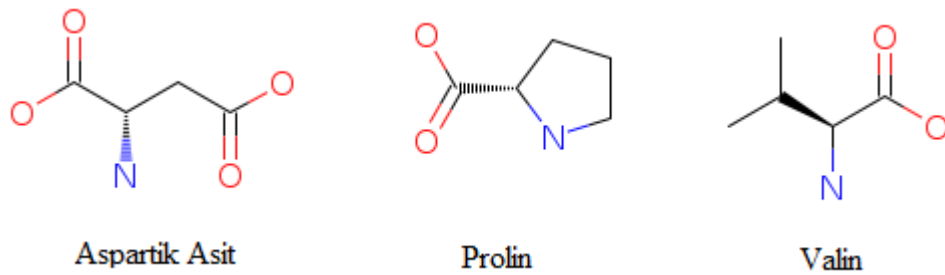
Eiro ve Heinonen (2002), fenolik asitler dışında (gallik, elajik, ferulik, klorojenik, ve kafeik asitler) flavonoid yapıdaki kuersetin ve rutin de iyi kopigment olarak etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Üzüm kabuğu ekstraktında yapılan çalışmada, kafeik, ferulik, gallik ve tannik asitin tümünün kopigmentasyon etkisi gösterdiği, ancak en iyi etkiyi tannik asidin gösterdiği ortaya konulmuştur (Gauche vd. 2010).

Brenes vd. (2005), kırmızı üzüm suyu antosiyaninlerinin polifenoller ile kopigmentasyonunun AA degradasyonunu hem 25°C hem de 35°C depolamada yavaşlatarak, DHA gibi AA parçalanma ürünlerinin antosiyaninlerle etkileşime girmesini engellediğini ve bu yolla gerek kırmızı üzüm suyu antosiyaninlerinin gerekse de AA'nın stabiliteilerinin arttığını göstermişlerdir.

2.8.4 Amino asitler

Amino asitler hem amino hem de asit grupları içeren organik bileşikler olup, proteinlerin yapı taşlarıdır. Amino asitler bünyelerindeki yan zincirinin yapısına göre sınıflandırılırlar. Amino asitler bu özelliklerine göre alifatik, aromatik, asidik, hidroksilik gibi gruplara ayrılırlar. Amino asidin α -C atomuna bağlanan amino ($-\text{NH}_2$) ve asit ($-\text{COOH}$) grupları reaktif gruplar olup, bu gruplar sayesinde amino asitler çeşitli reaksiyonlara katılabilirler.

Çalışmamızda kullandığımız aspartik asit, prolin ve valin amino asitlerinin kimyasal yapıları Şekil 2.20'de verilmiştir.



Şekil 2.20 Çalışmamızda kullandığımız amino asitlerin kimyasal yapıları

Prolin de temel amino asitlerden olmayıp diğer amino asitlerden farklı olarak $-\text{NH}_2$ grubu yerine imino grubu ($-\text{NH}$) içerir ve hidrofobik özellik gösterir (Naik 2012).

Prolin; kemik, lif ve eklemlerde bulunan kollajen proteininin yapı taşıdır; bu nedenle vücudun hareketle ilgili fonksiyonlarında büyük bir öneme sahiptir (Anonim 2019). Çalışmamızda kullandığımız diğer amino asit olan valin ise, esansiyel amino asitlerden biridir ve vücut tarafından sentezlenemediği için mutlaka dışarıdan alınması zorunludur. Alifatik amino asitlerden olan valin de, prolin gibi hidrofobik özellik göstermektedir (Naik 2012). Valin, vücutta fiziksel aktivite sırasında kasların zarar görmesini engeller, bunun dışında bağışıklık sistemine de olumlu katkıda bulunur (Anonim 2019).

Amino asitler, tüm bu yaşamsal özelliklerinin yanında, antosiyaninlerle etkileşime girerek kopigment gibi davranabilmektedirler. Antosiyaninler proteinlere kovalent ya da kovalent olmayan bir şekilde bağlanabilir. Kovalent olmayan bağ; hidrofobik, van der Waals, H bağı ve iyonik bağı ifade etmektedir. Kovalent olmayan bu etkileşimlerin çoğu geri dönüşümlü olup, kovalent etkileşime göre çok daha zayıftır (Sui vd. 2018). Hidrofilik özellik gösteren amino asitler, hidrofobik özellik gösteren amino asitlere göre suda daha fazla çözündüğünden antosiyaninlerle olan kopigmentasyon reaksiyonunda daha etkindirler. Soya proteinleri izolatları ve siyah pirinç antosiyaninlerinin etkileşimlerinin incelendiği bir araştırmada, antosiyaninlerin soya proteinleriyle kovalent olmayan bağdan ziyade güçlü ve stabil kovalent bağ ile bağlanmış oldukları saptanmıştır (Sui vd. 2018). Bununla birlikte Li vd. (2017), Güney Çin'de yetişen tropikal bir meyve olan liçi meyvesinin meyve kabuğu ekstraktı (antosiyanin kaynağı) ile gluten proteininin yapısında bulunan gliadinin (protein kaynağı) etkileşimini içeren çalışmalarında, H bağları ve van der Waals kuvvetleri tarafından güçlü bir şekilde etkileşim geçiren antosiyanin-protein kompleksi oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Aynı şekilde Chung vd. (2015) ile Zhou vd. (2014), antosiyanin-amino asit kompleksinin oluşumunu kovalent olmayan bir bağ olan H bağı ve van der Waals bağları ile oluştuğunu bildirmişlerdir.

Antosiyaninlerin amino asitlerle kovalent ya da kovalent olmayan bir şekilde bağlanması amino asidin yapısındaki çeşitli gruplara bağlanması ile gerçekleşmektedir. Örneğin, yapısında sülfidril (-SH) grubu içeren amino asit bulduran proteinler ile reaksiyona giren antosiyaninler, proteindeki -SH gruplarıyla kovalent ya da kovalent

olmayan etkileşimle SH-antosiyenin kompleksi oluşturur ve bu kompleksin büyük ihtimalle antosiyeninlerdeki -OH gruplarıyla proteinlerdeki -SH grubu arasındaki etkileşim ile oluştuğu ileri sürülmektedir (Sui vd. 2018). Ayrıca; Tang vd. (2014) antosiyeninlerin hemiketal formunun baskın olduğu pH 4 ve 5'te, B halkasındaki -OH grup sayısındaki artışın antosiyeninlerin insan serum albümini ile etkileşimini azalttığını, yani kopigmentasyon etkisinin azaldığını saptamışlardır. Yani B halkasındaki -OH grubu sayısı delfinidin>siyanidin>pelargonidin şeklindeyken, etkileşim tam tersi olan pelargonidin>siyanidin>delfinidin şeklindedir. Bu yüzden B halkasındaki -OH gruplarının sayısı antosiyenin-protein etkileşiminde, yani kopigmentasyonda, önemli rol oynamaktadır (Li vd. 2017).

Amino asitlerin antosiyeninlerle kopigmentasyonu, antosiyeninlerin sıcaklık, ışık, H₂O₂, (He vd. 2016) ve AA'ya (Chung vd. 2015, 2017) karşı stabilitesini arttırmaktadır. Amino asit çeşidi ya da proteindeki amino asit kompozisyonu, aminoasitlerin antosiyeninlerle olan kopigmentasyonunu etkilemektedir. Örneğin, pH 3.32'de siyanidin 3,5-diglukozit çözeltileriyle yapılan bir çalışmada arjinin ve prolin eklenmiş ve bu amino asitlerin hiperkromik etkiyi yaklaşık %20 kadar artırdığı görülmüştür (yani kopigmentasyon gerçekleşmiştir.) (Asen vd. 1972). Yine pH 3.32'de siyanidin 3,5-diglukozit çözeltileriyle yapılan bir çalışma prolin, glutamik asit, glisin, alanin ve aspartik asidin hiperkromik etkiyi artırarak, absorbans değerlerinin sırasıyla 0.25, 0.09, 0.06, 0.05 ve 0.03 Abs'ye ulaşmasını sağladığı; bununla birlikte antosiyenin stabilitesinin arttığı saptanmıştır (Ferreira da Silva vd. 2005).

Amino asitlerin antosiyeninlerle etkileşimi yanında; amino asitler şekerlerle reaksiyona girerek, Maillard reaksiyonu olarak adlandırılan enzimatik olmayan esmerleşmeye de neden olmaktadır. AA, esmerleşmeye neden olan amino gruplarıyla reaksiyona giren aktif karbonil gruplarına sahiptir ve bu reaksiyon sıcaklık, süre, pH ve O₂ içeriğinden etkilenmektedir (Gaonkar 1995). Bu da gösteriyor ki nar antosiyeninleri katılan amino asitlerle kopigmentasyon tepkimesi içine girmezse; AA antosiyeninlerin yapısının bozulmasına neden olup renk değişimi olacak veya amino asitlerle etkileşim içine girip Maillard tepkimesiyle esmerleşme gerçekleşecektir.

Amino asitler aynı zamanda beslenmede çok önemli bir yer tutarlar. Vücudun üretemediği 8 esansiyel amino asidin dışarıdan gıdalarla alınması zorunludur (valin de esansiyel amino asitlerden biridir). Amino asitler vücutta büyük ölçüde hormon üretimi, kas yapısı, sinir sistemi, hayati organların çalışması, hücrel işleyişi destekler. Amino asitlerin vücutta eksikliği protein sentezini durdurur ve yorgunluk, sinirlilik, hormonal dengesizlik ve depresyona neden olur (Anonim 2019). Kopigment olarak amino asitlerin gıdalara eklenmesi aynı zamanda vücuda amino asit alınmasını da sağlayacaktır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Nar ve portakal suyu

Materyal olarak araştırmamızda “Hicaz” çeşidi nar (*Punica granatum*) ve “Valencia” çeşidi portakal (*Citrus sinensis*) kullanılmıştır. Narlar ve portakallar, Antalya yoresinden temin edilmiştir.

3.1.2 Kopigment kaynakları

Kopigment kaynağı olarak aspartik asit, prolin ve valin amino asitleri kullanılmıştır. Bu amino asitler Sigma-Aldrich firmasından (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, A.B.D.) tedarik edilmiştir.

3.1.3 Kimyasallar

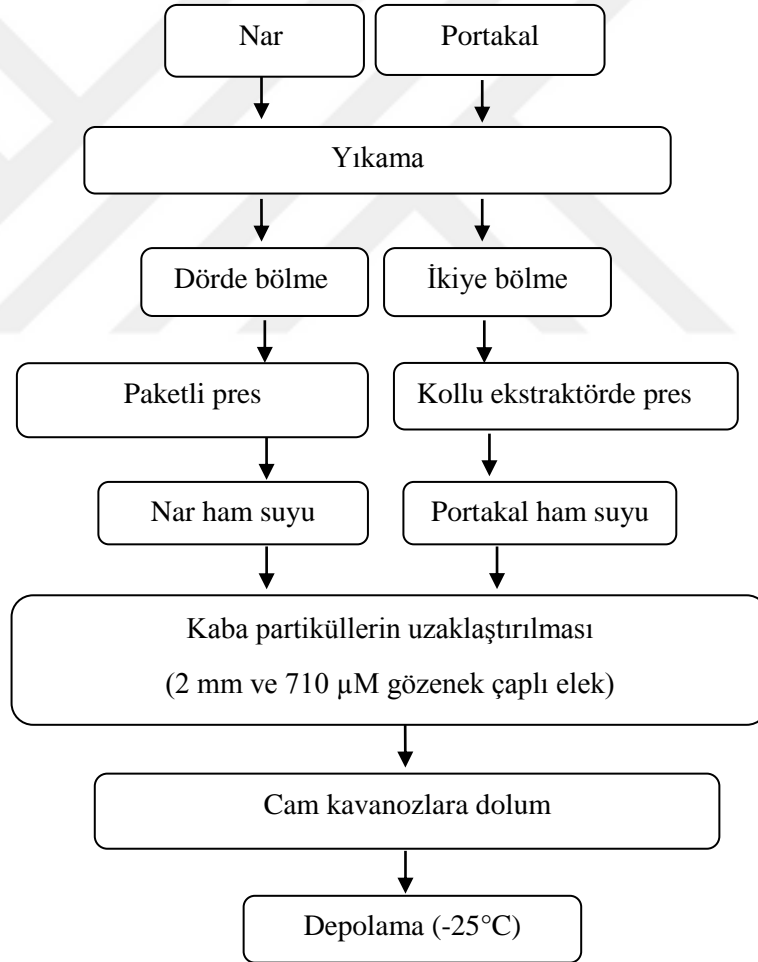
Analizlerde kullanılan kimyasallar analitik veya yuğsek saflıkta kimyasallar olup, Merck firmasından (Merck Co., Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Tuum analizlerde ultra saf su kullanılmıştır (Millipore Simplicity UV, Molsheim, Fransa).

3.2 Yöntem

3.2.1 Nar ve portakalın meyve suyuna işlenmesi

Çalışmamızda kullanılacak narlar, portakallar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi’nde bulunan Meyve Suyu Pilot İşletmesi’nde işlenmiştir. Narlar ve portakallar, hava püskürtmeli yıkama makinasında etkin bir şekilde yıkanmıştır. Daha sonra, narlar dörde

bölünüp, paketli pres makinesinde (Bucher-Guyer, Niederweningen, İsviçre) preslenmiş ve ham nar suyu elde edilmiştir. Buna karşın portakallar ikiye bölünüp, kollu bir ekstraktörde (Cancan Gıda Ltd. Şti., Sakarya) preslenerek, portakal ham suyu elde edilmiştir. Daha sonra, kaba partiküllerin uzaklaştırılması için elde edilen meyve ham suları sırasıyla 2 mm ve 710 µm gözenek çapındaki iki elekten geçirilmiştir. Önceden bir otoklavda (ALP-CLG-40M, ALP Co. Ltd. Tokyo, Japonya) sterilize edilmiş cam kavanozlara doldurulan meyve ham suları analizler yapılana kadar -25°C 'de derin dondurucuda (MDF-U731M, Panasonic Healthcare Co., Ltd., Tokyo, Japonya) depolama yapılmıştır. Şekil 3.1'de meyve sularının üretim akım şeması gösterilmektedir..



Şekil 3.1 Nar ve portakal suyu üretimi akım şeması

3.2.2 Nar suyuna kopigment ilavesi ve portakal suyunun eklenmesi

Nar ve portakal suları +4°C'de sıcaklık kontrollü bir inkübatörde (MIR 153, Sanyo Co., Ltd., Osaka, Japonya) çözdürülmüş, nar suyu örneklerine laboratuvarında yapılan ön çalışmalarda belirlenen farklı oranlarda (1:1, 1:2.5, 1:5 ve 1:10) amino asit ilaveleri yapılmıştır. Kopigmentasyonun gerçekleştiğini gösteren A_{maks} değerinde en uygun artış, 1:5 oranında saptanmıştır. Buna bağlı olarak nar sularına kopigment olarak aspartik asit, prolin ve valin amino asitleri, 1:5 (antosiyenin: kopigment) oranında eklenmiş, daha sonra örneklere 30°C'de 15 dak boyunca ultrasonik bir banyoda (Elmasonic S 180 (H), Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Almanya) sonikasyona tabi tutulmuş ve böylece kopigmentlerin tamamen çözündürülmesi sağlanmıştır. Kopigment eklenmiş nar suları sularına 1:1 (v:v) oranında portakal suları eklenmiştir. Hazırlanan kopigment ilave edilmiş karışık meyve suları her grupta her amino asit çeşidinden örnek olacak şekilde gruplara ayrılarak, biri 90°C'de su banyosunda (WB 14, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Almanya), diğerleri 105° ve 150°C'de yağ banyosunda (Heto, IBN 18, Lillerod, Danimarka) ısıtılmıştır. Daha sonra hazırlanan meyve sularından; ısıtma başlangıcında ve 90°C'de 30 dak, 105°C'de 20 dak, 150°C'de ise, 10 dak aralıklarla 6 kez örnek alınmış ve örnekler buzlu su banyosunda oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Aynı zamanda portakal suyu eklemeyen de örnekler alınmış, böylece kopigment yapabilecek bileşiklerin etkisi de ortaya konulmuştur. Meyve suyu örneklerinden bulanıklık oluşturabilecek maddelerin uzaklaştırılması için +4°C'de 8000 x g'de 5 dak süre boyunca santrifüj (3K 15, Sigma Laborzentrifugen GmbH, Postfach, Almanya) edilmiştir. Hazırlanan bu örneklerde, aşağıda detayları verilen analizler uygulanmıştır.

3.2.3 Kimyasal analizler

3.2.3.1 Hiperkromik ve batokromik etkinin belirlenmesi

Hiperkromik ve batokromik etkinin oluşması kopigmentasyonun oluştuğunu gösteren kriterlerden biridir. Bu etkileri görebilmek amacıyla amino asit eklenmiş örnek

gruplarından 1'er mL alınarak, ultra saf suyla 5 mL'ye, elde edilen seyreltik örnekten de 1 mL alınarak, 10 mL'ye potasyum klorür tampon çözeltisi (0.025 M) (pH 1.0) ile tamamlanmıştır. Daha sonra örnekler için PVDF filtre (0.45 µm gözenek çaplı) (Sartorius AG) kullanılmış, örneklerin UV-VIS spektrofotometrede (ThermoScientific Evolution 201, Cambridge, İngiltere) 400–600 nm aralığında, maksimum absorbans verdikleri dalga boyları ($\lambda_{\text{vis-maks}}$) ve bu dalga boyundaki absorbans değerleri (A_{maks}) belirlenmiştir. Hiperkromik değişim (ΔA_{maks}), maksimum absorbans değerinde meydana gelen değişimi; bathokromik değişim ($\Delta \lambda_{\text{vis-maks}}$) ise, maksimum dalga boyunda meydana gelen değişimi temsil etmektedir (Rein 2005).

3.2.3.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini

pH 1.0'da renkli formun (oksonium), buna karşın pH 4.5'de, renksiz formun (karbinol psödobaz-hemiketal form) antosiyaninlerde hakim olmasından yararlanarak Giusti ve Wrolstad (2001)'in geliştirdiği pH diferansiyel metoduna göre belirlenmiştir. Bu pH değerlerindeki absorbans değerleri arasındaki ayırım monomerik antosiyanin miktarı ile paralellik göstermektedir. Nar antosiyaninlerinin maksimum dalga boyu ($\lambda_{\text{vis-maks}}$) olan 512 nm'de antosiyanin miktarı ve bulanıklık için ise 700 nm'deki absorbans değerleri belirlenmiştir. Yapılan analizlerin çoğu spektrofotometrenin sınırı olarak kabul edilen Özkan vd. (2010)'nin de belirttiği üzere 1.2 değerinin (absorbans değeri) aşağısında yürütülmesi için örnekler 20 seyreltme faktörü ve potasyum klorür (0.025 M) (pH 1.0) ve sodyum asetat tampon çözeltisi (0.4 M) (pH 4.5) ile seyreltilmiştir. 15 dak sonra dengeye gelen örnekler PVDF filtre kullanılarak (0.45 µm gözenek çaplı) (Sartorius AG) filtrelenmişlerdir. Absorbans değerlerini okumak için, şahidi (damıtık su) ve örneği aynı anda içine alabilen spektrofotometre (çift huzmeli;double-beam) (ThermoScientific Evolution 201) kullanılmıştır. Spektrofotometre için ise bir kez kullanılan küvetler (1 cm tabaka kalınlığına sahip) kullanılmıştır. (Brand Gmbh, Postfach, Wertheim, Almanya). 3.1 No'lu eşitlik monomerik antosiyanin miktarı için esas alınmıştır.

$$\begin{aligned} &\text{Monomerik antosiyanin} \\ &\text{miktarı (mg/L)} = (A) (MW) (Sf) 1000 (1/L) (1/\epsilon) \end{aligned} \quad (3.1)$$

Eşitlikte;

- A : Absorbanslar arası fark (belirlenen pH değerlerindeki absorbansların farkı),
- MW : Baz alınacak antosiyanidin molekül ağırlığı (Dalton),
- S_f : Seyreltme faktörü,
- L : Tabaka kalınlığı (Absorbans ölçüm küveti)(cm),
- ε : Molar absorpsiyon katsayısı (L/cm mg).

Narın başat antosiyanini olan cy-3-glu'in (ε) değeri (molar absorbans değeri) ε=26 900 L cm⁻¹ mol⁻¹ ve (MW) değeri (molekül ağırlığı) MW=449.2 g mol⁻¹ (Giusti ve Wrolstad 2001) temel alınmış ve hesaplamalar buna göre yapılmıştır. Seyreltme faktörü de yukarıda belirtildiği gibi 20 olarak alınmıştır.

3.2.3.3 Antosiyanin parçalanma ölçütleri değerlerinin tespiti

Antosiyaninlerin parçalanma ölçütleri denildiğinde, “renk yoğunluğu,” “polimerik renk” ve “polimerik renk oranı” değerleri anlaşılmaktadır. Bu üç değer de, Giusti ve Wrolstad (2001)'ın önerdikleri yönteme göre hesaplanmıştır. Bu analiz için örnekler diğer analizde kullanılan seyreltme faktörü (20) kullanılarak ultra saf suyla seyreltilmiş ve bu sayede ortam pH'sının değişmeden kalması sağlanmıştır. Seyreltilen meyve suyu örnekleri PVDF filtre (0.45 µm gözenek çaplı) (Sartorius AG) kullanılarak filtrelenmiştir. Seyreltilmiş örneklerden 2.8 mL alınarak iki adet spektrofotometre küvetine (tabaka kalınlığı 1 cm olan) (Brand GmbH) de konulmuştur. Daha sonra bu küvetlerin bir tanesine çözelti olarak 0.2 mL bisülfid (%20, w/v, K₂S₂O₅) diğerine ise 0.2 mL damıtık su eklenmiş ve 15 dakika dengeye gelmeleri için kendi hallerine bırakılmışlardır. Bisülfid çözeltisi eklenmiş örnekteki monomerik antosiyaninlerin sülfonik asit kompleksi (renksiz) oluştururken, polimerik antosiyanin-tanen kompleksleri ve melanoidin pigmentleri bisülfidin etkisine dayanmışlardır. Renkli olan bu pigmentlerin miktarı daha fazla oldukça, 420 nm'de spektrofotometrede görünen absorbans değerleri de artmaktadır. Her iki küvet de 15 dak bekletmeden sonra

spektrofotometrede absorbans değerleri ultra saf suya karşı belli dalga boylarında (420 nm, 512 nm ($\lambda_{\text{vis-max}}$) ve 700 nm) ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar kullanılarak renk yoğunluğu, polimerik renk, ve polimerik renk oranı belirlenmiştir.

Renk yoğunluğu

Renk yoğunluğu değeri, 3.2 No'lu eşitlik kullanılarak belirlenmiştir. Guisti ve Wrolstad (2001)'a göre bu değer, bisülfıt yerine damıtık su eklenen örneğin, 512 nm ve 420 nm dalga boylarında ölçülen absorbanslar toplamı ile gösterilmektedir.

$$\text{Renk yoğunluğu} = [(A_{\lambda_{512 \text{ nm}}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.2)$$

Eşitlikte;

S_f : Seyreltme faktörü

Polimerik renk

Polimerik renk değeri, 3.3 No'lu eşitlik kullanılarak belirlenmiştir. Guisti ve Wrolstad (2001)'a göre bu değer, bisülfıt katılan örnekteki, 512 nm ve 420 nm dalga boylarında ölçülen absorbanslar toplamını ifade etmektedir.

$$\text{Polimerik renk} = [(A_{512 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.3)$$

Polimerik renk oranı

Polimerik renk ile renk yoğunluğu arasındaki oran, polimerik renk oranını vermektedir (Guisti ve Wrolstad 2001). Bu oranın artması, polimerik rengin artmasını, yani antosiyaninlerin parçalandığını (polimerik antosiyanin-tanen kompleksleri) ve esmer renkli pigmentlerin (melanoidin pigmentleri) oluştuğunu göstermektedir. Bu değer, 3.4 No'lu eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

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

3.2.4 Kinetik parametrelerin belirlenmesi

Bu çalışmada, nar-portakal suyu karışımlarına eklenen kopigmentlerin (amino asitlerin) farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucunda nar suyu antosiyaninlerinin parçalanması ve buna bağlı olarak oluşan polimerik renk oluşumunun kinetikleri incelenmiştir. Bunun için, sıfıncı ve birinci dereceden kinetik modelleri gösteren aşağıda verilen 3.5 ve 3.6 No'lu eşitlikler kullanılmıştır.

Kinetik parametrelerin belirlenmesinde, Özkan vd. (2010)'nin önerdiği yöntemler kullanılmıştır.

Sıfıncı derece için:

$$C = \pm k_0 t + C_0 \text{ (parçalanma veya oluşum)} \quad (3.5)$$

Birinci derece için:

$$\ln C = \pm k_1 t + \ln C_1 \text{ (parçalanma veya oluşum)} \quad (3.6)$$

Eşitliklerde;

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

C : Bileşenin t süre ısıtma sonundaki konsantrasyonu (mg/100 g veya %),

k : Reaksiyonun hız sabiti (dak^{-1}),

t : Zaman (dak).

Reaksiyon hız sabitinin (k) belirlenmesi:

Yapılan analizlere ilişkin süreler aritmetik ölçekli bir grafik kağıdının “x” eksenine, ölçülen konsantrasyon değerleri ise “y” eksenine yerleştirilmiştir. Benzer bir biçimde, süreler yarı-logarimik bir grafik kağıdının aritmetik “x” eksenine, buna karşın

konsantrasyon değerleri ise, yarı-lograitmik eksene herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan yerleştirilmiştir. Çizilen grafiklere doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve bu eğrilerin denklemleri hesaplanmıştır. Ayrıca denklemlerden elde edilen eğim değerleri kullanılarak 3.7 ve 3.8 No'lu eşitliklerden k değerleri (reaksiyon hız sabitleri) belirlenmiştir.

$$k_o = (\text{eğim}) \quad (\text{Sıfırncı derece}) \quad (3.7)$$

$$k_l = (\text{eğim}) \times 2.303 \quad (\text{Birinci derece}) \quad (3.8)$$

k değerleri, her bir ısıtma sıcaklığı ve her bir amino asit için hesaplanmış ve kontrol grubuna göre k değerlerinin ne kadar değiştiği “%” (% etki değeri) olarak hesaplanmıştır.

Yarılanma süresinin ($t_{1/2}$) belirlenmesi

Bir reaktantın ısıtma sonunda konsantrasyonunun başlangıç konsantrasyonunun yarısına dūřmesi için gereken süre “yarılanma süresi, $t_{1/2}$ ” olarak tanımlanmaktadır. $t_{1/2}$ değeri, birinci dereceden parçalanma reaksiyonları için hesaplanır. Oluřum reaksiyonları için $t_{1/2}$ değeri hesaplanmaz. Hesaplama da aşağıda verilen 3.9 No'lu eşitlik kullanılmıştır.

$$t_{1/2} = -\ln(1/2) \times 1/k \quad (3.9)$$

3.2.5 İstatistik değerlendirme

Meyve suyu örneklerine eklenen farklı amino asitlerin farklı sıcaklıklarda ve sürelerde ısıtılması sonucu yapılan analizlere ait sonuçlar, varyans analizi ile iki tekrarlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak, ortalamalar arasındaki farkların önemli olup olmadığı belirlenmiştir. İstatistik değerlendirme için, "SPSS" paket programı (IBM SPSS Statistics Version 22) kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Karışık Meyve Sularının Isıtılmaları Süresince Monomerik Antosiyanin İçeriğindeki Değişimler

Farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtılan, çeşitli kopigment kaynakları içeren meyve sularının toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişim EK 1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’de ısıtma işlemi öncesinde örneklerin toplam monomerik antosiyanin miktarları gösterilmektedir.

Çizelge 4.1 Meyve sularının ısıtma işlemi öncesi toplam monomerik antosiyanin miktarları

Kopigment kaynağı	Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)*
Kontrol-1***	246.5 ± 0.7 a**
Kontrol-2****	123.5 ± 0.7 c
Aspartik asit	123.5 ± 0.7 c
Prolin	126.0 ± 0.0 b
Valin	125.5 ± 0.7 b

*: Monomerik antosiyanin miktarı, pelargonidin-3-glukozid temel alınarak hesaplanmıştır.

**a-c: Aynı sütundaki ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (p>0.05).

*** Kontrol-1: Nar suyu

****Kontrol-2: Nar suyu + portakal suyu

Kopigment olarak amino asitlerin ve portakal suyunun eklenmediği sadece nar suyu bulunan kontrol grubu için ısıtma işlemi öncesi monomerik antosiyanin miktarı 246.5 mg/L olarak belirlenmiştir. Buna karşın portakal suyunun eklendiği fakat amino asit eklenmeyen kontrol grubunun yine ısıtma öncesi antosiyanin miktarı 123.5 mg/L olarak belirlenmiştir. Yüksek orandaki (%49.9) bu azalmadan portakalın bünyesinde bulunan AA (53.2 mg/100 g, Packer ve Puchs 1997)’nin sorumlu olduğu düşünülmektedir. AA’nın antosiyanin parçalanma hızını arttırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Martı vd. 2002, Choi vd. 2002, Talcott vd. 2003, Sadilova vd. 2009, Leong vd. 2017). Meschter (1953), çilek ürünlerinde yaptığı çalışmada, antosiyaninlerin AA ve AA degradasyon ürünlerinden olan DHA, H₂O₂ ve furfuralın varlığında daha hızlı

parçalandığını göstermiştir. Antosiyanin kaybına AA'nın etkisinden çok (Rababah vd. 2005) AA'nın oksidasyonu sonucunda oluşan ürünler neden olmaktadır (Jackman vd. 1987). AA'nın aerobik degradasyonu sonucu oluşan H_2O_2 varlığında antosiyanin parçalanma tepkimesinin hızlandığı bildirilmiştir (Sondheimer ve Kertesz 1952, Jurd 1972). Buna ek olarak; ortamda bulunan eser miktarda Fe ve Cu'nun AA parçalanmasına neden olduğu biliniyorken (Rababah vd. 2005), Shrikhande ve Francis (1974) antosiyaninlerin de AA degradasyonunda gerçekleşen zincir reaksiyonlarda Cu iyonları gibi (Silverblatt vd. 1943) davranabileceğini öne sürmüştür (Jackman vd. 1987). Bu yüzden ortamda bulunan antosiyaninlerin AA degradasyonuna neden olabileceği, parçalanmış AA sonucu oluşan DHA, furfural ve H_2O_2 gibi ürünlerin de antosiyaninlerin parçalanmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Monomerik antosiyanin değerinin portakal suyu katılmış örnekte daha düşük olmasının nedeni, monomerik antosiyaninlerin AA ve AA degradasyon ürünleri varlığında parçalanması olabileceği gibi diğer bileşiklerle polimerize olması da olabilir. Nitekim furfural ve HMF bileşiklerinin antosiyaninlerle reaksiyona girip, koyu kahverengi bileşikler oluşturduğu (Es-Safi vd. 2000) bilinmektedir. Yine bunun sonucunda da monomerik antosiyanin değerinde azalma görülmesi mantıklı bulunmuştur.

Isıtma öncesinde eklenen amino asitlerin; portakal suyunun antosiyaninler üzerine parçalayıcı etkisini önleyemediği belirlenmiştir ($p>0.05$). Ancak; farklı sıcaklıklarda ısıtma süresince antosiyanin stabilitesi üzerine amino asitlerin etkisini ortaya koyabilmek için; ısıtma süresince örneklerin içerdiği antosiyanin miktarındaki değişim her sıcaklık ve amino asit çeşidi için grafiğe aktarılmış, hem aritmetik hem de yarı logaritmik ölçekli grafikte, örneklerin antosiyanin içeriğine ilişkin veriler “y” eksenine, ısıtma süreleri ise, “x” eksenine yerleştirilerek doğrusal eğriler elde edilmiştir. Elde edilen doğrusal eğrilere ait R^2 değerleri yarı logaritmik eğride daha yüksek olduğu için antosiyaninlerin parçalanma kinetiğinin birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleştiği sonucuna ulaşılmıştır. Benzer şekilde, Sadilova vd. (2009) de; AA ve çeşitli tatlandırıcı eklenmiş siyah havuç, mürver meyvesi ve çilek örneklerinin antosiyanin stabilitesi üzerine sıcaklığın etkisini inceledikleri çalışmada antosiyaninlerin birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uygun olarak parçalandığını ortaya koymuşlardır.

Dahası antosiyanin içeriği ve bileşimi farklı olan örneklerle ortam sıcaklığı farketmeksizin benzer sonuçlar elde edilmiştir (Cemeroğlu vd. 1994, Türkyılmaz vd. 2012, Chung vd. 2017). Çizelge 4.2'de karışık meyve sularının 90°, 105° ve 150°C sıcaklığa farklı sürelerde maruz kalmaları nedeniyle parçalanan antosiyaninlerine ilişkin kinetik parametreler gösterilmektedir.

Çizelge 4.2 Farklı sıcaklıklarda ısıtma süresince karışık meyve sularının parçalanan antosiyaninlerine ait kinetik parametreler

Sıcaklık (°C)	Kopigment	$-k \times 10^{-3}$ (dak ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dak)	R ²
90°C	Kontrol	6.287	110.2	0.996
	Aspartik asit	6.402	108.3	0.990
	Prolin	6.471	107.1	0.991
	Valin	6.564	105.6	0.990
105°C	Kontrol	1.071	64.9	0.890
	Aspartik asit	0.401	173.0	0.947
	Prolin	1.713	40.5	0.896
	Valin	0.444	155.0	0.876
150°C	Kontrol	2.621	26.4	0.842
	Aspartik asit	5.981	11.6	0.763
	Prolin	7.616	9.1	0.796
	Valin	5.288	13.1	0.713

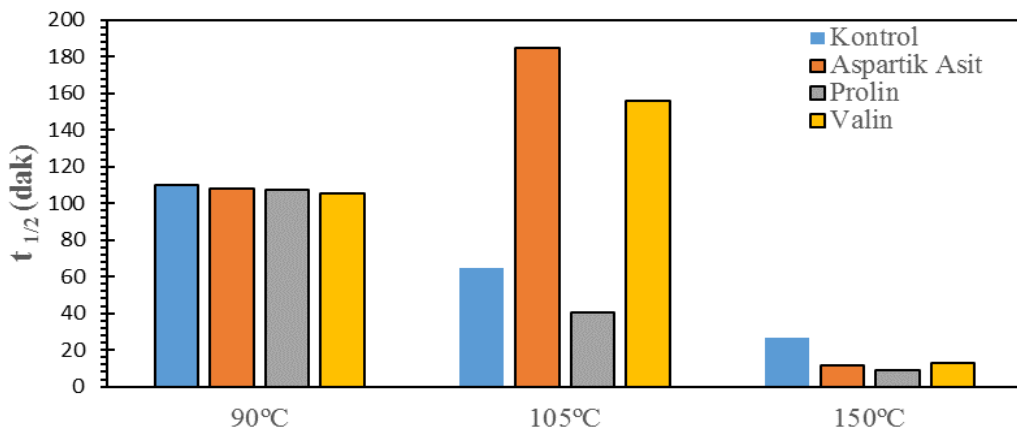
Amino asitlerin antosiyaninlerin stabilitesi üzerine etkileri $t_{1/2}$ değerlerinin karşılaştırılmasıyla ortaya konulmuştur. Farklı sıcaklık (90°, 105°, 150°C) uygulamalarıyla kontrol grubu için $t_{1/2}$ değerleri, sırasıyla 110.2, 64.9 ve 26.4 dak olarak hesaplanmıştır. Görüldüğü gibi, sıcaklığın artmasıyla kontrol grubu için antosiyaninlerin $t_{1/2}$ değerleri azalmaktadır. Meschter (1953) çileklerin renginin oda sıcaklığında (20°C) $t_{1/2}$ değerleri 1300 saat iken, sıcaklığın 38°C'ye yükselmesi halinde bu değer 240 saate düşeceğini çalışmasında göstermiştir. Buzdolabı sıcaklığında ise (4°C) çileklerin renk açısından korunmasının 6000–8000 saat (250–320 gün) aralığına

kadar yükseldiğini bildirmiştir. Bu durum çalışmamızda prolin içeren örnekte sıcaklık artışına bağlı olarak aynı şekilde gözlenirken, aspartik asit ve valin içeren örneklerde farklı şekilde gerçekleşmiştir. Aspartik asit ve valin içeren örneklerde 105°C sıcaklıktaki $t_{1/2}$ değerinin 90°C sıcaklıktaki değerlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Yine bu değer 150°C’de azalma göstermiştir (Çizelge 4.2). Bu sonuçlar; nar ve partakaldan karışık reçel yapılması durumunda, kopigment kaynağı olarak aspartik asit ve valinin kullanılmasının antosiyanin stabilitesi açısından önemli fayda sağlayacağını göstermektedir.

Aspartik asit ve valin eklenen örneklerde; 105°C’de daha yüksek antosiyanin stabilitesi sağlanmasının nedeninin, bu sıcaklıkta daha ısıtmanın başlangıcında uygun “antosiyanin:kopigment” oranının yakalanmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bilindiği gibi, antosiyanin stabilitesini ve renk yoğunluğunu artıran kopigmentasyon üzerine etkili en önemli faktörlerden birisi de, “antosiyanin:kopigment” oranıdır. En uygun oranın bulunması halinde, yüksek oranda düzeyde kopigmentasyon meydana gelmektedir. Nar sularında; delfinidin, pelargonidin ve siyanidinin-3-glukozit ve 3,5-diglukozit formları bulunmaktadır. Isıtma nedeniyle; parçalanma sırasında ilk olarak diglukozit yapıdan bir şeker molekülünün ayrılması gerçekleşmektedir. Bu ayrılma sonucunda; 3-glukozit yapısındaki antosiyanin miktarı artmaktadır. Yapılan çalışmalar, 3,5-diglukozidik yapıların 3-glukozidik yapılara göre daha stabil olduğunu göstermiştir (Turfan vd. 2011, Türkyılmaz vd. 2012). Belli bir ısıtma süresinde; düşük sıcaklığa göre yüksek sıcaklıklarda daha yüksek miktarda 3,5-diglukozidik yapı 3-glukozidik yapıya dönüşecektir. Kopigmentasyona 3,5-diglukozidik yapıya göre daha yatkın olan 3-glukozidik yapıdaki antosiyanin miktarının 90°C’ye göre 105°C’de daha hızlı artması nedeniyle; daha ısıtma başlangıcında, nar suyunda bulunan ve yeni oluşan 3-glukozidik antosiyanin konsantrasyonu aspartik asit ve valin ile kopigmentasyon oluşturmaya hazır hale gelecektir. Kuşkusuz, 150°C’de 105°C’ye göre daha hızlı 3-glukozidik yapıda antosiyanin oluşacaktır. Ancak; 150°C’de diğer iki ısıtma sıcaklığından (90° ve 105°C) çok daha yüksek bir hızla 3-glukozidik yapıdaki antosiyaninler parçalanacaktır. Dolayısıyla; 3-glukozidik yapıdaki antosiyanin miktarının artışına fırsat vermeyen bir ortam söz konusu olacaktır. Sonuç olarak, uygun “antosiyanin:kopigment” oranının yakalanması güçleşecektir. Bu nedenlerle; 105°C’de

aspartik asit ve valin içeren örneklerin daha yüksek stabilite gösterdiği düşünülmektedir. Zaten, kopigmentasyonun önemli bir göstergesi olan A_{maks} değerlerindeki değişim (“4.2 Farklı Sıcaklıklarda Isıtma Süresince Nar ve Portakal Sularından Oluşan Karışık Meyve Sularında Antosiyanin Kopigmentasyonu ve Kopigmentasyon Etkisindeki Değişim” bölümünde detaylı olarak tartışılmıştır.) de bu çıkarımı doğrulamaktadır. Prolinin bu amino asitlerden farklı davranışta bulunmasının nedeninin de aşağıda daha detaylı olarak anlatılacak olan prolin-fenolik ilişkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Farklı amino asit eklenen karışık meyve sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince, kopigmentlerin ve ısıtma sürelerinin antosiyaninler üzerine etkisini daha iyi gösterebilmek amacıyla, antosiyaninlerin $t_{1/2}$ değerleri bir histogramda (Şekil 4.7) gösterilmiştir. Meyve sularının 105°C’de ısıtılması süresince antosiyanin stabilitesi; aspartik asit ilavesiyle %167, valin ilavesiyle ise, %139 oranında artmıştır. Chung vd. (2017)’de yaptıkları çalışmada, çalışmamızdakine benzer şekilde L-triptofan ilave ettikleri mor havuç antosiyaninlerinin ortalama $t_{1/2}$ değerinin, 2.3 günden 6.2 güne yükselerek %169 oranında artış sağladığını göstermişlerdir. Prolin ilavesi bu sıcaklıkta antosiyanin stabilitesinde %38 oranında bir azalmaya sebep olmuştur. Diğer bütün sıcaklık derecelerinde antosiyanin stabilitesi ($t_{1/2}$ değeri) kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.2). Prolin; antosiyanin stabilitesinde 90°C’de %3, 105°C’de %38, 150°C’de ise %66 oranında azalmaya sebep olmuştur.



Şekil 4.1 Karışık meyve sularının antosiyanin stabilitesi üzerine farklı amino asit kaynakları ve ısıtma sıcaklıklarının etkisi

Monomerik antosiyanin miktarındaki ve stabilitesindeki bu azalış her zaman kopigmentasyonun oluşmadığı ve ürünün renginin bozulduğu anlamına gelmemektedir. Li vd. (2017), Güney Çin'de yetişen tropikal bir meyve olan liçi meyvesinin meyve kabuğu ekstraktı (antosiyenin kaynağı) ile gluten proteinin yapısında bulunan gliadinin (protein kaynağı) etkileşimini inceledikleri çalışmalarında, aralarında güçlü bir etkileşim olan antosiyanin-protein kompleksinin oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Bunun sonucunda da; renk yoğunluğu ve stabilitesi, monomerik antosiyanin miktarının azalması birlikte gözlemlenmiştir. Yani monomerik antosiyanin miktarındaki azalış kopigmentasyonu gösterebileceği gibi göstermeyebilir. Bu durumun kopigmentasyon kaynaklı olup olmadığı “4.2 Farklı Sıcaklıklarda Isıtma Süresince Nar ve Portakal Sularından Oluşan Karışık Meyve Sularında Antosiyanin Kopigmentasyonu ve Kopigmentasyon Etkisindeki Değişim” başlığı altında tartışılmıştır.

4.2 Farklı Sıcaklıklarda Isıtma Süresince Nar ve Portakal Sularından Oluşan Karışık Meyve Sularında Antosiyanin Kopigmentasyonu ve Kopigmentasyon Etkisindeki Değişim

Üç farklı amino asit (aspartik asit, prolin ve valin) eklenen karışık meyve sularında; amino asit-antosiyenin kopigmentasyonu üzerine ısıtmanın ve ısıtma süresinin etkisini gösterebilmek amacıyla, karışık meyve suyunda maksimum dalga boyu (λ_{maks} batokromik kayma) ve λ_{maks} 'daki absorpsiyon değerleri (A_{maks} , hiperkromik etki) ısıtma boyunca incelenmiştir ve elde edilen veriler EK 3'te verilmiştir. Kopigmentler eklendikten sonra ısıtma öncesi ve üç sıcaklık değeri için ısıtma sonrası λ_{maks} değerleri de Çizelge 4.3'te verilmiştir. Kontrol grubunun λ_{maks} değeri 512 nm olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3). Kontrol grubu ile kıyaslandığında; ısıtma öncesinde eklenen amino asitlerin λ_{maks} değerinde ihmal edilebilir bir değişime sebep oldukları tespit edilmiştir ($p>0,05$). Isıtma sonunda ise; 90 °C'de ısıtılan örneklerin λ_{maks} değerleri için kaydadeğer bir farklılık görülmezken ($p>0,05$); 105 °C'de kontrol grubuna göre prolin katılmış örneklerde λ_{maks} değeri 5 nm azalmış, aspartik asit ve valin istatistiki olarak önemli bir değişim göstermemiştir ($p>0,05$). Prolinin λ_{maks} değerinde neden olduğu bu azalmanın prolinin nar suyunda yüksek miktarda bulunan fenolik maddelerle interaksiyona girmesinden dolayı (Bennick, 2002; Charlton vd. 2002) olduğu; yani, bu nedenle kopigmentasyon reaksiyonuna katılmadığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

150°C’de tüm örneklerin λ_{maks} değerleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,05$). 150 °C’de ısıtma sonundaki λ_{maks} değerleri kontrol grubundan aspartik asitte 17 nm, valinde 21 nm, prolinde ise 36 nm daha düşüktür. Yüksek sıcaklıklarda amino asitlerin zayıf bağlarla bağlandığı antosiyaninlerden ayrıldığı ve serbest kalan antosiyaninlerin de kolayca parçalandığı veya polimerizasyona neden olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.3 Meyve suyu örneklerinin farklı sıcaklıklarda ısıtma öncesi ve sonrasındaki λ_{maks} (nm) değerleri

Kopigment kaynağı	Isıtma öncesi	Isıtma sonrası		
		90 °C	105 °C	150 °C
Kontrol	512 ± 0 a	511 ± 0 a	512 ± 0 a	522 ± 0 a
Aspartik asit	512 ± 0 a	511 ± 1 a	512 ± 0 a	505 ± 0 b
Prolin	512 ± 0 a	510 ± 0 a	507 ± 1 b	486 ± 4 c
Valin	512 ± 0 a	512 ± 0 a	511 ± 0 a	501 ± 4 b

*a-c: Aynı sütundaki farklı harfleri içeren değerler arasındaki fark ihmal edilemez ($p<0,05$).

Kopigmentler eklendikten sonra ısıtma öncesi ve üç sıcaklık değeri için ısıtma sonrası λ_{maks} değerleri gibi A_{maks} değerleri de çizelge şeklinde verilmiştir (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4’e göre ısıtma yapılmadan evvel kontrol grubuna göre aspartik asit içeren örneğin A_{maks} değeri azalış, prolin ve valin içeren örneklerinki ise artış göstermiştir, ancak bu iki durumda da değişimler kopigmentasyon açısından önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). 90°C ısıtma işlemi sonucunda kontrol grubuna göre tüm örneklerin A_{maks} değeri azalmıştır ($p<0,05$). Bu sonuç 90°C’de kopigment kaynaklarının hiçbirinin kopigmentasyon reaksiyonunu gerçekleştirmediğini göstermektedir. “4.1 Karışık Meyve Sularının Isıtma Süresince Monomerik Antosiyanin İçeriğindeki Değişim” bölümünde de antosiyaninlerin 90°C sıcaklıkta stabilitelerinin düşük olduğunun tespit edildiği ve bunun nedeninin de uygun antosiyanin:kopigment oranının sağlanmadığından kaynaklandığının düşünüldüğü detaylı bir şekilde tartışılmıştı.

Çizelge 4.4 Meyve suyu örneklerinin farklı sıcaklıklarda ısıtma öncesi ve sonrasındaki A_{maks} (nm) değerleri

Kopigment kaynağı	Isıtma öncesi	Isıtma sonrası		
		90 °C	105 °C	150 °C
Kontrol	0.451 ± 0.00 ab	0.202 ± 0.00 a	0.183 ± 0.00 c	0.175 ± 0.00 a
Aspartik asit	0.447 ± 0.00 b	0.192 ± 0.00 b	0.296 ± 0.00 a	0.107 ± 0.00 b
Prolin	0.454 ± 0.00 a	0.191 ± 0.00 b	0.124 ± 0.00 d	0.107 ± 0.00 b
Valin	0.455 ± 0.00 a	0.185 ± 0.00 c	0.294 ± 0.00 a	0.111 ± 0.00 b

*a-d: Aynı sütündeki farklı harfleri içeren değerler arasındaki fark ihmal edilemez ($p < 0.05$).

105°C’de gerçekleştirilen ısıtma işlemi sonunda kontrol örneğinin A_{maks} değeri 0.183 nm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Kontrol grubuna göre aspartik asit %62, valin %61 oranında artış gösterirken; prolin %32 oranında azalış göstermiştir (Çizelge 4.4). Navruz vd. (2016) yaptıkları bir çalışmada, kopigment kaynağı olarak nar kabuğu eklenen vişne suyu konsantrelerinde, vişne antosiyaninleri ile nar kabuğu fenolik bileşenlerinin kopigmentasyon reaksiyonları sonucu renk yoğunluğu ve stabilitesinde artış ile hiperkromik etkide %3’lük bir artış saptamışlardır. Çalışmamızda da benzer şekilde aspartik asit ve valinin 105°C sıcaklıkta ısıtma işleminin sonunda yüksek oranda hiperkromik etki gösterdikleri görülmüş; bunun da kopigmentasyon reaksiyonu sonucu oluştuğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.4’te görüldüğü üzere, 150°C sıcaklıkta ısıtma işlemi sonunda kontrol örneğine göre tüm kopigment kaynaklarının A_{maks} değerlerinde istatistiki açıdan eşit miktarda azalma görülmüştür. A_{maks} değerlerindeki bu azalma kopigment kaynaklarının etkisini kaybettiğini göstermektedir. Chung vd. (2015) ile Zhou vd. (2014) gibi birçok araştırmacı antosiyanin-amino asit kompleksinin oluşumunu kovalent olmayan bir bağ olan H bağı ve van der Waals bağları ile oluştuğunu söylemişlerdir. Bu bağlar -14.98 ile -15.10 kJ/mol arasında değişen düşük bir bağlanma enerjisi ile gerçekleştiği (Chung vd. 2017) için yüksek sıcaklıklarda kolayca parçalanabilmektedir. Bağların kopmasıyla zaten stabilitesi düşük olan antosiyaninler renksiz bileşiklere parçalanmaktadır. Ayrıca Marti vd. (2002); AA ekledikleri nar suyu antosiyaninlerinin yüksek sıcaklıkta daha hızlı

parçalandığını, buna karşın düşük sıcaklıkta antosiyaninlerin daha stabil olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir. Bu da karışık meyve suyundaki portakal suyunun bünyesinde bulunan AA'nın ve degradasyon ürünlerinin yüksek sıcaklıklarda antosiyaninlere daha fazla etki ettiğini göstermektedir.

Üç farklı sıcaklıkta (90°, 105° ve 150°C) ısıtma işlemi boyunca; karışık meyve sularının A_{maks} değerlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (EK 3). Farklı sıcaklıklarda ısıtma işlemi boyunca karışık meyve sularının A_{maks} değerleri monomerik antosiyaninlerden farklı olarak sıfırıncı dereceden reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleştiği görülmüştür. Meyve sularının ısıtma işlemleri süresince A_{maks} değerlerine ilişkin kinetik parametreler Çizelge 4.5'te verilmiştir. A_{maks} değerine ilişkin azalmaların sıfırıncı dereceden reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleştiği görülmüştür. Meyve sularında farklı sıcaklıklarda ısıtma işlemi boyunca A_{maks} değerlerindeki değişim 90°C'de görülmezken, 105°C'de aspartik asit katılmış örneklerde %41.7, valin katılmış örneklerde ise %47.5 oranında azalma şeklinde görülmüştür (Çizelge 4.5). Yani aspartik asit ve valin katılmış örnekler bu sıcaklıkta A_{maks} değerindeki azalma oranını azaltarak renk yoğunluğunu korumuşlardır. Antosiyaninlerin amino asitlerle özellikle H bağı ile bağlandığı ilgili kısımlarda açıklanmıştır (Zhou vd. 2014, Chung vd. 2015, Li vd. 2017). Buna göre, kopigmentasyonun H bağı ile oluştuğu düşünülürse, kopigment maddelerin yapısında bulunan serbest hidroksil grubu sayısının azalması, kopigmentasyon etkisini de azaltacaktır (Baranac vd. 1997). Aspartik asidin bünyesinde bulunan hidroksil gruplarının fazla olması bu amino asidin antosiyanin stabilitesini artırmasına etki etmiş olduğu düşünülmektedir. Prolin ise bu sıcaklıkta diğer kopigment kaynaklarına göre tam tersi etki göstermiştir (%30.1 oranında artış) (Çizelge 4.5). Bu sonuçlar 105°C sıcaklıkta batokromik kayma sağlayan aspartik asit ve valinin hiperkromik etki de göstererek kopigmentasyon reaksiyonunu gerçekleştirdiklerini kanıtlamaktadır. Bu amino asitlerin kopigmentasyon reaksiyonu gerçekleştirip prolinin gerçekleştirememesinin nedeni; prolinin nar suyunda yüksek miktarda bulunan fenolik maddelerle interaksiyona girmesi (Bennick, 2002; Charlton vd. 2002) olduğu düşünülmektedir. Prolinin kendisi doğrudan kopigmentasyona katılmadığı gibi, nar suyunda doğal olarak bulunan ve kopigmentasyon etkisine sahip olan fenolikleri de bağlaması nedeniyle, bu maddelerin de antosiyaninlerle kopigmentasyon yapmasına engel olduğu ve böylece prolin

eklenmiş örneklerde kontrol örneğinden daha fazla miktarda A_{maks} değerlerinde azalmalara sebep olduğu düşünülmektedir.

150°C’de A_{maks} değerlerindeki azalma tüm amino asitler için artış göstermiştir (Çizelge 4.5). Bu sıcaklık derecesinde batokromik kayma görülmediği gibi hiperkromik etki de görülmediğinden bu sıcaklıkta kopigmentasyonun gerçekleşmediği açıkça söylenebilmektedir.

Çizelge 4.5 Meyve suyu örneklerinin A_{maks} değerlerine ilişkin kinetik parametreler

Sıcaklık (°C)	Kopigment kaynağı	k (Abs/dak)	% etki
90	Kontrol	0.0013	
	Aspartik asit	0.0013	-0.5
	Prolin	0.0013	1.0
	Valin	0.0014	8.6
105	Kontrol	0.0022	
	Aspartik asit	0.0013	-41.7
	Prolin	0.0029	30.1
	Valin	0.0012	-47.5
150	Kontrol	0.0050	
	Aspartik asit	0.0067	33.9
	Prolin	0.0064	28.6
	Valin	0.0061	22.5

4.3 Karışık Meyve Sularında Renk Yoğunluğu, Polimerik Renk ve Polimerik Renk Oranındaki Değişimler

Karışık meyve sularının parçalanma ölçütleri olarak da bilinen bu değerlerdeki değişimi gösteren veriler, EK 4, 5 ve 6'da ve Çizelge 4.6, 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Isıl işlem öncesi kontrol grubunda; renk yoğunluğu 2.33 olarak gözlemlenmiş, bu değer kopigment kaynakları eklendikten sonra valin (%2.15 oranında artış) eklenmiş meyve suları hariç diğer kopigmentlerde azalma gözlenmiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.6).

90°C'de ısıtma sonrası renk yoğunluğu değerleri tüm kopigment kaynaklarında azalma gösterirken, 105°C'de ısıtma sonrası prolin hariç tüm kopigmentler renk yoğunluğu değerine olumlu etki göstermiş ve bu değerlerin artmasını sağlamışlardır (Çizelge 4.7). Valin bu sıcaklıkta ısıtma sonrası renk yoğunluğunu %7.5 oranında artırırken, aspartik asit de %3.7 oranında artırmıştır. 105°C'de renk yoğunluğu değeri üzerine en etkili kopigment valin ve aspartik asit olduğundan bu sıcaklık değerinde renk yoğunluğu korunmak isteniyorsa valin veya aspartik asit kullanılması önerilmektedir. Ayrıca 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). Sonuçta; "4.1 Karışık Meyve Sularının Isıtma Süresince Monomerik Antosiyanin İçeriğindeki Değişim" ve "4.2 Farklı Sıcaklıklarda Isıtma Süresince Nar ve Portakal Sularından Oluşan Karışık Meyve Sularında Antosiyanin Kopigmentasyonu ve Kopigmentasyon Etkisindeki Değişim" bölümlerinde 105°C'de valin ve aspartik asidin en iyi kopigment etki gösterdiğine ulaşıldığı gibi bu durumu, renk yoğunluğuna en fazla etki etmeleri de desteklemektedir.

Çizelge 4.6 90°C’de ısıtılmış ve farklı kopigment kaynağı ilave edilmiş meyve sularında parçalanma ölçütlerine ilişkin veriler

Kopigment (amino asit)	Süre (dak)	Renk Yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Kontrol	0	2.33±0.00	0.96±0.00	41.2±0.28
	30	2.15±0.01	1.21±0.01	56.3±0.28
	60	2.20±0.00	1.30±0.00	59.1±0.00
	90	2.16±0.03	1.40±0.00	64.8±0.00
	120	2.04±0.06	1.27±0.01	62.3±0.21
	150	1.99±0.01	1.29±0.01	64.8±0.28
	180	2.02±0.01	1.36±0.00	67.3±0.00
Aspartik asit	0	2.28±0.00	0.85±0.01	37.3±0.14
	30	2.29±0.01	1.29±0.01	56.3±0.28
	60	2.28±0.00	1.34±0.00	58.8±0.71
	90	2.06±0.00	1.28±0.00	62.1±0.00
	120	2.06±0.03	1.26±0.00	61.2±0.00
	150	1.90±0.00	1.23±0.01	64.8±0.78
	180	1.88±0.00	1.33±0.01	70.8±0.35
Prolin	0	2.30±0.00	0.89±0.01	38.7±0.14
	30	2.22±0.00	1.23±0.01	55.5±0.64
	60	2.16±0.07	1.28±0.03	59.3±0.50
	90	2.10±0.03	1.34±0.00	63.8±0.85
	120	2.00±0.07	1.20±0.03	60.0±0.57
	150	2.13±0.00	1.44±0.00	67.6±0.42
	180	1.87±0.03	1.35±0.01	72.2±0.21
Valin	0	2.38±0.00	0.92±0.00	38.7±0.00
	30	2.54±0.00	1.57±0.01	61.8±0.57
	60	2.45±0.07	1.58±0.03	64.5±0.78
	90	2.20±0.00	1.36±0.00	61.8±0.00
	120	2.02±0.00	1.20±0.03	59.4±0.57
	150	2.01±0.00	1.30±0.00	64.7±0.42
	180	1.92±0.00	1.31±0.01	68.3±0.78

Çizelge 4.7 105°C’de ısıtılmış ve farklı kopigment kaynağı ilave edilmiş meyve sularında parçalanma ölçütlerine ilişkin veriler

Kopigment (amino asit)	Süre (dak)	Renk Yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Kontrol	0	2.33±0.00	0.96±0.00	41.2±0.28
	20	2.16±0.06	1.03±0.01	47.7±0.57
	40	2.10±0.00	0.98±0.00	46.7±0.00
	60	2.87±0.01	1.78±0.00	62.0±0.28
	80	2.14±0.03	1.32±0.03	61.7±0.49
	100	1.84±0.03	1.39±0.01	75.6±0.35
	120	1.88±0.00	1.36±0.00	72.3±0.00
Aspartik asit	0	2.28±0.00	0.85±0.01	37.3±0.14
	20	2.15±0.04	0.94±0.03	43.7±0.42
	40	1.96±0.00	1.00±0.00	51.0±0.00
	60	2.20±0.06	1.15±0.04	52.3±0.57
	80	0.24±0.00	1.08±0.00	450.0±0.00
	100	1.90±0.03	1.20±0.03	63.2±0.49
	120	1.95±0.04	1.08±0.03	55.4±0.28
Prolin	0	2.30±0.00	0.89±0.01	38.7±0.14
	20	2.34±0.00	1.07±0.01	47.8±0.64
	40	3.27±0.01	2.14±0.00	65.4±0.28
	60	2.27±0.01	1.34±0.00	59.1±0.35
	80	2.03±0.01	1.42±0.03	70.0±0.92
	100	1.76±0.03	1.40±0.03	79.6±0.35
	120	1.82±0.00	1.46±0.00	80.2±0.00
Valin	0	2.38±0.00	0.92±0.00	38.7±0.00
	20	2.30±0.00	1.10±0.00	47.8±0.00
	40	2.20±0.00	1.16±0.00	52.7±0.00
	60	2.26±0.00	1.29±0.01	57.1±0.64
	80	2.26±0.03	1.36±0.00	60.2±0.78
	100	2.18±0.00	1.32±0.00	60.6±0.00
	120	2.02±0.00	1.19±0.01	58.9±0.71

Çizelge 4.8 150°C’de ısıtılmış ve farklı kopigment kaynağı ilave edilmiş meyve sularında parçalanma ölçütlerine ilişkin veriler

Kopigment (amino asit)	Süre (dak)	Renk Yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Kontrol	0	2.33±0.00	0.96±0.00	41.2±0.28
	10	2.12±0.00	1.12±0.00	52.8±0.00
	20	3.45±0.01	2.02±0.00	58.6±0.21
	30	2.38±0.03	1.49±0.01	62.6±0.14
	40	1.90±0.00	1.37±0.01	72.1±0.71
	50	1.90±0.00	1.25±0.01	65.8±0.71
	60	2.17±0.01	1.66±0.00	76.5±0.57
Aspartik asit	0	2.28±0.00	0.85±0.01	37.3±0.14
	10	2.03±0.01	0.94±0.00	46.3±0.28
	20	2.68±0.03	1.75±0.01	65.3±0.14
	30	2.09±0.01	1.08±0.00	51.7±0.35
	40	3.26±0.00	2.45±0.01	75.2±0.49
	50	2.47±0.01	1.93±0.01	78.2±1.06
	60	2.10±0.00	1.59±0.01	75.7±0.71
Prolin	0	2.30±0.00	0.89±0.01	38.7±0.14
	10	1.96±0.03	0.93±0.01	47.5±0.07
	20	2.26±0.00	1.10±0.00	48.7±0.00
	30	2.04±0.00	1.43±0.01	70.1±0.71
	40	2.04±0.00	1.60±0.00	78.4±0.00
	50	3.38±0.03	2.61±0.01	77.3±1.06
	60	2.33±0.04	1.89±0.01	81.1±0.85
Valin	0	2.38±0.00	0.92±0.00	38.7±0.00
	10	1.97±0.01	1.08±0.00	54.8±0.42
	20	2.75±0.04	1.67±0.04	60.8±0.64
	30	2.39±0.01	1.36±0.00	56.9±0.28
	40	2.25±0.01	1.78±0.03	79.1±0.71
	50	2.08±0.00	1.57±0.01	75.5±0.71
	60	2.36±0.00	1.83±0.01	77.6±0.64

Polimerik renk değeri ısıtma öncesi tüm kopigment kaynakları için azalmış, bu değerlerin farklılığı istatistiki açıdan kaydadeğer görülmüştür ($p<0.05$). Aspartik asit, ısıtma öncesi için polimerik renk değerini en çok azaltan kopigment kaynağı olmuştur (%11.5). Polimerik renk değeri farklı sıcaklık ve sürede uygulanan ısıtma süresince genel olarak artmıştır (Çizelge 4.6, 4.7, 4.8). Isıtma süresince polimerik renk değerindeki bu artışın; antosiyaninlerin polimerizasyonu, kopigmentasyon ya da antosiyaninlerin parçalanmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Kopjar vd. 2011). Polimerik renk oranı ısıtma öncesi kontrol grubuna göre bütün kopigment kaynakları için azalma gösterirken en fazla azalmayı aspartik asit göstermiştir (%9.47) ($p<0.05$). Polimerik renk oranı farklı sıcaklık ve sürede uygulanan ısıtma süresince artmıştır.

Isıl işlem süresince karışık meyve sularının monomerik antosiyanin içeriği azalma gösterirken, polimerik renk oranları artmıştır. Antosiyanin parçalanmasının polimerik renk üzerinde nasıl bir etki bıraktığını görebilmek amacıyla toplam monomerik antosiyanin konsantrasyonu ile polimerik renk oranı arasındaki ilişki incelenmiştir. Isıl işlem boyunca belirlenen toplam monomerik antosiyanin konsantrasyonları aritmetik ölçekli grafik kağıdının “x” eksenine, polimerik renk oranları (%) ise “y” eksenine yerleştirilmesi sonucunda, doğrusal grafikler elde edilmiştir. Bu grafiklerden elde edilen yüksek negatif korelasyonlar, meyve sularının monomerik antosiyanin içeriğindeki düşüş ve polimerik renkteki artışın güçlü bir şekilde birbirleriyle ilişkili olduğunu göstermektedir. [90°C ($r=(-0.653)-(-0.917)$), 105°C ($r=(-0.843)-(-0.976)$) ve 150°C ($r=(-0.841)-(-0.988)$)]. Bu durum da, amino asitlerle zenginleştirilmiş örneklerdeki polimerik renk oranının genel olarak monomerik antosiyanin miktarındaki azalmaya bağlı olduğunu göstermektedir. Bu azalma, monomerik antosiyaninlerin parçalanması nedeniyle olabileceği gibi, monomerik antosiyaninlere kopigmentlerin bağlanması sonucu oluşan polimerizasyondan da kaynaklanabilir. A_{maks} ve λ_{maks} değerlerindeki değişimin de işaret ettiği gibi örneklerdeki polimerik renk oranının artışı genel olarak kopigmentasyondan kaynaklanmaktadır.

5. SONUÇ

Araştırmamızda tespit edilen önemli sonuçlar şöyledir:

1. Nar ve portakal suyundan oluşmuş karışık meyve sularının ısıtma süresince renk ve stabilitesi üzerine kopigment olarak kullanılan amino asitlerin etkisinin olduğu bulunmuştur.
2. 90°C'de (pastörizasyon sıcaklığı); ısıtma boyunca hiperkromik etkiyi hiçbir amino asit göstermemiştir. Antosiyanin stabilitesini de bu sıcaklıkta hiçbir kopigment arttıramamış, stabiliteyi en çok sağlayan grup kontrol grubu olmuştur. Bu yüzden pastörizasyon işlemi uygulanacak ürünlerde amino asit kullanımı önerilmemektedir.
3. 105°C'de (reçel üretim sıcaklığı); aspartik asit ve valin en yüksek hiperkromik etkiyi sağlamıştır. Yüksek antosiyanin stabilitesi ve polimerik renk oranı da bu amino asitler için 105°C'de kopigmentasyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Bu nedenlerle; nar ve portakaldan karışık reçel yapılması durumunda, kopigment kaynağı olarak aspartik asit ve valin kullanılmasının önemli fayda sağlayacağı görülmektedir. Ayrıca 105°C'de renk yoğunluğu değeri üzerine en etkili kopigment valin ve aspartik asit olduğundan bu sıcaklık değerinde renk yoğunluğu korunmak isteniyorsa valin veya aspartik asit kullanılması önerilmektedir.
4. 150°C'de (fırıncılık ürünleri üretim sıcaklığı); hiçbir amino asit hiperkromik etki göstermemiş ve antosiyanin stabilitesini arttırmamıştır. Bu nedenle fırıncılık ürünleri üretiminde kopigment olarak amino asit kullanımı önerilmemektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, J., B. 1973. Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin. I. In acidified aqueous solution at 100. deg. Journal of the Science of Food and Agriculture, 24, 747–762.
- Akdağ, E. 2011. Türkiye Meyve Suyu vb. Ürünler Sanayi Raporu. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği (MEYED), İstanbul.
- Akgün, C. 2006. Turunçgiller Sektör Profili. Dış Ticaret Servisi Uygulama Şubesi. Ankara
- Amr, A. ve Al-Tamimi, E. 2007. Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants. International Journal of Food Science and Technology, 42, 985–991.
- Anonim. 2011. Web Sitesi: <http://www.gida2000.com/turkiye-meyve-suyu-sektor-degerlendirmes.html>. Erişim Tarihi: 29.07.2019.
- Anonim. 2017. Web Sitesi: <https://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi22/6-11.pdf>. Erişim Tarihi: 10.06.2019.
- Anonim. 2019. Web Sitesi: <https://aminoacidsguide.com/>. Erişim Tarihi: 12.06.2019.
- Anonim. 2019. Web Sitesi: <http://www.thedailyrecords.com/2018-2019-2020-2021/world-famous-top-10-list/world/largest-pomegranate-producing-countries-world-statistics/6874/>. Erişim Tarihi: 01.08.2019.
- Asen, S., Stewart, R. N. ve Norris, K. H. 1972. Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. Phytochemistry, 11, 1139–1144.
- Baranac, J. M., Petranovic, N. A., ve Dimitric-Markovic, J. M. 1997. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 4. Malvin and apigenin 7-glucoside. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 1701–1703.
- Bauernfeind, J. C., ve Pinkert, D. M. 1970. Food Processing with added ascorbic acid. Advances in Food Research. 18, 219- 315.
- Bechtold, T. ve Mussak, R. 2009. Handbook of Natural Colorants. Wiley Publication, 434, Austria.
- 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, 67–87.

- Brenes, C. H., Pozo-Insfran, D. 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, 49–56.
- Bridle, P. ve Timberlake, C. F. 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chemistry*, 58, 103–109.
- Brouillard, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. In: Anthocyanins as food colors. Markakis, P. (ed.) Academic Press, 1–38, New York, NY, U.S.A.
- 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, 499–509.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A. ve Galán-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859– 871.
- Cemeroğlu, B. ve Acar, J. 1986. Meyve sebze işleme teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No:6, 509, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Velioglu, S., Erbaş, Ş., Ünal, Ç. ve Yıldız, O. 1994. Vişne ve nar sularının kimyasal tanı değerlerinin saptanması üzerine araştırmalar. TÜBİTAK, TGGAG-29/A. Ankara.
- Cemeroğlu, B., Yemencioğlu, A. ve Özkan, M. 2001. Meyve ve sebzelerin bileşimi, soğukta depolanmaları, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 328, Ankara.
- Charlton, A. J., Baxter, N. J., Khan, M. L., Moir, A. J., Haslam, E., Davies, A. P. ve Williamson, M. P. 2002. Polyphenol/peptide binding and precipitation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 1593–601.
- 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, 753–759.
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W., ve McClements, D. J. 2015. Enhanced stability of anthocyanin-based color in model beverage systems through whey protein isolate complexation. *Food Research International*, 76, 761-768.
- Chung, C., Rojanasasithara, T., Mutilangi, W. ve McClements, D. J. 2017. Stability improvement of natural food colors: impact of amino acid and peptide addition on anthocyanin stability in model beverages. *Food Chemistry*, 218, 277–284.
- Clark, J. ve Deswarte, F. 2015. Introduction to Chemicals from Biomass. Wiley Publication, 344, London, England.

- Clifford, M. N. 2000. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden, Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1063–1072.
- Coşkun, F. 2006. Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 27-33.
- Deutsch, J. C. 1998. Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide. *Analytical Biochemistry*, 255, 1–7.
- Du, C. T., Wang, P. L. ve Francis, F. J. 1975. Anthocyanins of pomegranate, *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, 40, 417–418.
- 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, 7461–7466.
- El-Nemr, S. E., Ismail, I. A. ve Ragab, M. 1990. Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. *Nahrung*, 7, 601–606.
- Ersus, S. ve Yurdagel, Ü. 2006. Meyve ve sebzelerde bulunan antosiyaninlerin kimyasal yapısı ve stabilitesini etkileyen faktörler. *Dünya Gıda*, 10, 78–87.
- Eskin, N. A. M. 1990. Biochemistry of food processing: Browning reactions in foods. In: *Biochemistry of Foods*. Academic Press, 240–295, London.
- 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, 5946–5954.
- Ferreira da Silva, P., Lima, J. C., Freitas, A. A., Shimizu, K., Maçanita, A. L. ve Quina, F. H. 2005. Charge-transfer complexation as a general phenomenon in the copigmentation of anthocyanins. *The Journal of Physical Chemistry*, 109, 7329–7338.
- Garcia-Viguera, C. ve Bridle, P. 1999. Influence of structure on the color stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. *Food Chemistry*, 64, 21–26.
- Gaonkar, A., G. 1995. *Ingredient Interactions: Effects on Food Quality*. Marcel Dekker, 596, New York, NY, U.S.A.
- Gauche, C., Malagoli, E. S. ve Luiz, M. T. B. 2010. Effect of pH on the copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts with organic acids. *Scientia Agricola*, 67, 41–46.
- Geissman, T. A. 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. The MacMillan Co., 666, 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, Review. *Biochemical Engineering Journal*, 14, 217–225.
- Glover, B. J. ve Martin, C. 2012. Anthocyanins. *Current Biology*, 22, 147- 150.
- Harborne, J. B. 1958. Spectral methods of characterizing anthocyanins. *Biochemical Journal*, 70, 22-28.
- Harborne, J. B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids-VI: Flavonoid patterns in the bignoniaceae and the gesneriaceae. *Phytochemistry*, 6, 1643–1651.
- He, Z., Xu, M., Zeng, M., Qian, F. ve Chen, J. 2016. Preheated milk proteins improve the stability of grape skin anthocyanins extracts. *Food Chemistry*, 210, 221–227.
- Hrazdina, G. 1970. Oxidation of the anthocyanidin-3,5-diglucosides with H₂O₂: The structure of malvone. *Phytochemistry*, 9, 1647–1652.
- Huelin, F. E. 1953. Studies on the anaerobic decomposition of ascorbic acid. *Food Research*, 18, 633–639.
- Hui, Y. H. 2006. *Food Biochemistry and Food Processing*. Blackwell Publishing, 769, U.S.A.
- Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M. A. ve Speers, R. A. 1987. Anthocyanins as Food Colorants, A review. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 201–247.
- Jackman, R. L. ve Smith, J. L. 1996. Anthocyanins and betalains, In: *Natural Food Colorant*. Hendry, G. A. F. ve Houghton, J. D. (eds), Blackie Academic and Professional, 249–309, Glasgow, Scotland.
- 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.
- Kader, F., Rovel, B., Girardin, M. ve Metche, M. 1997. Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). Partial purification and characterization of blueberry polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73, 513–516.
- Karrer, P., ve De Meuron, G. 1932. Pflanzenfarbstoffe. XL. Zur kenntnis des oxydativen abbaus der antho-cyane. Konstitution des Malvons. *Helvetica Chimica Acta*, 15, 507.
- Khan, M. M. T. ve Martell, A. E. 1967. Metal ion and metal chelate catalyzed oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. II. Cupric and ferric ion catalyzed oxidation. *Journal of the American Chemical Society*, 89, 7104–7111.

- Kelebek, H. ve Canbaş, A. 2010. Hicaz narı şırasının organik asit, şeker ve fenol bileşikleri içeriği ve antioksidan kapasitesi. *Gıda*, 35, 439–444.
- Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2001. The mechanism of ascorbic acid degradation, *Gıda Dergisi*, 26, 233–242.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 109, Ankara.
- 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, 9–15.
- Legua, P., Melgarejo, P., Martı´nez, J. J., Martı´nez, R. ve Hernandez, F. 2010. Evaluation of Spanish pomegranate juices: Organic acids, sugars, and anthocyanins. *International Journal of Food Properties*, 15, 481–494.
- Leong, S. Y., Burritt, D. J., Hocquel, A., Penberthy, A. ve Oey, I. 2017. The relationship between the anthocyanin and vitamin C contents of red-fleshed sweet cherries and the ability of fruit digests to reduce hydrogen peroxide-induced oxidative stress in Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 227, 404–412.
- Li, S., Zhu, Z., Pinto, C. A., Barba, F. J., He, J., Montesano, D. ve Saraiva, J. A. 2017. Evaluation of gliadins-diglycosylated cyanidins interaction from litchi pericarp through ultraviolet and fluorescence measurements. *International Journal of Food Properties*, 20, 2418–2428.
- Linskens, H. F. ve Jackson, J. F. 1987. *High Performance Liquid Chromatography in Plant Sciences*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 248, New York, NY, U.S.A.
- Malik, A., Afaq, F., Sarfaraz, S., Madhami, V., Syed, D. ve Mukhtar, H. 2005. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 102, 14813–14818.
- Markasis, P., Livingston, G. E. ve Fellers, C. R. 1957. Quantitative aspects of strawberry pigment degradation. *Food Research*, 22, 117–129.
- Markasis, P. 1974. Anthocyanins and their stability in food. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 4, 437–456.
- Markasis, P. 1982. *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, 280, London, England.
- Martı´, N., Pe´rez-Vicente, A. ve Garcı’a-Viguera, C. 2001. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 217–221.

- Mazza, G. ve Brouillard, R. 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29, 1097–1102.
- Mazza, G. ve Miniati, E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*, CRC Press, 362, London, England.
- Mercali, G. D., Schwartz, S., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C. ve Sastry, S. 2014. Ascorbic acid degradation and color changes in acerola pulp during ohmic heating: Effect of electric field frequency. *Journal of Food Engineering*, 123, 1–7.
- Meschter, E. E. 1953. Effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1, 574–579.
- Naik, P. 2012. *Essentials of Biochemistry*. Jaypee Brothers Medical Publishers, 518, India.
- 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.
- 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, 499–504.
- Özkan, M., Yemenicioglu, A., Asefi, N. ve Cemeroglu, B. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juices by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science*, 67, 525–529.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroglu, B. 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Food Chemistry*, 88, 591–597.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroglu, B. 2010. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri, *Gıda Analizleri*. Cemeroglu, B. (ed.), Bizim Grup Basımevi, 85–155, Ankara.
- Pacheco-palencia, L. A., Hawken, P. ve Talcott, S. T. 2007. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International*, 40, 620–628.
- Packer, L. ve Puchs, J. 1997. *Vitamin C in Health and Disease*. Marcel Dekker Inc., 560, U.S.A.
- Palamidis, N. ve Markakis, P. 1978. Stability of grape anthocyanin in carbonated beverages. *Semana Vitivinicola*, 33, 2633, 2635, 2637–2639.

- 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 & Technology*, 21, 3–11.
- Poei-Langston, M. S. ve Wrolstad, R. E. 1981. Color degradation in an ascorbic acid-anthocyaninflavanol model system. *Journal of Food Science* 46, 1218–1222, 1236.
- Pridham, J. B. 1965. Phenol-carbohydrate derivatives in higher plants, In: *Advances in Carbohydrate Chemistry*. Wolfrom, M., L. (ed.), Academic Press, 371–407, New York, NY, U.S.A.
- Rababah, T. M., Ereifej, K. I. ve Howard, L. 2005. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4444–4447.
- Rein, M. J. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Academic dissertation. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 87, Helsinki, Finland.
- Sadilova, E., Carle, R. ve Stintzing, F., C. 2007. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51, 1461–1471.
- Sadilova, E., Stintzing, F. C., Kammerer, D. R. ve Carle, R. 2009. Matrix dependent impact of sugar and ascorbic acid addition on color and anthocyanin stability of black carrot, elderberry and strawberry single strength and from concentrate juices upon thermal treatment. *Food Research International*, 42, 1023–1033.
- Schuler, P. 1990. Natural antioxidants exploited commercially, In: *Food Antioxidants*. Hudson, B. J. F. (ed.), Elsevier Applied Science, 99-170, London, England.
- Shenoy, V., R. 2018. Anthocyanins—Prospective food colours. *Current Science*, 64, 575–579.
- Silverblatt, E., Robinson, A. L. ve King, C. G. 1943. The kinetics of the reaction between ascorbic acid and oxygen in the presence of copper ion. *Journal of the American Chemical Society*, 65, 137–141.
- Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Morthy, V. ve Ramassamy, C. 2008. Challenges for Research on Polyphenols from Foods in Alzheimer's Disease: Bioavailability, Metabolism and Cellular and Molecular Mechanism. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 4855–4873.
- Sistrunk, W. A. ve Cash, J. N. 1970. The effect of certain chemicals on the color and polysaccharides of strawberry puree. *Food Technology*, 24, 169–173.

- Sondheimer, E. ve Kertesz, Z. I. 1952. The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Food Research*, 17, 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, 91–93.
- Stebbins, N. B., Howard, L. R., Prior, R. L., Brownmiller, C., Liyanage, R., Lay, J. O., Yang, X. ve Qian, S. Y. 2016. Ascorbic acid-catalyzed degradation of cyanidin-3-O-glucoside: Proposed mechanism and identification of a novel hydroxylated product. *Journal of Berry Research*, 6, 175–187.
- Sui, X., Sun, H., Qi, B., Zhang, M., Li, Y. ve Jiang, L. 2018. Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: Focus on covalent and non-covalent interactions. *Food Chemistry*, 245, 871–878.
- 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, 957–963.
- Tang, L., Zuo, H. ve Shu, L. 2014. Comparison of the interaction between three anthocyanins and human serum albumins by spectroscopy. *Journal of Luminescence*, 153, 54–63.
- Theron, M. M. ve Lues, J. F. R. 2010. *Organic Acids and Food Preservation*. CRC Press, 340, London, England.
- Tinsley, I. J. ve Bockian, A. H. 1960. Some effects of sugars on the breakdown of pelargonidin-3-glucoside in model systems at 90 °C. *Food Research*, 25, 161–173.
- Turfan, Ö. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek lisans tezi, 153, Ankara.
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. ve Özkan, M. 2011. Anthocyanin and colour changes during processing of pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) juice from sacs and whole fruit. *Food Chemistry*, 129, 1644–1651.
- Türkyılmaz M. 2009. Siyah havuç suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler. Doktora hazırlık çalışması, Ankara Üniversitesi, 119, Ankara.
- Türkyılmaz, M., Yemiş, O. ve Özkan, M. 2012. Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. *Food Chemistry*, 134, 1052–1058.

- Udenfriend, S., Clark, C. T., Axelrod, J. ve Brodie, B. B. 1952. Ascorbic acid in aromatic hydroxylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 208, 731–739.
- Usman, M. ve Davidson, J. 2014. *Health Benefits of Oranges for Cooking and Health*. JD-Biz Publishing, 44, U.S.A.
- Vermerris, W. ve Nicholson, R. 2008. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Science & Business Media, 276, U.S.A.
- Versari, A., Parpinello, G. P. ve Mattioli, A. U. 2007. Characterisation of colour components and polymeric pigments of commercial red wines by using selected uv-vis spectrophotometric method. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 28, 6.
- Von Elbe, J. H. ve Schwartz, S. J. 1996. Colorants in food chemistry, In: *Food Chemistry*. Fennema, O. R. (ed), Marcel Dekker, 651–722, New York, NY, U.S.A.
- Yuan, J. P. ve Chen, F. 1998. Degradation of ascorbic acid in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5078–5082.
- Wang, H., Cao, G. ve Prior, R. L. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 304–309.
- Zhou, R., Dong, X., Song, L. ve Jing, H. 2014. Interaction mode and nanoparticle formation of bovine serum albumin and anthocyanin in three buffer solutions. *Journal of Luminescence*, 155, 244–250.

EKLER

EK 1 Meyve sularının monomerik antosiyanin miktarlarına (mg/L) ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

EK 2 Meyve sularının ısıtma süresince batokromik (λ_{maks}) değişimine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

EK 3 Meyve sularının hiperkromik değişimine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

EK 4 Meyve sularının renk yoğunluğu değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

EK 5 Meyve sularının polimerik renk değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

EK 6 Meyve sularının polimerik renk oranı değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

EK 1 Meyve sularının monomerik antosiyanin miktarlarına* (mg/L) ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre (dak)	Kopigment			
		Kontrol	Aspartik asit	Prolin	Valin
90	0	123.5±0.7 Ab	123.5±0.7 Ab	126.0±0.0 Aa	125.5±0.7 Aa
	30	97.5±0.7 Bb	97.5±0.7 Bb	100.0±0.0 Ba	99.5±0.7 Ba
	60	83.5±0.7 Ca	78.5±0.7 Cc	79.0±0.0 Cbc	80.0±0.0 Cb
	90	66.5±0.7 Da	63.5±0.7 Dc	64.0±0.0 Dbc	65.0±0.0 Db
	120	55.0±0.0 Ec	57.5±0.7 Eb	59.0±0.0 Ea	58.0±0.0 Eb
	150	46.5±0.7 Fc	48.0±0.0 Fb	47.0±0.0 Fbc	48.5±0.7 Fa
	180	40.0±0.0 Ga	36.5±0.7 Gbc	37.5±0.7 Gb	36.0±0.0 Gc
105	0	123.5±0.7 Ab	123.5±0.7 Ab	126.0±0.0 Aa	125.5±0.7 Aa
	20	102.5±0.7 Bb	104.5±0.7 Bab	102.5±0.7 Bb	105.5±0.7 Ba
	40	101.5±0.7 Ba	85.5±0.7 Dd	98.5±0.7 Cb	96.5±0.7 Cc
	60	91.0±0.0 Ca	91.0±1.4 Ca	79.5±0.7 Db	81.5±0.7 Eb
	80	72.5±0.7 Dc	91.5±0.7 Cb	53.0±0.0 Ed	93.0±0.0 Da
	100	41.0±0.0 Ec	52.0±0.0 Fb	28.0±0.0 Fd	73.0±0.0 Fa
	120	34.5±0.7 Fc	72.5±0.7 Ea	15.0±0.0 Gd	71.0±0.0 Gb
150	0	123.5±0.7 Ab	123.5±0.7 Ab	126.0±0.0 Aa	125.5±0.7 Aa
	10	94.5±0.7 Bc	100.5±0.7 Ba	90.5±0.7 Bd	97.0±0.0 Bb
	20	89.5±0.7 Cc	95.0±0.0 Ca	97.0±0.0 Ca	92.0±0.4 Cb
	30	69.5±0.7 Dc	87.5±0.7 Da	32.5±0.7 Dd	83.5±0.7 Db
	40	26.5±0.7 Ga	2.0±0.0 Fd	7.0±0.0 Eb	6.0±0.0 Gc
	50	39.0±0.0 Ea	5.0±0.0 Ec	1.0±0.0 Gd	24.0±0.0 Eb
	60	29.0±0.0 Fa	11.0±0.0 Gb	5.0±0.0 Fd	9.0±0.0 Fc

*: Monomerik antosiyanin miktarı (toplam), hesabındapelargonidin-3-glukozid esas alınmıştır.

** : Her bir sıcaklık kendi içinde harflendirilmiştir.

*** Monomerik antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur.

****A-G : Aynı örnekteki, aynı sütundaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir. (p<0.05).

*****a–d : Aynı depolama süresinde tüm örneklerde, farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir (p<0.05).

EK 2 Meyve sularının ısıtma süresince batokromik (λ_{maks}) değişimine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre (dak)	Kopigment			
		Kontrol	Aspartik asit	Prolin	Valin
90	0	512±0 Aa	512±0 Aa	512±0 ABa	512±0 Aa
	30	512±0 Aa	511±0 Aa	511±0 BCa	511±0 ABa
	60	512±0 Aa	512±1 Aa	511±1 BCa	512±0 ABa
	90	510±1 Aa	511±0 Aa	512±1 Ba	511±2 ABa
	120	512±2 Aa	512±2 Aa	513±0 Aa	510±0 Ba
	150	511±1 Aa	512±0 Aa	510±1 CDa	511±0 ABa
	180	511±1 Aa	511±1 Aa	510±0 Da	512±1 Aa
105	0	512±1 Aa	512±0 Aa	512±0 Aa	512±0 Aa
	20	512±0 Aa	512±0 Aa	511±2 Aa	512±0 Aa
	40	512±0 Aa	511±0 Aa	511±1 Aa	512±0 Aa
	60	511±0 Aa	512±0 Aa	511±0 Aa	511±2 Aa
	80	512±2 Aa	512±1 Aa	511±0 Aa	511±0 Aa
	100	512±0 Aa	511±1 Aa	509±1 ABa	511±0 Aa
	120	512±0 Aa	512±0 Aa	507±2 Bb	511±1 Aa
150	0	512±1 Ba	512±0 Aa	513±0 Aa	512±0 Ba
	10	512±0 Ba	511±0 Aa	512±1 Aa	511±0 Ba
	20	511±1 Ba	511±0 Aa	513±0 Aa	512±1 Ba
	30	511±0 Ba	511±1 Aa	510±1 Aa	511±1 Ba
	40	506±3 Ca	504±4 Bab	497±1 Cbc	496±0 Dc
	50	524±0 Aa	507±2 Bb	505±1 Bb	522±1 Aa
	60	522±1 Aa	505±1 Bb	487±4 Dc	501±4 Cb

*: Her bir sıcaklık kendi içinde harflendirilmiştir.

**A–D : Aynı sütundaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir ($p<0.05$).

***a–c : Aynı satırdaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir ($p<0.05$).

EK 3 Meyve sularının hiperkromik değişimine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre (dak)	Kopigment			
		Kontrol	Aspartik asit	Prolin	Valin
90	0	0.451±0.00 Aab	0.447±0.00 Ab	0.454±0.00 Aa	0.455±0.00 Aa
	30	0.371±0.00 Bc	0.378±0.00 Bbc	0.384±0.00 Bb	0.401±0.00 Ba
	60	0.336±0.01 Ca	0.325±0.00 Cb	0.318±0.00 Cc	0.335±0.00 Ca
	90	0.278±0.00 Da	0.271±0.00 Db	0.272±0.00 Db	0.277±0.00 Da
	120	0.244±0.00 Eb	0.255±0.00 Ea	0.255±0.00 Ea	0.252±0.00 Ea
	150	0.219±0.00 Fc	0.225±0.00 Fb	0.232±0.00 Fa	0.226±0.00 Fb
	180	0.202±0.00 Ga	0.192±0.00 Gb	0.191±0.00 Gb	0.185±0.00 Gc
105	0	0.451±0.00 Aab	0.447±0.00 Ab	0.454±0.00 Aa	0.455±0.00 Aa
	20	0.386±0.00 Cb	0.389±0.00 Bb	0.388±0.00 Cb	0.395±0.00 Ba
	40	0.384±0.00 Cb	0.331±0.00 Ed	0.441±0.00 Ba	0.369±0.00 Cc
	60	0.395±0.00 Ba	0.362±0.00 Cb	0.334±0.00 Dc	0.337±0.00 Dc
	80	0.299±0.00 Dc	0.353±0.00 Db	0.245±0.00 Ed	0.367±0.00 Ca
	100	0.202±0.00 Dc	0.237±0.00 Db	0.163±0.00 Ed	0.306±0.00 Ca
	120	0.183±0.00 Ec	0.296±0.00 Fa	0.124±0.00 Fd	0.294±0.00 Ea
150	0	0.451±0.00 Aab	0.447±0.00 Ab	0.454±0.00 Aa	0.455±0.00 Aa
	10	0.364±0.00 Cc	0.378±0.00 Ca	0.345±0.00 Cd	0.371±0.00 Cb
	20	0.423±0.01 Ba	0.408±0.01 Ba	0.373±0.00 Bb	0.385±0.00 Bb
	30	0.307±0.00 Dc	0.348±0.00 Da	0.180±0.00 Dd	0.344±0.00 Db
	40	0.160±0.00 Gc	0.100±0.00 Fb	0.102±0.00 Fa	0.105±0.00 Ga
	50	0.208±0.00 Ea	0.102±0.00 Ec	0.100±0.00 Fc	0.169±0.00 Eb
	60	0.175±0.00 Fa	0.107±0.00 Eb	0.107±0.00 Eb	0.111±0.00 Fb

*: Her bir sıcaklık kendi içinde harflendirilmiştir.

**A–F : Aynı sütundaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdır (p<0.05).

***a–d : Aynı satırdaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdır (p<0.05).

EK 4 Meyve sularının renk yoğunluğu değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre (dak)	Renk yoğunluğu			
		Kontrol	Aspartik asit	Prolin	Valin
90	0	2.33±0.00 Ab	2.28±0.00 Ab	2.30±0.00 Ab	2.38±0.00 Ba
	30	2.15±0.01 Bd	2.29±0.01 Ac	2.22±0.00 Bb	2.54±0.00 Aa
	60	2.20±0.00 Bbc	2.28±0.00 Ab	2.16±0.07 BCc	2.45±0.07 ABa
	90	2.16±0.03 Ba	2.06±0.00 Bb	2.10±0.03 Cb	2.20±0.00 Ca
	120	2.04±0.06 Ca	2.06±0.03 Ba	2.00±0.07 Ca	2.02±0.00 Da
	150	1.99±0.01 Db	1.90±0.00 Cc	2.13±0.00 BCa	2.01±0.00 Db
	180	2.02±0.01 CDa	1.88±0.00 Cb	1.87±0.03 Db	1.92±0.00 Eb
105	0	2.33±0.00 Bb	2.28±0.00 Ab	2.30±0.00 Cb	2.38±0.00 Aa
	20	2.16±0.06 Cb	2.15±0.04 Bb	2.34±0.00 Ba	2.30±0.00 Ba
	40	2.10±0.00 Cc	1.96±0.00 Cd	3.27±0.01 Aa	2.20±0.00 Db
	60	2.87±0.01 Aa	2.20±0.06 Bb	2.27±0.01 Cb	2.26±0.00 Cb
	80	2.14±0.03 Cb	0.24±0.00 Dd	2.03±0.01 Dc	2.26±0.03Ca
	100	1.84±0.03 Db	1.90±0.03 Cb	1.76±0.03 Fc	2.18±0.00 Da
	120	1.88±0.00 Dc	1.95±0.04 Cb	1.82±0.00 Ed	2.02±0.00 Ea
150	0	2.33±0.00 Cb	2.28±0.00 Db	2.30±0.00 BCb	2.38±0.00 Ba
	10	2.12±0.00 Ea	2.03±0.01 Fb	1.96±0.03 Ec	1.97±0.01 Ec
	20	3.45±0.01Aa	2.68±0.03 Bc	2.26±0.00Cb	2.75±0.04 Ab
	30	2.38±0.03 Ba	2.09±0.01 Eb	2.04±0.00 Dc	2.39±0.01 Ba
	40	1.90±0.00 Fd	3.26±0.00 Aa	2.04±0.00 Dc	2.25±0.01 Cb
	50	1.90±0.00 Fd	2.47±0.01 Cb	3.38±0.03 Aa	2.08±0.00 Dc
	60	2.17±0.01 Db	2.10±0.00 Ec	2.33±0.04 Ba	2.36±0.00 Ba

*: Her bir sıcaklık kendi içinde harflendirilmiştir.

*A-F : Aynı sütundaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir (p<0.05).

**a-d : Aynı satırdaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir (p<0.05).

EK 5 Meyve sularının polimerik renk değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre (dak)	Polimerik renk			
		Kontrol	Aspartik asit	Prolin	Valin
90	0	0.96±0.00 Fa	0.85±0.01 Ed	0.89±0.01 Ec	0.92±0.00 Eb
	30	1.21±0.01 Ec	1.29±0.01 Bb	1.23±0.01 Dc	1.57±0.01 Aa
	60	1.30±0.00 Cbc	1.34±0.00 Ab	1.28±0.03 Cc	1.58±0.03 Aa
	90	1.40±0.00 Aa	1.28±0.00 BCc	1.34±0.00 Bb	1.36±0.00 Bb
	120	1.27±0.01 Da	1.26±0.00 Cab	1.20±0.03 Db	1.20±0.03 Db
	150	1.29±0.01 CDb	1.23±0.01 Dc	1.44±0.00 Aa	1.30±0.00 Cb
	180	1.36±0.00 Ba	1.33±0.01 Aab	1.35±0.01 Ba	1.31±0.01 Cb
105	0	0.96±0.00 Ea	0.85±0.01 Ed	0.89±0.01 Fc	0.92±0.00 Gb
	20	1.03±0.01 Db	0.94±0.03 Dc	1.07±0.01 Eab	1.10±0.00 Fa
	40	0.98±0.00 Ec	1.00±0.00 Cc	2.14±0.00 Aa	1.16±0.00 Eb
	60	1.78±0.00Aa	1.15±0.04 Ac	1.34±0.00 Db	1.29±0.01 Cb
	80	1.32±0.03 Cb	1.08±0.00 Bc	1.42±0.03 Ca	1.36±0.00 Ab
	100	1.39±0.01 Ba	1.20±0.03 Ac	1.40±0.03 Ca	1.32±0.00 Bb
	120	1.36±0.00 Bb	1.08±0.03 Bd	1.46±0.00 Ba	1.19±0.01 Dc
150	0	0.96±0.00 Ga	0.85±0.01 Gd	0.89±0.01 Gc	0.92±0.00 Gb
	10	1.12±0.00 Fa	0.94±0.00 Fc	0.93±0.01 Fc	1.08±0.00 Fb
	20	2.02±0.00 Aa	1.75±0.01 Cb	1.10±0.00 Ed	1.67±0.04 Cc
	30	1.49±0.01 Ca	1.08±0.00 Ed	1.43±0.01 Db	1.36±0.00 Ec
	40	1.37±0.01 Dd	2.45±0.01 Aa	1.60±0.00 Cc	1.78±0.03 Bb
	50	1.25±0.01 Ed	1.93±0.01 Bb	2.61±0.01 Aa	1.57±0.01 Dc
	60	1.66±0.00 Bc	1.59±0.01 Dd	1.89±0.01 Ba	1.83±0.01 Ab

*: Her bir sıcaklık kendi içinde harflendirilmiştir.

**A–G : Aynı sütundaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir (p<0.05).

***a–d : Aynı satırdaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydedeğerdir (p<0.05).

EK 6 Meyve sularının polimerik renk oranı değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Sıcaklık (°C)	Süre (dak)	Polimerik renk oranı			
		Kontrol	Aspartik asit	Prolin	Valin
90	0	41.2±0.28 Fa	37.3±0.14 Fc	38.7±0.14 Fb	38.7±0.00 Eb
	30	56.3±0.28 Eb	56.3±0.28 Eb	55.5±0.64 Eb	61.8±0.57 Ca
	60	59.1±0.00 Db	58.8±0.71 Db	59.3±0.50 Db	64.5±0.78 Ba
	90	64.8±0.00 Ba	62.1±0.00 Cb	63.8±0.85 Ca	61.8±0.00 Cb
	120	62.3±0.21 Ca	61.2±0.00 Ca	60.0±0.57 Db	59.4±0.57 Db
	150	64.8±0.28 Ba	64.8±0.78 Ba	67.6±0.42 Bb	64.7±0.42 Ba
	180	67.3±0.00 Ac	70.8±0.35 Ab	72.2±0.21 Aa	68.3±0.78 Ac
105	0	41.2±0.28 Fa	37.3±0.14 Gc	38.7±0.14 Fb	38.7±0.00 Fb
	20	47.7±0.57 Da	43.7±0.42 Fc	47.8±0.64 Eb	47.8±0.00 Ea
	40	46.7±0.00 Ed	51.0±0.00 Ec	65.4±0.28 Ca	52.7±0.00 Db
	60	62.0±0.28 Ca	52.3±0.57 Dd	59.1±0.35 Dc	57.1±0.64 Cb
	80	61.7±0.49 Cc	450.0±0.00 Aa	70.0±0.92 Bb	60.2±0.78 Ac
	100	75.6±0.35 Ab	63.2±0.49 Bc	79.6±0.35 Aa	60.6±0.00 Ad
	120	72.3±0.00 Bb	55.4±0.28 Cd	80.2±0.00 Aa	58.9±0.71 Bc
150	0	41.2±0.28 Ga	37.3±0.14 Fc	38.7±0.14 Eb	38.7±0.00 Gb
	10	52.8±0.00 Fb	46.3±0.28 Ed	47.5±0.07 Dc	54.8±0.42 Fa
	20	58.6±0.21 Ec	65.3±0.14 Ca	48.7±0.00 Dd	60.8±0.64 Db
	30	62.6±0.14 Db	51.7±0.35 Dd	70.1±0.71 Ca	56.9±0.28 Ec
	40	72.1±0.71 Bc	75.2±0.49 Bb	78.4±0.00 Ba	79.1±0.71 Aa
	50	65.8±0.71 Cc	78.2±1.06 Aa	77.3±1.06 Bab	75.5±0.71 Cb
	60	76.5±0.57 Ab	75.7±0.71 Bb	81.1±0.85 Aa	77.6±0.64 Bb

*: Her bir sıcaklık kendi içinde harflendirilmiştir.

**A-G : Aynı satırdaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydadeğerdir (p<0.05).

***a-d : Aynı sütundaki farklı harfleri içeren ortalamaların farklılığı kaydadeğerdir (p<0.05).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Handenur ÜNAL

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 1992

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Özel Evrensel Fen Lisesi (2006–2009)

Çankaya Lokman Hekim Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi (2009-2010)

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

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı (2016–)

Çalıştığı Kurumlar

- Ernes Grup Gıda, Gıda Mühendisi (2017–2018)
- Bolu Gençlik ve Spor İl Müdürlüğü, Yurt Yönetim Personeli (2018–halen)

Uluslararası Kongre Sunumu

- Alagöz Kabakcı, S., Türkyılmaz, M., **Ünal, H.** ve Özkan, M. Effects of K-sorbate dip parameters on sorbic acid content of dried apricots. 3rd International Congress on Food Technology, p.84, O391, 10–12 October 2018, Cappadocia, Turkey. (**Handenur ÜNAL** tarafından sunulmuştur.)
- Alagöz Kabakcı, S., Türkyılmaz, M., **Ünal, H.** ve Özkan, M. Development of simple titrimetric method for the determination of sorbic acid in dried apricots. 3rd International Congress on Food Technology, p.231, P390, 10-12 October 2018, Cappadocia, Turkey. (**Handenur ÜNAL** tarafından sunulmuştur.)