

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**VIŞNE SUYU KONSANTRESİNİN RENK YOĞUNLUĞU VE STABİLİTESİ
ÜZERİNE DOĞAL KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN KOPIĞMENTLERİN
ETKİSİ VE DEPOLAMA BOYUNCA RENKTE MEYDANA GELEN
DEĞİŞİMLER**

Ayşe NAVRUZ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2017**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ayşe NAVRUZ tarafından hazırlanan “Vişne Suyu Konsantresinin Renk Yoğunluğu ve Stabilitesi Üzerine Doğal Kaynaklardan Elde Edilen Kopigmentlerin Etkisi ve Depolama Boyunca Renkte Meydana Gelen Değişimler” adlı tez çalışması 25/04/2017 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. Mehmet ÖZKAN
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Meltem TÜRKYILMAZ
Ankara Üniversitesi / Gıda Güvenliği Enstitüsü

Üye : Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI
Hacettepe Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atilla YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi sırasında etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

25.04.2017



Ayşe NAVRUZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

VIŞNE SUYU KONSANTRESİNİN RENK YOĞUNLUĞU VE STABİLİTESİ ÜZERİNE DOĞAL KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN KOPİGMENTLERİN ETKİSİ VE DEPOLAMA BOYUNCA RENKTE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

Ayşe NAVRUZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Bu çalışmanın temel amacı, vişne suyu konsantresinin renk yoğunluğu ve stabilitesi üzerine doğal kaynaklardan elde edilen (nar kabuğu, yeşil çay ve kiraz sapı) kopigmentlerin ve gallik asit standardının etkisini belirlemektir. Bu çalışmanın diğer bir amacı da, vişne suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince renkte ve bulanıklıkta meydana gelen değişimlerin saptanmasıdır. Bu amaçla, örneklerin -20° ve 4°C 'de 6 ay, 20°C 'de ise, 110 gün depolama süresince; monomerik antosiyanin, hiperkromik etki, batokromik kayma, polimerik renk ve bulanıklık değerlerindeki değişimler incelenmiştir.

Gallik asit (%32), nar kabuğu ekstraktı (%23–40) ve yeşilçay ekstraktı (%31–54) antosiyanin stabilitesini artırırken, kiraz sapı ekstraktı (%17) antosiyanin stabilitesini azaltmıştır. Depolama sıcaklığı arttıkça, antosiyaninlerin parçalanması da artmıştır. 20°C 'de depolanan örneklerdeki antosiyanin parçalanma hızının 4°C 'de depolanan örneklere göre, %74–83 oranında daha fazla olduğu saptanmıştır.

4° ve 20°C 'de depolanan tüm örneklerin A_{maks} değerleri ve polimerik renk oluşum hızları (4°C 'de %12–60 ve 20°C 'de %21–85) azalmıştır. 20°C 'de depolanan örneklerin A_{maks} değerlerinin $t_{1/2}$ değerleri, kontrol grubuna oranla; gallik asit eklendiğinde %20, nar kabuğu ekstraktı eklendiğinde %7, kiraz sapı ve yeşil çay ekstraktları eklendiğinde ise, %11 artmıştır. Depolama boyunca kontrol grubu ve kiraz sapı ekstraktı içeren örneklerdeki polimerik renk oluşumunun antosiyanin parçalanmasından kaynaklandığı; gallik asit ve yeşil çay ekstraktı içeren örneklerdeki polimerik renk oluşumunun ise, antosiyaninlerin polimerizasyonundan kaynaklandığı belirlenmiştir. Ayrıca; gallik asit (%43) ve nar kabuğu (%32) ekstraktı içeren örneklerin bulanıklık değerleri de kontrol grubununkinden çok daha düşüktür.

Vişne suyu konsantrelerinin gerek renk stabilitesi ve yoğunluğunu artırması gerekse de depolama boyunca bulanıklık oluşumunu yavaşlatması nedeniyle eklenen doğal kopigment kaynakları içinde; en iyi kopigment kaynağının nar kabuğu ekstraktı olduğu belirlenmiştir.

Nisan 2017, 85 sayfa

Anahtar Kelimeler: Vişne suyu konsantresi, kopigmentasyon, kopigment, antosiyanin, nar kabuğu, yeşil çay, kiraz sapı, gallik asit.

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF COPIGMENTS FROM NATURAL SOURCES ON THE COLOR INTENSITY AND STABILITY OF SOUR CHERRY JUICE CONCENTRATE AND CHANGES IN COLOR DURING STORAGE

Ayşe NAVRUZ

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

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

The primary purpose of this study was to determine the effects of copigments obtained from natural sources (pomegranate rind, green tea and cherry stem) and gallic acid standard on colour intensity and stability of sour cherry juice concentrate. The other purpose of this study was to determine the changes in colour and turbidity of sour cherry juice concentrates stored at various temperatures. For this purpose, monomeric anthocyanin, hyperchromic effect, bathochromic shift, polymeric color and turbidity values of the samples were investigated at -20° and 4°C for 6 mo and 20°C for 110 days of storage.

While gallic acid (32%), pomegranate rind extract (23–40%) and green tea extract (31–54%) increased anthocyanin stability, cherry stem extract (17%) reduced anthocyanin stability. As the storage temperature increased, the degradation of anthocyanins increased. The degradation rate of anthocyanins in samples stored at 20°C was 74–83% higher than the samples stored at 4°C .

A_{max} values of all samples stored 4° ve 20°C and the formation rates of polymeric color (12–60% at 4°C and 21–85% at 20°C) decreased. The $t_{1/2}$ values of the A_{max} values of the samples stored at 20°C increased, as compared to the control group, by 20% when gallic acid was added, 7% when pomegranate rind extract was added, 11% when cherry stem and green tea extracts were added. During storage, while the formation of polymeric color in the control group and the samples containing cherry stem extract was attributed to the degradation of the anthocyanin, the formation of polymeric color in samples containing gallic acid and green tea extract was attributed to the polymerization of anthocyanins. Moreover, the turbidity values of the samples containing gallic acid (43%) ve pomegranete rind extract (32%) was much lower than that of control group.

Because of the increase in both color stability and instesity of sour cherry juice concentrate as well as the lowering the formation of turbidity duirng storage, the best copigment source was determied to be the pomegranete rind extract among the natural copigment sources added.

April 2017, 85 pages

Key Words: Sour cherry juice concentrate, copigmentation, copigment, anthocyanin, pomegranate rind, green tea, cherry stem, gallic acid.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın her evresinde bana destek olan, sadece akademik olarak değil dünya görüşü de benim için bir o kadar değerli olan, yeri geldiğinde tam bir hoca yeri geldiğinde arkadaş, aile olabilen sevgili hocam Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmam süresince ilgisini, alakasını, desteğini hiç eksik etmeyen; takdire şayan birikimi ile bana yol gösteren sevgili hocam Doç. Dr. Meltem TÜRKYILMAZ'a (Ankara Üniversitesi Gıda Güvenliği Enstitüsü) sonsuz teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim. Ayrıca bitirme tezi dönemimde analizleri doğru bir şekilde öğrenmemde çok büyük katkıları olan hocam Dr. Betül ERKAN KOÇ'a teşekkürlerimi iletirim.

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi 'Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nin kapılarını ardına kadar açarak ekstrakt üretimi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Burhan BAL'a teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında her türlü yardımına koşan arkadaşlarım Sevgin DIBLAN, Sümeyye ALAGÖZ, Buket ORHAN ve Fatmagül HAMZAOĞLU'na teşekkür ederim. Yüksek lisans hayatım boyunca hep yanımda olan, her türlü desteğini, yardımını içimde hissettiğim, zor şartlarda bile enerjisiyle ışık saçan, hem kötü gün hem de iyi gün dostum, yol arkadaşım Kübra ERTAN'a sonsuz kez teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmaları sürecinde bulaşıkları yıkamama yardım eden, gece geç saatlere kadar yanımda kalan arkadaşlarım Sıla AKTANSEL ve Serkan BEKTAŞ'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi manevi hep destek tam destek veren, öğütlerini hiç eksik etmeyen biricik babam Mehmet NAVRUZ'a; her derdimi dinleyip çare bulan, sürekli dualarıyla, gülücükleriyle içimi ısıtan, uzaktan da olsa telefonlarıyla hep yanımda olduğunu hissettiren güzeller güzeli annem Mesude NAVRUZ'a ne kadar teşekkür etsem azdır. Ayrıca kardeşlerini en iyi şekilde idare eden, üzüntümle üzülen, sevincimle sevinen dünyanın en tatlı, en uyumlu kardeşleri olan ablam Gülsün NAVRUZ BERK'e, eniştem Evren BERK'e ve küçük kardeşim Elif NAVRUZ'a teşekkür ederim.

Projemize destek veren TÜBİTAK'a (Proje No: 213O249) içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe NAVRUZ

Ankara, Nisan 2017

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER	2
2.1 Ülkemizde Vişne Üretimi ve Vişnenin Sağlık Açısından Önemi	2
2.2 Antosiyaninler ve Kimyasal Yapıları	3
2.3 Antosiyaninlerin Stabilitesini Etkileyen Faktörler	6
2.3.1 Konsantrasyon.....	6
2.3.2 Işık	7
2.3.3 Sıcaklık.....	7
2.3.4 pH	10
2.3.5 Oksijen	11
2.3.6 Enzim.....	11
2.3.7 Asorbik asit	11
2.3.8 Şeker	12
2.4 Kopigmentasyon.....	13
2.4.1 Doğal kaynaklar kullanılarak kopigmentasyon etkisi.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1 Materyal	22
3.1.1 Vişne konsantresi	22
3.1.2 Kopigment kaynakları.....	22
3.1.3 Kimyasallar.....	23
3.2 Yöntem	23
3.2.1 Gallik asidin standart olarak seçimi.....	23
3.2.2 Antosiyanin kopigment oranının belirlenmesi	23
3.2.3 Kopigment ekstraktlarının hazırlanması.....	23

3.2.4 Vişne suyu konsantresine kopigment ekstraktlarının eklenmesi ve depolanması.....	24
3.2.5 Fiziksel analizler	25
3.2.5.1 Suda çözünür kuru madde tayini	25
3.2.5.2 pH tayini.....	25
3.2.5.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi	26
3.2.6 Kimyasal analizler.....	26
3.2.6.1 Titrasyon asitliği.....	26
3.2.6.2 Hiperkromik ve batokromik değişimlerin belirlenmesi	26
3.2.6.3 Toplam monomerik antosiyanin tayini	27
3.2.6.4 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi.....	28
3.2.6.5 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi	30
3.2.6.6 Toplam polifenol miktarının belirlenmesi	32
3.2.6.7 Fenolik dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi.....	33
3.2.7 Kinetik katsayıların hesaplanması	34
3.3 İstatistik Değerlendirme	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	38
4.1 Antosiyanin-Kopigment Oranının Belirlenmesi.....	38
4.2 Kopigment Kaynaklarının Belirlenmesi	39
4.3 Kopigment Kaynaklarının Fenolik Madde Dağılımları	41
4.4 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Antosiyaninleri Üzerine Etkisi	42
4.5 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Antosiyaninleri Üzerine Kopigmentasyon Etkisi	49
4.6 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Renk Yoğunluğu ve Polimerik Renk Değerleri Üzerine Etkileri	54
4.7 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Bulanıklık Değerleri Üzerine Etkileri	58
4.8 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri Üzerine Etkileri.....	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR	64
EKLER.....	75
EK 1 Varyans Analizi Çizelgeleri	76
EK 2 Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları	79
ÖZGEÇMİŞ.....	85

SİMGELER DİZİNİ

Briks ($^{\circ}\text{Bx}$)	Suda çözüdür kuru madde
HCl	Hidroklorik asit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
MeOH	Metanol
NaOH	Sodyum hidroksit
r	Korelasyon katsayısı
R ²	Determinasyon katsayısı

Kısaltmalar

dak.	Dakika
h	Saat (hour)
HMF	Hidroksimetilfurfural
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
NTU	Neflometrik Bulanıklık Birimi (Nephelometric Turbidity Unit)
PDA	Foto dioderay dedektörü
Pg-3-glu	Pelargonidin-3-glikozit
PPO	Polifenol oksidaz
PVDF	Poliviniliden florür (Polyvinylidene fluoride)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Flavilium katyonu.....	4
Şekil 2.2	Antosiyaninlerin muhtemel termal parçalanma mekanizmaları	8
Şekil 4.1	Kopigment kaynaklarının fenolik madde dağılımlarını gösteren HPLC kromatogramları	42
Şekil 4.2	Vişne suyu konsantresinin antosiyanin dağılımına ait HPLC kromatogramı.....	43
Şekil 4.3	Farklı kopigment kaynaklarının farklı sıcaklıklarda depolama süresince vişne suyu konsantresinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi.....	44
Şekil 4.4	Vişne suyu konsantresinde bulunan her bir monomerik antosiyanin üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi.....	48
Şekil 4.5	Vişne suyu konsantresinin A_{maks} değerleri üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi.....	51
Şekil 4.6	Vişne suyu konsantresinin polimerik renk değerleri üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi	55
Şekil 4.7	Kopigment eklenmemiş vişne suyu konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler	56
Şekil 4.8	Vişne suyu konsantresinin bulanıklık değerleri üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi.....	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları	5
Çizelge 3.1	HPLC ile antosiyaninler için uygulanan elüsyon profili	30
Çizelge 3.2	Fenolik madde dağılımı için uygulanan elüsyon profili.....	34
Çizelge 4.1	Antosiyanin:kopigment oranının kopigmentasyon üzerine etkisi	38
Çizelge 4.2	Kopigment kaynaklarının kopigmentasyon üzerine etkisi	40
Çizelge 4.3	Vişne suyu konsantrelerindeki monomerik antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik veriler.....	44
Çizelge 4.4	Vişne suyu konsantrelerinin depolanması süresince λ_{maks} ve A_{maks} değerleri.....	50
Çizelge 4.5	Vişne suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında A_{maks} değerlerine ilişkin kinetik parametreler	53
Çizelge 4.6	Vişne suyu konsantrelerinde polimerik renk oluşumuna ilişkin kinetik veriler	57
Çizelge 4.7	Vişne suyu konsantrelerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerine eklenen kopigment kaynaklarının ve depolamanın etkisi.....	61

1. GİRİŞ

Bir gıdanın tüketici tarafından tercih nedeni olması için ilk olarak göze hitap etmesi gerekmektedir. Bu nedenle renk, gıdaların en önemli kalite kriterlerinden biri olarak değerlendirilmektedir. Gıdaların doğal renkleri içerdikleri pigmentlerden, yani renk maddelerinden, kaynaklanmaktadır. Bu pigmentlerden birisi de; meyve, sebze ve çiçeklere kırmızı, mor ve mavi tonlarındaki renklerini veren antosiyaninlerdir. Antosiyaninler renkleri dışında, antioksidan özellikleri ile de gıdalarda oluşan lipid ve protein oksidasyonunu engelleyerek, oksidasyon sonucu meydana gelen acılaşmayı geciktirme veya önleme özelliğine sahiptirler. Bunun yanı sıra; meyve ve sebzelerle vücuda alınan antosiyaninlerin; anti-kanserojen, anti-inflamatuvar ve anti-anjiogenik özellikleri ile insan sağlığı açısından son derece önemli oldukları düşünülmektedir.

Antosiyaninler doyamamış yapıları gereği stabil olmayan bileşikler olup; sıcaklık, pH, ışık, askorbik asit, oksijen, enzimler, şekerler, hidrojen peroksit gibi faktörlere bağlı olarak parçalanabilmekte ve bunun neticesinde de ürün albenisini kaybetmektedir. Buna karşın, antosiyaninler ile fenolik asitler, flavonoidler, flavonoller ve flavonlar ve hatta antosiyaninlerin birbirleri arasında oluşan ve “kopigmentasyon” olarak nitelendirilen birleşmeler sonucunda antosiyaninler stabil bir form kazanmaktadır. Kopigment özelliği gösteren fenolik maddelerin standartlarının çok pahalı olmasından dolayı, meyve suyu endüstrisinde bu amaçla kullanımları mümkün değildir. Bu çalışmanın amacı; doğal kaynaklardan elde edilen ve kopigment etkisini gösteren fenolik maddelerin vişne suyu konsantresindeki antosiyaninler üzerine farklı sıcaklıklarda (-20° , 4° ve 20°C) depolama süresince etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla kopigment kaynağı olarak; nar kabuğu, yeşil çay ve kiraz sapı kullanılmıştır. Bu doğal kaynaklar dışında, kontrol grubu olarak da, gallik asit standardı da kullanılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Ülkemizde Vişne Üretimi ve Vişnenin Sağlık Açısından Önemi

Ülkemiz, dünya meyve üretiminin %4'ünü karşılamaktadır. Meyve suyu endüstrisinde en çok kullanılan meyveler sırasıyla; elma (%49), şeftali (%12), vişne (%10), nar (%8), portakal (%7), kayısı (%5) ve üzümdür (%3) (Anonim 2008). 187 914 ton vişne üretimi ile ülkemiz 2012 yılında dünyada birinci sırada yer almıştır (Anonim 2012).

Ülkemizde vişne üretimi yıldan yıla artış göstermiştir. 1994 yılında 90 000 ton olan vişne üretimi, 2014 yılında 182 577 tona kadar ulaşmıştır (Anonim 2014). Üretilen vişnenin %30'u meyve suyu endüstrisinde kullanılmaktadır. Ülkemizde konsantreye işlenen meyveler arasında elma %60'lık payla birinci sırada iken, vişne %18'lik payla onu takip etmektedir (Anonim 2008). Verilen bu değerler, vişnenin ülkemiz meyve suyu endüstrisi açısından çok önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir.

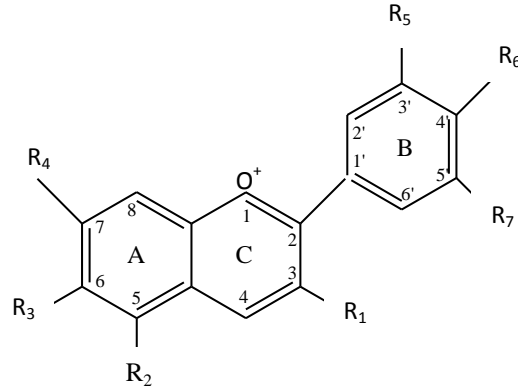
Vişnenin ekonomik açıdan olduğu kadar sağlık açısından da önemli katkıları bulunmaktadır. Vişnenin içeriğinde, yağda çözünen vitaminler (1283 IU A vitamini/100 g, 0.1 mg E vitamini/100 g, 2.1 µg K vitamini/100 g) olduğu gibi önemli miktarlarda β-karoten (770 µg/100 g, lutein ve zeaksantin (85 µg/100 mg) de bulunmaktadır (Ferretti vd. 2010). Aynı çalışmada vişnenin; kalsiyum (14 mg/100 g), magnezyum (10 mg/100 g), fosfor (20 mg/100 g) ve potasyum (200 mg/100 g) gibi minerallere de sahip olduğu için sağlık için son derece yararlı bir meyve olduğu da belirtilmiştir. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalar, vişnenin, vücudun biyolojik saatini ayarlamakla görevli olan melatonin hormonunu (13.46 ± 1.10 ng/g) içermesi nedeniyle, uyku düzenleyici etkisinin olabileceğini de göstermiştir (Burkhardt vd. 2001).

Bu önemli bileşenlerin yanında vişnelerin tat ve burukluk gibi özellikleri üzerine etkili olan fenolik bileşikler de vişnelerin kabuğunda önemli miktarlarda (229 mg/100 g) bulunmaktadır (Ferretti vd. 2010). Aynı çalışmada, vişnelerde en yüksek miktarda bulunan fenolik bileşiklerin antosiyaninler ve hidroksinamik asitler olduğu

belirtilmiştir (neoklorojenik asit ve p-kumarilkuinik asit). Ayrıca bunlara ek olarak; flavonoller ve flavan-3-oller (kateşin, epikateşin, kuersetin 3-glukozit, kuersetin 3-rutinozit ve kaemferol 3-rutinozit) de vişnelerde bulunmaktadır (Chaovanalikit ve Wrolstad 2004). Vişnelerde bulunan bu fenoliklerin; antioksidan, anti-inflamatuvar ve antikarsinojen özelliklere de sahip olduğu belirtilmektedir. Vişnelerin antioksidan kapasitesinin, 1145–1916 µmol Troloks/100 g arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir (Blando vd. 2004). Bu antioksidan aktivitesinin önemli bir bölümünün vişnelerin içerdikleri fenoliklerin yanı sıra, özellikle antosiyaninlerden kaynaklandığı bilinmektedir (Heinonen vd. 1998).

2.2 Antosiyaninler ve Kimyasal Yapıları

Antosiyaninler, fenolik bileşiklerin flavonoid grubunda yer alan; meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgün pembe, kırmızı, mavi ve mor tonlarındaki doğal renklerini veren renk maddeleridir. Antosiyaninler, tipik flavonoid iskelet yapısına ($C_6C_3C_6$) sahip olan antosiyanidinlerin, yani aglikonların şekerlerle esterleşmiş formlarıdır (Cemeroğlu vd. 2009). Antosiyanidinlerin temel yapısını, flavilyum katyonu (2-fenilbenzopirilium) oluşturur (Şekil 2.1). Flavilyum katyonunun B halkasına bağlanan hidrojen (H), hidroksil (OH) ve metoksil (OCH_3) radikallerinin farklı yerleşimiyle, 23 civarında antosiyanidin oluşmaktadır (Kong vd. 2003, Kırca 2004). Bu antosiyanidinlerden 6 tanesi meyve ve sebzelerde, bunların ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Bunlar, pelargonidin (Pg), siyanidin (Cy), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv)'dir (Mazza ve Miniati 1993) (Çizelge 2.1). Meyve ve sebzelerdeki dağılım oranlarına göre bu antosiyaninlerin sıralaması: siyanidin (%50), delfinidin (%12), pelargonidin (%12), peonidin (%12), petunidin (%7) ve malvidin'dir (%7) (Castaneda-Ovando vd. 2009). Bu yaygın 6 antosiyanidin birbirlerinden farkı, 3' ve 5' pozisyonlarına bağlı grupların farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009).



Şekil 2.1 Flavilyum katyonu

Antosiyanidinlerin doğada serbest halde bulunma oranları çok düşüktür. Genellikle glikolizasyona uğramış halde yani antosiyanin şeklinde bulunurlar (Harborne 1967). Glikozit formu içermesinden dolayı antosiyaninler, antosiyanidinlere göre suda daha iyi çözünme özelliğine sahiptirler (Timberlake ve Bridle 1966, Rein 2005). Antosiyaninler yapılarında bulunan glikozil ünitesi sayısına göre sınıflandırılırlar. Monoglikozitler bir monosakkarit ünitesinin aglikonların 3-hidroksil grubuna bağlanmasıyla oluşmaktadır (Brouillard 1982). 3' ve 4' pozisyonlarında glikozil ünitesine sahip antosiyaninlerin; mavi çiçeklerde (*Nymphaea caerulea*) (Fossen ve Andersen 1999) ve kırmızı soğanda (*Allium cepa* L.) (Fossen vd. 2003) bulunduğu saptanmıştır (Rein 2005). Diglikozitlerde bulunan iki monosakkaritin genellikle antosiyanidinlerin 3-hidroksil ve 5-hidroksil gruplarına bağlanmasına karşın, nadir de olsa 3-hidroksil ve 7-hidroksil gruplarına bağlandığı da saptanmıştır. Ayrıca iki monosakkaritin de 3. pozisyona (C-3) bağlanması da mümkündür (Rein 2005). Triglikozitlerde ise; monosakkaritlerden ikisi 3. pozisyona, diğeri 5. pozisyona ya da 7. pozisyona bağlanabilmektedir (Rein 2005). Triglikozitlerdeki tüm monosakkaritlerin 3. pozisyona bağlı olabileceği de belirtilmiştir (Bruneton 1995). Bununla birlikte, şeker moleküllerinin 3', 4' ve 5' pozisyonlarına da bağlanabildiği saptanmıştır (Rein 2005). Glikozil bağının yeri, antosiyanin stabilitesini etkileyen önemli bir faktördür. Pelargonidinin izomerik β -glikozitleri ile ilgili yapılan bir çalışmada, 3. pozisyondaki karbon atomuna bağlı glikozitlerin, antosiyanin stabilitesini, 5. ve 7. pozisyondaki karbon atomuna bağlı glikozitlerden daha fazla artırdığı saptanmıştır (Leon vd. 1931).

Çizelge 2.1 Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları (Castaneda-Ovando vd. 2009)

Antosiyanidin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Renk
Siyanidin (Cy)	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu-kırmızı
Pelargonidin (Pg)	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu
Peonidin (Pn)	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Turuncu-kırmızı
Delfinidin (Dp)	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mavi-kırmızı
Petunidin (Pt)	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Mavi-kırmızı
Malvidin (Mv)	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Mavi-kırmızı

Antosiyaninlerin birbirlerinden farklı olmasına moleküle bağlanan; hidroksil grubu sayısı ve metilasyon derecesi, şeker türü, sayısı ve bağlanma şekli ile bu şekerlere bağlı alifatik veya aromatik asitlerin yapısı ve sayısı gibi faktörler neden olmaktadır (Mazza ve Miniati 1993). Antosiyaninleri oluşturan şekerlerin en az bir tanesi mutlaka 3. pozisyona bağlı bulunur. Antosiyaninlere en yaygın olarak bağlanan şekerler sırasıyla glukoz, ramnoz, galaktoz, arabinoz ve ksilozdur (Rein 2005). Antosiyanin yapısında en sık rastlanan di- ve trisakkaritlere; rutinoz, sophoroz, sambubioz ve glikorutinoz örnek olarak verilmektedir (De Ancos vd. 1999a, Kahkönen vd. 2003, Rein 2005).

Antosiyaninlerin yapılarında bulunan glikozil üniteleri dışında, açıl gruplarının da bağlanarak, antosiyaninlerin stabilitesi üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Rein 2005). Antosiyaninlerin glikozil ünitelerine, ester bağı ile aromatik asitler, alifatik asitler veya bunların kombinasyonları bağlanabilmektedir (Rein 2005). Moleküle bağlanan asitler çoğunlukla, monosakkaritin 6. pozisyonuna bağlanmakla birlikte, açıl gruplarının 2., 3. ve 4. pozisyonlarda yer alabileceği de gösterilmiştir (Cabrita 1999). Açıl asit gruplarından en yaygın olanlarının aromatik asitlerden; *p*-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik ve gallik asit ve nadiren *p*-hidroksibenzoik asit, alifatik asitlerden; malonik, asetik, malik, suksinik ve okzalik asit olduğu belirtilmektedir (Garzon ve Wrolstad 2001). Bu moleküllere bağlanan şeker sayısının artması ve yapısında aromatik açıl grubunun bulunması ile antosiyaninler daha stabil bir yapı kazanmaktadır (Markakis 1982, Mazza ve Miniati 1993).

Antosiyanin yapısında bulunan hidroksil ve metoksil gruplarının renk üzerinde önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Moleküldeki hidroksil grubu sayısındaki artış mavi tonu artırırken; metoksil grubunu sayısının artması kırmızı tonun güçlenmesine neden olmaktadır (Mazza ve Brouillard 1987).

Antosiyaninlerin stabiliteyi, gıdaların rengi üzerine son derece etkilidir. Antosiyaninlerin renk stabiliteyi, antosiyanin molekülünün diğeri bir doğal bileşen ile doğrudan veya zayıf etkileşimleri (kopigmentasyon) yoluyla sağlanabilmektedir (Darias-Martin vd. 2002, Talcott vd. 2003). Bunun yanı sıra, antosiyaninler, kararsız bir yapı göstermeleri ve kolayca, hızlı bir şekilde parçalanmaları ile bilinirler (Rein 2005). Bu durum, antosiyaninlerin yapıtaşı olan flavilyum katyonunun C halkasının doymamış yapıda olması ve dolayısıyla reaktivitesinin çok fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Meyve suları, bunların konsantreleri ve jöleler gibi gıdaların işlenmesiyle elde edilen birçok üründe çeşitli kimyasal reaksiyonların gerçekleşmesi ve bu reaksiyonların karmaşık olmaları nedeniyle, antosiyaninlerdeki değişimleri tek bir nedene bağlamak oldukça güçtür (Garzon ve Wrolstad 2001). Antosiyaninlerin stabilitesine kimyasal yapının yanı sıra; antosiyanin konsantrasyonu, ışık, sıcaklık, pH, O₂, enzimler, askorbik asit, şekerler ve şekerlerin parçalanma ürünleri, metal iyonları, kükürt dioksit gibi birçok faktör etki etmektedir (Mazza ve Miniati 1993).

2.3 Antosiyaninlerin Stabilitesini Etkileyen Faktörler

2.3.1 Konsantrasyon

Konsantrasyon artışıyla renk stabilitesi arasında doğrusal bir korelasyon bulunmaktadır (Giusti ve Wrolstad 2003). Skrede vd. (1992) tarafından yapılan bir çalışmada, çilek şurubunun konsantrasyonunun artışıyla daha stabil bir form kazandığı ortaya konulmuştur. Antosiyanin konsantrasyonu arttıkça renk yoğunluğu da artmaktadır. Siyanidin konsantrasyonunun 10⁻⁴'ten 10⁻²'ye çıkarılması sonucunda renkte 300 kat artış gözlenmiştir (Asen vd. 1972). Ayrıca briks derecesinin artmasıyla vişne (Asafi ve Cemeroglu 2000) ve kan portakalı antosiyaninlerinin (Kırca ve Cemeroglu 2003) depolama stabiliteyi arttığı tespit edilmiştir. Buna karşın, Garzon ve Wrolstad

(2002); 25°C’de depolama süresince, çilek suyu konsantresinde (65°Briks) pelargonidin bazlı antosiyanin parçalanmasının, çilek suyuna (8°Briks) göre daha hızlı gerçekleştiğini saptamışlardır.

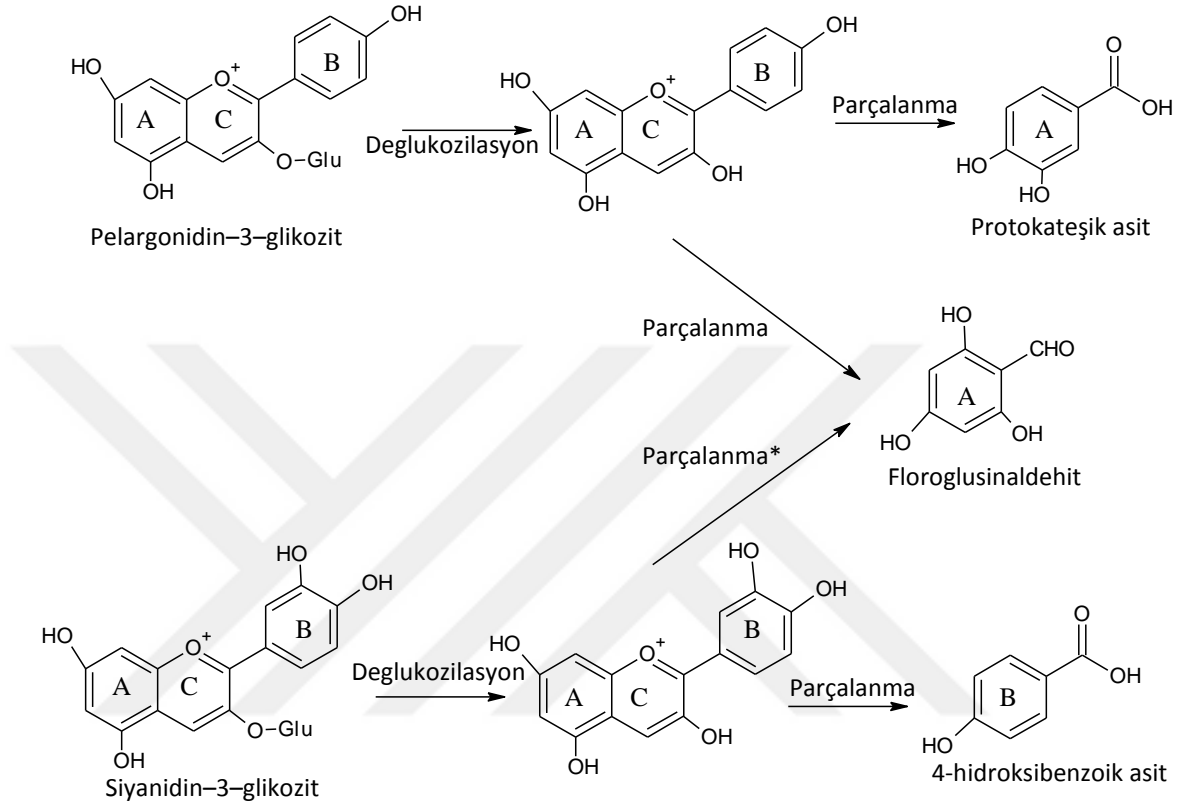
2.3.2 Işık

Antosiyaninlerin stabilitelerini etkileyen diğer bir faktör olan ışık, bitkilerde antosiyanin biyosentezinde önemli rol oynamaktadır. Işık almadan gelişmiş bazı kırmızı meyvelerin yeşil kaldığı yani, yeterince antosiyanin sentezleyemediği bilinmektedir. Buna karşın antosiyanin içeren gıdalarda, ışık; antosiyaninlerin parçalanmasını hızlandırmaktadır (Markakis 1982). Kearsley ve Rodriguez (1981) tarafından ışığın antosiyanin rengine etkisini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 24 h boyunca pH 2.3’te üzüm antosiyaninlerinin karanlık ve aydınlık ortamdaki stabiliteleri izlenmiştir. Bu çalışmada, antosiyaninlerin karanlıkta renklerini daha iyi koruduğu saptanmıştır. Aydınlık ortamda antosiyanin kaybı %50 iken, karanlık ortamdaki kayıp %30 ile sınırlı kalmıştır. Furtado vd. (1993), ışık ve sıcaklıkla oluşan parçalanma ürünlerinin aynı olduğunu, sadece parçalanma mekanizmalarının farklı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Rein 2005’den alınmıştır.). Palamidis ve Markakis (1975), üzüm posasından elde edilmiş antosiyaninlerle boyanmış gazlı içeceklerde ışığın antosiyaninlerin parçalanmasını artırdığını ortaya koymuştur.

2.3.3 Sıcaklık

Antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan en önemli faktör, sıcaklıktır. Antosiyanin bazlı gıdaların üretimi ve depolanması sürecinde uygulanan sıcaklık ve süre ile ilişkili olarak, antosiyaninlerde mutlaka az veya çok parçalanma meydana gelmektedir (Şekil 2.2). Sıcaklık artışıyla glikozidik bağların hidrolize olarak antosiyanin yapısının zarar gördüğü ileri sürülmüştür (Adams 1973). Bu durumun, aglikonların glikozidik formlarına göre daha az stabil oldukları için renkte daha fazla kayba yol açmakta olduğu belirtilmiştir (Markakis vd. 1957). Aynı çalışmada çalkon formunun oluşumu antosiyaninlerin termal parçalanmasının birinci adımı olarak kabul edilmiştir.

Antosiyaninlerden 3,5-diglikozitin yaygın termal parçalanma ürünü ise kumarin 3,5-diglikozit olarak belirtilmiştir (Von Elbe ve Schwartz 1996).



*Molekülün yarılməsi (Cleavage).

Şekil 2.2 Antosiyaninlerin muhtemel termal parçalanma mekanizmaları (Patras vd. 2010)

Sıcaklığın antosiyaninler üzerine etkisi, yapılan birçok çalışmayla da ortaya konmuştur. Bu çalışmalardan birinde; dondurulmuş ahududulardan elde edilen meyve suyu, püresi ve ahududu konservesinin 25°C sıcaklıkta 6 ay süreyle depolanması sonucunda antosiyaninlerde %49–75 arasında kayıp meydana geldiği saptanmıştır (Hager vd. 2008).

Antosiyaninlerin sıcaklık etkisi ile parçalanmasının birinci dereceden reaksiyon kinetiğine göre geliştiği birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Keith ve Powers 1965, Rhim 2002, Ahmed vd. 2004, Rein 2005, Patras vd. 2009). Sıcaklık etkisi ile

antosiyeninler parçalanarak kahverengi ürünler oluşturmaktadır. Yüksek pH ve yüksek sıcaklık etkisiyle kiraz antosiyeninlerinin parçalanarak benzoik asit türevlerine dönüştükleri saptanmıştır (Seeram vd. 2001).

Farklı depolama sıcaklıklarının yaban mersini suyu antosiyeninleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; 4°, 25° ve 40°C sıcaklıklarda antosiyeninlerin yarılanma sürelerinin sırasıyla; 184, 35 ve 5 h olduğu saptanmıştır (Buckow vd. 2010). Navruz vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, çilek suyu konsantresi antosiyeninlerinin depolama sıcaklık ve süresine bağlı olarak parçalandığı belirlenmiştir. -18°, 4°, 10° ve 20°C'de sırasıyla; 50, 50, 36 ve 16 gün depolanan çilek suyu konsantrelerindeki antosiyenin kayıpları %1, 56, 72 ve 74 olarak saptanmıştır. Çilek reçelleri üzerine yapılan başka bir çalışmada ise, 10°, 21° ve 38°C'de 9 hafta depolama sonucunda antosiyenin miktarlarında sırasıyla; %36, 45 ve 73 azalma gözlenmiştir (Ngo vd. 2007).

Sıcaklığın antosiyenin parçalanmasını hızlandırdığı birçok çalışmayla ortaya konmasına karşın, üzüksü meyvelerde yapılan bir çalışmada, depolama süresince, antosiyenin oluşumunun arttığı ortaya konulmuştur. Kalt vd. (1999), sıcaklığın 0°C olduğu bir depoda, taze olarak depolanmış ahududu ve çileklerde 8 gün boyunca antosiyenin içeriğinin giderek arttığını gözlemlemişlerdir.

Isıtma işlemleri her ne kadar antosiyeninlerin parçalanmasına neden olsa da, ısıtılmayan meyve sularında polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesi nedeni ile daha fazla antosiyenin kaybı olmaktadır. Bu durum yaban mersini sularında gösterilmiştir (Buckow vd. 2010). Bu çalışmada, toplam monomerik antosiyenin miktarı; pastörize edilmemiş yaban mersini suyunda 152 mg/L iken, pastörize yaban mersini suyunda 229 mg/L olarak bulunmuştur. Bunun nedeni, yaban mersininde doğal olarak bulunan PPO enziminin pastörizasyon öncesi aktifken, ısıl işlem ile inaktive edilip (85°C'de 5 dak.), antosiyeninlerin de yer aldığı fenolik bileşikler parçalamasının önlemesiyle açıklanmaktadır. Bu durumun başlıca nedeni, antosiyeninler yapısında içerdiği doymamış grup nedeniyle kolaylıkla okside olabilmekte ve bu oksidasyon reaksiyonu (enzimatik esmerleşme) da PPO enziminin katalize edilmesidir (Buckow vd. 2010). Bu çalışmada görüldüğü gibi, antosiyeninlerin stabilitesini etkileyen sıcaklık faktörü, tek

bir yönden değerlendirilemez. Genel olarak ısıtma işlemleri ile antosiyaninlerin stabiliteyi düşmesine karşın, yüksek sıcaklıkta kısa sürede (HTST, High Temperature Short Time) etkin bir şekilde yapılan pastörizasyon işlemlerinin, antosiyaninlerin stabiliteyi olumlu etkisi bulunmaktadır.

2.3.4 pH

Antosiyaninlerin renk tonunu ve stabilitesini etkileyen önemli parametrelerden birisi de pH'dır. Antosiyaninler, asidik ortamda alkali ortamlara göre daha stabildirler. Asidik ortamlarda antosiyaninler, pH değişimleri ile birlikte geri dönüşebilir yapısal değişimlere uğramakta ve farklı renk özelliği göstermektedirler. pH değeri 3.0 ve altında olduğu durumlarda, antosiyaninlerin rengi turuncudan kırmızıya kadar değişmekte; bu değişim kimyasal yapıya ve baskın flavilyum katyonuna bağlı olmaktadır. Çok asidik çözeltilerde ($\text{pH} < 0.5$) kırmızı renkli flavilyum katyonu (AH^+) tek bir bileşik halinde bulunmakta ve bu bileşiğin de stabilitesinin oldukça fazla olduğu bilinmektedir. pH yükseldikçe, hidrojenasyon ve proton transferi gerçekleşmekte ve bunun sonucunda ilk olarak renksiz karbinol psödobaz oluşmaktadır. Bununla birlikte kırmızı renkli flavilyum katyonunun konsantrasyonu azalmaktadır. Aynı zamanda bu katyon (AH^+) pH artışıyla birlikte H^+ iyonu kaybederek mavi renkli kuinidal baz ve çalkon oluşturmakta ve renksiz karbinol psödobaz da çalkon ile totomerik dengeye ulaşmaktadır. pH 2.6 civarında ortamda az miktarda çalkon, kuinidal baz ve renksiz psödobazın oranları artmaktadır. pH 4.0–5.5 arasında ise, renkli formların (katyon ve kuinidal baz) miktarları çok az olduğundan antosiyaninde renk kaybı fazladır. Flavilyum katyon ile kuinidal baz arasındaki denge ise, pH 4.25 civarında oluşmakta ve pH 5.0–6.0 arasında ortamda çok az miktarda mavi renkli kuinidal baz bulunmaktadır (Mazza ve Miniati 1993, Cheynier 2003).

Siyah havuç suyunda bulunan antosiyaninlerin farklı pH aralıklarındaki (2.5; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 7.0) stabiliteyi incelediği bir çalışmada, pH 5.0 ve üzerinde antosiyanin stabilitesinin önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Kırca vd. 2006). Siyah ahududu suyunda ve siyanidin 3-diglikozit içeren model sistemde pH derecesinin 4.15'ten 2.15'e düşürülmesi ile antosiyanin stabilitesinin arttığı saptanmıştır (Daravingas ve Cain

1968). Fakat bu çalışmaların aksine, Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos'un (2004) yaptıkları araştırmada; kırmızı tatlı patates, mor mısır ve ticari mor havuçtan elde edilen ekstraktlarda, antosiyaninlerin 98°C'de pH 3.0 iken; pH 1.0'a göre daha stabil olduğu ortaya konulmuştur.

2.3.5 Oksijen

Oksijen antosiyanin parçalanması üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Farklı üzümü meyve (berry) sularından izole edilen antosiyaninlerin rengi üzerinde yapılan analizlerde, en fazla kaybın oksijen varlığında yüksek sıcaklıklarda gerçekleştiği gözlenmiştir (Nebesky vd. 1949). Antosiyaninler, oksijenden dolaylı ve direkt olarak etkilenmekte ve bu etkilenme sonucunda renksiz ya da kahverengi renkli ürün oluşmaktadır (Jackman vd. 1987). Daravingas ve Cain (1968) ahududu konservesi üzerine yaptıkları bir çalışmada nitrojen veya vakum altında konserveye işlemenin oksijenli ortama göre antosiyanin stabilitesini artırdığını belirlemiştir.

2.3.6 Enzim

Antosiyaninlerin parçalanmasına, gerek bitkisel dokuda doğal halde bulunan gerekse de mikrobiyel kökenli bazı enzimlerin neden olduğu da belirlenmiştir. Nitekim β -galaktozidaz, β -glukozidaz ve α -arabinozidaz enzimleri; antosiyaninleri, antosiyanidin ve şekere parçalamakta ve serbest kalan antosiyanidinler de daha sonra parçalanarak stabil olmayan renksiz bileşiklere dönüşmektedirler. Bu enzimler, antosiyanidin ile şeker arasındaki kovalent bağı parçalayarak antosiyaninlerin renksiz bileşiklere dönüşmesine neden olmaktadır (Rein 2005).

2.3.7 Askorbik Asit

Askorbik asit, antosiyaninlerin hızla parçalanmasına yol açan diğer bir etkidir. Poel-Langston ve Wrolstad (1981) yaptıkları çalışmada, Pgd-3-glu içeren örneklere askorbik asit ilave edildiğinde antosiyanin stabilitesinin azaldığını belirlemiştir. Yapılan diğer

çalışmalarda ise, askorbik asidin antosiyanin parçalanmasına yol açmasının yalnızca askorbik asitten kaynaklanmadığı, antosiyaninin kaybına daha çok askorbik asidin parçalanma ürünlerinin, özellikle de parçalanma sonucu oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂) bileşğinin neden olduğu ileri sürülmüştür (Sondheimer ve Kertesz 1952, Markakis vd. 1957). Benzer bir araştırmada da, aseptik dolum ünitelerinin sterilizasyonunda kullanılan hidrojen peroksitin yeterince uzaklaştırılmadığında, kalıntı hidrojen peroksitin vişne, nar ve çilek sularındaki antosiyaninlerin parçalanmasına neden olduğu saptanmıştır (Özkan vd. 2000, Özkan vd. 2002). Buna karşın, açillenmiş antosiyaninlerin askorbik asit varlığında stabiliteilerinin arttığı da gözlenmiştir (Del Pozo-Insfran vd. 2004, Rein 2005). Ayrıca antosiyaninlerin enzimatik parçalanmasına karşı askorbik asit tarafından korunduğu da ileri sürülmüştür (Talcott vd. 2003).

2.3.8 Şeker

Şekerler ve bunların parçalanma ürünleri de antosiyanin parçalanma hızını artırmaktadır. Şekerlerin parçalanma ürünlerinden olan furfural ve hidroksimetilfurfuralın (HMF) antosiyanin parçalanmasında önemli bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Debicki-Pospisil vd. 1983). Model sistem üzerinde pH 3.25'te, glukoz, fruktoz, ksiloz, sakaroz gibi farklı şekerlerin ve bunların parçalanma ürünlerinin, siyanidin-3-diglikozitin parçalanması üzerine etkisi incelenmiş ve şekerlerin tümünün antosiyanin parçalanma hızını artırdığı saptanmıştır (Daravingas ve Cain 1968, Kırca 2004). Ayrıca şekerlerin, parçalanma ürünlerinden; furfuralın, hidroksimetilfurfuraldan daha fazla antosiyanin parçalanmasına neden olduğu gözlenmiştir (Meschter 1953).

Wrolstad vd. (1990) tarafından yapılan bir çalışmada ise, şekerlerin antosiyaninleri koruduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada sakarozun dondurulmuş çilekleri, esmerleşmeden ve polimerik renk oluşumundan, enzimatik reaksiyonları durdurarak koruduğu belirtilmiştir. Ayrıca şekerlerin su aktivitesini düşürerek antosiyanin parçalanmasını engellediği de ileri sürülmektedir (De Ancos vd. 1999b, Rein 2005).

2.4 Kopigmentasyon

Antosiyaninler geniş bir pH aralığında renksiz karbinol bazı formunda bulunmaları nedeniyle, birçok meyve ve sebzenin doğal pH derecesinde (pH 3–5) antosiyaninlerin teorik olarak renk yoğunluklarının düşük olması, hatta renksiz olması beklenirdi. Ancak, renksiz olması beklenen pH 4–5 arasında bile yoğun renkli antosiyanin içeren birçok meyve ve sebze bulunmaktadır. Bunun nedeni, antosiyaninlerin renkli formlarının ortamda bulunan bazı maddeler tarafından stabilize edilmeleri ve pH derecesi uygun olsa dahi antosiyaninlerin renksiz karbinol formu oluşturmalarının engellenmesidir (Cemeroğlu vd. 2009). İşte antosiyaninlerle kompleks oluşturarak, stabil ve hatta farklı renkli bileşik oluşturan maddelere ‘kopigment’; antosiyaninler ve diğer organik moleküller arasında oluşan ve antosiyaninlerin renk stabilitesini artıran reaksiyonlara ise, ‘kopigmentasyon’ denilmektedir (Boulton 2001). Kopigmentasyon, renkli antosiyaninin düzlemsel polarize çekirdek formuna (flavilyum katyonu, kuinoidal formları) kopigment molekülünün tutunmasıyla oluşmaktadır. Bu şekilde, renksiz hemiketal ve çalkon formlarının oluşmasına neden olan, pirilyum çekirdeğindeki C-2 konumuna suyun nükleofilik atağı kısmen de olsa engellenmektedir. Bunun sonucunda, antosiyanin çözeltileri çok daha yoğun renge sahip olmaktadır (hiperkromik etki). Ayrıca, antosiyanin-kopigment kompleksinin görünür bölgedeki maksimum absorbansının dalga boyu, serbest antosiyanininkinden daha yüksektir (batokromik kayma) (Bloor 1999, İstanbullu 2007).

Kopigmentasyon, 1916 yılında Willstatter ve Zollinger tarafından üzümde bulunan malvidin-3-glikozidin (oenin) neden olduğu rengin, tanin ve gallik asit ilavesiyle arttığını saptamasıyla ortaya konulmuştur (Rein 2005). Kopigmentasyon ilk olarak çiçeklerde çalışılmıştır. Robinson ve Robinson (1931), çiçeklerde bulunan farklı antosiyaninlerin aynı renk tonlarına, aynı antosiyaninlerin ise, farklı renk tonlarına neden olduklarını gözlemlemişlerdir (Rein 2005).

Kopigmentasyon reaksiyonlarında rol oynayan kopigmentler serbest halde renksizdirler. Ancak antosiyaninlerle kompleks oluşturarak, antosiyaninlerin renklerini güçlendirmekte ve stabilitelelerini artırmaktadırlar. Flavonoidler, polifenoller, alkaloidler,

amino asitler, organik asitler ve antosiyaninlerin kendileri kofaktör olarak görev alarak antosiyaninlerle kopigment oluşturmaktadır (Mazza ve Miniati 1993). Üzerinde en çok çalışılmış olan kopigmentler; flavon, flavonol, flavanon ve flavanol gruplarını kapsayan flavonoidlerdir (Asen vd. 1972). Ayrıca fenolik asitlerden hidroksisünamik asit ve hidroksibenzoik asit yüksek stabilizasyon etkileri nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Markovic vd. 2000). Rutin, kuersetin gibi flavonoller ile proantosiyanidinler renk yoğunluğunda artışa neden olduklarından iyi kopigmentler olarak görülürken; epikateşin, kateşin zıt yöndeki etkileri dolayısıyla kötü veya anti-kopigmentler olarak bildirilmektedir (Rustioni vd. 2012). Flavonollerden rutin ve kuersetin en etkili kopigmentler olarak bilinmektedir (Bakowska vd. 2003, Rein 2005).

Kopigmentasyon, antosiyanin ile kopigment arasında oluşan bir moleküler interaksyondur. Bir kopigmentin başlıca rolü, flavilyum katyonu ile renksiz karbinol psödobaz arasındaki hidrasyon reaksiyonunu sınırlamaktır (Mazza ve Miniati 1993). Antosiyanin reaksiyonlarına benzer şekilde kopigmentasyon etkisi de, antosiyanin türü ve konsantrasyonu (Scheffeldt ve Hrazdina 1978), kopigment çeşit ve konsantrasyonu (Mazza ve Miniati 1993), çözücü türü (Brouillard vd. 1991), ortamın pH değeri (Scheffeldt ve Hrazdina 1978) ve sıcaklığı (Bakowska vd. 2003) gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Rein 2005).

Asen'e (1976) göre, kopigmentasyonun gerçekleşebilmesi için ortamdaki minimum antosiyanin konsantrasyonunun $3.5 \times 10^{-5} M$ olması gerekmektedir. Kofaktör-antosiyanin oranının kopigmentasyon ve dolayısıyla renk yoğunluğu üzerine etkisi incelenmiş ve bu oran düşük olduğu zaman renk değişiminin de düşük oranda olduğu gözlenmiştir. Kofaktör-antosiyanin oranı 0.05–2 arasında olduğunda kopigmentasyonun renge katkısı daha fazlayken, bu oran düşük olduğunda ise renk artışı daha az ve kofaktöre bağlı olarak sınırlıdır. Yüksek olduğunda ise, sistem antosiyanin konsantrasyonu ile sınırlanmış olup kofaktördeki artışın renk değişimini çok etkilemediği saptanmıştır. Fakat kofaktör-pigment oranının yüksek olmasının kopigmentasyon derecesini yükseltmekte tek başına yeterli olmadığı saptanarak kofaktörün niteliğinin de renk üzerinde önemli rolü olduğu belirtilmiştir (Boulton 2001). Konsantrasyon artışı ile kopigmentasyon arasında doğru orantı gözlenirken, sıcaklığın yükselmesinin

kopigmentasyonu engellendiği saptanmıştır (Cai vd. 1990). Flavilyum katyonunun baskın olduğu düşük pH değerlerinde, kopigmentasyon reaksiyonlarının; kuinodial formun hakim olduğu pH 2–5 aralığına göre daha zayıf olduğu tespit edilmiştir (Williams ve Hrazdina 1979). Maksimum kopigmentasyonun görüldüğü pH derecesi 3.5 olarak belirtilmiştir (Mazza ve Miniati 1993). Ayrıca, kopigmentasyonu çözücü ortam da etkilemektedir. Ortamda bulunan organik çözücüler, kopigmentasyon ile oluşan fiziksel birleşmelere engel olmaktadır. %50 etanol içeren çözeltide kopigmentasyonun etkisinin kaybolduğu gözlenmiştir. Asitli etanol ve asitli su ilave edilmiş çözeltiler karşılaştırıldığında ise; asitli etanol içeren çözeltide maksimum dalga boyunda (batokromik etki) daha fazla artış gözlemlendiği, yani kopigmentasyonun arttığı saptanmıştır. Asitli metanol içeren çözelti ile şarapta da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Şaraba, suda çözünmeyen çözümler eklenerek renkteki ve antosiyanin konsantrasyonundaki değişimler incelenmiştir. Bunun sonucunda renkte önemli derecede kayıplar olduğu saptanmış ve bu sonuç kopigmente olmuş moleküller arasındaki hidrofobik etkileşimlerin organik çözümler tarafından zayıflatılmasına bağlanarak açıklanmıştır (Boulton 2001).

Kopigmentasyonun birkaç farklı şekilde gerçekleştiği ileri sürülmektedir (Gakh vd. 1998, Kırca 2004). Bunlar;

1. Antosiyanidin çekirdeği veya antosiyanidin çekirdeği ile aromatik açıl grupları arasında molekül içi bir interaksiyonla gerçekleşen kendiliğinden birleşme (self-association),
2. Antosiyanidin çekirdeği ve molekülün kromoforik olmayan kısımları (aromatik asit) arasında bir interaksiyonla gerçekleşen molekül içi (intramolecular) kopigmentasyon,
3. İki veya daha fazla molekül arasında gerçekleşen moleküller arası (intermolecular) kopigmentasyon.

Bunlar arasında en önemlileri moleküller arası (intermolecular) ve molekül içi (intramolecular) birleşmelerdir. Kendi kendine birleşmenin yanı sıra bazı kaynaklarda metal kompleks oluşumu da kopigmentasyon etkileşimleri arasında gösterilmektedir

(Rein 2005). Moleküller arası kopigmentasyon özellikle üzüksü meyvelerde önemli bir yere sahiptir. Renkli antosiyanin molekülü ile renksiz kopigment arasındaki kovalent bağ içermeyen interaksiyonlar ile oluşmaktadır (Brouillard 1983). Moleküller arası kopigmentasyondan hidrojen bağları ve hidrofobik interaksiyonlar sorumludur (Asen vd. 1972). Bu kopigmentasyon şekli, *in vivo* koşullarda antosiyaninlerin yapısal kararlılığını arttıran en etkili faktör olarak görülmektedir (Dimitric–Markovic vd. 2000).

Antosiyaninlerin klorojenik asitle kopigmentasyonunun incelendiği bir çalışmada; antosiyanin konsantrasyonu, klorojenik asit konsantrasyonu, pH, sıcaklık, çözücü gibi çeşitli faktörlerin kopigmentasyon üzerine etkisi araştırılmıştır. Siyanidin çözeltisine eklenen klorojenik asidin, pH 2.7–5.7 arasında antosiyanin rengini artırdığı, maksimum renk artışının ise, pH 3.6 değerinde gözlemlendiği saptanmıştır. Sabit pH, sıcaklık ve klorojenik asit konsantrasyonunda, antosiyanin konsantrasyonunun artması ile renk yoğunluğunun da arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış, antosiyanin yapısına ve kopigment-pigment molar oranına bağlı olarak değişim göstermiştir. pH, pigment ve kopigment konsantrasyonu, sıcaklık, iyonik kuvvet ve çözücü sabit tutularak, antosiyanin metoksilasyon ve glikolizasyon derecesinin artışı ile kopigmentasyon etkisinin yükseldiği belirtilmiştir. Sıcaklık artışı, malvidin ve siyanidin çözeltilerindeki klorojenik asidin neden olduğu renk yoğunlaşmasının etkisini azaltmıştır. Bu çözeltilerin sıcaklıklarının 30°, 40°, 50°, 60° ve 70°C'ye yükselmesi ile absorbansları sırasıyla 2.308, 1.849, 1.469, 1.215 ve 1.047 (Abs/cm)'e düşürmüştür. İyonik kuvvet artışı ise, klorojenik asidin antosiyaninlerin renk yoğunluğu üzerindeki etkisini önemli olmayan düzeyde azaltmıştır (Mazza ve Brouillard 1990).

Molekül içi kopigmentasyon ise, pigmentlerin stabilizasyonunu sağlayan açilasyon ile açıklanabilir. Açilasyon; antosiyaninin B halkasındaki C3 karbon atomuna bağlanan şeker molekülünün 6-OH ya da daha az sıklıkla 4-OH grubuyla açil gruplarının esterleşme reaksiyonudur. Genel olarak; antosiyaninlerin açil grubunu aromatik fenolik asit, alifatik dikarboksil asit ya da bunların kombinasyonu oluşturur (Rein 2005). Birçok durumda antosiyanidine bağlı olan şeker molekülü, *p*-kumarik, kafeik, ferulik, sinapik, gallik asit gibi aromatik asitlerle, veya *p*-hidroksibenzoik asitlerle ya da malonik, okzalik, malik, süksinik veya asetik asit gibi alifatik asitler tarafından açillenmektedir

(Mazza ve Brouillard 1987, Mazza ve Miniati 1993). Diğer yandan daha kompleks ailasyon modelleri ve farklı Şeker bağlantıları da söz konusu olabilmektedir (Giusti ve Wrolstad 2003).

Ail grubu, antosiyaninin glikozil grubuna kovalent ester bağla bağlanmaktadır. Kovalent bağ, hidrojen bağından daha kuvvetli olduğu için; antosiyanin stabilizasyonunda, molekül içi kopigmentasyon moleküller arası kopigmentasyondan daha etkilidir. Siyah havuç gibi yüksek miktarda açillenmiş antosiyanin içeren meyve ve sebzelerin renk stabilitesi açillenmiş antosiyaninlerle açıklanmaktadır (Giusti ve Wrolstad 2003). Ail grup içermeyen antosiyaninlerin neredeyse renksiz oldukları pH 4–5 aralığında; açillenmiş antosiyaninlerin stabil bir renge sahip olmaları gıda boyası olarak tercih edilmelerinin nedenidir (Figueiredo vd. 1996).

Asen vd. (1972) antosiyanin konsantrasyonunun 100 kat artırılmasının, maksimum dalga boyunu 507 nm'den 502 nm'ye dűŐürdüęünü, renk yoğunluğu ise, 300 kat yükselttiğini saptamıŐlardır. Bu deęiŐimin antosiyanin moleküllerinin kendi aralarında birleŐmesi sonucu olduğunu belirtilmiŐtir (Rein 2005). Ribereau-Gayon (1982) tarafından yapılan bir araŐtırmada ise, Őarapların yıllandırılması sırasında antosiyaninlerin kendi aralarında birleŐtięi gözlenmiŐ ve bu birleŐmenin yıllanmıŐ Őarapların rengini olumlu etkilediğini bildirmiŐlerdir.

Bazı antosiyaninler; kalay (Sn), bakır (Cu), demir (Fe), alüminyum (Al), magnezyum (Mg), potasyum (K) gibi metal iyonları ile kompleks oluşturarak stabilitelelerini artırmaktadır (Starr ve Francis 1974). Bu antosiyanin-metal kompleksi, antosiyaninlerin B halkasındaki *o*-hidroksile bağlanan antosiyanidin çeŐidine göre farklılık göstermektedir. Siyanidin, delfinidin ve petunidin içeren antosiyaninler, B halkalarında serbest hidroksil grubu bulundurmaları nedeniyle kompleks oluŐturabilirken, pelargonidin, peonidin ve malvidin bu reaksiyonu gerçekleŐtirmemektedir (Osawa 1982).

2.4.1 Doğal kaynaklar kullanılarak kopigmentasyon etkisi

Antosiyanin içeren çeşitli ürünlerde stabiliteyi artırmak ve rengi iyileştirmek amacıyla kopigment olarak farklı ürünler, meyve ekstraktları ve fenolik standartlarının kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. Gonzalez-Manzano vd. (2009) kırmızı şarap rengi üzerine, antosiyanin ve flavonol kopigmentasyonunun önemini göstermek amacıyla iki üzüm çeşidinde (Graciano ve Tempranillo) model sistem kullanarak araştırma yapmıştır. Bu çalışmada, flavonollerle indüklenen antosiyaninlerde gözle fark edilebilir renk değişimleri saptanmış ve bu renk değişimlerinin %2–20 arasında olduğu belirtilmiştir. Bu etkinin sadece flavonol konsantrasyonundan kaynaklanmadığı, aynı zamanda flavonol preparatlarının niteliğinden ve üzüm çeşidinden de kaynaklandığı vurgulanmıştır. Sonuçlar antosiyaninlerin fenolik bileşiklerle kopigmentasyonunun, üzüm ve şarap rengi üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca antosiyaninlerin kendi kendine birleşmesinin de renk üzerine etkileri araştırılmış ve Graciano çeşidi üzümlerdeki fenoliklerin Tempranillo'ya göre tercih nedeni olduğu saptanmıştır. Yapılan analizlerde gözle görülebilen düzeyde renk farklılıkları saptanmıştır. Bu; flavonollerin, stabilitesi düşük antosiyaninlerde önemli modifikasyonlara neden olarak, renkte olumlu değişiklikler meydana getirdiğini göstermiştir.

Açai meyvesi antosiyaninlerinin renk stabilitesi üzerine, dışarıdan eklenen polifenollerin etkisinin incelendiği bir başka çalışmada ise, açai meyvesinden izole edilen antosiyanin ekstraktına siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin-3-glikozit eklenmiş, ayrıca doğal olarak bulunan fenolik kofaktörlerin (fenolik asitler, proantosiyandinler, flavon-3-glikoz) konsantrasyonu 50 mg/L olarak ayarlanmıştır (Pacheco-Palencia ve Talcott 2010). Antosiyaninlerin depolanma sürecinde; pH ve sıcaklığa bağlı kayıpları pH 3, 3.5 ve 4'te; 5°, 20°, 30°C sıcaklıklarında değerlendirilmiştir. Siyanidin-3-rutinozidin yarılanma süresinin siyanidin-3-glukozidden daha uzun olduğu saptanmıştır. Flavon-3-glikozun varlığının hiperkromik kayma üzerinde önemli etkisinin olduğu ve antosiyanin stabilitesini bütün pH ve sıcaklık kombinasyonlarında arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Fenolik asit ve prosiyanidinlerin ise, antosiyanin stabilitesi üzerinde önemli bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Ayrıca model sistem üzerine flavon-3-glikozit kaynağı olan Afrika kızıl çayından elde edilen kofaktör eklenmiş ve bunun sonucunda

kopigmente olmamış antosiyanin izolatına göre antosiyanin renginde ve stabilitesinde sırasıyla %45.5 ve %40.7'lik artış saptanmıştır. Sonuçlara göre flavon-3-glikozitin renk arttırıcı ve stabilizatör madde olarak siyanidin glikozitlerce zengin yiyecek ve içeceklerde kullanılması önerilmiştir.

Gris vd. (2007) tarafından Cabernet Sauvignon üzümlerinden elde edilen ekstrakt model sisteminde ve yoğurt model sisteminde kafeik asit-antosiyanin kopigmentasyonu ve kopigmentasyonun pigmentlerin stabilitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Kafeik asit ilave edilmiş model sistem üzerinde antosiyanin stabilitesi, 4° ve 29°C'de aydınlık ve karanlık ortamda, pH 3 ve 4'te değerlendirilmiştir. Ayrıca yoğurt model sisteminde 4°C'de karanlık ortamda antosiyanin stabilitesi incelenmiştir. Antosiyaninler ile kafeik asit arasında kopigmentasyon etkileşimi olmuş ve her iki model sistemde de kafeik asit, antosiyanin stabilitesini önemli düzeyde artırmıştır. Model sistemde, sıcaklık ve ışık etkisiyle de antosiyanin stabilitesinde değişim gözlenmiştir. Kafeik asit ile kopigmente olmuş antosiyaninlerde en yüksek yarılanma süresi pH 3'te, karanlık ortamda ve 4°C'de depolama sonucunda elde edilmiştir. Kafeik asit ilavesi ile antosiyaninlerde moleküler arası reaksiyon sonucu pH 3 ve pH 4'te maksimum absorbanlansın dalga boyunda (batokromik etki) ve absorbansta kayma (hiperkromik etki) gözlenmiştir. Genellikle antosiyanin çözeltilerine eklenen kafeik asit, depolama süresince daha iyi stabiliteye ulaşılmasını sağlamıştır. Bu örnekte kafeik asit eklenmiş antosiyanin çözeltileri için maksimum yarılanma süresi karanlık ortamda 4°C'de, minimum yarılanma süresi ise aydınlık ortamda 29°C'de saptanmıştır. Bu sonuçlar; sıcaklık, ışık gibi faktörlerin antosiyaninlerin parçalanmasında etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca yoğurt model sisteminde, antosiyanin stabilitesinin gıda boyası olarak kullanılmaya uygun olabileceği belirtilmiş ve kafeik asit ilavesinin antosiyaninlerin yarılanma süresini arttırdığı saptanmıştır.

Shiraz, Sangiovese ve Pinot Noir üzüm çeşitlerinden elde edilen pulp, çekirdek ve kabuk kombinasyonları üzerinde kopigmentasyon etkisinin incelendiği benzer bir araştırmada, kuersetin ve kafeik asit ekstraktları gibi kofaktörler üzüm kabuğuna, pulpuna ve çekirdeğine eklenerek kopigmente olabilme yetenekleri test edilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktından üretilen örneğin renginde azalma gözlenmiş ve bunun

anti-kopigmentasyondan kaynaklandığı düşünülmüştür. Flavonoller en iyi kopigmentasyon kofaktörü olarak tanımlanmış ve kuersetin-3-*o*-glikozit konsantrasyonunun kopigmentasyon gücüyle ilişkili olduğu saptanmıştır (Rustioni vd. 2012). Pirüvik asidin, antosiyaninlerin renk yoğunluğu üzerindeki etkisini incelemek amacıyla Fulcrand vd. (1998) üzüm posasından malvidin-3-monoglikoziti ekstrakte ederek sodyum pirüvat ile etkileşimlerini incelemiştir. Malvidin-3-monoglikozit ve sodyum pirüvat karışımı 40°C’de 48 h bekletilmiştir. Analizler sonucunda pirüvik asidin üzüm antosiyaninleri üzerine etkili olduğu ve antosiyanin stabilitesini artırdığı saptanmıştır.

Tempranillo ve Cabernet Sauvignon cinsi üzümlerden elde edilen kırmızı şarapların renk stabilitesini artırmak için yapılan bir başka çalışmada kopigment olarak; flavonollerden rutin, hidroksisünamik asitlerden ise, kafeik asit ve kumarik asit denenmiştir (Schwarz vd. 2005). Fermentasyon sonunda eklenen rutin, pH 3.6’da absorbansta önemli artışlara neden olmuştur. Bu artışlar, Tempranillo türü için %9 iken, Cabernet Sauvignon için %35 olarak saptanmıştır. Fakat kafeik asit ve kumarik asit beklenilenin tersine renk yoğunluğunun azalmasına yol açarak anti-kopigmentasyon etkisi göstermiştir.

Çilek ve kuş kirazı (chokeberry) sularında klorojenik asidin kopigmentasyon reaksiyonlarının incelendiği bir araştırmada, absorbansta artış saptanmıştır (Wilska-Jeszka ve Korzuchowska 1996). Maksimum kopigmentasyon etkisi pH 3.4’te gözlenmiş ve klorojenik asidin; kuş kirazı antosiyaninleri üzerinde, çilek antosiyaninlerine oranla daha etkili olduğu saptanmıştır. Konserve çilek ürünlerinde yapılan bir çalışmada ise, doğal renklendirici olarak siyah havuç ve elderberry suyu konsantresi kullanılmıştır. Çalışmada siyah havuç ve elderberry suyu konsantresi eklenmiş çilek konserveledeki renk yoğunluğunun artışı açillenmiş antosiyaninlere dayandırılmış olup, elderberrynin siyah havuçtan daha kuvvetli bir kopigment olduğu sonucuna varılmıştır (Kammerer vd. 2007).

Ahududu meyvesinden ekstrakte edilen siyanidin-3-glikozit ve siyanidin-3-sophorozit pigmentlerinin stabilitesini artırmak amacıyla; sinapik asit, ferulik asit, kafeik asit,

kumarik asit ve gallik asit kopigment olarak kullanılmıştır. Bu 5 fenolik asit arasından en iyi sonuçlar, sinapik ve ferulik asitlerden elde edilmiştir. Kopigmentasyon reaksiyonları en fazla düşük sıcaklıklarda, pH 4'te, 1:100 oranında (antosiyanın:kopigment) ferulik asit ilave edildiğinde gözlenmiştir (Sun vd. 2010).



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Vişne suyu konsantresi

Araştırmada antosiyanin kaynağı olarak ‘DÖHLER Gıda San. Tic. A.Ş.’nden (Karaman,Türkiye) temin edilen 65°Bx (suda çözünmüş kuru madde) içeriğindeki Kütahya çeşidi (*Prunus cerasus* L., cv. Kütahya) vişnelerden elde edilmiş vişne suyu konsantresi kullanılmıştır.

3.1.2 Kopigment kaynakları

Kiraz sapı: Kopigment kaynağı olarak kullanılan kurutulmuş kiraz sapı (*Prunus avium* L.), ‘İstanbul Baharat’ (Ulus, Ankara) firmasından temin edilmiş olup, laboratuvar tipi paslanmaz çelik blender (Waring 8012, Torrington, CT, A.B.D.) ile toz haline getirilerek kullanılmıştır.

Nar kabuğu: Çalışmamızda kullanılan nar kabukları, tarafımızca ‘Hicaz’ (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) türü narların elle danelerinden ayrılması ile elde edilmiştir. Nar kabukları küp şeklinde kesilerek, -25°C’de (614-107; Caravell, Viborg, Danimarka) dondurulmuştur. Dondurulmuş nar kabukları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde -55°C ve 0.021 mbar’da 3 gün süresince liyofilize (FreeZone6L; Labconco, Kansas City, MO, A.B.D.) edilmiş olup, blenderla (Waring 8012) toz haline getirilmiştir.

Yeşil çay: Araştırmamızda kullanılmak üzere “Çaykur” firmasından ‘Antik, Kardelen 2 ve Dust’ olmak üzere üç farklı çeşit yeşil çay temin edilmiştir. Tarafımızca yapılan denemeler sonunda en iyi kopigmentasyon etkisinin görüldüğü ‘Kardelen 2’ türü seçilerek kullanılmıştır.

3.1.3 Kimyasallar

Antosiyaninlerin HPLC ile tanımlanmasında saflaştırılma aşamasında kullanılan C18-Sep-Pak kartuşları (kolonları) Waters firmasından (Milford, MA, A.B.D.); kateşin ve epikateşin standartları Extrasynthèse firmasından (Genay, Fransa); rutin, klorojenik asit, kumarik asit ve ferulik asit standartları Fluka firmasından (Seelze, Almanya); gallik asit, punikalajin ve siyanidin 3-O-glikozid standartları ise, Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.) temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan diğer kimyasallar HPLC saflığında olup, Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Ayrıca tüm analizlerde ultra saf su kullanılmıştır (Millipore Simplicity UV, Molsheim, Fransa).

3.2 Yöntem

3.2.1 Gallik asidin standart olarak seçimi

Laboratuvarımızda yaptığımız ön çalışmalarda gallik asit, ferulik asit, syringic asit, elajik asit, rutin ve kuarsetin standartlarının vişne suyu konsantresinde kopigmentasyon etkisi incelenmiştir. En yüksek kopigmentasyon etkisinin gözlemlendiği gallik asit (A_{maks} değerinde %15 artış, 1:5 antosiyanin:kopigment oranı) kopigment olarak belirlenmiştir.

3.2.2 Antosiyanin kopigment oranının belirlenmesi

Vişne suyu konsantre örneklerine laboratuvarımızda yaptığımız ön çalışmalarda farklı oranlarda (1:1, 1:2.5, 1:5 ve 1:10) gallik asit eklemeleri yapılmıştır. Tortu oluşturmadan A_{maks} değerinde en yüksek artış, 1:5 oranında saptanmıştır.

3.2.3 Kopigment ekstraktlarının hazırlanması

Kiraz sapı ekstraktı: Toz haline getirilmiş kiraz sapı Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde ekstrakt haline getirilmiştir. Bunun için, 800 g yeşil çay tartılarak (Sartorius BP 3100S, Goettingen Almanya), 16 L içme suyu ile,

paslanmaz çelikten yapılmış çift cidarlı bir tankta 80°C’de 45 dak. ara sıra karıştırılarak fenolik ekstraksiyonu sağlanmıştır. Elde edilen 1.76°Bx’deki ekstrakt, kaba filtre kağıdından filtre edildikten sonra, döner (rotary) evaporatörde (Heidolph Laborota 4003, Schwabach, Almanya) vakum altında 40°C’de 39.4°Bx’e konsantre edilmiştir.

Nar kabuğu ekstraktı: Toz haline getirilmiş ‘Hicaz’ türü nardan elde edilen nar kabuklarından, ‘Meyve Suyu Pilot İşletmesi’ nde aşağıda verilen yöntemle ekstrakt elde edilmiştir. Bunun için, 900 g liyofilize nar kabuğu tozu tartılarak (Sartorius BP 3100S), 18 L içme suyu ile 80°C’de 45 dak. ara sıra karıştırılarak fenolik ekstraksiyonu sağlanmıştır. Elde edilen 7.71°Bx’deki ekstrakt, filtre kağıdında filtre edildikten sonra, döner evaporatörde (Heidolph Laborota 4003) vakum altında 40°C’de 20°Bx’e konsantre edilmiştir.

Yeşil çay ekstraktı: “Çaykur” firmasından temin edilen ‘Kardelen 2’ türündeki yeşil çaydan, ‘Meyve Suyu Pilot İşletmesi’nde, aşağıda verilen yöntemle ekstrakt elde edilmiştir. Bunun için, 800 g yeşil çay tartılarak (Sartorius BP 3100S), 16 L içme suyu ile 80°C’de 45 dak. ara sıra karıştırılarak fenolik ekstraksiyonu sağlanmıştır. Elde edilen 5.49°Bx’deki ekstrakt filtre kağıdında filtre edildikten sonra, döner evaporatörde (Heidolph Laborota 4003) vakum altında 40°C’de 31.5°Bx’e konsantre edilmiştir.

3.2.4 Vişne suyu konsantresine kopigment ekstraktlarının eklenmesi ve depolanması

Kopigment ekstraktları çok seyreltik oldukları ve bu nedenle de vişne suyu konsantresinin briksine (65°Bx) getirilemediği için konsantreler, antosiyanin/kopigment oranı 1:5 olacak şekilde vişne suyu briksine getirilerek konsantreye eklenmiştir. Vişne suyu konsantrelerine kopigment ekstraktı eklemek için 450’şer g konsantre tartılmıştır. Kopigment ekstraktlarının içerdikleri fenolik miktarı, konsantrenin antosiyanin miktarının 5 katı olacak şekilde eklenmiştir. Kontrol grubuna ise yalnızca su eklenerek her bir grup 2 L’ye tamamlanmıştır. Tamamlamalarda endüstriye uygunluk açısından içme suyu kullanılmıştır. Vişne suları 65°Bx derecesine kadar döner evaporatörde (Heidolph Laborota 4003) vakum altında 40°C’de konsantreye işlenmiştir.

Kopigment eklenmiş vişne suyu konsantrelerinin steril koşullarda muhafaza edilebilmesi için konsantrelere kısmi pastörizasyon uygulanmıştır. Bu amaçla, vişne suyu konsantreleri; döner evaporatörde 70°C'ye ısıtılmış, bu sıcaklıkta 15 dak. tutulmuş ve daha önce otoklavda 121°C'de 15 dak. süreyle sterilize edilen kavanozlara bunzen beki alevi yanında hızlı bir şekilde doldurulmuştur. Daha sonra kavanozların kapakları hermetik olarak kapatılarak kavanozlar oda sıcaklığına soğutulmuştur. Konsantre örnekleri için yapılan bu işlem tam bir pastörizasyon işlemi olmayıp, örneklerin uzun süre mikrobiyolojik bir bozulma olmadan depolanabilmesi amacıyla yapılmıştır.

Konsantre örneklerinin bulunduğu kavanozlar, -20°C'deki derin dondurucuda (MDF-U731M, Panasonic Healthcare Co., Ltd., Tokyo, Japonya) ve, 4° ve 20°C'deki sıcaklık kontrollü inkübatörlerde (Sanyo MIR 253, Osaka, Japonya) depolanmıştır. Depolama süresince, uygulanan sıcaklığa bağlı olarak farklı aralıklarda örnek alınmıştır. Depolama süresi, uygulanan sıcaklığa bağlı olarak; -20° ve 4°C'de 6 ay, 20°C'de ise 110 gün olarak belirlenmiştir. -20° ve 4°C'de depolanan konsantrelerden ayda bir, 20°C'de depolanan konsantrelerden ise, ilk 2 örnek 15 gün aralıkla olmak üzere 20 günde bir örnek alınmıştır. Periyodik olarak alınan konsantre örneklerinde aşağıda belirtilen fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır.

3.2.5 Fiziksel analizler

3.2.5.1 Suda çözünür kuru madde tayini

Dijital bir refraktometre (Atago, Rx-7000 α Automatic Refractometer, Tokyo, Japan) kullanılarak belirlenmiştir. Refraktometrenin sıfır ayarı, damıtık su ile yapılmıştır.

3.2.5.2 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (Mettler-Toledo SevenCompact pH/Ion S220, Schwerzenbach, İsviçre) ile belirlenmiştir. Bu amaçla, vişne suyu konsantre örneklerinden 10.8 g konsantre örneği tartılıp 50 mL'ye ultra saf su ile tamamlanmıştır.

Bu seyreltiklerden 5 mL örnek alınıp, 10 mL ultra saf su ilave edilerek iyice karıştırıldıktan sonra elde edilen homojen sıvıda pH değeri belirlenmiştir. Meyve ve sebze suları gibi tampon niteliği yüksek olan gıdalarda sulandırma oranı fazla olsa bile, pH değerini etkilemediği için (Cemeroğlu 2007), örneklere pH ölçümlerini kolaylaştırmak için su eklenmiştir. pH ölçümleri, 20°C’de yapılmıştır.

3.2.5.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Bulanıklık ölçümü türbidimetre (Hach 2100N, Loveland, CO, A.B.D.) kullanılarak "Nephelometric Turbidity Unit (NTU)" cinsinden saptamıştır.

3.2.6 Kimyasal analizler

3.2.6.1 Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği, pH ile izlenerek yürütülen elektrometrik titrasyonla saptanmış olup, analizde IFU (1968) tarafından önerilen yöntem ile yapılmıştır. Bu amaçla, pH tayini için hazırlanmış olan seyreltilmiş vişne suyu konsantre örnekleri ayarlı 0.1 N NaOH çözeltisi ile ve pH metre (Mettler-Toledo SevenCompact pH/Ion S220) yardımıyla, pH 8.1’e ulaşıncaya kadar titre edilerek, titrasyon asitliği, susuz malik asit cinsinden "g 100 mL⁻¹" olarak hesaplanmıştır.

3.2.6.2 Hiperkromik ve batokromik değişimlerin belirlenmesi

Farklı kopigmentler eklenmiş vişne suyu konsantreleri, vişne suyu briksine (14°Bx) getirildikten sonra örnekten 0.25 mL alınarak 10 mL potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile seyreltilmiş ve UV-VIS spektrofotometrede (ThermoScientific Evolution 201, Cambridge, İngiltere) 350–700 nm aralığında, maksimum absorbans verdikleri dalga boyları ($\lambda_{vis-maks}$) ve bu dalga boyundaki absorbansları (A_{maks}) belirlenmiştir. A_{maks} değerinde meydana gelen değişim (ΔA_{maks}), hiperkromik değişimi; $\lambda_{vis-maks}$ değerinde

meydana gelen değişim ($\Delta\lambda_{\text{vis-maks}}$) ise, batokromik değişimi göstermektedir (Rein 2005).

3.2.6.3 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Monomerik antosiyanin içeriği, Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen ve Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilmiş olan pH diferansiyel metoduna göre belirlenmiştir. Bu metodun ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH 1.0'da renkli oksonium formunun, pH 4.5'de ise, renksiz karbinol psödobaz formunun (hemiketal form) egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortam pH'sı 1.0 ve 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Absorbans okumaları vişne suyu antosiyaninlerinin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda ($\lambda_{\text{vis-maks}}$), pus (haze) halindeki bulanıklığın belirlenmesi için ise; 700 nm'de yapılmıştır. Vişne suyu konsantresindeki antosiyaninlerin 515 nm'de maksimum absorbans verdiği belirlenmiştir.

Vişne suyu konsantre örnekleri vişne suyu briksine getirilerek analize hazırlanmıştır. Seyreltilmiş örnekler, potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile tekrar seyreltilerek, vişne suyu antosiyaninlerinin maksimum dalga boyu olan 515 nm'de absorbans değeri 0.4–1.2 arasına getirilmiştir. Böylece analizler birçok spektrofotometrenin doğrusal sınırı olan 1.2 absorbans değerinin (Özkan vd. 2010) altında yürütülmüştür. Potasyum klorür çözeltisi ile belirlenen bu seyreltme oranı, hem potasyum klorür (pH 1.0) hem de sodyum asetat tampon çözeltisi (pH 4.5) ile uygulanmış ve elde edilen seyreltikler, 15 dak. süreyle denge oluşması için kendi haline bırakılmışlardır. Bekleme süresi sonunda, seyreltikler 0.45 µm gözenek çapındaki PVDF (polyvinylidene fluoride) filtreden filtre (Sartorius AG, Minisart RC 25, Goettingen, Almanya) edildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (damıtık su) aynı anda koyulabildiği çift huzmeli (double-beam) spektrofotometre (ThermoScientific Evolution 201) kullanılarak saptanmıştır. Absorbans ölçümleri, ultra saf suya karşı, vişne antosiyaninlerinin $\lambda_{\text{vis-maks}}$ dalga boyu olan 515 nm'de ve düşük düzeydeki bulanıklığın belirlenmesi için 700 nm'de 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık küvetlerde (Brand Gmbh, Postfach, Wertheim, Almanya) yapılmıştır. Monomerik antosiyanin miktarı, sebze ve meyvelerde

baskın bulunan siyanidin-3-glukozid cinsinden (Gil vd. 2000) aşağıda verilen 3.1 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)} = \frac{\Delta A}{(\epsilon) (L)} 10^3 (MW) (S_f) \quad (3.1)$$

Burada:

- A : Absorbans farkı (pH 1.0 ve 4.5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı),
MW : Baz olarak alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı (g mol^{-1}),
S_f : Seyreltme faktörü,
 ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı ($\text{L cm}^{-1} \text{mol}^{-1}$),
L : Spektrofotometre küvetinin tabaka kalınlığı (cm).

Siyanidin-3-glukozidin molar absorbans değeri $\epsilon = 26\,900 \text{ L cm}^{-1} \text{mol}^{-1}$ ve molekül ağırlığı $MW = 449.2 \text{ g mol}^{-1}$ (Giusti ve Wrolstad 2001) alınarak hesaplama yapılmıştır.

3.2.6.4 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi

HPLC yöntemi iki aşamadan (saflaştırma ve hesaplama) oluşan bir uygulama olup, bu aşamalar aşağıda açıklanmıştır.

Saflaştırma

4.63 kat seyreltilen vişne suyu konsantre örneklerinden, şeker ve organik asit gibi unsurların uzaklaştırılması amacıyla saflaştırma işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla Skrede vd. (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Saflaştırma işleminin ilk aşamasında C-18 Sep-Pak kolonlarındaki (Waters Co., Milford, MA, A.B.D.) dolgu maddesinin (sorbentin, 100 mg) antosiyaninlerle reaksiyona girebilmesini sağlamak için şartlandırma (conditioning) işlemi yapılmıştır. Bu işlemde kolondan sırasıyla; 5 mL etil asetat, 5 mL metanol (%0.01 HCl içeren) ve son olarak da 2 mL asitlendirilmiş su (%0.01 HCl içeren) geçirilmiştir. Ekstraksiyona hazır hale getirilen kolona,

saflaştırılacak bileşeni içeren vişne suyu örneğinden 1 mL yüklenmiş ve daha sonra 2 mL asitlendirilmiş suyla elüe edilmiştir. Böylece bu elüsyon ile organik asitler, şekerler ve suda çözünür nitelikteki diğer bileşikler gibi analizi interfere eden bileşikler uzaklaştırılırken, antosiyaninler ve diğer polifenolik bileşikler kolon üzerinde sorbente bağlanmıştır. Eşdüze bir saflaştırma işlemi için saflaştırma düzeneğinden (manifold) (Waters Co.) yararlanılmıştır.

C-18 Sep-Pak kolonları, daha sonra 2 mL asitlendirilmiş MeOH (%0.01 HCl içeren) ile yıkanarak antosiyaninleri içeren ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen antosiyanin fraksiyonu bir evaporasyon tüpüne alınmış ve azot evaporatöründe (Caliper, TurboVap, Hopkinton, MA, A.B.D) 40°C’de asitlendirilmiş MeOH, N₂ gazı altında kurutulmuştur. Daha sonra evaporasyon tüpündeki kalıntı üzerine 2 mL asitlendirilmiş su eklenerek kalıntı yeniden çözündürülmüştür. Antosiyaninleri içeren bu çözelti 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtreden (Sartorius AG) filtre edilerek, HPLC’nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 2 mL’lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC’ye enjekte edilmiştir.

Tanımlama ve Hesaplama

Antosiyaninlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında “yüksek performanslı sıvı kromatografi” cihazından (HPLC, Agilent 1200 serisi, Waldbronn, Almanya) yararlanılmıştır. Kullanılan HPLC sistemi; ikili (binary) pompa, foto diyoderey dedektörü (PDA, photo dioderay dedector), +4°C’ye inebilen soğutma sistemine sahip oto-örnekleyici (auto-sampler), gaz giderici (degasser) ve kolon fırınından (thermostatted column compartment) oluşmaktadır. Elde edilen kromatogramlar "ChemStation rev.B.02.01" yazılım programı ile değerlendirilmiştir.

Kromatografi koşulları

Kolon: Ters faz (reverse phase) C₁₈ kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc., Los Angeles, CA, A.B.D.)

Koruyucu kolon: C₁₈ koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc.)

Akış hızı: 1 mL dak.⁻¹

Elüsyon süresi: 20 dak.

Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Dalga boyu: 520 nm

Hareketli faz (mobile phase): Asetonitril (%100) (A) ile *O*-fosforik asit-asetik asit:asetonitril:su (1:10:5:84; v/v/v/v) (B) karışımı. Gradyent akış söz konusu olup, Skrede vd. (2000) tarafından önerilen elüsyon profili tarafımızca modifiye edilerek uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 HPLC ile antosiyaninler için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	1	99
10	12	88
19	22	78
20	1	99

3.2.6.5 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi

Antosiyaninlerin parçalanması ile oluşan esmer renkli bileşikler, "renk yoğunluğu" ve "polimerik renk" tayini ile bu değerlerin yardımıyla hesaplanan "polimerik renk oranı", değerlerinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Bu amaçla, Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Toplam monomerik antosiyanin miktarı tayininde 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) kullanılarak uygun bir seyreltme oranı saptanmıştır. Bu seyreltme oranına göre, vişne suyu briksine getirilmiş vişne suyu konsantre örnekleri bu defa ultra saf suyla seyreltilmiş ve böylece ortamın, materyalin doğal pH derecesinde kalması sağlanmıştır. Ortamdaki bulanıklık yapan unsurları uzaklaştırmak için, tüm örnekler 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtrelerden (Sartorius AG) filtre edilmiştir.

İki ayrı 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık spektrofotometre küvetinin (Brand GmbH) her birine bu seyreltikten 2.8 mL alınıp, küvetlerden birindeki seyreltik üzerine 0.2 mL bisülfite (%20, w/v, K₂S₂O₅) çözeltisi eklenerek, örnekteki monomerik antosiyaninlerin renksiz "sülfonik asit kompleksi" oluşturması sağlanmıştır. Buna karşın, "polimerik antosiyanin-tanen" kompleksleri ve "melanoidin" pigmentleri ise, bisülfite karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Bu esmer renkli pigmentlerin ortamdaki konsantrasyonu arttıkça, 420 nm'de okunan absorptans değerleri yükselmektedir.

Diğer küvete ise, bisülfite çözeltisi yerine 0.2 mL damıtık su eklenerek her iki küvet 15 dak. süreyle denge oluşumu için kendi haline bırakılmışlardır. Bu süre sonunda, her iki küvetteki çözeltilerin absorptans değerleri 420 nm, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ (515 nm) ve 700 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Ölçümler ultra saf suya karşı yapılmıştır. Ölçüm sonuçları aşağıda belirtildiği gibi "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" olarak değerlendirilmiştir.

Renk yoğunluğu

Bu değer, "bisülfite uygulanmamış küvette bulunan örneğin, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ ve 420 nm dalga boylarındaki absorptansları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.2 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

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

Burada:

S_f : Seyreltme faktörü

Polimerik renk

Bu değer, "bisülfıt uygulanmış kúvette bulunan örneğin, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.3 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

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

Polimerik renk oranı

Polimerik renk oranı; "polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı" olarak tanımlanmaktadır. Bu oranın artması, antosiyaninlerin paręalanmasının arttığını ve esmer renkli pigmentlerin miktarının yükseldiğini göstermektedir. Hiğbir işlem görmemiş taze meyve ve sebze sularında bu oranın genellikle %10'un altında olduğu bildirilmektedir. Bu değer, aşağıda verilen 3.4 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

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

3.2.6.6 Toplam polifenol miktarının belirlenmesi

Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem, polifenollerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyerek kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna ve bu reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi rengin spektrofotometrede ölçümüne dayanmaktadır. Örnekte ölçülecek absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan polifenol miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde hesaplanmıştır. Örneklereki toplam polifenol miktarı "mg gallik asit L⁻¹" olarak ifade edilmiştir.

Vişne suyu briksine getirilmiş konsantre örnekleri, fazla miktarda polifenol içermeleri nedeniyle seyreltilerek analize hazırlanmıştır. Bu amaçla, 0.5 mL vişne suyu 20 mL ultra saf su ile seyreltilmiştir. Folin-Ciocalteu ayracı, ultra saf su (1:10) ile seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilen örneklerden 1 mL test tüpüne alınarak üzerine hazırlanan Folin-Ciocalteu ayracından 5 mL eklenmiş ve vorteks ile iyice karıştırılmıştır. Karıştırılmış olan tüp içeriği 3 dak. bekletildikten sonra, üzerine 4 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi (%7.5; w/v) eklenerek tekrar iyice karıştırılmıştır. Tüp içeriği, oda sıcaklığında, karanlıkta 2 h bekletildikten sonra ultra saf su eklenmiş şahide karşı 765 nm’de absorbansı (Thermo Scientific Evolution 201) saptanmıştır.

Vişne suyu briksine getirilmiş konsantre örneklerinin polifenol içeriği gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Örneklerin absorbans değerlerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan polifenol miktarları, standart eğriyi tanımlayan eşitlik yardımıyla bulunmuştur. Regresyon eşitliğinden bulunan konsantrasyon değerleri, seyreltme oranları ile çarpılarak örneklerdeki toplam polifenol miktarları hesaplanmıştır.

3.2.6.7 Fenolik dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi

Vişne suyu konsantresinde bulunan fenolik maddelerin saflaştırma işlemi “**3.2.4.4 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi**” bölümünde açıklandığı gibi yapılmıştır. Bu işlemden farklı olarak sadece fenolik bileşikler, saflaştırma kartuşundan 5 mL etil asetat ile yıkanarak elüe edilmiştir.

Tanımlama ve Hesaplama

Fenolik bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında da “**3.2.4.4 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi**” bölümünde özellikleri verilen HPLC cihazından yararlanılmıştır.

Kromatografi koşulları

Kolon: Ters faz (reverse phase) C₁₈ kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc.)

Koruyucu kolon: C₁₈ koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc.)

Akış hızı: 0.700 mL dak.⁻¹

Elüsyon süresi: 85 dak.

Enjeksiyon hacmi: 30 µL

Dalga boyu: 280, 306, 320 ve 365 nm

Hareketli faz: Asetonitril (%100) (A) ile formik asit: su (1: 99; v/v) (B) karışımı. Gradyent akış söz konusu olup, Skrede vd. (2000) tarafından önerilen elüsyon profili tarafımızca modifiye edilerek uygulanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Fenolik madde dağılımı için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	2.5	97.5
45	25	75
50	50	50
55	100	0
68	100	0
70	80	20
85	2.5	97.5

3.2.7 Kinetik katsayıların hesaplanması

Yaptığımız bu çalışmada, farklı kopigmentler eklenmiş vişne suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında antosiyaninlerin parçalanma kinetiği ile polimerik rengin oluşum kinetiği incelenmiştir. İncelenen tüm sıcaklıklarda antosiyanin kaybının birinci derece kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği, polimerik renk

oranının ise, sıfırcı kinetik modele daha uygun olarak gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu nedenle sıfırcı ve birinci kinetik modelleri tanımlayan 3.5. ve 3.6. No'lu diferansiyel eşitliklerin integrali alınarak elde edilen 3.7. (sıfırcı derece) ve 3.8. (birinci derece) No'lu eşitlikler kullanılmıştır.

$$\frac{dC}{dt} = k [C]^0 \text{ (oluşum)} \quad (3.5.)$$

$$\frac{dC}{dt} = -k_1 C \text{ (parçalanma)} \quad (3.6.)$$

$$C = k_0 t + C_0 \text{ (oluşum)} \quad (3.7.)$$

$$\ln C = -k_1 t + \ln C_1 \text{ (parçalanma)} \quad (3.8.)$$

Burada:

- C_0 : İncelenen bileşenin başlangıç konsantrasyonu (mg 100 g⁻¹veya %),
- C : İncelenen bileşenin t süre sonundaki konsantrasyonu (mg 100 g⁻¹veya %),
- k : Reaksiyon hız sabiti (gün⁻¹),
- t : Süre (gün).

Reaksiyon hız sabitleri ile diğer tüm kinetik parametrelerin hesaplanmasında zkan ve Cemeroğlu (2005) tarafından verilen hesaplama yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması

Polimerik renk oluşumuna ilişkin değerler “y” eksenine, sreler “x” eksenine yerleştirilerek, aritmetik ölçekli bir grafikte doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Aynı şekilde, uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin parçalanmasına ilişkin deney verileri herhangi bir işlem yapılmadan doğrudan 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli “y” eksenine, sreler ise “x” eksenine işlenerek doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Elde edilen bu eğrilere doğrusal regresyon analizi

uygulanarak eğrilerin eşitliği hesaplanmış ve bu eşitliklerin eğim değerleri kullanılarak aşağıda verilen 3.9. ve 3.10. No'lu eşitliğe göre reaksiyon hız sabitleri (k) bulunmuştur.

$$k = \text{eğim (Sıfırıncı derece için)} \quad (3.9.)$$

$$k = (\text{eğim}) \cdot 2.303 \quad (\text{Birinci derece için}) \quad (3.10)$$

Yarı ömür süresinin ($t_{1/2}$) hesaplanması

Yarılanma süresi (yarı ömür süresi), antosiyaninlerin %50'sinin kaybı için gerekli süre olup, birinci derece kinetik modele uyan bu parçalanma reaksiyonu için 3.11. No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$t_{1/2} = -\ln\left(\frac{1}{2}\right) \times k^{-1} \quad (3.11)$$

Q_{10} değerlerinin hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklığa bağımlılığını gösteren bir diğer parametre olan Q_{10} değeri, hesaplanan sıcaklık aralığında, sıcaklığın 10°C yükseltilmesinin reaksiyon hızını nasıl etkilediğini gösteren bir değerdir. Aşağıda belirtilen 3.12 No'lu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Q_{10} = (k_2 / k_1)^{10 / (T_2 - T_1)} \quad (3.12.)$$

3.3 İstatistik Değerlendirme

Farklı kopigment kaynakları içeren vişne suyu konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanma süresince fiziksel ve kimyasal özelliklerinin ölçümüne dair elde edilen veriler ile iki tekerrürlü faktöriyel düzende varyans analizi tekniği

kullanılarak değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre gerekli olduğu durumda, Duncan oklu karşılaştırma testi kullanılarak faktörlerin hangi seviyeleri arasındaki farklılığın önemli olduğu araştırılmıştır. İstatistik analizler için, "SAS ver. 9.0" paket programı (The SAS System for Windows 9.0, Chicago, IL, A.B.D.) kullanılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Antosiyanin-Kopigment Oranının Belirlenmesi

Vişne suyu konsantresine eklenecek kopigmentlerin belirlenmesi için birçok deneme yapılmıştır. Bu aşamada öncelikle gallik asit, ferulik asit, rutin ve kuersetin fenoliklerinin standartları vişne suyu konsantresine farklı oranlarda (antosiyanin: fenolik oranları; 1:0, 1:5, 1:25, 1:50 ve 1:100) eklenmiştir.

Çizelge 4.1 Antosiyanin:kopigment oranının kopigmentasyon üzerine etkisi

Kopigment kaynağı	Antosiyanin:kopigment oranı	$\lambda_{\text{vis-maks}}$ (nm)	A_{maks} (ABS)	Etki
Rutin	1:0	517	0.592	
	1:5	514	0.584	AZALTICI
	1:25	515	0.576	AZALTICI
	1:50	516	0.542	AZALTICI
	1:100	517	0.519	AZALTICI
Kuersetin	1:0	517	0.592	
	1:5	515	0.595	ÖNEMSİZ
	1:25	514	0.586	AZALTICI
	1:50	515	0.576	AZALTICI
	1:100	513	0.576	AZALTICI
Gallik asit	1:0	517	0.592	
	1:5	514	0.614	ARTIRICI
	1:25	517	0.669	ARTIRICI*
	1:50	517	0.707	ARTIRICI*
	1:100	517	0.761	ARTIRICI*
Ferulik asit	1:0	517	0.592	
	1:5	513	0.559	AZALTICI
	1:25	513	0.583	ÖNEMSİZ
	1:50	514	0.590	ÖNEMSİZ
	1:100	513	0.572	AZALTICI

*: Örneklerde tortu oluşmuştur.

Kopigmentasyon etkisini incelemek amacıyla hiperkromik ve batokromik kayma değerleri saptanmıştır. Kopigmentasyon etkisi gösteren gallik asit standardının tortu oluşturmadan en iyi sonucu 1:5 oranında verdiği belirlenmiştir (izelge 4.1).

4.2 Kopigment Kaynaklarının Belirlenmesi

Fenolik standartlarının pahalı olması nedeniyle endüstride kopigment olarak kullanılması mümkün değildir. Bu nedenle doğal ekstraktlardan su ile ekstrakte edilen fenoliklerin kopigment kaynağı olarak meyve suyu endüstrisinde kullanılmasının daha uygun olacağını düşünülerek, farklı bitkisel doğal polifenol kaynakları tarafımızca kopigment olarak denenmiştir.

n denemelerimizde gallik asit standardında en iyi kopigmentasyon etkisini saptamış olduğumuz için önceliğimiz gallik asit içeren doğal kaynaklar olmuştur (izelge 4.1). Bu bağlamda gallik asit içeren; nar kabuğu (Ben Nasr vd. 1996, Aviram vd. 2008), keçiboynuzu (Owen vd. 2003, Ayaz vd. 2007), kekik (Jabri-Karoui vd. 2012), kiraz sapı (Bursal vd. 2013), patates kabuğu (Rodriguez De Sotillo vd. 1994, Singh ve Saldana 2011), toz ve top sumak (Kosar vd. 2007), üzüm ekirdeği (Yılmaz ve Toledo 2004) ve yeşil ay (Zuo vd. 2002, Galati vd. 2006) kopigment kaynağı olarak denenmiştir. Ayrıca fenolik içerikleri yüksek ve farklı olan biberiye (rosmarinik asit) (Troncoso vd. 2005), kahve (klorojenik asit, epikateşin, rutin, ferulik asit) (Ramirez-Martinez 1988), elma posası (klorojenik asit, *p*-kumarik asit) (Veberic vd. 2005), buğday kepeği (ferulik asit) (Kim vd. 2006) gibi doğal kaynaklar da denemelerimiz arasında yer almıştır.

Gallik asit standartında tortu oluşturmadan gözlenen en yüksek kopigmentasyon etkisinin 1:5 oranında saptadığımızı belirtmiştik. Karşılaştırma yapmak amacıyla farklı doğal kaynaklardan elde ettiğimiz ekstraktları da antosiyanin kopigment oranı 1:5 olacak şekilde denemeler yapılmıştır. Bu denemelerin bazılarının sonuçları izelge 4.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Kopigment kaynaklarının kopigmentasyon üzerine etkisi

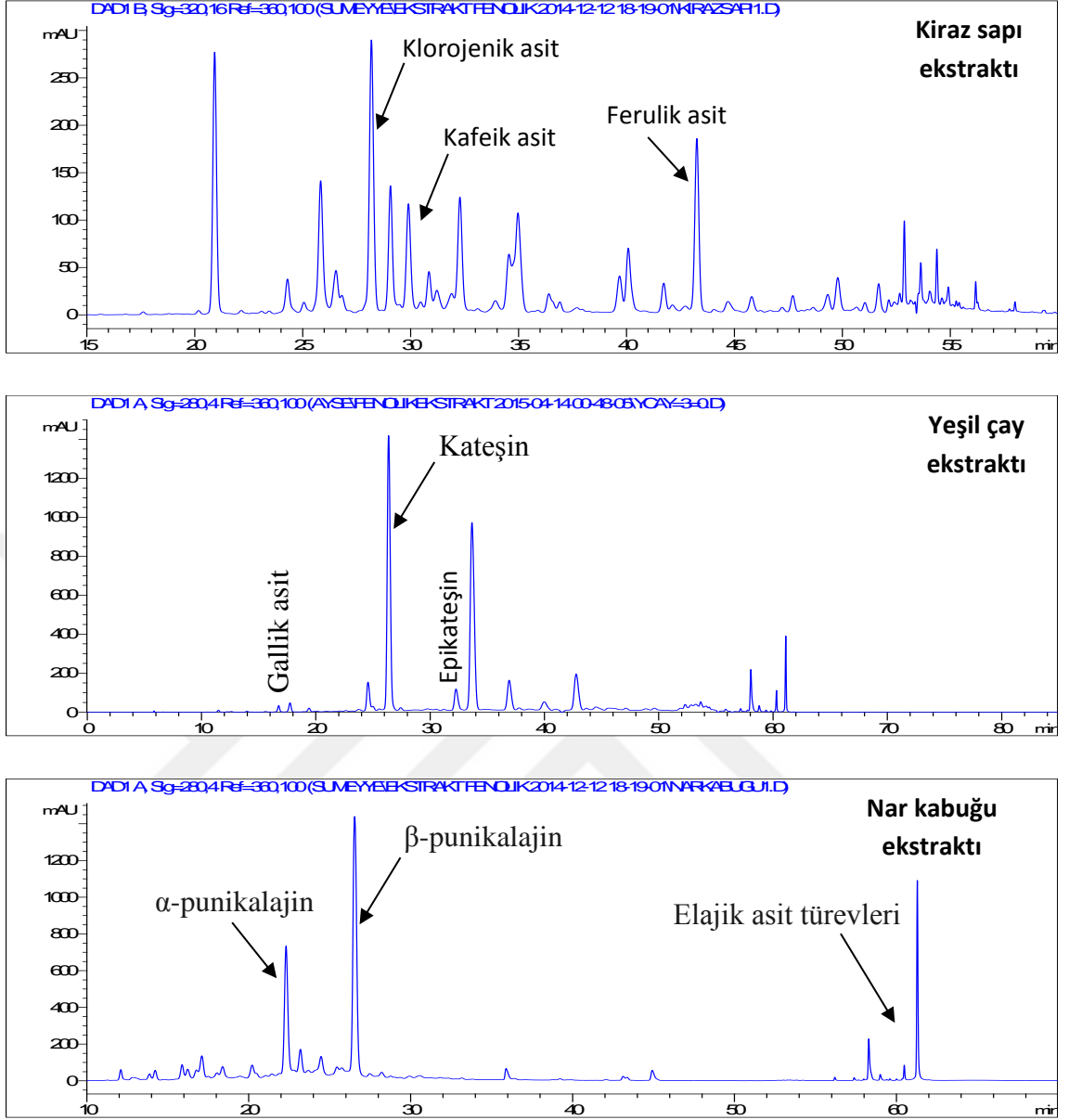
Kopigment kaynağı	Antosiyanin:Kopigment oranı	$\lambda_{\text{vis-maks}}$ (nm)	A_{maks} (ABS)	Etki
Nar kabuğu	1:0	514	0.436	ARTIRICI (%3)
	1:5	518	0.449	
Vişne sapı	1:0	514	0.436	AZALTICI
	1:5	514	0.430	
Yeşil çay	1:0	514	0.512	ARTIRICI (%3)
	1:5	517	0.527	
Kiraz sapı	1:0	505	0.436	ARTIRICI (%3)
	1:5	507	0.451	
Kekik	1:0	514	0.550	AZALTICI
	1:5	514	0.539	
Elma posası	1:0	514	0.614	AZALTICI
	1:5	514	0.593	
Domates sapı	1:0	514	0.614	AZALTICI
	1:5	514	0.560	
Biberiye	1:0	514	0.525	ARTIRICI (%2)
	1:5	515	0.535	
Patates kabuğu	1:0	514	0.525	AZALTICI
	1:5	513	0.489	
Sarı gül	1:0	514	0.525	ARTIRICI (%3)
	1:5	515	0.539	
Kırmızı gül	1:0	514	0.525	ARTIRICI (%3)
	1:5	514	0.540	
Mısır püskülü	1:0	514	0.525	ÖNEMSİZ
	1:5	515	0.523	
Mısır kabuğu	1:0	514	0.525	ÖNEMSİZ
	1:5	514	0.530	
Buğday kepeği	1:0	514	0.525	AZALTICI
	1:5	515	0.491	

Tüm denemelerimiz sonucunda; en iyi kopigment oluşturan, gallik asit standardının yanı sıra, doğal kopigment kaynağı olarak da nar kabuğu, yeşil çay ve kiraz sapı seçilerek kopigment etkileri incelenmiştir.

4.3 Kopigment Kaynaklarının Fenolik Madde Dağılımları

Çalışmada kullanılan doğal kopigment kaynaklarının fenolik madde dağılımları HPLC ile belirlenerek kromatogramlar şekil 4.1’de gösterilmiştir. HPLC analizlerinin sonucunda nar kabuğu ekstraktında; β -punikalajin (1727 mg/L) başat olmak üzere, α -punikalajin (324 mg/L) ve elajik asit türevleri tanımlanmıştır. Yeşil çay ekstratında; başat fenolik olarak belirlenen epikateşinin (1255 mg/L) yanı sıra kateşin (310 mg/L) ve gallik asit (130 mg/L) saptanmıştır. Kiraz sapı ekstraktında ise, klorojenik asit (96 mg/L), kafeik asit (33 mg/L) ve ferulik asit (12 mg/L) tanımlanmış ve başat fenolik asidin klorojenik asit olduğu belirlenmiştir.

Doğal kaynaklardan elde edilen ekstraktların fenolik dağılımları incelendiğinde; nar kabuğu ekstraktının hidrolize olabilen tanenler, yeşil çay ekstraktının flavan-3-ol monomerleri, kiraz sapı ekstraktının ise, hidrokisisinamik asitler bakımından zengin olduğu gözlenmektedir. Böylece, bu çalışmada vişne suyu konsantrlerinde bulunan antosiyaninlerin renk yoğunluğu ve stabilitesi üzerine farklı fenolik gruplarının (hidrokisisinamik asit, hidrolize olabilen tanen, flavan-3-ol monomerleri ve flavonol) etkisi incelenebilmiştir.

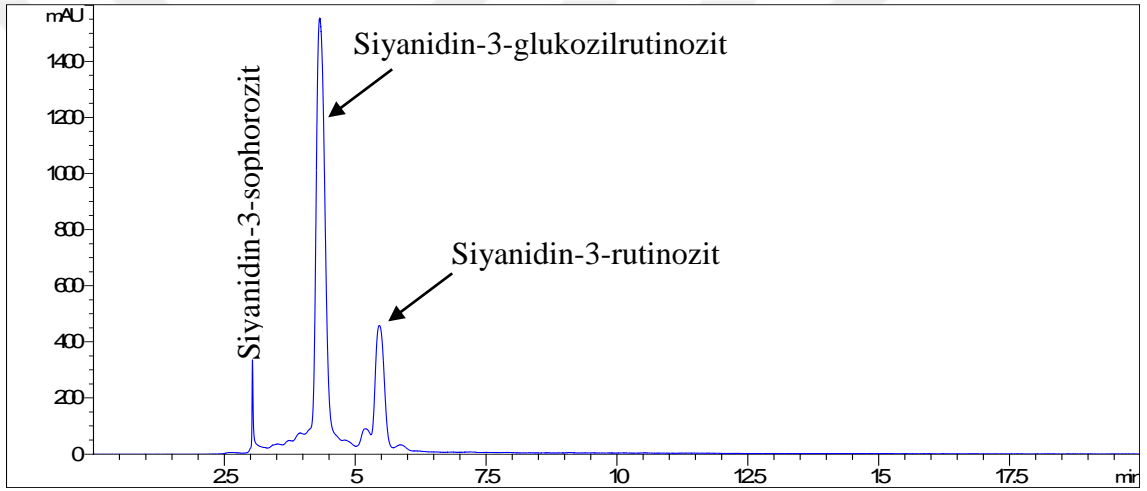


Şekil 4.1 Kopigment kaynaklarının fenolik madde dağılımlarını gösteren HPLC kromatogramları

4.4 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Antosiyaninleri Üzerine Etkisi

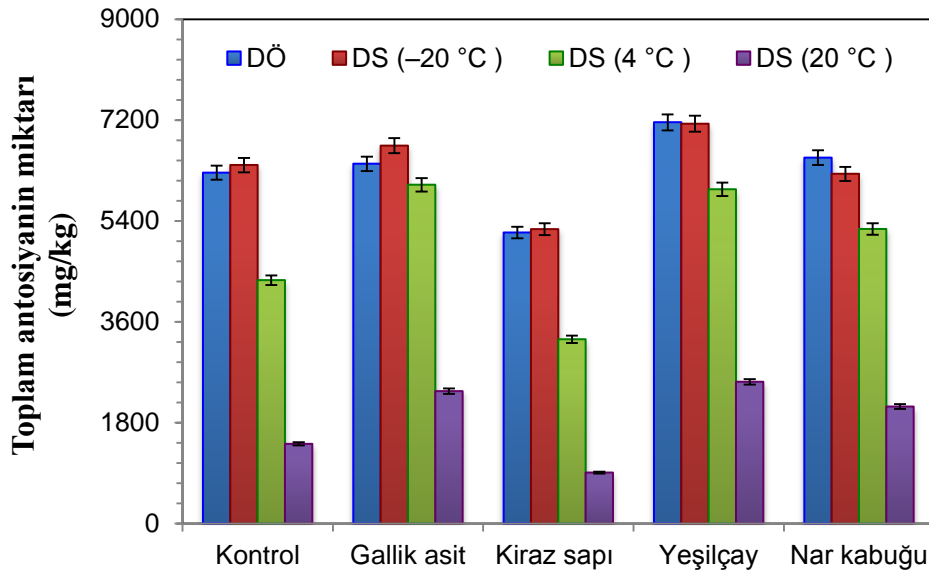
Vişne suyu konsantrelerinin antosiyanin profilleri HPLC ile belirlenmiştir. Vişne suyu konsantrelerinde 3 farklı antosiyanin tanımlanmış olup, ilgili kromatogram şekil 4.2’de gösterilmiştir. Bu antosiyaninler; siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin-3-sophorozit’tir. Siyanidin-3-glukozilrutinozit, vişne suyu konsantresindeki toplam antosiyaninin %75’ini oluşturan başat antosiyanindir. Bunu sırasıyla, siyanidin-

3-rutinozit (%23) ve siyanidin-3-sophorozit (%2) takip etmektedir. Bonerz vd. (2007) tarafından vişne sularında yapılan çalışmada da, bu 3 antosiyanin belirlenmiştir. Bu antosiyaninlerin yanı sıra az miktarda peonidin-3-rutinozit (toplam antosiyanin miktarının %0.7'si kadar), siyanidin-3-glukozit (toplam antosiyanin miktarının %1.7'si kadar) ve siyanidin-3-ksilozilrutinozit (toplam antosiyanin miktarının %4'ü kadar) tanımlanmıştır. Bizim örneklerimizde bu antosiyaninlerin bulunmamasının nedeninin; çeşit farklılığından ya da konsantre üretim aşamalarında antosiyaninlerdeki parçalanmadan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Blando vd. 2004, Bonerz vd. 2007).



Şekil 4.2 Vişne suyu konsantresinin antosiyanin dağılımına ait HPLC kromatogramı

Vişne suyu konsantrelerinin (65°Briks) toplam monomerik antosiyanin miktarı; siyanidin-3-glukozit cinsinden 6260 mg/kg'dır (Şekil 4.3). 110 gün boyunca farklı sıcaklıklarda (-20° , 4° ve 20°C) depolanan vişne suyu konsantrelerinin monomerik antosiyanin miktarında meydana gelen değişimler Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Monomerik antosiyanin parçalanması sıcaklıkla orantılı bir şekilde artış göstermiştir. En fazla parçalanma 20°C 'de depolanan örneklerde gözlenirken, -20°C 'de depolanan örneklerde kayda değer bir değişim saptanmamıştır. Buradan, monomerik antosiyanin kaybını önlemek amacıyla vişne suyu konsantreleri donma noktasının altındaki sıcaklıklarda depolanmalı sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.3 Farklı kopigment kaynaklarının farklı sıcaklıklarda depolama süresince vişne suyu konsantresinin toplam antosiyanin miktarı üzerine etkisi

(DÖ: Depolama öncesi, DS: Depolama sonrası)

Vişne suyu konsantrelerindeki antosiyaninlerin depolama süresince parçalanmaları birinci derece kinetik modele uygun olarak gerçekleşmiştir. Literatürde de meyve suyu konsantrelerinin antosiyaninlerinin birinci derece kinetik modele uygun olarak parçalandığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Turfan vd. 2011, Türkyılmaz vd. 2012, Erkan Koç 2013, Ertan 2016). Vişne suyu konsantrelerindeki monomerik antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin hesaplanan k ve $t_{1/2}$ değerleri çizelge 4.3'te verilmiştir. Beklendiği gibi, depolama sıcaklığı arttıkça antosiyaninlerin parçalanma hızı da artmıştır. 20°C'de depolanan örneklerin monomerik antosiyaninlerinin parçalanma hızı (0.0136 gün^{-1}), 4°C'de depolanan örneklerinkinden (0.0035 gün^{-1}) 3.9 kat daha hızlıdır. Ayrıca; 20°C'de depolanan örneklerdeki antosiyaninlerin yarı ömür süresi 51 gün olarak belirlenmiştir. Cemeroğlu vd. (1994) tarafından vişne suyu konsantrelerinde yapılan bir çalışmada, 20°C'de depolanan konsantrelerin (71°Bx) antosiyanin yarı ömür süresi 38 gün olarak belirlenmiştir. Bizim saptadığımız değerlerden bu çalışmadaki sonuçların farklı olmasının nedeninin, kullanılan vişne çeşidinin aynı olmamasından veya vişne suyu konsantrelerinin suda çözünen kuru madde oranının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Zira, Cemeroğlu vd. (1994) tarafından yapılan çalışmada Isparta'da yetişen bir vişne türü

kullanılmışken, bizim çalışmamızda Kütahya çeşidi vişne kullanılmıştır. Suda çözünür kuru maddenin ana öğelerinden birinin şeker olduğu bilinmektedir. Nikkhah vd. (2007) tarafından üzüm suyu meyvelerden ekstrakte edilen antosiyaninler üzerine yapılan bir çalışmada %20, 40 ve 60 sakkaroz konsantrasyonlarından, antosiyanin stabilitesinin düşük konsantrasyondaki sakkarozun (%20) artırdığı saptanmıştır. Bu durum suda çözünür kuru madde miktarının artışının antosiyanin stabilitesi üzerine olumsuz etki yaptığını göstermektedir.

Çizelge 4.3 Vişne suyu konsantrelerindeki monomerik antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik veriler

Sıcaklık (°C)	Kinetik veri	Kopigment kaynağı				
		Kontrol	Gallik asit	Kiraz sapı	Yeşilçay	Nar kabuğu
<i>Antosiyanin parçalanması</i>						
20	$-k \times 10^2$ (1/gün)	1.36	0.92	1.59	0.94	1.04
	$t_{1/2}$ (gün)	51	75	44	74	67
4	$-k \times 10^2$ (1/gün)	0.35	–	0.41	0.16	0.21
	$t_{1/2}$ (gün)	198	–	169	433	330
4–20	Q_{10}	2.33	–	2.33	3.02	2.72
<i>Siyanidin-3-glukozilrutinozitin parçalanması</i>						
20	$-k \times 10^2$ (1/gün)	1.36	0.89	1.57	0.94	1.06
	$t_{1/2}$ (gün)	51	78	44	74	65
4	$-k \times 10^2$ (1/gün)	0.32	–	0.39	0.16	0.18
	$t_{1/2}$ (gün)	217	–	178	433	385
4–20	Q_{10}	2.47	–	2.39	3.02	3.03
<i>Siyanidin-3-rutinozitin parçalanması</i>						
20	$-k \times 10^2$ (1/gün)	1.68	1.24	2.21	1.17	1.15
	$t_{1/2}$ (gün)	41	56	31	59	60
4	$-k \times 10^2$ (1/gün)	0.51	0.28	0.58	0.28	0.35
	$t_{1/2}$ (gün)	136	248	119	248	156
4–20	Q_{10}	2.11	2.53	2.31	2.44	2.10

Bu çalışmada, vişne suyu konsantrelerinde tarafımızca tespit edilen her bir antosiyanininin stabilitesi saptanmıştır. Siyanidin-3-sophorozitin farklı sıcaklıklarda (–20°, 4° ve 20°C) 110 gün depolama sonucunda miktarında önemli bir değişim olmadığı için; bu antosiyanine ait kinetik parametreler belirlenememiştir. Üç depolama

sıcaklığında da en yüksek stabiliteye sahip olan antosiyanin siyanidin-3-sophorozittir. Diğer antosiyaninler için belirlenen kinetik parametreler kıyaslandığında ise; 4° ve 20°C'de siyanidin-3-glukozilrutinozitin stabilitesinin siyanidin-3-rutinozitin stabilitesinden çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Örneğin; 4°C'de siyanidin-3-glukozilrutinozitin $t_{1/2}$ değeri 217 günken, siyanidin-3-rutinozitin $t_{1/2}$ değeri 136 gündür.

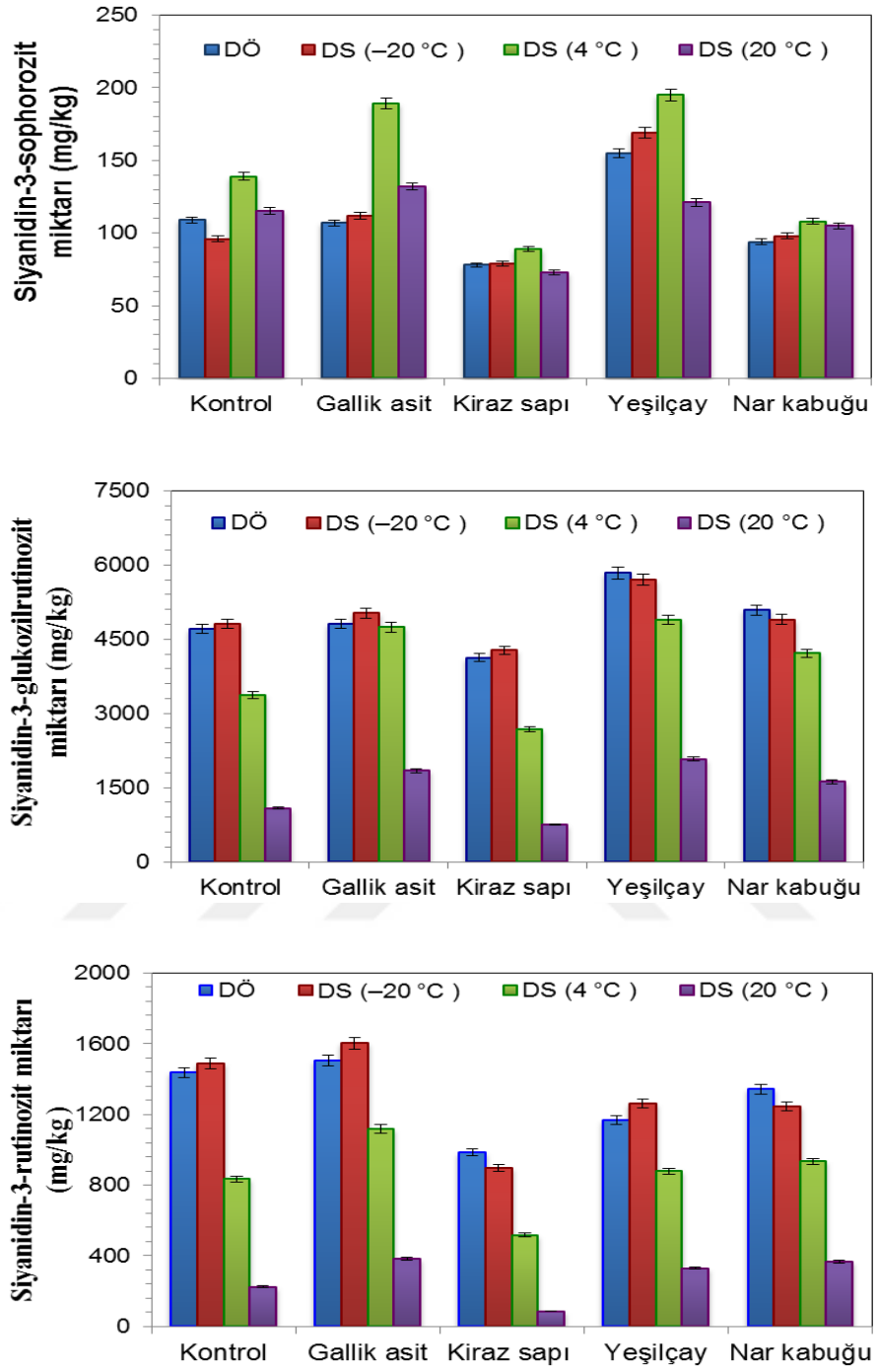
Vişne suyu konsantre örneklerine kopigment kaynakları eklenmesiyle monomerik antosiyanin miktarlarında değişim gözlenmiştir. Yeşil çay ekstraktının (%14) eklenmesi önemli miktarda artışa neden olurken; nar kabuğu ekstraktı (%4) ve gallik asit (%3) eklenmesi daha düşük bir artışa neden olmuştur. Kiraz sapı ekstraktının eklenmesiyle ise, monomerik antosiyanin miktarında önemli miktarda azalma saptanmıştır (%17). Kiraz sapı ekstraktı haricindeki ekstraktların antioksidatif bileşenlerinin konsantrasyon işlemi esnasında monomerik antosiyaninlerin oksidatif parçalanmasını önlediği düşünülmektedir. Gil vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada, yeşil çay ekstraktının antioksidan kapasitesinin nar kabuğu ekstraktından 3.3 kat, gallik asidinkinden ise 2.5 kat daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu antioksidan aktivite değerlerine paralel olarak, yeşil çay ekstraktı monomerik antosiyaninleri parçalanmaya karşı en çok koruyan ekstrakt olmuştur. Bunu sırasıyla; nar kabuğu ekstraktı ve gallik asit takip etmiştir.

Yeşil çay, nar kabuğu ve gallik asit kopigmentlerinden farklı olarak kiraz sapı ekstraktının monomerik antosiyanin miktarında azalmaya neden olmasının iki farklı nedeni olabilir. Bunlardan biri, kiraz sapı ekstraktının yüksek miktarda askorbik asit içermesidir (Bursal vd. 2013). Askorbik asit ve askorbik asitin parçalanma ürünü olan hidrojen peroksit antosiyanin parçalanmasında artışa neden olmaktadır (Özkan 2002). İkinci nedenin ise, vişne suyu konsantresindeki antosiyaninlerle kiraz sapı ekstraktındaki fenolik maddelerin interaksiyona girmesi olduğu düşünülmektedir. Kiraz sapı ekstraktında bulunan klorojenik asit, ferulik asit ve kafeik asit gibi fenolik maddelerin iyi birer kopigment olduğu bilinmesine rağmen; kiraz sapı ekstraktında bulunan bu fenoliklerle vişne suyu konsantresinde bulunan antosiyaninler arasında kopigmentasyon olmadığı belirlenmiştir. Bilindiği gibi, kopigmentasyon üzerine birçok faktör etkilidir. Bunlardan bazıları; antosiyanin yapısı, kopigmentin yapısı, kopigment ve antosiyanin miktarının birbirine oranıdır (Eiro ve Heinonen 2002). Kiraz sapı

ekstraktı birçok farklı fenolik madde içermesine rağmen, bunların herbirinden düşük miktarlarda içermektedir. Yani; kiraz sapı ekstraktının, kopigmentasyon için uygun “kopigment ve antosiyanin oranını” sağlamaya yetecek miktarda fenolik madde içermemesi nedeniyle kopigmentasyonun gerçekleşmediği düşünülmektedir.

Vişne suyu konsantre örneklerinde saptanan her bir antosiyanin üzerine kopigment kaynaklarının etkisi ayrı ayrı incelenmiş ve sonuçlar şekil 4.4’te verilmiştir. Kiraz sapı ekstraktı eklenen örneklerde üç antosiyaninin miktarı da en az seviyede gözlenmiştir. Yeşil çay ve nar kabuğu ekstraktları ise, kiraz sapı ekstraktından farklı olarak, sadece bazı antosiyaninlerin miktarında azalmaya neden olmuştur. Nar kabuğu ekstraktı siyanidin-3-sophorozit miktarında azalmaya neden olurken, yeşil çay ekstraktı siyanidin-3-rutinozit miktarında azalmaya neden olmuştur. Buna karşın, her iki ekstrakt da siyanidin-3-glukozilrutinoziti parçalanmaktan korumuştur. Bu sonuçlar; yeşil çay ekstraktında bulunan fenolik maddelerle sadece siyanidin-3-rutinozitin interaksiyona girdiğini; nar kabuğu ekstraktındaki kopigmentlerin ise, siyanidin-3-rutinozit yanında siyanidin-3-sophorozit ile de interaksiyona girdiğini göstermektedir.

4 ve 20°C’de depolama süresince, her bir antosiyaninin stabilitesi üzerine kopigment kaynaklarının eklenmesi etkili olmuştur. Yeşil çay, nar kabuğu ve gallik asit kopigmentleri, siyanidin-3-glukozilrutinozit (%27–99) ve siyanidin-3-rutinozitin (%24–82) parçalanması için hesaplanan $t_{1/2}$ değerinde artışa neden olurken; kiraz sapı ekstraktı bu antosiyaninlerin parçalanması için hesaplanan $t_{1/2}$ değerinde azalmaya (%12–24) neden olmuştur. Ayrıca; her bir antosiyaninin $t_{1/2}$ değeri üzerine kopigment ekstraktlarının etki düzeyi farklılık göstermiştir. Örneğin, yeşil çay ekstraktı (%99) ve nar kabuğu ekstraktı (%77) vişne suyu konsantrelerinde başat antosiyanin olan siyanidin-3-glukozilrutinozitin $t_{1/2}$ değerinde en fazla artışa neden olan ekstraktlardır. Bununla birlikte; vişne suyu konsantresindeki stabilitesi en düşük olan antosiyaninin (siyanidin-3-rutinozit) $t_{1/2}$ değerinde en fazla artışa neden olan kopigment kaynakları ise; gallik asit (%82) ve yeşil çay ekstraktlarıdır (%82).



Şekil 4.4 Vişne suyu konsantresinde bulunan her bir monomerik antosiyanin üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi

(DÖ: Depolama öncesi, DS: Depolama sonrası)

Örneklerin toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişim üzerine kopigment kaynakları gibi depolama sıcaklıkları da etkili olmuştur. Depolama sıcaklığı arttıkça

örneklerdeki antosiyanin parçalanması da artmıştır. -20°C 'de depolanan örneklerin monomerik antosiyanin miktarında önemli düzeyde bir değişim meydana gelmemiştir. Antosiyanin parçalanmasına ilişkin hesaplanan kinetik veriler incelendiğinde (Çizelge 4.3); 20°C 'de depolanan örneklerdeki antosiyanin parçalanma hızının 4°C 'de depolananlarınkinden %74–83 oranında daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca, kopigment kaynakları arasında sadece kiraz sapı ekstraktı içeren örneklerdeki antosiyanin parçalanma hızı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek (%17) bulunmuştur. Diğer kopigmentler ise; antosiyanin parçalanma hızını 4°C 'de %40–54 oranında, 20°C 'de ise %24–32 oranında yavaşlatmıştır. Sonuç olarak; gallik asit (%32), nar kabuğu ekstraktı (%23–40) ve yeşilçay ekstraktı (%31–54) antosiyanin stabilitesini artırırken, kiraz sapı ekstraktı (%17) antosiyanin stabilitesini azaltmıştır.

Nar kabuğu ekstraktı ve yeşil çay ekstraktının antosiyanin stabilitesini artırıcı etkisi gallik asidinkinden çok daha yüksektir. Ayrıca, nar kabuğunun meyve suyu endüstrisi atıklarından birisi olması nedeniyle, ucuz olma ve kolay erişilebilme avantajları bulunmaktadır. Bu nedenle; vişne suyu konsantrelerindeki antosiyanin stabilitesinin artırılması için gallik asit yerine, nar kabuğu ekstraktının kullanımı tarafımızca önerilmektedir.

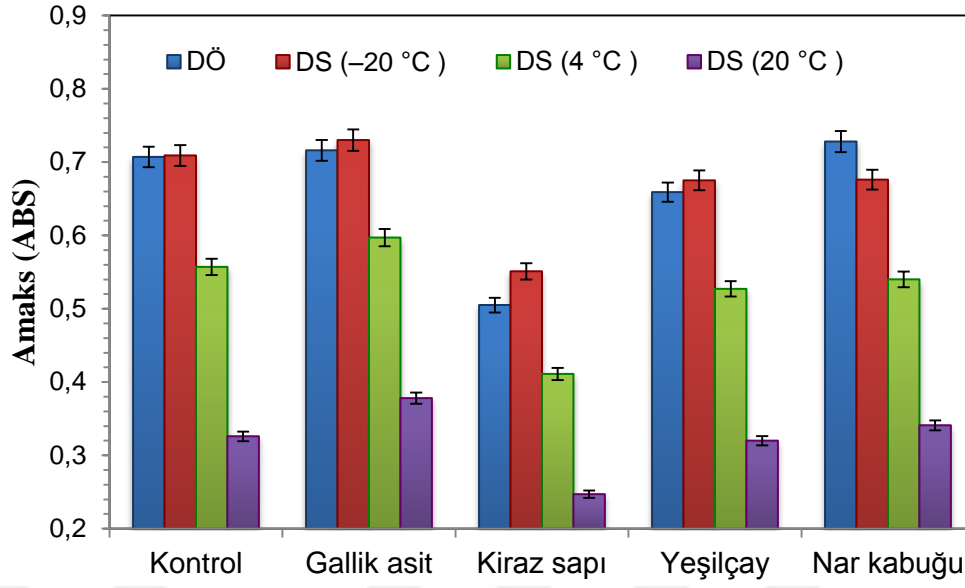
4.5 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Antosiyaninleri Üzerine Kopigmentasyon Etkisi

Gallik asit ve doğal kaynaklardan elde edilen ekstraktlar (nar kabuğu, yeşil çay ve kiraz sapı) eklenmiş vişne suyu konsantresinde maksimum dalga boyu (λ_{maks} , batokromik kayma) ve λ_{maks} 'daki absorpsiyon değerleri (A_{maks} , hiperkromik etki) -20° ve 4°C 'de ortalama 185 gün, 20°C 'de ise, 110 gün depolama süresince incelenmiştir. Vişne suyu konsantresine gallik asit ve doğal ekstraktların eklenmesinin ardından ve depolama sonrasında, λ_{maks} değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Vişne suyu konsantrelerinin depolanması süresince λ_{maks} ve A_{maks} değerleri

Kopigment kaynağı	Sıcaklık (°C)	Süre (gün)	A_{maks}	λ_{maks}
Kontrol	-20	0	0.707±0.004	515.121±0.060
		187	0.709±0.001	515.503±0.353
	4	0	0.707±0.004	515.121±0.060
		187	0.557±0.001	515.182±0.518
	20	0	0.707±0.004	515.121±0.060
		110	0.326±0.004	514.336±0.353
Gallik asit	-20	0	0.716±0.002	515.267±0.907
		189	0.730±0.002	514.836±0.896
	4	0	0.716±0.002	515.267±0.907
		189	0.597±0.003	515.201±0.363
	20	0	0.716±0.002	515.267±0.907
		111	0.378±0.004	514.123±0.759
Kiraz sapı	-20	0	0.505±0.008	514.192±0.466
		181	0.551±0.002	514.017±0.183
	4	0	0.505±0.008	514.192±0.466
		181	0.411±0.002	512.639±1.152
	20	0	0.505±0.008	514.192±0.466
		110	0.247±0.004	507.750±0.415
Nar kabuğu	-20	0	0.728±0.018	515.225±0.610
		185	0.676±0.007	515.036±0.112
	4	0	0.728±0.018	515.225±0.610
		185	0.540±0.012	514.413±0.215
	20	0	0.728±0.018	515.225±0.610
		110	0.341±0.004	509.501±0.621
Yeşil çay	-20	0	0.659±0.009	515.036±0.532
		186	0.675±0.003	514.767±0.413
	4	0	0.659±0.009	515.036±0.532
		186	0.527±0.003	515.116±0.457
	20	0	0.659±0.009	515.036±0.532
		110	0.321±0.003	513.379±1.400

Buna karşın, vişne sularına kopigment ekstraktlarının eklenmesini takiben 65°Bx'e kadar konsantrasyon işleminin sonunda ise, sadece nar kabuğu ekstraktının renk yoğunluğunu artırdığı (%3) saptanmıştır (Şekil 4.5). A_{maks} değerinde gözlenen bu artış, vişne suyu konsantresinde bulunan antosiyaninler ile nar kabuğu ekstraktında bulunan



Şekil 4.5 Vişne suyu konsantresinin A_{maks} değerleri üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi

(DÖ: Depolama öncesi, DS: Depolama sonrası)

kopigmentler arasında kopigmentasyon reaksiyonu olduğunun bir göstergesidir. Nar kabuğunun başat fenolik bileşiği, hidrolize olabilen tanen grubunda yer alan punikalajin olup, bu fenolik bileşiğin yapısında 16 serbest hidroksil grubu bulunmaktadır (Gil vd. 2000). Bu fenolik grubunun polihidroksil grupları negatif yüklü olduğu için, pozitif yüklü antosiyaninlerle yüksek bağlanma kapasitesine sahiptir. Bu nedenle, punikalajin gibi kopigment özelliği olan fenolik bileşikler, antosiyanin gibi nükleofilik moleküllerle kovalent bağ yaparak, kopigment oluşturmaktadırlar. Kopigment oluşturarak, antosiyaninleri oksidatif reaksiyonlardan da korumaktadırlar (Versari vd. 2013). A_{maks} değeri ve antosiyanin stabilitesindeki bu artışların, nar kabuğunda bulunan hidrolize olabilen tanenlerden kaynaklandığını sonucuna ulaşılmıştır.

Kopigmentasyonun hidrojen bağı ile oluştuğu düşünüldüğünde, kopigmentlerdeki serbest hidroksil grubu sayısının azalması, kopigmentasyon etkisini de azaltacaktır (Baranac vd. 1997). Yeşil çay ekstraktında bulunan fenolik asitler (1–4 tane serbest hidroksil grubu) ile kiraz sapı ekstraktında bulunan kateşinler (5 tane serbest hidroksil grubu) nar kabuğunda bulunan hidrolize olabilen tanenlerden daha az serbest hidroksil grubuna sahip olduğu için, nar kabuğu ekstraktı eklenen vişne suyu konsantreleri

dışındaki örneklerin renk yoğunluğunda artış gözlenmemiştir (Yılmaz ve Toledo 2004). Gallik asit, renk yoğunluğunda küçük bir artış (%1.3) sağlarken, yeşil çay (%6.7) ve kiraz sapı (%28.6) ekstraktları renk yoğunluğunda azalmaya neden olmuştur. Yeşil çay ekstraktının konsantre örneklerinin renk yoğunluğunda azalmaya neden olması, yüksek miktarda kateşin içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde, Malien-Aubert vd. (2001) tarafından siyah üzüm (*Vitis vinifera*) antosiyaninleri yapılan bir çalışmada da, kateşin konsantrasyonu arttıkça renk yoğunluğunun azaldığı ve sarımsı renk oluştuğu gözlenmiştir. Kiraz sapı ekstraktının, vişne suyu konsantresinin renk yoğunluğunu azaltmasının ise, iki farklı nedeni olduğu düşünülmektedir. Birincisi, kiraz sapının yüksek miktarda (31.1 mg/kg) askorbik asit içermesidir (Bursal vd. 2013). Bilindiği üzere, askorbik asit, moleküler oksijen ile serbest radikal oluşturur ve bu radikaller antosiyaninlerin pirilyum halkasında oksidatif parçalanmaya neden olmaktadır (De Rosso ve Mercadante 2007). Askorbik asit ve antosiyanin arasında oluşan bu reaksiyon sonucunda monomerik antosiyanin miktarının azaldığı ve bu nedenle renk yoğunluğunda azalma gözlendiği düşünülmektedir. İkinci neden ise, kiraz sapı ekstraktının fenolik profilidir. Kiraz sapı ekstraktı; klorojenik asit, ferulik asit, kafeik asit gibi iyi kopigmentler (Eiro ve Heinonen 2002) içermesine rağmen, vişne suyu konsantresine eklendiğinde herhangi bir kopigmentasyon etkisi gözlenmemiştir. Bilindiği üzere antosiyanin yapısı, kopigment yapısı, antosiyanin kopigment oranı gibi kopigmentasyonu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır (Eiro ve Heinonen 2002). Kiraz sapı ekstraktının toplam fenolik miktarı yüksek olmasına karşın, kopigment oluşturan fenoliklerin miktarları düşüktür. Kiraz sapı ekstraktında bulunan kopigmentlerin antosiyaninler ile kopigmentasyon reaksiyonuna girmeme nedeninin, antosiyanin:kopigment oranı için yeterli kopigment miktarının bulunmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmaya göre de, vişne nektarlarına eklenen gül yaprağı, nar kabuğu, yeşil çay ve kiraz sapı ekstraktlarından 20°C'de depolama süresince gallik asit ve nar kabuğu ekstraktının kopigmentasyon reaksiyonları yaptığı belirlenmiştir (Ertan 2016).

Farklı kopigmentler eklenmiş vişne suyu konsantre örnekleri -20° ve 4°C'de 110 gün, 20°C'de ise, ortalama 185 gün depolanmış ve depolama süresince tüm örneklerin A_{maks} değerleri incelenmiştir. -20°C'de depolanan örneklerin A_{maks} değerlerinde önemli bir

değişim gözlenmezken, 4° ve 20°C’de depolanan tüm örneklerin A_{maks} değerlerinde azalma saptanmıştır. Bu azalmaların, birinci derece reaksiyon kinetiğine uyduğu belirlenmiştir. Depolama sıcaklığı yükseldikçe kontrol grubunun parlak kırmızı rengini kaybettiği gözlenmiştir. Bu durum A_{maks} değerlerindeki azalmaya ilişkin $t_{1/2}$ değerlerinin kıyaslanması ile kolaylıkla görülebilir. Örneğin, kontrol grubunun A_{maks} değerlerindeki azalmaya ilişkin $t_{1/2}$ değerleri; 4° ve 20°C’de sırasıyla 335 ve 100 gün olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Bunun yanında, gallik asit, özellikle 4°C’de depolanan vişne suyu konsantrelerinde rengi iyileştirmiş ve renk stabilitesini artırmıştır. Gallik asit eklenmesi, vişne suyu konsantre örneklerinin 20°C’de 110 gün depolanması sonucunda A_{maks} değerinin $t_{1/2}$ değerlerini %20 oranında artırdığı saptanmıştır. Bunun dışında,

Çizelge 4.5 Vişne suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında A_{maks} değerlerine ilişkin kinetik parametreler

Kopigment kaynağı	Sıcaklık (°C)	$-k \times 10^3$ (gün ⁻¹)	$t_{1/2}$ (gün)	Q_{10} (4°–20°C)
Kontrol	4	2.07	335	
	20	6.91	100	2.12
Gallik asit	4	0.92	753	
	20	5.76	120	3.14
Kiraz sapı	4	2.07	335	
	20	6.22	111	1.99
Nar kabuğu	4	2.30	301	
	20	6.45	107	1.90
Yeşil çay	4	1.84	377	
	20	6.22	111	2.14

depolama sıcaklığının düşmesi ile, gallik asitin, renk stabilitesi üzerindeki etkisi artmıştır. Örneğin, gallik asit eklenmiş örneklerin 4°C’de depolanması sonucunda, A_{maks} değerlerinin $t_{1/2}$ değeri, 20°C’de depolanan örneklerinkinden 1.25 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. 20°C’de depolanan örneklerin A_{maks} değerleri, kontrol grubuna oranla;

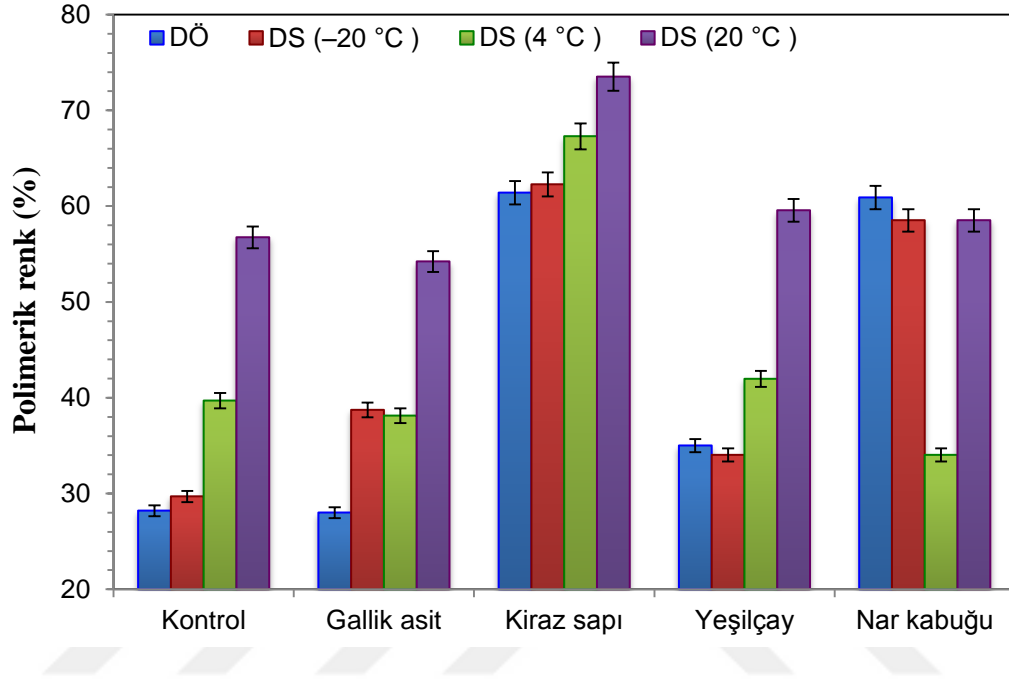
nar kabuğu ekstraktı eklendiğinde %7, kiraz sapı ve yeşil çay ekstraktları eklendiğinde ise %11 artış göstermiştir. Bilindiği gibi birinci derece reaksiyon kinetik modelinde, reaksiyon hızı substrat konsantrasyonu ile doğru orantılı bir şekilde değişmekte ve buna bağlı olarak, substrat konsantrasyonu arttıkça k değeri artarken, $t_{1/2}$ değeri azalmaktadır. Örneğin, nar kabuğu ekstraktı eklenmiş örneklerin A_{maks} değeri depolama başlangıcında en yüksek iken, aynı örnek grubunun $t_{1/2}$ değerinin en düşük olduğu saptanmıştır. Renk yoğunluğu üzerinde önemli etkiye sahip faktörlerden biri de depolama sıcaklığıdır. A_{maks} değerlerinde en fazla azalma 20°C'de depolanan örneklerde gözlenirken, -20°C'de kayda değer bir değişim gözlenmemiştir. Farklı ekstraktlar eklenmiş vişne suyu konsantre örneklerine farklı depolama sıcaklıkları renk yoğunluğu üzerinde farklı etkiler yaratmıştır. Örneğin, 4°C'de A_{maks} değerinin azalmasına ilişkin $t_{1/2}$ değeri, yeşil çay ekstraktı eklenmiş örneklerde %12 artış gösterirken, nar kabuğu örneklerinde aynı sıcaklıkta %10 azalma saptanmıştır. Bu nedenle, vişne suyu konsantresi örneklerinde renk yoğunluğu üzerine hangi doğal ekstraktın etkili olduğu, depolama sıcaklığına bağlı olarak değişiklik gösterdiği saptanmıştır.

4.6 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Renk Yoğunluğu ve Polimerik Renk Değerleri Üzerine Etkileri

Vişne suyu konsantrelerinin renk yoğunluğu ve polimerik renk değerleri üzerine farklı kopigment kaynaklarının etkileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar şekil 4.6'da verilmiştir. Kontrol grubunun polimerik renk değeri %28.2 iken, vişne suyu konsantrelerine ekstrakt eklenmesiyle bu değerde artış (0.24–1.18 kat) gözlenmiştir. En yüksek artış, kiraz sapı ekstraktı (1.18 kat) eklenen örnekte belirlenirken; bunu sırasıyla, nar kabuğu (1.16 kat) ve yeşil çay ekstraktı (0.24 kat) eklenen örnekler takip etmiştir. Polimerik renk değerindeki bu artış; antosiyaninlerin polimerizasyonu, kopigmentasyon ya da antosiyaninlerin parçalanmasından kaynaklanabilmektedir (Kopjar vd. 2011).

Polimerik renk değerlerindeki artışın nedenini açıklayabilmek için, polimerik renk değerleri ile A_{maks} değerleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Kiraz sapı ekstraktı (%61.4) içeren örnek ile nar kabuğu ekstraktı (%60.9) içeren örneğin polimerik renk değerlerinde meydana gelen artış miktarları benzer olmasına rağmen, nar kabuğu içeren

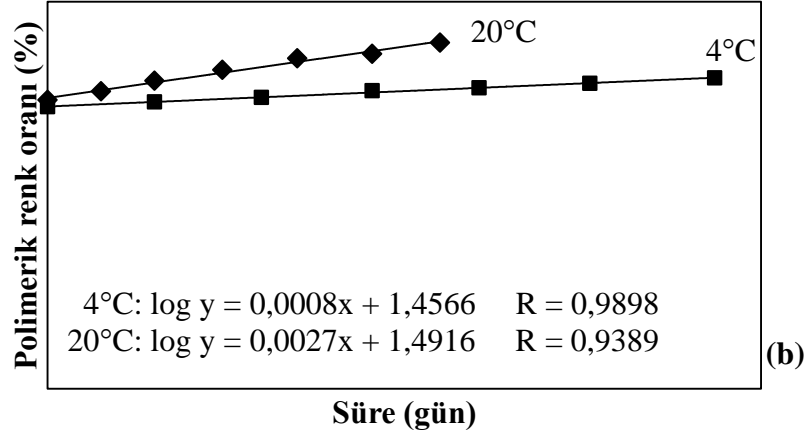
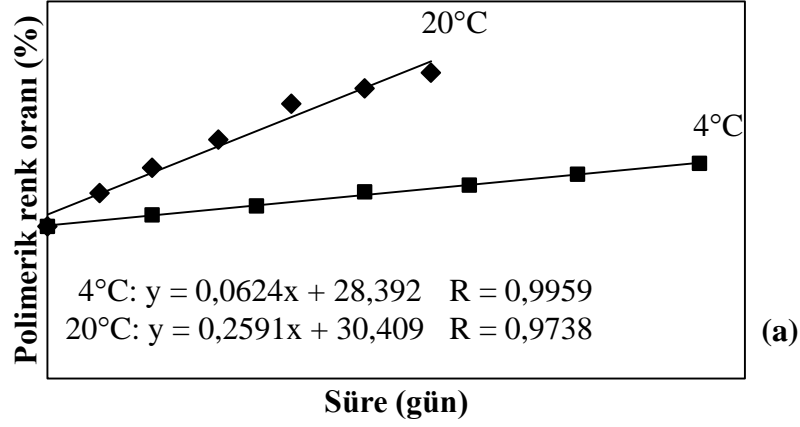
örneğin A_{maks} değerinde (%44) ve antosiyanin miktarında (%20) gözlenen artış; kiraz sapı eklenen örneğinkinden çok daha yüksektir. Buradan, kiraz sapı ve nar kabuğu ekstraktı içeren örneklerdeki polimerik renk oluşumunun nedeninin farklı olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Çalışmamızda hesaplanan korelasyon katsayıları da bu sonucu



Şekil 4.6 Vişne suyu konsantresinin polimerik renk değerleri üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi

(DÖ: Depolama öncesi, DS: Depolama sonrası)

desteklemektedir. Polimerik renk değerleri ve depolama başlangıcındaki A_{maks} değerleri arasındaki korelasyon ($r = -0.5018$) zayıftır. Ancak; nar kabuğu eklenen örneklere ait veriler korelasyon grafiğinden çıkarıldığında, polimerik renk değerleri ve depolama başlangıcındaki A_{maks} değerleri arasında çok güçlü bir korelasyon ($r = -0.9983$) belirlenmiştir. Kopigment kaynakları arasında sadece nar kabuğu ekstraktı kopigmentasyonun bir göstergesi olan A_{maks} değerinde artışa neden olmuştur. Yani; nar kabuğu ekstraktı içeren örneğin yüksek polimerik renk değeri kopigmentasyondan kaynaklanırken, kiraz sapı eklenen örneğin polimerik renk değerindeki artış antosiyaninlerin parçalanması ya da polimerizasyonundan kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.7 Kopigment eklenmemiş vişne suyu konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler
 a. Linear b. Logaritmik

Örneklerin polimerik renk değerlerinde depolama süresince artış gözlenmiştir. Polimerik renk değerindeki değişim sıfırıncı ya da birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleşmektedir. Sıfırıncı dereceden reaksiyon kinetiğine göre hesaplanan determinasyon katsayıları (R^2) birinci dereceden reaksiyon kinetiğine göre hesaplanandan daha yüksek olduğu için; örneklerdeki polimerik renk oluşumu için sıfırıncı dereceden reaksiyon kinetiği dikkate alınmıştır (Şekil 4.7). Hesaplanan kinetik veriler çizelge 4.6'da verilmiştir. -20°C 'de depolanan örneklerin polimerik renk değerlerinde önemli bir değişim olmamışken; 4°C 'de depolanan örneklerin polimerik renk değerlerinde çok düşük miktarda, 20°C 'de depolananlarınkinde ise önemli düzeyde değişim olmuştur ($p < 0.05$).

Çizelge 4.6 Vişne suyu konsantrelerinde polimerik renk oluşumuna ilişkin kinetik veriler

Kopigment kaynağı	Sıcaklık (°C)	$k \times 10^2$ (gün ⁻¹)	Q_{10} (4°–20°C)
Kontrol	4	6.24 (0.996)*	2.43
	20	25.91 (0.974)	
Gallik asit	4	4.95 (0.921)	2.59
	20	22.71 (0.979)	
Kiraz sapı	4	3.03 (0.836)	2.14
	20	10.23 (0.915)	
Nar kabuğu	4	0.91 (0.150)	5.27
	20	12.99 (0.883)	
Yeşil çay	4	4.88 (0.963)	2.59
	20	22.42 (0.989)	

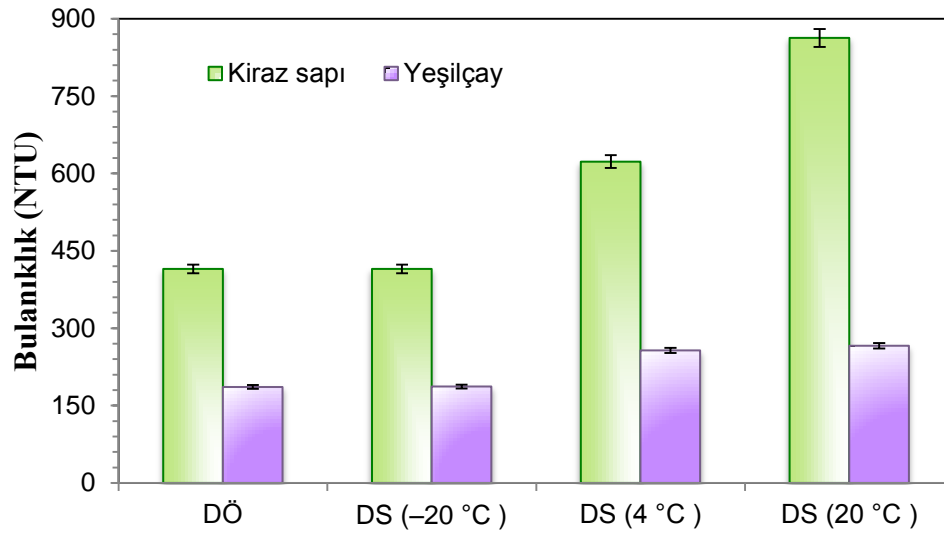
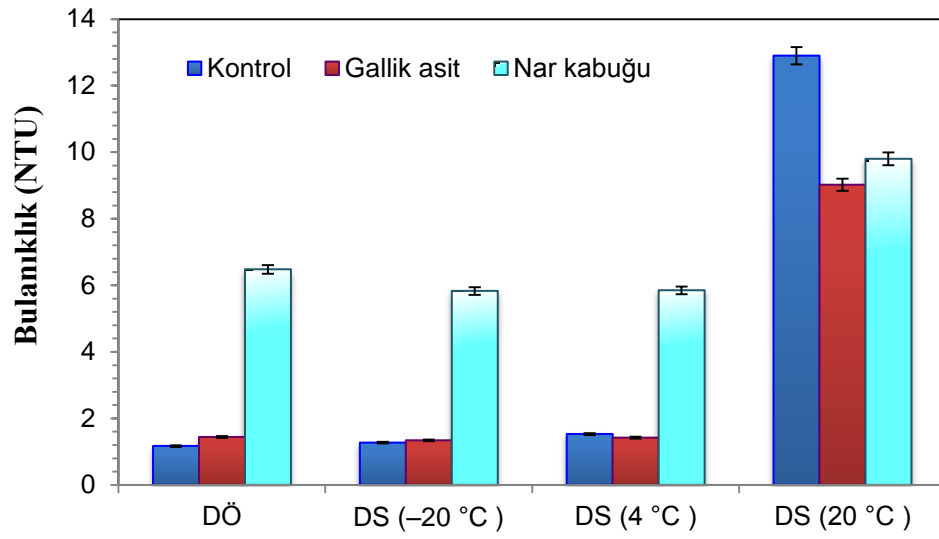
*: Parantez içindeki değer determinasyon katsayısıdır (R^2).

Kontrol grubundaki polimerik renk oluşumu için 4° ve 20°C’de hesaplanan k değerleri sırasıyla 0.0624 ve 0.2591 % gün⁻¹’dür. Kopigment kaynaklarının eklenmesiyle; polimerik renk oluşum hızı (4°C’de %12–60 ve 20°C’de %21–85) azalmıştır. Polimerik renk oluşum hızı ile antosiyanin parçalanma hızı arasında zayıf bir korelasyon ($r=-0.4120$) belirlenmiştir. Örneğin; kiraz sapı ekstraktı içeren örneklerde 20°C’de polimerik renk oluşum hızı 0.1023 % gün⁻¹ iken; antosiyanin parçalanma hızı ise 0.0159 gün⁻¹’dür. Nar kabuğu ekstraktı içeren örneklerin polimerik renk oluşum hızı kiraz sapı ekstraktı içeren örneğinkinden %27 daha fazla olmasına rağmen, antosiyanin parçalanma hızı %35 daha düşüktür. Benzer şekilde; kopigment kaynakları arasında en yüksek polimerik renk oluşum hızına, gallik asit (0.2271 % gün⁻¹) ve yeşil çay ekstraktının (0.2242 % gün⁻¹) neden olmasına rağmen, bu kopigment kaynaklarını içeren örneklerdeki antosiyanin parçalanma hızı kiraz sapı ekstraktı içeren örneğinkinden %41–42 düzeyinde daha düşüktür. Bu sonuçlar da; depolama boyunca kontrol grubu ve kiraz sapı ekstraktı içeren örneklerdeki polimerik renk oluşumunun temel olarak antosiyanin parçalanmasından kaynaklandığını; buna rağmen, gallik asit ve

yeşil çay ekstraktı içeren örneklerdeki polimerik renk oluşumunun ise, temel olarak antosiyanin polimerizasyonundan kaynaklandığını göstermektedir. Bilindiği gibi, polimerik pigmentler; monomerik antosiyaninler ile kateşin ve epikateşin gibi flavan-3-oller arasındaki kondenzasyon reaksiyonları sonucu oluşabilmektedirler (Türkyılmaz ve Özkan 2012). Bu kondenzasyon reaksiyonları sonucunda antosiyaninlerin stabilitesi artmaktadır. Zira, yeşil çay ekstraktı içeren örneklerin gerek polimerik renk değerleri gerekse de antosiyanin stabilitesi oldukça yüksektir. Bu sonuçlar da; yeşil çay içeren örneklerdeki flavan-3-oller ve antosiyaninler arasında kondenzasyon reaksiyonunun gerçekleştiğini doğrulamaktadır.

4.7 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin Bulanıklık Değerleri Üzerine Etkileri

Tüketiciler için önemli bir kalite kriteri olarak değerlendirilen bulanıklık değeri, örneklerin -20° ve 4°C 'de yaklaşık 185 gün, 20°C 'de ise, 110 gün depolama süresince incelenmiş ve sonuçlar şekil 4.8'de verilmiştir. Kontrol grubunun bulanıklık değeri, 1.17 NTU olarak saptanmıştır. Kopigment kaynaklarının eklenmesiyle, bulanıklık değeri önemli düzeyde (0.2–354 kat) artmıştır. Kiraz sapı (415 NTU) ve yeşil çay (186 NTU) ekstraktları eklendiğinde bulanıklık değerlerinde aşırı düzeyde bir artış meydana gelirken, gallik asit (1.44 NTU) ve nar kabuğu ekstraktı (6.48 NTU) eklenen örneklerin bulanıklık değerlerinde çok daha az düzeyde bir artış meydana gelmiştir. 20°C 'de depolama sonucunda da örneklerin bulanıklık değerlerinde önemli miktarlarda artış belirlenmiştir. 20°C 'de örneklerin bulanıklık değerlerindeki artış birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleşmiştir. En yüksek bulanıklık oluşum hızı (0.0216 gün^{-1}) kontrol grubunda belirlenirken; kopigment kaynaklarının eklenmesi bulanıklık oluşum hızını yavaşlatmıştır. En yavaş bulanıklık oluşumu; yeşil çay (0.0030 gün^{-1}) ve nar kabuğu (0.0034 gün^{-1}) ekstraktlarını içeren örneklerde belirlenmiştir. Bunu sırasıyla; kiraz sapı ekstraktı (0.0068 gün^{-1}) ve gallik asit (0.0163 gün^{-1}) takip etmektedir.



Şekil 4.8 Vişne suyu konsantresinin bulanıklık değerleri üzerine kopigment kaynakları ve depolama sıcaklıklarının etkisi

(DÖ: Depolama öncesi, DS: Depolama sonrası)

20°C’de depolama sonunda, yeşil çay (158 kat) ve kiraz sapı (354 kat) ekstraktlarını içeren örneklerin bulanıklık değerleri kontrol grubundan çok daha yüksektir. Bu nedenle, 20°C’de en düşük bulanıklık oluşum hızı yeşil çay ekstraktı içeren örnekte belirlenmesine rağmen; vişne suyu konsantrelerine yeşil çay ekstraktı eklenmesini önermemekteyiz. Yeşil çay ve kiraz sapı ekstraktlarını içeren örneklerden farklı olarak; gallik asit (%43) ve nar kabuğu (%32) ekstraktı içeren örneklerin bulanıklık değerleri ise kontrol grubununkinden çok daha düşüktür. Bununla birlikte; nar kabuğu ekstraktı

içeren örneklerde 20°C’de bulanıklık oluşum hızı gallik asit içeren örneklerdekinden çok daha (%79) yavaştır. Bu nedenle, bulanıklık oluşumu açısından da değerlendirildiğinde; en iyi kopigment kaynağının nar kabuğu ekstraktı olduğu görülmektedir. Hatta, depolama sıcaklığı düştükçe, gallik asit ve nar kabuğu ekstraktı eklenen örneklerin bulanıklık değerleri de azalmıştır. Bu azalma oranı (-20° ve 4°C’de) gallik asit ile kıyaslandığında, nar kabuğu ekstraktında daha (%7’ye varan) yüksektir. Bu sonuç da nar kabuğu ekstraktının, vişne suyu konsantresi için bulanıklık açısından en iyi kopigment kaynağı olduğunu doğrulamaktadır.

4.8 Farklı Kopigment Kaynaklarının Vişne Suyu Konsantrelerinin pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri Üzerine Etkileri

Kopigmentasyon reaksiyonları üzerine önemli düzeyde etki eden parametrelerden biri de pH değeridir. Bu nedenle farklı kopigment kaynaklarını içeren vişne suyu konsantre örneklerinin pH değerleri depolama süresince izlenmiştir (Çizelge 4.7). Kontrol grubunun pH değerleri 3.48–3.52 aralığında saptanmıştır. Gallik asit (pH 3.48–3.53), yeşil çay ekstraktı (pH 3.53–3.56) ve nar kabuğu ekstraktı (pH 3.48–3.53) eklenen vişne suyu konsantrelerinin pH değerleri kontrol grubununki ile benzerdir. Kiraz sapı ekstraktı (pH 3.85–3.96) içeren örneklerin pH değeri ise kontrol grubuna oranla daha yüksektir. Depolama süresince, pH değerlerinde önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Yapılan çalışmalarda, antosiyaninler ve fenolik maddeler arasındaki en yüksek kopigmentasyon etkisinin pH 3.2–3.7 arasında olduğu bildirilmiştir (Macheix vd. 1990, Gris vd. 2007). Bu durumda, kiraz sapı ekstraktı içeren örnekler haricinde, çalışmamızda incelenen örneklerin pH değerlerinin kopigmentasyon için uygun aralıkta olduğu görülmektedir.

Literatürde, vişne suyu konsantrelerinde de bulunan antosiyaninlerden siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin-3-glukozit moleküllerinin protokateşik asit, *p*-hidroksi benzoik asit, vanilik asit, sirinjik asit ve ferulik asit ile kopigmentasyonu üzerine; farklı pH değerlerinin (pH 3.0, 3.5 ve 4.0) ve farklı sıcaklıkların (5°, 20° ve 30°C) etkisi

Çizelge 4.7 Vişne suyu konsantrelerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerine eklenen kopigment kaynaklarının ve depolamanın etkisi

Kopigment kaynağı	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	pH	Titrasyon asitliği* (mg 100g ⁻¹)
Kontrol	-20	0	3.52±0.00	1.37±0.01
		187	3.49±0.00	1.45±0.00
	4	0	3.52±0.00	1.37±0.01
		187	3.50±0.01	1.38±0.02
	20	0	3.52±0.00	1.37±0.01
		110	3.52±0.00	1.30±0.04
Gallik asit	-20	0	3.48±0.01	1.53±0.03
		189	3.48±0.00	1.53±0.01
	4	0	3.48±0.01	1.53±0.03
		189	3.49±0.01	1.54±0.02
	20	0	3.48±0.01	1.53±0.03
		111	3.53±0.01	1.42±0.04
Kiraz sapı	-20	0	3.85±0.05	1.16±0.01
		181	3.93±0.01	1.23±0.00
	4	0	3.85±0.05	1.16±0.01
		181	3.92±0.01	1.20±0.01
	20	0	3.85±0.05	1.16±0.01
		110	3.96±0.00	1.14±0.00
Nar kabuğu	-20	0	3.48±0.00	1.44±0.00
		185	3.47±0.00	1.38±0.00
	4	0	3.48±0.00	1.44±0.00
		185	3.50±0.00	1.38±0.04
	20	0	3.48±0.00	1.44±0.00
		110	3.53±0.01	1.44±0.01
Yeşil çay	-20	0	3.55±0.00	1.35±0.02
		186	3.54±0.00	1.32±0.02
	4	0	3.55±0.00	1.35±0.02
		186	3.56±0.00	1.29±0.03
	20	0	3.55±0.00	1.35±0.02
		110	3.61±0.01	1.26±0.02

*Susuz malik asit cinsinden

incelenmiştir. Sonuçta, her üç sıcaklıkta da pH değerinin artmasıyla birlikte antosiyanin parçalanması hızlanmıştır. Ortamın pH değerinin 3.0'dan 3.5'e çıkması, antosiyanin

parçalanmasını yaklaşık olarak 2 katına çıkarmıştır (Pacheco-Polencia ve Talcott 2010). Nitekim, pH değeri 3.85–3.96 olan kiraz sapı ekstraktı içeren örneklerde de antosiyanin parçalanma hızı diğer örneklere göre çok daha yüksek olmuştur.

Benzer şekilde, örneklerin tamamının titrasyon asitliği değerleri de depolama süresince belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Kontrol grubunun titrasyon asitliği değerleri 1.30–1.45 aralığında belirlenirken, gallik asit (1.42–1.54), yeşil çay (1.26–1.38), nar kabuğu (1.38–1.44) ve kiraz sapı (1.14–1.23) ekstraktları eklenen örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde de depolama süresince önemli bir değişim olmamıştır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar şunlardır:

1. Vişne suyu konsantrisinde antosiyanin stabilitesini artırabilmek için; nar kabuğu ve yeşil çay ekstraktları tercih edilebilir. Ancak; antosiyanin stabilitesi yanında renk yoğunluğunu da artırması nedeniyle; bu ekstraktlardan nar kabuğu ekstraktının kullanılması önerilmektedir.
2. Özellikle berrak vişne nektarı üretiminde kullanılan vişne suyu konsantrelerinde bulanıklık değeri önemli bir kalite kriteridir. Bu açıdan örnekler değerlendirildiğinde; nar kabuğu ve yeşil çay ekstraktları vişne suyu konsantrelerinde depolama boyunca bulanıklık oluşum hızını azaltmıştır. Ancak; yeşil çay ekstraktı eklenir eklenmez örneğin bulanıklık değeri (186 NTU) aşırı düzeyde artmıştır ve depolama boyunca yeşil çay ekstraktı içeren örneğin bulanıklık değeri kontrol grubununkinden çok daha yüksek olmuştur. Bu nedenle de, vişne suyu konsantrelerinde nar kabuğunun kullanılması önerilmektedir.
3. Sonuç olarak, vişne suyu konsantrelerinde, gerek antosiyanin stabilitesini artırması gerek renk yoğunluğunu artırması gerekse de vişne suyu konsantrelerinin depolanması süresince oluşan bulanıklığı önlemek amacıyla, vişne suyu konsantrelerine nar kabuklarından su ile ekstrakte edilen polifenollerin eklenmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams, J.E. 1973. Thermal degradation of anthocyanins with particular reference to the 3-glycosides of cyanidin. I. In acidified aqueous solution at 100 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24 (7), 747–762.
- Ahmed, J., Shivhare, U.S. and Raghavan, G.S.V. 2004. Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree. *European Food Research and Technology*, 218, 525–528.
- Anonymous. 1968. Nr: 3 (Determination of titratable acidity), Internationale Fruchtsaft Union Juris Verlag, Zurich, Switzerland. Erişim Tarihi: 14.03.2017
- Anonim. 2008. Web Sitesi: <https://www.meyed.org.tr>, Erişim Tarihi: 14.01.2017.
- Anonymous. 2012. Web Sitesi: <http://faostat.fao.org>, Erişim Tarihi: 10.01.2017.
- Anonymous. 2014. Web Sitesi: <http://faostat.fao.org>, Erişim Tarihi: 23.12.2016.
- Asefi, N. ve Cemeroglu, B. 2000. Vişne ve nar suyu ve konsantratlarında antosiyaninlerin degradesyonu. *Gıda*, 25, 407–411.
- Asen, S. 1976. Known factors responsible for infinitive flower color variation. *Acta Horticultura*, 63, 217–223.
- Asen, S., Stewart, R.N. and Norris, K.H. 1972. Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. *Phytochemistry*, 11, 1139–1144.
- Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Drener, M., Reddy, M.K., Ferreira, D. and Rosenblat M. 2008. Pomegranate phenolics from the peels, arils and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein E-Deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (3), 1148–1157.
- Ayaz, F.A., Torun, H., Ayaz, S., Correia, P.J., Alaiz, M., Sanz, C., Gruz, J. and Strnad, M. 2007. Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonia Siliqua* L.): Sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *Journal of Food Quality*, 30 (6), 1040–1055.
- Bakowska, A., Kucharska, A.Z. and Oszmianski, J. 2003. The effects of heating, UV irradiation and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*, 81, 349–355.
- Baranac, J.M., Petranovic, N.A., and Dimitric-Markovic, J.M. 1997. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 4. Malvin and apigenin 7-glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (5), 1701–1703.

- Ben Nasr, C., Ayed, N. and Metche, M. 1996. Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. *European Food Research and Technology*, 203 (4), 374–378.
- Blando, F., Gerardi, C. and Nicoletti, I. 2004 . Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanins as ingredients for functional foods. *BioMed Research International*, 2004 (5), 253–258.
- Bloor, S.J. 1999. Novel pigments and copigmentation in the blue marguerite daisy. *Phytochemistry*, 50, 1395–1399.
- Bonerz, D., Würth, K., Dietrich, H. and Will, F. 2007. Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars. *European Food Research and Technology*, 224 (3), 355–364.
- Boulton, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52 (2), 67–87.
- Brouillard, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as Food Colors*, Markakis, P (ed.), Academic Press Inc., p. 1–38, New York, NY, U.S.A.
- Brouillard, R. 1983. The in vivo expression of anthocyanin color in plants. *Phytochemistry*, 22, 1311–1323.
- Brouillard, R., Wigand, M.C., Dangles, O. and Cheminant, A. 1991. The pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *Journal of Chemical Society*, 2, 1235–1241.
- Bruneton, J. 1995. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Tec and Doc-Lavoisier, Paris, France.
- Buckow, R., Kastell, A., Terefe, N.S. and Versteeg, C. 2010. Pressure and temperature effects on degradation kinetics and storage stability of total anthocyanins in blueberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10076–10084.
- Burkhardt, S., Tan, D.X., Manchester, L.C., Hardeland, R. and Reiter, R.J. 2001. Detection and quantification of the antioxidant melatonin in montmorency and balaton tart cherries (*Prunus cerasus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (10), 4898–4902.
- Bursal, E., Köksal, E., Gülçin, İ., Bilsel, G. and Gören, A.C. 2013. Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC-MS/MS. *Food Research International*, 51, 66–74.
- Cabrita, L. 1999. Analysis and stability of anthocyanins (dissertation). University of Bergen, Department of Chemistry, Bergen, Norway.

- Cai, Y., Lilley, T.H. and Haslam, E. 1990. Polyphenol-anthocyanin copigmentation. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 5, 380–383.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, M., Paez-Hernandez, M., Rodriguez, J.A. and Galan-Vidal, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859–871.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S. and Işık, S. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59 (6), 1216–1218.
- Cemeroğlu, B. 2007. *Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, 535, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2009. Meyve ve sebzelerin bileşimi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt I*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 1–237, *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:38*, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of andean purple corn and redfleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86, 69–77.
- Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R. E. 2004. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science*, 69, FCT67–FCT72.
- Cheynier, V. 2003. Structure and properties of wine pigments and tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7951–7961.
- Daravingas, G. and Cain, R.F. 1968. Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model systems. *Journal of Food Science*, 33, 138–142.
- Darias-Martin, J., Martin-Luis, B., Carrillo-Lopez, M., Lamuela-Raventos, R., Diaz-Romero, C. and Boulton, R. 2002. Effect of caffeic acid on the color of red wine. *Food Chemistry*, 50, 2062–2067.
- De Ancos, B., Gonzalez, E. and Cano, M.P. 1999a. Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. *Food Research Technology*, 208, 33–38.
- De Ancos, B., Cano, M.P., Hernandez, A. and Monreal, M. 1999b. Effects of microwave heating on pigment composition and color of fruit purees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 663–670.
- Debicki-Pospisil, J., Lovric, T. and Trinajstic, N. 1983. Anthocyanin degradation in the presence of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. *Journal of Food Science*, 48, 411–416.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C.H. and Talcott, S.T. 2004. Phytochemical composition and pigment stability of acai. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1539–1545.

- De Rosso, V.V. and Mercadante, A.Z. 2007. Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 347–352.
- Dimitric-Markovic, J.M., Petranovic, N.A. and Baranac, J.M. 2000. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5530–5536.
- Eiro, M. J. and Heinonen, M. 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (25), 7461–7466.
- Erkan-Koç, B. 2013. Nar sularının çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve konsantrelerin depolanması sürecinde bileşimindeki değişimler. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 193, Ankara.
- Ertan, K. 2016. Vişne ve çilek nektarlarının renk yoğunluğu ve stabilitesinin doğal kaynaklardan eklenen kopigmentler ile artırılması ve depolama boyunca renkte meydana gelen değişimler. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 175, Ankara.
- Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A. and Neri, D. 2010. Cherry antioxidants: From farm to table. *Molecules*, 15, 6993–7005.
- Figueiredo, P., Elhabiri, M., Toki, K., Saito, N., Dangles, O. and Brouillard, R. 1996. New aspects of anthocyanin complexation. Intramolecular copigmentation as a means for colour loss? *Phytochemistry*, 41, 301–308.
- Fossen, T. and Andersen, O.M. 1999. Delphinidin 3'-galloylgalactosides from blue flowers of *Nymphaea caerulea*. *Phytochemistry*, 50, 1185–1188.
- Fossen, T., Slimestad, R. and Andersen, O.M. 2003. Anthocyanins with 4'-glucosidation from red onion, *Allium cepa*. *Phytochemistry*, 64, 1367–1374.
- Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, V. and Moutounet, M. 1998. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry*, 47, 1401–1407.
- Fuleki, T. and Francis, F.J. 1968. Quantative methods for anthocyanins 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science*, 33 (1), 72–77.
- Furtado, P., Figueiredo, P., Chaves das Neves, H. and Pina, F. 1993. Photochemical and thermal degradation of anthocyanins. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A*, 75 (2), 113–118.

- Gakh, E.G., Dougall, D.K. and Baker, D.C. 1998. Proton nuclear magnetic resonance studies of monoacylated anthocyanins from the wild carrot: Part 1. Inter- and intra-molecular interactions in solution. *Phytochemistry Analysis*, 9, 28–34.
- Galati, G., Lin, A., Sultan, A.M. and O'Brien, P.J. 2006. Cellular and in vivo hepatotoxicity caused by green tea phenolic acids and catechins. *Free Radical Biology and Medicine*, 40 (4), 570–580.
- Garzon, G.A. and Wrolstad, R.E. 2001. The stability of pelargonidin-based anthocyanins at varying water activity. *Food Chemistry*, 75, 185–196.
- Garzon, G.A. and Wrolstad, R.E. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Food Chemistry and Toxicology*, 67, 1288–1299.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581–4589.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wrolstad, R.E. and Schwartz, S.J. (eds.), John Wiley & Sons, pp. 1–13, New York, NY, U.S.A.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14 (3), 217–225.
- Gonzalez-Manzano, S., Duenas, M., Rivas-Gonzalo, J.C., Escribano-Bailon, M.T. and Santos-Buelga, C. 2009. Studies on the copigmentation between anthocyanins and flavan-3-ols and their influence in the colour expression of red wine. *Food Chemistry*, 114, 649–656.
- Gris, E.F., Ferreira, E.A., Falcao, L.D. and Bordignon-Luiz, M.T. 2007. Caffeic acid copigmentation of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grape extracts in model systems. *Food Chemistry*, 100, 1289–1296.
- Hager, A., Howard, L.R., Prior, R.L. and Brownmiller, C. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed black raspberry products. *Journal of Food Science*, 73, 134–140.
- Harborne, J.B. 1967. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic, New York NY, U.S.A.

- Heinonen, I.M., Lehtonen, P.J. and Hopia, A.I. 1998. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1), 25–31.
- İstanbulu, Ö. 2007. Kara havuç (*Daucus carota* var L.) antosiyaninlerinin ferulik asit ile kopigmentasyonu. Yüksek lisans tezi (basılmamış), Mersin Üniversitesi, Mersin.
- Jabri-Karoui, I., Bettaieb, I., Msaada, K., Hammami M. and Marzouk, B. 2012. Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian *Thymus capitatus*. *Journal of Functional Foods*, 4 (3), 661–669.
- Jackman, R.L., Yada, R.Y., Tung, M.A. and Speers, R.A. 1987. Anthocyanins as food colorants: A review. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 201–247.
- Kahkönen, M.P., Heinamaki, J., Ollilainen, V. and Heinonen, M. 2003. Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1403–1411.
- Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A. and Prior, R.L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin c, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Food Chemistry*, 47, 4638–4644.
- Kammerer, D.R., Schillmöller, S., Maier, O., Schieber, A. and Carle, R. 2007. Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colourants. *European Food Research and Technology*, 224, 667–679.
- Kearsley, M.W. and Rodriguez, N. 1981. The stability and use of natural colors in foods: anthocyanin, β -carotene and riboflavin. *Journal of Food Technology*, 16, 421–431.
- Keith, E.S. and Powers, J.J. 1965. Polarographic measurement and thermal decomposition of anthocyanin compounds. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 13, 577–579.
- Kırca, A. and Cemeroğlu, B. 2003. Thermal degradation of blood orange anthocyanins. *Food Chemistry*, 81, 583–587.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, 109 s., Ankara.
- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2006. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, 97, 598–605.
- Kim, K., Tsao, R., Yang, R. and Cui, S.W. 2006. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95 (3), 466–473.

- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F. and Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64 (5), 923–933.
- Kopjar, M., Bilić, B. and Piližota, V. 2011. Influence of different extracts addition on total phenols, anthocyanin content and antioxidant activity of blackberry juice during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 3 (1), 9–15.
- Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F. and Baser, K.H.C. 2007. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria* L.) extracts. *Food Chemistry*, 103 (3), 952–959.
- Leon, A., Robertson, A., Robinson, R. and Seshadri, T.R. 1931. Synthesis of anthocyanins. VII. The four isomeric b-glucosides of pelargonidin chloride. *Journal of Chemical Society Abstracts*, 2672–2701.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Billot, J. 1990. *Fruit Phenolics*. CRC Press, 392, Boca Raton, FL, U.S.A.
- Malien-Aubert, C., Dangles, O. and Amiot, M.J. 2001. Color stability of commercial anthocyanin based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 170–176.
- Markakis, P., Livingston, G.E. and Fellers, C.R. 1957. Quantitative aspect of strawberry-pigment degradation. *Food Research*, 22, 117–130.
- Markakis, P. 1982. Stability of anthocyanins in foods. *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.), s.163–178, Academic Press Inc., New York, NY, U.S.A.
- Markovic, J.M.D., Petranovic, N.A. and Baranac, J.M. 2000. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5530–5536.
- Mazza, G. and Brouillard, R. 1987. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*, 25, 207–225.
- Mazza, G. and Brouillard, R. 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in food aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29 (4), 1097–1102.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. CRC Press, 362, Boca Raton, FL, U.S.A.
- Meschter, E.E. 1953. Effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Journal and Agricultural and Food Chemistry*, 1, 574–579.
- Navruz, A., Semerci, E., Halıcı, D.Ö. ve Gülmez, N. 2012. Çilek suyu konsantresi üretim aşamalarında renk ve antosiyaninlerdeki değişimler. Bitirme tezi (basılmamış), Ankara Üniversitesi, Ankara.

- Nebesky, E.A., Esselen, W.B., Jr., McConnell, J.E.W. and Fellers, C.R. 1949. Stability of color in fruit juices. *Food Research*, 14, 261–274.
- Ngo, T., Wrolstad, R.E. and Zhao, Y. 2007. Color quality of oregon strawberries-impact of genotype, composition and processing. *Journal of Food Science*, 72, 25–32.
- Nikkhah, E., Khayamy, M., Heidari, R. and Jamee, R. 2007. Effect of sugar treatment on stability of anthocyanin pigments in berries. *Journal of Biological Sciences*. 7(8), 1412–1417.
- Osawa, Y. 1982. Copigmentation of anthocyanins. In *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.), pp. 41–65, Academic Press Inc., New York, NY, U.S.A.
- Owen, R.W., Haubner, R., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelhalter, B., Bartsch, H. and Haber, B. 2003. Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre. *Food and Chemical Toxicology*, 41 (12), 1727–1738.
- Özkan, M., Yemencioğlu, A., Çıtak, B. and Cemeroğlu, B. 2000. Effect of hydrogen peroxide on sour cherry anthocyanins. *Journal of Food Quality*, 23, 421–428.
- Özkan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry*, 78 (4), 499–504.
- Özkan, M., Yemencioğlu, A., Asefi, N. and Cemeroğlu, 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. ve Cemeroğlu, B. 2005. Isıl işlem sırasında gıda bileşenlerinin parçalanma kinetiği. *Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler*, Cemeroğlu, B. (ed.), 435–490, Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2010. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri. *Gıda Analizleri*, 2. Baskı, Cemeroğlu, B. (ed.), 87–155, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Pacheco-Palencia, L.A. and Talcott, S.T., 2010. Chemical stability of açai fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) anthocyanins as influenced by naturally occurring and externally added polyphenolic cofactors in model systems. *Food Chemistry*, 118, 17–25.
- Palamidis, N. and Markakis, T. 1975. Structure of anthocyanin. *Journal of Food Science*, 40, 104.
- Patras, A., Brunton, N.P., Tiwari, B.K. and Butler, F. 2009. Stability and degradation kinetics of bioactive compounds and colour in strawberry jam during storage. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1245–1252.

- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C. and Tiwari, B.K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods, mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 3–11.
- Poei-Langston, M.S. and Wrolstad, R.E. 1981. Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin-flovanol model system. *Food Science*, 46, 1218–1236.
- Ramirez-Martinez, J.R. 1988. Phenolic compounds in coffee pulp: Quantitative determination by HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, , 43 (2), 135–144.
- Rein, M. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 87 p., Helsinki, Finland.
- Rhim, J. 2002. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *Food Science and Biotechnology*, 11, 361–364.
- Ribereau-Gayon, P. 1982. Anthocyanins of grapes and wines. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis P (ed.), p. 209–242, Academic Press Inc., New York, NY, U.S.A.
- Robinson, G.M. and Robinson, R. 1931. Survey of anthocyanins. *International Journal of Biochemistry*, 25, 1687–1705.
- Rodriguez De Sotillo, D., Hadley, M. and Holm, E.T. 1994. Phenolics in aqueous potato peel extract: Extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, 59 (3), 649–651.
- Rossetto, M., Vanzani, P., Zennaro, L., Mattivi, F., Vrhovsek, U., Scarpa, M. and Rigo, A. 2004. Stable free radicals and peroxy radical trapping capacity in red wines. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6151–6155.
- Rustioni, L., Bedgood Jr., D.R., Failla, O., Prenzler, P.D. and Robards, K. 2012. Copigmentation and anti-copigmentation in grape extracts studied by spectrophotometry and post-column-reaction HPLC. *Food Chemistry*, 132, 2194–2201.
- Scheffeldt, P. and Hrazdina, G. 1978. Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions. *Journal of Food Science*, 43, 517–520.
- Schwarz, M., Picazo-Bacete, J., Winterhalter, P. and Hermosin-Gutierrez, I. 2005. Effects of copigments and grape cultivar on the color of red wines fermented after addition of copigments. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8372–8381.

- Seeram, N.P., Bourquin, L.D. and Nair, M.G. 2001. Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4924–4929.
- Singh, P.P. and Saldana, M.D.A. 2011. Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Research International*, 44 (8), 2452–2458.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144–153.
- Skrede, G., Wrolstad, R.E., Lea, P. and Enersen, G. 1992. Color stability of strawberry and blackcurrant syrups. *Journal of Food Science*, 57, 172–177.
- Skrede, G., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries. *Journal of Food Science*, 65, 357–364.
- Sondheimer, E. and Kertesz, Z.I. 1952. The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Food Research*, 17, 288–298.
- Starr, M.S. and Francis, F.J. 1974. Effect of metallic ions on color and pigment content of cranberry juice cocktail. *Journal of Food Science*, 38, 1043–1046.
- Sun, J., Cao, X., Bai, W., Liao, X. and Hu, X. 2010. Comparative analyses of copigmentation of cyanidin 3-glucoside and cyanidin 3-sophoroside from red raspberry fruits. *Food Chemistry*, 120, 1131–1137.
- Talcott, S. T., Brenes, C.H., Pires, D.M. and Del Pozo-Insfran, D. 2003. Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice. *Food Chemistry*, 51, 957–963.
- Timberlake, C.F. and Bridle, P. 1966. Effects of substituents on the ionization of flavylum salts and anthocyanins and their reactions with sulfur dioxide. *Chemistry and Industry*, 1965–1966.
- Troncoso, N., Sierra, H., Carvajal, L., Delpiano, P. and Günther, G. 2005. Fast high performance liquid chromatography and ultraviolet–visible quantification of principal phenolic antioxidants in fresh rosemary. *Journal of Chromatography A*, 1100 (1), 20–25.
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and 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 (4), 1644–1651.
- Türkyılmaz, M. and Özkan, M. 2012. Kinetics of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in black carrot juice concentrates during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 47 (11), 2273–2281.

- Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2012. Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. *Food Chemistry*, 134 (2), 1052–1058.
- Veberic, R., Trobec, M., Herbinger, K., Hofer, M., Grill, D. and Stampar, F. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (10), 1687–1694.
- Versari, A., Toit, W. and Parpinello, G.P. 2013. Oenological tannins: a review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19 (1), 1–10.
- Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J. 1996. Colorants. In: *Food Chemistry*, Fennema, O.R. (ed.), 3rd ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- Williams, M. and Hrazdina, G. 1979. Anthocyanins as food colorants: effect of pH on the formation of anthocyanin-rutin complexes. *Journal Food Science*, 44, 66–68.
- Willstatter, R. and Zollinger, E.H. 1916. Anthocyanins. XVI. Anthocyanins of the grape and of the bilberry. II. *Journal of the American Chemical Society*, 112, 47–48.
- Wilska-Jeszka, J. and Korzuchowska, A. 1996. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation. Influence on the color of strawberry and chokeberry juices. *Food Research Technology*, 203, 38–42.
- Wrolstad, R.E., Skrede, G., Lea, P. and Enersen, G. 1990. Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science*, 55, 1064–1065.
- Yılmaz, Y. and Toledo, R.T. 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2), 255–260.
- Zuo, Y., Chen, H. and Deng, Y. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 57 (2), 307–316.

EKLER

EK 1 Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 2 Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

EK 1 Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 Vişne suyu konsantrelerinin λ_{maks} değerlerine ilişkin varyans analizi çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Sıcaklık (°C)	2	19.7384	9.8692	37.58	0.000
Kopigment	4	81.4221	20.3555	77.52	0.000
Süre	8	23.1865	2.8983	11.04	0.000
Kopigment x Sıcaklık	6	45.8590	7.6432	29.11	0.000
Sıcaklık x Süre	12	46.6349	3.8862	14.8	0.000
Kopigment x Süre	24	43.7777	1.8241	6.95	0.000
Kopigment x Süre x Sıcaklık	48	50.6545	1.0553	4.02	0.000*
Hata	105	27.5725	0.2626		
Genel toplam	209	338.8456			

* : P<0.05

Çizelge 2 Vişne suyu konsantrelerin A_{maks} değerlerine ilişkin varyans analizi çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Sıcaklık (°C)	2	1.2900	0.6450	105906.00	0.000
Kopigment	4	0.8395	0.2099	34460.90	0.000
Süre	8	0.0102	0.0013	209.95	0.000
Kopigment x Sıcaklık	6	0.5067	0.0845	13866.70	0.000
Sıcaklık x Süre	12	0.4317	0.0360	5906.61	0.000
Kopigment x Süre	24	0.0171	0.0007	117.25	0.000
Kopigment x Süre x Sıcaklık	48	0.0151	0.0003	51.74	0.000*
Hata	105	0.0006	0.0000		
Genel toplam	209	3.1111			

* : P<0.05

Çizelge 3 Vişne suyu kpnantrelerinin monomerik antosiyanin değerlerine ilişkin varyans analizi çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Sıcaklık (°C)	2	581883.68	290941.84	38334.20	0.000
Kopigment	4	381736.70	95434.18	12574.30	0.000
Süre	8	4071.42	508.93	67.06	0.000
Kopigment x Sıcaklık	6	235536.73	39256.12	5172.35	0.000
Sıcaklık x Süre	12	196741.89	16395.16	2160.21	0.000
Kopigment x Süre	24	4038.43	168.27	22.17	0.000
Kopigment xSüre x Sıcaklık	48	2595.32	54.07	7.12	0.000*
Hata	105	796.91	7.59		
Genel toplam	209	1407401.07			

* : P<0.05

Çizelge 4 Vişne suyu konsantrelerinin renk yoğunluğu değerlerine ilişkin varyans analizi çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Sıcaklık (°C)	2	581883.68	290941.84	38334.20	0.000
Kopigment	4	381736.70	95434.18	12574.30	0.000
Süre	8	4071.42	508.93	67.06	0.000
Kopigment x Sıcaklık	6	235536.73	39256.12	5172.35	0.000
Sıcaklık x Süre	12	196741.89	16395.16	2160.21	0.000
Kopigment x Süre	24	4038.43	168.27	22.17	0.000
Kopigment xSüre x Sıcaklık	48	2595.32	54.07	7.12	0.00*
Hata	105	0.04	0.00		
Genel toplam	209	128.97			

* : P<0.05

Çizelge 5 Vişne suyu konsantrelerinin polimerik renk değerlerine ilişkin varyans analizi çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Sıcaklık (°C)	2	18.39	9.19	20829.70	0.000
Kopigment	4	214.87	53.72	121688.00	0.000
Süre	8	0.57	0.07	161.88	0.000
Kopigment x Sıcaklık	6	9.36	1.56	3533.33	0.000
Sıcaklık x Süre	12	6.81	0.57	1285.43	0.000
Kopigment x Süre	24	1.40	0.06	131.95	0.000
Kopigment x Süre x Sıcaklık	48	0.90	0.02	42.39	0.000*
Hata	105	0.05	0.00		
Genel toplam	209	252.34			

* : P<0.05

Çizelge 6 Vişne suyu konsantrelerinin polimerik renk oranı değerlerine ilişkin varyans analizi çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Sıcaklık (°C)	2	5287.17	2643.58	482.07	0.000
Kopigment	4	32486.62	8121.66	1481.01	0.000
Süre	8	415.12	51.89	9.46	0.000
Kopigment x Sıcaklık	6	2390.70	398.45	72.66	0.000
Sıcaklık x Süre	12	1840.94	153.41	27.98	0.000
Kopigment x Süre	24	824.28	34.35	6.26	0.000
Kopigment x Süre x Sıcaklık	48	691.74	14.41	2.63	0.000*
Hata	105	575.81	5.48		
Genel toplam	209	44512.39			

* : P<0.05

EK 2 Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Çizelge 1 Vişne suyu konsantrelerinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu değerlerine ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucu

Kopigment ekstraktı	Süre	SICAKLIK (°C)		
		-20	4	20
		λ_{maks}	λ_{maks}	λ_{maks}
Kontrol	0	515.1±0.03 ^{A-L}	515.1±0.03 ^{A-L}	515.1±0.03 ^{A-L}
	1	514.8±0.34 ^{B-Q}	515.2±0.08 ^{A-J}	515.2±0.07 ^{A-J}
	2	515.8±0.12 ^{AB}	516.0±1.23 ^A	515.0±0.05 ^{B-M}
	3	514.6±0.71 ^{E-U}	514.1±0.06 ^{M-X}	515.1±0.25 ^{A-L}
	4	514.9±1.22 ^{B-Q}	514.1±0.29 ^{L-X}	514.1±0.06 ^{M-X}
	5	514.2±1.17 ^{J-X}	513.9±0.24 ^{N-X}	514.8±0.004 ^{C-S}
	6	515.7±0.01 ^{A-D}	514.8±0.01 ^{B-Q}	514.4±0.36 ^{F-W}
Gallik asit	0	514.9±1.06 ^{B-N}	514.9±1.06 ^{B-N}	514.9±1.06 ^{B-N}
	1	514.2±0.05 ^{K-X}	515.4±0.18 ^{A-G}	515.3±0.44 ^{A-I}
	2	515.4±0.54 ^{A-G}	514.5±0.49 ^{F-U}	514.7±0.07 ^{D-S}
	3	514.3±1.36 ^{J-W}	515.1±0.10 ^{A-M}	514.9±0.03 ^{B-P}
	4	514.6±0.32 ^{E-U}	514.7±0.11 ^{D-T}	515.2±0.71 ^{A-K}
	5	514.8±0.13 ^{B-Q}	513.8±0.10 ^{S-X}	514.8±0.25 ^{D-S}
	6	514.3±0.16 ^{L-W}	515.0±0.21 ^{B-M}	514.4±0.56 ^{F-V}
Kiraz sapı	0	513.9±0.21 ^{P-X}	513.9±0.21 ^{P-X}	513.9±0.21 ^{P-X}
	1	514.1±0.17 ^{M-X}	514.9±1.06 ^{B-O}	513.9±0.02 ^{Q-X}
	2	514.5±0.35 ^{F-V}	514.6±0.43 ^{E-U}	513.9±0.03 ^{N-X}
	3	513.8±0.66 ^{R-X}	513.5±0.23 ^{V-Y}	514.1±0.64 ^{L-X}
	4	513.9±0.11 ^{O-X}	513.7±0.09 ^{U-X}	510.9±0.22 ^{2A}
	5	513.7±0.23 ^{T-X}	513.2±0.16 ^{XY}	510.4±0.45 ^{2A}
	6	514.1±0.14 ^{M-X}	511.9±0.13 ^Z	507.6±0.47 ^{2C}
Nar kabuğu	0	514.6±0.49 ^{E-U}	514.6±0.49 ^{E-U}	514.6±0.49 ^{E-U}
	1	515.4±0.49 ^{A-G}	515.2±0.22 ^{A-J}	515.7±0.20 ^{A-D}
	2	514.8±0.36 ^{B-Q}	515.4±0.37 ^{A-G}	515.8±0.08 ^{A-C}
	3	515.4±0.55 ^{A-F}	515.3±0.69 ^{A-G}	515.0±0.82 ^{B-M}
	4	515.2±0.03 ^{A-K}	515.2±0.03 ^{A-K}	515.0±1.17 ^{B-M}
	5	514.6±0.61 ^{E-U}	515.0±0.02 ^{A-M}	515.0±1.10 ^{B-M}
	6	515.0±0.15 ^{B-M}	514.4±0.27 ^{G-W}	509.2±0.67 ^{2B}
Yeşil çay	0	514.7±0.05 ^{D-T}	514.7±0.05 ^{D-T}	514.7±0.05 ^{D-T}
	1	515.2±0.50 ^{A-J}	515.8±0.12 ^{A-C}	514.7±0.53 ^{D-S}
	2	514.8±0.56 ^{C-R}	515.4±0.28 ^{A-G}	514.5±1.78 ^{E-U}
	3	514.9±0.07 ^{B-Q}	514.9±0.06 ^{B-Q}	514.3±0.08 ^{H-W}
	4	514.9±0.92 ^{B-O}	515.2±0.50 ^{A-J}	514.9±0.82 ^{B-N}
	5	515.6±0.55 ^{A-E}	515.3±0.33 ^{A-G}	513.4±0.43 ^{W-Y}
	6	514.9±0.29 ^{B-O}	515.3±0.27 ^{A-H}	512.5±0.18 ^{YZ}

Çizelge 2 Vişne suyu konsantrelerinin maksimum absorbands değerlerine ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucu

Kopigment ekstraktı	Süre	SICAKLIK (°C)		
		-20	4	20
		A _{maks}	A _{maks}	A _{maks}
Kontrol	0	0.709±0.002 ^{DE}	0.709±0.002 ^{DE}	0.709±0.002 ^{DE}
	1	0.704±0.002 ^F	0.669±0.002 ^{L-N}	0.604±0.003 ^Z
	2	0.69±0.004 ^H	0.649±0.000 ^U	0.523±0.003 ^{2KL}
	3	0.69±0.000 ^H	0.632±0.001 ^V	0.458±0.003 ^{2R}
	4	0.695±0.001 ^G	0.606±0.002 ^Z	0.401±0.002 ^{2W}
	5	0.689±0.002 ^H	0.581±0.000 ^{2BC}	0.36±0.001 ^{3B}
	6	0.708±0.000 ^{D-E}	0.557±0.000 ^{2F}	0.328±0.002 ^{3E}
Gallik asit	0	0.717±0.000 ^B	0.717±0.000 ^B	0.717±0.000 ^B
	1	0.710±0.006 ^{CD}	0.683±0.000 ^I	0.632±0.003 ^V
	2	0.712±0.001 ^{CD}	0.666±0.002 ^{N-Q}	0.577±0.002 ^{2CD}
	3	0.714±0.002 ^{BC}	0.657±0.001 ^T	0.519±0.000 ^{2L}
	4	0.705±0.001 ^{EF}	0.622±0.002 ^{WX}	0.465±0.001 ^{2Q}
	5	0.718±0.003 ^B	0.626±0.002 ^{WX}	0.416±0.002 ^{2U}
	6	0.729±0.000 ^A	0.598±0.001 ^{2A}	0.380±0.000 ^{2Y}
Kiraz sapı	0	0.509±0.002 ^{2M}	0.509±0.002 ^{2M}	0.509±0.002 ^{2M}
	1	0.526±0.002 ^{2JK}	0.501±0.001 ^{2N}	0.426±0.001 ^{2T}
	2	0.542±0.000 ^{2HI}	0.488±0.000 ^{2O}	0.375±0.002 ^{2Z}
	3	0.542±0.001 ^{2HI}	0.475±0.002 ^{2P}	0.336±0.000 ^{3D}
	4	0.523±0.001 ^{2KL}	0.438±0.003 ^{2S}	0.296±0.000 ^{3G}
	5	0.519±0.000 ^{2L}	0.414±0.000 ^{2UV}	0.274±0.000 ^{3H}
	6	0.552±0.001 ^{2G}	0.410±0.002 ^{2V}	0.245±0.001 ^{3I}
Nar kabuğu	0	0.647±0.005 ^U	0.647±0.005 ^U	0.647±0.005 ^U
	1	0.667±0.000 ^{M-P}	0.645±0.002 ^U	0.584±0.003 ^{2B}
	2	0.667±0.001 ^{N-P}	0.624±0.004 ^{WX}	0.54±0.002 ^{2I}
	3	0.677±0.000 ^{JK}	0.614±0.001 ^Y	0.477±0.003 ^{2P}
	4	0.576±0.000 ^{2D}	0.576±0.000 ^{2D}	0.419±0.001 ^{2U}
	5	0.659±0.002 ST	0.554±0.000 ^{2FG}	0.385±0.000 ^{2X}
	6	0.679±0.003 ^U	0.546±0.003 ^{2H}	0.343±0.001 ^{3C}
Yeşil çay	0	0.664±0.003 ^{O-R}	0.664±0.003 ^{O-R}	0.664±0.003 ^{O-R}
	1	0.661±0.004 ^{Q-T}	0.627±0.001 ^W	0.568±0.004 ^{2E}
	2	0.669±0.001 ^{L-O}	0.621±0.002 ^X	0.512±0.000 ^{2M}
	3	0.672±0.001 ^{LM}	0.613±0.000 ^Y	0.456±0.000 ^{2R}
	4	0.66±0.002 ^{R-T}	0.57±0.000 ^{2E}	0.398±0.000 ^{2W}
	5	0.664±0.000 ^{P-S}	0.551±0.000 ^{2G}	0.365±0.004 ^{3A}
	6	0.673±0.001 ^{KL}	0.528±0.000 ^{2J}	0.319±0.002 ^{3F}

Çizelge 3 Vişne suyu konsantrelerinin monomerik antosiyanin konsantrasyonlarına ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucu

Kopigment ekstraktı	Süre	SICAKLIK (°C)		
		-20	4	20
		Monomerik ACN miktarı (mg/L)	Monomerik ACN miktarı (mg/L)	Monomerik ACN miktarı (mg/L)
Kontrol	0	372.1±1.45 ^D	372.1±1.45 ^D	372.1±1.45 ^D
	1	361.1±6.36 ^G	344.7±2.42 ^{K-M}	300.5±1.93 ^T
	2	378.2±0.48 ^C	336.8±0.00 ^P	254.6±0.96 ^{2DE}
	3	366.6±0.48 ^{EF}	324.5±1.93 ^Q	208.8±0.96 ^{2U}
	4	364.2±0.96 ^{FG}	305.3±0.96 ^T	171.5±3.38 ^{2N}
	5	359.1±2.42 ^{GH}	288.9±2.90 ^{VW}	137.6±0.94 ^{2P}
	6	370.7±0.48 ^{DE}	268.7±1.45 ^{2ZA}	114.6±1.45 ^{2R}
Gallik asit	0	383.0±2.42 ^{A-C}	383.0±2.42 ^{A-C}	383.0±2.42 ^{A-C}
	1	383.0±3.38 ^{A-C}	368.0±9.19 ^{D-F}	325.2±0.96 ^Q
	2	378.6±2.90 ^C	353.6±4.35 ^I	284.8±1.93 ^{WX}
	3	384.0±0.96 ^{AB}	344.7±0.48 ^{K-M}	242.0±4.35 ^{2F}
	4	372.7±0.48 ^D	319.0±0.00 ^R	206.0±3.87 ^{2J}
	5	379.9±1.93 ^{BC}	315.9±0.48 ^{RS}	179.3±0.96 ^{2M}
	6	387.8±0.48 ^A	294.4±0.96 ^U	149.5±0.48 ^{2O}
Kiraz sapı	0	251.9±2.90 ^{2E}	251.9±2.90 ^{2E}	251.9±2.90 ^{2E}
	1	254.0±1.93 ^{2DE}	233.1±0.48 ^{2G}	190.6±2.42 ^{2L}
	2	252.6±0.96 ^{2DE}	215.6±2.89 ^{2H}	154.0±0.00 ^{2O}
	3	257.4±0.96 ^{2CD}	210.5±0.48 ^{2H-J}	124.6±0.96 ^{2Q}
	4	252.2±0.48 ^{2DE}	196.8±1.45 ^{2K}	95.8±0.96 ^{2S}
	5	249.8±0.96 ^{2E}	177.3±0.96 ^{2M}	78.3±0.48 ^{2T}
	6	267.3±0.48 ^{2AB}	171.8±0.00 ^{2N}	64.3±1.93 ^{2U}
Nar kabuğu	0	338.5±6.29 ^{N-P}	338.5±6.29 ^{N-P}	338.5±6.29 ^{N-P}
	1	341.3±2.42 ^{L-P}	325.5±0.48 ^Q	293.0±5.80 ^{UV}
	2	346.0±3.38 ^{J-L}	313.5±0.00 ^S	255.0±7.26 ^{2DE}
	3	350.2±2.41 ^U	302.6±1.93 ^T	212.9±0.96 ^{2HI}
	4	338.2±1.93 ^{OP}	285.8±2.42 ^{WX}	182.4±4.35 ^{2M}
	5	340.9±0.00 ^{L-P}	273.8±0.96 ^{YZ}	150.6±0.96 ^{2O}
	6	353.9±0.96 ^{HI}	262.2±0.00 ^{2BC}	129.3±0.96 ^{2Q}
Yeşil çay	0	344.3±4.83 ^{K-M}	344.3±4.83 ^{K-M}	344.3±4.83 ^{K-M}
	1	342.6±0.48 ^{K-O}	326.5±4.84 ^Q	283.1±1.45 ^X
	2	347.4±4.35 ^{JK}	314.5±5.32 ^{RS}	251.2±3.87 ^{2E}
	3	344.0±2.41 ^{K-M}	300.5±3.87 ^T	214.2±0.00 ^{2H}
	4	339.5±0.96 ^{M-P}	287.8±0.48 ^{V-X}	181.0±1.45 ^{2M}
	5	343.6±0.96 ^{K-N}	276.2±1.45 ^Y	149.5±0.48 ^{2O}
	6	350.8±0.48 ^{IJ}	260.5±2.42 ^{2C}	126.3±0.48 ^{2Q}

Çizelge 4 Vişne suyu konsantrelerinin renk yoğunluğu değerlerine ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucu

Kopigment ekstraktı	Süre	SICAKLIK (°C)		
		-20	4	20
		Renk Yoğunluğu	Renk Yoğunluğu	Renk Yoğunluğu
Kontrol	0	4.35±0.00 ^{2K-O}	4.35±0.00 ^{2K-O}	4.35±0.00 ^{2K-O}
	1	4.33±0.02 ^{2M-P}	4.39±0.00 ^{2G-K}	4.41±0.00 ^{2E-I}
	2	4.35±0.00 ^{2K-O}	4.42±0.00 ^{2D-H}	4.42±0.02 ^{2D-H}
	3	4.17±0.00 ^{2RS}	4.26±0.02 ^{2Q}	4.51±0.00 ^{2B}
	4	4.34±0.00 ^{2L-P}	4.41±0.00 ^{2E-I}	4.49±0.00 ^{2BC}
	5	4.38±0.00 ^{2H-K}	4.51±0.02 ^{2B}	4.56±0.00 ^{2ZA}
	6	4.34±0.00 ^{2L-P}	4.44±0.00 ^{2D-F}	4.62±0.02 ^{XY}
Gallik asit	0	4.31±0.00 ^{2OP}	4.31±0.00 ^{2OP}	4.31±0.00 ^{2OP}
	1	4.31±0.00 ^{2OP}	4.39±0.00 ^{2G-K}	4.34±0.00 ^{2L-P}
	2	4.18±0.00 ^{2R}	4.3±0.00 ^{2PQ}	4.49±0.00 ^{2BC}
	3	4.18±0.00 ^{2R}	4.34±0.00 ^{2L-P}	4.60±0.00 ^{YZ}
	4	4.37±0.02 ^{2I-M}	4.39±0.02 ^{2G-K}	4.69±0.02 ^{2VW}
	5	4.41±0.03 ^{2E-H}	4.60±0.03 ^Y	4.66±0.00 ^{2WX}
	6	4.13±0.05 ^{2S}	4.53±0.00 ^{2AB}	4.79±0.02 ^{2ST}
Kiraz sapı	0	5.98±0.00 ^K	5.98±0.00 ^K	5.98±0.00 ^K
	1	6.25±0.03 ^H	6.30±0.02 ^G	6.25±0.02 ^H
	2	6.15±0.00 ^J	6.31±0.00 ^G	6.47±0.00 ^{DE}
	3	6.25±0.02 ^H	6.44±0.00 ^E	6.49±0.02 ^D
	4	6.19±0.00 ^I	6.39±0.00 ^F	6.88±0.00 ^C
	5	6.13±0.02 ^J	6.39±0.00 ^F	6.93±0.03 ^B
	6	6.17±0.02 ^J	6.51±0.00 ^D	7.24±0.00 ^A
Nar kabuğu	0	4.81±0.02 ^S	4.95±0.00 ^{OP}	4.95±0.00 ^{OP}
	1	4.79±0.00 ST	4.87±0.00 ^{QR}	4.81±0.00 ^S
	2	4.60±0.02 ^{YZ}	4.80±0.02 ST	4.90±0.02 ^Q
	3	4.76±0.02 ^{TU}	4.90±0.00 ^Q	5.01±0.03 ^N
	4	4.72±0.02 ^{UV}	4.96±0.02 ^O	5.13±0.02 ^M
	5	4.91±0.00 ^{PQ}	4.95±0.02 ^{OP}	5.29±0.02 ^L
	6	4.83±0.00 ^{RS}	4.94±0.03 ^{OP}	5.32±0.02 ^L
Yeşil çay	0	4.38±0.03 ^{2H-K}	4.30±0.03 ^{2H-K}	4.38±0.03 ^{2H-K}
	1	4.43±0.03 ^{2D-F}	4.43±0.02 ^{2D-G}	4.36±0.00 ^{2J-N}
	2	4.37±0.00 ^{2I-M}	4.40±0.05 ^{2F-J}	4.34±0.00 ^{2L-P}
	3	4.40±0.00 ^{2F-I}	4.33±0.02 ^{2M-P}	4.33±0.00 ^{2M-P}
	4	4.41±0.00 ^{2E-I}	4.37±0.02 ^{2I-M}	4.40±0.00 ^{2F-J}
	5	4.32±0.00 ^{2N-P}	4.30±0.00 ^{2PQ}	4.49±0.02 ^{2BC}
	6	4.45±0.00 ^{2C-E}	4.38±0.00 ^{2H-L}	4.46±0.00 ^{2CD}

Çizelge 5 Vişne suyu konsantrelerinin polimerik renk ve polimerik renk oranı değerlerine ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Kopigment ekstraktı	Süre	SICAKLIK (°C)					
		-20		4		20	
		Polimerik renk	Polimerik renk oranı	Polimerik renk	Polimerik renk oranı	Polimerik renk	Polimerik renk oranı
Kontrol	0	1.23±0.02 ^{2V-X}	28.19±0.65 ^{2R-T}	1.23±0.02 ^{2V-X}	28.19±0.65 ^{2R-T}	1.23±0.02 ^{2V-X}	28.19±0.65 ^{2R-T}
	1	1.21±0.00 ^{2WX}	27.84±0.19 ^{2ST}	1.33±0.00 ^{2RS}	30.32±0.00 ^{2N-T}	1.52±0.02 ^{2L-N}	34.38±0.65 ^{2H-O}
	2	1.23±0.02 ^{2V-X}	28.21±0.67 ^{2R-T}	1.41±0.00 ^{2Q}	31.98±0.00 ^{2L-S}	1.73±0.02 ^{2GH}	39.05±0.91 ^{2C-G}
	3	1.25±0.00 ^{2U-W}	29.89±0.00 ^{2O-T}	1.48±0.02 ^{2N-P}	34.64±0.45 ^{2G-N}	2.00±0.00 ^{2D}	44.30±0.00 ^{2ZAB}
	4	1.29±0.00 ^{2S-U}	29.66±0.00 ^{2P-T}	1.58±0.00 ^{2JK}	35.87±0.00 ^{2F-L}	2.89±0.00 ^R	50.95±0.00 ^{T-X}
	5	1.31±0.02 ^{2R-T}	29.88±0.67 ^{2O-T}	1.71±0.00 ^{2HI}	37.87±0.24 ^{2E-J}	2.45±0.00 ^{XY}	53.80±0.00 ^{Q-V}
Gallik asit	6	1.29±0.00 ^{2S-U}	29.69±0.00 ^{2P-T}	1.77±0.02 ^{2FG}	39.89±0.67 ^{2B-F}	2.62±0.00 ^{VW}	56.74±0.37 ^{M-R}
	0	1.20±0.00 ^{2XY}	27.96±0.01 ^{2R-T}	1.20±0.00 ^{2XY}	27.96±0.01 ^{2R-T}	1.20±0.00 ^{2XY}	27.96±0.01 ^{2R-T}
	1	1.16±0.00 ^{2YZ}	27.00±0.00 ^{2T}	1.27±0.02 ^{2T-V}	28.86±0.67 ^{2Q-T}	1.41±0.00 ^{2Q}	32.58±0.00 ^{2L-R}
	2	1.16±0.00 ^{2YZ}	27.85±0.00 ^{2ST}	1.31±0.02 ^{2R-T}	30.47±0.67 ^{2M-T}	1.68±0.02 ^{2I}	37.48±0.62 ^{2F-K}
	3	1.14±0.02 ^{2Z}	27.36±0.70 ^{2ST}	1.35±0.02 ^{2R}	31.15±0.68 ^{2M-T}	1.98±0.02 ^{2D}	42.95±0.62 ^{2ZA-C}
	4	1.23±0.02 ^{2V-X}	28.07±0.48 ^{2R-T}	1.50±0.00 ^{2M-O}	34.05±0.22 ^{2I-P}	2.16±0.00 ^{2B}	46.05±0.29 ^{YZZA}
Kiraz sapı	5	1.23±0.02 ^{2V-X}	27.78±0.47 ^{2ST}	1.54±0.00 ^{2K-M}	33.42±0.21 ^{2J-Q}	2.31±0.02 ^Z	49.53±0.63 ^{V-Y}
	6	1.60±0.02 ^{2J}	38.72±0.12 ^{2C-H}	1.73±0.02 ^{2GH}	38.12±0.65 ^{2D-I}	2.60±0.02 ^W	54.22±0.29 ^{P-U}
	0	3.68±0.00 ^L	61.41±0.00 ^{I-L}	3.68±0.00 ^L	61.41±0.00 ^{I-L}	3.68±0.00 ^L	61.41±0.00 ^{I-L}
	1	3.82±0.02 ^{JK}	61.06±0.17 ^{I-M}	3.97±0.00 ^I	62.49±0.41 ^{H-L}	4.09±0.00 ^{GH}	65.48±0.31 ^{D-I}
	2	3.78±0.02 ^K	61.43±0.47 ^{I-L}	4.05±0.00 ^H	64.14±0.00 ^{F-K}	4.36±0.02 ^E	67.39±0.45 ^{C-F}
	3	3.86±0.02 ^J	61.77±0.75 ^{I-L}	4.13±0.00 ^G	64.23±0.00 ^{E-J}	4.47±0.00 ^D	68.85±0.32 ^{B-E}
Kiraz sapı	4	3.67±0.00 ^L	59.36±0.00 ^{L-O}	4.07±0.02 ^H	50.17±18.63 ^{U-Y}	4.94±0.03 ^C	71.91±0.43 ^{A-C}
	5	3.84±0.00 ^J	62.69±0.29 ^{G-L}	4.30±0.00 ^F	67.29±0.00 ^{C-G}	5.01±0.00 ^B	72.21±0.32 ^{AB}
	6	3.84±0.00 ^J	62.27±0.28 ^{I-L}	4.43±0.00 ^D	67.96±0.00 ^{B-F}	5.32±0.02 ^A	73.51±0.29 ^A

Çizelge 5 Vişne suyu konsantrelerinin polimerik renk ve polimerik renk oranı değerlerine ilişkin Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (devam)

Kopigment ekstraktı	Süre	SICAKLIK (°C)					
		-20		4		20	
		Polimerik renk	Polimerik renk oranı	Polimerik renk	Polimerik renk oranı	Polimerik renk	Polimerik renk oranı
Nar kabuğu	0	2.78±0.09 ^T	60.85±0.00 ^{L-N}	3.01±0.00 ^Q	60.85±0.00	3.01±0.00 ^Q	60.85±0.00 ^{L-N}
	1	2.48±0.00 ^X	51.75±0.00 ^{S-X}	2.87±0.02 ^{RS}	58.98±0.60	2.71±0.02 ^U	56.35±0.60 ^{N-S}
	2	2.25±0.02 ^{2A}	49.03±0.33 ^{W-Y}	2.85±0.00 ^{RS}	59.42±0.36	3.02±0.00 ^{PQ}	61.63±0.37 ^{L-L}
	3	2.42±0.02 ^Y	50.74±0.30 ^{U-X}	2.85±0.00 ^{RS}	58.22±0.00	3.25±0.02 ^N	64.8±0.21 ^{E-J}
	4	2.31±0.00 ^Z	39.05±14.45 ^{2C-G}	3.06±0.00 ^{OP}	61.72±0.37	3.44±0.00 ^M	67.03±0.38 ^{D-H}
	5	2.48±0.00 ^X	50.49±0.00 ^{U-Y}	3.1±0.00 ^O	62.62±0.38	3.69±0.00 ^L	69.75±0.39 ^{A-D}
	6	2.83±0.02 ^S	58.51±0.60 ^{L-P}	2.98±0.00 ^Q	60.25±0.35	3.85±0.00 ^J	72.45±0.39 ^{AB}
Yeşil çay	0	1.53±0.00 ^{2LM}	34.97±0.22 ^{2G-M}	1.53±0.00 ^{2LM}	34.97±0.22	1.53±0.00 ^{2LM}	34.97±0.22 ^{G-M}
	1	1.47±0.02 ^{2OP}	33.21±0.87 ^{2K-Q}	1.56±0.02 ^{2J-K}	35.11±0.88	1.68±0.02 ^{2I}	38.58±0.66 ^{C-I}
	2	1.45±0.00 ^{2PQ}	33.27±0.00 ^{2J-Q}	1.6±0.00 ^{2J}	36.48±0.90	1.87±0.00 ^{2E}	43.00±0.00 ^{2ZA-C}
	3	1.51±0.03 ^{2MN}	34.37±0.68 ^{2H-O}	1.68±0.02 ^{2I}	38.81±0.94	2.055±0.03 ^{2C}	47.45±0.69 ^{X-Z}
	4	1.53±0.00 ^{2LM}	34.82±0.00 ^{2G-N}	1.74±0.00 ^{2GH}	39.89±0.29	2.3±0.02 ^Z	52.35±0.65 ^{R-W}
	5	1.51±0.03 ^{2MN}	35.04±0.68 ^{2G-M}	1.81±0.02 ^{2F}	42.46±0.02	2.49±0.00 ^X	55.47±0.36 ^{O-T}
	6	1.51±0.03 ^{2MN}	34.01±0.67 ^{2I-P}	1.87±0.02 ^{2E}	42.62±0.00	2.66±0.00 ^V	59.56±0.00 ^{K-O}

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayşe NAVRUZ
Doğum Yeri : Konya
Doğum Tarihi : 22.06.1988
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Konya Karatay Süleyman Demirel Milli Piyango Anadolu Lisesi
(2006)
Lisans : Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü (2012)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği
Ana Bilim Dalı (2012–2017)

Yayınlar (SCI)

Navruz, A., Türkyılmaz, M. and 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.