

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ÜZÜM KABUĞU, SİYAH HAVUÇ VE KIRMIZI
LAHANADAN EKSTRAKTE EDİLEN ANTOSİYANİN
BAZLI RENK MADDELERİNİN BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI GIDA
MADDELERİNDE RENKLENDİRİCİ OLARAK
KULLANIMI**

**Hazırlayan
Lütfiye EKİCİ**

**Danışmanı
Prof. Dr. Hasan YETİM**

Doktora Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından FBD-08-766 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2011
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

"Üzüm Kabuğu, Siyah Elma ve Kırmızı Lahana'dan Ekstrakte Edilen Aminoasitlerin Bazı Renk Maddelerinin Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Bazı Gıda Maddelerinde Renklandırıcı Olarak Kullanımı" adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi

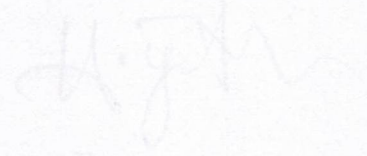
Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Tezi Hazırlayan
Lütfiye EKİCİ

Lütfiye EKİCİ



Danışman
Prof. Dr. Hasan YETİM



ABD Başkanı

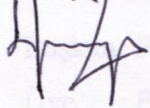
Prof. Dr. Mehmet HAYTA



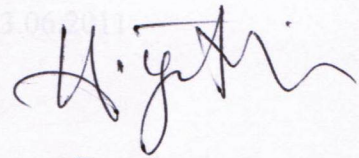
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Üzüm Kabuğu, Siyah Havuç ve Kırmızı Lahanadan Ekstrakte Edilen Antosiyanin Bazlı Renk Maddelerinin Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Bazı Gıda Maddelerinde Renklendirici Olarak Kullanımı” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Lütfiye EKİCİ



23.09.2011
Danışman
Prof. Dr. Hasan YETİM



Üye : Prof. Dr. Hasan YETİM
Üye : Prof. Dr. Erdoğan KÜÇÜKÖNER
Üye : Prof. Dr. Mehmet HAYTA
Üye : Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ
Üye : Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN



ABD Başkanı

Prof. Dr. Mehmet HAYTA

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 05/07/2011 tarih ve 2011/33-07 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

06/07/2011

Prof. Dr. Necmettin MARAŞLI
Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Hasan YETİM danışmanlığında **Lütfiye EKİCİ** tarafından hazırlanan “**Üzüm Kabuğu, Siyah Havuç ve Kırmızı Lahandan Ekstrakte Edilen Antosiyanin Bazlı Renk Maddelerinin Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Bazı Gıda Maddelerinde Renklendirici Olarak Kullanımı**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

23.06.2011

JÜRİ:

Başkan: Prof. Dr. Hasan YETİM.....
 Üye : Prof. Dr. Erdoğan KÜÇÜKÖNER.....
 Üye : Prof. Dr. Mehmet HAYTA.....
 Üye : Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ.....
 Üye :Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN.....

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun 05/07/2011 tarih ve 2011/23-07 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

05/07/2011


 Prof. Dr. Necmettin MARAŞLI
 Enstitü Müdürü



Lütfiye EKİCİ

Kayseri, Haziran 2011

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

“Üzüm Kabuğu, Siyah Havuç ve Kırmızı Lahanadan Ekstrakte Edilen Antosiyanin Bazlı Renk Maddelerinin Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Bazı Gıda Maddelerinde Renklendirici Olarak Kullanımı” konulu tez çalışmamın planlanmasından sonuçlandığı ana kadar her türlü konuda desteğini her zaman yanımda hissettiğim, bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Hasan YETİM’e çok teşekkür ediyorum. Her zaman bilgisini ve tecrübesini benimle paylaşan, yardımlarını esirgemeyen, beni motive eden çok kıymetli hocam sayın Doç. Dr. Osman SAĞDIÇ’a sonsuz teşekkürler ediyorum. Ayrıca değerli hocalarım sayın Yrd. Doç. Dr. Zülal KESMEN’e ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa FİNCAN’a teşekkür ediyorum. Yine desteğini her zaman yanımda hissettiğim yüksek lisans tez danışmanım çok kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Yakup Sedat VELİOĞLU’na teşekkürlerimi sunuyorum. Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FBD-09 766 kodu ile desteklenmiştir. Bu destek için üniversitemiz Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ediyorum. Çalışmanın yoğun laboratuvar döneminde beni hiç yalnız bırakmayan sevgili Öğr. Gör. Zeynep ŞİMŞEK’e, emeklerini hiç esirgemeyen sevgili dostlarım Araş. Gör. İsmet ÖZTÜRK’e ve Okan BAYRAM’a çok teşekkür ediyorum. Ayrıca tezin farklı aşamalarında desteklerini esirgemeyen, emek veren sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Safa KARAMAN’a, Öğr. Gör. Hasan CANKURT’a yardımlarından dolayı teşekkürler. Sevgili Fadime TOKATLI’ya, Bilge TAŞTEMUR’a ve Mehtap CANKURTARAN’a teşekkürler ediyorum. Ö. Lütfi URAL, Emre BÜLÜÇ ve İrfan KUYRUKLUYILDIZ başta olmak üzere tüm dönem stajyerlerime teşekkür ediyorum. Şekerleme örneklerinin yapılmasındaki her türlü katkılarından dolayı Çadircı Gıda San. Tic. Ltd. Şti.’ne teşekkürlerimi sunuyorum. Beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, desteklerini ve sevgilerini hayatım boyunca hissettiğim canım aileme, anneme, babama ve sevgili kardeşim Emre Muzaffer DEMİREZEN’e teşekkür ediyorum. Çalışmanın her aşamasında beni teşvik eden, sabırla ve ilgisiyle destek olan sevgili eşim Recep Ekici’ye ve bizi varlığıyla mutlu eden sevgili kızımız Begüm’e teşekkürlerimi sunuyorum.

Lütfiye EKİCİ

Kayseri, Haziran 2011

**ÜZÜM KABUĞU, SİYAH HAVUÇ VE KIRMIZI LAHANADAN EKSTRAKTE
EDİLEN ANTOSİYANİN BAZLI RENK MADDELERİNİN BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI GIDA MADDELERİNDE
RENKLENDİRİCİ OLARAK KULLANIMI**

Lütfiye EKİCİ

Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Doktora Tezi, Haziran 2011

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hasan YETİM

KISA ÖZET

Bu araştırmada, siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen antosiyanin bazlı ekstraktların (ABE) stabiliteleleri, bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi ve bazı gıdalarda renklendirici olarak kullanılabilme imkanlarının araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla, belirtilen antosiyanin kaynakları, vurgulu elektrik alan (PEF), ultrason tekniği veya klasik ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilmişlerdir. PEF uygulamalarında çözgen olarak sadece saf su kullanılırken, diğer uygulamalarda saf suyun yanı sıra %0.1 HCl ile asitlendirilmiş 1:1 etanol:su karışımı (AES) da kullanılmıştır. Ekstraktların toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarları, antiradikal ve antioksidan aktiviteleri üzerine uygulanan ekstraksiyon yönteminin ve kullanılan çözgenlerin etkili olduğu saptanmıştır. Ekstraktların antimikrobiyel etkisi ise toplam 15 farklı mikroorganizma üzerinde denenmiştir. Neticede AES ekstraktlarının, su ekstraktlarından daha yüksek bir antimikrobiyel aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ekstraktlar arasında da genel olarak en yüksek antimikrobiyel aktiviteye üzüm kabuğu ekstraktlarının (ÜKE) sahip olduğu belirlenmiştir.

ABE'lerin ısı stabiliteleleri hem pH değeri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerde ve hem de elma sularında incelenmiştir. Gerek tampon çözeltilerde ve gerekse de elma sularında ısı stabilitesi en yüksek ve en düşük ekstraktların sırası ile kırmızı lahana ekstraktları (KLE) ve ÜKE olduğu anlaşılmıştır.

Starking cinsi elmalardan laboratuvarında üretilip pastörize edilen elma suları 4 mg antosiyanin/100 mL konsantrasyonunda ABE'lar ile renklendirilmiş ve elma suyu

içerisindeki ekstraktların *Escherichia coli* O157:H7 veya *Bacillus cereus* F2'ye karşı antimikrobiyel etkileri incelenmiştir. Genel olarak ABE'ların *B. cereus* F2'ye kıyasla *E. coli* O157:H7 üzerine inhibitif etkisinin daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Araştırmada, ayrıca çözgen olarak AES'nin kullanıldığı, klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ABE'lar elma suyu, dondurma, şekerleme ve çemenin renklendirilmesinde kullanılmıştır. Elma suyuna 4 mg antosiyanin/100 mL, dondurma miksine 3 mg antosiyanin/100 mL, şekerlemeye (lokum) 3 mg antosiyanin/100 g ve çemene 2 mg antosiyanin/100 g düzeyinde ABE'lar ilave edilerek örnekler renklendirilmiş ve bunlar ürün gruplarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde depolanarak, bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. İlave edilen ABE'ların elma suları ile dondurmalara fonksiyonel özellik kattıkları saptanmıştır. Sonuçta bu örneklerde, özellikle siyah havuç ekstraktları (SHE) ve ÜKE'larının duyuşal anlamda beğenildiği tespit edilmiştir. Yine çemen örneklerinin renklendirilmesinde SHE ve KLE, şekerlemelerde ise SHE ve ÜKE'larının başarı ile kullanılabilceği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, ekstraksiyon yöntemlerinin ve kullanılan çözgenin, elde edilen ekstraktların bazı biyoaktif ve antimikrobiyel özellikleri üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Yine araştırmada elde edilen sonuçlar, ekstraktların ilave edildiği gıdalara çekici renkler vermesinin yanında fonksiyonel özellikler de kazandırdığını ortaya koymaktadır. Özellikle Öküzgözü cinsi üzüm kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitelerinin önemli derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Antosiyaninler saflaştırılmadan, direkt olarak gıdaların renklendirilmesinde kullanılması ve nispeten uzun depolama süreleri sonunda dahi test edilen ürünlerdeki renklerini koruyabildikleri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antosiyanin ekstraksiyonu; renk stabilitesi; PEF; ultrason; biyoaktivite.

**DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF
ANTHOCYANIN BASED PIGMENTS EXTRACTED FROM GRAPE SKIN,
BLACK CARROT AND RED CABBAGE AND THEIR USAGE IN SOME FOOD
PRODUCTS AS COLORANTS**

Lütfiye EKİCİ

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Ph.D. Thesis, June 2011

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Hasan YETİM

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine some biological properties of anthocyanin based extracts (ABEs) obtained from black carrot, red cabbage and grape skins by using different extraction methods and to investigate their utilization possibility as colorants in some food products. In order to have ABE's, the anthocyanin sources were subjected to pulsed electric field (PEF), ultrasound technique or conventional extraction methods. In the PEF extraction method, only pure water was used as a solvent, while 1:1 ethanol:water mixture acidified with 0.1% HCl (AEW) and pure water were used as solvents in the other methods. In the results, it was determined that the applied extraction methods and solvents were effective on the total phenolic and anthocyanin contents as well as antiradical and antioxidant activities of the extracts. Antimicrobial effects of the extracts on 15 different microorganism species were also tested, and it was determined that AEW extracts exhibited higher antimicrobial activity than that of the water extracts. Among these extracts, in general, grape skin extracts (GSEs) had the highest antimicrobial activity.

Thermal stability of the ABEs was investigated both in the apple juices and in buffer solutions at the pH of 3 and 4. The extracts having the highest and the lowest thermal stabilities in the apple juices and buffer solutions were red cabbage extracts (RCEs) and GSEs, respectively.

The apple juices produced from Starking type apples and then pasteurized under the laboratory conditions were colored with ABEs at the level of 4 mg anthocyanin/100

mL. Then the antimicrobial effects of the ABEs in the apple juices were tested against *Escherichia coli* O157:H7 and *Bacillus cereus* F2. In general, ABEs had more inhibitory effects on *E. coli* O157:H7 than that of the on *B. cereus* F2.

In this study, ABEs obtained using conventional extraction method with AEW were used to color the following foods; apple juice, ice cream, candy (Turkish delight) and cemen (fenugreek paste). Some physicochemical and sensory properties of the apple juice, ice cream mixture, candy and cemen colored with ABEs were determined, and the effects of storage time and temperature were also tested. The ABEs added some functional properties to apple juices and ice cream samples, and higher sensory score were given to these samples that have black carrot extracts (BCEs) and GSEs. In the result, it was determined that BCEs and RCEs could successfully be used in coloration of cemen paste, while BCEs and GPEs in the coloration of cemen paste and the BCEs and GPEs are in the coloration of candies (Turkish delight).

In the results, it can be suggested that the extraction methods and solvents used were effective on some bioactive and antimicrobial properties of the extracts. The results also revealed that the extracts gave some functional properties and attractive colors to the food products that were directly added. Especially, GSEs of Okuzgozu cultivar had significantly higher antimicrobial activities compared to the other ABEs. In conclusion, it might be speculated that the tested food products could protect their colors even in the prolonged storage periods even if the extracts were directly added.

Keywords: Anthocyanin extraction; color stability; PEF; ultrasound; bioactivity.

İÇİNDEKİLER

ÜZÜM KABUĞU, SİYAH HAVUÇ VE KIRMIZI LAHANADAN EKSTRAKTE EDİLEN ANTOSİYANİN BAZLI RENK MADDELERİNİN BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI GIDA MADDELERİNDE RENKLENDİRİCİ OLARAK KULLANIMI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	İ
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	İİ
ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR	İV
KISA ÖZET	V
ABSTRACT.....	Vİİ
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	XV
TABLolar LİSTESİ.....	XVII
ŞEKİLLER LİSTESİ	XIX
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Gıdalarda Renk ve Renklendiriciler	11
1.1.1. Sentetik gıda boyaları.....	12
1.1.2. Doğala özdeş gıda boyaları	16
1.1.2.1. Karamel	16
1.1.2.2. Klorofilin bakır kompleksleri	19
1.1.3. Doğal Renk Maddeleri	19
1.1.3.1. Klorofiller	21
1.1.3.2. Karotenoidler	23
1.1.3.3. Betalainler.....	25
1.1.3.4. Turmerik.....	27

1.1.3.5. <i>Monascus</i>	29
1.1.3.6. İridoidler	30
1.1.3.7. Kermes	31
1.1.3.8. Karmin	32
1.1.3.9. Antosiyaninler	35
1.1.3.9.1. Antosiyanin-sağlık ilişkisi	39
1.1.3.9.2. Antosiyaninlerin antimikrobiyel özellikleri	43
1.2. Araştırma Kapsamında Renklendirici Olarak Kullanılan Antosiyanin Kaynakları	44
1.2.1. Siyah havuç	44
1.2.2. Kırmızı lahana	45
1.2.3. Üzüm kabuğu	47
1.3. Antosiyanin Ekstraksiyonunda Kullanılan Farklı Teknik Uygulamaları	51
1.3.1. Klasik ekstraksiyon	52
1.3.2. Vurgulu elektrik alan (Pulsed Electric Field, PEF)	52
1.3.3. Ultrasonik ekstraksiyon	56

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal	59
2.1.1. Antosiyanin kaynakları	59
2.1.2. Renklendirilen ürünler	60
2.2. Yöntem	60
2.2.1. Antosiyanin kaynaklarında yapılan analizler	60
2.2.1.1. Antosiyanin bazlı ekstrakt elde edilen materyallerin bazı nitelikleri	60
2.2.1.2. Kuru Madde	61
2.2.1.3. Kül miktarı tayini	61
2.2.1.4. pH tayini	62
2.2.1.5. Titrasyon asitliği tayini	62
2.2.1.6. Toplam ve indirgen şeker tayini	62
2.2.2. Antosiyanin pigmentlerinin ekstraksiyonları	63
2.2.2.1. Klasik ekstraksiyon uygulamaları	63
2.2.2.2. Vurgulu elektrik alan uygulamaları (Pulsed electric field, PEF) ..	64
2.2.2.3. Ultrasonik ekstraksiyon uygulaması	65
2.2.3. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi	66
2.2.3.1. Toplam fenolik madde tayini	66
2.2.3.2. Toplam antosiyanin tayini	66
2.2.3.3. Antiradikal kapasite tayini	67
2.2.3.4. Antioksidan aktivite tayini	68
2.2.3.5. Mikrobiyolojik analizler	68
2.2.3.5.1. Agar difüzyon yöntemi ile ABE'lerin antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi	68

2.2.3.5.2. ABE'lerin elma suyunda <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>B. cereus</i> F2 üzerine antimikrobiyel etkisinin saptanması.....	69
2.2.4. Antosiyaninlerin ısıl stabilitelerinin belirlenmesi.....	70
2.2.4.1. Antosiyaninlerin tampon çözeltilerde ısıl stabilitelerinin belirlenmesi.....	70
2.2.4.2. Antosiyaninlerin elma sularında ısıl stabilitelerinin belirlenmesi.....	71
2.2.4.2.1. Kinetik katsayıların hesaplanması	71
2.2.4.2.2. Reaksiyon hız sabitinin hesaplanması	72
2.2.4.2.3. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması	72
2.2.4.2.4. Yarılanma süresinin ($t_{1/2}$) hesaplanması	73
2.2.5. Renklendirilen gıdalarda yapılan analizler.....	73
2.2.5.1. Elma Suyu.....	73
2.2.5.1.1. Titrasyon asitliği tayini	74
2.2.5.1.2. pH tayini.....	74
2.2.5.1.3. Suda çözünür kuru madde	75
2.2.5.1.4. Toplam fenolik madde tayini	75
2.2.5.1.5. Toplam antosiyanin tayini.....	75
2.2.5.1.6. Antiradikal kapasite tayini.....	75
2.2.5.1.7. Antioksidan aktivite tayini	76
2.2.5.1.8. Renk tayini.....	76
2.2.5.1.9. Duyusal analiz.....	76
2.2.5.2. Dondurma	76
2.2.5.2.1. pH tayini.....	78
2.2.5.2.2. Kuru madde tayini	78
2.2.5.2.3. Kül miktarı tayini.....	79
2.2.5.2.4. Toplam fenolik madde tayini	79
2.2.5.2.5. Antiradikal aktivite tayini	80
2.2.5.2.6. Renk Tayini.....	80
2.2.5.2.7. Duyusal Analiz.....	80
2.2.5.3. Lokum	81
2.2.5.3.1. pH analizi	81
2.2.5.3.2. Kuru madde analizi.....	81
2.2.5.3.3. Kül miktarı tayini.....	83
2.2.5.3.4. Renk tayini.....	83
2.2.5.3.5. Duyusal analiz.....	83
2.2.5.4. Çemen.....	83
2.2.5.4.1. pH analizi	84
2.2.5.4.2. Kuru madde analizi.....	84
2.2.5.4.3. Kül miktarı tayini.....	85
2.2.5.4.4. Renk tayini.....	85
2.2.6. İstatistiksel analiz	85

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Antosiyanin Kaynağı Materyallerin Nitelikleri.....	87
3.2. Antosiyanin Kaynaklarının Bazı Özellikleri	89

3.3. Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen ABE'ların Bazı Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi.....	89
3.3.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların verimleri.....	93
3.3.2. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların toplam fenolik madde içerikleri	94
3.3.3. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların toplam antosiyanin miktarları.....	95
3.3.4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antioksidan kapasiteleri	96
3.3.5. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antiradikal kapasiteleri	97
3.3.6. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antimikrobiyel özellikleri	98
3.3.6.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antimikrobiyel aktivitelerinin agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi.....	98
3.3.6.2. ABE'ların elma suyunda <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>B. cereus</i> F2 üzerine antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi.....	103
3.4. Antosiyaninlerin Isıl Stabilitelerinin Belirlenmesi.....	104
3.4.1. ABE'ların tampon çözeltilerdeki ısıl stabiliteleri	104
3.4.2. ABE'ların elma sularındaki ısıl stabiliteleri	106
3.5. Renklendirilen Gıdalar	109
3.5.1. Elma suları	109
3.5.1.1. Elma sularının toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler	111
3.5.1.2. Elma sularının antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler	112
3.5.1.3. Elma sularının antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler	114
3.5.1.4. Elma sularının antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler	115
3.5.1.5. Elma sularının renginde meydana gelen değişimler.....	116
3.5.1.6. Elma sularının duyuşal özelliklerinin değeriendirilmesi.....	124
3.5.2. Dondurma.....	130
3.5.2.1. Dondurmaların toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler	132
3.5.2.2. Dondurmaların antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler	133
3.5.2.3. Dondurmaların renginde meydana gelen değişimler	133
3.5.2.4. Dondurmaların duyuşal özelliklerinin değeriendirilmesi	135
3.5.3. Lokum.....	137
3.5.3.1. Lokumların renginde meydana gelen değişimler.....	138
3.5.3.2. Lokumların duyuşal özelliklerinin değeriendirilmesi	141
3.5.4. Çemen	143
3.5.4.1. Çemenlerin renginde meydana gelen değişimler	143

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Antosiyanin Kaynaklarının Nitelikleri.....	147
4.2. Antosiyanin Kaynaklarının Bazı Analitik Özellikleri	148
4.3. Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen ABE'ların Bazı Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi.....	150
4.3.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların verimleri... 150	
4.3.2. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların toplam fenolik içerikleri..... 151	
4.3.3. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların toplam antosiyanin miktarları..... 156	
4.3.4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antioksidan kapasiteleri	158
4.3.5. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antiradikal kapasiteleri	160
4.3.6. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antimikrobiyel özellikleri	163
4.3.6.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antimikrobiyel aktivitelerinin agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi..... 163	
4.3.6.2. ABE'ların elma suyunda <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>B. cereus</i> F2 üzerine antimikrobiyel etkisinin saptanması	168
4.4. Antosiyaninlerin Isıl Stabilitelerinin Belirlenmesi.....	170
4.4.1. ABE'ların tampon çözeltilerdeki ısıl stabiliteleri	170
4.4.2. ABE'ların elma sularındaki ısıl stabiliteleri	172
4.5. Renklendirilen Gıdalar	174
4.5.1. Elma Suları..... 174	
4.4.1.1. Elma sularının toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler	175
4.5.1.2. Elma sularının antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler	177
4.5.1.3. Elma sularının antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler	180
4.5.1.4. Elma sularının antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler	182
4.5.1.5. Elma sularının renginde meydana gelen değişimler..... 184	
4.5.1.6. Elma sularının duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi..... 188	
4.5.2. Dondurma..... 189	
4.5.2.1. Dondurmaların toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler	191
4.5.2.2. Dondurmaların antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler	194
4.5.2.3. Dondurmaların renginde meydana gelen değişimler	195
4.5.2.4. Dondurmaların duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi	199
4.5.3. Şekerleme..... 201	
4.5.3.1. Şekerlemelerin renginde meydana gelen değişimler	202
4.5.3.2. Şekerlemelerin duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi	204
4.5.4. Çemen	205
4.5.4.1. Çemenlerin renginde meydana gelen değişimler	206

4.6. Çalışma Sonucunda Elde Edilen Bazı Önemli Bulgular	210
4.7. Çalışma Sonucunda Yapılabilecek Öneriler.....	215
EKLER.....	217
Ek-1. Antosiyanin kaynaklarının spektral özellikleri	217
Ek-2. İnvvert şeker tablosu [148].	218
Ek-3. Duyusal panel formu	218
KAYNAKLAR.....	219
ÖZGEÇMİŞ.....	245

KISALTMALAR ve SİMGELER

<u>Sembol</u>	<u>Anlamı</u>
4-MeI	4-(5) metilimidazol
HMF	Hidroksimetil furfural
AAE	Askorbik asit eşdeğeri
AB	Avrupa Birliği
ABE	Antosiyanin bazlı ekstrakt (Anthocyanin based extract)
ac	Asillenmiş
ADI	Kabul edilebilir günlük alım (mg/kg vücut ağırlığı) (Acceptable daily intake)
AES	%0.1 oranında HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı
AEW	1:1 ethanol:water mixture acidified with 0.1% HCl
AOAC	Resmi Analitik Kimyagerler Kuruluşu (Association of Official Analytical Chemists)
BCE	Black carrot extract
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (International Commission on Illumination)
Ea	Aktivasyon enerjisi
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
FD&C	Federal Gıda-İlaç ve Kozmetik Numarası (Federal Food-Drug and Cosmetic Act)
FDA	(Amerikan) Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
GAE	Gallik asit eşdeğeri
Glc	Glukoz
GMP	Doğru/iyi üretim uygulamaları (Good Manufacturing Practises)
GRAS	Genellikle güvenilir kabul edilen (Generally Recognized As Safe)
GSE	Grape skin extract
HCl	Hidroklorik asit
JECFA	Gıda Katkıları Ortak Uzmanlar Komitesi (Joint Expert Committee on Food Additives)
k	Reaksiyon hız sabiti
KLE	Kırmızı lahana ekstraktı

Kob	Koloni oluşturan birim (Colony forming unit)
LDL	Duşuk yoğunluklu lipoproteinler (Low density lipoproteins)
ME	Malvidin eşdeğeri
MIC	Minimum inhibisyon konsantrasyonu (Minimum inhibition concentration)
OH	Hidroksil
PEF	Vurgulu elektrik alanı (Pulsed electric field)
ppm	Milyonda bir kısım (Parts per million)
QS	Yeteri kadar (Quantum satis)
RCE	Red cabbage extract
SHE	Siyah havuç ekstraktı
t_{1/2}	Yarılanma süresi
TFM	Toplam fenolik madde
THI	2-asetil-4(5)-tetrahidroksibütülimidazol
UV	Mor ötesi (Ultraviolet)
ÜKE	Üzüm kabuğu ekstraktı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. FDA ve Avrupa Birliği tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen sentetik renk maddeleri [60].....	14
Tablo 1.2. Bazı renk maddelerinin sağlık üzerine olan yan etkileri [61].....	16
Tablo 1.3. I. sınıfa dahil olan karamellerin gıda endüstrisinde bazı kullanım alanları ve izin verilen kullanım miktarları [1].....	18
Tablo 1.4. III. ve IV. sınıflara dahil olan karamellerin gıda endüstrisinde bazı kullanım alanları ve izin verilen kullanım miktarları [1].....	18
Tablo 1.5. Bakır klorofil komplekslerinin kullanıldığı gıda maddeleri ve kullanım miktarları [1].....	19
Tablo 1.6. AB tarafından kullanımına izin verilen doğal kaynaklı boyalar [54].....	20
Tablo 1.7. FDA tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen, sertifikaya tabi olmayan doğal renk maddeleri [64].....	21
Tablo 1.8. Klorofillerin gıda sanayinde kullanım alanları ve izin verilen maksimum kullanım düzeyleri [1].....	22
Tablo 1.9. Ticari öneme sahip bazı karotenoid kaynakları [1].....	25
Tablo 1.10. Antosiyanin ve betalain pigmentleri arasındaki bazı farklılıklar [1].....	27
Tablo 1.11. Kırmızı pancar ürünlerinin gıda sanayinde bazı kullanım alanları [1].....	27
Tablo 1.12. Turmerik ürünleri ve gıda katkısı olarak kullanımları [1].....	29
Tablo 1.13. Gıdalarda kullanılan Renklendiriciler Tebliği'ne göre karmin kullanımına izin verilen ürünler ve maksimum kullanım miktarları [68].....	34
Tablo 1.14. Doğal olarak bulunan antosiyanidinler ve bazı yapısal özellikleri [12].....	37
Tablo 1.15. Bazı değişik şekerlerle glikolize olmuş antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri [79].....	41
Tablo 3.1. Siyah havuçların ağırlık, boy ve çapları	87
Tablo 3.2. Kırmızı lahanaların ağırlık, boy ve çapları	88
Tablo 3.3. Siyah havuç, kırmızı lahana ve kırmızı üzüm kabuğunun bazı özellikleri....	89
Tablo 3.4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin % verimleri	93
Tablo 3.5. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin fenolik bileşimleri (mg GAE/g kuru ekstrakt).....	95
Tablo 3.6. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin toplam antosiyanin miktarları (mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt).....	96
Tablo 3.7. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antioksidan kapasiteleri (mg AAE/g kuru ekstrakt)	97
Tablo 3.8. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antiradikal kapasiteleri (IC ₅₀ , µg/mL)	98
Tablo 3.9. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen SHE'lerinin bazı maya ve bakterilere karşı inhibitif etkileri (inhibisyon zonu, mm)	100
Tablo 3.10. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen KLE'lerinin bazı maya ve bakterilere karşı inhibitif etkileri (inhibisyon zonu, mm)	101
Tablo 3.11. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ÜKE'lerinin bazı maya ve bakterilere karşı inhibitif etkileri (inhibisyon zonu, mm)	102
Tablo 3.12. 4 ve 20°C sıcaklıklarda inkübe edilen elma sularına ilave edilen ABE'lerin <i>E. coli</i> O157:H7 ve <i>B. cereus</i> F2 üzerine inhibitif etkileri (log kob/mL) ...	103
Tablo 3.13. Elma sularında farklı ABE antosiyaninlerinin ısıl stabilitelere ait kinetik parametreler.....	107
Tablo 3.14. Elma suyunun bazı analitik özellikleri.....	110
Tablo 3.15. Farklı ABE'ler ile renklendirilen elma sularının bazı analitik özellikleri .	110

Tablo 3.16. Farklı ABE'lar ile hazırlanmış ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler (mg GAE/L)	111
Tablo 3.17. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma suyu örneklerinin antiradikal aktivitelerindeki değişimler (% inhibisyon)	115
Tablo 3.18. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma suyu örneklerinin antioksidan aktivitelerindeki değişimler (mg AAE/mL)	116
Tablo 3.19. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 4°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri	118
Tablo 3.20. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 20°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri	121
Tablo 3.21. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 30°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri	122
Tablo 3.22. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 4°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyusal analiz bulguları	124
Tablo 3.23. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 20°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyusal analiz bulguları	126
Tablo 3.24. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 30°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyusal analiz bulguları	128
Tablo 3.25. Dondurma örneklerinin % kuru madde, % kül ve pH değerleri (ilk gün) .	131
Tablo 3.26. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarındaki ve antiradikal aktivitelerindeki değişim	132
Tablo 3.27. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri	134
Tablo 3.28. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin duyusal analiz bulguları	136
Tablo 3.29. Lokum örneklerinin % kuru madde, % kül ve pH değerleri (ilk gün).....	137
Tablo 3.30. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen lokum örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri	139
Tablo 3.31. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen şekerleme örneklerinin duyusal analiz bulguları	142
Tablo 3.32. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen çemen örneklerinin % kuru madde, % kül ve pH değerleri (ilk gün).....	143
Tablo 3.33. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen çemen örneklerinin depolanma sürecinde L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerlerindeki değişimler	145

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Dünya genelinde kullanılan gıda boyalarının dağılımı [55].	13
Şekil 1.2. Bazı sentetik gıda boyalarının kimyasal yapıları [59].	15
Şekil 1.3. Karamel üretim akış şeması [1].	17
Şekil 1.4. Doğal klorofil moleküllerinin moleküler yapısı [2].	22
Şekil 1.5. Bazı önemli karotenoidlerin kimyasal yapıları [2].	24
Şekil 1.6. Betasiyanin ve betaksantinlerin kimyasal yapıları [1].	26
Şekil 1.7. Betalainin üretim akış şeması [1].	26
Şekil 1.8. Turmerik ürünlerinin üretim akış şeması [1].	28
Şekil 1.9. Curcumin ve analoglarının kimyasal yapıları [2].	29
Şekil 1.10. <i>Monascus</i> pigmentlerinin kimyasal yapıları [1].	30
Şekil 1.11. Bazı iridoid pigmentlerinin kimyasal yapıları [1].	31
Şekil 1.12. Kermesik asit ve lak pigmentlerinin açık formülleri [1].	32
Şekil 1.13. Dişi (soldaki) ve erkek koşinal böcekleri [66].	32
Şekil 1.14. Karminin kimyasal yapısı [68].	33
Şekil 1.15. Karminik asidin kimyasal yapısı [1].	34
Şekil 1.16. Flavilyum Katyonu (R1 ve R2: H, OH veya CH ₃ , R3: glikozil veya H; R4: OH veya glikozil) [14].	36
Şekil 1.17. Antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak yapısal değişimleri [74].	39
Şekil 1.18. PEF uygulamasının hücre zarı geçirgenliği üzerine etkisi, E; elektrik alan şiddeti, E _{kritik} ; por oluşumu için gerekli minimum elektrik alan şiddeti [116].	54
Şekil 2.1. Elma suyunun renklendirilme akış şeması.	74
Şekil 2.2. Standart dondurma üretim akış şeması	77
Şekil 2.3. Standart lokum üretim akış şeması	82
Şekil 2.4. Standart çemen üretim akış şeması	84
Şekil 3.1. Siyah havuç ve kırmızı lahana örneklerine PEF uygulaması [a] Siyah havucun PEF işleminden önceki hali, b) Siyah havucun PEF uygulanmış hali, c) Sağdaki mezürde PEF uygulaması sonrası elde edilen ekstrakt, soldaki mezürde ise aynı hacimde su ile muamele edilen örnek d) Kırmızı lahananın PEF işleminden önceki hali, b) Kırmızı lahananın PEF uygulanmış hali, c) Soldaki mezürde PEF uygulaması sonrası elde edilen ekstrakt, sağdaki mezürde ise aynı hacimde su ile muamele edilen örnek görülmektedir].	90
Şekil 3.2. Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu örneklerinin ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ve çözgen olarak AES kullanılması halinde arta kalan posalarının görünümü [a) Siyah havuç ultrason, b) Siyah havuç klasik, c) Kırmızı lahana ultrason, d) Kırmızı lahana klasik, e) Üzüm kabuğu ultrason, f) Üzüm kabuğunun klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulandıktan sonraki görünümleri].	91
Şekil 3.3. Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu örneklerinin ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ve çözgen olarak suyun kullanılması halinde arta kalan posalarının görünümü [a) Siyah havuç ultrason, b) Siyah havuç klasik, c) Kırmızı lahana ultrason, d) Kırmızı lahana klasik, e) Üzüm kabuğu ultrason, f) Üzüm kabuğunun klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulandıktan sonraki görünümleri].	92
Şekil 3.4. 90°C sıcaklıkta ısıl işlem gören ABE içeren tampon çözeltilerin antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler (pH 3).	105
Şekil 3.5. 90°C sıcaklıkta ısıl işlem gören ABE içeren tampon çözeltilerin antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler (pH 4).	106

Şekil 3.6. Elma suyunda siyah havuç antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucu parçalanmaları.....	107
Şekil 3.7. Elma suyunda kırmızı lahana antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucu parçalanmaları.....	108
Şekil 3.8. Elma suyunda üzüm kabuğu antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucu parçalanmaları.....	108
Şekil 3.9. Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu antosiyaninlerinin Arrhenius grafikleri.....	109
Şekil 3.10. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma suları	110
Şekil 3.11. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının 4°C sıcaklıkta depolanma sürecinde antosiyanin miktarındaki değişimler.....	113
Şekil 3.12. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının 20°C sıcaklıkta depolanma sürecinde antosiyanin miktarındaki değişimler.....	113
Şekil 3.13. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının 30°C sıcaklıkta depolanma sürecinde antosiyanin miktarındaki değişimler.....	114
Şekil 3.14. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurmalar	131
Şekil 3.15. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen lokum örnekleri	138
Şekil 3.16. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen çemen örnekleri	144

GİRİŞ

Tüketiciler, renk, lezzet ve tekstürü gıdanın en önemli kalite özellikleri olarak değerlendirmektedirler. Bunlar içerisinde de satın alma hissi ile de direkt alakalı olduğu için renk son derece önemli bir kalite kriteri olarak kabul edilmektedir. Yine renk bir gıdanın güvenliği ile ilişkilendirilmekte ve gıdaya has olmayan bir renk gıdanın bozulduğunu veya uygun bir şekilde üretilmediğini düşündürmektedir. Özetle, gıdaların kalitesinin değerlendirilmesinde renk çok önemli bir yere sahiptir.

Günümüzde gıda ürünleri, üretim merkezlerinden çok uzaklarda bile tüketime sunulabilmektedir. Gelişmiş ülkelerde üretilen gıdaların %75'inin tüketiciye ulaşmadan önce bazı işlemlerden geçtiği tahmin edilmektedir. Bunun sonucunda da gıda işleme ve ulaşımı gibi gıdalarda renk değişimine sebep olabilecek faktörler ortaya çıkmaktadır. Gıdaya orijinal bir görünümün kazandırılması, renkte tekdüzeliğin sağlanması, gıdanın doğal renginin yoğunlaştırılması ve en iyi renge sahip gıda ürününün elde edilmesi gibi amaçlarla gıda endüstrisinde renklendirici olarak çeşitli katkı maddeleri kullanılmaktadır [1].

Özellikle 19. yüzyılın ikinci yarısından itibaren doğal boyaların yerini sentetik boyalar almaya başlamıştır. 19. yüzyılın sonundan 21. yüzyılın başına kadar yaklaşık 100 yıldır sentetik renklendiricilerin sayısı 90'dan 5000'lere çıkmıştır [2]. Birçok boya aromatik aminlerin sülfonik asit türevidir. Bu yapı, renk maddelerinin yüksek polariteye sahip olmalarına neden olmakta ve böylece gastrointestinal sistem tarafından çok az absorbe edilmelerini sağlamaktadır [3]. Gıda katkı maddeleri arasında önemli bir yeri olan sentetik renklendiriciler özellikle çok miktarda tüketilmeleri durumunda sağlık açısından bazı riskler de taşımaktadırlar. Bu nedenle Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO), günlük kabul edilebilir doz (ADI) araştırmaları ve hayvanlar ile insanlar üzerinde yürütülen toksikolojik analizleri sık sık tekrar ederek yeni düzenlemelere gitmektedirler [4]. Örneğin, 1959 yılında sentetik bir anilin boyası olan tartrazin (FD&C Yellow No: 5) tüketimine bağlı olarak ürtiker, migren, görme

bozukluğu, kaşıntı, rinit (burun iltihabı), aşırı duyarlılık ve astım gibi rahatsızlıkların ortaya çıkmış olması nedeniyle bilim insanları gıda boyalarının insan sağlığına etkileri ile ilgili tartışmalara başlamışlardır. Amaranth'ın (FD & C Red No: 2) embriyo ölümlerine ve böbrekte taş oluşumuna, eritrosinin (FD & C Red No: 3) yağda çözünen formunun ise erkek farelerde tümör oluşumuna yol açtığı belirlendiğinden, bu boyaların gıdalarda kullanımları yasaklanmıştır. Yine FD & C Red No:4, Green No:1, Green No:2 ve Violet No:1'de hayvanlarda kanserojen etki göstermeleri nedeni ile kullanımı yasaklanan gıda boyaları arasındadır [3]. Konuyla ilgili çalışmalar hala devam etmekte ve şüpheli bulunan sonuçlar takibe alınmaktadır. Örneğın, son yıllarda yapılan bir çalışmada, sentetik renklendiricilerin çocuklarda hiperaktivite sendromunun görülme riskini arttırdığı da belirtilmektedir [5]. Bu konuda da daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde dünyada 940 milyon dolar büyüklüğündeki gıda boyası pazarının yaklaşık 2/3'ünün doğal gıda boyalarına ait olduğu tahmin edilmektedir. ABD, Avrupa ve Asya'nın eşit paylardaki pazarları, doğal gıda boyaları pazarının yaklaşık %73'lük kısmını oluşturmaktadır. Sentetik renklendiricilerin toksikolojik ve ekolojik nedenlerle yasaklanması ve tüketici tercihinde yaşanan değişmelere bağlı olarak doğal renklendiricilerin pazardaki payı her yıl %4-6 oranında artmaktadır. Avrupa'da, Almanya, Fransa ve İngiltere, doğal renklendiricilerin en çok tüketildiği ülkeler olarak karşımıza çıkmaktadır [2].

Yaşanan sosyal değişimler ve tüketici istekleri doğrultusunda gıda sektöründe kullanılan boyaların doğal olmaları arzu edilmektedir. Genel olarak sağlık riski taşımaları nedeni ile sentetik gıda katkıları, özellikle bilinçli tüketiciler tarafından tercih edilmemektedir. Bazen kullanılan katkıların sadece doğal olmaları da tüketiciyi tatmin edememektedir. Örneğın, koşınal böceklerinden elde edilen karmin de doğal renklendiriciler arasında yer almaktadır. Genellikle güvenilir olmasına rağmen gerek kişisel tercih ve inançlar ve gerekse de sosyokültürel yapı nedeni ile karmin tüketimi toplumumuzda hoş karşılanmamaktadır. Bu nedenlerle böcekten elde edilen gıda boyası ile renklendirilen ürünlerin çekiciliğinin azalması söz konusu olup, tüketicilerin bilinçlenmesine paralel olarak bu ürünlerin pazar payı da nispi bir azalma eğilimindedir. Karmin, sucuk, pastırma çemeni, sosis ve işlenmiş kümes hayvanı gibi et ürünleri ile bazı meyve preperatlarında, reçel ve marmelatlarda, jelatinli tatlılarda, pasta ve fırın ürünlerinde,

dondurmalarda, şekerlemelerde ve hatta bazı süt ürünlerinde renklendirici olarak kullanılabilmektedir [6]. Karminin pH ve sıcaklık gibi proses parametrelerindeki değişimlere karşı stabil olması ve ışık karşısında parçalanmadan kalabilen bir doğal renklendirici olması nedeni ile karmin özellikle et endüstrisinde geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Ancak bu katkı maddesinin sağlık açısından taşıyabileceği muhtemel riskler de daha fazla araştırmayı gerekli kılmaktadır [7]. Örneğin, karminin bazı duyarlı kişilerde nadir de olsa anafilaktik şok tepkisine sebep olabildiği aktarılmaktadır [6]. Ayrıca karminin kanserojen olduğu konusunda Hıfzıssıhha Enstitüsü raporları bulunduğu belirtilmektedir [8]. Bu bağlamda doğal fakat tüketicinin daha kolay kabul edebileceği katkıları önem kazanmaktadır. Neticede sağlık üzerine olan olumlu etkileri nedeniyle gıda endüstrisinde gerek proses gerekse de depolama sürecinde stabilitesi düşük olmasına rağmen antosiyanin bazlı renklendiricilerin kullanımı ön plana çıkmaktadır [5].

Flavonoidlerin alt gruplarından biri olan antosiyaninler, çiçek ve meyvelerin kırmızıdan maviye kadar değişen renklerini oluşturan doğal bitki bileşenleridir [9]. Doğal renklendiriciler arasında yer alan antosiyaninlerin gıda katkı maddesi olarak kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. Örneğin, Romalıların şarabın rengini yoğunlaştırmak için yoğun renkli meyveleri kullandıkları belirtilmektedir [2]. Günümüzde de antosiyaninlerin gıdalarda renk maddesi olarak kullanımları hızla artmaktadır. Antosiyaninlerin renklendirici ajan olarak kullanımlarına olan bu ilgi, rengi çekici hale getirmeleri ve sudaki yüksek çözünürlüklerinin yanı sıra sağlık üzerine pozitif etkilerinden de kaynaklanmaktadır [9-12]. Antosiyaninlerin damar koruyucu, iltihap giderici, trombosit kümeleşmesini önleyici, normal damar geçirgenliğini koruyucu, diyabet kontrolü, tümör gelişimini önleyici [13], antiülser etkisi [14] ve UV radyasyona karşı koruyucu etki gibi olumlu anlamda çok farklı etkileri rapor edilmiştir [15]. Yine antosiyaninlerin E ve C vitaminlerinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak bu bileşenler, yapılarındaki hidrojen atomunu vererek serbest radikalleri etkisiz hale getirebilmekte ve canlılarda antikanserojen etki sergileyebilmektedirler [12].

Antosiyanin ve diğer fenolik bileşiklerin kolayca okside olabildikleri, bu nedenle de üretim ve depolama basamaklarındaki oksidatif bozulmalara karşı hassas oldukları bilinmektedir. Genel olarak, antosiyaninlerin stabilitesi, üretim ve depolama esnasında

ortaya çıkan farklı pH, sıcaklık, ışık, oksijen, metal iyonları, enzimler ve şekerler gibi bazı faktörlerden etkilenebilmektedir [16]. Ortamın fizikokimyasal özelliklerinden, renk tonu ve yoğunluğu üzerine en etkili faktör ise pH'dır. Nitekim, antosiyaninler ortam pH'sına göre indikatör gibi renk değiştirmektedirler. Ortam pH'sı 2'nin altına düşüncü antosiyanin flavilyum katyonu halinde ortama hakim olur ve renk tonu kırmızıdır. pH 4-5 arasında, ortama renksiz karbinol psödobaz formu hakimdir. Ortam pH'sı 5'in üzerine çıkarsa da kuinidal anhidrobaz formu oluşur ve ortam rengi maviye dönüşür [12; 17]. Ancak bu reaksiyonlar geri dönüşümlü olup, antosiyaninlerin renksiz formu, renkli katyonik ve kuinidal formlara dönüşebilmektedir [18].

Son yıllarda bilim insanları, sağlıklı ve doğal gıda tüketiminin tüketicilerin öncelikleri arasında olması nedeni ile bu talepleri karşılamak adına sentetik gıda katkıları yerine doğal gıda katkıları üzerinde çalışmaya başlamışlardır. Bu kapsamda farklı gıdaların farklı hammaddelerden elde edilen antosiyaninlerle renklendirilmesini konu alan çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Örneğin, üzüm ekstraktı ile alkolsüz içeceklerin 100 mL'sine 3 mg monomerik antosiyanin ilavesinin örneklerin rengini koyu kırmızıya dönüştürdüğü belirtilmektedir [19]. Bir diğer çalışmada ise benzer şekilde pH değeri 3-4 arasında değişen alkolsüz içeceklerin koyu kırmızı renkte olabilmeleri için 3-4 mg monomerik antosiyanin ilavesinin uygun olduğu aktarılmaktadır [20]. Soda ve mineralli (gazlı) içeceklerin 100 mL'sine ilave edilen 0.5 mg siyah havuç antosiyanininin pembe renk oluşturduğu, konsantrasyonun artmasıyla birlikte rengin daha da koyulaştığı belirlenmiştir [21].

Yoğurtların renklendirilmesinde mikrokapsüle edilmiş siyah havuç antosiyaninlerinin kullanıldığı bir çalışmada, 100 g yoğurda ilave edilen 3.5 mg monomerik antosiyaninin pembemsi mor bir renk oluşturmak için yeterli olduğu bildirilmiştir [21]. Benzer şekilde çilekli yoğurdun rengini temsilen 100 g yoğurda 0.5 mg antosiyaninin renklendirici olarak ilave edilebileceği belirtilmektedir [20].

Siyah havuç konsantrasyonunun farklı meyve suları ve nektarlarının yanı sıra çilek reçelinin renklendirilmesinde de başarı ile kullanıldığı belirtilmektedir [22]. Bir başka çalışmada gül reçelini temsilen 100 g reçele 2 mg mikrokapsüle edilmiş siyah havuç antosiyanini ilavesinin uygun olduğu saptanmıştır [21]. Yine bazı şekerlemelere %0.4 (ağırlık/ağırlık) düzeyinde üzüm ekstraktı ilavesinin uygun olduğu aktarılmaktadır [19].

Ülkemizde yapılan bir başka araştırmada da 1 kg geleneksel Türk lokumunun renklendirilmesinde 6.6 g siyah havuç konsantresinin yeterli olduğu bildirilmektedir [23].

İşlenmiş gıdalarda antosiyaninler bazı problemlere de sebep olabilmektedirler. Örneğin, antosiyanin ekstraktları ile proteinler arasındaki interaksiyonlar nedeni ile gıdalarda bazı çökeltme problemleri meydana gelebilmektedir. Bundan dolayı diğer fenolikleri ve oligomerik pigmentleri belli seviyenin üzerinde içeren ekstraktlar jelatin ile çökeltmeye neden olabileceği için yumuşak şekerlemelerde renklendirici olarak kullanılamamaktadır [19].

Nötre yakın veya nötr ortamlarda antosiyaninlerin renklerini yitirmeleri nedeni ile pH değeri yüksek süt ürünlerinde antosiyanin kullanımının sadece dondurma gibi düşük sıcaklıkta muhafaza edilmesi gereken gıdalarda mümkün olabilmektedir [24]. Benzer şekilde, petanin gibi antosiyaninlerin buzdolabında muhafaza edilmesi gereken bazı pastane ürünleri ve süt gibi hafif alkali ürünlerde renklendirici olarak başarı ile kullanılabilenine belirtilmektedir [25]. Süt ürünlerine %0.3-0.5 (ağırlık/ağırlık) oranında üzümnden elde edilen antosiyanin bazlı ekstrakt ilavesinin çekici bir renk oluşturduğu belirtilmektedir [19]. Dondurmanın rengi üzerine yakın zamanda yapılan bir çalışmada kırmızı şarap tortusunun dondurmanın reolojik ve antioksidan özelliklerine olan etkileri incelenmiştir. Çalışmada ilave edilen tortunun dondurmaya antioksidan özellik kazandırdığı belirlenmiştir [26]. Yapılan başka bir çalışmada, pH değerleri yaklaşık 4.2-4.5 olan yoğurt ve ekşi kremaya renklendirici özelliklerini değerlendirmek amacı ile 5 mg antosiyanin/100 g ürün dozunda kırmızı turp, kırmızı lahanaya ve siyah havuç gibi farklı antosiyanin kaynaklarından elde edilen ekstraktlar ilave edilmiştir. Çalışmada kırmızı turp ve siyah havuç ilavesinin ürünlere hoş bir kırmızılık verirken, kırmızı lahananın ürünlere çekici bir mor renk oluşturduğu belirtilmiştir. Süt ürünlerinin raf ömrünün yaklaşık birkaç hafta olduğu dikkate alındığında doğal antosiyanin kaynaklarının bu tip ürünlere başarı ile kullanılabilenine belirtilmektedir [15]. Özetle, antosiyaninler ve doğal pigmentler, sakızlar, sert şekerlemeler, toz içecekler, krem dolgular, pasta kremaları, alkolsüz içecekler, reçel ve jölelerin renklendirilmesinde halen kullanılmaktadır [20].

Hazırdaki çalışma kapsamında klasik ekstraksiyonun yanı sıra vurgulu elektrik alan (PEF) ve ultrason gibi farklı ekstraksiyon uygulamalarının, ekstraktların antosiyanin miktarı, toplam fenolik madde, antioksidan, antiradikal ve antimikrobiyel özellikleri gibi bazı biyoaktif özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. PEF ve ultrason gibi yeni teknolojiler, çevre dostu ve son derece etkin teknolojik uygulamalardır [27]. PEF uygulamaları ısı artışının az olması, hücre zarlarının mikro düzeyde etkin şekilde parçalanması ve işlem maliyetinin düşük olması gibi avantajlara sahip olduğu için son yıllarda dikkatleri üzerine çekmektedir [28; 29]. PEF işleminin 15-80 kV/cm elektrik alan şiddetinde, vurgu sıklığı 1-100 arasında değişmek sureti ile 1-100 µs süreyle uygulanması halinde bakteriler ve enzimlerin inaktivasyonu için yeterli olduğu bildirilmektedir [30]. Yine PEF tekniği mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesi başta olmak üzere, gıdaların kurutulması ve meyve suyu veriminin artırılması gibi farklı amaçlarla kullanılmaktadır [31; 32]. PEF uygulamalarının gıdaların renk, lezzet ve antosiyanin gibi biyoaktif özelliklerini olumsuz yönde etkilemeksizin, gıdalarda istenmeyen bazı mikroorganizma ve enzimler üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir [33].

Ultrason ise saniyede 20.000 veya daha fazla titreşimde dalga oluşturan bir enerji türü olarak tanımlanmaktadır [34]. Ultrason uygulamaları, ekstrakt eldesinde ısı olmayan etkili ve alternatif bir metottur. Ultrasonik uygulamada hücre duvarları mekanik olarak parçalanarak materyal aktarımının kolaylaştırılması sağlanmaktadır. Ayrıca ultrasonun mekanik aktivitesi, çözgenin dokulara doğru olan dağılımını da hızlandırmaktadır. Hücre içi bileşenler, mekanik olarak parçalanan hücre duvarından çözüme daha kolay geçerek etkili bir ekstraksiyon işlemi sağlanabilmektedir [35]. Son yıllarda protein, antosiyanin, tartarik asit, aroma bileşenleri ve polisakkaritler gibi çok farklı bileşenlerin ekstraksiyonunda ultrason tekniğinden yaygın olarak faydalanılmaktadır [36].

Cranberry, yabanmersini, kırmızı lahana, *Hibiscus sabdariffa*, *Viburnum dentatum* berryleri, *Vaccinium myrtillus*, duhat (*Syzygium cumini* meyvesi), siyah zeytin, *Clitoria ternaria* ve *Ipomea tricolor* çiçeklerini içeren çok farklı materyaller antosiyanin bazlı doğal gıda boyaları üretiminde hammadde olarak düşünülmüş bitkilerdir. Bu materyallerin büyük bir kısmı hafif asidik veya nötral pH değerlerinde iyi stabilite göstermesine rağmen, verimlerinin düşük olması veya ticari ekstraksiyon için yeterli miktarlarda elde edilmelerinin zor olması gibi nedenlerle üretim için henüz faaliyete

geçilememiştir [20]. Ekonomik açıdan yaklaşıldığında potansiyel antosiyanin kaynakları arasında üzüm kabuğu ekstraktları dikkat çekmektedir [10; 387; 38]. Antosiyanin bazlı renklendirici olarak üzüm sanayi artıkları İtalya’da 1879 yılından beri kullanılmaktadır [39]. Eski adıyla “enosiyenin” günümüzde “Enocolor” ticari ismiyle toz veya konsantre solüsyonlar formunda İtalya’da üretilmektedir [20]. FAO 2005 verilerine göre dünyada yaklaşık 1 yılda 65 milyon ton üretimi gerçekleştirilen üzümün [39] işlenmesi sonucunda ortaya çıkan atıklar son derece bol ve ucuz antosiyanin kaynağı olarak değerlendirilmeyi beklemektedir [40].

Şarap yapımında üzümün yaklaşık %17-20’si posa olarak ayrılmakta ve bu posa yeterince değerlendirilemediği için üretim maliyeti artmaktadır. Türkiye yıllık 3.6 milyon tonluk üzüm üretimi ile dünya üretiminin yaklaşık %6’sını karşılamaktadır. Bunun %20’si posa olarak düşünüldüğü zaman ülkemizde de yılda yaklaşık 700 bin ton civarında bir üzüm posası rezervinin olduğu ortaya çıkmaktadır [39]. Oysa bu atıkların çok kolay bir şekilde ekonomiyeye kazandırılmaları mümkündür. Konunun ekonomik ve insan sağlığı boyutu yanında, Türkiye’de önemli bir potansiyeli bulunan bu atığın, geri kazandırılması çevre sağlığı açısından da çok önemlidir. Üzüm posasının tüm bu özellikleri; bu ürünün çok iyi değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Dolayısıyla bu araştırma kapsamında Öküzgözü üzümünün kabuklarından elde edilen antosiyanin bazlı ekstraktların (ABE) gıdaların renkleri üzerine olan etkilerinin incelenmesinin de faydalı olabileceği düşünülmüştür.

Mevcut araştırma kapsamında antosiyanin kaynağı olarak kullanılan materyallerden biri de siyah havuçtur. Kökleri yenen iki yıllık bir kültür sebzesi olan siyah havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) ülkemizde özellikle Adana ve Hatay yörelerinde mahalli bir çeşit olarak üretilmektedir [41]. FAO [42] 2007 yılı verilerine göre dünyada havuç ve şalgam üretimi 27 225 451 ton olup, bu üretimin 6 419 532 tonu Türkiye’de gerçekleştirilmektedir. Bu üretimin büyük bir kısmının turuncu havuç olduğu ve siyah havuçların özellikle batı toplumları tarafından çok iyi bilinmediği belirtilmektedir. Siyah veya mor havuçlar geleneksel olarak sadece Türkiye, Afganistan, Mısır, Pakistan, Hindistan ve Uzak Doğu’da üretilmektedir. Siyah havuç, yüksek düzeyde antosiyanin içermesi nedeniyle gıda boyası olarak kullanıma son derece uygun bir kaynaktır. Siyah havuç üzerinde yapılan çalışmalar toplam antosiyanin içeriğinin çok geniş bir aralıkta yer aldığını ortaya koymaktadır [43]. Siyah havuçlardan izole

edilen antosiyaninler yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduklarından, renklendirme amacıyla gıdaya ilave edildiklerinde gıdanın besleme kalitesini de arttırmaktadır [43-45].

Bir diğ er araştırma materyali olan kırmızı lahan a (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*), tüm dünyada 3.1 milyon hektar alanda 68 milyon ton üretimi gerçekleştirilen bir sebzedir [46]. FAO [42] 2007 yılı verileri Türkiye’de *Brassica* familyasına dahil olan sebzelerin yaklaşık olarak 650 bin ton üretildiğini ortaya koymaktadır. Yüksek düzeyde antioksidan aktivite sergileyen kırmızı lahanalarda bu etkinin, polifenolik bileşiminden ve bu grupta geniş bir yer tutan antosiyaninlerinden kaynaklandığı belirtilmektedir [46]. Hafif asidik ortamlarda kırmızı lahanada bulunan çift asillenmiş antosiyaninler sıcaklık ve ışığ a karşı son derece stabil olup, kullanıldığı ürünün renk kalitesini korumaktadır [19; 47]. Kırmızı lahan a içecekler, şekerlemeler, toz gıdalar, sakızlar, yoğurt ve sosların renklendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Diğ er materyallerden elde edilen antosiyaninlerin çoğunun aksine kırmızı lahan a ekstraktları, asidik gıdaların yanı sıra nötral gıdalarda da başarı ile kullanılabilir. Kırmızı lahan a ekstraktlarının mavi renkli sentetik boyalara da iyi bir alternatif olabileceği bildirilmektedir [48].

Hazırdaki çalışmada kırmızı üzüm kabuğ u, siyah havuç ve kırmızı lahanalardan klasik yöntemle ekstrakte edilen antosiyanin bazlı renk maddeleri kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlar renklendirici ajan olarak çemen, dondurma, şekerleme ve elma suyunun renklendirilmesinde kullanılmıştır. Halen piyasada bulunan çemen, dondurma ve şekerlemeler, daha çekici bir renk elde edebilmek için genellikle karmin kullanılarak renklendirilmektedir. Çemen renginin stabil olmaması nedeni ile et endüstrisinde sorunlar yaşanmasına rağmen literatürde bu konuda yapılan bir çalışmaya rastlanamamıştır. Özen *et al.* [23]’ın yaptıkları çalışma dışında geleneksel şekerlememiz olan lokumun renk parametresi üzerinde yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Literatürde dondurmalarla ilgili çalışmaların özellikle reolojik özellikler üzerine yoğunlaştığı gözlenmiş, doğal gıda boyası ilavesinin sadece renkte meydana getirdiği değişimlere rastlanmıştır. Yine ilave edilen renk maddesinin biyoaktivitesinde meydana getirdiği değişime ise çok sınırlı sayıda kaynakta ulaşılab ilmiştir [26]. Bu nedenle çalışma kapsamında meyve suyu haricinde adı geçen gıdalarda doğal ABE’ların yanı sıra karmin ile de renklendirilerek, depolama süresince meydana gelen değişimler duyusal ve objektif yöntemlerle izlenmiştir.

Ayrıca çalışmada klasik yöntem, PEF ve ultrason teknikleri ile elde edilen ekstraktların, antosiyanin miktarları, toplam fenolik, antioksidan ve antiradikal aktivite tayinleri yapılmıştır. Antosiyaninlerin antimikrobiyel aktiviteleri üzerinde yapılan araştırmalar, bunların stimülatör veya inhibitör etkileri olabileceğini ortaya koymaktadır [49]. Bu nedenle mevcut araştırmada elde edilen ekstraktların 13 adet bakteri ve 2 mayadan oluşan toplam 15 mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyel etkileri de incelenmiştir.

Isıl işlem uygulamalarında sıcaklık-süre kombinasyonunun antosiyanin stabilitesi üzerinde son derece güçlü bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir [16; 50- 52]. Isı etkisiyle antosiyaninler, renksiz forma dönüşerek rengini kaybetmekte ve melanoidin pigmentleri adıyla bilinen esmer renkli polimerik bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır [19].

Gün geçtikçe sentetik gıda boyalarının yukarıda anlatılan olumsuz etkilerinin ortaya çıkması nedeni ile özellikle son yıllarda doğal gıda boyalarına olan ilgi giderek artmaktadır. Sürekli artan bu ilgi yeni veya alternatif doğal gıda boyaları üzerinde yapılan araştırmaları gerekli kılmaktadır [53]. Sonuç olarak bu araştırmada, ülkemizin önemli kırmızı üzüm çeşitlerinden Öküzgözü cinsinin kabuklarının yanı sıra siyah havuç ve kırmızı lahana olmak üzere üç farklı antosiyanin kaynağından elde edilen ABE'lerin biyoaktif özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, PEF, ultrason ve klasik ekstraksiyon gibi farklı uygulamaların, elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarları, toplam fenolik madde miktarları, antioksidan ve antiradikal aktiviteleri gibi biyoaktif özellikleri üzerine olan etkilerinin belirlenmesi de hedeflenmiştir. Yine, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların (çözgen olarak saf su veya AES) 13'ü bakteri 2'si maya olan toplam 15 farklı mikroorganizma üzerinde denenerek antimikrobiyel etkinlikleri de saptanmıştır. Ayrıca laboratuvar şartlarında üretilen elma suları pastörize edilerek, 4 mg antosiyanin/100 mL oranında ABE'lardan ilave edildikten sonra *Escherichia coli* O157:H7 ve *Bacillus cereus* F2 suşlarından %1 oranında yaklaşık 10^7 - 10^8 kob/mL civarında eklenmiştir. Örnekler elma sularının depolandığı sıcaklıklar dikkate alınarak 4 ve 20°C'de 96 saat süreyle inkübe edilmiş ve çalışma kapsamında gıdaların renklendirilmesinde kullanılan klasik yöntemle elde edilmiş ABE'lardan elma sularında kullanılan miktarda (4 mg antosiyanin/100 mL) elma sularına ilave edilmiş ve bakteriler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yine klasik

ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve araştırma kapsamındaki gıdaların renklendirilmesinde kullanılan klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu ekstraktlarının pH değerleri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerde 90°C sıcaklıkta ısıl stabiliteleri incelenmiştir. ABE'lerin, ayrıca elma sularında 70, 80 ve 90°C sıcaklıklarda ısıl stabiliteleri belirlenerek, gıda sistemlerindeki parçalanma eğilimleri de belirlenmeye çalışılmıştır. Yine klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların elma suyu, dondurma, çemen ve şekerleme örneklerinin renklendirilmesinde kullanım olanakları araştırılmıştır. Renklendirilen bu gıdalardan meyve suyu ve dondurmanın depolama sürecinde ilave edilen ekstraktların biyoaktif özelliklerinde meydana getirdiği değişim depolama süreçlerinde izlenmiştir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Gıdalarda Renk ve Renklendiriciler

Renk, gıdaların fark edilen ilk duyuşal özelliği olması nedeniyle, kabul edilebilirliklerde de çok önemli bir rol oynamaktadır [54]. Tüketicinin gıda seçiminde etkili olan rengin daha da çekici hale getirilmesi amacıyla bazı sentetik veya doğal boyalar kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca sağlık açısından sağladığı bazı avantajlar nedeniyle de son yıllarda daha çok doğal boyalar tercih edilmektedir. Gıdalara bu boyaların eklenmelerinin çok sayıda nedeni vardır. Bunlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır [18; 22]:

1. Isıl işlem uygulaması sırasında (örneğin meyvelerin konserveye işlenmesi) ya da daha sonraki depolama süreçlerinde, gıdaların doğal renginin tahrip olması nedeniyle orijinal görünümünün korunması,
2. Mevsimin değişik zamanlarında elde edilen meyvelerde olduğu gibi, renk yoğunluğundaki farklılıklar nedeniyle bunlardan elde edilen ürünlerin renklerindeki tekdüzeliği sağlamak,
3. İçecek, sos ya da meyveli yoğurt gibi rengin, tüketiciye; ürünün tat ve aromasını çağrıştırdığı gıdalarda, özellikle ürünün renginin beklenenden daha zayıf olduğu durumlarda rengin yoğunlaştırılması,
4. Ürünün depolanması sırasında tat, aroma ve ışığa duyarlı vitaminlerinin korunmasına yardımcı olmak,
5. Gıdalara daha çekici bir görünüş kazandırmak,
6. Gıdanın tanınabilirliğini sağlamak veya karakterini muhafaza etmek,
7. Renk, gıda kalitesinin önemli bir işareti olduğundan gıdanın kabul edilebilirliğini arttırmaya yardımcı olmak amacıyla dışarıdan boya ilavesi yapılmaktadır.

Gıdalara ilk gıda boyasının M.Ö. 1500'lü yıllarda Mısır'da katılmaya başlandığı düşünülmektedir. Şekerleme gibi bazı ürünlerin renginin düzeltilmesi için bu ürünlere bazı bitkisel ekstraktlar ve şarap ilavesi yapıldığı aktarılmaktadır. Zamanla endüstrideki ilerlemelere paralel olarak gıda sanayi de hızlı bir değişime uğramıştır. Gıdaların renklendirilmesi amacıyla da kırmızı kurşun (Pb_3O_4), HgS veya bakır arsenat gibi mineral ve metal bazlı bileşiklerin kullanımı yoluna gidilmiştir. Zararları sonradan tespit edilen bu tip toksik kimyasallar, şekerleme ve salamura gibi çok farklı gıda gruplarında kullanılmıştır. Tarihi belgeler, kullanılan bu toksik bileşiklerin zehirlenmelere hatta ölümlere neden olduğunu ortaya koymaktadır [55].

Gıda boya ları; sentetik, doğala özdeş ve doğal boyalar olmak üzere 3 grupta toplanmaktadır [55].

1.1.1. Sentetik gıda boya ları

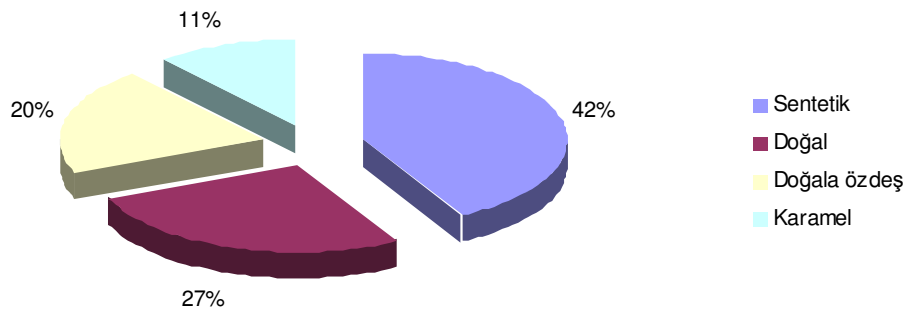
İlk sentetik gıda boyası olan “muavine” 1856 yılında Sir William Henry Perkin tarafından geliştirilmiştir. Daha sonra geliştirilen sentetik diğer gıda boya ları da tüm dünyada geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Sentetik boya lar, kolay üretilebilmeleri ve ucuz olmalarının yanında renklendirici özelliklerinin çok iyi olması gibi bazı avantajlara sahiptirler. Ayrıca gıdalara kolayca karıştırılabilmekte ve gıdalarda istenmeyen tat ve koku değişimlerine de sebep olmamaktadırlar [55].

Gıdalara ilave edilen renk ajanları yasal düzenlemelere göre sertifikalı ve sertifikasız renk maddeleri adı altında iki ana grupta toplanmaktadır. 12 Haziran 1960 tarihinde yasa haline getirilen renk katkıları listesi, iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde, her türlü araştırması tamamlanmış, sakıncası görülmemiş ve kullanımına izin verilmiş renk katkıları yer almaktadır. İkinci bölümde ise geçici bir liste yer almakta, bu geçici listeye girmiş olan renk katkılarının kullanımı ile ilgili çalışmalar sürdürülmektedir. Ancak herhangi bir renk katkısı, sertifikalı boya lar listesinde yer almasına rağmen bununla ilgili bir sorun ortaya çıktığında derhal ikinci listeye alınarak, araştırmalar yenilenmektedir [56]. Sertifikalı renk maddelerinin hepsi yapay kaynaklı boya lar olup, katkıları kullanıldıkları gıdalarda stabil özellik göstermekte, ürüne konuldukları miktarlarda zamana bağlı bir azalma görülmemektedir. Boya lar ve lake boya lar

(pigmentler) da bu grupta yer almaktadırlar. Doğal boya maddeleri ise sertifikasız boya maddeleri grubunda yer almaktadırlar [57].

Tüm ülkeler, gıda endüstrisinde kullanılan renklendirici katkılarla ilgili düzenlemelere gitmekte ve yapılan düzenlemeler neticesinde de kullanımına izin verilen renklendirici sayısı giderek azalmaktadır [58]. Nitekim son yıllarda yapılan yasal düzenlemelerle birlikte FDA tarafından kullanımına izin verilen sentetik boya sayısının 700'den 7'ye düştüğü bildirilmektedir [55].

Sentetik renklendiriciler çok miktarda tüketilmeleri halinde sağlık açısından bazı riskler taşımaktadır. Bu nedenle FAO ile WHO toksikolojik analizleri sık sık tekrar ederek, yeniden düzenlemekte ve belirlenen limitleri güncellemektedir [4]. Yaşanan sosyal ve kültürel değişimler, tüketici istekleri ve teknolojinin ilerlemesine bağlı olarak gıda sektöründe kullanılan boyaların doğal olmalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Dünya genelinde kullanılan gıda boyalarının 2000 yılındaki dağılımı Şekil 1.1.'de verilmiştir [55].



Şekil 1.1. Dünya genelinde kullanılan gıda boyalarının dağılımı [55].

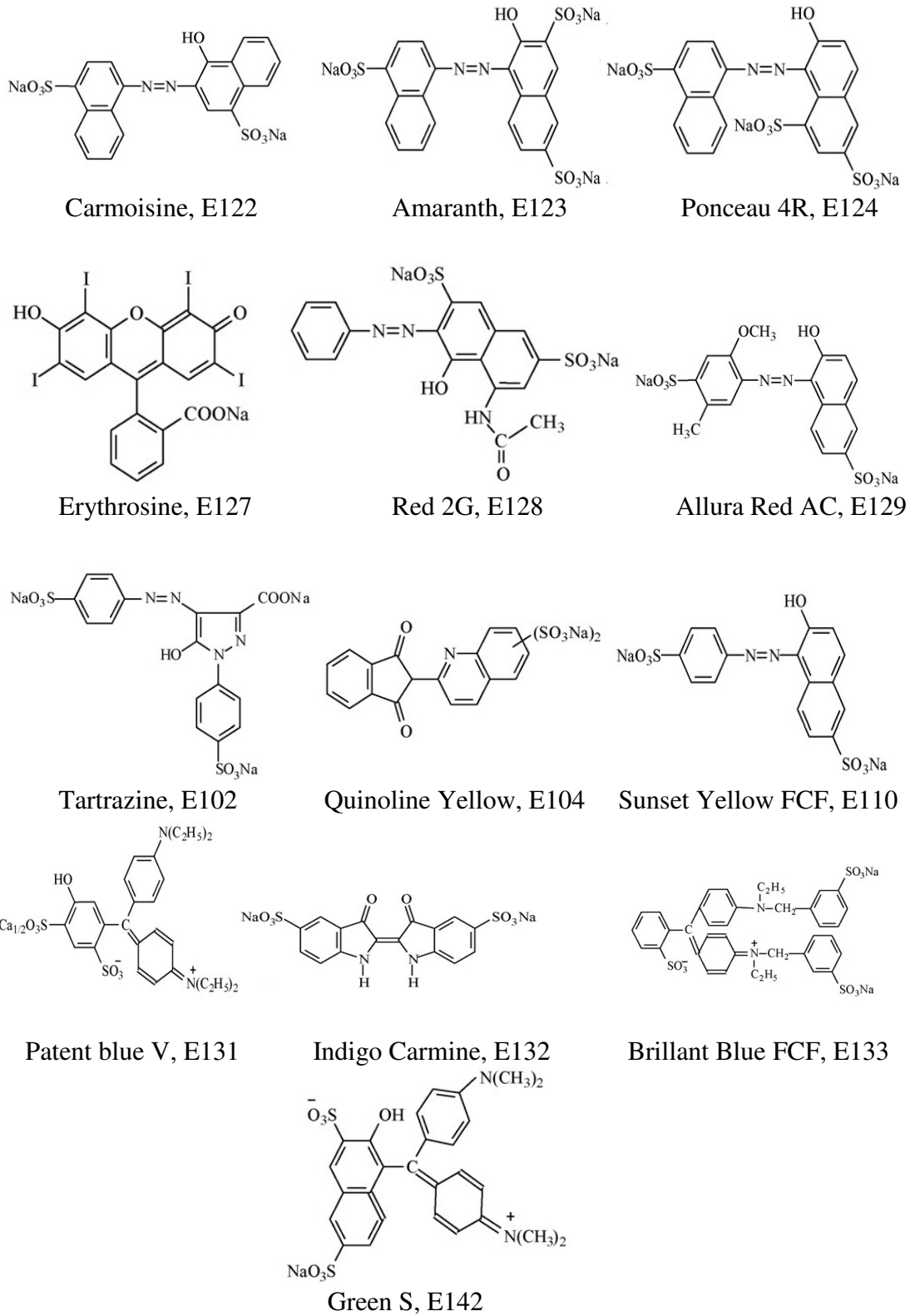
Avrupa'da gıda endüstrisinde kullanılan sentetik boyalarla ilgili yasal düzenlemeler, Avrupa Birliği (AB)'nin ilgili kuruluşları tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmekte ve 94/36/EC sayılı yönerge ile düzenlenmektedir [59]. FDA ve AB tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen sertifikalı boyalar Tablo 2.1.'de verilmiş olup, bu boyalardan Türkiye ve ABD'de gıdalarda kullanımına izin verilenler de aynı tabloda belirtilmişlerdir [60]. Bu sentetik boylardan bazılarının kimyasal yapıları Şekil 2.2.'de görülebilmektedir [59].

Tablo 1.1. FDA ve Avrupa Birliği tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen sentetik renk maddeleri [60].

Renk maddesi	Renk*	E-kodu	Yasal düzenlemeler			
			FDA numarası	AB	ABD	Türkiye
Erythrosine	Parlak pembe/kırmızı	E127	FD & C Red No.3	+	+	+
Brilliant blue FCF	Turkuaz mavisi	E133	FD & C Blue No.1	+	+	+
Indigotin	Deniz mavisi	E132	FD & C Blue No.2	+	+	+
Tartrazine	Limon sarısı	E102	FD & C Yellow No.5	+	+	+
Quinoline yellow	Limon sarısı	E104	FD & C Yellow No.6	+	-	+
Allura red	Turuncu-kırmızı	E129	FD & C Red No.40	+	+	+
Yellow 2G	Sarı	E107	-	+	-	+
Ponceau 4R	Çilek kırmızısı	E124	-	+	-	+
Carmoisine	Kırmızı	E122	-	+	-	+
Amaranth	Magenta kırmızısı	E123	FD & C Red No.2	+	-	+
Red 2G	Parlak pembe	E128	-	+	-	+
Patent blue	Turkuaz mavisi	E131	-	+	-	+
Green S	Yeşilimsi mavi	E142	-	+	-	+
Brown FK	Kırmızı kahverengi	E154	-	+	-	+
Chocolate Brown HT	Çikolata kahvesi	E155	-	+	-	+
Black PN	Violet siyahı	E151	-	+	-	+

*; sentetik boyaların renkleri 4 nolu kaynaktan alınmıştır, +; kullanımına izin verildiğini; -; kullanımına izin verilmediğini göstermektedir.

Sentetik boyaların özellikle alerjik reaksiyonlara neden olduğu saptanmış olup, sağlık üzerine olan yan etkileri Tablo 2.2.'de verilmiştir [61]. Sıçanlara Sunset Yellow gıda boyasının 0-20 mg/kg gün düzeyinde verilmesiyle meme tümörü oluşumu, 20-30 mg/kg gün seviyesinde tüketimiyle diare, sekum (kör bağırsak) genişlemesine yol açtığı belirlenmiştir. Çalışmada 80 hafta süreyle 4-16 mg/kg gün seviyesinde tüketiminin ise lenfoma, reticulum-cell tümörleri ve akciğer adenomları (iyi huylu tümör), yüksek dozda yumurtalık tümörleri, düşük dozlarda ise göğüs tümörlerine sebep olduğu belirtilmektedir. Aynı araştırmada, Poncea 4R boyasının 50, 500, 1250 mg/kg gün dozunda tüketen sıçanlarda ise vücutta yaralar, küçük benekli timüs, böbrek taşı oluşumu, sekum genişlemesi, benekli karaciğer, beyin ağırlıklarında artış ve hatta ölümlerin gözlemlendiği bildirilmektedir [56].



Şekil 1.2. Bazı sentetik gıda boyalarının kimyasal yapıları [59].

Tablo 1.2. Bazı renk maddelerinin sağlık üzerine olan yan etkileri [61].

E-Kodu	Adı	Renk	Yan etkileri
E102	Tartrazin	Sarı-portakal rengi	Alerji
E104	Kinolin sarısı	Sarı-portakal rengi	Alerji, kanser, böbrek bozukluğu,
E110	Sunset Yellow	Sarı-portakal rengi	Alerji, kanser
E122	Karmosin/ Azorubin	Kırmızı	Alerji, kanser, doğumsal kusurlar
E123	Amarat	Kırmızı	Alerji
E124	Ponceau 4R	Kırmızı	Alerji
E127	Eritrosin BS	Kırmızı	Alerji
E131	Patent Blue V	Mavi	Alerji
E132	İndigo Karmin/ İndigotin	Mavi	Alerji
E133	Brilliant Blue FCF	Mavi	Alerji, kanser
E153	Carbon Black/ Vegetable Carbon (Charcoal)	Kahverengi-siyah	Alerji

1.1.2. Doğala özdeş gıda boyaları

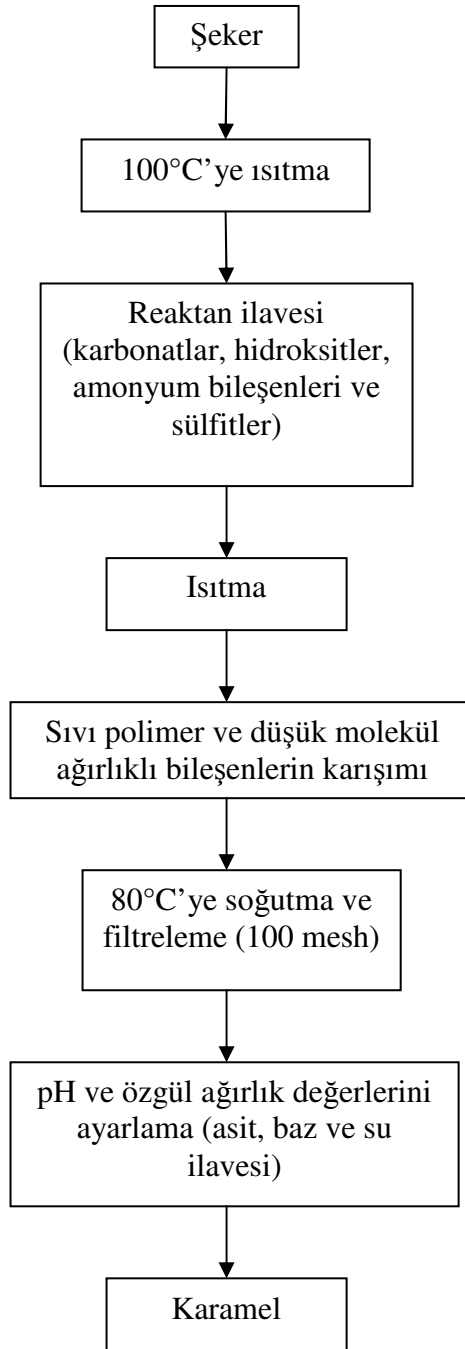
Doğala özdeş gıda boyaları, doğal kaynaklardan elde edilen maddelere uygulanan çeşitli proseslerle üretilirler. Örneğin, klorofilin bakır kompleksi veya karameller bu grupta değerlendirilmektedir [57].

1.1.2.1. Karamel

Gıdalara hem lezzet hem de renk veren karameller, kırmızımsı-kahverengi/ kahverengi-siyah renklere viskoz sıvı veya higroskopik tozlardır. Karameller en eski ve en çok kullanılan gıda boyaları arasında yer almaktadırlar [62].

Şekil 1.3.'te karamelin üretim akış şeması verilmiştir [1]. Karameller, üretiminde uygulanan metot ve kullanılan reaktantlara bağlı olarak dört sınıfa (Sınıf I, II, III ve IV) ayrılmaktadır. Bunlardan I. sınıf; sade karamel (E 150a), II. sınıf; sert sülfid karamel (E150b), III. sınıf; amonyak karamel (E150c) ve IV. Sınıf; sülfid amonyak karamel (E150d)'dir [63]. Bunlardan en az kullanılan Sınıf II olup, I Sınıf karameller ile Sınıf III ve IV'e dahil olan karamellerin kullanım alanları sırası ile Tablo 1.3. ve Tablo 1.4.'te verilmiştir. Karamel suda çözünmesine rağmen pek çok organik çözücüde çözünmemektedir. Amerika'da üretilen karamelin %80'inden fazlası içeceklerin özellikle de kolaların ve alkolsüz biraların renklendirilmesinde kullanılmaktadır.

Karamel süt ürünleri, n piirilmif veya kurutulmuş makarna ve eriteler, taze et, piliç ve av etleri, taze ve donmuş deniz ürünleri, bebek mamaları, Şeker ve Őuruplar, krakerler, kakao ve okolatalı ürünler, kahve ve çay gibi çok farklı gıda gruplarının renklendirilmesinde kullanılmaktadır [1].



Şekil 1.3. Karamel retim akış Şeması [1].

Tablo 1.3. I. sınıfa dahil olan karamellerin gıda endüstrisinde bazı kullanım alanları ve izin verilen kullanım miktarları [1].

Kullanım Alanı	Maksimum seviye
Süt ürünleri	GMP*
Taze meyve/sebzelerin, kabuklu yemişlerin ve çekirdeklerin yüzeylerine	GMP
Tahıllar (pirinç dahil)	GMP
Önpişirilmiş veya kurutulmuş makarnalar, erişte ve benzeri gıdalar	GMP
Taze et, piliç, av eti	GMP
Taze deniz ürünleri	GMP
Dondurulmuş deniz ürünleri	GMP
Pişirilmiş deniz ürünleri	GMP
Kızartılmış deniz ürünleri	GMP
Tütsülenmiş, kurutulmuş veya fermente edilmiş deniz ürünleri	GMP
Taze yumurtalar	GMP
Bebek gıdaları	GMP
Şeker ve şerbetler	GMP
Konsantre meyve suları	GMP
Şaraplar	600 mg/kg

*: GMP; Doğru/iyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacture Practises)

Tablo 1.4. III. ve IV. sınıflara dahil olan karamellerin gıda endüstrisinde bazı kullanım alanları ve izin verilen kullanım miktarları [1].

Kullanım Alanı	Maksimum seviye
Margarin ve benzeri ürünler	GMP*
Kurutulmuş sebzeler, deniz yosunları, kabuklu yemişler ve çekirdekler	GMP
Fermente sebze ürünleri	GMP
Pişirilmiş veya kızartılmış sebzeler ve deniz yosunları	GMP
Kakao ve çikolata ürünleri	GMP
Önpişirilmiş veya kurutulmuş makarnalar, erişte ve benzeri gıdalar	GMP
Hamurlar	GMP
Krakerler (tatlı krakerler haricinde)	GMP
Meyve ve sebze ürünleri	GMP
Su bazlı çeşnili içecekler	500 mg/kg
Kahve ve ikameleri, çay, bitkisel çaylar, diğer kahvaltılık gevrekler ve tahıl içecekleri (kakao haricinde)	GMP

*: GMP; Doğru/iyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacture Practises)

Karamelizasyon işlemi süresince karamellerde oluşan ve düşük molekül ağırlıklı bileşenler arasında yer alan 4-(5) metilimidazol (4-MeI) III. ve IV. sınıf karamellerde; 2-asetil-4(5)-tetrahidroksibütimidazol (THI) sadece III. Sınıfta tespit edilirken, 5-hidroksimetil furfural (HMF) ise tüm karamel sınıflarında bulunmaktadır [1; 63]. Karamel markerları adı verilen bu bileşenlerden 4-MeI nörooksik etki gösterirken, bazı *in vitro* çalışmalarda insan karaciğerinde bazı karsinojen bileşikler okside edilmesinde

rol oynayan sitokrom P450 enzimini inhibe ettiği belirlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise 4-MeI'ün erkek ve dişi farelerde akciğer kanserini tetiklediği saptanmıştır. THI'ün bağışıklık sistemini baskıladığı, HMF'nin ise gözler, solunum sistemi, deri ve mukoz membranlarda iritasyona neden olduğu belirtilmektedir [63].

1.1.2.2. Klorofilin bakır kompleksleri

Klorofil pigmentinin dayanıklı olmaması ve suda erimemesi gibi nedenlerle kullanımı zor bir renklendiricidir. Ancak günümüzde “sodyum bakır klorofillin” adıyla bilinen türevi kullanılmaktadır. Bu bileşik, klorofilin yapısındaki magnezyumun bakır ile yer değiştirmesi sonucu elde edilen klorofilin sodyum tuzudur. Sodyum bakır klorofillin mavi-yeşil renge sahiptir, suda kolay erir ve ısı işlem sırasında dokuların yeşil renginin korunmasını sağlar. İçerdiği bakırın toksik etki göstermeyecek kadar düşük konsantrasyonda olduğu bildirilmektedir [57].

Kodekste klorofillerin çok farklı gıda gruplarında kullanımına izin verilmiştir. Ancak, FDA'nın bakır klorofil komplekslerinin, sodyum ve potasyum tuzlarının sadece dış macunları ve ilaçlarda kullanımına izin verirken, gıda katkısı olarak kullanımına izin vermediği bildirilmektedir. Kodekste bakır klorofil komplekslerinin kullanımına izin verdiği gıda maddeleri ve kullanım miktarları Tablo 1.5.'te verilmiştir [1].

Tablo 1.5. Bakır klorofil komplekslerinin kullanıldığı gıda maddeleri ve kullanım miktarları [1].

Gıda	Maksimum seviye (mg/kg)
Tahıl ve nişasta bazlı tatlılar	6.4
Piştirilmiş balık ve balık ürünleri	30
Çorba ve et suyu karışımları	GMP

*: GMP; Doğru/iyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacture Practises)

1.1.3. Doğal Renk Maddeleri

Sentetik renklendiricilerin toksikolojik ve ekolojik nedenlerle yasaklanmasına bağlı olarak doğal renklendiricilerin pazardaki payı da her yıl yaklaşık %4-6 oranında artmaktadır [2]. Tüketici istekleri doğrultusunda doğal boyaların tercihinin artmasına rağmen, bunların gıdalarda kullanılmalarından önce bazı hususların dikkate alınması gerekmektedir. Bunlar aşağıda özetlenmiştir [18; 54]:

1. Gıda maddesinde arzu edilen renk tonu,
2. Gıda ürününün üretildiği ülkelerdeki yasal düzenlemeler,
3. Arzu edilen fiziksel form (örneğin, fiyat bakımından sıvı haldeki doğal boyalar genelde toz olanlardan daha pahalıdır),
4. Gıdanın kompozisyonu, özellikle sulu bir sistem olup olmadığı ya da önemli düzeyde sıvı veya katı yağ içerip içermediği (örneğin, tanen ve proteinlerin varlığı, antosiyanin gibi bazı renk maddelerinin kullanımını sınırlandırmaktadır),
5. Proses koşulları, özellikle uygulanan sıcaklık derecesi ve süresi,
6. Gıdanın pH değeri (doğal boyaların çoğunun renk stabilitesi ve tonu, ortamın pH'sından etkilenmektedir),
7. Gıdalarda kullanılacak ambalaj (ürüne ulaşacak oksijen ve ışık miktarını belirleyeceğinden, özellikle karotenoid gibi bazı renk maddelerini etkilemektedir),
8. Ürünün arzu edilen raf ömrü ve depolama koşulları.

Avrupa Birliği tarafından kullanımına izin verilen doğal kaynaklı boyalar Tablo 1.6.'da verilmiştir [54].

Tablo 1.6. AB tarafından kullanımına izin verilen doğal kaynaklı boyalar [54].

E Kodu	Adı
E100	Kurkumin
E101	Riboflavin
E120	Koşinal /karminik asit/karmin
E140	Klorofil
E141	Klorofilin bakır kompleksleri ve klorofilinler
E150	Karamel
E153	Bitkisel karbon
E160	(a) α -, β -, γ -karoten (b) Annatto ekstraktları, biksin, norbiksin (c) Paprika (kırmızı biber) ekstraktı, kapsantin, kapsorubin (d) Likopen (e) β -apo-8'-karotenal (C30)
E161	(a) Flavoksantin (b) Lutein (c) Kriptoksantin (d) Rubiksantin (e) Violaksantin (f) Rodoksantin (g) Kantaksantin
E162	Pancar kökü kırmızısı, betanin
E163	Antosiyaninler

FDA tarafından gıdalarda kullanımına izin verilen ve sertifikaya tabi olmayan doğal renk maddeleri ise Tablo 1.7.'de verilmiştir [64].

Tablo 1.7. FDA tarafından gıdalarda kullanılmasına izin verilen, sertifikaya tabi olmayan doğal renk maddeleri [64].

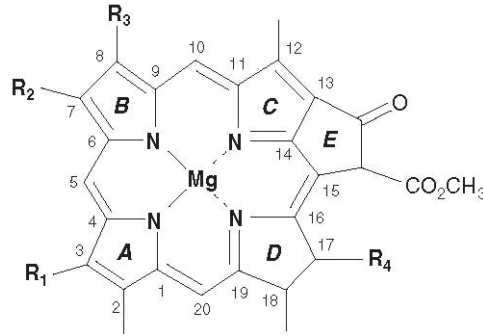
Renk Maddesi	Uygulama Alanı
73.30: Annatto ekstraktı	-*
73.35: Astaksantin	Sadece balık yeminde
73.40: Dehidre edilmiş pancar (pancar tozu)	-
73.50: Ultramarin mavi	Hayvan yemlerindeki tuzun renklendirilmesi (maksimum %0.5)
73.75: Kantaksantin	Tavuk yemi (4.4 mg/kg)
73.85: Karamel	-
73.90: β -Apo-8'-karotenol	33.05 mg/kg
73.95: β -karoten	-
73.100: Koşinal ekstraktı (karmin)	-
73.140: Kızartılmış ve kısmen yağı uzaklaştırılmış, pişmiş çığit unu	-
73.160: Ferrous glukonat	Sadece olgun zeytinlerin renklendirilmesi
73.165: Ferrous laktat	Sadece olgun zeytinlerin renklendirilmesi
73.169: Üzüm ekstraktı	Sadece içecek dışındaki gıdalarda
73.170: Üzüm kabuğu ekstraktı (enocianina)	Gazlı ve gazsız içecekler, bira ve alkollü içeceklerde
73.185: <i>Haematococcus algae</i>	Sadece balık yeminde
73.200: Sentetik demir oksit	Sadece kedi ve köpek mamalarında
73.250: Meyve suyu	-
73.260: Sebze suyu	-
73.275: Kurutulmuş algae	Sadece tavuk yeminde
73.295: Tagetes (Aztec marigold) ekstraktı	Sadece tavuk yeminde
73.300: Havuç yağı	-
73.315: Mısır endospermi yağı	Sadece tavuk yeminde
73.340: Paprika	-
73.345: Paprika oleoresin	-
73.355: Phaffia mayası	Sadece balık yeminde
73.450: Riboflavin	-
73.500: Safran	-
73.600: Turmerik	-
73.615: Turmerik oleoresini	-

*: GMP; Doğru/iyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacture Practises)

1.1.3.1. Klorofiller

Yeşil bitkilerin renkleri, klorofil adı verilen bir pigmentten kaynaklanmaktadır. Klorofiller, forbinlerin magnezyum kompleksi tuzlarıdır ve doğada fitol esterleri halinde bulunurlar. Asit, ısı ve bazı metal iyonlarının etkisiyle çeşitli türevlere dönüşerek, kendine özgü yeşil rengi kaybederler [17]. Klorofil a, b, c₁, c₂, c₃ ve d olmak üzere 6

adet farklı formu mevcut olup, kimyasal formülleri Şekil 1.4.'te verilmiştir [2]. Tablo 1.8.'de klorofilin gıda sanayinde kullanım alanları verilmiştir [1].



	R₁	R₂	R₃	R₄
Klorofil a	CH=CH ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ -COO-C ₂₀ H ₃₉
Klorofil b	CH=CH ₂	CHO	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ -COO-C ₂₀ H ₃₉
Klorofil c ₁	CH=CH ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ =CH-COOH
Klorofil c ₂	CH=CH ₂	CH ₃	CH=CH ₂	CH ₂ =CH-COOH
Klorofil c ₃	CH=CH ₂	COOCH ₃	CH=CH ₂	CH ₂ =CH-COOH
Klorofil d	CHO	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ -COO-C ₂₀ H ₃₉

*: tüm klorofil c' lerde D halkasında çift bağ vardır

Şekil 1.4. Doğal klorofil moleküllerinin moleküler yapısı [2].

Tablo 1.8. Klorofillerin gıda sanayinde kullanım alanları ve izin verilen maksimum kullanım düzeyleri [1].

Gıda	Maksimum seviye
Süt ürünleri	GMP*
Meyve bazlı ezme (ekmeğe sürülen)	GMP
Katı ve sıvı yağlar	GMP
Ön pişirilmiş veya kurutulmuş makarna veya eriştelere	GMP
Taze et, piliç, av eti	1000 mg/kg
Taze deniz ürünleri	GMP
Pişirilmiş deniz ürünleri	GMP
Taze yumurtalar	GMP
Bebek mamaları	GMP

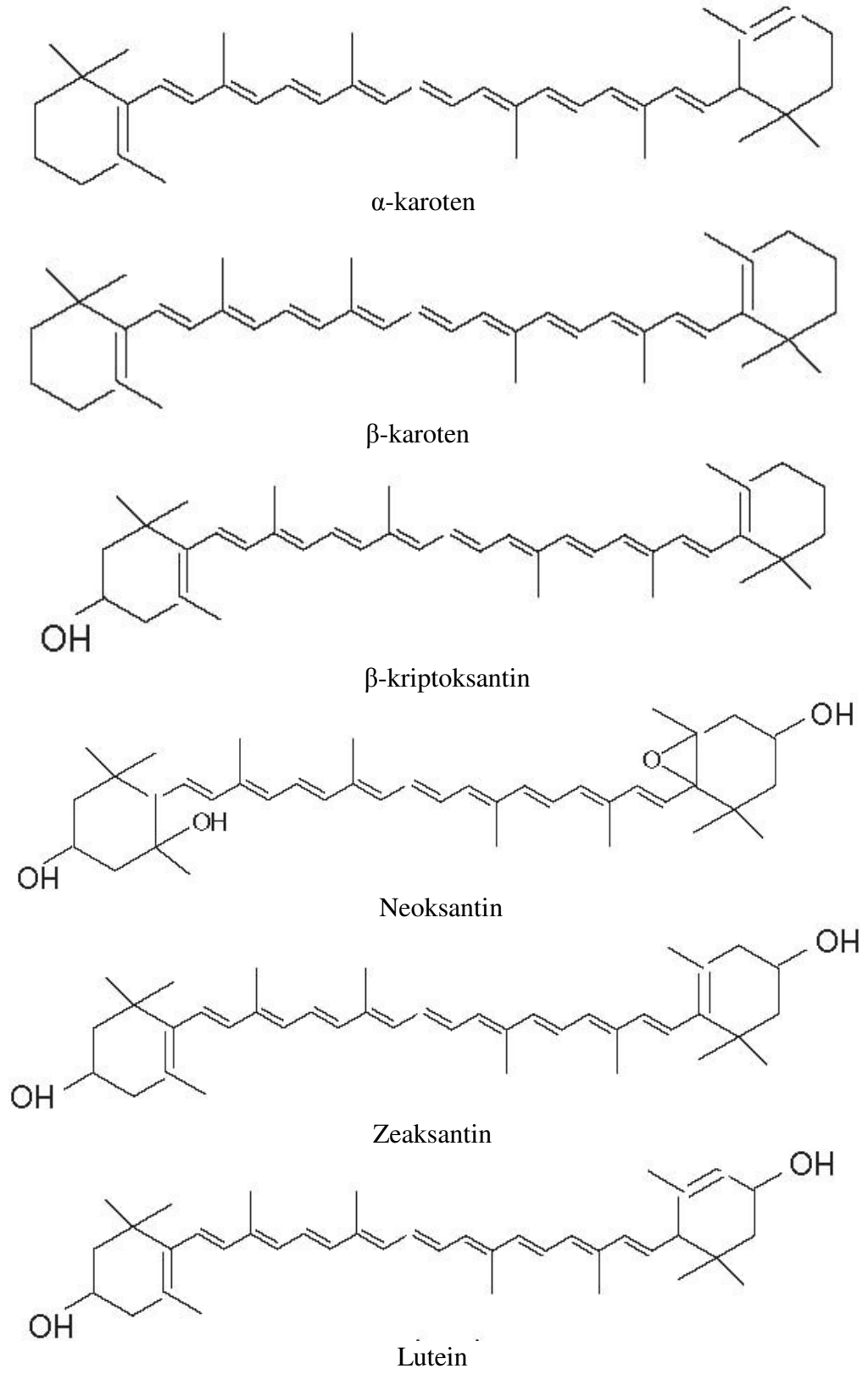
*: GMP; Doğru/iyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacture Practises)

Yeşil bitki ekstraktlarının yanı sıra klorofil türev pigmentlerinin çok farklı formları diyet veya medikal amaçlı kullanımlar için üretilmektedir. Özellikle son 50 yıl içerisinde yapılan araştırmalar, klorofillerin yaraların iyileşmesini hızlandırdığı, immün modülatör özellikler taşıdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca geriatri ve ilyostomi (bağırsağın parçalarının alınmasını ve dışkıların geçmesini sağlamak amacıyla karın bölgesinde açılan bir gözeneği içeren operasyonlar) hastalarının kötü kokularının giderilmesinde de klorofillerin kullanılabileceği belirtilmektedir [2].

1.1.3.2. Karotenoidler

Karotenoidler, bazı bitkisel ve hayvansal kökenli materyallere sarıdan kırmızıya kadar değişen tonlarda renk veren ve yağda çözünebilen renk maddeleridir. Örneğin, havuç, domates, kırmızı biber gibi sebzeler ile kayısı, şeftali ve portakal gibi meyvelerin ve yumurta sarısının doğal renkleri karotenoidlerden kaynaklanmaktadır. Bazı yeşil bitkilerde de karotenoidler bulunmakla birlikte, klorofil tarafından maskelendiğinden bu gıdaların sarı-kırmızı rengi fark edilememektedir. Karotenoidler 8 izoprenoid ünitesinin yan yana dizilmesiyle 40 karbonlu bir iskeletten oluşmaktadır [17]. Kimyasal yapılarına göre karotenler (α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin) ve ksantofiller (lutein, zeaksantin, violaksantin, neoksantin, fukoksantin) olarak iki grupta toplanmaktadır [1]. Şekil 1.5.'te bazı önemli karotenoidlerin kimyasal yapıları verilmiştir [2].

Karotenoidler, yüzyıllardır gıdaların renklendirilmesinde kullanılan doğal renk maddeleri arasında yer almaktadır. Ticari önemi olan karotenoid kaynakları Tablo 1.9.'da verilmiştir. Gıdaların renklendirilmesinde en çok kullanılan karotenoidler; safran, kırmızı biber, bazı yapraklar ve kırmızı palm yağıdır. Karotenoidler gerek insanların ve gerekse de hayvanların beslenmesinde antioksidan özellikler taşımaları nedeni ile son derece önemli gıda bileşenleri arasında yer almaktadır. Ancak, yağda çözünür olmaları, gıda endüstrisinde kullanımlarında yağlarda (margarinler ve tereyağları) veya sulu gıdalarda (içecek ve konserve çorbalar) proteinlerle kompleks oluşturmuş formda ya da kolloidal preparatlar halinde kullanımlarını zorunlu kılmaktadır [1].



Şekil 1.5. Bazı önemli karotenoidlerin kimyasal yapıları [2].

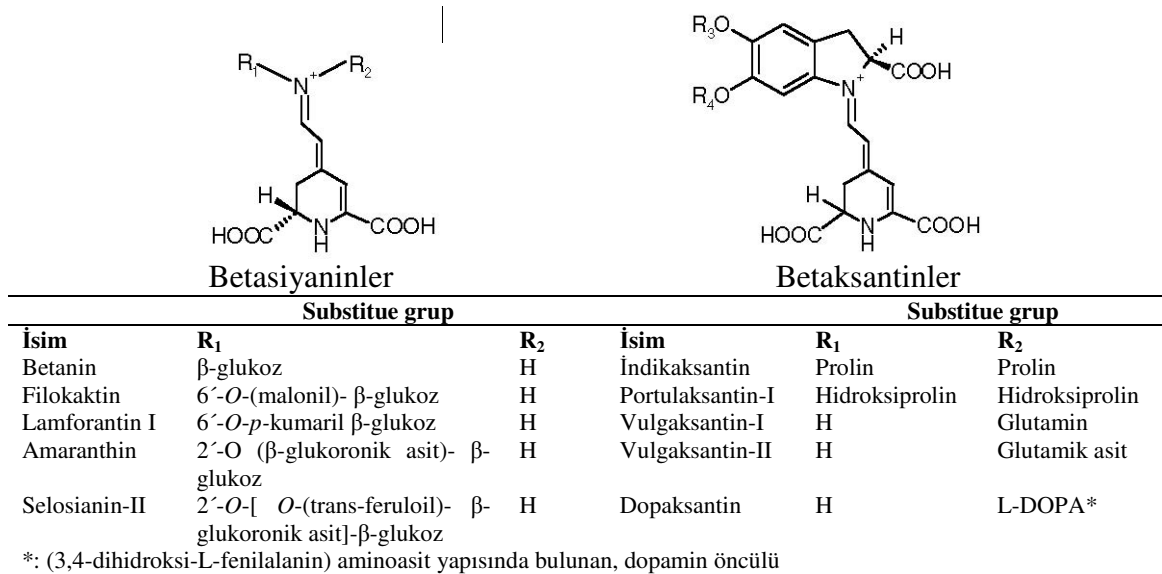
Tablo 1.9. Ticari öneme sahip bazı karotenoid kaynakları [1].

Kaynak	Başat karotenoidler	Kullanım alanı
Annotto (<i>Bixa orellana</i>)	Biksin ve norbiksin	Gıda, kozmetik ve tekstil ürünlerinin renklendirilmesi
Karotenler (Sebzeler; sebze yağları, havuç, alfalfa)	β -karoten	Hayvan yemi katkısı
<i>Dunaliella</i> sp.	β -karoten	Gıda ve hayvan yemi katkısı, diyet supplementi
<i>Haematococcus</i> sp.	Astaksantin	Hayvan yemi katkısı ve fonksiyonel gıda etmeni
Marigold (<i>Tagetes erecta</i>)	Lutein ve zeaksantin	Piliç ve balık yemi katkısı, oleoresin olarak saflaştırıldığında Avrupa'da gıda katkısı (makarna, sebze yağları, margarin, fırınlanan gıdalar)
Paprika (<i>Capsicum annum</i> , kırmızı biber)	Kapsaksantin ve kapsorubin	Gıdalara (pizza, et, çorba, soslar, salata sosları) renk ve tat vermek amacıyla baharat olarak kullanılmaktadır
Safran (<i>Crocus sativus</i>)	Krosetin ve krosin	Farmositik etkisi ve pahalı olması nedeni ile özel yemeklerde
Domates (<i>Lycopersicum esculentum</i>)	Likopen ve β -karoten	Domates direkt tüketilebilirken, likopen farmositik etkisi nedeniyle ve gıdayı renklendirme amacıyla kullanılmaktadır
Sentetik karotenoidler	β -karoten, β -apo-8'-karotenal, kantaksantin	Gıda ve hayvan yemi katkısı, diyet takviyesi

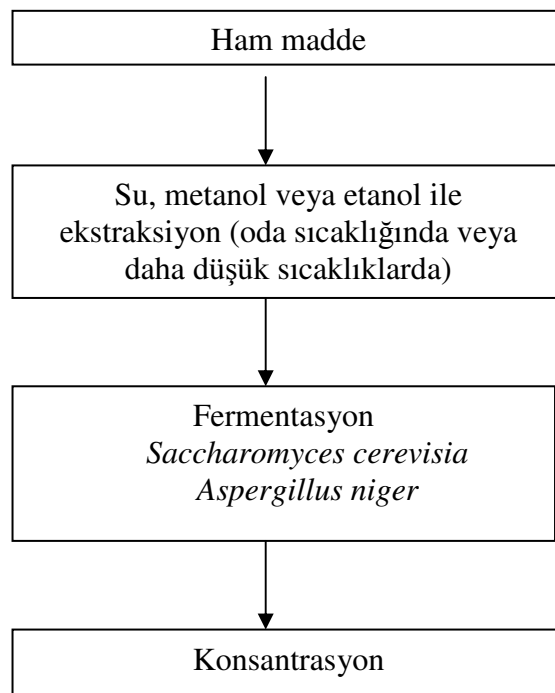
1.1.3.3. Betalainler

Betalamik asidin amonyum türevleri olan betalainlerin kimyasal yapıları Şekil 1.6.'da verilmiştir. Betalainler, betasiyaninler (kırmızı-mor renkli) ve betaksantinler (sarı renkli) olmak üzere başlıca iki grupta toplanmaktadır. Bunlar gıda sektöründe 20. yüzyıldan itibaren renklendirici olarak kullanıla gelmekle birlikte, çok daha eskiden betanin içeren şekeriboyası (pokeberry) sularınının, kırmızı şarabın rengini çekici hale

getirmek için kullanıldığı aktarılmaktadır. Özellikle kırmızı pancarın suyla ekstrakte edilmesi ile elde edilen ekstrakt %60-65 kuru madde içeriğine kadar konsantre edilip kullanılabilirdiği gibi maltodekstrinle püskürtmeli kurutucularda toz hale getirilerek de kullanılabilir. Betalainler düşük miktarlarda kullanılmaları halinde bile istenen renk tonunu veren güçlü ve doğal pigmentler olup üretim akış şeması Şekil 1.7.'de verilmiştir [1].



Şekil 1.6. Betasiyanin ve betaksantinlerin kimyasal yapıları [1].



Şekil 1.7. Betalainin üretim akış şeması [1].

Bitki hücrelerinin vakuollerinde bulunan betalainler, suda çözünen pigmentlerdir. Renkleri antosiyaninlere benzemekle birlikte, antosiyaninlerin aksine renkleri pH'ya bağlı olarak değişiklik göstermezler. Ancak ortamın pH değeri stabiliteleri üzerine etki etmektedir [17]. Antosiyanin ve betalain pigmentleri arasındaki bazı farklılıklar Tablo 1.10.'da verilmiştir [1].

Tablo 1.10. Antosiyanin ve betalain pigmentleri arasındaki bazı farklılıklar [1].

Test	Antosiyanin	Betalain
KOH ve NaOH ilavesi	Renk mavi yeşile döner	Renk sarıya döner
Elektroforez	Katoda doğru yönelir	Anoda doğru yönelir
Sıcak sulu HCl ilavesi	Renk stabil	Renk bozulur
Amil alkol ile ekstraksiyon	Evet, düşük pH'larda	Hayır
İnce tabaka kromatografisi:	İlımlı hareketlilik	Hareketsiz
<i>n</i> -bütanol-asetik asit-su		
Sulu çözgenler		
Kolon kromatografisi	Düşük/orta hareketlilik,	Yüksek hareketlilik,
kationik reçineler	su elüsyonlarında	metanol/HCl elüsyonlarında

Süt ürünlerinden taze etlere kadar çok farklı gıda maddelerinin renklendirilmesinde kullanılan betalainlerin gıda sanayinde bazı kullanım alanları ve kullanım miktarları Tablo 1.11.'de verilmiştir [1].

Tablo 1.11. Kırmızı pancar ürünlerinin gıda sanayinde bazı kullanım alanları [1].

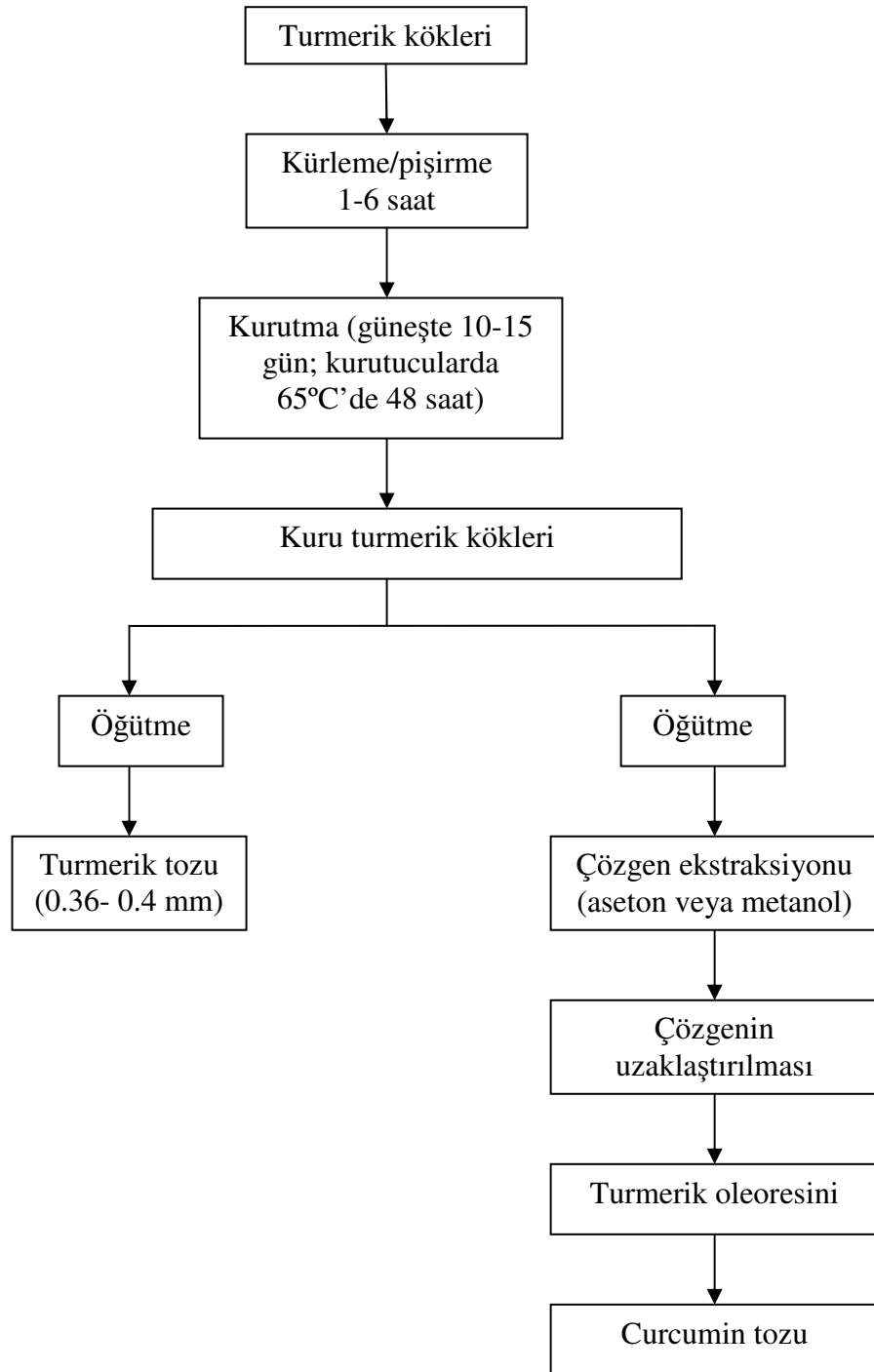
Gıda	Maksimum seviye
Süt ürünleri	GMP*
Katı ve sıvı yağlar	GMP
Taze meyve ve sebzelerin yüzeylerinde	GMP
Önpişirilmiş veya kurutulmuş makarnalar, eriştelere ve benzerleri	GMP
Taze et, piliç ve av etleri, tüm veya parça halinde	GMP
Taze et, piliç ve av etleri, kıyma halinde	1000 mg/kg
Deniz ürünleri	GMP
Taze yumurtalar	GMP
Bebek mamaları	GMP
Meyve suları ve nektarları	GMP
Şaraplar	GMP

*: GMP; Doğru/iyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacture Practises)

1.1.3.4. Turmerik

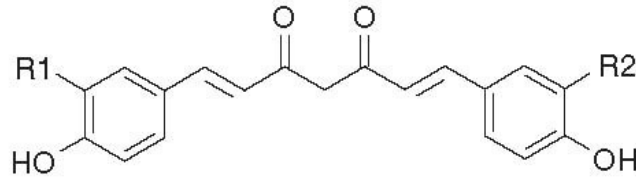
Zingiberaceae ailesine mensup olan *Curcuma longa* L. Hindistan ve güneydoğu Asya ülkelerinde yüzyıllardır kullanılan bir baharattır [2]. Özellikle Avrupa ülkelerinde safranın ucuz bir ikamesi olarak kullanılan turmerik, Hint safranı olarak da

bilinmektedir [65]. Önemli bir baharat ve renklendirici ajan olan turmeriğin kullanımının, Asur tabletlerinde M.Ö. 600'lere kadar dayandığı bildirilmektedir. Gıdalara sarı renk veren turmerik, antimikrobiyel özelliği nedeniyle de önem taşımaktadır. Turmerik ve turmerik oleoresinlerinin üretim akış şeması Şekil 1.8.'de verilmiştir [1].



Şekil 1.8. Turmerik ürünlerinin üretim akış şeması [1].

Curcum longa L.'nin köklerinde curcuminoid adı verilen sarı renkli pigmentler bulunmaktadır. Curcuminoidlerin bileşiminde başta curcumin olmak üzere demetoksicurcumin ve bis- demetoksicurcumin bulunmakta olup, kimyasal yapıları Şekil 1.9.'da verilmiştir. Bu pigmentler suda çözünmezken, etanol gibi organik çözügenlerde kolayca çözünebilmektedir [2].



R1 = OCH₃, R2 = OCH₃ - curcumin
 R1 = R2 = H - bisdemetoksicurcumin
 R1 = OCH₃, R2 = H - demetoksicurcumin

Şekil 1.9. Curcumin ve analoglarının kimyasal yapıları [2].

Turmerik ürünleri ve gıda katkısı olarak kullanım alanları Tablo 2.12.'de görülmektedir. Amerika'da turmerik kullanımı FDA tarafından onaylanmış olmakla birlikte, curcuminoid bileşenlerin kullanımına izin verilmemektedir [1]. Oysa curciminoidlerin Brezilya ve AB'de yasal olarak kullanımına izin verilmektedir. Brezilya'da makarnaya %0.05, içeceklere %0.01 ve salata sosları ve reçellere %0.05 oranında ilave edilerek kullanıldığı bildirilmektedir. Turmerik baharatının dünyada yılda yaklaşık olarak 15 000-20 000 ton civarında tüketimi olduğu belirtilmektedir [2].

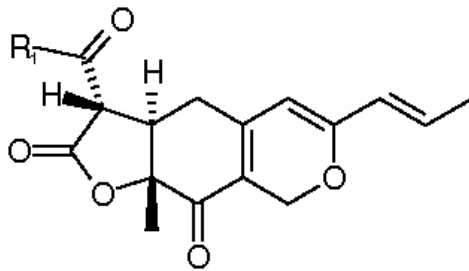
Tablo 1.12. Turmerik ürünleri ve gıda katkısı olarak kullanımları [1].

Turmeriğin formu	Kullanım alanı
Toz	Hardal macunları ve köri tozlarında
Oleoresin	Salatalık turşuları, mayonez, çeşni formülasyonlarında, limonata gibi alkol içermeyen içeceklere, jelatinlerde, balık ve patates kroketlerinin panellerinde
Curcumin	İçecekler, jelatinler, peynir, tereyağı, dondurma gibi turmeriğin uygun olmadığı gıdalarda

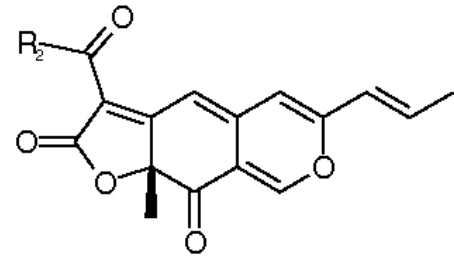
1.1.3.5. *Monascus*

Monascus karbonhidratça zengin ortamlarda yetişen, taze, kurutulmuş veya diğer gıdaların içine ilave edilerek tüketilen bir mantar türüdür. *Monascus* pigmentlerinin kimyasal formülleri Şekil 1.10.'da verilmiştir. Poliketid yapısındaki pigmentler sarı

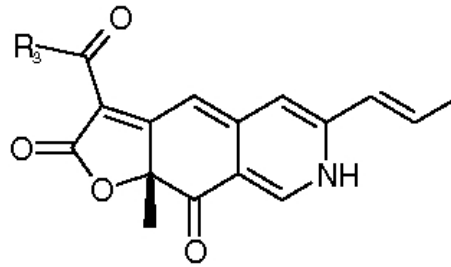
(monaskin ve ankaflavin), turuncu (monaskorubin ve rubropunktamin) ve kırmızı (monascorubramin ve rubropunktamin) renklerde olabilmektedir. Kırmızı pigmentin asıl kaynağı *M. purpureus*'tur [1].



Monascin, $R_1 = n-C_5H_{11}$
Ankaflavin, $R_1 = n-C_7H_{15}$



Rubropunctatin, $R_2 = n-C_5H_{11}$
Monascorubin, $R_2 = n-C_7H_{15}$

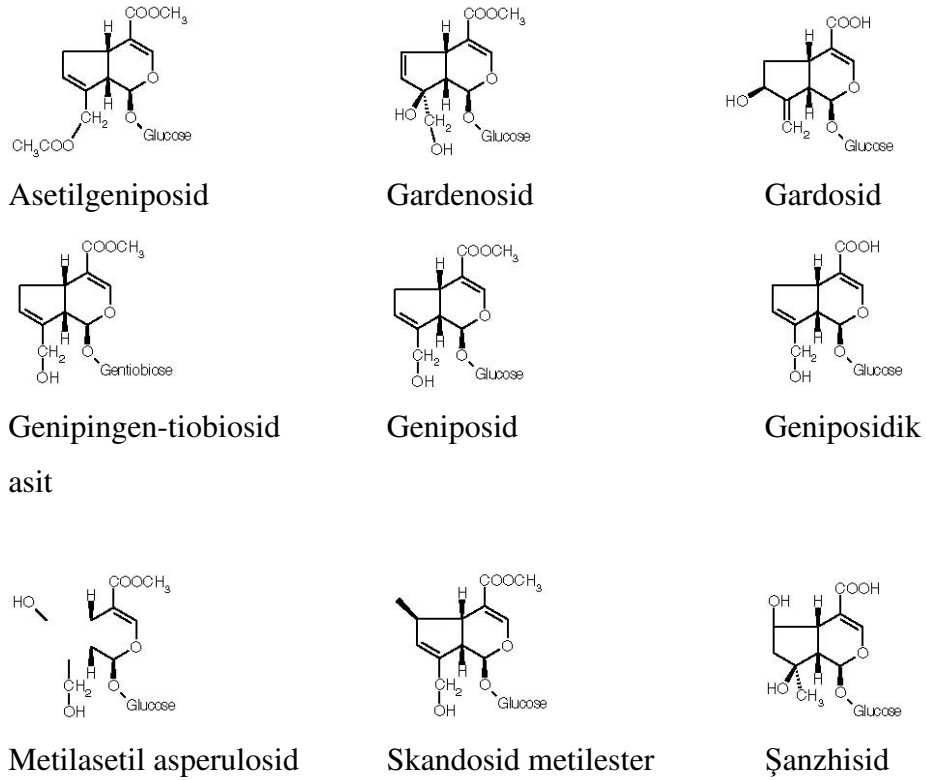


Rubropunctamine, $R_3 = n-C_5H_{11}$
Monascorubramine, $R_3 = n-C_7H_{15}$

Şekil 1.10. *Monascus* pigmentlerinin kimyasal yapıları [1].

1.1.3.6. İridoidler

Safran (*Crocus sativus* L.) ve yasemin meyvesi (*Gardenia jasminoids* Ellis) en çok bilinen iridoid içeren bitkilerdir. Şekil 1.11.'de bazı iridoid pigmentlerinin kimyasal yapıları yer almaktadır. İridoidler, gıdalara kırmızı, sarı, mavi ve yeşil renkleri verebildiğinden son derece önemli bir gıda renklendirici grubunu oluşturmaktadır. İridoidler şekerlemeler, tatlılar, dondurma, erişteler, havyar, likör, fırınlanmış gıdalar gibi farklı gıdaların renklendirilmesinde kullanılmaktadır [1].

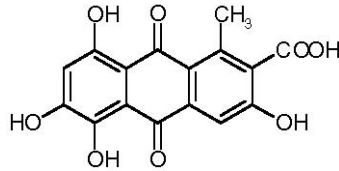


Şekil 1.11. Bazı iridoid pigmentlerinin kimyasal yapıları [1].

1.1.3.7. Kermes

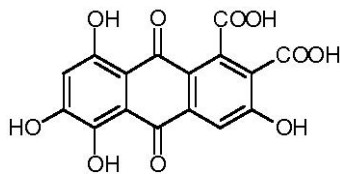
Kermes, *Kermes ilicis* veya *Kermococcus vermilis* böceklerinden veya bazı tür meşelerden (*Quercus coccifera*) elde edilmektedir. Kırmızı renkli lak pigmentleri, *Schleichera oleosa*, *Zyziphus mauritania* ve *Butea monspersma* ağaçlarında yaşayan *Laccifera lacca* (lak böceği) tarafından üretilmektedir. Laklar, antrakinon pigmentlerinin bir karışımından oluşmakta ve yapıları karminik aside çok benzemektedir. Kermesik asit ile lak pigmentlerinin açık formülleri Şekil 1.12.'de görülebilmektedir. Kermesik asit ve lakların kimyasal yapıları mikotoksin ve fenolik antrakinonlara benzemektedir. Kermes böceklerinden elde edilen kermesik asidin mutajenik, karsinojenik ve toksik etki gösterdiği belirtilmektedir. Bunların gıdalarda kullanımına ne kodeks ne de FDA tarafından izin verilmemektedir [1].

Kermes pigmenti

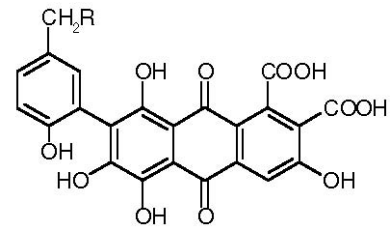


Kermesik asit

Lak pigmentleri



Lakkaik asit



Lakkaik asit A, R=CH₂NHCOCH₃

Lakkaik asit B, R=CH₂OH

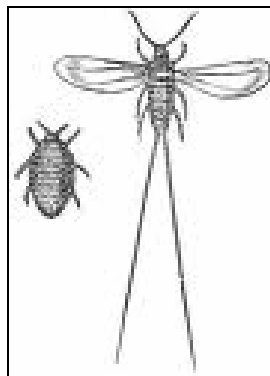
Lakkaik asit C, R=CHNH₂COOH

Lakkaik asit E, R=CH₂NH₂

Şekil 1.12. Kermesik asit ve lak pigmentlerinin açık formülleri [1].

1.1.3.8. Karmin

Karmin koşinal (*Dactylopius coccus*) böceklerinden elde edilen bir renk maddesidir. Dişi ve erkek koşinal böcekleri Şekil 1.13.'te görülmektedir [66].



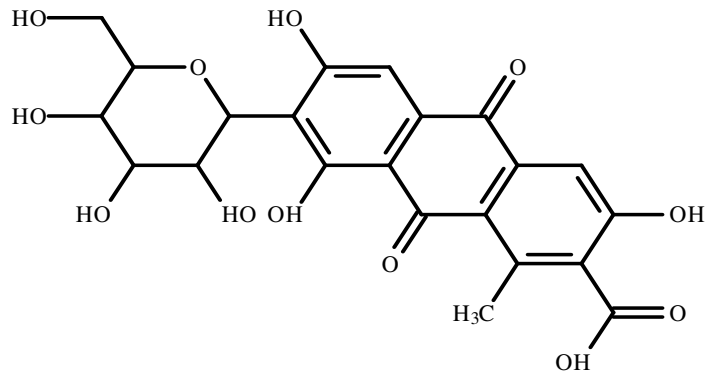
Şekil 1.13. Dişi (soldaki) ve erkek koşinal böcekleri [66].

Karmin, özellikle sosis, sucuk, pastırma, salam ve işlenmiş kümes hayvanı gibi et ürünleri ile çeşitli meyve preparatlarında, reçel ve marmelatlarında, jelatinli tatlılarda,

pasta ve fırın ürünlerinde, dondurmalarda, şekerlemelerde ve çeşitli süt ürünlerinde renklendirici olarak kullanılabilir [66].

Koşinal böcekleri Güney Amerika ve Meksika’da *Opuntia* cinsi kaktüslerin üzerinde parazit olarak yaşamaktadır. Diğer böceklerden korunmak amacı ile sentezledikleri karminik asit nedeniyle bu böcekler kırmızı renkli boya üretiminde kullanılmaktadırlar. Boya eldesi için yaklaşık doksan günlük dişi böcekler sıcak su içerisine batırılıp, güneş ışığına maruz bırakılmakta veya fırın içerisinde kurutulmuş boya elde edilmektedir. Kalite açısından kurutulmuş böcekler ve elde edilen ekstraktların çok düşük mikrobiyal yüke sahip olması gerekmektedir. Böceklerin bozulmadan saklanabilmesi için vücut ağırlıklarının %30’una kadar kurutulmaları gerekmektedir. Ortalama 1 kg karmin elde edebilmek için yaklaşık 155.000 adet böcek kullanıldığı aktarılmaktadır [7; 66].

Kimyasal yapısı ($C_{22}H_{20}O_{13}$) Şekil 1.14.’te verilen karmin [67], 7-D-glukopiranozil- 3, 5, 6, 8-tetrahidroksi 1- etil-9-10- dioksoantrasen-2-karboksilik asit yapısında olup, antrakinon sınıfından bir renklendiricidir [7; 66].

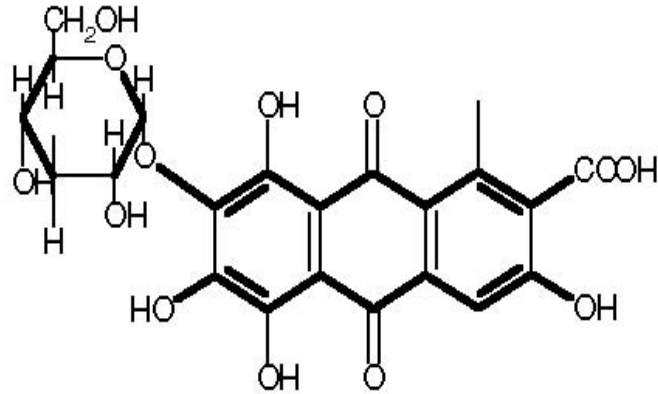


Şekil 1.14. Karminin kimyasal yapısı [68].

Koşinal boyasının iki önemli formu bulunmaktadır. Bunlar; koşinal özü ve karmindir. Bunlardan karmin, yaklaşık %20’si karminik asit olan koşinal özütünün yoğunlaştırılması ile elde edilen konsantre bir boyadır [67]. Şekil 1.15.’te karminik asitin kimyasal yapısı verilmiştir [1].

Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği’nde koşinal, karminik asit ve karminler, E120 Kodu ile izin verilen gıda renklendiricileri arasında yer

almaktadır. Tablo 1.13.'te ilgili tebliğde karmin kullanımına izin verilen gıda ürünleri ve maksimum kullanım miktarları verilmiştir [68].



Şekil 1.15. Karminik asidin kimyasal yapısı [1].

Tablo 1.13. Gıdalarda kullanılan Renklendiriciler Tebliği'ne göre karmin kullanımına izin verilen ürünler ve maksimum kullanım miktarları [68].

Gıda maddesi	Maksimum doz (mg/kg)
Meyve aromalı kahvaltılık hububat	200
Reçel jöle ve marmelat	100
Sosis, salam ve et ezmeleri	100
Pastırma (yenilebilir dış ambalajlarında)	QS*
Meyve ve sebze şekerlemeleri	200
Şekerlemeler	300
Süsleme ve kaplama maddeleri	500
Hafif fırıncılık ürünleri	200
Aromalandırılmış işlenmiş peynir	100
Aromalandırılmış süt ürünleri dahil tatlılar	150
Surumi	500
Füme balık	100
Kuru patates, hububat veya nişasta bazlı çerezler	
-Patlamış veya hacimlendirilmiş çerezler	200
-Diğer çerezler	100
Çorbalar	50
Alkolsüz aromalı içecekler	100 mg/L
Alkollü içecekler (bira, viski hariç)	200 mg/L
Meyve şarapları (durgun ve köpüren)	200 mg/L

* QS (Quantum Satis): Yeteri kadar

Daha önce de belirtildiği gibi tekstil, kozmetik ve gıda sanayinde kullanım alanı bulan karmin E120 kodu ile izin verilen gıda renklendiricileri arasında yer almaktadır. pH 4'te kırmızı renk veren karmin pH 10'da ilave edildiği gıdaya mavi-kırmızı renk kazandırmaktadır. Karmin, pH ve sıcaklık gibi proses parametrelerindeki değişimlere

karşı stabil olması ve ışık karşısında parçalanmadan kalabilen bir doğal renklendirici olması nedeni ile özellikle et endüstrisinde geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [7].

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sıçanlara 200, 500 ve 1000 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinde karmin verilmesi halinde, bu dozların sıçanlar üzerinde herhangi bir yan etki yapmadığı belirtilmektedir. Kısa süreli bir çalışmada ise 150 mg/kg vücut ağırlığı seviyesindeki karmin, 8 günlük gebe olan farelere enjekte edilmiş, bu farelerde karmin emiliminin yüksek olduğu saptanırken, 85 deneğin sadece 2'sinde sakatlık gözleendiği belirtilmiştir [1].

Yapılan araştırmalar doğrultusunda Gıda Katkıları Ortak Uzmanlar Komitesi (JECFA, Joint Expert Committee on Food Additives) koşinal ekstraktının ve karminin kabul edilebilir günlük alım dozunu (ADI değeri) 0-5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir [1]. Karmin özellikle koşinal böceklerinden geçen bazı proteinlerinden dolayı alerjen olarak tanımlanmaktadır [69]. Ayrıca karminin bazı duyarlı kişilerde nadir de olsa anafilaktik şok tepkisine sebep olabildiği aktarılmaktadır [66]. Karminin kanserojen olduğu konusunda da Hıfzıssıhha Enstitüsü raporları bulunduğu belirtilmektedir [8]. Ancak sağlık açısından taşıyabileceği muhtemel riskler daha fazla araştırmayı gerekli kılmaktadır [7].

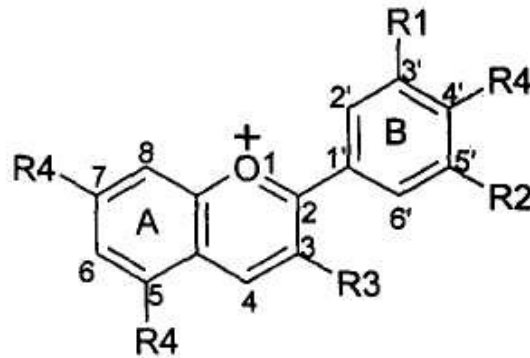
Koşinal (*Dactylopius coccus*) böceklerinden elde edilen karmin, gerek Müslümanların gerekse de Musevilerin dini inançları nedeni ile şüpheyle yaklaştıkları bir gıda katkı maddesidir. Bu maddenin, özellikle Musevilerden 'Kosher Sertifikası' alamadığı için ticari olarak önemli bir engelle karşı karşıya bulunduğu bildirilmektedir [70].

1.1.3.9. Antosiyaninler

Antosiyaninler Yunanca'da çiçek anlamına gelen "anthos" ile mavi anlamındaki "kyanos" kelimelerinden türetilmiştir [14; 71]. Flavonoidlerin alt gruplarından biri olan antosiyaninler, çiçek ve meyvelerin kırmızıdan maviye kadar değişen renklerini oluşturmaktadır [9]. Antosiyaninler, çarpıcı renkleriyle polen ve çekirdeklerin yayılmasına önemli katkılarda bulunmaktadırlar [14]. Ayrıca, bunların bitki dokularını ışığın inhibitif etkisinden ve fotosentez sonucu ortaya çıkan oksidasyondan da koruduğu bildirilmektedir [72]. Antosiyaninler bitki dokusunda antibakteriyel ajan olarak da etkili

olmaktadır. Örneğin, siyanidin-3-glukozitin pamuk yapraklarında tütün tomurcuk kurtlarına karşı koruyucu etkisinin olduğu belirlenmiştir [14].

Antosiyaninler dokularda serbest vakuollerde bulunabilecekleri gibi antosiyanoplast adı verilen yapılar içerisinde de yer alabilmektedirler [73]. Antosiyanidinlerin glikozitleri olan antosiyaninlerin temel yapısını 2-fenilbenzopirillium (flavilyum katyonu) oluşturmaktadır [17]. Flavilyum katyonu açık formülü Şekil 1.16.'da verilmiştir [14].



Şekil 1.16. Flavilyum Katyonu (R1 ve R2: H, OH veya CH₃, R3: glikozil veya H; R4: OH veya glikozil) [14].

Doğada bugüne kadar tespit edilen 500 adetten fazla antosiyanin ve 23 antosiyanidin bulunduğu bildirilmektedir [12]. Antosiyaninlerin farklılıkları, moleküldeki hidroksil gruplarının sayısı, hidroksil gruplarının metilasyon derecesi, moleküle bağlanmış şekerlerin türü, sayısı ve bağlanma şeklinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca yapıdaki şekerlere bağlanmış alifatik ve aromatik asitlerin yapı ve sayısı gibi faktörler de antosiyaninler arasındaki farklılığa neden olmaktadır. Bilinen antosiyanidinler ve bazı yapısal özellikleri Tablo 1.14.'te verilmiştir [12]. Bu antosiyanidinlerden bitkilerde en fazla bulunanları pelargonidin, peonidin, siyanidin, malvidin, petunidin ve delfinidindir. Bu antosiyanidinler arasında siyanidin, delfinidin ve pelargonidin bitkilerde en yaygın olarak bulunanlar olup, pigmentli yaprakların %80'i, meyvelerin %69'u ve çiçeklerin %50'sinde yer almaktadır. Doğada en yaygın olarak bulunan antosiyanin ise siyanidin 3-glikozittir [14]. Doğada en yaygın bulunan antosiyaninlerin meyve ve sebzelerdeki dağılımları ise %50 siyanidin, %12 delfinidin, %12 pelargonidin, %12 peonidin, %7 petunidin ve %7 malvidin şeklindedir [12].

Antosiyaninlerin gıda endüstrisinde renklendirici ajan olarak kullanımlarında karşılaşılan en önemli sorun bunların gösterdiği düşük stabilizasyondur. Antosiyanin

pigmentlerinin renk stabilitesi pH, sıcaklık, antosiyaninin yapısı ve konsantrasyonu ile ortamdaki metal iyonları ve fenolik bileşiklere bağlı olarak değişmektedir [40]. Antosiyanidinlere bağlı olan şekerler birçok durumda *p*-kumarik, kafeik, ferulik, sinapik, gallik asit gibi aromatik asitler veya *p*-hidroksibenzoik asitler ya da malonik, okzalik, malik ya da asetik asit gibi alifatik asitler tarafından asillenmektedir. Asilasyon, antosiyaninlerin stabilitesi üzerine son derece etkilidir [18]. Bitkilerdeki renk stabilizasyonunun ana mekanizması, antosiyaninlerin diğer fenoliklerle kopigment olarak isimlendirilen kompleksler oluşturmalarıdır [40]. Kopigmentler genellikle renksizdirler, ancak antosiyaninlerle kompleks oluşturunca onların renklerini güçlendirip stabilize etmektedirler. Kopigmentlerin başında flavonoidler gelmektedir [17]. Flavonoidlerin yanı sıra organik asitler, alkaloidler, amino asitler, nükleotitler, polisakkaritler, metaller ve diğer antosiyaninler de kopigment olarak sınıflandırılabilir [12].

Tablo 1.14. Doğal olarak bulunan antosiyanidinler ve bazı yapısal özellikleri [12].

İsim	Bağlı grup ve pozisyonu							Renk
	3	5	6	7	3'	4'	5'	
Apigeninidin	H	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu
Arrabidin	H	H	OH	OH	H	OH	OMe	Bildirilmemiş
Aurantininidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Turuncu
Kapensininidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	Mavimsi kırmızı
Karajurin	H	H	OH	OH	H	OMe	OMe	Bildirilmemiş
Siyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu- kırmızı
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mavimsi kırmızı
Europininidin	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Mavimsi kırmızı
Hirsutidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	Mavimsi kırmızı
3'-Hidroksi arrabidin	H	H	OH	OH	OH	OH	OMe	Bildirilmemiş
6'-Hidroksidelfinidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Mavi- kırmızı
6-Hidroksisiyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	H	Kırmızı
6-Hidroksipelargonidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Bildirilmemiş
Luteolin	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu
Malvidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Mavimsi kırmızı
5-Metilsiyanidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	Turuncu- kırmızı
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu
Peonidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Turuncu- kırmızı
Petunidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Mavimsi kırmızı
Pulchellidin	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	Mavimsi kırmızı
Rusinidin A	OH	H	OH	OH	H	OH	H	Bildirilmemiş
Rosininidin	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	Kırmızı
Trisetininidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Kırmızı

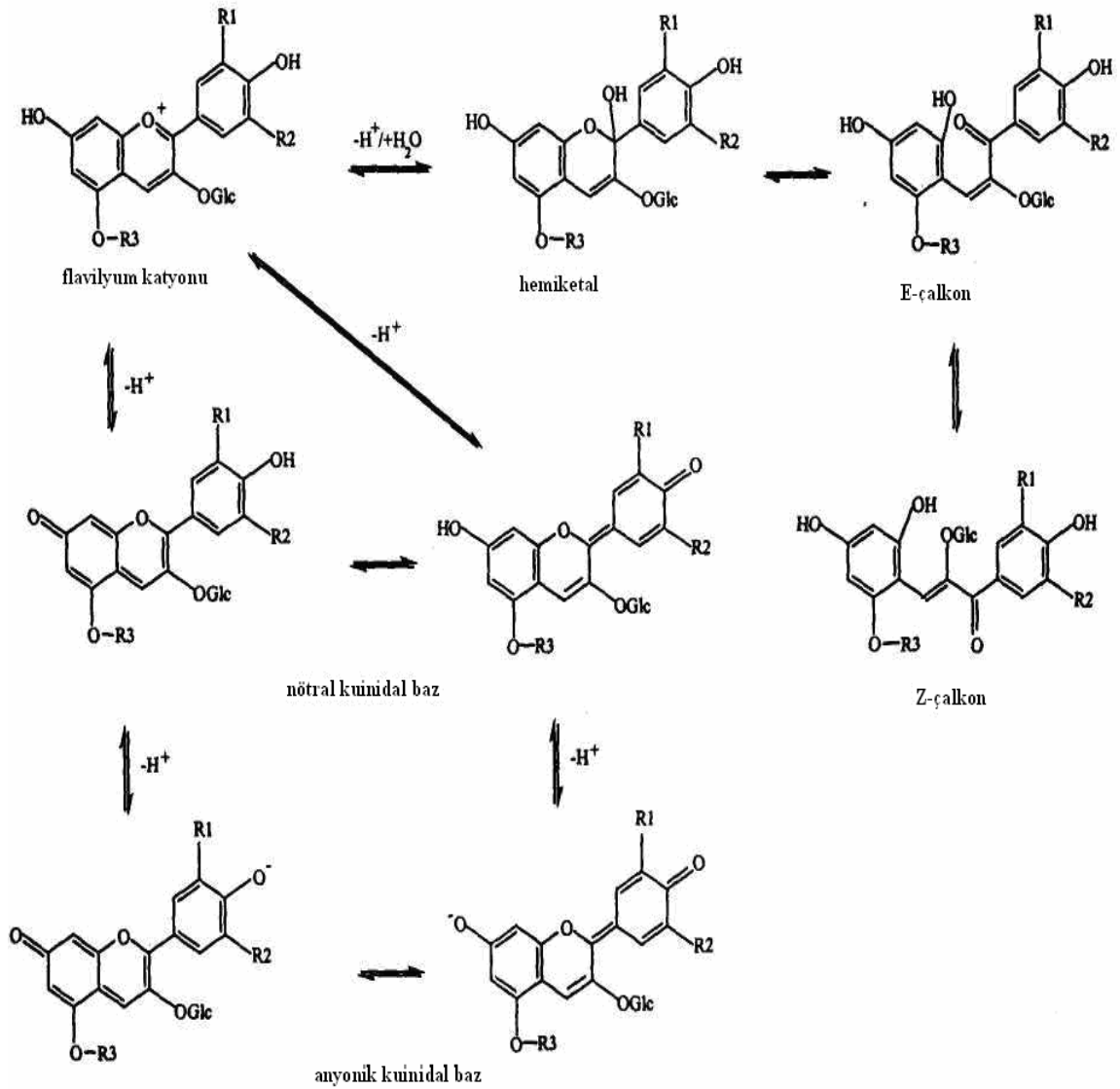
Antosiyaninler ortam pH'sına göre indikatör gibi renk değiştirmektedirler. Ortam pH'sı 2'nin altına düşünce antosiyanin flavilyum katyonu halinde ortama hakim olur ve renk

tonu kırmızıdır. pH 4-5 arasında, ortama renksiz karbinol psödobaz formu hakimdir. Ortam pH' sı 5'in üzerine çıkarsa kuinidal anhidrobaz formu oluşur ve ortamın rengi maviye dönüşür [12; 17]. Antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak gerçekleşen yapısal değişimleri Şekil 1.17.'de verilmiştir [74]. Ancak bu reaksiyonlar geri dönüşümlü olup, antosiyaninlerin renksiz formu, renkli katyonik ve kuinidal formlara dönüşebilmektedir [18]. Antosiyanin parçalanma mekanizmasını hidroliz, oksidasyon ve diğer fenolik bileşiklerle kondenzasyon oluşturmaktadır. Örneğin, sulu ortamlarda siyanidin-3-glikozitin parçalanması, öncelikle glikozidik bağların hidrolizasyonu ve sonrasında ısıtılmasıyla pirilyum halkasında açılma ile açıklanmaktadır. Sonra ise parçalanma ilerleyerek, protokatekuik asit ve floroglusaldehit oluşmaktadır. Antosiyanin parçalanmasında en önemli parametreler pH ve sıcaklıktır [75].

Antosiyaninler, bilinen en iyi doğal gıda boyaları olmalarına rağmen, saflaştırılmalarının zor olması ve kimyasal olarak stabil olmamaları nedeniyle bu amaçla yaygın olarak kullanılamamaktadırlar. Önemli antosiyanin kaynakları arasında siyah üzüm posası, kırmızı lahana, siyah havuç, konkord üzümü, tatlı patates, kırmızı turp ve patates, mor mısır, elderberry ve bluberry sayılabilir [18]. Ticari antosiyanin kaynakları hammadde ile sınırlı bulunmaktadır. Ekonomik açıdan yaklaşıldığında potansiyel antosiyanin kaynakları arasında üzüm kabuğu ekstraktları dikkat çekmektedir [10]. Üzüm sanayi artıkları İtalya'da 1879 yılından beri antosiyanin bazlı renklendirici olarak kullanılmakta ve "enosiyenin" ticari ismiyle üretilmektedir. FAO 2005 verilerine göre yaklaşık 65 milyon ton olarak üretimi gerçekleştirilen üzümün [39] işlenmesi sonucunda ortaya çıkan atıklar, son derece bol ve ucuz antosiyanin kaynağı olarak değerlendirilebilme potansiyeline sahiptir [40]. Kırmızı üzüm kabukları çeşit, mevsim ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişen miktarlarda antosiyanin içermektedirler [76]. Malvidin, peonidin, petunidin, delfinidin ve siyanidin başta 3-glikozit olmak üzere 3-asetilglikozit ve 3-*p*-kumaril glikozitlerini içermektedir [77]. Amerika'da FDA tarafından sadece üzüm ekstraktından elde edilen antosiyaninler gıda renklendiricisi olarak kabul edilmektedir. Ticari preparatları enosiyanin ve tortu (şarapların dibinde biriken tortu) olup, kodekste ticari üzüm ekstraktlarının şekerleme ürünlerinde, alkollü ve alkolsüz içeceklerde kullanımına izin verilmektedir [1].

Siyah üzüm ve yan ürünleri, yabanmersini, *Hibiscus calyces* ve Frenk üzümü gibi meyvelerin antosiyanin içeriği yüksek olmasına rağmen, genel olarak hidrasyon ve pH

değişikliklerine karşı düşük stabilite gösterdikleri belirtilmektedir. Arzu edilen renk ve stabilite özelliklerine sahip asillenmiş, tüketilebilir antosiyanin kaynaklarının başlıcaları ise kırmızı turp, kırmızı patates, kırmızı lahana ve siyah havuçtur [15].



Şekil 1.17. Antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak yapısal değişimleri [74]

Antosiyaninler E163 N (N; doğal orjini ifade etmektedir) kodu ile jöle, reçel ve meyve suları gibi ürünlerin renklendirilmesi amacı ile kullanılmaktadır. Antosiyaninlerin gıdalarda en fazla 200 ppm düzeyinde kullanılmasına izin verilmektedir [2].

1.1.3.9.1. Antosiyanin-sağlık ilişkisi

Meyveler, özellikle üzümü meyveler, sebzeler, kökler, yumru kökler, soğanlar (çiçek soğanları), baklagiller ve tahıllar, bazı yaprak ve çiçekler antosiyanin kaynakları olarak

dünyanın farklı bölgelerinde tüketilmektedir. Amerika'da 1971 yılında gıdalarla alınan antosiyanin miktarının yazın 215 mg/gün, kışın ise 180 mg/gün olduğu tahmin edilmektedir. 569 İtalyan üzerinde yapılan bir çalışmada da antosiyanin tüketiminin 25-215 mg/gün arasında olduğu belirlenmiştir. Bu veriler antosiyanin tüketim miktarı hakkında genel bir fikir vermekle birlikte, ülkeden ülkeye gözlenen değişiklikler, kişisel tercihlere, diyetlere, cinsiyet ve yaşa bağlı olarak değişmektedir [2].

Antosiyaninlerin gıdalarda renk maddesi olarak kullanımını son yıllarda hızla artmaktadır. Antosiyaninlerin renklendirici ajan olarak kullanımlarına olan bu ilgi, rengi çekici hale getirmeleri ve suda yüksek çözünürlüklerinin yanı sıra sağlık üzerine pozitif etkilerinden de kaynaklanmaktadır [9-12]. Antosiyanin pigmentleri içeren materyallerin halk arasında kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. Örneğin *Hibiscus* sp. antosiyaninleri karaciğer rahatsızlıkları ve hipertansiyon, bilberry (*Vaccinium*) antosiyaninleri ise görme bozuklukları, infeksiyonlar, diare ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte antosiyaninlerin sağlık üzerine olan etkilerinin *in vivo*, *in vitro* veya klinik denemelerle belirlenmesi son yıllarda yapılan çalışmalarla gerçekleştirilmiştir [78].

En yaygın antosiyanidin siyanidin iken, siyanidin 3-glukozid en yüksek antioksidan aktivite gösteren antosiyanindir [72]. Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan antosiyanidinler ile bunlara bağlanan şeker gruplarının yeri ve sayısı antioksidan aktiviteyi etkilemektedir. Yapıdaki hidroksil (-OH) sayısının artışı, B halkasındaki *o*-dihidroksi yapı, 3'. ve 4'. karbona -OH'lerin bağlanması antioksidan aktiviteyi artırmaktadır. *In vitro* koşullarda antioksidan aktivitelerine göre antosiyanidinler büyükten küçüğe doğru siyanidin > delfinidin > malvidin= peonidin= petunidin olarak sıralanmaktadır. Yapıya katılan şeker sayısı değiştikçe antioksidan aktivite de değişirken, 3 ve daha fazla şeker ilavesinin antioksidan aktiviteyi azalttığı bildirilmektedir (Tablo 1.15.). Genel olarak, 3. karbona glukoz bağlanmasıyla oluşan antosiyaninlerin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu aktarılmaktadır [79].

Antosiyaninde gerçekleşen glikolizasyon ve hidroksilasyon tepkimeleri antioksidan kapasite üzerine son derece etkili olmaktadır. Antosiyanin glikozitlerinin memelilerin sindirim sisteminde bozulmadan kaldığı ve direkt kan dolaşımına katıldığı belirtilmektedir [72]. Şeker eşlenikleri (konjuge) ve aglikonlarının hem insanlarda hem

de ratlarda gerek absorpsiyonu gerekse de boşaltımı belirleyen önemli parametreler olduğu aktarılmaktadır [78]. Genel olarak insan ve hayvanlarda antosiyaninler glikozitler (bozulmamış olarak) halinde absorbe edilmektedirler. Absorpsiyonları ve eliminasyonları (vücuttan atılmaları) hızlı olmakla birlikte, absorpsiyon verimleri nispeten düşüktür [80]. Gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada 2.69 ± 0.085 g/gün dozunda siyah ahududu antosiyanini tüketiminden sonra antosiyaninin %1'den daha az bir kısmının absorbe edildiği belirlenmiştir [81]. Rodentlerle (kemirgenlerle) yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir [82]. Yapılan çalışmalar fenolik bileşiklerce zengin gıdaların tüketiminden sonra kanda flavonoidlerin aktif seviyeye ulaştığını, ancak plazmada birikmediğini ortaya koymaktadır. Bazı flavonoidler, tüketiminden 4 saat sonra idrarla vücuttan atılmaktadır [72].

Tablo 1.15. Bazı değişik şekerlerle glikolize olmuş antosiyaninlerin antioksidan aktiviteleri [79].

Aglikon	Serbest OH'ın bağlandığı yer	Glikolizasyon	Antioksidan aktivite (TE* μmol/mg)
Siyanidin	3,5,7,3',4'	3-galaktozit	11.5
		3-arabinozit	12.3
		3-glikozit	14.8
		3-ksilozit	11.9
Delfinidin	3,5,7,3',4',5'	3-galaktozit	11.1
		3-arabinozit	10.7
		3-glikozit	12.6
Petunidin	3,5,7,4',5'	3-galaktozit	9.2
		3-arabinozit	9.0
		3-glikozit	11.1
Malvidin	3,5,7,4'	3-galaktozit	9.8
		3-arabinozit	10.0
		3-glikozit	10.2
Peonidin	3,5,7,4'	3-galaktozit	8.9
		3-arabinozit	9.5
		3-glikozit	10.9

* TE: Troloks eşdeğeri

Antosiyaninlerin damar koruyucu, iltihap giderici, trombosit kümeleşmesini önleyici, normal damar geçirgenliğini koruyucu, diyabet kontrolü, tümör gelişimini önleyici [13], antiülser [14] ve UV radyasyona karşı koruyucu etkileri gibi çok farklı olumlu etkilerinin olduğu belirtilmektedir [15]. Antosiyaninlerin DNA kırılmalarını engellediği,

östrojenik aktivite gösterdikleri (hormonlara bağılı olarak ortaya çıkan hastalıkların seyrini değiştirdikleri), siklooksigenaz gibi bazı enzimleri inhibe ettikleri, sitokin üretimini hızlandırarak bağışıklık sistemini destekledikleri aktarılmaktadır. Antosiyaninler idrak ve motor fonksiyonlarını modüle ederek, hafızayı geliştirmekte ve yaşa bağlı olarak ortaya çıkan nöral hastalıkların engellenmesinde önemli roller üstlenmektedirler [78]. Yapılan bir çalışmada, antosiyaninlerin kronik iltihaplı hastalıklarla ilişkilendirilen nitrik oksidi inhibe etmede son derece etkili olduğu saptanmıştır [82]. Bireysel olarak saflaştırılmamış antosiyanin ekstraktlarının sinerjik etkiyle daha yüksek antiradikal aktivite sergiledikleri belirtilmektedir [83].

Antosiyaninler üzerinde yapılan çalışmalar, antosiyaninlerin genotoksik etkisinin olmadığını ortaya koymaktadır. Yürütölen çalışmalarda siyanidin ve delfinidinın Ames testinde mutajenik aktivite göstermediği bildirilmektedir [1]. Bununla birlikte, antosiyaninler ortam şartlarına bağlı olarak bazen antioksidan bazen de prooksidan olarak rol almaktadırlar [75]. Antosiyanidin ve antosiyaninlerin E ve C vitaminlerinden daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [12]. Örneğin siyanidinın α -tokoferolden dört kat, kateşinden ise iki kat daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmektedir [2]. Bu bileşenler yapılarındaki hidrojen atomunu vererek serbest radikalleri etkisiz hale getirmekte ve böylece, antikanserojenik etki sergileyebilmektedirler [12]. Mor mısır, chokeberry, yaban mersini, siyah havuç, üzüm, kırmızı turp ve mürver gibi antosiyanin içeren materyallerden elde edilen ekstraktların kanserli bağırsak hücrelerindeki etkilerinin gözlendiği bir çalışmanın sonuçları, antosiyanin içeriği zengin diyetlerle beslenmenin daha doğru olduğunu ortaya koymaktadır [84]. şaraplar üzerinde yapılan benzer bir çalışmada da kırmızı üzüm antosiyaninlerinin insanlarda HCT-15 kolon kanseri hücrelerini veya AGS mide kanseri hücrelerini baskıladığı belirlenmiştir [85]. Antosiyaninler vücudu oksidatif stresten koruyarak, kalp ve damar hastalıklarına karşı da koruyucu etki göstermektedirler [78]. İtalyan kırmızı şaraplarında yapılan bir araştırmada, şarapların reaktif oksijenlerin tutulmasında ve lipoprotein oksidasyonunun inhibe edilmesinde etkin roller oynayarak, kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterdikleri saptanmıştır. şarapların bu koruyucu etkileri özellikle antosiyanin içerikleriyle ilişkilendirilmektedir [86]. JECFA üzüm kabuğu ekstraktının ADI değerini 0-2.5 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir [1].

1.1.3.9.2. Antosiyaninlerin antimikrobiyel özellikleri

Antosiyaninlerin antimikrobiyel aktiviteleri üzerinde yapılan araştırmalar stimülatör veya inhibitör etkilerinin olabileceğini ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada yıllanmış kırmızı şaraptaki malvidinin bakterisidal etkisinin olduğu sonucuna varılırken, diğer bir çalışmada %0.008-0.025 düzeyinde ilave edilen çilek ve üzüm antosiyaninlerinin *Lactobacillus acidophilus* üzerinde stimülant bir etki gösterdiği, ancak antosiyanin konsantrasyonundaki artışla (%2.5) bu etkinin tersine döndüğü bildirilmektedir. Aynı çalışmada çilek ve üzüm antosiyaninlerinin antimikrobiyel etkileri arasında fark olmadığı da belirlenmiştir. *Lactobacillus acidophilus* ve *Escherichia coli* üzerinde yapılan bir diğer çalışmada da çilek ve üzüm antosiyaninlerinin mikroorganizmaların gelişimi üzerine olan etkilerinin direkt olarak konsantrasyona bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Pelargonidin 3-glikozit ve delfinidin 3-glikozitin *E. coli*'yi inhibe ettiği ancak malvidinin gelişmeyi stimüle ettiği bildirilmektedir [49].

Puupponen-Pimia *et al.* [87] berrylerden elde edilen ekstraktların Gram negatif bakterileri inhibe ederken, Gram pozitif bakterilere etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Frenk üzümü ekstraktlarının ise daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Rauha *et al.* [88] Frenk üzümü ekstraktlarının *Bacillus subtilis* üzerine çok az antimikrobiyel etkisi olduğunu saptarken, *Micrococcus luteus* üzerine daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Antosiyaninlerin farklı patojen mikroorganizmalar üzerine olan etkilerinin incelendiği bazı araştırmalarda ise inhibitif etkinin belirlenemediği aktarılmaktadır [49].

Elderberry ve Frenk üzümü konsantrelerinin *Staphylococcus aureus* DSM 799 ve *Enterococcus faecium* DSM 2918 üzerine kısmen inhibitif etkilerinin olduğu, ancak *Saccharomyces cerevisiae* gelişimini az da olsa teşvik ettiği belirlenmiştir. İnhibitif etkinin meyve konsantrelerinde bulunan antosiyanin dışındaki bileşenlere bağlı olabileceği belirtilmektedir [49].

Lacombe *et al.* [89] Amerikan cranberry (*Vaccinium macrocarpon*)'nin şeker, organik asit, fenolik ve antosiyanin fraksiyonlarını ayırarak, bu fraksiyonların *E. coli* O157: H7 üzerine olan inhibitif etkilerini araştırmışlardır. Bu kapsamda şeker ve organik asit karıştırılmış, fenolik ve antosiyanin fraksiyonları ise ayrı ayrı değerlendirilmiş olup, 3 grubun da hem doğal pH değerlerinde hem de pH 7'de mikroorganizma üzerindeki

etkileri incelenmiştir. Çalışmada doğal pH değerlerinde inhibe edici minimum konsantrasyon (MIC) antosiyaninler ve fenolikler için sırası ile 14.8 mg/L ve 2.7 g/L olarak belirlenirken, pH 7’de bu değerler antosiyaninler için 29.15 mg/L, fenolikler içinse yine 2.7 g/L olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar pH, ışık ve oksijen gibi etkenlerden olumsuz etkilenen antosiyanin ekstraktlarının özellikle nötral ortamlarda daha yüksek miktarlarda kullanılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Fenolik bileşikler gibi ikincil metabolitlerin bitkileri, UV ışığından, parazitlerden ve serbest radikallerden koruduğu bilinmektedir. Genellikle bitkiler, hücrelerini tatsız ve zehirli forma çevirerek kendilerini çevre etkenlerinden özellikle de parazitlerden korumaktadırlar. Hücre strese girdiğinde bu kimyasalların miktarı artmaktadır. Bitkiler ile çevre arasındaki bu etkileşim bitkilerden ekstrakte edilen fenolik bileşikler ile antosiyaninlerin antioksidan ve antimikrobiyel etkilerinin olduğunu açıklamaktadır [89].

1.2. Araştırma Kapsamında Renklendirici Olarak Kullanılan Antosiyanin Kaynakları

1.2.1. Siyah havuç

Bilimsel adı *Daucus carota* olan siyah havuç, *Umbelliferae* (şemsiyegiller) familyasına dahildir ve kökleri yenen iki yıllık bir kültür sebzesidir. Ülkemizde özellikle Adana ve Hatay ve Ereğli (Konya) yörelerinde mahalli bir çeşit olarak siyah havuç üretimi yapılmaktadır [41]. Havuçlar antosiyanin grubu (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) ve karoten grubu (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *sativus*) olmak üzere iki alt grupta toplanmaktadır [43]. FAO [42] 2007 yılı verilerine göre dünyada havuç ve şalgam üretimi 27 225 451 ton olup, bu üretimin 6 419 532 tonu Türkiye’de gerçekleştirilmektedir. Bu üretimin çok büyük bir kısmının turuncu havuç olduğu ve siyah havuçların özellikle batı toplumları tarafından çok iyi bilinmediği belirtilmektedir. Siyah veya mor havuçlar geleneksel olarak sadece Türkiye, Afganistan, Mısır, Pakistan, Hindistan ve Uzak Doğu’da üretilmektedir [43].

Siyah havuç, yüksek düzeyde antosiyanin içermesi nedeniyle gıda boyası elde etmek için son derece uygun bir kaynaktır. Siyah havuç üzerinde yapılan çalışmalar toplam antosiyanin içeriğinin çok geniş bir aralıkta yer aldığını ortaya koymaktadır. Nitekim yapılan bir çalışmada antosiyanin miktarı 1 mg ile 98 mg/100 g taze ağırlık [43] olarak

belirtilirken, bir diğerk çalışmada ise siyah havucun 175 mg/100 g taze ağırlığa kadar antosiyanin içerebileceği belirtilmektedir [18]. Gizir *et al.* [44] 1 g kuru siyah havucun 7.63 mg monomerik antosiyanin içediğini belirlemişlerdir. 15 siyah havuç çeşidinin antosiyanin kompozisyonunun belirlendiği bir çalışmada ise farklı havuç çeşitlerinin antosiyanin içeriklerinin 45.4 mg/kg ile 17.4 g/kg kuru ağırlık arasında değiştiği bildirilmiştir [43].

Siyah havuç antosiyaninleri mono asillenmiş yapıda olup, gıdaların doğal pH derecelerinde rengini korumakta ve antioksidan aktivitesini arttırmaktadır [44; 45]. Yine siyah havuçlardan izole edilen antosiyaninler antioksidan aktiviteye sahip olduklarından, renklendirme amacıyla gıdaya ilave edildiklerinde gıdanın besleme kalitesini de arttırmaktadır [43].

Siyah havuçların en önemli antosiyaninleri arasında siyanidin-3-galaktozit-ksilozid-ferulik asit, siyanidin-3-galaktozit-ksilozid, siyanidin-3-galaktozit-ksilozid-glikozit-kumarik asit, siyanidin-3-galaktozit-ksilozid-glikozit-sinapik asit ve siyanidin-3-galaktozit-ksilozid-glikozit yer almaktadır [90]. Yapılan bir çalışmada siyah havuçta siyanidin-3-ksilosil-galaktozit %44.1, siyanidin-3-ksilosil-glikozil-galaktozit %14.9, siyanidin-3-ksilosil-glikozil-galaktozitin sinapik asitle asillenmiş formu %27.5, ferulik asitle asillenmiş formu ise %13.5 olarak belirlenmiştir [74]. Özellikle asidik pH değerlerinde parlak çilek kırmızısı rengi veren siyah havuç ekstraktları meyve suları ve nektarları, alkolsüz içeceklerin, reçellerin, jölelerin, pasta ve şekerlemelerin renklendirilmesinde kullanılmaktadır [91].

1.2.2. Kırmızı lahanana

Brassicaceae familyasına dahil bir sebze olan kırmızı lahananın (*Brassica oleracea* L. var. *capitata f. rubra*) tüm dünyada 3.1 milyon hektar alanda 68 milyon ton üretimi gerçekleştirilmektedir [46]. FAO [42] 2007 yılı verileri, Türkiye’de *Brassica* familyasına dahil olan sebzelerin yaklaşık olarak 650 bin ton üretildiğini ortaya koymaktadır.

Lahananın gıda olarak tüketiminden önce gut, diare, peptik ülser ve baş ağrılarının tedavisinde kullanıldığı aktarılmaktadır. Sonrasında yapılan epidemiyolojik çalışmalar

lahananın kalp damar hastalıkları ile bazı kanser çeşitleri üzerine de etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bu etki, kırmızı lahananın polifenolik bileşiminden ve bu grupta çok geniş bir yer tutan antosiyanin içeriğinden kaynaklanmaktadır [46].

Kırmızı lahana antosiyaninlerinin iki farklı şeker grubuyla glikozilasyonu ve farklı aromatik ve alifatik asitlerle asilasyonu nedeni ile antosiyanin profilleri son derece komplekstir. Lahanaların antosiyanin profillerinde, siyanidin-3,5-diglikozit ve siyanidin-3-sofhorosit-5-glikozitin sinapik asit, ferulik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve malonik asit ile asillenmiş yapıları yaygın olarak bulunmaktadır [92]. Tüm meyve ve sebzeler arasında antosiyanin profili en zor belirlenen bitki grubunun kırmızı lahana olduğu bildirilmektedir [46]. Bunun başlıca nedeni de referans bileşiklerinin ticari olarak temin edilememesidir [46; 47].

Kırmızı lahananın taze ağırlık üzerinden toplam fenolik madde içeriğinin 101.30 mg/100 g [93], antosiyanin içeriğinin ise 69-94 mg/100g düzeyinde olduğu belirtilmektedir [19]. Kırmızı lahanaların biyoaktif bileşiminin çeşit, iklim, yetiştirme koşulları gibi farklı etkenlere bağlı olması nedeni ile antosiyanin bileşiminde de farklılıklar görülebilmektedir. Nitekim bir diğer çalışmada antosiyanin içeriğinin 25 mg/100 g düzeyinde belirlendiği aktarılmaktadır [94]. Kırmızı lahananın antosiyanin içeriğinin 756 mg/kg taze ağırlık olarak belirlenmiş olduğu bir diğer çalışmada, başlıca antosiyaninlerin siyanidin 3-(6-sinapyl)-sofhorozit-5-glikozit ve 3-(6-sinapyl)-sofhorozit-5-(6-sinapyl)-glikozit olduğu saptanmıştır [95]. Bir diğer çalışmada ise kırmızı lahanalarda 9'u yeni olmak üzere toplam 24 farklı antosiyanin tespit edildiği bildirilmektedir. Antosiyaninlerin hepsinin aglikon olarak siyanidin içerdiği belirlenmiş olup, siyanidinin mono ve/veya di-glikozitleri, aromatik ve alifatik asitlerle asillenmiş veya asillenmemiş olarak bulunduğu saptanmıştır [46]. Giusti and Wrolstad [15], yaptıkları çalışmalarında siyanidin-3-glikozit-5-glikozitin mono ve diasillenmiş formlarından oluşan 9 farklı antosiyanin belirlemişlerdir. Bir diğer çalışmada ise kırmızı lahanada 18 farklı antosiyanin belirlenmiş olup, bunların da benzer şekilde siyanidin-3-glikozit-5-glikozitin *p*-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asit ile monoasillenmiş ve diasillenmiş formlarının başat antosiyaninler olduğu saptanmıştır [96].

Hafif asidik ortamlarda kırmızı lahanada bulunan çift asillenmiş antosiyaninler sıcaklık ve ışığa karşı son derece stabil olup, ürünün renk kalitesini korumaktadır. Antioksidatif

özellikleri aynı tür içerisinde kültüvasyona bağılı olarak değişebilmektedir [47]. Kırmızı lahananın C vitamini ve α -tokoferol içerikleri sırası ile 24.38 mg/100 g ve 0.261 mg/100 g iken, β -karoten ve lutein içerikleri ise sırası ile 0.044 mg/100 g ve 0.046 mg/100 g olarak belirlenmiş ve elde edilen bulgular, kırmızı lahananın son derece güçlü bir antioksidan olduğunu ortaya koymaktadır [93].

Gıda boyası olarak kullanılan kırmızı lahananın istenmeyen kokusunu gidermek için ekstraktlar polimerik reçinelerden geçirilmekte veya anyon değiştirmeye tabi tutulmaktadır [19]. Elde edilen antosiyaninlerin stabilizasyonlarını arttırmak amacıyla da flavonol, suda çözüner antioksidanlar, fosfatlar, anyonik pigmentler, şeker ilavesi ve suda çözüner flavonoid glikozitleri ile kopigmentasyon uygulamaları gerçekleştirilmiştir [2]. Kırmızı lahanadan elde edilen renk maddeleri içecekler, şekerlemeler, toz gıdalar, sakızlar, yoğurt ve sosların renklendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Berrylerden elde edilen renk pigmentlerinin çoğunun aksine kırmızı lahana ekstraktları, asidik gıdaların yanı sıra nötral gıdalarda da başarı ile kullanılabilir. Nitekim kırmızı lahana ekstraktlarının mavi renkli sentetik boyalara iyi bir alternatif olduğu aktarılmaktadır [48].

Dyrby *et al.* [92] yaptıkları bir çalışmada, kırmızı lahana ekstraktlarındaki antosiyaninlerin tampon çözelti ve gazsız içecek model sistemlerinde 25, 40, 60 ve 80°C sıcaklıklardaki ısıl stabilitelelerini Frenk üzümü, siyah üzüm ve elderberry ekstraktlarındaki antosiyaninlerin stabiliteleleri ile kıyaslamışlardır. İncelenen ortamlarda antosiyaninlerin parçalanmasının birinci derece reaksiyon kinetiğine uyduğu ve antosiyanin stabilitelelerinin içecek model sistemlerde kırmızı lahana > Frenk üzümü > siyah üzüm > elderberry şeklinde sıralandığı belirtilmektedir. Kırmızı lahananın renk pigmentlerinin renk karakteristikleri ve yüksek stabilitesi geniş ölçekli asilasyonları ile açıklanmaktadır [19].

1.2.3. Üzüm kabuğu

Çok sayıda antosiyanin kaynağı bulunmakla birlikte bunlar arasında en önemlileri üzüm ve özellikle de şarap endüstrisi artığı olan üzüm posasıdır [37; 38]. Ülkemiz, üzüm üretimi ve çeşit zenginliği açısından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. Üzüm; çeşitli değerlendirme yöntemlerinin olması, iklim ve toprak istekleri yönünden

çok seçici olmaması, çok yıllık olması ve çoğaltılma yöntemlerinin kolay olması gibi avantajlara sahip olması nedeniyle dünyada en fazla üretilen meyvelerden biridir [97, 98]. Ticari olarak üzümler; sofralık, kurutmalık, şaraplık ve meyve suyuna işlenenler olmak üzere 4 grupta toplanmaktadır [99]. Dünyada üretilen üzümlerin %64.3'ü şaraba işlenirken, %7.6'sı kurutmalık ve %20.9'u sofralık olarak değerlendirilmektedir [97]. Ülkemizde ise üretilen üzümlerin %3'ü şaraplık, %37'si kurutmalık, %23'ü sofralık ve %37'si de pekmez, pestil, pekmez sucuğu ve şıra gibi ürünlerin yapımında kullanılmaktadır [100].

Üzümler (*Vitis vinifera* L.) dünyada en çok üretimi yapılan meyvelerden biridir. Dünyada toplam 67 milyon ton üretimi gerçekleştirilen üzümün, 3.6 milyon tonunun Türkiye'de üretildiği belirtilmektedir [42]. Dünyada üretilen üzümün yaklaşık %80 kadarı şarap üretiminde kullanılmaktadır ve hasat mevsiminde birkaç hafta içerisinde 10'larca ton üzüm posası açığa çıkmaktadır [101]. Avrupa'da yılda yaklaşık 14.5 milyon ton üzüm artığı yüksek fenolik madde içeriğinin filizlenme üzerine olan olumlu etkilerinden dolayı gübre olarak kullanılmaktadır [102].

Üzüm posası; şarap, sirke ve pekmez yapımı sırasında atık olarak ortaya çıkan ve üzüm çekirdeği, üzüm sapı ve üzüm kabuğundan oluşan bir atıktır. Şarap yapımında üzümün yaklaşık %17-20'si posa olarak ayrılmakta ve bu posa yeterince değerlendirilemediği için maliyet de artmaktadır. Türkiye yıllık 3.6 milyon tonluk üzüm üretimi ile dünya üretiminin yaklaşık %6'sını karşılamaktadır. Bunun %20'si posa olarak düşünüldüğü zaman ülkemizde de yaklaşık 700 bin ton civarında üzüm posası ortaya çıkmaktadır [39]. Oysa bu atıkların çeşitli şekillerde ekonomiye kazandırılmaları mümkündür.

Üzüm posasının antimikrobiyel ve antioksidan özelliğinin yüksek olması sebebiyle, insan sağlığı üzerine faydalı etkileri vardır. Bazı üzüm bileşenlerinin kötü kolesterol olarak bilinen düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) düşürdüğü, serbest radikalleri bağladığı, kalp-damar hastalıklarını önlemede etkili olduğu kanıtlanmıştır [104-106]. Üzümün, kalp ve beyin damarlarına olan kan akımını azaltarak bu dokuların beslenmesini azaltan kan pulcuklarının kümeleşmesini de engellediği bildirilmektedir [106]. Üzüm posasındaki antioksidanların yüksek radikal tutma kapasitesi sayesinde, hücrelerin yaşlanması gecikmekte, tümör oluşumu engellenmekte ve dolayısıyla ile üzüm posası antikanserojen bir aktivite göstermektedir [104]. Bilindiği gibi metabolik

faaliyetler sonucu ortaya çıkan serbest radikaller, yaşlanmayı da kapsayan hücre denatürasyonlarına sebep olan önemli faktörlerden biridir. Bu tür hücre denatürasyonları; deri, damar, mide hastalıkları, tümör oluşumu ve kanser gibi birçok hastalıklara yol açabilmektedir [107]. Üzüm posasında bulunan antioksidanlar bu serbest radikallerin etkisini ortadan kaldırmaktadır. Yapılan bir araştırmada; üzüm çekirdeği ekstraktının, vücutta yağı metabolize eden pankreatik lipoproteini ve hormona duyarlı lipaz enzimini inhibe ederek, obeziteyi kontrol etmede doğal ve güvenli bir materyal olduğu saptanmıştır [108].

Üzüm kabuğu, üzüm meyvesinin kuru ağırlık üzerinden %5-10 kadarlık kısmını oluşturmaktadır. Kabuk meyveyi mekanik ve iklimsel zararlanmalardan, dehidrasyondan, mantar enfeksiyonlarından ve ultraviyole (UV) ışığından korumaktadır [102].

Olgunlaşma durumu, çevresel faktörler [29] ve endojen enzimler üzümlerin şeker ve fenolik içeriğinin gerek yapısını gerekse de kompozisyonunu etkilemektedir. Üzümlerin farklı fraksiyonlarının ve şarap artığı olan posanın genel fenolik bileşimi Tablo 1.16.'da verilmiştir [102].

Genel olarak üzüm kabuğunun fenolik kompozisyonu çeşide bağlıdır [102]. Üzüm kabuğu kütikül, epidermis ve hipodermis tabakalarından oluşmaktadır. Meyvenin pulp kısmına en yakın tabaka olan hipodermis, kabuğun fenolik bileşenlerce en zengin kısmıdır [102; 108].

Kabuk, meyvenin en yüksek düzeyde tanen içeren kısmını oluşturmaktadır. Üzüm kabuğunda bulunan tanenler diğer üzüm fraksiyonlarındaki tanenlerden çok daha fazla polimerize olmaları ve daha düşük miktarlarda gallat içermeleriyle ayrılmaktadırlar. Kateşin, epikateşin ve epikateşin gallat kabuktaki başlıca tanenler olup, az miktarda da gallokateşin ve epigallokateşin bulunmaktadır. Kabuğa rengini veren antosiyaninler ise delfinidin, siyanidin, petunidin, peonidin ve malvidin-3-glikozitleri, 3-(6-asetil)-glikozitleri ve 3-(6-*p*-kumaril) glikozitleri ile peonidin ve malvidinin 3-(6-caffeoil)-glikozitleri ile bazı pruvatlarıdır. Ayrıca kuersetin ve kampferol glikozitleri ve glukuronitleri, gallik asit ve glikozitleri, resveratrol, kaftarik ve kutarik asit üzüm kabuğunun fenolik bileşimini oluşturmaktadır. Kırmızı kabuklarının içerdiği

antosiyeninler haricinde, beyaz ve kırmızı üzümlerin fenolik bileşimi çok farklı değildir [102].

Tablo 1.16. Üzüm posası, kabuğu, çekirdeği ve sap kısımlarının fenolik madde kompozisyonları [102].

Bileşen	Posa	Kabuk	Çekirdek	Sap
Gallik asit	0.03-0.11	0.03	0.10-0.11	-
Coutaric asit	0-1.23	0.03-1.23	-	-
Kaftarik asit	0-6.97	0.11-6.97	-	0.04
Fenolik asit	0.03-8.31	0.17-8.23	0.10-0.11	0-0.04
Kateşin	0-0.18	0-0.16	2.14-2.15	0.06
Epikateşin	0-0.16	0-0.13	0.88-0.91	0.28
Epigallokateşin	0-0.05	İz miktarda	0.05	0.01
Epigallokateşin 3- gallat	0-0.07	-	0.06-0.07	-
Epikateşin 3- gallat	0-0.03	0.04	0.25-0.31	0.07
B1	0.11-0.6	0.11-0.6	0.14-0.16	-
B2	0.01-0.84	0.01-0.84	0.04-0.18	-
Tanen	0.22-2.32	1.61	2.32	0.22-0.39
Toplam flavon 3-ol	0.34-4.25	0.12-3.38	3.56-6.15	0.22-0.89
Delfinidin 3-glc	0.44-1.11	0.44-1.11	-	-
Siyanidin 3-glc	1.51-3.81	1.51-3.81	-	-
Petunidin 3-glc	0.53-1.34	0.53-1.34	-	-
Peonidin 3-glc	0.99-2.49	0.99-2.49	-	-
Malvidin 3-glc	4.12-10.19	4.12-10.19	-	-
Delfinidin 3-acglc	0.08-0.19	0.08-0.19	-	-
Petunidin 3-acglc	0.11-0.28	0.11-0.28	-	-
Peonidin 3-acglc	0.27-0.30	0.27-0.30	-	-
Malvidin 3-acglc	0.62-1.74	0.62-1.74	-	-
Siyanidin 3-glc	0.07-0.22	0.07-0.22	-	-
Petunidin 3-glc	0.19-0.49	0.19-0.49	-	-
Peonidin 3-acglc	0.43-1.37	0.43-1.37	-	-
Malvidin 3-acglc	2.11-6.29	2.11-6.29	-	-
Toplam antosiyenin*	11.47-29.82	11.47-29.82	-	-
Kuersetin 3-glukosit	0.01-0.2	0.15-0.2	0.01-0.02	0.02
Mirisetin 3-glukosit	İz miktarda	-	-	İz miktarda
Kuersetin 3-glukoronid	0.01-0.29	0.22-0.29	0.01-0.02	0.2
Kaemferol 3-glukosit	0.01-0.14	0.11-0.14	0.01	İz miktarda
Mirisetin 3-glukoronid	İz miktarda	-	-	İz miktarda
Toplam flavonol	0.03-0.63	0.48-0.63	0.02-0.05	0-0.22

Tüm değerler mg/g olarak verilmiştir., -: Belirlenemedi; glc: glukoz; ac: asillenmiş, acglc: glukozla asillenmiş, * Antosiyenin miktarı sadece kırmızı üzümler içindir.

Tannat cinsi üzümlerin budanması ile asillenmemiş antosiyenin miktarının arttığı bulguların bir araştırmada, oksidasyona ve parçalanmaya en hassas antosiyeninler arasında yer alan siyanidin, petunidin ve delfinidin miktarının son derece yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada yetiştirme şartlarının üzümlerin fenolik bileşimi ve

renkleri üzerine de son derece etkili olduğu saptanmıştır [76]. Üzüm kabuklarından elde edilen ekstraktların yapısında bulunan asillenmemiş yapıdaki antosiyaninlerin stabilizasyonunu arttırmak amacıyla gallik asit, tannik asit [109] ve kuersetin [59] gibi farklı kopigment ajanları kullanılmaktadır. Falcao *et al.* [109] *Cabernet Sauvignon* üzüm kabuklarından elde edilen ekstraktın stabilitesini arttırmak amacı ile gallik asidi kopigment olarak kullandıkları çalışmalarında, gallik asit: ekstrakt oranlarını 2:1 (hacim:ağırlık) düzeyinde ayarlamışlardır. İlave edilen gallik asidin, ekstraktın antosiyanin yarılanma süresi üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Elde edilen bulguların diglikozit malvidin, pelargonidin ve siyanidinin gallik asit ve kuersetin kopigmentleriyle yapılan stabilizasyon çalışmaları ile uyumlu olduğu belirtilmektedir [59].

Hazırdaki çalışma kapsamında da materyal olarak kullanılan üzüm çeşidi olan Öküzgözü üzümlerinde yapılan bir çalışmada, 5 adet monoglikozit, 5 adet asetil ve 4 adet kumaril yapısında olmak üzere, toplam 14 adet antosiyanin belirlendiği aktarılmaktadır. Bunlar arasında miktar olarak en fazla bulunanın malvidin-3-glikozit olduğu belirtilmektedir. Denizli ve Elazığ bölgelerindeki Öküzgözü üzümlerinde malvidin-3-glikozitin miktarının sırası ile 6.31-69.00 mg/100 g ile 3.78-61.10 mg/100 g arasında olduğu saptanmıştır. Malvidin-3-glikozit miktarının Öküzgözü üzümlerinde toplam antosiyaninlerin yaklaşık %50'sini oluşturduğu belirlenmiştir. Malvidin-3-glikoziti miktar olarak petunidin, delfinidin, peonidin ve siyanidin-3-glikozitin izlediği belirtilmektedir. Öküzgözü üzümlerinin toplam antosiyanin miktarının 1992 yılında 1.2-93.5 mg/100 g ve 1993 yılı üzümlerinde ise 1.9-71.8 mg/100 g aralığında olduğu belirtilirken, 2005 yılında bu değerler 10.85-123.26 mg/100 g, 2006 yılında ise 13.45-136.20 mg/100 g aralığında saptanmıştır. Görüldüğü üzere örneklerin antosiyanin içerikleri gerek yetiştirildiği bölgeye ve gerekse de sezona bağlı olarak bazı değişiklikler gösterebilmektedir [110].

1.3. Antosiyanin Ekstraksiyonunda Kullanılan Farklı Teknik Uygulamaları

Antosiyaninlerin ekstraksiyonunda en çok kullanılan yöntem çözgen ekstraksiyonudur [12]. Bununla birlikte, son yıllarda ekstraksiyon uygulamalarında farklı tekniklerin etkileri üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda klasik ekstraksiyonun yanında vurgulu elektrik alan (pulsed electric field, PEF) ve ultrason teknikleri gibi

materyallerin dokularında değişikliklere yol açarak, ekstrakte edilmesi istenen bileşiklerin dokudan daha kolay ayrılmasını sağlayan uygulamalar dikkat çekmektedir.

1.3.1. Klasik ekstraksiyon

Suda çözünen polar bileşikler olan antosiyaninlerin ticari izolasyonunda ilk işlem ekstraksiyondur. Bitki yüzeyine yakın hücrelerde lokalize olan antosiyaninler organik çözümlerle ekstrakte edilmektedir. Geleneksel olarak, antosiyanin ekstraksiyonunda asitlendirilmiş metanol, etanol, aseton, su ve aseton/metanol/su karışımları kullanılmaktadır [44; 111]. Ekstraksiyonda kullanılan asit, hücre membranlarını denatüre ederek, ekstraksiyonu kolaylaştırdığı için tercih edilmektedir. Bununla birlikte, özellikle aşırı miktarda kullanılan asit, ekstraktın konsantre hale getirilmesi sırasında denatürasyona neden olabilmektedir [14]. Ekstraksiyon işleminde formik asit, asetik asit, sitrik asit ve tartarik asit gibi zayıf asitler %0.5-3 oranında kullanılabilirken, hidroklorik asit (HCl) ve trifloroasetik asit gibi güçlü asitler ise %1'den daha az bir oranda kullanılmalıdır [111].

Antosiyanin ekstraksiyonunda difüzyonu ve analitin çözümlerde çözünürlüğünü arttırmak amacı ile yüksek ekstraksiyon sıcaklıkları üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Ancak yüksek ekstraksiyon sıcaklıklarında antosiyaninlerin bozunabileceği de bilinmektedir. Bu nedenle antosiyaninlerin ticari ekstraksiyon ve konsantrasyonu sırasında 70°C'nin altındaki sıcaklık dereceleri tercih edilmektedir [111].

Antosiyaninlerin saflaştırılmasında C₁₈ kartuşlarında katı faz ekstraksiyonu uygulanmaktadır. Antosiyanin pigmentleri adsorbantlara unsubstituted hidroksil grupları sayesinde sıkı bir şekilde bağlanmakta ve farklı bir seri çözümlerle de polarite artırılarak diğer bileşenlerden ayrılmaktadır [14].

1.3.2. Vurgulu elektrik alan (Pulsed Electric Field, PEF)

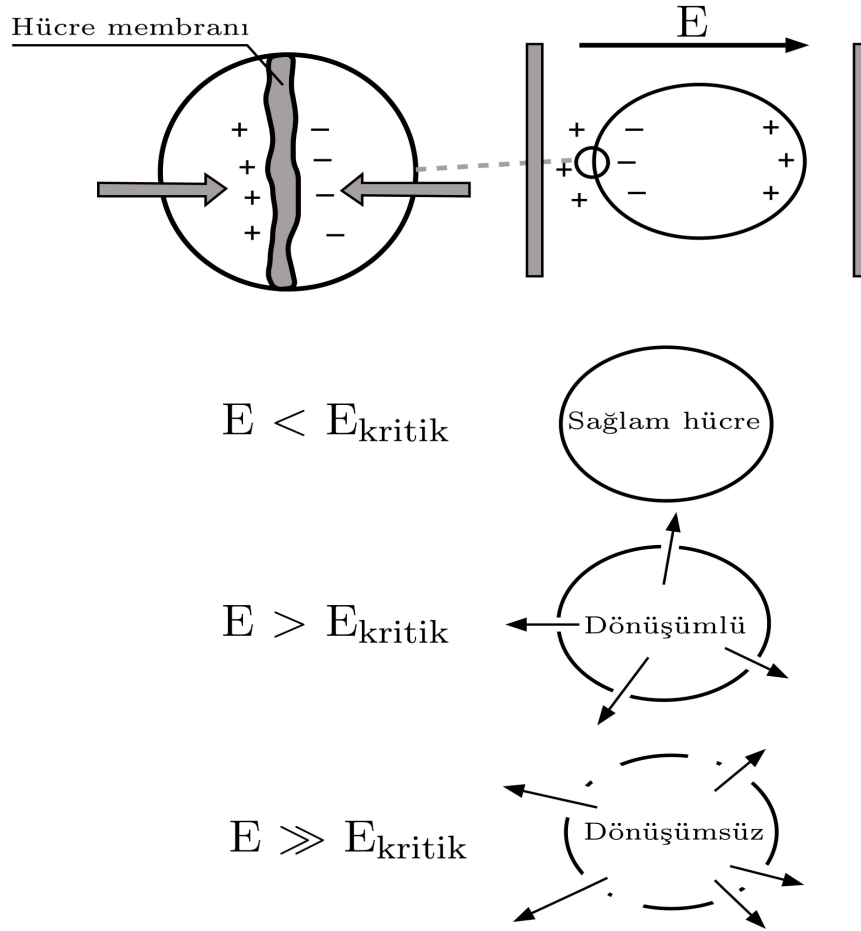
PEF uygulaması, 2 elektrot arasına yerleştirilen gıda maddelerine kısa sürelerde (1-100 µs) yüksek voltajlı elektrik uygulaması (10-50 kV/cm) ile gerçekleştirilen bir işlemdir [112]. Ekstraksiyon işleminde hücre zarlarının fiziksel, kimyasal veya biyolojik işlemlerle parçalanması son derece önemlidir. Taze gıda maddeleri üzerinde gerçekleştirilen elektrik uygulamalarına "elektroplasmoliz" veya

“elektropermeabilizasyon” adı verilmektedir. Bu metot, elektrik alan uygulamasına bağılı olarak hücre zarlarında oluşan porların (elektroporasyon) büyümesi temeline dayanmaktadır [113]. Gıda materyallerinde PEF uygulamasının hücrelere zarar verdiği ilk kez 1962 yılında Doevenspeck tarafından belirlenmiştir [114]. Elektroporasyon dokuda hücre zarı bütünlüğünü bozmakta ve protein inaktivasyonuna neden olmaktadır. Dolayısıyla elektroporasyon, mikroorganizmaların hücresel ve sitoplazmik bileşenlerinin dışarı sızarak onların inaktive olmalarında etkili olmaktadır [33]. Bu por oluşumunun, teorik olarak polarize olan iyonların membrandan geçmesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir. Örneğin, 0.4-0.8 kV/cm seviyesindeki elektrik uygulamasının, bitki hücresinin geçirgenliğini arttırdığı belirtilmektedir [115]. PEF uygulaması ile hücre zarının elektriksel potansiyeli değişmekte ve hücre membranında yük ayrılması olmaktadır. Şekil 1.18.’de PEF uygulamasının hücre zarının geçirgenliği üzerine olan etkisi görülmektedir [116].

Hücre zarının kritik elektriksel potansiyelinin hücrenin tipine, boyutlarına, şekline ve üreme koşullarına bağılı olarak değiştiği belirtilmektedir. Vejetatif hücreler için bu değer 15 kV/cm iken, askosporlar ile endosporlar için çok daha yüksek olması gerektiği bildirilmektedir [117]. PEF uygulamalarının gıdaların renk, flavor ve antosiyanin gibi biyoaktif özelliklerini olumsuz bir şekilde etkilemeksizin, mikroorganizmalar ve enzimler üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir [33].

PEF uygulamalarında en iyi ekstraksiyon, 60-70°C gibi nispeten yüksek sıcaklıklarda olmaktadır. Çünkü yüksek sıcaklıklarda bitki membranlarından çözünen bileşenler santrifügal dolaşıma neden olmakta ve kütle transferini arttırmaktadır. Buna ilaveten, ısı uygulama fenolik-matriks bağlarını kırmakta ve bitki membranlarının yapısını etkileyerek, membranları lipoprotein koagülasyonu ile daha az seçici geçirgen hale getirmektedir [118].

Bir araştırmada PEF ile muamele edilen elma suları, pastörize edilmiş (90°C sıcaklıkta 30 saniye süreyle) veya hiçbir işlem görmemiş kontrol grubuyla kıyaslanmıştır. Burada en yüksek fenolik madde miktarının kontrol örneklerinde saptandığı aktarılmıştır. Araştırmada, PEF uygulamasının %14.49 oranında bir fenolik kaybına neden olduğu belirlenirken, bu kayıp pastörizasyon uygulamasında %32.2 olarak tespit edilmiştir [119].



Şekil 1.18. PEF uygulamasının hücre zarı geçirgenliği üzerine etkisi, E ; elektrik alan şiddeti, E_{kritik} ; por oluşumu için gerekli minimum elektrik alan şiddeti [116].

PEF uygulamalarında elektrotlar arasına yerleştirilen materyalin üniform yapıda olması ve sıkıca yerleştirilmesi önem taşımaktadır. Aşırı miktardaki yüksek iletken sıvılar (kesme sırasında hücre zararlanması sonucu açığa çıkan) ve ekstra partiküller elektrik enerjisi kaybını arttırmaktadır. Ayrıca, dışsal nem miktarının az olması halinde de katı partiküllerle temas olmaması nedeniyle PEF uygulamalarının etkinliği azalmaktadır [113].

PEF uygulamalarında genellikle eksponansiyel veya kare dalgalar kullanılmaktadır. Eksponansiyel dalgalarda voltaj (gerilim) maksimum noktasına hızla ulaşip yavaşça sifıra düşerken, kare dalgalarda vurgu süresince voltaj maksimum noktasında sabit kalmaktadır [29]. İşlemin etkinliği uygulanan süreye, vurgu şiddetine, vurgu sıklığına,

gıdanın fiziksel ve kimyasal yapısına, gıdanın bileşenlerine ve uygulama sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir [30].

PEF uygulamaları, ısı artışının az olması, hücre zarlarının mikro düzeyde ve etkin bir şekilde parçalanması ve işlem maliyetinin düşük olması gibi avantajlara sahiptir. Bu özellikleri nedeni ile de PEF son yıllarda dikkatleri üzerine çekmektedir [28; 29]. PEF işleminin 15-80 kV/cm elektrik alan şiddetinde, 1-100 arasındaki vurgu sıklığı ve 1-100 μ s süreyle uygulanması halinde bakteriler ve enzimlerin inaktivasyonu için yeterli bir işlem olduğu bildirilmektedir [30]. PEF uygulamaları, mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesi başta olmak üzere, gıdaların kurutulması [32; 114; 120-122] ve meyve suyu veriminin artırılması gibi farklı amaçlarla kullanılmaktadır [73; 113; 121; 123-127]. Biyolojik dokulara uygulanan PEF'in meyve sularında olduğu gibi kolza tohumunda da yağ verimini arttırdığı bulunmuştur [128]. Son yıllarda PEF uygulamalarının gıdaların vitamin [129-132], protein [133] ve enzim [134-137] içerikleri üzerine olan etkileri üzerinde yapılan araştırmaların sayısı da giderek artmaktadır.

Farklı hücrelerin farklı elektrofiziksel ve morfolojik yapıları sahip olmalarına rağmen, elektrik uygulamaları karşısında benzer zararlanmalara maruz kaldıkları belirtilmektedir [114]. PEF uygulamasının, kompleks fenolik moleküllerin gıda içeriği ve gıda matriksinde bulunan diğer bileşiklerle etkileşimi konularında çok az bilgi bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin bazıları meyvelerin renklerinden sorumlu olduklarından, renk tayini özellikle yüksek miktarda antosiyanin içeren gıdalar için PEF uygulaması etkinliğinin belirlenmesinde iyi bir ayıraç olarak kullanılabilir. Örneğin, Cranberry sularına 150 μ s süreyle 40 kV/cm düzeyinde PEF uygulamanın örneklerin renginde önemli bir değişim yapmadığı belirtilmektedir [138]. PEF uygulamalarının, ahududuların başat antosiyanini olan siyanidin-3-glikozitin depolama stabilitesi üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir [139]. PEF, antosiyaninlerin depolama stabilitesini etkilemezken, üzüm suyu üretiminde ön işlem olarak uygulanması halinde antosiyanin konsantrasyonunu arttırdığı belirtilmektedir [33].

Sanchez-Moreno *et al.* [140] 750 μ s 35 kV/cm'de 4 μ s bipolar vurgusundaki PEF uygulamasının portakal suyunun flavon içeriğinde önemli bir değişiklik oluşturmadığını belirlemiştir. Corrales *et al.* [27] yaptıkları çalışmada üzüm posasında PEF, ultrasonik ve yüksek hidrostatik basınç uygulamalarını ticari ekstraksiyonla (kontrol

grubu) karşılaştırmışlardır. PEF ve ultrasonik ekstraksiyon ile ekstrakte edilen örneklerin antioksidan aktivitelerinin kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 4 ve 2 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Antosiyanin monoglikozitlerinin ekstraksiyonunda PEF uygulamasının daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Yüksek ekstraksiyon oranlarının uygulama sırasında meydana gelen elektroporasyona bağlı olabileceği aktarılmaktadır [141].

Genellikle uygulamanın elektrik alan şiddetindeki artışına bağlı olarak, hücre membranlarındaki porlar genişlemekte ve fenolik madde ekstraksiyonunun daha iyi yapıldığı bildirilmektedir. Ancak şaraplık üzümelerde yapılan bir çalışmanın sonuçları farklılık göstermektedir. Balasa *et al.* [142]'a atfen Soliva-Fortuny *et al.* [138] 0.5 ve 2.4 kV/cm düzeyinde farklı iki şiddetteki elektrik alan uygulamalarının (50 vurgu sayısı) sekonder metabolit üretimi üzerindeki etkileri incelendiği ve klasik yöntemle elde edilen üzüm sularıyla (kontrol örneği) kıyaslandığı çalışmada, PEF uygulanan örneklerin toplam fenolik madde içeriğinin %13-28 oranında daha yüksek olduğunu bildirmektedir. Fakat beklentinin aksine 0.5 kV/cm düzeyindeki PEF uygulamasının 2.4 kV/cm uygulamasına kıyasla fenolik madde içeriğini daha çok arttırdığı saptanmıştır. Bu durum düşük şiddetteki elektrik alan uygulamalarının üzüm hücrelerinde stres başlatarak, sonrasında da ikincil metabolit olarak fenolik üretimini teşvik etmesi ile açıklanmıştır.

Gavhovska *et al.* [143] tarafından kırmızı lahanaya PEF (elektrik alan şiddeti 2.5 kV/cm, vurgu aralığı 15 µs, vurgu sayısı 50, spesifik enerji 15.63 J/g) uygulanarak antosiyanin ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada çözen olarak su kullanılmıştır. Sonuçta PEF uygulanan örneklerin toplam antosiyanin miktarlarının, kontrol örneklerinden 2.12 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. PEF uygulanmış örneklerin ısı ve ışık stabilitelerinin ise kontrol örneklerinden farklı olmadığı belirtilmektedir.

1.3.3. Ultrasonik ekstraksiyon

Saniyede 20.000 veya daha fazla titreşimde dalga oluşturan enerji ultrason olarak tanımlanmaktadır [34]. Yüksek frekanslı bir ses dalgasının mekanik titreşimleri yoğunlaştırıldığında, sıkışma ve genişleme hatları arasında yüksek bir basınç farkı

olmaktadır. Sıkışmaya dayanıklı olan sıvı, basıncın hızla düşmesi ile meydana gelen genişleme sırasında milyonlarca mikroskobik boşluk üretmekte ve bu boşluklar gaz ve buhar ile dolarak kabarcık haline gelmektedir. Bu haliyle de etkili olabilen kabarcıklar patladığında ise büyük bir enerji açığa çıkmaktadır. İşte ultrasonun hava kabarcıkları oluşturma özelliğine ‘kavitasyon’ adı verilmektedir [144]. Ultrason kurutma, filtrasyon, mikrobiyal inaktivasyon ve enzimatik inhibisyon gibi farklı amaçlarla gıda sanayinde kullanılmıştır [145]. Son yıllarda ise ultrason uygulaması; protein, antosiyanin, tartarik asit, aroma bileşenleri ve polisakkaritler gibi çok farklı bileşenlerin ekstraksiyonunda uygulama alanı bulmuştur [36].

Ultrason uygulamaları ekstrakt eldesinde, ısı olmayan etkili bir alternatif metottur. Ultrasonik uygulamada hücre duvarları mekanik olarak parçalanarak kütle aktarımının kolaylaştırılması sağlanmaktadır. Ultrasonun mekanik aktivitesi, çözgenin dokulara doğru olan dağılımını hızlandırmaktadır. Mekanik olarak parçalanan hücre duvarından hücre içi bileşen, çözüne daha kolay geçerek etkili olmaktadır [35].

Çileklere düşük amplitüde (genlikte) ultrason uygulanması halinde meyve suyunun antosiyanin içeriğinin %1-2 seviyesinde arttığı belirlenmiştir [146]. Yüksek genlikte ultrason uygulamalarında ise antosiyaninlerin degrade olabileceği belirtilmektedir. Antosiyanin parçalanması çoğunlukla kavitasyonla ilişkilendirilmektedir. Kavitasyon tarafından ortaya çıkarılan kimyasal etki sonucunda sıcaklık yükselmekte, katı ve sıvı fazlar arasında basınç ve mekanik etkileşim sonucu parçalanma ortaya çıkmaktadır. Antosiyanin parçalanması ortamda bulunabilecek askorbik asit gibi organik asitlerle de ilişkili olabilmektedir. Kavitasyon şiddeti hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarı ile ölçülmektedir. H_2O_2 oluşumu sıcaklığa bağlı olup, sıcaklık yükseldikçe H_2O_2 'nin konsantrasyonu azalmaktadır. Hidroksil radikallerinin oluşum mekanizması genellikle aşağıda verildiği şekilde olmaktadır (Reaksiyon 1-5) [147]:



Kavitasyon tarafından oluşturulan hidroksil radikali antosiyanin halkalarında açılmaya yol açarak, çalkon formun oluşmasına neden olabilmektedir. Ancak ultrason uygulamalarında H_2O_2 'ten kaynaklanan antosiyanin parçalanmasının bazı antosiyaninlerle sınırlı olduğu belirtilmektedir [141].

Ultrason etkisiyle hücre duvarları hasar görek doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin ortaya çıkması kolaylaşmaktadır. Çözücü fazına bu maddelerin kütle transferi ile aktarımı artmaktadır. Bu nedenle ultrason destekli ekstraksiyon gelecekteki uygulamalar için önemli potansiyele sahip olarak değerlendirilmektedir [144].

Bu çalışmada siyah havuç, kırmızı lahana ve Öküzgözü üzüm çeşidinin kabuklarından farklı ekstraksiyon yöntemleri (klasik ekstraksiyon, PEF ve ultrason teknikleri) ile elde edilen ekstraktların, toplam fenolik madde miktarı, toplam antosiyanin miktarı, antioksidan aktivite ve antiradikal kapasiteleri gibi bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen bu ekstraktların 2'si maya, 13'ü bakteri olmak üzere toplam 15 mikroorganizma üzerine olan antimikrobiyel aktivitelerinin de belirlenmesine çalışılmıştır. Koruyucu içermemesi için laboratuvar şartlarında hazırlanan pastörize elma sularına *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 bakterileri inölüle edilerek, 4 ve 20°C sıcaklıklarda 96 saat süreyle inkübe edilmiş ve ekstraktların bu bakteriler üzerine olan inhibitif etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Gerek meyve sularının pH değerlerinin genellikle 3-4 aralığında olması ve gerekse de antosiyaninlerin pH değerlerindeki değişimlere hassas olmaları nedeni ile pH değeri 3 ve 4 olan tampon çözeltiler ABE'lar ile renklendirilerek, 90°C'deki ısıl stabilite belirlenmeye çalışılmıştır. Benzer şekilde bir grup elma suyu da ABE'lar ile renklendirilmiş ve bu örneklerin 70, 80 ve 90°C sıcaklıklardaki ısıl stabilite belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, renklendirilen örneklerden elma suları ve dondurmaların depolama sürecindeki bazı biyoaktif özelliklerindeki değişimlerin de belirlenmesi hedeflenmiştir. Klasik yöntemle elde edilen ekstraktların farklı gıda maddelerine ilave edilerek elma suları, dondurma, çemen ve şekerleme (lokum) örneklerinin renklendirilmeleri sağlanmış ve yine bu gıdalar, ABE'ların yanı sıra stabil bir boya olan karmin ile de renklendirilerek, elde edilen renk ve duyuşal özellikler karmin ile kıyaslanmıştır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Antosiyanin kaynakları

Bu çalışmada antosiyanin kaynağı olarak kullanılan siyah havuç, kırmızı lahana ve siyah üzüm kabuğunun temin edilmesi ve çalışma süresince muhafaza şartları aşağıda verilmiştir:

Siyah Havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef), Konya-Ereğli piyasasından temin edilmiş ve laboratuara üzerinde havalandırma delikleri bulunan 25'er kilogramlık poşetler halinde getirilmiştir. Yıkayıp kurulan havuçlar laboratuvar tipi bir mutfak robotu (BEKO Robokit 2154, Türkiye) ile öğütülerek, analiz edilinceye kadar 500 gramlık buzdolabı poşetleri içerisinde -40°C sıcaklıktaki derin dondurucuda (Hettich Freezer, Almanya) muhafaza edilmiştir.

Kırmızı Lahana (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*), Kayseri'nin Yemliha Beldesi'nden temin edilmiştir. Ticari kasalarla laboratuara getirilen lahanaların en dış yaprakları uzaklaştırılmış ve musluk suyu ile yıkayıp kurulandıktan sonra yine aynı mutfak robotu yardımı ile öğütülmüştür. Örnekler analiz edilinceye kadar 500 gramlık ambalajlar içerisinde -40°C sıcaklıktaki aynı derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Üzüm Kabuğu (*Vitis vinifera* L.), Araştırmada Elazığ yöresine has bir üzüm olan Öküzgözü cinsine ait posanın kabukları kullanılmıştır. Ülkemiz için önemli bir şaraplık çeşit olan Öküzgözü üzüm posaları, Tekirdağ'da bulunan Doluca Şarap Fabrikası'ndan temin edilmiştir. Çalışmada posaların sadece kabuk kısmı ayrılarak kullanılmıştır. Bu amaçla 50 kilogramlık çuvallarda laboratuara getirilen üzüm posaları, elle çekirdek ve saplarından ayrılmıştır. Çekirdek ve saplarından ayrılan üzüm kabukları, 65°C

sıcaklıktaki bir etüvde (Nüve FN300, Türkiye) 24 saat süreyle kurutulmuştur. Laboratuvar tipi bir değirmende (Faema MPN, İtalya) öğütülen kurutulmuş üzüm kabukları, renkli poşetlere doldurularak, analiz edilinceye kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

2.1.2. Renklendirilen ürünler

Bu çalışmada elde edilen ekstraktlar elma suyu, dondurma, şekerleme ve çemenin renklendirilmesinde kullanılmıştır.

- Çalışmada kullanılan %100 elma suyu (Pınar, Yaşar Gıda San. ve Tic. A.Ş., İzmir) Kayseri piyasasından temin edilmiştir.
- Dondurma örneklerinin elde edilmesinde kullanılan UHT tipi süt (Pınar Süt, Yaşar Gıda San. ve Tic. A.Ş., Pınarbaşı/ İzmir) ve toz şeker yerel piyasadan satın alınmış, salep, emülgatör ve jelatin Özselamoğlu Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti. (Kayseri)'den temin edilmiştir.
- Şekerleme örneklerinin üretiminde kullanılan şeker, nişasta, sitrik asit ve glukoz şurubu Kayseri piyasasından temin edilmiştir
- Çemen örneklerinin üretiminde gerekli olan çemen unu, kırmızı toz biber, sarımsak ve tuz Kayseri piyasasından temin edilmiştir.
- Dondurma, çemen ve şekerleme ürünlerinin renklendirilmesi amacıyla kullanılan karmin (Montecarmin WSS 52%, Lima, Peru) ise Şahin Sucukları (Şahin-Melek Et ve Et Mamülleri Gıda San.Tic. Ltd.Şti., Kayseri)'nden sağlanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Antosiyanin kaynaklarında yapılan analizler

2.2.1.1. Antosiyanin bazı ekstrakt elde edilen materyallerin bazı nitelikleri

Siyah Havuç: Çalışma kapsamında temin edilen siyah havuçlardan rasgele 15 adet örnek seçilerek, havuçların ağırlıkları ve boyları belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin iki farklı yerinden bir kumpas (SR44 digital, Çin) yardımı ile çap ölçümleri yapılmıştır.

Üzüm Posası: Üzüm posaları laboratuara getirildiğinde örneklerin nem kaybetmesini önlemek amacı ile zaman kaybetmeden 3 adet 1'er kg ağırlığında posa tartılmış; kabuk, sap ve çekirdek kısımları özenle ayrılarak, posanın kabuk, çekirdek ve sap kısımlarının miktarları belirlenmiştir.

Kırmızı Lahana: Kırmızı lahanalardan rasgele 10 adet örnek seçilerek, lahanaların ağırlıkları ve boyları belirlenmiştir. Ayrıca uç ve orta kısımlarından kumpas ile çap ölçümleri yapılmıştır.

2.2.1.2. Kuru Madde

Projede kullanılan antosiyanin kaynaklarının her birinde kuru madde analizi yapılmıştır. Bu amaçla sabit tartıma getirilen ve daraları alınmış kurutma kaplarına 3-5 g örnek tartılmış ve 105°C'deki etüvde (Nüve FN300, Türkiye) örnekler sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. İşlem sonrasında örnekler desikatöre alınarak, oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve ağırlıkları belirlenerek, aşağıdaki formül yardımıyla % kuru madde miktarları belirlenmiştir [148].

$$\%KM = [(G_2 - G) / (G_1 - G)] \times 100$$

%KM : Örneğin kuru madde yüzdesi

G : Tartım kabının darası

G₁ : Örnek + tartım kabının darası

G₂ : Kurutma sonrası kuru örnek + tartım kabının darası.

2.2.1.3. Kül miktarı tayini

Hammaddelerin kül miktarı AOAC 940.26 No'lu metoda göre yapılmıştır [149]. Bu amaçla kullanılan porselen krozelere, 600°C sıcaklıkta sabit tartıma getirilerek, içlerine 1-2 g örnek tartılmış ve kül fırınında (Protherm PLF 12015 Electrical Furnaces, Türkiye) meydana gelebilecek sıçramaları önlemek amacıyla 100°C'de 3 saat tutularak, nemin uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra kuruyan örneklerde 600°C'de siyah rezidü kalmayınca kadar yakma işlemine devam edilmiştir. İşlem sonunda krozelere desikatöre alınarak soğutulmuş ve aşağıdaki formül yardımı ile % kül miktarları belirlenmiştir.

$$\% \text{ K\u00fcl} = [(A_2 - A) / (A_1 - A)] \times 100$$

% K\u00fcl : \u00d6rne\u011fin k\u00fcl y\u00fczdesi

A : Porselen krozenin darası

A₁ : \u00d6rnek + porselen krozenin darası

A₂ : Yakma sonrası k\u00fcl + porselen krozenin darası

2.2.1.4. pH tayini

\u00d6rneklerin pH de\u011ferleri, analiz \u00f6ncesinde uygun tampon \u00e7\u00f6zeltilele kalibre edilen WTV 720 model bir pH metre (WTV, Werkst\u00e4tten, Almanya) kullanılarak belirlenmi\u015ftir. Bu ama\u00e7la antosiyanin bazlı renk maddesi elde edilecek hammaddeler \u00fczerine az miktarda damıtık su eklenmi\u015f ve pH de\u011ferleri saptanmı\u015ftır [148].

2.2.1.5. Titrasyon asitli\u011fi tayini

Damıtık su ile seyreltilerek s\u00fcz\u00fclm\u00fc\u015f \u00f6rnekler ayarlı 0.1 N NaOH (Merck, Darmstadt, Almanya) ile pH 8.1'e kadar titre edilmi\u015f ve titrasyon asitli\u011fi \u00fcz\u00fcm kabuklarında tartarik asit cinsinden hesaplanırken, siyah havu\u00e7 ve kırmızı lahanada susuz sitrik asit cinsinden belirlenmi\u015ftir [148].

2.2.1.6. Toplam ve indirgen \u015eker tayini

Hammaddeler ile \u00e7alı\u015mada kullanılan elma sularının toplam \u015eker ve indirgen \u015eker miktarlarının belirlenmesinde Luff-Schoorl y\u00f6ntemi kullanılmı\u015ftır. \u00d6nce Carrez \u00e7\u00f6zeltileleriyle durultulan \u00f6rnekler, daha sonra uygun bir \u015eker i\u00e7eri\u011fine kadar seyreltilmi\u015ftir. Buradan alınan seyreltik \u00f6rnek \u00e7\u00f6zeltisi, Luff \u00e7\u00f6zeltisi ile kaynatılmı\u015ftır. Bu sırada ortamdaki \u015ekerlerin okside olması sa\u011flanmı\u015f ve kullanılmamı\u015f olan oksidasyon maddesinin miktarı ayarlı 0.1 N sodyumtiyos\u00fclfat (Merck, Darmstadt, Almanya) \u00e7\u00f6zeltisi ile geri titre edilerek hesaplanmı\u015ftır. Bir \u015ahit deney yapıldıktan sonra, ilgili tablodan (Ek-1) yararlanmak suretiyle, harcanan sodyumtiyos\u00fclfat \u00e7\u00f6zeltisi miktarına g\u00f6re, \u00f6rnekteki \u015eker miktarı hesaplanmı\u015ftır. \u00cdirgen \u00f6zelli\u011fi olmayan sakarozun miktarları a\u015a\u011fıda verilen form\u00fcl ile belirlenmi\u015ftir [148].

$$\% \text{ Toplam Şeker (Sakaroz Cinsinden)} = \frac{A \times 100 \times F}{B}$$

- A : Çizelgeden bulunan indirgen şeker miktarı, g
 B : Alınan analiz çözeltisinin karşılığı olan numune miktarı, g
 F : Sakaroz için çarpım faktörü (0.95)

2.2.2. Antosiyanin pigmentlerinin ekstraksiyonları

Çalışma kapsamında ABE üretiminde ekstrakt verimi ve elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarları, antioksidan aktiviteleri ve antiradikal kapasiteleri üzerine olabilecek etkilerinin kıyaslanması amacı ile klasik ekstraksiyon yöntemi ile ultrasonik ve vurgulu elektrik alan (Pulse electric field= PEF) teknikleri olmak üzere 3 farklı ekstraksiyon yöntemi kıyaslanmıştır. PEF uygulamasında dokunun sağlam olması gerektiğinden, üzüm kabuklarında PEF uygulaması yapılamamıştır. PEF işleminde asitlendirilmiş etanol:su uygulamasının elektrik geçirgenliği üzerindeki etkisini tahmin edemememiz nedeni ile sadece saf su ile ekstraksiyon yapılırken, ultrasonik ve klasik ekstraksiyonlarda saf suyun yanı sıra AES de çözücü olarak kullanılmıştır.

Siyah havuç ve kırmızı lahana örnekleri yaklaşık olarak 2 x 1 x 1 mm büyüklüğünde özenle doğranmışlardır. Siyah üzüm kabukları ise yaklaşık 2 x 2 mm olacak şekilde parçalanmıştır. Bu şekilde hazırlanan homojen örneklemelerden örnekler alınarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.1. Klasik ekstraksiyon uygulamaları

Klasik ekstraksiyon uygulamaları Ersus ve Yurdagel [150]'in metodunda bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Donmuş haldeki havuç ve lahana örnekleri buzdolabı (Vestel, Türkiye) sıcaklığında 12 saat süreyle çözündürüldükten sonra ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilirken, üzüm kabukları doğrudan ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Örneklerden antosiyanin pigmentlerinin ekstraksiyonu için çözücü olarak %0.1 oranında hidroklorik asit (HCl, Merck, Darmstadt, Almanya) ile

asitlendirilmiş etanol (Merck, Darmstadt, Almanya): saf su (1:1) karışımı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminde örnek:çözgen oranı 1:4 olacak şekilde ayarlanmıştır. 50 g örnek üzerine 50 mL çözgen ilave edilmiş ve karışımın ultraturaks (IKA T18 Basic, Almanya) yardımıyla 1 dakika süresince homojen bir şekilde öğütülmesi sağlanmıştır. Sonra kalan çözgen eklenerek, örnekler çalkalamalı su banyosuna (Memmert WB-22, Almanya) yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi, 35°C’de 2 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Süre bitiminde örnekler önce dört katlı bir tülbentten geçirilmiştir. Sonrasında örnekler vakum altında (Millipore 230L, Fransa) önce kaba filtre kağıdından, ardından Whatman 1 No’lu filtre kağıdından süzülüş ve bir rotary evaporatörde (BUCHI Multivapor P-6, İsviçre) 60°C sıcaklıkta çözgen tamamen uzaklaştırılıncaya kadar kurutulmuştur.

Tüplere alınan kurutulmuş ekstraktların üzerine azot gazı basılarak, oksijenden ileri gelebilecek olumsuz etkilerin önlenmesi sağlanmış ve ekstraktlar kullanılıncaya kadar -18°C (Vestel FT 280, Türkiye) sıcaklıkta muhafaza edilmişlerdir. Elma suyu, dondurma ve tampon çözeltilerde kuru ekstraktlardan direkt ilave yapılırken, çemen ve şekerleme örneklerinin renklendirilmesi için kullanılmadan önce ekstraktlar saf su ile 60° brikse seyreltilip bu örneklerde antosiyanin tayini yapılmış ve örneklere ilave edilmesi gereken miktarlar tartılmış ve ABE’lerin örneklere homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır.

Ancak, özellikle PEF ve ultrason uygulamalarının ekstraksiyon etkinliklerinin kıyaslanması amacıyla parçacık büyüklüğü ve dokunun sağlamlığı önem taşımaktadır. Bu nedenle ekstraktların biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amacı ile yapılan klasik ekstraksiyon uygulamalarında da siyah havuç ve kırmızı lahana örnekleri yaklaşık olarak 2 x 1 x 1 mm büyüklüğünde doğranmışlardır. Ayrıca verim ve biyoaktif özelliklerin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen tüm ekstraksiyon uygulamalarında siyah havuç ve kırmızı lahana örnekleri taze halde kullanılmıştır. Siyah üzüm kabukları ise yaklaşık 2 x 2 mm olacak şekilde parçalanmıştır. Ekstraksiyon işlemi bu şekilde hazırlanan homojen örneklerde gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.2. Vurgulu elektrik alan uygulamaları (Pulsed electric field, PEF)

Vurgulu elektrik alan uygulamasında taze haldeki siyah havuç ve lahana örnekleri “paralel plate tipi” olarak adlandırılan elektrotlara (BTX Caliper electrode) yerleştirilerek işlem gerçekleştirilmiştir. Uygulamada PEF jeneratörü (BTX 830, ABD)

kullanılmıştır. PEF uygulaması Corrales *et al.* [27]'in prosedürlerinde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Örneklere 3 kV/cm elektrik alan şiddetinde, genişliği 10 µs olan 99 adet vurgu uygulanmış olup, vurgular arası mesafe 100 µs tutulmuştur. Uygulamada yukarıda bahsedildiği gibi hazırlanan örneklerin kesme sırasında dokularından dışarı sızan maddeler, elektrik geçirgenliğini etkilememesi için saf su ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Yıkama suyu tamamen uzaklaştırıldıktan sonra 2 g örnek küvete (0.5 cm aralık, boy 2 cm ve yükseklik 1 cm) yerleştirilerek, üzeri tamamen suyla kaplanmıştır. İşlem yeterli ekstrakt çıkarılıncaya kadar tekrarlanmıştır. Uygulamanın sonunda örnekler süzülerek, filtrat ayrılmıştır. Katı parçacıkların üzerine örnek:çözgen oranı 1:4 olacak şekilde saf su ilavesi yapıp, 35°C sıcaklığa ayarlanmış olan çalkalamalı su banyosunda 2 saat süreyle ekstraksiyon işlemine devam edilmiştir. Süre bitiminde örnekler 4 katlı tülbentten geçirildikten sonra vakum altında önce adi filtre kağıdından ardından da Whatman No 1'den süzülmüştür. Her iki filtrat birleştirildikten sonra rotary evaporatörde 60°C'de çözgen tamamen uzaklaştırılarak, kuru ekstrakt elde edilmiştir.

2.2.2.3. Ultrasonik ekstraksiyon uygulaması

Chen *et al.* [151]'in metodunda bazı modifikasyonlar yapılarak ultrasonik ekstraksiyon uygulaması gerçekleştirilmiştir. Homojen hale getirilen örneklerden örnek:çözgen oranı 1:2 olacak şekilde ekstraksiyonda kullanılan çözgen ilave edilmiş ve örnekler ultrasonik su banyosuna (VWR Ultrasonic Cleaner, HF 45 kHz, 1800 Watt, Kanada) yerleştirilmiştir. Bir saat ekstraksiyon sonunda örnekler 4 katlı tülbentten süzülmüş ve katı kısım üzerine yine 1:2 oranında çözgen ilavesi yapılmıştır. Örnekler 1 saat süreyle ikinci kez ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda örnekler 4 katlı tülbentten geçirildikten sonra vakum altında önce adi filtre kağıdından ardından da Whatman No 1'den süzülmüştür. Her iki filtrat birleştirildikten sonra rotary evaporatörde 60°C'de çözgen tamamen uzaklaştırılarak, kuru ekstrakt elde edilmiştir. Titreşimden kaynaklanan sıcaklık artışını önlemek amacıyla ultrasonik su banyosu 15°C'deki saf su ile doldurulmuştur. Ekstraksiyon işlemi başladıktan 1 saat sonra ultrasonik su banyosundaki su, aynı sıcaklıktaki su ile devir daim yaptırılarak, sıcaklığın 35°C'yi geçmemesi sağlanmıştır. Böylece sıcaklığın ekstraksiyona olabilecek etkilerinden sakınılmaya çalışılmıştır.

2.2.3. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi

Araştırma kapsamında antosiyanin kaynağı olarak kullanılan siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarından farklı ekstraksiyon uygulamaları ile elde edilen ekstraktların bazı biyolojik özellikleri belirlenmiş olup, kullanılan yöntemlere aşağıda kısaca değinilmiştir.

2.2.3.1. Toplam fenolik madde tayini

ABE'lerin toplam fenolik madde içeriği Singleton and Rossi [152] tarafından verilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak tespit edilmiştir. Bu amaçla ekstraktlar seyreltilirken ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözümler dikkate alınarak, su ekstraktları su AES kullanılarak elde edilen ABE'ler ise etanol:su (1:1) karışımı kullanılarak belli konsantrasyonlara seyreltilmişlerdir. Ekstraktların bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesinde, uygun çözümlerle hazırlanan bu ekstraktlar kullanılmıştır. Deney aşamasında 2400 µL saf suyun üzerine 40 µL örnek ilave edildikten sonra 200 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı (Merck, Darmstadt, Almanya) ilave edilmiştir. Daha sonra 600 µL %20'lik doymuş Na₂CO₃ (Merck, Darmstadt, Almanya) ilavesini 760 µL saf su ilavesi izlemiştir. Karanlık bir ortamda 2 saat süreyle bekletilen örneklerin absorbans değerleri spektrofotometre (Varian Cary 100 Conc UV-Visible, Amerika) yardımı ile 765 nm'de belirlenmiştir. Hesaplama galik asitten (Acros Organics, New Jersey, Amerika) 0-1 mg/mL sınırları düzeyinde bir seri standart çözelti hazırlanmış ve örneklerin toplam fenolik madde miktarları bu şekilde hazırlanan bir standart kurve yardımı ile hesaplanmıştır (mg galik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ekstrakt).

2.2.3.2. Toplam antosiyanin tayini

Örneklerin antosiyanin içeriği, pH diferansiyel metoduna göre yapılmıştır [153]. Antosiyanin miktarları tüm örneklerde, siyanidin 3-glikozit cinsinden belirlenmiştir (MW=449.2, molar absorbans, ε=26.900). Örneklerin antosiyanin miktarları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır [154]:

$$\text{Antosiyanin mg/L} = (\Delta A / \epsilon \cdot L) 10^3 \times (\text{MW}) \times (\text{SF})$$

- ΔA : Absorbans farkı (uygulanan yönteme göre pH 1.0 ve pH 4.5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı)
- ϵ : Molar absorbans
- L : Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı, cm
- MW : Molekül ağırlığı
- SF : Seyreltme faktörü

2.2.3.3. Antiradikal kapasite tayini

Farklı yöntemlerle elde edilen ABE'lerin antiradikal aktivite tayinleri Brand-Williams *et al.* [155] tarafından verilen yöntemde bazı modifikasyonlar uygulanarak yapılmıştır. Stabil bir serbest radikal olan DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikali antiradikal ajanlarla reaksiyona girdiğinde serbest elektronu eşlenmekte ve örneğin mor rengi sarıya dönmektedir. Bu reaksiyon absorbans değerlerinde azalma olarak belirlenmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi ekstraktlar seyreltilirken ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözümler dikkate alınarak, su ekstraktları su, AES kullanılarak elde edilen ABE'lar ise etanol:su (1:1) karışımı kullanılarak belli konsantrasyonlara seyreltilmişlerdir. Daha sonra 200 μ L örnek üzerine 4000 μ L 0.1 mM/L DPPH, (Sigma St. Louis, MO, Amerika) ilave edilmiştir. Örnekler karanlıkta 30 dakika bekletildikten sonra 517 nm'de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Kontrol örneğinde örnek yerine metanol kullanılmış ve spektrofotometre saf metanol ile sıfırlanmıştır.

Örneklerin antioksidan kapasiteleri aşağıda verilen eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\% \dot{I} = 100 \times (1 - A_{\dot{O}} / A_K)$$

\dot{I} : Örnek tarafından inhibe edilen DPPH, %

$A_{\dot{O}}$: Örneğin absorbansı

A_K : Kontrolün absorbansı

$\% \dot{I}$ 'den yararlanılarak DPPH'in $\%50$ 'sinin inhibisyonu için gerekli ekstrakt miktarı grafikte belirlenmiştir (μ g/mL).

2.2.3.4. Antioksidan aktivite tayini

ABE'lerin antioksidan aktivite tayini Prieto *et al.* [156]'a göre belirlenmiştir. Bu amaçla belli konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlardan 0.4 mL alınarak üzerine 4 mL fosfomolibden çözeltisi (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat) ilave edilmiştir. Örnekler 95°C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda (Memmert WB-22, Almanya) 90 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Süre bitiminde örnekler hızla soğutulmuş ve 695 nm'deki absorbans değerleri belirlenmiştir. Hesaplama askorbik asitten 0-1 mg/mL sınırları düzeyinde bir seri standart çözelti hazırlanmış ve elde edilen kurve yardımıyla örneklerin antioksidan aktiviteleri mg askorbik asit eşdeğeri (AAE)/g kuru ekstrakt olarak verilmiştir.

2.2.3.5. Mikrobiyolojik analizler

2.2.3.5.1. Agar difüzyon yöntemi ile ABE'lerin antimikrobiyel aktivitelerinin belirlenmesi

Antimikrobiyel aktivite denemeleri agar difüzyon yöntemi ile yapılmıştır [157]. Bu çalışmada test organizması olarak 13 adet bakteri ve 2 adet mayayı içeren toplam 15 mikroorganizma kullanılmıştır. Çalışmada *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* O157:H7 ATCC 33150, *Staphylococcus aureus* ATCC 1135, *S. aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* F2, *B. cereus* FMC 19, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. brevis* FMC 3, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461 ve *Candida albicans* ATCC 1223 mayaları kullanılmıştır.

Stok kültürlerden, bakteriler nutrient sıvı besiyerine, mayalar ise malt ekstrakt sıvı besiyerine aşılanarak, mayalar ve *Y. enterocolitica* 27°C'de, diğer mikroorganizmalar ise 35°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı ortamlarda geliştirilen her mikroorganizma kültüründen, tekrar yukarıdaki sıvı ortamları içeren tüplere, %1 oranında bakteri kültürü aşılanarak 18 saat inkübe edilmiştir. Gelişen bu mikroorganizmaların gelişme eğrileri belirlenerek 10^6 - 10^7 kob/mL mikroorganizma içerecek şekilde gerektiğinde aynı steril sıvı besiyeri ile seyreltilmiştir.

Her mikroorganizma, içerisinde 25 mL steril besiyeri (bakteriler için nutrient agar ve mayalar için malt ekstrakt agar) içeren 43-45°C sıcaklıkta bulunan erlenmayerdeki besiyerine %1 oranında aşılanmıştır. Mikroorganizma kültürüyle aşılama yapılmış agarlar, 9-10 cm çapındaki petri plaklarına dökülerek, donduktan sonra 4°C'de yaklaşık 1 saat bekletilmiştir.

Ekstraktların eldelerinde kullanılan saf su veya 1:1 etanol: su (asit içermeyen) ile %1, 2.5, 5 ve 10 konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanmıştır. Agar Difüzyon Yöntemi için, bakteri aşılansarak buzdolabında bir saat süreyle bekletilen petri kutularındaki taze besiyerine, korkborla (mantar delici) 4 mm çapında 5 adet kuyucuk açılarak bu kuyucuklara, yukarıda belirtilen yüzdelerde hazırlanmış ekstraktlardan ve 1:1 etanol:sudan (kontrol olarak) 50 µL pipetlendikten sonra *Y. enterocolitica* ve mayalar 27°C'de, diğer mikroorganizmalar ise 35°C sıcaklıkta 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen inhibisyon zonlarının çapı mm cinsinden ölçülmüştür [157; 158].

2.2.3.5.2. ABE'ların elma suyunda *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 üzerine antimikrobiyel etkisinin saptanması

Elma sularında ABE'ların *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2'ye karşı antimikrobiyel etkilerini analiz etmek amacıyla, marketten alınan starking tipi elmalardan meyve suyu sıkma makinesinde (Tefal Type 8314, China) elma suyu elde edilmiştir. Elma suları önce dört katlı bir tülbentten daha sonra da vakum altında kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Elma suları tüplere 15'er ml bölünmüş ve tüpler 85°C'de 20 dakika süreyle pastörize edilmiştir. Pastörize elma suları 4 kısma ayrılmış ve birinci gruba SHE, ikinci gruba KLE, üçüncü gruba ise ÜKE'ndan 4 mg antosiyanin/100 mL elma suyu konsantrasyonunda ekstrakt ilavesi yapılarak renklendirilmişlerdir. Dördüncü gruba hiçbir ekstrakt ilavesi yapılmamış ve bu örnekler kontrol grubu olarak değerlendirilmişlerdir.

Sagdic *et al.* [159]'ın uyguladığı metotta bazı modifikasyonlar yapılarak ABE'ların elma sularında *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 suşları üzerine antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiştir. Antimikrobiyel denemelerde materyal olarak *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 suşları stok kültürlerden alınarak, nutrient buyyona (Merck) ekim yapılmış ve 35°C'de 24 saat süreyle inkübe edilerek aktifleştirilmişlerdir. Daha sonra

bakteriler 35°C’de 18 saat inkübe edilerek taze kültür elde edilmiştir. Elma sularının renklendirildiği dozda (4 mg antosiyanin/100 mL elma suyu) pastörize elma sularına ilave edilen ekstraktlar oda sıcaklığındaki elma sularına steril ortamlarda ilave edilmiş, aynı zamanda elma sularına hazırlanan taze bakteri kültürlerinden %1 oranında, yaklaşık 10^7 - 10^8 kob/mL civarında eklenmiştir. Hiçbir ekstrakt içermeyen kontrol grubuna da aynı düzeyde bakteri aşılanarak, bütün gruplar soğutmalı inkübatörde (Nuve ES 110) 4 ve 20°C sıcaklıklarda inkübe edilmişlerdir. Bu inkübasyonun 1., 24., 48., 72. ve 96. saatlerinde ekimler yapılarak bu bakterilerin inhibisyon kurveleri izlenmiştir. Bakteri sayıları seri dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Cam tüplerde hazırlanmış %0.85 NaCl (serum fizyolojik) içeren steril tüpler kullanılarak dilüsyonlar hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan nutrient agara ekimler yapılmış ve 35°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bakteri sayıları belirlenmiştir.

2.2.4. Antosiyaninlerin ısıl stabilitelerinin belirlenmesi

2.2.4.1. Antosiyaninlerin tampon çözeltilerde ısıl stabilitelerinin belirlenmesi

Isıl işlemin pH değerleri 3.0 ve 4.0 olan tampon çözeltilere ilave edilen renk pigmentleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için analizin hemen öncesinde hazırlanan 100 mL tampon çözeltilisine 4 mg antosiyanin içeren ABE (SHE’ndan 1.20 g, KLE’ndan 0.50 g veya ÜKE’ndan 0.37 g kuru ekstrakt) ilave edilmiştir. Bu amaçla 179 mL ayarlı 0.1 N HCl ile 821 mL 0.1 N glikokolün ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, Merck, Darmstadt, Almanya) karıştırılmasıyla pH değeri 3 olan tampon çözelti elde edilmiştir. pH’sı 4 olan tampon çözelti ise 440 mL ayarlı 0.1 N HCl’in 0.1 M sodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$, Merck, Darmstadt, Almanya) ile karışımından elde edilmiştir [160]. Tampon çözeltilerin renklendirilmeden önce pH değerleri kontrol edilmiştir. Örnekler 90°C sıcaklıkta 0. dakikadan itibaren her 30 dakikada bir örnek almak suretiyle 180 dakika süresince ısıl işleme maruz bırakılmıştır. Bu amaçla renklendirilmiş tampon çözeltilerden 15 mL hacmindeki örnekler deney tüplerine koyulmuş ve 90°C’ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilmiştir. Tüp içerisindeki örnek sıcaklığı takip edilmiş ve istenilen sıcaklığa ulaştığı an sıfır süresi olarak kabul edilmiştir. Belirlenen sıcaklık süre normunda ısıl işleme tabi tutulan örnekler derhal oda sıcaklığına soğutulmuştur. Örneklerin toplam antosiyanin miktarları “2.2.3.2. Toplam antosiyanin tayini” başlığı altında verilen pH-diferansiyel yöntemiyle belirlenmiştir [153].

2.2.4.2. Antosiyaninlerin elma sularında ısıl stabilitelerinin belirlenmesi

Antosiyaninlerin ısıl stabilitelerinin belirlenmesi amacıyla 100 mL elma suyuna 4 mg antosiyanin içeren ABE (SHE'ndan 1.20 g, KLE'ndan 0.50 g veya ÜKE'ndan 0.37 g kuru ekstrakt) ilaveleri yapılmıştır. SHE, KLE veya ÜKE ilave edilerek renklendirilen elma suları 70, 80 ve 90°C sıcaklıklarda farklı sürelerde ısıtılarak antosiyanin kaybı belirlenmiştir. Örnekler, “2.2.4.1. Antosiyaninlerin tampon çözeltilerde ısıl stabilitelerinin belirlenmesi” başlığı altında anlatıldığı şekilde ısıl işleme maruz bırakıldıktan sonra antosiyanin miktarları pH-diferansiyel yöntemiyle belirlenmiştir [153].

ABE'larla renklendirilen elma sularına uygulanan sıcaklık süre normları aşağıda verilmiştir:

- 70°C'de depolamada; 0., 1., 2., 3., 5., 7. ve 9.
- 80°C'de depolamada; 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7. ve 8.
- 90°C'de depolamada; 0., 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 7. saatlerde örnek alınmıştır.

2.2.4.2.1. Kinetik katsayıların hesaplanması

Elma sularına ilave edilen ABE'ların ısıl işlem sırasındaki parçalanma reaksiyonlarının birinci derece kinetik modele uygun oldukları daha önce yapılan çalışmalarda belirlenmiştir [92; 161; 162]. Bu nedenle birinci derece kinetiğe uygun reaksiyonu tanımlayan 2.1. nolu diferansiyel eşitliğin integrali alınarak elde edilen 2.2. No'lu eşitlik kullanılarak kinetik katsayılar hesaplanmıştır [22].

$$-(dC/dt) = k C \quad (2.1.)$$

$$\ln (C/C_0) = -k t \quad (2.2.)$$

C_0 : Antosiyaninin başlangıç konsantrasyonu

C : Antosiyaninin t süre sonundaki konsantrasyonu

k : Reaksiyon hız sabiti

t : Süre (saat)

2.2.4.2.2. Reaksiyon hız sabitinin hesaplanması

Uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin kayıpları “y” eksenine, süreler “x” eksenine yerleştirilerek, yarı logaritmik ölçekli bir grafikte doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Bu eğriye linear regresyon analizi uygulanarak eğrinin denklemi hesaplanmıştır. Yine bu eğrinin eğimi kullanılarak ve 2.3. nolu eşitlik dikkate alınarak reaksiyon hız sabiti hesaplanmıştır [22].

$$k = (\text{eğim}) \times 2.303 \quad (2.3.)$$

2.2.4.2.3. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklığa olan bağımlılığı, 2.4. No’lu Arrhenius eşitliği kullanılarak aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanmasıyla belirlenmiştir [22; 162].

$$k = k_0 \times \exp^{-E_a/RT} \quad (2.4.)$$

Hesaplamalarda 2.4. No’lu eşitliğin logaritması alınarak elde edilen 2.5. No’lu eşitlikte gösterilen formu kullanılmıştır:

$$\ln k = [(- E_a/R) \times (1/T)] + \ln k_0 \quad (2.5)$$

Eşitlikte;

- k : Hız sabiti
- k_0 : Frekans faktörü
- E_a : Aktivasyon enerjisi (j /mol)
- R : Gaz sabiti (8.314 J/mol/K)
- T : Sıcaklığı (Kelvin, K) ifade etmektedir.

Bu amaçla, reaksiyonun hız sabitlerinin (k) logaritmaları ($\ln k$) aritmetik ölçekli bir grafiğin “y” eksenine ve sıcaklık değerlerinin (Kelvin) resiprokali ($1/T$) aynı grafiğin “x” eksenine yerleştirilerek, doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Arrhenius grafiği adı verilen bu eğriye regresyon analizi uygulanmış ve elde edilen denklemin eğimi ile gaz sabiti çarpılarak, aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır [22].

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

Yarılanma süresi, incelenen bileşiğin %50'sinin kaybolması için gereken süre olup, birinci derece kinetik modele göre gelişen reaksiyonlar için 2.6. No'lu eşitlik baz alınarak hesaplanmıştır [22].

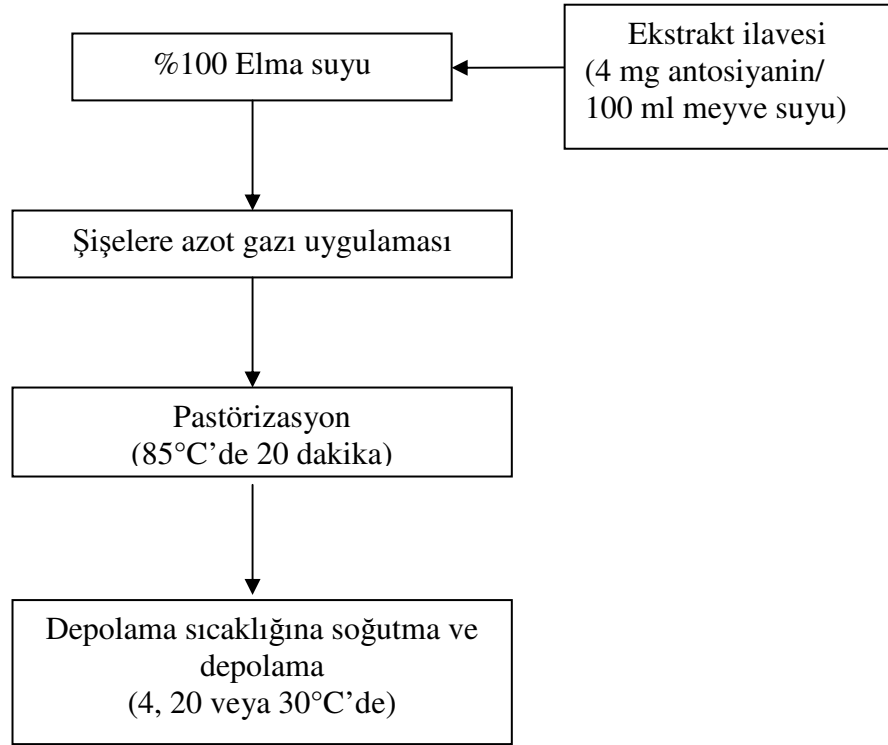
$$t_{1/2} = -\ln(0.5) \times k^{-1} \quad (2.6.)$$

2.2.5. Renklendirilen gıdalarda yapılan analizler

2.2.5.1. Elma Suyu

Yapılan ön denemeler sonucunda her üç antosiyanin kaynağı için de duyuşal olarak en çok beğenilen örneklerin 100 mL elma suyuna 4 mg antosiyanin içeren ekstrakt ilavesiyle elde edildiğı belirlenmiştir. Bu nedenle çalışma kapsamında elma sularına ABE'lardan 4 mg antosiyanin/100 mL düzeyinde ilave edilmiştir (SHE'den 1.20 g, KLE'ndan 0.50 g veya ÜKE'ndan 0.37 g). Cam şişelere 125 mL meyve suyu doldurulduktan sonra üzerine azot gazı uygulanmış ve oksijenden ileri gelebilecek bozulmalar elimine edilmeye çalışılmıştır. Sonrasında mikrobiyal gelişmenin önlenmesi için şişeler su banyosunda (Memmert WB-22, Almanya) 85°C'de 20 dakika süreyle pastörize edilerek, depolanacakları sıcaklıklara soğutulduktan sonra depolama işlemine geçilmiştir (Şekil 2.1.). Örnekler 4, 20 ve 30°C sıcaklıkta, depolama sıcaklıklarına göre değişen sürelerde depolanmışlardır. 4°C'deki depolama deneyleri buzdolabında (Vestel, Türkiye) yapılırken, 20 ve 30°C sıcaklıklarda yapılan deneyler için sırası ile Nuve ES 110 ve Nuve EN 055 (Nuve, Türkiye) model inkübatörler kullanılmıştır. Depolama süresi uygulanan sıcaklığa bağılı olarak 4°C'de 6 ay, 20°C'de 3 ay ve 30°C sıcaklıkta ise 2 ay olarak belirlenmiştir.

Elma sularında renklendirildikleri gün (0. gün), titrasyon asitliği, pH ve suda çözünür kuru madde analizleri yapılmıştır. Farklı sıcaklıklarda depolanan ABE'lar ile renklendirilmiş örneklerin depolama süresince antosiyanin miktarı, toplam fenolik madde içeriğı, antioksidan ve antiradikal kapasiteleri belirlenmiştir. Bu örneklerde ayrıca renk tayini ve duyuşal analizler gerçekleştirilmiştir. Elma sularında gerçekleştirilen analizler aşağıda kısaca açıklanmıştır.



Şekil 2.1. Elma suyunun renklendirilme akış şeması

2.2.5.1.1. Titrasyon asitliği tayini

Çalışma kapsamında kullanılan elma sularının ABE'lar ile hem renklendirilmeden önce hem de renklendirildikten sonra titrasyon asitliği belirlenmiştir. Örneklerin titrasyon asitliğinin belirlenmesinde elektrometrik titrasyon yöntemi uygulanmıştır. 25 mL elma suyu örneği ayarlı 0.1 N NaOH ile pH değeri 8.1 olana kadar titre edilmiştir. Aşağıdaki formül yardımı ile asitlik % malik asit cinsinden belirlenmiştir [148].

$$\% \text{ Asitlik} = [(A \times 0.006705) / B] \times 100$$

A : Harcanan 0.1 N ayarlı NaOH miktarı (mL)

B : Örnek miktarı (g)

2.2.5.1.2. pH tayini

Örneklerin pH değerleri, önceden kalibre edilmiş pH metrenin probu direkt meyve sularına daldırılarak saptanmıştır [148].

2.2.5.1.3. Suda çözüdür kuru madde

Çalışma kapsamındaki elma sularının suda çözüdür kuru madde miktarları 20°C sabit sıcaklıkta refraktometre (Reichert AR 700, Amerika) ile belirlenmiştir [148]. Bu amaçla kullanılan refraktometre saf su ile kalibre edildikten sonra örnek cihazın haznesine koyulmuş ve suda çözüdür kuru madde miktarları saptanmıştır.

2.2.5.1.4. Toplam fenolik madde tayini

Elma suyu örneklerinin toplam fenolik madde içeriği “2.2.3.1. Toplam fenolik madde tayini” başlığı altında verildiği şekilde belirlenmiş ve sonuçlar mg GAE/L elma suyu olarak hesaplanmıştır.

2.2.5.1.5. Toplam antosiyanin tayini

Örneklerin antosiyanin içeriği, “2.2.3.2. Toplam antosiyanin tayini” başlığı altında izah edilen pH diferansiyel metoduna göre yapılmış ve tüm örneklerin antosiyanin miktarları, siyanidin 3-glikozit cinsinden belirlenmiştir.

2.2.5.1.6. Antiradikal kapasite tayini

Elma sularının renklendirilmesi amacıyla ilave edilen ekstraktların depolama sürecinde antiradikal kapasiteye olan etkisinin belirlenmesi için meyve suyu örneklerinde antiradikal aktivite tayini “2.2.3.3. Antiradikal kapasite tayini” başlığında anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ancak, “2.2.3.3. Antiradikal kapasite tayini” başlığından farklı olarak örnekler 1:1 oranında metanol:saf su (60:40) çözeltisi ile seyreltilmiştir. Örneklerin antioksidan kapasiteleri aşağıda verilen eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\% \dot{I} = 100 \times (1 - A_{\dot{O}} / A_K)$$

\dot{I} : Örnek tarafından inhibe edilen DPPH, %

$A_{\dot{O}}$: Örneğin absorbansı

A_K : Kontrolün absorbansı

2.2.5.1.7. Antioksidan aktivite tayini

Bu amaçla saf su ile seyreltilmiş meyve suyu örneklerinin antioksidan aktivite tayinleri “2.2.3.4. Antioksidan aktivite tayini” başlığı altında belirtildiği şekilde yapılmıştır. Elma sularının antioksidan aktiviteleri mg askorbik asit eşdeğeri (AAE)/mL meyve suyu olarak verilmiştir.

2.2.5.1.8. Renk tayini

Meyve suyu, dondurma, şekerleme ve çemen örneklerinin renk özelliklerini belirlemede otomatik renk tayin cihazı (Lovibond RT Series Reflectance Tintometer, İngiltere) kullanılmıştır. Cihaz, standart kalibrasyon skalası ile kalibre edildikten sonra örnekler aletin küvetine yerleştirilip L^* , a^* ve b^* değerleri belirlenmiş ve bu değerler kullanılarak hue açısı (h°) ile kroma değerleri (C^*) hesaplanmıştır. Hue açısı [$h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$] örneğin renk tonunun belirlenmesinde, kroma değeri [$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$] ise renksel parlaklığın değerlendirilmesinde kullanılmıştır [10]. Hue açısı 0° = kırmızı-mor, 90° = sarı, 180° = mavimsi-yeşil, 270° = mavi, $360^\circ = 0^\circ$ olup kırmızı-moru göstermektedir [11; 163].

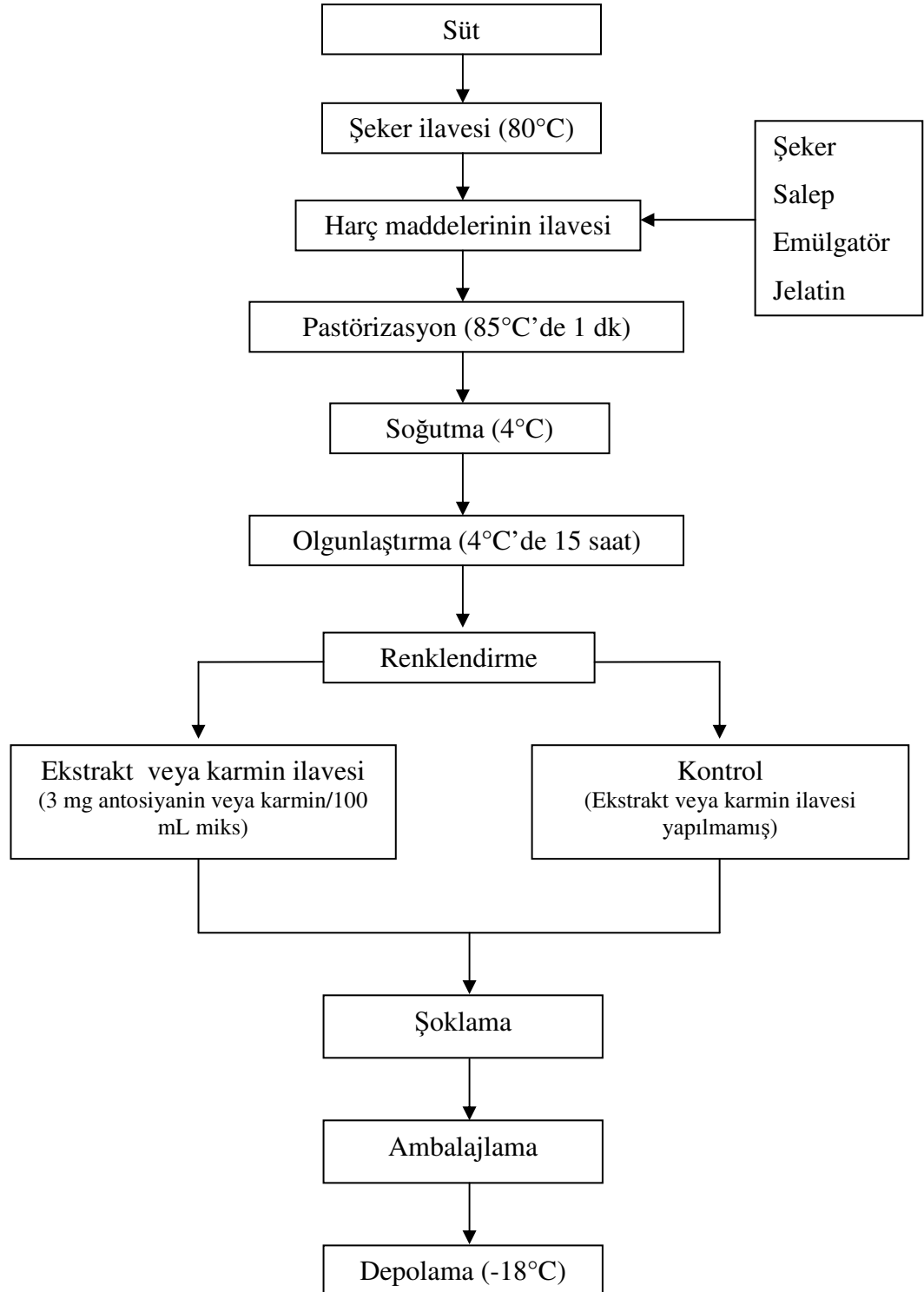
2.2.5.1.9. Duyusal analiz

Çalışma kapsamında meyve suyu, dondurma ve şekerleme (lokum) örneklerine ilave edilen ABE'lerin duyusal kalite üzerine olan etkilerinin belirlenebilmesi için eğitilmiş 6 panelist ile hedonik skala yöntemine göre duyusal analizler yapılmıştır [164]. Çemen örneklerinde yapılan ön denemelerde katılan ekstraktların duyusal anlamda bir değişime neden olmadığı anlaşıldığından, bu örneklerde duyusal analizler yapılmamıştır. Çalışmada örneklerin duyusal farklılıklarının tespit edilmesinde kullanılan form Ek-2'de verilmiştir.

2.2.5.2. Dondurma

Dondurma örnekleri Erciyes Üniversitesi, Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksek Okulu Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde üretilmiştir (Şekil 2.2.). Dondurma üretimi, Dogan and Kayacier [165]'in dondurma formülasyonunda bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 1000 mL süte 80°C 'de 100 g şeker ilave

edildikten sonra, 85°C'de 90 g şeker, 5 g salep, 1 g jelatin ve 2.5 g emülgatör ilave edilmiştir. Karışım 85°C'de 1 dk pastörizasyon işlemine maruz bırakılıp, +4°C'ye soğutulmuş ve bu sıcaklıkta 15 saat süreyle olgunlaştırılmıştır. Dondurma miksleri 15 dk karıştırıldıktan sonra -25°C'de şoklanmıştır (Uğur L30, Türkiye).



Şekil 2.2. Standart dondurma üretim akış şeması

Dondurma miksleri şoklanmadan önce 5 gruba ayrılmış olup, bunlardan birinci grup içerisine herhangi bir renklendirici madde ilavesi yapılmamış kontrol grubudur. İkinci grup karmin ile renklendirilmiştir. Diğer üç grup ise siyah havuç ekstraktı (SHE), kırmızı lahana ekstraktı (KLE) ve kırmızı üzüm kabuğundan (ÜKE) elde edilen ekstraktlar ile renklendirilmiştir.

Yapılan ön denemeler sonucunda duyuşal olarak en çok beğenilen örneklerin her üç antosiyanin kaynağı için de 100 mL dondurma mikesine 3 mg antosiyanin içeren ekstrakt ilavesiyle elde edildiği belirlenmiştir. Bu nedenle çalışma kapsamında dondurma mikslерinin 100 mL'si 3 mg antosiyanin içeren ekstrakt (SHE'ndan 0.9009 g, KLE'ndan 0.3778 g veya ÜKE'ndan 0.2775 g) veya standart boya olarak 3 mg karmin ilavesi yapılarak renklendirilmiştir.

Örnekler -18°C'de 3 ay süreyle depolanmış ve ayda bir örnek alınmıştır. Dondurma örneklerinin üretildiği gün (0. gün), örneklerin pH değeri, kuru madde ve kül miktarları da belirlenmiştir. Depolama süresince dondurmaların toplam fenolik madde miktarı ile antiradikal aktivitelerindeki değişimin yanı sıra renk değerleri ve duyuşal beğenileri de incelenmiştir.

2.2.5.2.1. pH tayini

Örneklerin pH değerleri, analiz öncesinde uygun tampon çözeltilerle kalibre edilen pH metre kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla dondurma miksinden 10 g tartılarak üzerine 90 mL saf su ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı yardımı ile homojen hale getirildikten sonra pH değeri saptanmıştır [26].

2.2.5.2.2. Kuru madde tayini

Dondurma örneklerinin kuru madde miktarlarının belirlenmesinde AOAC [149] standart prosedürü kullanılmıştır. Bu amaçla sabit tartıma getirilen ve daraları alınmış tartım kaplarına 1-2 g dondurma miksi tartılmış ve 105°C'deki etüvde (Nüve FN300, Türkiye) örnekler 4 saat süreyle kurutulmuşlardır. İşlem sonrasında desikatöre alınarak, oda sıcaklığına soğutulan örneklerin ağırlıkları belirlenerek, aşağıdaki formül yardımıyla % kuru madde miktarları hesaplanmıştır.

$$\%KM = [(G_2 - G) / (G_1 - G)] \times 100$$

% KM : Örneğin kuru madde yüzdesi

G : Tartım kabının darası

G₁ : Örnek+ tartım kabının darası

G₂ : Kurutma sonrası kuru örnek+ tartım kabının darası.

2.2.5.2.3. Kül miktarı tayini

Örneklerin kül miktarlarının belirlenmesinde Kurt ve ark. [166]'nın prosedürü izlenmiştir. Bu amaçla porselen krozeler 550°C sıcaklıkta sabit tartıma getirilerek, içlerine 1-2 g örnek tartılmış ve kül fırınında (Protherm PLF 12015 Electrical Furnaces, Türkiye) meydana gelebilecek sıçramaları önlemek amacıyla 105°C'de 3 saat tutularak, nemin uzaklaşması sağlanmıştır. Kuruyan örnekler daha sonra sıcaklık tedricen artırılarak 550°C'de siyah rezidü kalmayınca kadar yakılmıştır. İşlem sonunda krozeler desikatöre alınarak soğutulmuş ve aşağıdaki formül yardımı ile % kül miktarları belirlenmiştir.

$$\% \text{Kül} = [(A_2 - A) / (A_1 - A)] \times 100$$

% Kül : Örneğin kül yüzdesi

A : Porselen krozenin darası

A₁ : Örnek + porselen krozenin darası

A₂ : Yakma sonrası kül + porselen krozenin darası.

2.2.5.2.4. Toplam fenolik madde tayini

Dondurma örneklerinin toplam fenolik madde içeriği Hwang *et al.* [26] tarafından verilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla 10 g dondurma örneği üzerine 90 mL %50'lik metanol ilave edilerek 25°C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda 15 saat süreyle ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda örnekler vakum altında önce kaba filtreden ardından da Whatman No:4'ten süzülmüştür. Ekstrakte edilen bu örnekler toplam fenolik madde tayininin yanı sıra antiradikal aktivite tayininde de kullanılmıştır. Filtrattan bir tüpe 0.2 mL aktarılmış ve üzerine 1.8 mL saf su, 1 mL Folin-Ciocalteu ayırıcı ve 2 mL %20'lik doymuş Na₂CO₃ ilave edilmiştir. Örnekler oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra

spektrofotometrede (Varian Cary 100 Conc UV-Visible, Amerika) 735 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiştir.

Hesaplamada gallik asitten 0-250 mg/L sınırları düzeyinde bir seri standart çözeltileri hazırlanmış ve örneklerin toplam fenolik madde miktarları bu şekilde hazırlanan standart kurve yardımı ile hesaplanmıştır.

2.2.5.2.5. Antiradikal aktivite tayini

Dondurma örneklerinin antiradikal aktivitesi Hwang *et al.* [26] tarafından verilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. “2.2.5.2.4. Toplam fenolik madde tayini” başlığı altında anlatıldığı üzere ekstrakte edilen örneklerden 0.5 mL alınarak üzerine önce 1.2 mL metanol sonrasında ise metanolde hazırlanan 0.1 mM DPPH radikalinden 1.5 mL ilave edilerek, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Örneklerin 517 nm’de absorbans değerleri belirlenmiş olup, DPPH radikalini inhibisyon kapasitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\% \dot{I} = 100 \times [(K-A)/K] \times 100$$

- İ : Örnek tarafından inhibe edilen DPPH, %
 K : Örnek içermeyen DPPH’ in absorbansı
 A : Örneğin absorbansı.

2.2.5.2.6. Renk Tayini

Dondurma örneklerinin renk analizi “2.2.5.1.8. Renk tayini” başlığı altında belirtildiği şekilde yapılmıştır.

2.2.5.2.7. Duyusal Analiz

Dondurma örneklerinde “2.2.5.1.9. Duyusal analiz” başlığı altında verildiği şekilde yapılmıştır.

2.2.5.3. Lokum

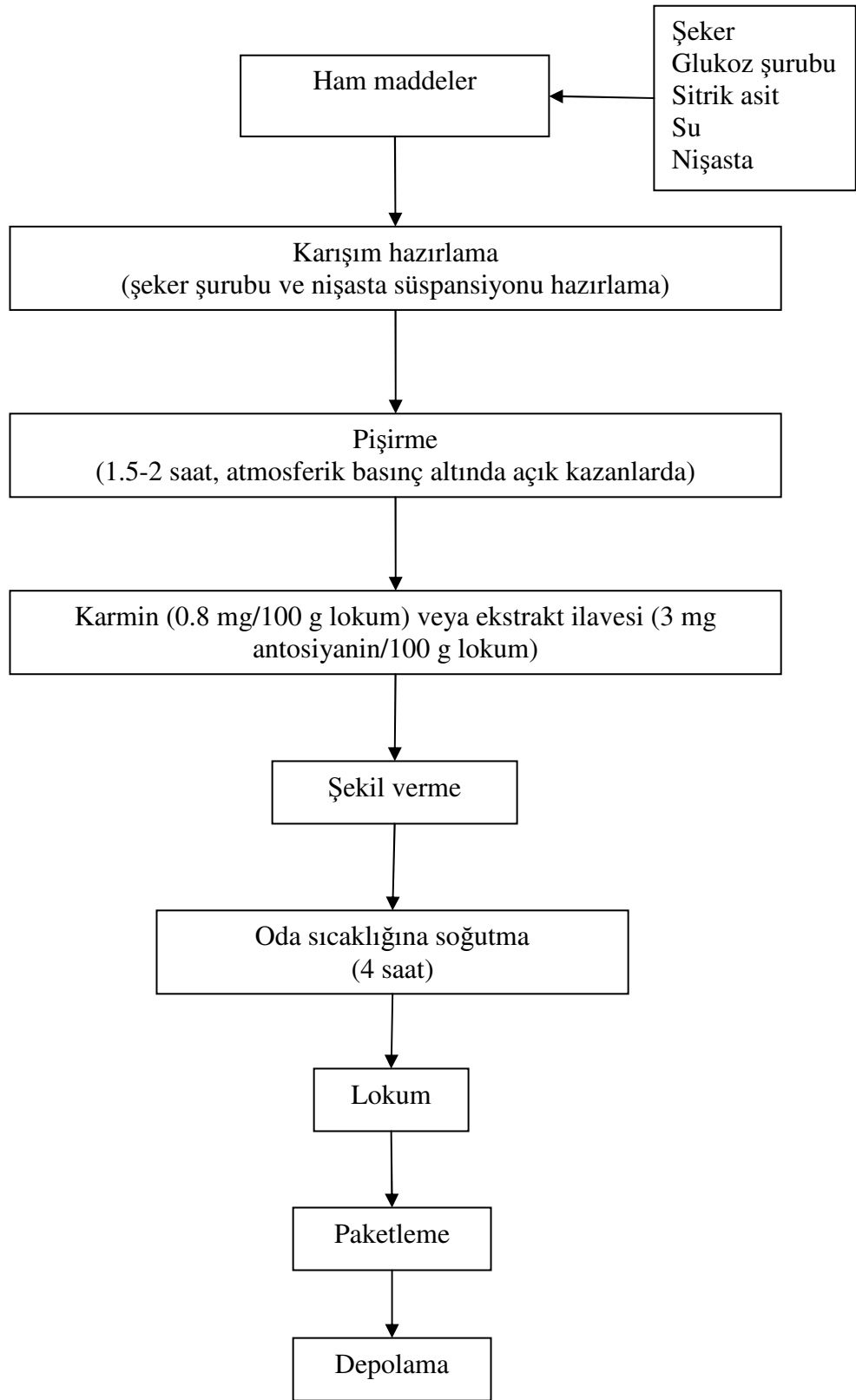
Lokum örnekleri, Çadırcı Gıda San. Tic. Ltd. Şti. (Kayseri) üretim tesislerinde, bu firma tarafından lokum imalatında kullanılan formülasyon kullanılarak üretilmiş ve üretim akış şeması Şekil 2.3.'te verilmiştir [167]. Çalışma kapsamındaki lokum üretiminde %8.1 nişasta, %27.04 su, %54.09 glukoz şurubu, %10.82 şeker ve %0.04 sitrik asitten oluşan lokum formülasyonu kullanılmıştır. Bu amaçla öncelikle şeker bir miktar suda çözündürülerek, bakır kaynatma kazanına koyulmuş ve karıştırılarak ısıtılmıştır. Sitrik asit ayrı bir kapta bir miktar suda çözündürülmüş ve suyun geri kalan kısmında ise nişasta süspansiyone hale getirilmiştir. Sonra nişasta süspansiyonu ve asit de şeker çözeltisine katılmış ve karışım karıştırılarak kaynatılmıştır. Kitle belirli bir kıvama erişince (kazandan alınıp soğutulan bir miktar örnek parmaklar arasında yuvarlanıp parmaklar açıldığında örnek iki parmağa birden yapışıp uzamadığı, şeklini koruyarak parmaklardan birinde kaldığı zaman), ön deneme ile belirlenen miktar olan 3 mg antosiyanin 100 g lokum örneğine ilave edilerek, örnekler homojen bir renk elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Bu amaçla 60° brikse ayarlanan ekstraktlardan SHE'ndan 1.5102 g, KLE'ndan 0.6351 g veya ÜKE'ndan 0.4792 g ilave edilmiştir. Bir grup örnek (kontrol grubu) ise 8 ppm (8 mg karmin/1000 g lokum) karmin ile renklendirilmiştir. Sonrasında plastik kaplara 150'şer g örnek koyulmuş ve oda sıcaklığında soğutulduktan sonra bu örnekler 20°C'deki bir inkübatörde (Nuve ES 110) 6 ay süreyle depolanmış ve analizler için ayda bir örnek alınmıştır. Bu örneklerde renk analizi ile duyusal analizler yapılmıştır.

2.2.5.3.1. pH analizi

5 g örnek üzerine 10 mL saf su ilave edilerek homojen hale getirilen örneklerin pH değerleri pH metre kullanılarak belirlenmiştir [168].

2.2.5.3.2. Kuru madde analizi

Örnekler sabit tartıma gelene kadar 70°C'deki vakumlu etüvde (Nüve EV 018, Türkiye) kurutulmuş ve % kuru madde miktarları belirlenmiştir [148].



Şekil 2.3. Standart lokum üretim akış şeması

2.2.5.3.3. Kül miktarı tayini

Lokum örnekleri öncelikle meydana gelebilecek sızramaları önlemek amacıyla 105°C’de ön kurutma yapılarak örneklerden nemin uzaklaşması sağlanmıştır. Kuruyan örnekler daha sonra sıcaklık tedricen arttırılarak 550°C sıcaklıkta örnekte siyah rezidü kalmayınca kadar yakılmış ve örneklerin % kül miktarları belirlenmiştir [148].

2.2.5.3.4. Renk tayini

Lokum örneklerinin renk analizi “2.2.5.1.8. Renk tayini” başlığı altında belirtildiği şekilde yapılmıştır.

2.2.5.3.5. Duyusal analiz

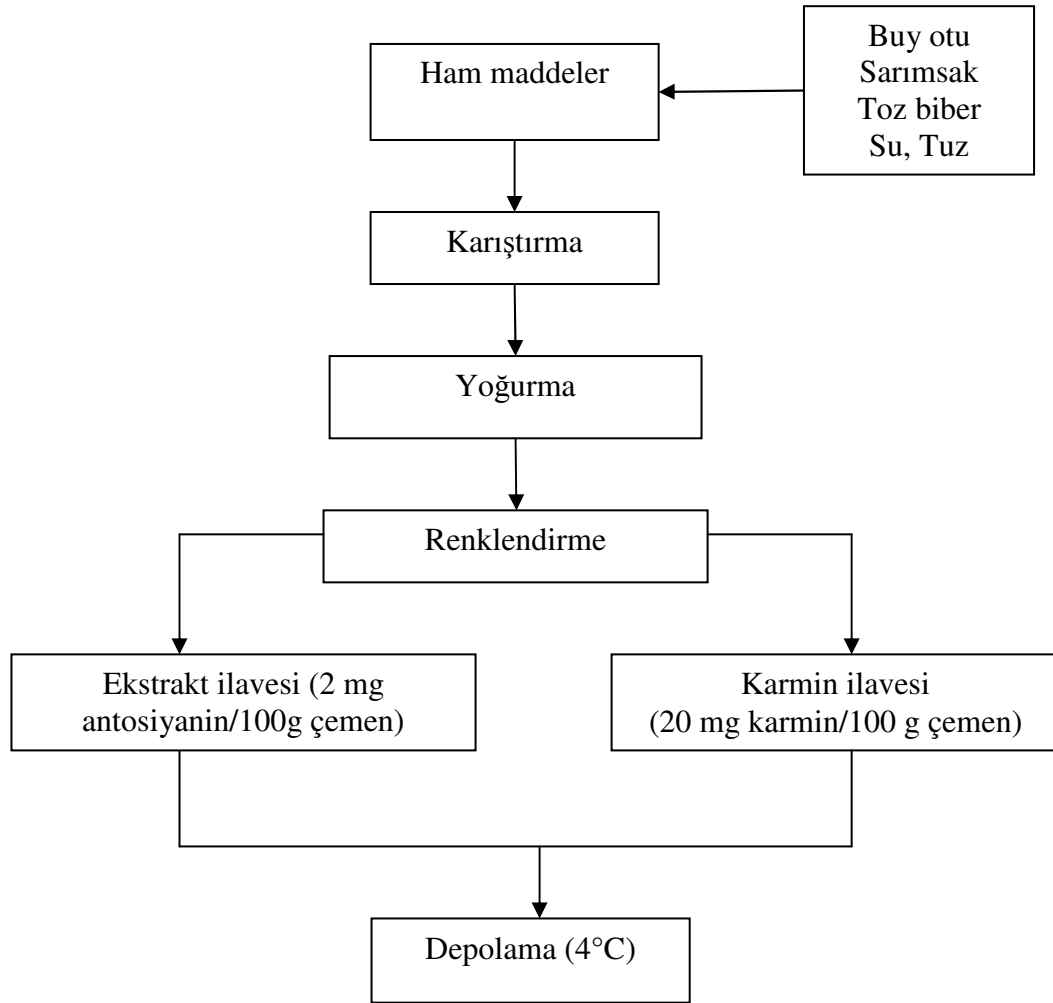
Lokum örneklerinin duyusal analizleri “2.2.5.1.9. Duyusal analiz” başlığı altında aktarıldığı şekilde yapılmıştır.

2.2.5.4. Çemen

Yetim *et al.* [169]’ın çemen formülasyonunda bazı modifikasyonlar yapılarak üretilen çemen örnekleri, %28.1 buyotu, %20.4 sarımsak, %8.7 acı toz biber, %1 tuz ve %41.8 oranında suyun karıştırılıp yoğrulması ile elde edilmiştir (Şekil 2.4.).

Yapılan ön denemeler sonucunda 2 mg antosiyanin içeren ABE ilave edilmiş çemen örneklerinin duyusal olarak en çok beğenilen örnekler olduğu saptanmış ve çalışmada çemenlerin renklendirilmesinde bu konsantrasyon kullanılmıştır. Bu amaçla saf su ile 60° brikse ayarlanan ekstraktlardan SHE’ndan 1.0068 g, KLE’ndan 0.4234 g veya ÜKE’ndan 0.3195 g ilave edilmiştir. Bir grup örneğe renklendirici ilavesi yapılmazken, bir diğer gruba ise 0.020 g/100 g çemen hamuru düzeyinde karmin ilavesi yapılarak renklendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Karmin konsantrasyonu, halen piyasaya arz edilen çemenlerdeki miktar baz alınarak seçilmiştir. Çemen örneklerinden 50’şer g alınarak küçük plastik kaplara yerleştirilmiş ve ambalajların üzerleri streç filmle sıkı bir şekilde kapatılmıştır. Çemen örneklerinin 0. gün pH değerleri, kuru madde ve kül miktarları belirlenmiştir. Yine 4°C sıcaklıktaki buzdolabında (Vestel, Türkiye) 3 hafta süreyle depolanan örneklerde 0., 1., 3., 5., 7., 14. ve 21. günlerde renk analizleri

yapılmıştır. Yapılan ön denemelerde çemen örneklerinin duyuusal anlamda farklılık arz etmemesi nedeni ile çalışmada duyuusal analiz yapılmamasına karar verilmiş ve bu analiz deneme planından çıkarılarak, depolama süresince sadece renk analizler yapılmıştır.



Şekil 2.4. Standart çemen üretim akış şeması

2.2.5.4.1. pH analizi

10 g örnek üzerine 10 mL saf su ilave edilerek homojen hale getirilen örneklerin pH değerleri pH metre kullanılarak belirlenmiştir [169].

2.2.5.4.2. Kuru madde analizi

Örnekler sabit tartıma gelene kadar 105°C'deki etüvde kurutulmuş ve % kuru madde miktarları belirlenmiştir [169].

2.2.5.4.3. Kül miktarı tayini

Çemen örnekleri öncelikle meydana gelebilecek sızramaları önlemek amacıyla 105°C’de 3 saat tutularak, örneklerden nemin uzaklaşması sağlanmıştır. Kuruyan örnekler daha sonra sıcaklık tedricen artırılarak 650°C sıcaklıkta örnekte siyah rezidü kalmayınca kadar yakılmış ve örneklerin % kül miktarları belirlenmiştir [148].

2.2.5.4.4. Renk tayini

Çemen örneklerinin renk analizi “2.2.5.1.8. Renk tayini” başlığı altında belirtildiği şekilde yapılmıştır.

2.2.6. İstatistiksel analiz

Araştırma, mikrobiyolojik analizlerde ve ekstraksiyon uygulamalarında 2 tekerrürlü, diğer aşamalarda ise 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemenin farklı ekstraksiyon uygulamalarının ABE’lerin biyolojik özellikleri üzerine olan etkisinin belirlenmesi aşamasında; 3 farklı antosiyanin kaynağı (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu), 3 farklı ekstraksiyon yöntemi (klasik ekstraksiyon yöntemi, PEF ve ultrason teknikleri) ve 2 ayrı çözügen (su ve AES) kullanılmıştır. Bu aşamada tüm materyaller kendi içerisinde değerlendirilmiştir. Tampon çözeltilerde antosiyaninlerin stabilitelerinin belirlendiği kısımda; 3 farklı ABE (klasik yöntemle elde edilen SHE, KLE ve ÜKE), 2 farklı pH (3 ve 4), 1 sıcaklık (90°C) ve 7 ısı işlem süresi (0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalar) esas alınmıştır. Çalışmanın diğer bir aşaması olan gıdaların renklendirilmesi kısmında ilk ürün grubu elma sularıdır. Elma sularının renklendirilme aşamasında, 3 farklı ABE (klasik yöntemle elde edilen SHE, KLE ve ÜKE) ile renklendirilen elma suları 3 farklı sıcaklıkta (4, 20 ve 30°C) depolanmışlardır. Depolama süresi sıcaklığa bağlı olarak değişmiş olup, 4°C’de 7, 20°C’de 7 ve 30°C’de ise 5 farklı depolama süresi esas alınmıştır. Renklendirilen diğer ürün olan dondurmalarda ise 3 farklı ABE (klasik yöntemle elde edilen SHE, KLE ve ÜKE) ve karmin olmak üzere 4 farklı renklendirici ajan, 1 sıcaklık (-18°C) ve 4 depolama süresi (0., 30., 60. ve 90. günler) esas alınmıştır. Lokum örneklerinde de yine 3 farklı ABE (klasik yöntemle elde edilen SHE, KLE ve ÜKE) ve karmin olmak üzere 4 farklı renklendirici ajan, 1 sıcaklık (20°C) ve 7 depolama süresi (0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günler) esas alınmıştır. Renklendirilen son ürün grubu olan çemende de yine 3

farklı ABE (klasik yöntemle elde edilen SHE, KLE ve ÜKE) ve karmin olmak üzere 4 farklı renklendirici ajan, 1 sıcaklık (4°C) ve 7 depolama süresi (0, 1, 3, 5, 7, 14 ve 21. günler) esas alınmıştır. Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde tek faktör ve çift faktör Varyans analizi ve DUNCAN Çoklu Karşılaştırma Yöntemi uygulanmıştır. Analizlerde SAS (versiyon 8.2) istatistik programından yararlanılmıştır [170].

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Antosiyanin Kaynağı Materyallerin Nitelikleri

Araştırmada kullanılan antosiyanin kaynaklarının incelemeye alınan bazı özellikleri aşağıda verilmiştir.

Siyah Havuç: Araştırma için alınan siyah havuçlardan rasgele 15 adet örnek seçilerek, bu havuçların ağırlıkları, boy ve iki farklı yerinden çap ölçümleri yapılmıştır (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Siyah havuçların ağırlık, boy ve çapları

Örnek No	Ağırlık (g)	Boy (mm)	Çap (mm)	
			Alt kısım	Orta kısım
1	155	235	43.51	21.40
2	95	230	33.87	23.32
3	75	205	29.95	19.17
4	140	180	40.81	27.47
5	215	260	46.34	29.37
6	125	200	40.12	25.77
7	135	245	39.77	23.16
8	300	260	55.32	30.96
9	75	180	33.18	18.92
10	175	185	43.25	33.82
11	65	165	30.58	20.89
12	110	170	40.90	23.26
13	110	295	33.33	18.43
14	140	300	40.70	18.32
15	75	248	29.60	18.98
Maksimum	300.00	300.00	55.32	33.82
Minimum	65.00	165.00	29.60	18.32
Ortalama	132.67	223.90	38.75	23.55

Tablo 3.1.'de de görülebildiği gibi araştırmada kullanılan siyah havuç örneklerinin ağırlıklarının 65 ile 300 g aralığında olduğu belirlenirken, bunların boylarının ise 165 ile

300 mm aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Alt kısım (u kısım) ve orta kısımlarının ortalama çapları dikkate alındığında siyah havuç örneklerinin genel olarak orta kalınlıkta oldukları görülmektedir.

zm Posası: Araştırmada kullanılan üzüm posaları laboratuara getirildiğinde nem kaybını engellemek amacı ile hiç zaman kaybetmeden 3 adet 1'er kg ağırlığında posa tartılarak; kabuk, sap ve çekirdek kısımları özenle ayrılmıştır. Bir kg'lık üzüm posasının kabuk miktarı, 545.0 ± 7.1 g olarak belirlenirken, çekirdek ve sap miktarlarının sırasıyla 280.0 ± 10.8 g ve 175.0 ± 8.2 g olduğu bulunmuştur. Sonuçlar zm posasının yaklaşık %54.5'inin kabuk, %28'inin çekirdek ve %17.5'inin ise sap olduğunu ortaya koymaktadır.

Kırmızı Lahana: Araştırma için laboratuara getirilen kırmızı lahanalardan rastgele 10 adet örnek seçilerek, lahanaların ağırlıkları, boy ve iki farklı yerinden çap ölümleri yapılmıştır (Tablo 3.2.).

Tablo 3.2. Kırmızı lahanaların ağırlık, boy ve çapları

rnek No	Ağırlık (g)	Boy (mm)	ap (mm)	
			Orta kısım	U kısım
1	1295	185	146.25	50.13
2	1260	205	126.94	41.98
3	1350	210	152.42	42.59
4	1240	180	136.88	53.62
5	1120	180	130.55	38.42
6	1470	195	138.98	46.57
7	1515	200	139.82	49.31
8	1040	180	125.40	45.75
9	955	155	114.23	50.75
10	1250	195	120.45	42.30
Maksimum	1515.00	210.00	152.42	53.62
Minimum	955.00	155.00	114.23	38.42
Ortalama	1249.50	187.50	133.19	46.14

Kırmızı lahanaların ortalama olarak 1249.50 g ağırlığında olduğu belirlenmiştir. Maksimum ve minimum boyları ise 210.00 mm ve 155.00 mm olarak belirlenen kırmızı lahana örneklerinin orta kısımlarının ortalama çaplarının 133.19 mm olduğu saptanmıştır. Tüm bu değerler dikkate alındığında araştırma kapsamında kullanılan kırmızı lahana örneklerinin genel olarak orta boyda oldukları sonucuna ulaşılmaktadır.

3.2. Antosiyanin Kaynaklarının Bazı Özellikleri

Bu araştırmada kullanılan antosiyanin kaynaklarında Tablo 3.3.'te belirtilen diğer bazı kalite analizleri yapılarak, materyallerin bazı kimyasal özellikleri ve genel bileşim unsurları belirlenmiştir.

Tablo 3.3. Siyah havuç, kırmızı lahana ve kırmızı üzüm kabuğunun bazı özellikleri

Analitik özellikler	Siyah havuç	Kırmızı lahana	Üzüm kabuğu
% Kuru Madde	14.05 ^B ±0.02	8.15 ^C ±0.07	47.80 ^A ±0.20
% Kül	0.96 ^B ±0.01	0.77 ^C ±0.01	3.80 ^A ±0.04
% Titrasyon asitliği*	0.16 ^B ±0.02	0.13 ^B ±0.00	1.06 ^A ±0.01
pH	5.79 ^B ±0.00	6.26 ^A ±0.01	3.51 ^C ±0.04
% Toplam şeker	7.28 ^A ±0.03	5.26 ^B ±0.03	3.70 ^C ±0.17
% İndirgen şeker	2.33 ^C ±0.03	5.00 ^A ±0.09	3.33 ^B ±0.01

*Havuç ve lahanada susuz sitrik asit; üzüm kabuğunda tartarik asit cinsinden hesaplanmıştır ^{AB} aynı satırdaki büyük harfler renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

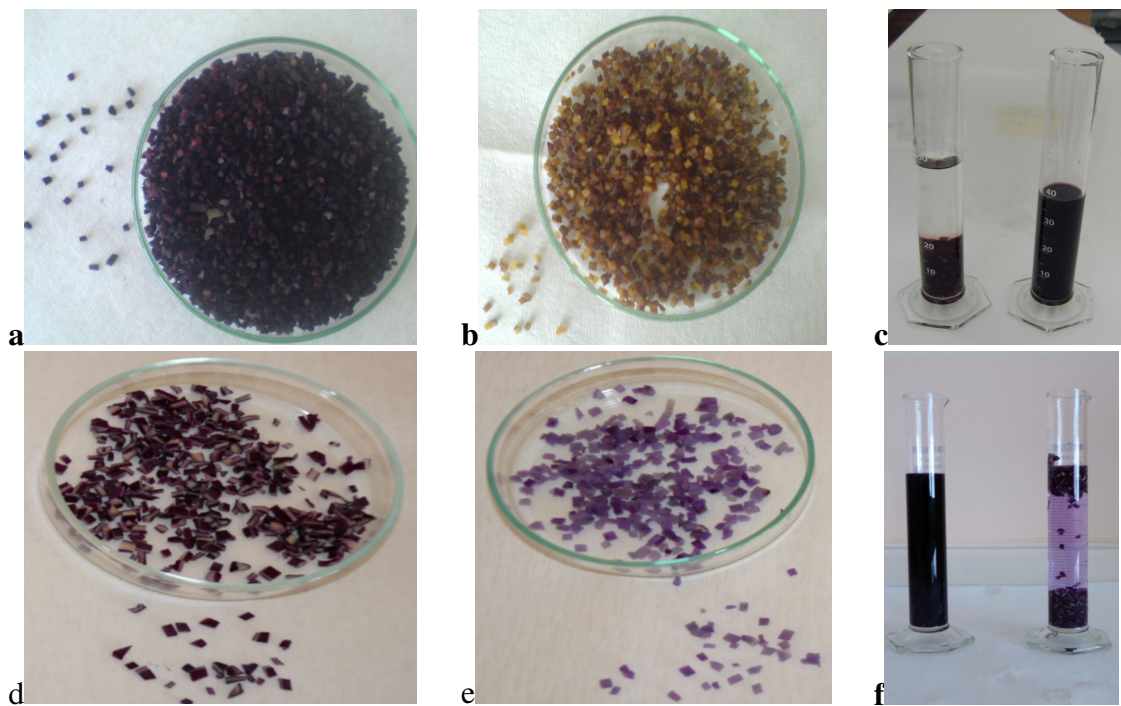
Örneklerin % kuru madde, % kül, % titrasyon asitliği, pH, % toplam şeker ve % indirgen şeker miktarları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu saptanmıştır. Örnekler arasında en yüksek kuru madde içeriğine %47.80 değeri ile üzüm kabuklarının sahip olduğu belirlenirken, siyah havuç ve kırmızı lahana örneklerinin % kuru madde değerleri sırası ile %14.05 ve %8.15 olarak tespit edilmiştir. En yüksek kül içeriği de yine üzüm kabuklarında saptanırken, en düşük kül miktarının %0.77 ile kırmızı lahana örneklerine ait olduğu belirlenmiştir. Yine en yüksek titrasyon asitliğinin %1.06 ile üzüm kabuğu örneklerine ait olduğu belirlenirken, en düşük pH değerinin de bu örneklere ait olduğu saptanmıştır. Siyah havuçların %7.28 seviyesinde toplam şeker içerdiği belirlenirken, bunu sırası ile kırmızı lahana ve üzüm kabuğu örneklerinin izlediği tespit edilmiştir.

3.3. Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen ABE'lerin Bazı Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında ABE üretiminde hammadde olarak kullanılan siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğundan klasik ekstraksiyon yöntemi, PEF (üzüm kabuğu hariç) ve ultrason teknikleri ile ekstraktlar elde edilmiştir. Bu amaçla çözgen olarak saf su veya %0.01 HCl ile asitlendirilmiş (1:1) etanol:su (AES) kullanılmıştır. PEF uygulamalarında su haricindeki çözgenlerin elektrik iletkenliğini olumsuz etkileyebileceği düşünüldüğünden çözgen olarak sadece saf su kullanılmış ancak ultrason ve klasik

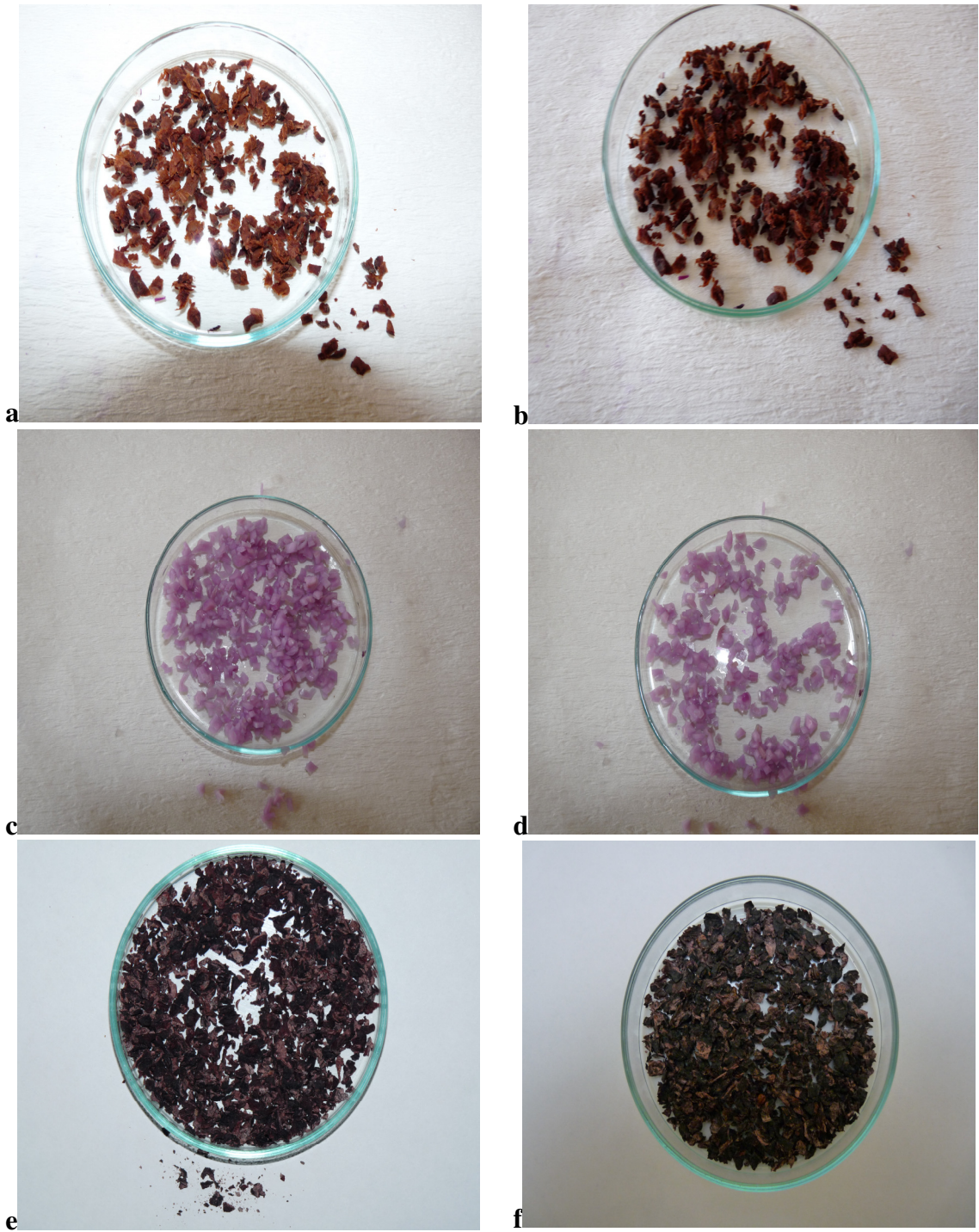
ekstraksiyon uygulamalarında da saf su kullanılarak ekstraktlarda çözügen farklılığından kaynaklanabilecek farklar elimine edilmeye çalışılmıştır.

Siyah havuç ve kırmızı lahana örneklerine PEF yöntemi uygulandığında dokularda meydana gelen değişimler Şekil 3.1.'de verilmiştir. Görüldüğü üzere PEF uygulaması ile özellikle siyah havuç örneklerinin ekstraksiyondan sonra kalan posalarının antosiyanin içermediği tahmin edilmektedir. Nitekim rengi kahve-sarı olup, başlangıçtaki renginden çok farklı olduğu görülmektedir.

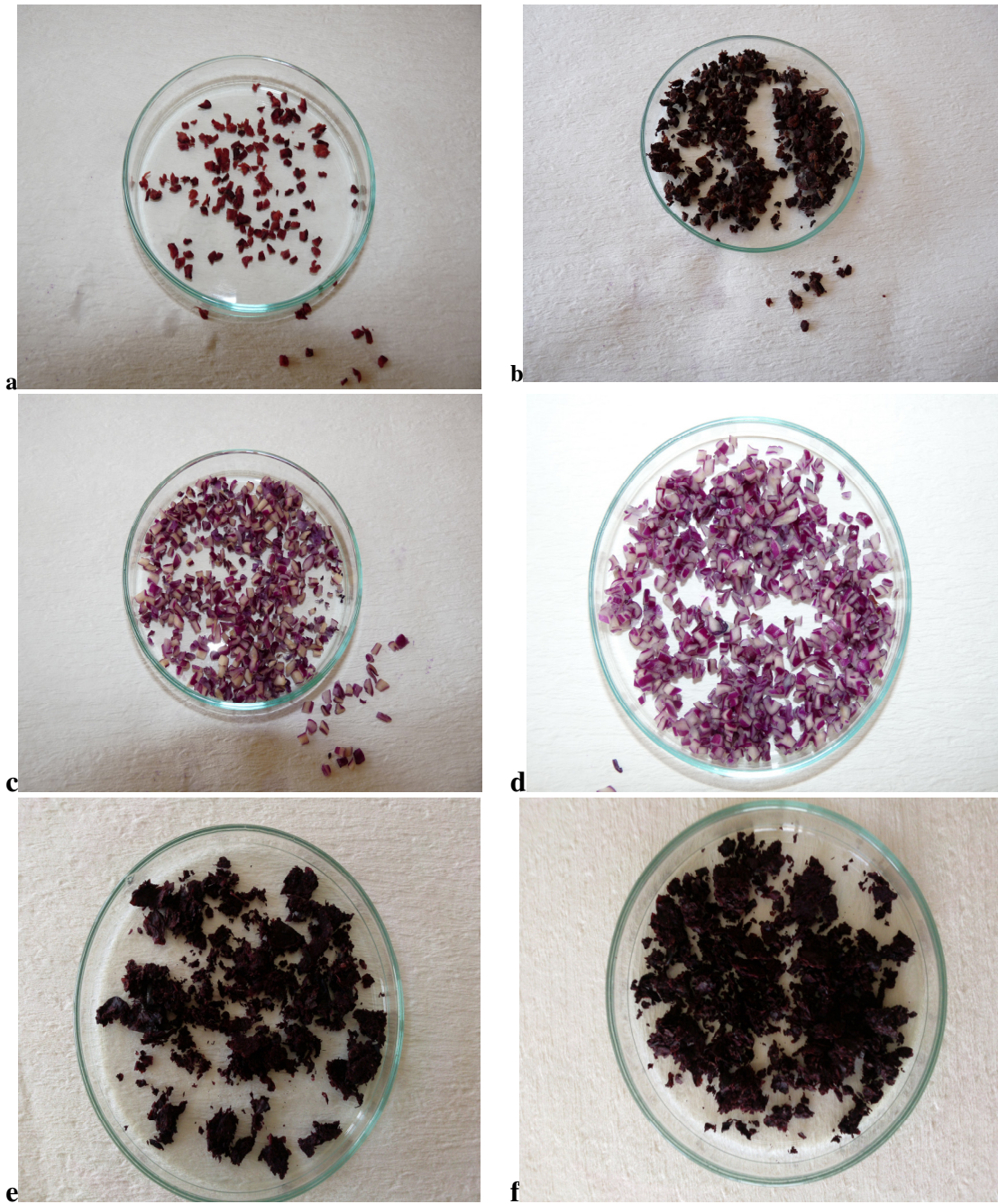


Şekil 3.1. Siyah havuç ve kırmızı lahana örneklerine PEF uygulaması [a) Siyah havucun PEF işleminden önceki hali, b) Siyah havucun PEF uygulanmış hali, c) Sağdaki mezürde PEF uygulaması sonrası elde edilen ekstrakt, soldaki mezürde ise aynı hacimde su ile muamele edilen örnek d) Kırmızı lahananın PEF işleminden önceki hali, b) Kırmızı lahananın PEF uygulanmış hali, c) Soldaki mezürde PEF uygulaması sonrası elde edilen ekstrakt, sağdaki mezürde ise aynı hacimde su ile muamele edilen örnek görülmektedir]

Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarına ultrason ve klasik ekstraksiyon uygulanması ve çözügen olarak AES ve sadece suyun kullanılması halinde örneklerin son halleri sırası ile Şekil 3.2.'de ve Şekil 3.3.'te verilmiştir.



Şekil 3.2. Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu örneklerinin ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ve çözen olarak AES kullanılması halinde arta kalan posalarının görünümü [a) Siyah havuç ultrason, b) Siyah havuç klasik, c) Kırmızı lahana ultrason, d) Kırmızı lahana klasik, e) Üzüm kabuğu ultrason, f) Üzüm kabuğunun klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulandıktan sonraki görünümleri]



Şekil 3.3. Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu örneklerinin ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ve çözgen olarak suyun kullanılması halinde arta kalan posalarının görünümü [a) Siyah havuç ultrason, b) Siyah havuç klasik, c) Kırmızı lahana ultrason, d) Kırmızı lahana klasik, e) Üzüm kabuğu ultrason, f) Üzüm kabuğunun klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulandıktan sonraki görünümü]

Şekil 3.2.'den ve Şekil 3.3.'ten de görülebileceği gibi siyah havuç ve üzüm kabuğunun AES veya sadece suyun çözgen olarak kullanılması durumunda ekstraksiyonlar sonunda arta kalan posalar arasında renk açısından pek bir farklılık göze çarpmamaktadır. Kırmızı lahanaların ekstraksiyonunda AES'nin çözgen olarak kullanılması halinde ise

sadece su kullanılan ekstraksiyonlar sonunda ortaya çıkan atıklardan daha açık renk atıklar elde edildiği görülebilmektedir. Genel olarak ultrason tekniği veya klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulandıktan sonra arta kalan posaların görünümü de birbirinden farklı görünmemektedir.

3.3.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin verimleri

PEF, ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile çözgen olarak su veya AES'nin kullanılması sonucu elde edilen ekstraktların verimleri Tablo 3.4.'te görülmektedir.

Tablo 3.4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin % verimleri

	Çözgen	Ekstraksiyon şekli		
		PEF	Ultrason	Klasik
Siyah Havuç	Su	8.38 ^{BA} ±0.02	8.67 ^{Ab} ±0.17	8.02 ^{Ba} ±0.10
	AES*	-**	9.25 ^{Aa} ±0.03	7.86 ^{Ba} ±0.08
Kırmızı Lahana	Su	5.64 ^A ±0.01	1.21 ^{Bb} ±0.08	1.82 ^{Bb} ±0.36
	AES	-	6.45 ^{Aa} ±0.24	5.26 ^{Ba} ±0.05
Üzüm Kabuğu	Su	-	6.32 ^{Aa} ±0.06	6.36 ^{Ab} ±0.06
	AES	-	6.40 ^{Aa} ±0.08	6.54 ^{Aa} ±0.00

PEF: Vurgulu elektrik alan, AES *: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı. **: Ekstraksiyon gerçekleştirilememiştir. ^{AB}: Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahanaya ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı satırdaki büyük harfler ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05). ^{ab} Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahanaya ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı sütundaki küçük harfler ise ekstraksiyon yöntemlerine göre çözgenlerin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05).

Çalışma kapsamında incelenen antosiyanin kaynaklarından siyah havucun ultrason yöntemi ile ekstraksiyonunda çözgen olarak AES'nin kullanılması halinde verim %9.25 iken, aynı yöntemde suyun çözgen olarak kullanılması halinde verim %8.67'dir. Siyah havucun PEF ekstraktlarının verimi ise %8.38 seviyesinde belirlenmiştir. Kırmızı lahananın ultrason ekstraksiyonunda çözgen olarak AES ekstraktlarında verim %6.45 iken, su ekstraktında ise %1.21 düzeyindedir. Özellikle kırmızı lahananın ultrason ve klasik ekstraksiyon uygulamalarının su ekstraktlarında verim son derece düşüktür. Ancak kırmızı lahanada ekstraksiyon yöntemi olarak PEF uygulandığında verimin %5.64'e yükseldiği ayrıca da ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen su ekstraktlarına kıyasla verimin çok yüksek olduğu saptanmıştır. Üzüm kabuğunun ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemlerinde çözgen olarak AES kullanılması durumunda ekstraktların verimlerinin su ekstraktlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tablo 3.4.'ten de görülebileceği gibi antosiyanin ekstraksiyonunda

çözgen olarak AES kullanıldığında ekstraktların veriminin su ekstraktlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (siyah havucun klasik ekstraktı haricinde). Siyah havucun klasik ve üzüm kabuğunun ultrason ekstraktları dışında, ekstraksiyonda kullanılan çözgenin verim üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

3.3.2. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin toplam fenolik madde içerikleri

Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarına PEF, ultrason ve klasik ekstraksiyon uygulanması sonucu elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri (mg GAE/g kuru ekstrakt) Tablo 3.5.'te verilmiştir. Antosiyanin kaynakları arasında en yüksek fenolik madde içeriğinin ÜKE'larına ait olduğu belirlenmiştir. Üzüm kabuğundan fenolik madde ekstraksiyonunda ultrason ve klasik ekstraksiyon uygulamaları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p>0.05$) belirlenirken, kullanılan çözgenin toplam fenolik madde miktarı üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Siyah havuç örneklerine PEF ve klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulandığında toplam fenolik madde miktarlarının sırası ile 23.84 mg GAE/g kuru ekstrakt ve 21.89 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeylerinde olduğu belirlenmiştir. Siyah havuç örneklerinin toplam fenolik madde içeriği açısından PEF ekstraktlarının klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlardan istatistiksel olarak farklı olmadığı ($p>0.05$) bulunmuştur. Siyah havucun su ekstraktları arasında en yüksek toplam fenolik madde içeriği ultrason tekniği ile elde edilen ekstraktlarda 25.99 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde tespit edilmiştir. Kırmızı lahanalara PEF uygulandığında elde edilen ekstraktın ise ultrasonik ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen su ekstraktlarından biraz daha yüksek fenolik madde içerdiği (25.18 mg GAE/g kuru ekstrakt) ve diğer yöntemlerle elde edilen ekstraktlardan istatistiksel olarak farklı ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Ekstraksiyonda kullanılan çözgenin etkisi tüm örneklerde istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup ($p<0.05$), fenolik ekstraksiyonunda çözgen olarak AES kullanıldığında ekstraktların çok daha fazla fenolik madde içerdiği saptanmıştır.

Tablo 3.5. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların fenolik bileşimleri (mg GAE/g kuru ekstrakt)

	Çözgen	Ekstraksiyon şekli		
		PEF	Ultrason	Klasik
Siyah Havuç	Su	23.84 ^B ±0.48	25.99 ^{Ab} ±0.63	21.89 ^{Bb} ±0.86
	AES*	-**	35.44 ^{Aa} ±0.62	31.55 ^{Ba} ±0.70
Kırmızı Lahana	Su	25.18 ^A ±1.51	21.71 ^{Bb} ±0.39	20.68 ^{Bb} ±0.70
	AES	-	39.88 ^{Aa} ±0.61	38.72 ^{Aa} ±0.51
Üzüm Kabuğu	Su	-	77.56 ^{Ab} ±0.38	78.83 ^{Ab} ±1.19
	AES	-	100.20 ^{Aa} ±1.45	101.90 ^{Aa} ±1.42

AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı. -**: Ekstraksiyon gerçekleştirilememiştir. PEF: Vurgulu elektrik alan. ^{AB}: Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı satırdaki büyük harfler ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05). ^{ab} Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı sütundaki küçük harfler ise ekstraksiyon yöntemlerine göre çözenlerin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05).

3.3.3. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların toplam antosiyanin miktarları

Tablo 3.6.'da farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'ların antosiyanin içerikleri verilmiştir (mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt). Tüm örneklerde ekstraksiyonda kullanılan çözen farklılığının ekstraktların antosiyanin miktarı üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu saptanırken, suya kıyasla AES'nin antosiyaninleri daha iyi ekstrakte ettiği belirlenmiştir. Siyah havucun PEF ile elde edilen 1 g kuru ekstraktında 1.95 mg siy-3-glikozit saptanmışken, siyah havucun ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarında sırası ile 1.68 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt ve 1.37 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeylerinde antosiyanin içerdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde PEF ile elde edilen kırmızı lahana ekstraktının 6.85 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeyinde antosiyanin içerdiği ve diğer ekstraksiyon yöntemlerinden daha yüksek antosiyanin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Kırmızı lahana antosiyanin materyali olarak kullanıldığında, ekstraksiyon yöntemleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu saptanmıştır. Örnekler arasında en yoğun antosiyanin miktarının 16.17 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeyi ile AES'nin çözen olarak kullanıldığı üzüm kabuğunun ultrason ekstraktlarına ait olduğu belirlenmiştir. Üzüm kabuğunun su ekstraktlarının, yöntem olarak ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri uygulanması halinde antosiyanin miktarlarının sırası ile 6.96 ve 6.93 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeyinde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.6. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin toplam antosiyanin miktarları (mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt)

	Çözgen	Ekstraksiyon şekli		
		PEF	Ultrason	Klasik
Siyah Havuç	Su	1.95 ^A ±0.04	1.68 ^{Bb} ±0.01	1.37 ^{Cb} ±0.04
	AES*	-**	4.62 ^{Aa} ±0.12	3.33 ^{Ba} ±0.05
Kırmızı Lahana	Su	6.85 ^A ±0.09	5.88 ^{Bb} ±0.20	3.83 ^{Cb} ±0.08
	AES	-	9.15 ^{Aa} ±0.50	7.94 ^{Ba} ±0.18
Üzüm Kabuğu	Su	-	6.96 ^{Ab} ±0.03	6.93 ^{Ab} ±0.02
	AES	-	16.17 ^{Aa} ±0.32	10.81 ^{Ba} ±0.15

AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı. -**: Ekstraksiyon gerçekleştirilememiştir. PEF: Vurgulu elektrik alan. ^{AB}: Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı satırdaki büyük harfler ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05). ^{ab} Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı sütundaki küçük harfler ise ekstraksiyon yöntemlerine göre çözümlerin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05).

3.3.4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antioksidan kapasiteleri

Farklı ekstraksiyon yöntemleri ve çözümlerin kullanılması halinde ekstraktların antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.7.'de verilmiştir. 1 g kuru ekstraktında 54.50 mg askorbik asit eşdeğeri (AAE) antioksidan kapasiteye sahip olan üzüm kabuğunun ultrason ekstraktlarının, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenirken, en düşük antioksidan aktivite ise 1 g kuru ekstraktında 27.92 mg AAE içeren PEF ile ekstrakte edilmiş siyah havuç ekstraktlarında saptanmıştır. ÜKE'ndan sonra PEF yöntemi ile elde edilen kırmızı lahana ekstraktlarının 41.74 mg AAE/g kuru ekstrakt düzeyi ile yüksek bir antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir. Ultrason tekniği ile elde edilen kırmızı lahananın hem su hem de etanol:su ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin, klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarından daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 3.7.). Aynı durumun üzüm kabuğu için de geçerli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.7. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antioksidan kapasiteleri (mg AAE/g kuru ekstrakt)

	Çözgen	Ekstraksiyon şekli		
		PEF	Ultrason	Klasik
Siyah Havuç	Su	27.92 ^C ±0.32	28.95 ^{Ba} ±0.69	32.89 ^{Aa} ±0.46
	AES*	-**	32.98 ^{Aa} ±1.10	29.56 ^{Ab} ±1.78
Kırmızı Lahana	Su	41.74 ^A ±0.53	35.13 ^{Ba} ±0.27	30.46 ^{Ca} ±0.66
	AES	-	34.20 ^{Aa} ±0.42	30.60 ^{Ba} ±0.76
Üzüm Kabuğu	Su	-	44.50 ^{Ab} ±0.78	42.47 ^{Ab} ±0.69
	AES	-	54.50 ^{Aa} ±0.15	51.84 ^{Ba} ±0.27

PEF: Vurgulu elektrik alan, AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı. **: Ekstraksiyon gerçekleştirilememiştir. ^{AB}: Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı satırdaki büyük harfler ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05). ^{ab} Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı sütundaki küçük harfler ise ekstraksiyon yöntemlerine göre çözenlerin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05).

3.3.5. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antiradikal kapasiteleri

ABE'lerin DPPH radikalının %50'sini inaktive edebilmeleri için gerekli ekstrakt miktarları ($\mu\text{g/mL}$) IC_{50} değeri olarak Tablo 3.8.'de yer almaktadır. Genel olarak AES ekstraktlarının su ekstraktlarından daha yüksek antiradikal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiş olup, en yüksek antiradikal aktivitenin kırmızı lahanaların klasik yöntemle elde edilen AES ekstraktları tarafından sergilendiği saptanmıştır (102.62 $\mu\text{g/mL}$). En düşük antiradikal kapasitenin ise IC_{50} değeri 177.40 $\mu\text{g/mL}$ olan klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen siyah havucun su ekstraktları tarafından sergilendiği tespit edilmiştir. Siyah havucun PEF yöntemi ile elde edilen IC_{50} değeri 173.81 $\mu\text{g/mL}$ iken ultrason ekstraktının (etanol:su) IC_{50} değeri 142.13 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Etanol:su karışımının çözen olarak kullanılması halinde klasik yöntemle elde edilen siyah havuç ekstraktının IC_{50} değerinin 145.32 $\mu\text{g/mL}$ seviyesinde ve ultrason ekstraktına son derece yakın bir antiradikal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Üzüm kabuğunun klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarının ultrason tekniğiyle elde edilen ekstraktlara kıyasla biraz daha yüksek antiradikal kapasitelere sahip oldukları belirlenmiştir (Tablo 3.8.).

Tablo 3.8. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antiradikal kapasiteleri (IC₅₀, µg/mL)

	Çözgen	Ekstraksiyon şekli		
		PEF	Ultrason	Klasik
Siyah Havuç	Su	173.81 ^A ±4.85	150.35 ^{Ba} ±0.49	177.40 ^{Aa} ±0.26
	AES*	-**	142.13 ^{Aa} ±3.64	145.32 ^{Ab} ±1.04
Kırmızı Lahana	Su	125.28 ^{BA} ±2.67	122.42 ^{Ba} ±0.08	129.80 ^{Aa} ±1.32
	AES*	-	110.76 ^{Ab} ±2.30	102.62 ^{Ab} ±8.45
Üzüm Kabuğu	Su	-	160.66 ^{Aa} ±1.04	158.01 ^{Aa} ±7.99
	AES*	-	138.26 ^{Ab} ±4.02	115.87 ^{Bb} ±2.55

PEF: Vurgulu elektrik alan, AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı. **: Ekstraksiyon gerçekleştirilememiştir. ^{AB}: Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı satırdaki büyük harfler ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05). ^{ab} Her bir örnek (siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu) için ayrı ayrı olacak şekilde, aynı sütundaki küçük harfler ise ekstraksiyon yöntemlerine göre çözümlerin karşılaştırılması olup aynı harfler, örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p<0.05).

3.3.6. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antimikrobiyel özellikleri

3.3.6.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antimikrobiyel aktivitelerinin agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğunun farklı ekstraksiyon yöntemleri uygulanarak (PEF, ultrason ve klasik ekstraksiyonlar) ve çözümler olarak su veya etanol:su (1:1) kullanılarak elde edilen ekstraktlarının agar difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyel analiz bulguları sırası ile Tablo 3.9.'da, Tablo 3.10.'da ve Tablo 3.11.'de verilmiştir. Agar difüzyon yöntemi kullanıldığında etanol:suyun (1:1) mikroorganizmalar üzerine inhibitif etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ekstraktların genel olarak antimikrobiyel aktiviteleri değerlendirildiğinde KLE, SHE ve ÜKE'lerinin *S. cerevisiae* ve *C. albicans* üzerine herhangi bir antimikrobiyel etkide bulunmadığı belirlenmiştir. Ekstraktların antimikrobiyel aktivitesinin, genel olarak konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak yükseldiği belirlenmiştir. Genellikle, AES ekstraktlarının, su ekstraktlarından daha yüksek bir antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi ÜKE'lerinin gösterdiği belirlenmiştir. Etanol:su ekstraktları su ekstraktlarından daha aktif olmak üzere ÜKE'lerin, *L. monocytogenes*, *B. cereus* FMC 19, *B. cereus* F2, *P. aeruginosa* başta olmak üzere *E. coli* O157: H7, *B. subtilis* ATCC, *S. typhimurium* ve *S. aureus* ATCC 1135 üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğu saptanmıştır. Kırmızı lahananın PEF ile elde edilen ekstraktlarının *B. cereus* F2, *B. cereus* FMC 19 ve *S.*

aureus ATCC 1135 üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğu gözlenirken (Tablo 3.10.), siyah havucun PEF ekstraktlarının hiçbir mikroorganizma üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir (Tablo 3.9). Kırmızı lahanaların ultrasonik ve klasik ekstraksiyonlarında çözgen olarak su kullanıldığında elde edilen ekstraktların antimikrobiyel etkiye sahip olmadıkları saptanmıştır. Kırmızı lahana ekstraksiyonunda da etanol:suyun çözgen olarak kullanılması halinde antimikrobiyel etkilerinin daha yüksek olduğu belirlenmiş olup, genel olarak klasik yöntemle elde edilen ekstraktlara kıyasla ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstraktlarının daha yüksek antimikrobiyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Siyah havuçlarda da kırmızı lahana ekstraktlarına benzer sonuçlar elde edilmiş olup, SHE'larının en çok *B. cereus* F2 ve *P. aeruginosa* üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Tablo 3.9., Tablo 3.10. ve Tablo 3.11.'de bütün ekstraktların antimikrobiyel etkinliğine bakıldığında, *B. cereus* F2 en duyarlı mikroorganizma olarak belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan mayalar *S. cerevisiae* ve *C. albicans*'ın ise tüm ekstraktlara karşı en dirençli mikroorganizmalar olduğu tespit edilmiştir. Nitekim hiçbir ekstraktın bu mayalara karşı inhibitif etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Tablo 3.9. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen SHE'larının bazı maya ve bakterilere karşı inhibitif etkileri (inhibisyon zonu, mm)

Mikroorganizma	PEF				Ultrasonik Ekstraksiyon								Klasik Ekstraksiyon							
	Su				Su ekstraktı				AES* ekstraktı				Su ekstraktı				AES* ekstraktı			
	Konsantrasyon (%)				Konsantrasyon (%)								Konsantrasyon (%)							
	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.0±0.0	12.0±1.4	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	9.5±0.7
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0
<i>E. coli</i> 0157:H7 ATCC 33150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	7.0±0.0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 1135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7
<i>B. cereus</i> F2	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	9.5±0.7	-	-	7.5±0.7	15.5±7.5	-	-	-	-	-	-	8.5±0.7	11.5±0.7
<i>B. cereus</i> FMC 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i> ATCC	-	-	-	-	-	-	-	7.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	9.0±0.0
<i>B. brevis</i> FMC3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-	-	-	-	8.5±0.7
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	-	-	-	14.5±2.1	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	9.5±0.7
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7965	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 1501	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7
<i>S. cerevisiae</i> BC 5461	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 1223	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PEF: Vurgulu elektrik alan, AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı, -: Etkisi gözlenemedi

Tablo 3.10. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen KLE'larının bazı maya ve bakterilere karşı inhibitif etkileri (inhibisyon zonu, mm)

Mikroorganizma	PEF				Ultrasonik Ekstraksiyon								Klasik Ekstraksiyon							
	Su ekstraktı				Su ekstraktı				AES* ekstraktı				Su ekstraktı				AES* ekstraktı			
	Konsantrasyon (%)				Konsantrasyon (%)								Konsantrasyon (%)							
	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9±1.4	14±1.4	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	12.5±2.1
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0
<i>E. coli</i> 0157:H7 ATCC 33150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	5.5±0.7
<i>S. aureus</i> ATCC 1135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	6.0±0.0	8.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7
<i>B. cereus</i> F2	-	-	7.5±0.7	11.0±1.4	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	9.5±0.7	-	-	-	-	-	-	9.0±1.4	11.5±0.7
<i>B. cereus</i> FMC 19	-	-	9.0±1.4	12.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	10±0.0
<i>B. subtilis</i> ATCC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.0±1.4	-	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7
<i>B. brevis</i> FMC3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	8.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	8.5±0.7
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.0±0.0	-	-	-	-	-	-	5.5±0.7	7.5±0.7
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7965	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	-	-	-	-	-	-	-	5.5±0.7
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 1501	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.5±2.1	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7
<i>S. cerevisiae</i> BC 5461	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 1223	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PEF: Vurgulu elektrik alan, AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı, -: Etkisi gözlenemedi

Tablo 3.11. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ÜKE'larının bazı maya ve bakterilere karşı inhibitif etkileri (inhibisyon zonu, mm)

Mikroorganizma	Ultrasonik Ekstraksiyon								Klasik Ekstraksiyon							
	Su ekstraktı				AES* ekstraktı				Su ekstraktı				AES* ekstraktı			
	Konsantrasyon (%)								Konsantrasyon (%)							
	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10	1	2.5	5	10
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	-	-	6.5±0.7	11.5±0.7	-	8.5±0.7	15.5±0.7	19.0±1.4	-	-	9.0±1.4	17.5±0.7	-	-	9.0±1.4	15.5±2.1
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	7.0±0.0	-	6.0±0.0	7.5±0.7	11.5±0.7	-	-	-	-	-	-	6.0±0.0	10.5±0.7
<i>E. coli</i> 0157:H7 ATCC 33150	-	-	-	-	-	6.0±0.0	9.5±0.7	12.5±2.1	-	-	-	7.5±0.5	-	6.0±0.0	10.0±0.0	13.5±0.7
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-	-	-	-	6.5±0.7	-	-	-	6.5±0.7
<i>S. aureus</i> ATCC 1135	-	-	-	3.0±4.2	-	-	6.5±0.7	14.0±1.4	-	-	-	6.0±0.0	-	-	9.5±0.7	13.5±0.7
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	13.0±1.4	-	-	9.5±0.7	13.0±1.4	-	-	-	-	-	6.0±0.0	8.5±2.1	14.0±2.8
<i>B. cereus</i> F2	-	8.0±2.8	10.5±2.1	13.0±4.2	-	-	11.5±0.7	15.5±0.7	-	10.0±2.8	12.5±2.1	16.5±2.1	-	7.5±0.7	9.5±0.7	13.5±2.1
<i>B. cereus</i> FMC 19	-	-	-	9.5±0.7	6.0±0.0	8.5±0.7	10.5±0.7	16.5±0.7	-	3.0±4.2	7.0±0.0	10.5±0.7	-	7.5±0.7	10.5±0.7	14.5±0.7
<i>B. subtilis</i> ATCC	-	-	-	-	-	-	-	13.5±0.7	-	-	10.5±0.7	7.5±0.7	-	8.5±0.7	12.0±2.8	18.5±2.1
<i>B. brevis</i> FMC3	-	-	-	9.0±1.4	-	-	8.5±0.7	11.5±0.7	-	-	-	8.5±0.7	-	-	-	11.5±0.7
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	7.5±2.1	9.0±1.4	12.5±0.7	-	-	-	13±1.4	-	-	10.5±2.1	7.0±1.4	-	8.5±0.7	13.0±1.4	16.0±2.8
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7965	-	-	-	6.5±0.7	-	-	-	7.5±0.7	-	-	-	-	-	-	7.5±0.7	10.5±0.7
<i>Y. enterocolitica</i> ATCC 1501	-	-	-	6.5±0.7	-	-	9.0±0.0	6.5±0.7	-	-	-	6.0±0.0	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i> BC 5461	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 1223	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

AES*: %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı, -: Etkisi gözlenemedi

3.3.6.2. ABE'lerin elma suyunda *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 üzerine antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi

Starking elma çeşidinden laboratuarda üretilen elma sularına çalışma kapsamında klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ABE'lerden depolanan elma sularının renklendirildiği konsantrasyonda (4 mg antosiyanin/100 mL elma suyu) ilave edilmiş ve 2 farklı sıcaklıkta (4 ve 20°C) 96 saat süreyle inkübe edilerek, *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 üzerine olan antimikrobiyel etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular (log kob/mL) Tablo 3.12.'de görülmektedir. Elma sularının pH değerleri mikroorganizmaların gelişimi üzerine etkili faktörlerden biri olup, kontrol ve SHE ile renklendirilen örneklerde 4.01, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerde ise bu değer sırası ile 4.02 ve 3.98 olarak bulunmuştur.

Tablo 3.12. 4 ve 20°C sıcaklıklarda inkübe edilen elma sularına ilave edilen ABE'lerin *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 üzerine inhibitif etkileri (log kob/mL)

	Sıcaklık (°C)	Örnek	Mikroorganizma sayısı (log kob/mL)				
			1. saat	24. saat	48. saat	72. saat	96. saat
<i>E. coli</i> O157: H7	4	Kontrol	7.81 ^{Ab} ±0.14	7.17 ^{Ba} ±0.05	7.00 ^{Ba} ±0.09	6.64 ^{Ca} ±0.10	5.52 ^{Da} ±0.15
		SHE	7.95 ^{Aab} ±0.05	7.09 ^{Ba} ±0.05	6.82 ^{Cb} ±0.04	6.24 ^{Db} ±0.07	3.77 ^{Ec} ±0.08
		KLE	8.07 ^{Aa} ±0.10	7.07 ^{Ba} ±0.03	6.60 ^{Cc} ±0.07	6.34 ^{Db} ±0.13	3.34 ^{Ed} ±0.11
		ÜKE	7.92 ^{Aab} ±0.09	7.16 ^{Ba} ±0.51	6.73 ^{Bbc} ±0.09	6.68 ^{Ba} ±0.03	4.39 ^{Cb} ±0.10
	20	Kontrol	8.13 ^{Aa} ±0.03	7.11 ^{Ba} ±0.03	6.21 ^{Ca} ±0.06	5.85 ^{Da} ±0.17	2.77 ^{Ea} ±0.15
		SHE	7.93 ^{Aab} ±0.07	6.59 ^{Bb} ±0.05	5.77 ^{Cb} ±0.15	5.75 ^{Ca} ±0.07	<1 ^{Db}
		KLE	7.54 ^{Ac} ±0.13	7.00 ^{Ba} ±0.33	5.77 ^{Cb} ±0.15	5.74 ^{Ca} ±0.05	<1 ^{Db}
		ÜKE	7.79 ^{Ab} ±0.14	6.90 ^{Bab} ±0.06	5.92 ^{Cb} ±0.15	5.83 ^{Ca} ±0.06	<1 ^{Db}
<i>B. cereus</i> F2	4	Kontrol	4.77 ^{Aa} ±0.15	2.92 ^{Ba} ±0.15	2.85 ^{Ba} ±0.17	2.92 ^{Bab} ±0.15	3.04 ^{Ba} ±0.09
		SHE	5.12 ^{Aa} ±0.15	2.89 ^{Ba} ±0.24	2.94 ^{Ba} ±0.28	3.16 ^{Bab} ±0.12	2.85 ^{Ba} ±0.17
		KLE	5.17 ^{Aa} ±0.32	2.97 ^{Ba} ±0.32	3.04 ^{Ba} ±0.09	2.89 ^{Bb} ±0.24	2.77 ^{Ba} ±0.15
		ÜKE	4.89 ^{Aa} ±0.24	3.07 ^{Ba} ±0.30	3.04 ^{Ba} ±0.09	3.24 ^{Ba} ±0.07	2.97 ^{Ba} ±0.20
	20	Kontrol	4.82 ^{Aa} ±0.24	3.07 ^{Bb} ±0.30	3.10 ^{Ba} ±0.20	2.92 ^{Ba} ±0.29	2.89 ^{Ba} ±0.24
		SHE	4.97 ^{Aa} ±0.20	2.89 ^{Bb} ±0.24	2.89 ^{Ba} ±0.24	2.89 ^{Ba} ±0.24	2.85 ^{Ba} ±0.17
		KLE	5.14 ^{Aa} ±0.31	4.70 ^{Aa} ±0.24	2.85 ^{Ba} ±0.30	3.01 ^{Ba} ±0.23	2.77 ^{Ba} ±0.15
		ÜKE	4.92 ^{Aa} ±0.15	4.70 ^{Aa} ±0.15	2.97 ^{Ba} ±0.20	2.77 ^{Ba} ±0.15	2.77 ^{Ba} ±0.15

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. Her bir sıcaklık kendi içerisinde değerlendirilmiş olup, ^{AB} Aynı satırdaki büyük harfler inkübasyon süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05). ^{ab} Aynı sütundaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

4 ve 20°C sıcaklıklarda inkübe edilen elma sularına inoküle edilen *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 sayısının tüm örneklerde zamanla azaldığı belirlenmiştir. Genel olarak inkübasyon süreleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli (p<0.05) olduğu saptanmıştır. Ancak, özellikle *E. coli* O157:H7 için beklenenin aksine 4°C'de inkübe edilen örneklerde 20°C sıcaklıkta inkübe edilen örneklere kıyasla inhibisyonun daha az

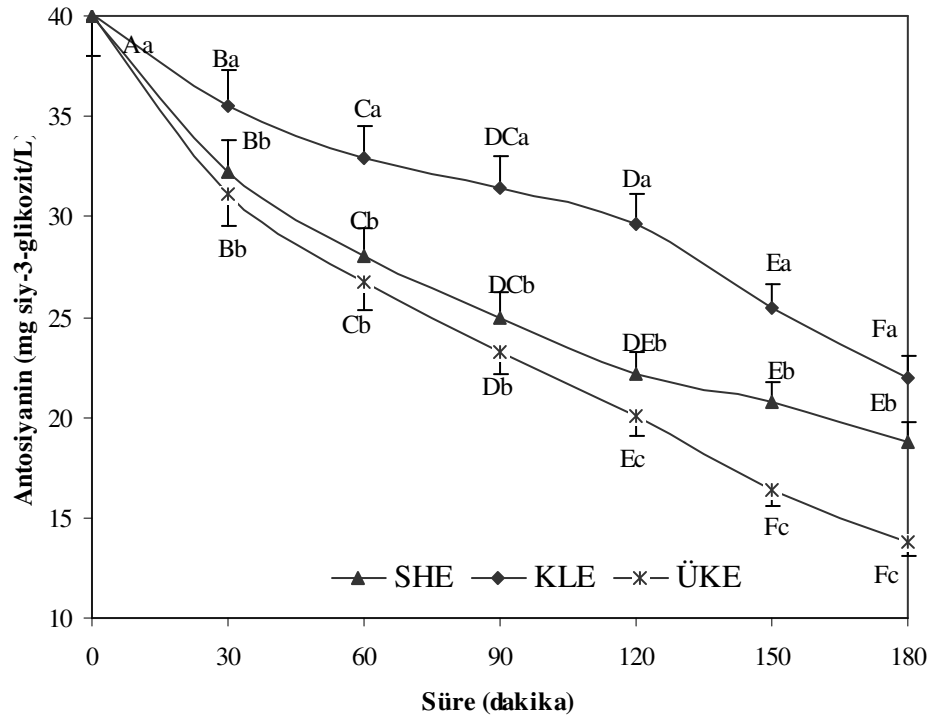
olduğu belirlenmiştir. Örneğin, 4°C’de inkübe edilen ÜKE ile renklendirilen örneklerde başlangıç *E. coli* O157:H7 sayısı 7.92 log kob/mL iken, inkübasyonun 96. saatinde sayının 4.39 log kob/mL seviyesine düştüğü tespit edilmiştir. Oysa ÜKE ile renklendirilen aynı örnekler 20°C sıcaklıkta inkübe edildiğinde 7.79 log kob/mL olan başlangıç mikroorganizma sayısının 96 saat inkübasyon sonunda <1 log kob/mL seviyesine düştüğü saptanmıştır. İnkübasyonları 4°C’de yapılan *E. coli* O157:H7 inoküle edilmiş örnekler arasında sadece 24. saat örnekleri arasında ilave edilen ABE’ların etkisi önemsiz ($p>0.05$) bulunurken, diğer sürelerde örnekler üzerinde renklendirici materyalin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. 20°C sıcaklıkta inkübe edilen örneklerde ise 72. saat örnekleri haricinde kontrol grubu ile ABE’lar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. 20°C’de inkübe edilen ABE içeren elma sularında özellikle 72. saatten sonra *E. coli* O157:H7 inhibisyonunun hızlandığı belirlenmiştir.

E. coli O157:H7’ye kıyasla *B. cereus* F2 inhibisyonunda ABE’ların antimikrobiyel etkilerinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Tüm örneklerde her iki inkübasyon sıcaklığında da 96 saat süren inkübasyon sonrasında *B. cereus* F2 sayısında yaklaşık 2 log azalma olduğu belirlenmiştir. 4 ve 20°C sıcaklıklarda inkübe edilen elma sularında ilave edilen ABE’ların *B. cereus* F2 üzerine etkileri sırasıyla 72. saat ve 24. saat örneklerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

3.4. Antosiyaninlerin Isıl Stabilitelerinin Belirlenmesi

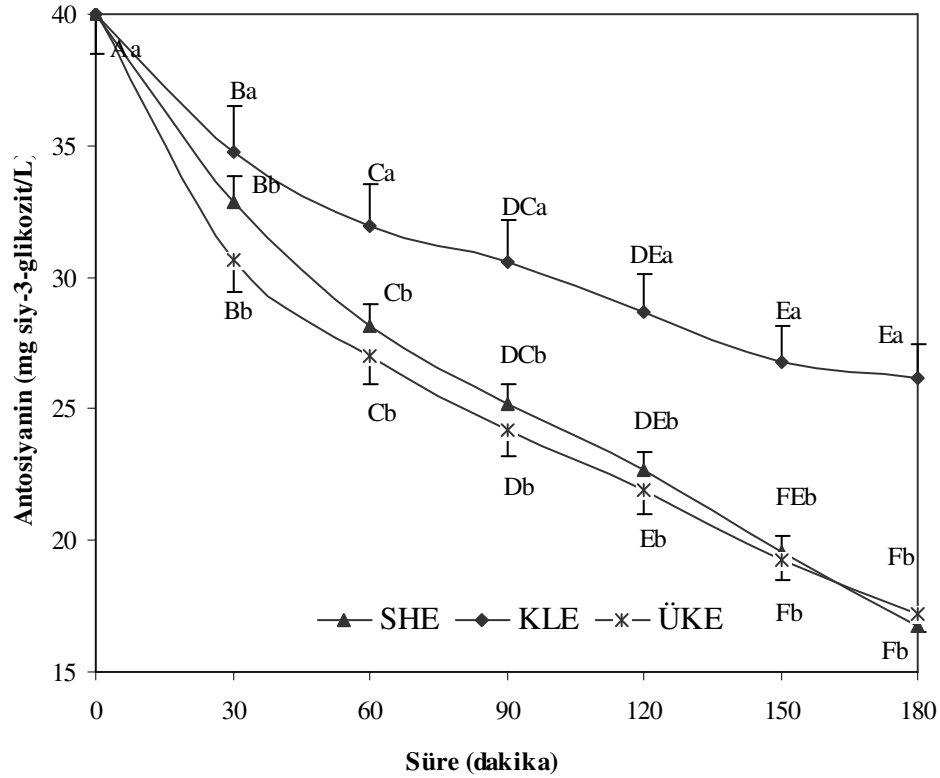
3.4.1. ABE’ların tampon çözeltilerdeki ısıl stabiliteleri

pH değeri 3 ve 4 olan iki farklı tampon çözeltinin 100 mL’si, 4 mg antosiyanin içerecek şekilde ABE’lar (SHE’den 1.20 g/100 mL, KLE’ndan 0.50 g/100 mL veya ÜKE’ndan 0.37 g/100 mL) ile renklendirilerek, 90°C sıcaklıkta 3 saat süreyle ısıl işleme maruz bırakılmışlardır. pH değerleri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerde ısıl işlem uygulaması sonucu antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 3.4. ve Şekil 3.5.’te verilmiştir.



Şekil 3.4. 90°C sıcaklıkta ısıl işlem gören ABE içeren tampon çözeltilerin antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler (pH 3), SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Büyük harfler inkübasyon süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$). ^{ab} Küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$).

pH değerleri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerde ısıl işlem süresinin uzamasına bağlı olarak antosiyanin miktarlarında azalmalar tespit edilmiştir. Her iki pH ortamında da ABE'lerin ısıl işleme dayanıklılıkları dikkate alındığında sıralamanın KLE > SHE > ÜKE şeklinde olduğu belirlenmiştir. Tampon çözeltilerin her ikisinde de renk materyallerinin ve ısıl işlem süresinin antosiyanin miktarı üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. pH değeri 4 olan tampon çözeltilerde ısıl işlem sırasında antosiyanin kaybı biraz daha fazla olmakla birlikte, pH farklılığının antosiyanin miktarı üzerine etkisinin önemsiz ($p > 0.05$) olduğu saptanmıştır.



Şekil 3.5. 90°C sıcaklıkta ısıl işlem gören ABE içeren tampon çözeltilerin antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler (pH 4), SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Büyük harfler inkübasyon süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05). ^{ab} Küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

3.4.2. ABE'lerin elma sularındaki ısıl stabiliteleeri

Depolanan elma sularına ilave edilen düzeyde (4 mg antosiyanin/100 mL elma suyu, SHE'den 1.20 g, KLE'ndan 0.50 g veya ÜKE'ndan 0.37 g) farklı ABE'lar ile renklendirilen örnekler 70, 80 ve 90°C sıcaklıklarda ısıl işleme maruz bırakılmış ve ısıl degradasyonun birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği belirlenmiştir. Tablo 3.13.'te elma sularına ilave edilen SHE, KLE ve ÜKE'lerinin ısıl stabiliteleerine ilişkin kinetik parametreler yer almaktadır. Reaksiyon hız sabitleri dikkate alındığında KLE'nın ısıl işleme en dayanıklı antosiyaninleri içerdiği ve bunu sırası ile SHE ve ÜKE'lerinin izlediği sonucuna ulaşılmaktadır. Yarılanma sürelerinin beklendiği üzere sıcaklıktaki artışla birlikte azaldığı görülmektedir (Tablo 3.13). Örneğin, 70, 80 ve 90°C'lerde SHE ile renklendirilen örneklerde antosiyaninlerin yarılanma süreleri sırası ile

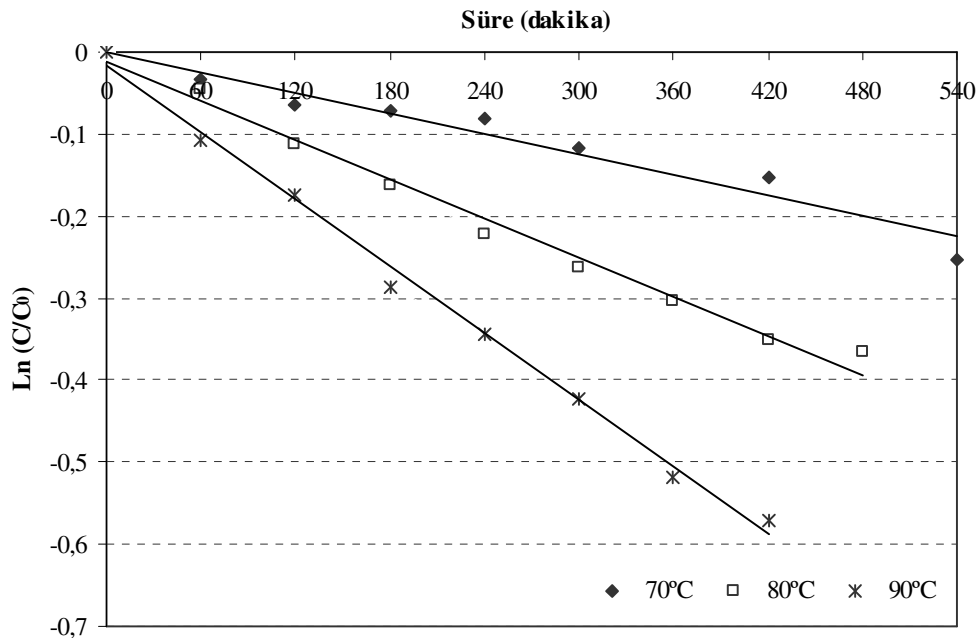
12.5, 6.3 ve 3.6 saat olarak tespit edilmiştir

Tablo 3.13. Elma sularında farklı ABE antosiyaninlerinin ısıl stabilitelere ait kinetik parametreler

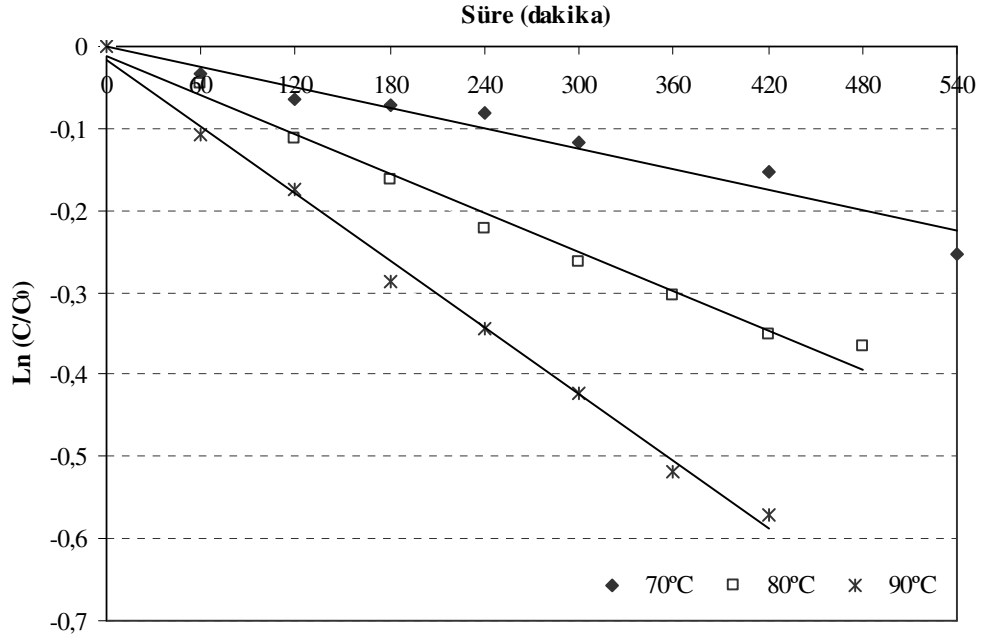
	Sıcaklık (°C)	- k x 10 ⁻³ (dak ⁻¹)	t _{1/2} (saat)	Ea (kJ mol ⁻¹)
SHE	70	0.92	12.5	64.94 (0.998)*
	80	1.84	6.3	
	90	3.22	3.6	
KLE	70	0.46	25.1	83.24 (0.991)
	80	0.92	12.5	
	90	2.30	5.0	
ÜKE	70	1.61	7.2	51.87 (0.999)
	80	2.76	4.2	
	90	4.38	2.6	

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı, k: Reaksiyon hız sabiti, t_{1/2}: Yarılanma süresi, Ea: Aktivasyon enerjisi.*: Parantez içinde verilen değer determinasyon katsayısıdır (R²)

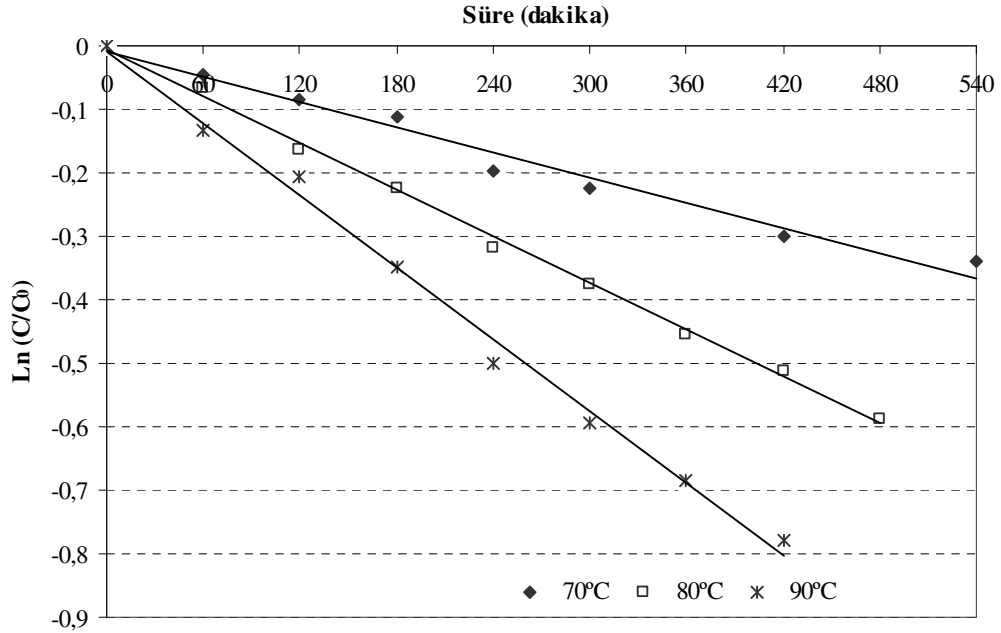
Elma sularında siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılmaları sonucu kayıp düzeyleri sırası ile Şekil 3.6., Şekil 3.7. ve Şekil 3.8.'de verilmiştir.



Şekil 3.6. Elma suyunda siyah havuç antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucu parçalanmaları



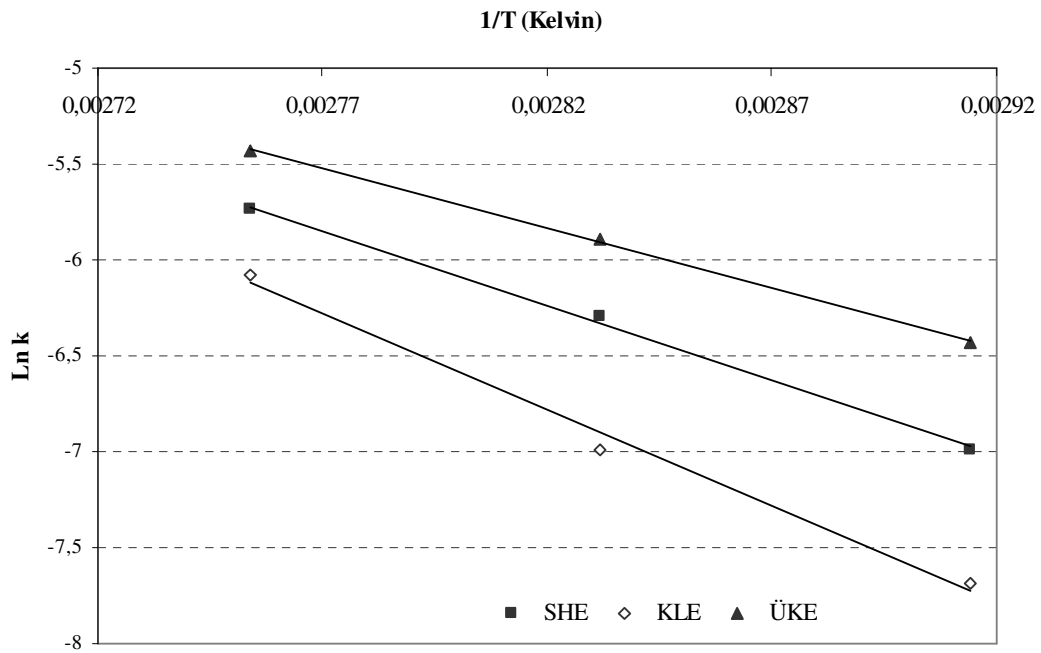
Şekil 3.7. Elma suyunda kırmızı lahana antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucu parçalanmaları



Şekil 3.8. Elma suyunda üzüm kabuğu antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtılması sonucu parçalanmaları

Antosiyanin parçalanma reaksiyon hız sabitinin (k) sıcaklığa olan bağımlılığını belirlemek için Arrhenius eşitliği kullanılmıştır. SHE, KLE ve ÜKE'larının içerdiği

antosiyeninlerinden elde edilen bulgular Şekil 3.9.'da verilmiştir. Buna göre ÜKE'larının sıcaklığa en hassas antosiyeninleri içerdiği ve bu grubu SHE'nin izlediği belirlenmiştir. Isıl işleme en dayanıklı olan grubun ise KLE antosiyeninleri olduğu Şekil 3.9.'da görülebilmektedir.



Şekil 3.9. Siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğu antosiyeninlerinin Arrhenius grafikleri

3.5. Renklendirilen Gıdalar

Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ABE'lar elma suları, dondurma, lokum ve çemen gibi farklı ürünlerin renklendirilmesi için kullanılmış olup, elde edilen bulgulara aşağıda değinilmiştir.

3.5.1. Elma suları

Araştırmada üretilen ve ABE'lar ile renklendirilen elma sularında Tablo 3.14.'te belirtilen analizler yapılarak, çalışılan elma suyunun bazı bileşim unsurları tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında 100 mL elma suyunda 4 mg antosiyenin içecek şekilde ekstrakt ilavesi yapılmıştır. Antosiyenin bazlı ekstraktların (ABE) içerdikleri toplam antosiyenin

miktarları farklı olduğundan elma sularının renklendirilmesi için ilave edilmesi gereken ekstrakt miktarları farklı olmuştur. Buna göre SHE'ndan 1.20 g, KLE'ndan 0.50 g veya ÜKE'ndan 0.37 g ilave edilerek renklendirilen elma suları Şekil 3.10.'da görülmektedir. Renklendirilen bu elma sularının belirlenen bazı analitik özellikleri Tablo 3.15.'te verilmiştir. İlave edilen renklendirici materyallerin elma sularının briks, pH ve % titrasyon asitliği değerleri üzerine olan etkileri istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Tablo 3.14. Elma suyunun bazı analitik özellikleri

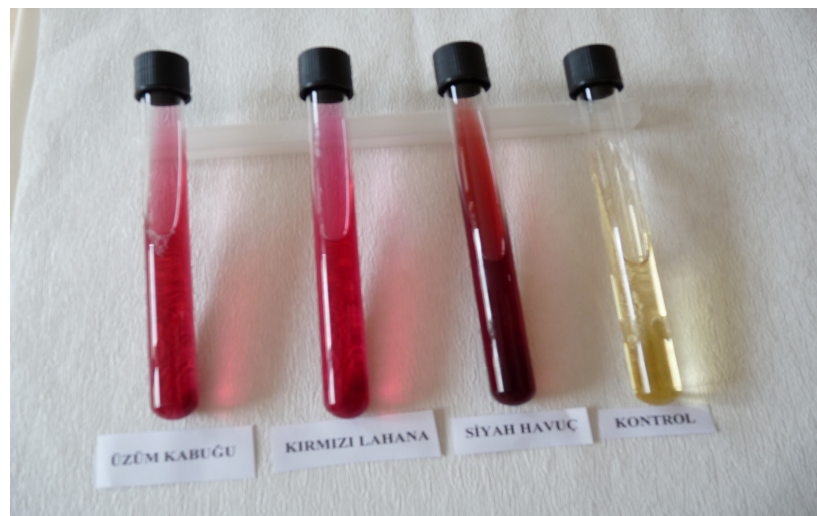
Analitik özellikler	Elma suyu
Briks	12.20±0.02
% Titrasyon asitliği*	0.45±0.01
pH	3.42±0.01
% Toplam şeker	9.05±0.07
% İndirgen şeker	4.46±0.00

*: Malik asit cinsinden hesaplanmıştır

Tablo 3.15. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının bazı analitik özellikleri

Analitik özellikler	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
Briks	12.20 ^D ±0.02	13.35 ^A ±0.02	12.52 ^C ±0.01	12.68 ^B ±0.01
pH	3.42 ^A ±0.01	3.43 ^A ±0.00	3.42 ^A ±0.01	3.40 ^B ±0.01
% Titrasyon asitliği*	0.45 ^B ±0.01	0.45 ^B ±0.00	0.45 ^B ±0.00	0.48 ^A ±0.01

*: Malik asit cinsinden hesaplanmıştır. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı ile renklendirilmiş. ^{AB} aynı satırdaki harfler renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).



Şekil 3.10. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma suları

3.5.1.1. Elma sularının toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler

ABE ilavesi ile hazırlanmış elma sularının farklı sıcaklık ve sürelerde depolanmaları sonucunda toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişim Tablo 3.16.'da verilmiştir.

Tablo 3.16. Farklı ABE'lar ile hazırlanmış ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler (mg GAE/L)

Sıcaklık (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
4	0	326.36 ^{Ac} ±8.38	695.96 ^{Aa} ±7.38	521.92 ^{Ab} ±6.97	706.05 ^{Aa} ±11.08
	30	325.79 ^{Ac} ±7.98	702.46 ^{Aa} ±12.61	519.81 ^{Ab} ±9.36	699.29 ^{Aa} ±12.52
	60	328.11 ^{Ac} ±6.44	692.80 ^{Aa} ±11.72	521.77 ^{Ab} ±19.35	707.19 ^{Aa} ±7.83
	90	326.50 ^{Ad} ±3.13	690.92 ^{Aa} ±8.95	502.40 ^{Ac} ±12.11	641.05 ^{Bb} ±34.21
	120	299.21 ^{Bd} ±21.56	643.83 ^{Ba} ±7.53	451.57 ^{Bc} ±3.69	535.73 ^{Cb} ±13.20
	150	288.63 ^{Bcc} ±8.52	531.17 ^{Ca} ±21.66	427.39 ^{Bb} ±23.02	531.64 ^{Ca} ±2.72
	180	283.47 ^{Cd} ±5.80	523.33 ^{Ca} ±4.01	428.18 ^{Bc} ±5.94	507.76 ^{Db} ±8.23
20	0	326.36 ^{Ac} ±8.38	695.96 ^{Aa} ±7.38	521.92 ^{Ab} ±6.97	706.05 ^{Aa} ±11.08
	15	321.82 ^{ABc} ±8.62	682.86 ^{Aa} ±4.10	509.01 ^{Ab} ±10.10	686.46 ^{ABa} ±13.76
	30	321.11 ^{ABd} ±5.12	644.99 ^{Bb} ±4.84	515.50 ^{Ac} ±7.23	682.98 ^{Ba} ±6.53
	45	316.74 ^{Bc} ±8.25	644.59 ^{Ba} ±5.06	513.36 ^{Ab} ±16.23	642.11 ^{Ca} ±9.34
	60	316.98 ^{Bc} ±5.92	645.48 ^{Ba} ±9.42	511.01 ^{Ab} ±8.13	638.31 ^{Ca} ±7.62
	75	312.75 ^{Bd} ±3.28	643.82 ^{Ba} ±7.24	512.02 ^{Ac} ±9.35	616.57 ^{Db} ±11.36
	90	314.73 ^{Bd} ±3.98	640.64 ^{Ba} ±16.01	491.44 ^{Bc} ±6.10	604.07 ^{Db} ±14.62
30	0	326.36 ^{Ac} ±8.38	695.96 ^{Aa} ±7.38	521.92 ^{Ab} ±6.97	706.05 ^{Aa} ±11.08
	15	320.89 ^{ABc} ±12.16	684.81 ^{Aa} ±7.38	509.03 ^{Bb} ±6.46	683.64 ^{Ba} ±7.17
	30	315.45 ^{BCd} ±4.43	645.98 ^{Bb} ±9.11	507.28 ^{Bc} ±4.93	666.67 ^{Ba} ±20.72
	45	311.80 ^{Bcc} ±3.62	644.89 ^{Ba} ±11.70	500.14 ^{Cb} ±6.84	642.81 ^{Ca} ±3.14
	60	308.96 ^{Cd} ±8.48	637.99 ^{Ba} ±6.08	484.68 ^{Dc} ±4.69	623.47 ^{Db} ±5.47

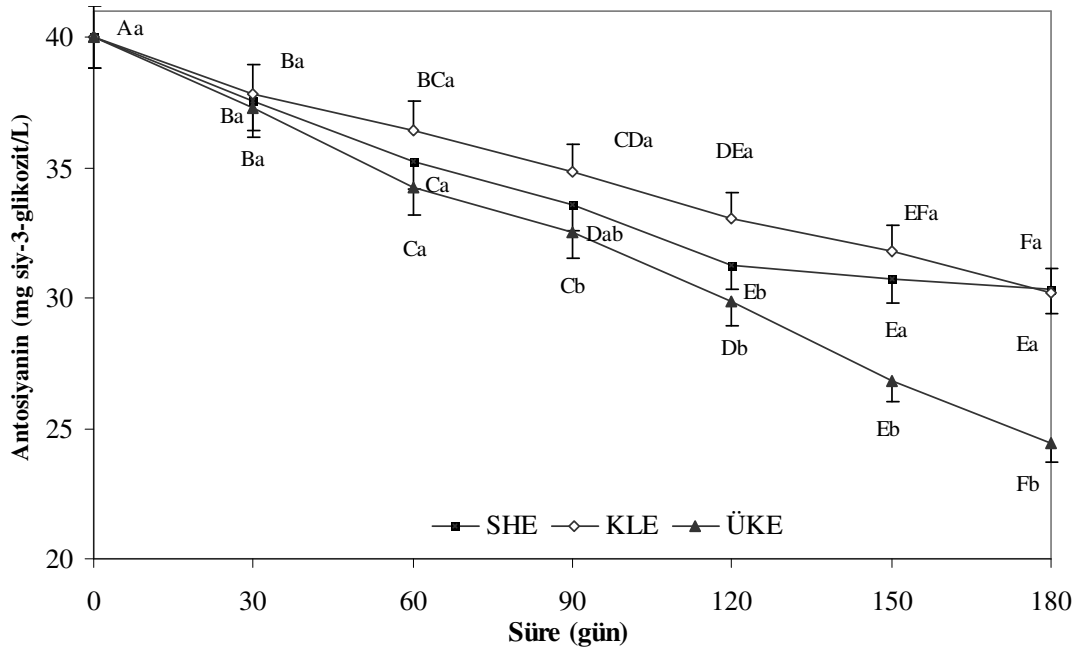
SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı ile renklendirilmiş. ^{AB} Her bir sıcaklık için aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

Tablo 3.16.'da da görüldüğü gibi elma sularını renklendirmek amacıyla ilave edilen ABE'ların elma sularının toplam fenolik madde miktarlarını önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir. Örneğin, kontrol grubunun toplam fenolik madde miktarı 326.36 mg GAE/L iken, ÜKE, SHE ve KLE ile renklendirilen elma sularının toplam fenolik madde miktarları sırası ile 706.05, 695.96 ve 521.92 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L düzeyindedir. Tüm örneklerde her üç depolama sıcaklığında da renklendirici materyal ve depolama süresinin toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur. Sıcaklık derecesindeki artışa paralel olarak fenolik madde

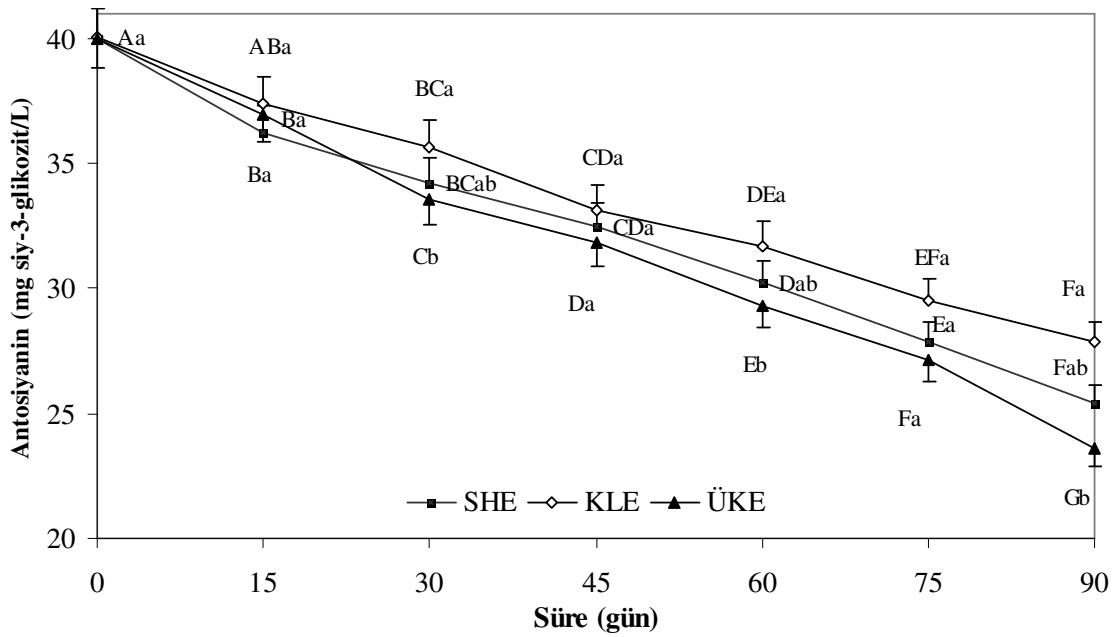
parçalanmasının da arttığı tespit edilmiştir. Altı ay süreyle 4°C’de depolanan kontrol örneğinin toplam fenolik madde kaybı %13.14 iken, KLE, SHE ve ÜKE ile renklendirilen elma sularının toplam fenolik madde kayıpları sırası ile %17.96, %24.80 ve %28.08 olarak belirlenmiştir. Üç ay süreyle 20°C sıcaklıkta depolanan elma sularının toplam fenolik madde kayıpları ise kontrol, KLE, SHE ve ÜKE ile renklendirilen örnekler için sırası ile %3.56, %5.84, %7.95 ve %14.44 olarak saptanmıştır. 30°C’de 2 ay süreyle depolanan örneklerden kontrol grubunun toplam fenolik madde kaybı %5.33 olarak tespit edilmiştir. KLE, SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin toplam fenolik madde miktarlarının sırası ile %7.14, %8.33 ve %11.69 oranlarında kayba uğradığı saptanmıştır.

3.5.1.2. Elma sularının antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler

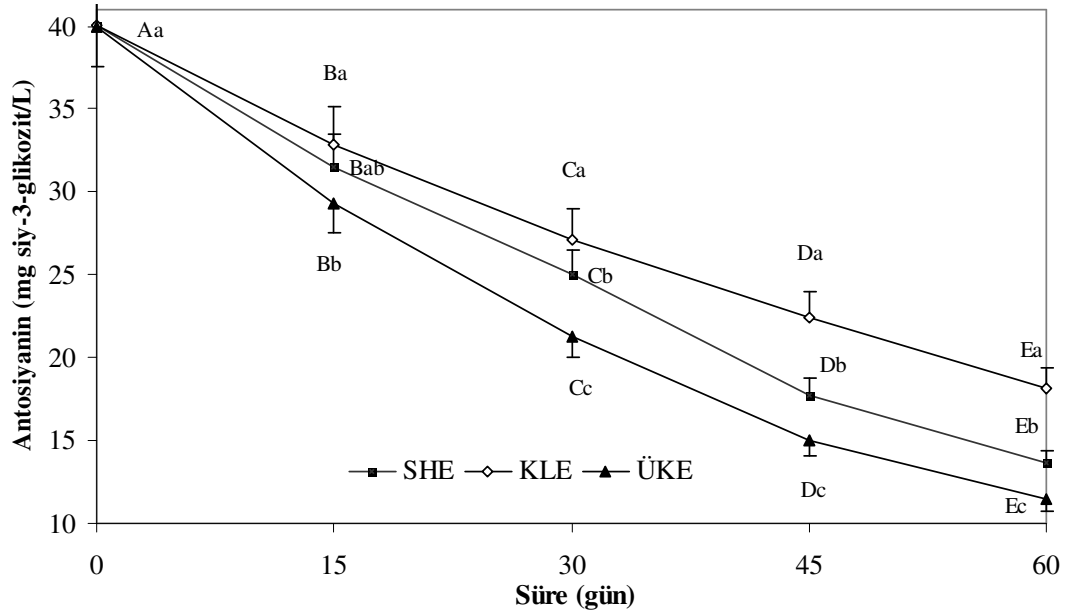
Araştırmada ABE’lar ile renklendirilen elma sularının 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolanması sonucunda antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler sırasıyla Şekil 3.11.’de, Şekil 3.12.’de ve Şekil 3.13.’te verilmiştir. Daha öncede belirtildiği üzere depolama süresi uygulanan sıcaklığa bağlı olarak 4°C’de 6 ay, 20°C’de 3 ay ve 30°C sıcaklıkta ise 2 ay olarak belirlenmiştir. Veriler incelendiğinde beklendiği gibi sıcaklığın yükselmesiyle antosiyanin kaybının arttığı görülmektedir. Kontrol örneklerinde antosiyanin saptanamamış ve tüm depolama sıcaklıklarında en stabil antosiyanin kaynağının kırmızı lahana olduğu, bunu sırasıyla siyah havuç ve üzüm kabuğunun izlediği belirlenmiştir. Her üç depolama sıcaklığında da antosiyanin kaynaklarının ve depolama süresinin antosiyanin miktarı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Araştırmada 4, 20 ve 30°C’de depolanan KLE ile renklendirilmiş örneklerin depolama sürecinde antosiyanin kayıpları sırasıyla %24.51, %30.44 ve %54.78 iken, SHE ile renklendirilen örneklerde meydana gelen değişimler ise sırasıyla %24.24, %36.52 ve %65.98 olarak belirlenmiştir. Örnekler arasında en yüksek antosiyanin kaybının ÜKE ile renklendirilen örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Bu örneklerde antosiyanin kayıpları, 4°C’de 6 ay depolama sonucu %38.85, 20°C’de 3 ay depolama sonucu %40.95 ve 30°C’de 2 ay depolama sonucunda ise %71.38 olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 3.11. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının 4°C sıcaklıkta depolanma sürecinde antosiyanin miktarındaki değişimler, SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı, AB Büyük harfler depolama süresinin, ab Küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$).



Şekil 3.12. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının 20°C sıcaklıkta depolanma sürecinde antosiyanin miktarındaki değişimler, SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı, AB Büyük harfler depolama süresinin, ab Küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$).



Şekil 3.13. Farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının 30°C sıcaklıkta depolanma sürecinde antosiyanin miktarındaki değişimler, SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı, AB Büyük harfler depolama süresinin, ab Küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$).

3.5.1.3. Elma sularının antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma sularının antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.17.'de verilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda depolanan elma sularının depolama süresinin uzamasına bağlı olarak antiradikal aktivitelerinin de kayba uğradığı belirlenmiştir. Depolama sıcaklığı yükseldikçe antiradikal aktivite kaybının arttığı saptanmıştır. Örneğin, 4°C'de 180 gün, 20°C'de 90 gün ve 30°C'de 60 gün süreyle depolanan kontrol örneklerinin antiradikal aktivite kayıpları sırası ile %36.88, %41.47 ve %42.93 olarak belirlenmiştir. 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolanan ÜKE ile renklendirilen elma sularının sırası ile %12.71, %13.65 ve %12.37 düzeyinde antiradikal aktivite kaybına uğradığı tespit edilmiştir. SHE ile renklendirilen elma sularının 4, 20 ve 30°C'de depolanması sonucunda antiradikal aktivite kayıplarının sırası ile %18.07, %21.55 ve % 21.56 düzeylerine ulaştığı saptanmıştır. KLE ile renklendirilen örneklerin 4, 20 ve 30°C sıcaklıklardaki antiradikal aktivite kayıplarının ise %20.36, %29.75 ve %18.74 seviyelerinde olduğu belirlenmiştir.

Her üç depolama sıcaklığı için de renklendirici materyal ve depolama süresinin antiradikal aktivite üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.17. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma suyu örneklerinin antiradikal aktivitelerindeki değişimler (% inhibisyon)

Sıcaklık (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
4	0	47.89 ^{Ad} ±1.35	77.10 ^{Ab} ±0.59	65.80 ^{Ac} ±1.32	78.81 ^{Aa} ±1.07
	30	44.23 ^{ABc} ±2.12	72.27 ^{Ba} ±1.15	62.17 ^{ABb} ±1.29	75.96 ^{ABa} ±0.57
	60	40.80 ^{Bd} ±1.79	69.44 ^{BCb} ±1.76	58.96 ^{BCc} ±2.57	74.07 ^{ABCa} ±0.65
	90	36.10 ^{Cd} ±0.56	67.27 ^{CDb} ±1.14	56.08 ^{CDc} ±0.72	71.90 ^{BCDa} ±1.20
	120	34.51 ^{CDd} ±1.16	64.91 ^{CDb} ±2.09	53.92 ^{Dc} ±1.46	69.43 ^{CDa} ±0.91
	150	32.63 ^{CDc} ±2.45	64.25 ^{Da} ±0.84	53.91 ^{Db} ±2.57	68.19 ^{CDa} ±4.68
	180	30.23 ^{Dd} ±2.10	63.17 ^{Db} ±1.64	52.40 ^{Dc} ±2.32	68.79 ^{Da} ±1.81
20	0	47.89 ^{Ad} ±1.35	77.10 ^{Ab} ±0.59	65.80 ^{Ac} ±1.32	78.81 ^{Aa} ±1.07
	15	41.42 ^{Bd} ±0.92	71.63 ^{Bb} ±0.77	61.69 ^{ABc} ±1.51	76.75 ^{ABa} ±0.96
	30	38.76 ^{Bd} ±2.23	68.79 ^{BCb} ±2.40	59.97 ^{BCc} ±0.93	74.62 ^{BCa} ±0.88
	45	35.31 ^{Cd} ±1.07	68.53 ^{BCb} ±1.54	54.86 ^{CDc} ±0.86	72.27 ^{CDa} ±0.73
	60	34.03 ^{Cd} ±0.47	67.73 ^{CDb} ±0.32	53.14 ^{DEc} ±1.96	70.68 ^{DEa} ±1.59
	75	28.62 ^{Dd} ±0.72	64.21 ^{Db} ±0.40	48.50 ^{EFc} ±3.25	69.26 ^{EFa} ±0.50
	90	27.55 ^{Dd} ±1.03	60.35 ^{Eb} ±1.71	46.22 ^{Fc} ±2.58	68.05 ^{Fa} ±0.86
30	0	47.89 ^{Ad} ±1.35	77.10 ^{Ab} ±0.59	65.80 ^{Ac} ±1.32	78.81 ^{Aa} ±1.07
	15	40.54 ^{Bd} ±1.53	67.76 ^{Bb} ±0.92	60.63 ^{Bc} ±0.78	75.49 ^{Aa} ±0.40
	30	36.45 ^{Cd} ±0.91	63.95 ^{Cb} ±1.36	58.04 ^{Bc} ±0.92	73.54 ^{Aa} ±1.47
	45	32.38 ^{Dd} ±0.82	62.42 ^{CDb} ±0.99	54.23 ^{Cc} ±0.51	70.55 ^{Aa} ±0.82
	60	27.33 ^{Ed} ±1.43	60.48 ^{Db} ±0.40	53.47 ^{Cc} ±2.26	69.06 ^{Aa} ±2.03

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı ile renklendirilmiş. ^{AB} Her bir sıcaklık için aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

3.5.1.4. Elma sularının antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Tablo 3.18.'de elma sularının 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolanması ile antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler görülmektedir.

Elma sularının fosfomolibden metodu ile antioksidan aktivite tayini ile elde edilen sonuçlar irdelendiğinde, antiradikal aktiviteye benzer şekilde en yüksek antioksidan aktivitenin 37.52 mg AAE/mL değeri ile ÜKE ile renklendirilen örnekler için olduğu görülmektedir. En düşük antioksidan aktivite ise 32.37 mg AAE/mL değeri ile kontrol grubunda saptanmıştır. Her üç depolama sıcaklığında da renklendirici materyal ve depolama süresinin antioksidan aktivite üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli

($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Depolama sıcaklığı arttıkça antioksidan aktivite kaybının hızlandığı tespit edilmiştir. Örneğin, 4°C’de 180 gün, 20°C’de 90 gün ve 30°C’de 60 gün süreyle depolanan kontrol örneklerinin antioksidan aktivite kayıpları sırası ile %7.94 %7.66 ve %8.74 olarak belirlenmiştir. ABE’lar ile renklendirilen elma suları arasında en düşük antioksidan aktivite kaybı KLE ilave edilmiş grupta saptanmıştır. KLE ile renklendirilen elma sularının 4, 20 ve 30°C’de depolanması sonucunda antioksidan aktivite kayıplarının sırası ile %11.42, %8.50 ve % 7.47 düzeylerinde olduğu saptanmıştır (Tablo 3.18.).

Tablo 3.18. Farklı ABE’lar ile renklendirilen ve farklı sıcaklık ve sürelerde depolanan elma suyu örneklerinin antioksidan aktivitelerindeki değişimler (mg AAE/mL)

Sıcaklık (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
4	0	32.37 ^{ABb} ±1.01	37.24 ^{Aa} ±0.60	33.99 ^{Ab} ±0.70	37.52 ^{Aa} ±1.23
	30	31.79 ^{ABc} ±1.31	36.81 ^{ABa} ±0.39	33.78 ^{Ab} ±0.49	35.75 ^{ABa} ±0.87
	60	32.62 ^{Ab} ±0.44	35.55 ^{Ba} ±1.53	33.67 ^{Aab} ±0.26	35.45 ^{ABCa} ±0.81
	90	31.09 ^{ABCDb} ±0.44	33.58 ^{Ca} ±0.26	33.57 ^{Aa} ±0.50	33.77 ^{BCDa} ±0.28
	120	30.83 ^{BCDb} ±0.36	32.71 ^{CDa} ±0.65	31.58 ^{Bab} ±0.50	33.22 ^{CDa} ±1.25
	150	30.39 ^{CDb} ±0.69	32.19 ^{CDab} ±0.38	31.45 ^{Bab} ±0.69	32.55 ^{Da} ±0.95
	180	29.80 ^{Dd} ±0.16	31.63 ^{Db} ±0.19	30.11 ^{Cc} ±0.20	32.01 ^{Da} ±0.16
20	0	32.37 ^{Ab} ±1.01	37.24 ^{Aa} ±0.60	33.99 ^{ABb} ±0.70	37.52 ^{Aa} ±1.23
	15	31.41 ^{ABb} ±0.70	35.84 ^{ABa} ±1.93	33.96 ^{ABab} ±0.68	35.49 ^{Ba} ±0.44
	30	31.08 ^{ABCb} ±1.01	35.50 ^{ABCa} ±1.19	34.79 ^{Aa} ±0.75	34.53 ^{Ba} ±0.91
	45	30.50 ^{BCc} ±0.28	35.40 ^{ABCa} ±0.60	32.69 ^{BCb} ±0.89	34.05 ^{BCab} ±1.07
	60	30.01 ^{BCb} ±0.29	33.25 ^{BCa} ±0.83	31.91 ^{CDa} ±0.91	32.85 ^{Ca} ±0.63
	75	29.84 ^{Cc} ±0.44	32.61 ^{Ca} ±1.00	31.49 ^{CDb} ±0.31	32.63 ^{Ca} ±0.22
	90	29.89 ^{BCc} ±0.16	32.59 ^{Ca} ±0.67	31.10 ^{Db} ±0.49	32.52 ^{Ca} ±0.25
30	0	32.37 ^{Ab} ±1.01	37.24 ^{Aa} ±0.60	33.99 ^{ABb} ±0.70	37.52 ^{Aa} ±1.23
	15	31.76 ^{ABa} ±1.10	33.88 ^{Ba} ±0.48	33.89 ^{Aa} ±2.25	34.78 ^{Ba} ±1.52
	30	31.09 ^{ABCb} ±0.26	33.89 ^{Ba} ±0.81	34.22 ^{Aa} ±1.09	34.08 ^{Ba} ±0.87
	45	30.46 ^{BCa} ±0.36	33.45 ^{Ba} ±0.64	33.67 ^{Aa} ±3.05	33.46 ^{Ba} ±0.79
	60	29.54 ^{Cc} ±0.52	33.07 ^{Ba} ±0.77	31.45 ^{Ab} ±0.43	32.78 ^{Ba} ±0.39

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı ile renklendirilmiş. ^{AB} Her bir sıcaklık için aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

3.5.1.5. Elma sularının renginde meydana gelen değişimler

CIE L^* , a^* , b^* ölçüm sisteminde (International Commission on Illumination, Vienna, Uluslararası Aydınlatma Komisyonu, Viyana) L^* parlaklığı (L^* 100= beyaz, L^* 0= siyah), pozitif ve negatif a^* değerleri sırası ile kırmızı ve yeşil rengi göstermektedir.

Diğer bir renk parametresi olan b^* değeri pozitif ise sarı, negatif ise mavi rengi temsil etmektedir. C^* değeri, renk doygunluğu veya renk yoğunluğu (kroma değeri) ile ilgili bir nitelik olup, 0 ile 60 aralığında değişmektedir. C^* değerleri, renk düzleminin merkezinde matken (0), merkezden uzaklaştıkça parlak (vivid) tonları temsil etmektedir. C^* değeri, a^* ve b^* değerleri kullanılarak $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ eşitliği ile hesaplanmaktadır. Hue açısı (h°) renk tonu veya renkle ilgili bir diğer niteliktir. Bu değer $0-360^\circ$ arasında değişmekte olup 0° kırmızı, 90° sarı, 180° yeşil, 270° mavi; $360^\circ=0^\circ$ kırmızı rengi temsil etmektedir. h° değeri a^* ve b^* değerleri kullanılarak $h^\circ = \arctan (b^*/a^*)$ eşitliği ile de hesaplanabilmektedir. $L^*C^*h^\circ$ sistemi, $L^*a^*b^*$ sistemine göre rengin daha iyi tanımlanmasına imkan vermektedir. Çünkü bu sistemde rengi belirlemede C^* ve h° değerleri kullanılmakta ve bu değerlerin hesaplanmasında a^* ve b^* renk koordinatlarından yararlanılmaktadır. C^* ve h° değerleri ile aynı a^* değerine sahip örnekler arasındaki farklılık daha açık bir şekilde ifade edilebilmektedir [154].

ABE'lar ile renklendirilmiş elma sularının 4°C sıcaklıkta depolama süresince renk parametrelerinde meydana gelen değişim Tablo 3.19.'da verilmiştir. 4°C sıcaklıkta depolanan örnekler arasında 10.81 değeri ile kontrol grubunun en yüksek L^* değerine sahip olduğu saptanırken, en düşük L^* değeri ise 3.97 değeri ile ÜKE ile renklendirilen örneklerde tespit edilmiştir. Depolama süresinin uzamasıyla örneklerin L^* değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Elma sularının renklendirilmesinde kullanılan farklı antosiyanin kaynaklarının ve depolama süresinin örneklerin L^* değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Elma sularının kırmızılık değerlerini ifade eden a^* değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar olmakla birlikte, genel olarak a^* değerlerinin azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Örneklerin a^* değerleri üzerine renklendirici materyalin ve depolama süresinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Örnekler arasında en yüksek a^* değeri 9.85 ile KLE ile renklendirilen örneklerde saptanırken, en düşük a^* değeri beklendiği üzere 3.78 değeri ile kontrol örneklerinde tespit edilmiştir. Örneklerin b^* değerlerinde de depolama süresince bazı dalgalanmalar belirlenmiş olsa da genel olarak b^* değerlerinin çok az da olsa artma eğiliminde oldukları saptanmıştır. En sarı örneklerin beklendiği üzere 9.45 b^* değerine sahip olan kontrol örnekleri olduğu belirlenmiştir. En düşük b^* değerinin ise 1.59 değeri ile SHE ilave edilmiş elma sularına ait olduğu tespit edilmiştir. Elma sularının b^* değeri üzerine kullanılan renklendirici materyallerin etkisi önemli bulunurken, depolama

süresinin etkisinin sadece SHE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.19.).

Tablo 3.19. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 4°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri

Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE	
L^*	0	10.81 ^{Aa} ±0.31	4.40 ^{ABbc} ±0.27	5.19 ^{Ab} ±0.56	3.97 ^{Ac} ±0.24
	30	10.49 ^{Aa} ±2.18	4.53 ^{Ab} ±0.22	4.65 ^{ABb} ±0.33	3.77 ^{Ab} ±0.08
	60	10.91 ^{Aa} ±0.57	4.28 ^{ABb} ±0.28	4.13 ^{ABb} ±0.20	3.73 ^{Ab} ±0.22
	90	7.42 ^{Ba} ±0.36	4.22 ^{ABb} ±0.18	4.04 ^{ABb} ±0.14	3.88 ^{Ab} ±0.13
	120	4.27 ^{BCa} ±0.21	3.4 ^{ABa} ±0.74	3.59 ^{Ba} ±0.32	3.52 ^{ABa} ±0.23
	150	4.75 ^{BCa} ±0.78	3.94 ^{ABab} ±0.31	3.63 ^{Bab} ±0.60	2.79 ^{BCb} ±0.44
	180	4.67 ^{Ca} ±0.59	3.44 ^{Bbc} ±0.24	3.66 ^{Bb} ±0.55	2.59 ^{Cc} ±0.48
a^*	0	3.78 ^{Ac} ±0.28	5.28 ^{Ab} ±0.55	9.85 ^{Aa} ±0.42	5.52 ^{ABb} ±0.37
	30	2.22 ^{Cc} ±0.38	5.20 ^{Ab} ±0.44	8.34 ^{Ba} ±0.27	5.56 ^{Ab} ±0.25
	60	3.01 ^{Bc} ±0.21	4.21 ^{ABc} ±0.90	8.36 ^{Ba} ±0.28	6.25 ^{Ab} ±0.75
	90	1.21 ^{Dc} ±0.14	3.91 ^{ABb} ±0.74	8.38 ^{Ba} ±0.28	4.59 ^{ABCb} ±0.32
	120	1.33 ^{Dc} ±0.06	3.47 ^{BCb} ±0.27	6.14 ^{Ca} ±0.47	3.78 ^{BCb} ±0.28
	150	1.28 ^{Dc} ±0.23	2.03 ^{BCbc} ±0.19	5.22 ^{Ca} ±0.63	3.49 ^{Cab} ±1.23
	180	1.29 ^{Dc} ±0.25	3.32 ^{Cb} ±0.37	5.33 ^{Ca} ±0.36	3.25 ^{Cb} ±0.46
b^*	0	9.45 ^{Aa} ±0.97	1.59 ^{Ab} ±0.28	2.51 ^{Ab} ±0.99	2.57 ^{Ab} ±0.26
	30	9.36 ^{Aa} ±2.02	1.65 ^{Ab} ±0.24	3.03 ^{Ab} ±0.29	2.38 ^{Ab} ±0.27
	60	10.93 ^{Aa} ±0.54	1.46 ^{ABc} ±0.32	3.08 ^{Ab} ±0.13	2.50 ^{Abc} ±0.48
	90	11.36 ^{Aa} ±0.07	1.05 ^{Bd} ±0.15	3.23 ^{Ab} ±0.18	1.89 ^{Ac} ±0.21
	120	11.50 ^{Aa} ±0.29	1.20 ^{ABd} ±0.09	3.31 ^{Ab} ±0.08	1.92 ^{Ac} ±0.07
	150	11.56 ^{Aa} ±0.20	1.28 ^{ABc} ±0.04	3.06 ^{Ab} ±0.63	2.47 ^{Ab} ±0.10
	180	11.51 ^{Aa} ±0.22	1.66 ^{Ad} ±0.15	3.37 ^{Ab} ±0.24	2.36 ^{Ac} ±0.24
h^o	0	68.05 ^{Ca} ±2.67	16.87 ^{Bbc} ±3.39	14.13 ^{Cc} ±5.31	25.02 ^{ABCb} ±2.56
	30	76.46 ^{Ba} ±1.45	17.56 ^{Bb} ±1.78	19.96 ^{BCb} ±2.10	23.21 ^{BCb} ±3.22
	60	74.66 ^{Ba} ±0.32	19.12 ^{Bc} ±0.95	20.22 ^{ABCbc} ±0.44	21.67 ^{Cb} ±1.66
	90	83.96 ^{Aa} ±0.67	15.56 ^{Bb} ±3.92	21.11 ^{ABCb} ±0.96	22.46 ^{Cb} ±3.11
	120	83.44 ^{Aa} ±0.25	19.15 ^{Bc} ±2.21	28.43 ^{ABb} ±1.74	26.98 ^{ABCb} ±1.90
	150	83.72 ^{Aa} ±1.08	32.37 ^{Ab} ±2.37	30.61 ^{ABb} ±7.68	37.42 ^{Ab} ±10.26
	180	83.63 ^{Aa} ±1.31	26.80 ^{Ac} ±3.06	32.28 ^{Ab} ±3.23	36.34 ^{ABb} ±4.54
C^*	0	10.18 ^{Aa} ±0.89	5.52 ^{Ab} ±0.52	10.20 ^{Aa} ±0.53	6.10 ^{ABb} ±0.35
	30	9.62 ^{Aa} ±2.04	5.46 ^{ABc} ±0.48	8.88 ^{Bab} ±0.23	6.06 ^{ABbc} ±0.15
	60	11.34 ^{Aa} ±0.58	4.45 ^{ABCd} ±0.95	8.91 ^{Bb} ±0.30	6.73 ^{Ac} ±0.87
	90	11.43 ^{Aa} ±0.07	4.05 ^{BCc} ±0.70	8.98 ^{Bb} ±0.29	4.97 ^{BCc} ±0.27
	120	11.58 ^{Aa} ±0.29	3.67 ^{CDc} ±0.24	6.98 ^{Cb} ±0.43	4.24 ^{Cc} ±0.26
	150	11.63 ^{Aa} ±0.21	2.40 ^{Dd} ±0.16	6.10 ^{Cb} ±0.40	4.34 ^{Cc} ±0.98
	180	11.59 ^{Aa} ±0.41	3.71 ^{CDc} ±0.35	6.31 ^{Cb} ±0.26	4.03 ^{Cc} ±0.42

L^* : Parlaklık, a^* : Kırmızılık, b^* : Sarılık, C^* : Renk yoğunluğu, h^o : Renk tonunu ifade etmektedir. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistik olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistik olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Renklendirici materyal ve depolama süresinin elma suyu örneklerinin h^o değerleri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Elma sularının h^o değerlerinde depolama süresince hafif dalgalanmalar olmakla birlikte, genellikle bir artış olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneği depolamanın 0. gününde 68.05 h^o değerine sahipken, 180 gün depolandıktan sonra bu değer 83.63'e ulaşmıştır. Bu kontrolün depolama sonunda daha koyu sarı bir renge sahip olduğu anlamına gelmektedir. Tablo 3.19. incelendiğinde ABE'lar ile renklendirilen örneklerin de depolama süresince h^o değerlerinin arttığı görülmektedir. Elde edilen bulgular ABE'lar ile renklendirilen elma sularının renk yoğunluğunun zamanla artmasıyla rengin sarıya yaklaştığını göstermektedir.

Örneklerin C^* değerleri dikkate alındığında ise kontrol örneklerinde depolama süresince hafif bir artış olduğu ancak bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır. Farklı ekstraktlar ile renklendirilen örneklerin C^* değerlerinde ise depolama süresinin uzamasına bağlı olarak azalma eğilimi gözlenmiştir. Örneklerin renklendirici materyallerin C^* değerleri üzerine etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, depolama süresinin sadece kontrol grubundaki etkisinin istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu tespit edilmiştir. C^* değeri en yüksek olan KLE ile renklendirilen elma sularının (10.20-6.31) diğer örneklerden daha yoğun bir renge sahip olduğu belirlenmiştir. En düşük C^* değerlerine sahip olan SHE ile renklendirilenlerin (5.52-3.71) en mat örnekler olduğu saptanmıştır (Tablo 3.19).

20°C sıcaklıkta depolanan elma sularının renk parametrelerinde meydana gelen değişim Tablo 3.20.'de verilmiştir. 20°C'de depolanan elma sularının L^* değerlerinin 4°C sıcaklıkta depolanan örneklere yakın olduğu belirlenmiş ve en yüksek parlaklık değerlerinin kontrol örneklerine ait olduğu saptanmıştır. En düşük L^* değeri ise ÜKE ile renklendirilen örneklerde tespit edilmiştir. Örneklerin depolama sürecinde L^* değerlerinin düşme eğiliminde olduğu saptanmıştır. L^* değerleri üzerine depolama süresinin etkisi sadece kontrol grubunda istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Elma sularının a^* değerleri depolama süresi uzadıkça azalma eğilimi göstermiştir. Ancak, depolama süresinin sadece kontrol örneklerinin a^* değerleri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Renklendirici materyal olarak kullanılan ABE'ların a^* değerleri üzerine olan etkisinin

önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. En yüksek a^* değeri KLE ile renklendirilen örneklerle aitken, en düşük a^* değeri ise kontrol örneklerinde tespit edilmiştir. Genel olarak 20°C 'de depolanan elma sularının a^* değerlerinin 4°C sıcaklıkta depolanan örneklerden biraz daha düşük olduğu görülmektedir. Elma sularının b^* değerlerinde de depolama süresince dalgalanmalar olmakla birlikte, genel olarak bir artış olduğu saptanmıştır. b^* değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkisi istatistiksel olarak önemliyken, depolama süresinin etkisi sadece kontrol örneklerinde önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.20).

Elma sularının h° değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar gözlenmekle birlikte, genel olarak artış eğiliminde oldukları belirlenmiştir. Bu sonuçlar, kontrol örneklerinin renginin sarıdan daha yoğun sarıya dönüştüğünü gösterirken, renklendirilen örneklerin renginin de benzer şekilde kırmızıdan hafif de olsa sarıya kaydığını ortaya koymaktadır. Ancak, bu artışın SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) bulunurken, renklendirici materyallerin h° üzerine etkisinin ise önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. Elma sularının h° değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar gözlenmekle birlikte, genel olarak artış eğiliminde oldukları belirlenmiştir. Bu sonuçlar, kontrol örneklerinin renginin sarıdan daha yoğun sarıya dönüştüğünü gösterirken, renklendirilen örneklerin renginin de benzer şekilde kırmızıdan hafif de olsa sarıya kaydığını ortaya koymaktadır. Ancak, bu artışın SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) bulunurken, renklendirici materyallerin h° üzerine etkisinin ise önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır.

Renklendirici materyallerin C^* değeri üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Depolama süresince kontrol grubu haricindeki örneklerin C^* değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. Ancak, C^* değerlerindeki bu azalmaların istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) olduğu saptanmıştır. Depolama süresinin uzamasıyla kontrol örneğinin C^* değerinde hafifte olsa bir artış (10.18-11.32) olduğu, dolayısı ile de örneklerin parlaklığının biraz arttığı tespit edilmiştir. Kontrol örneklerinin C^* değerlerindeki bu artışın istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. 4°C 'de depolanan elma sularında olduğu gibi 20°C 'de 90 gün süreyle depolanan örnekler arasında da C^* değeri en yüksek olan KLE ile renklendirilen elma sularının (10.20-8.40) diğer örneklerden daha yoğun bir renge sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.20.).

Tablo 3.20. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 20°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri

Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE	
L^*	0	10.81 ^{Aa} ±0.31	4.40 ^{Abc} ±0.27	5.19 ^{Ab} ±0.56	3.97 ^{Ac} ±0.24
	15	10.01 ^{ABa} ±0.91	4.12 ^{Ab} ±0.40	4.91 ^{Ab} ±0.96	3.58 ^{Ab} ±0.18
	30	10.65 ^{Aa} ±0.29	3.98 ^{Ab} ±0.54	4.30 ^{Ab} ±0.17	3.95 ^{Ab} ±0.56
	45	10.11 ^{Aa} ±0.46	3.99 ^{Ab} ±1.25	4.72 ^{Ab} ±0.47	3.86 ^{Ab} ±0.43
	60	10.49 ^{Aa} ±0.50	3.72 ^{Ab} ±0.18	3.95 ^{Ab} ±0.31	3.70 ^{Ab} ±0.35
	75	9.75 ^{ABa} ±0.24	3.68 ^{Ab} ±0.29	3.97 ^{Ab} ±0.43	3.31 ^{Ab} ±0.46
	90	8.25 ^{Ba} ±0.94	3.69 ^{Ab} ±0.25	3.61 ^{Ab} ±0.31	3.19 ^{Ab} ±0.28
a^*	0	3.78 ^{Ac} ±0.28	5.28 ^{Ab} ±0.55	9.85 ^{Aa} ±0.42	5.52 ^{Ab} ±0.37
	15	2.41 ^{BCb} ±0.19	5.02 ^{Ab} ±0.68	10.38 ^{Aa} ±2.26	5.42 ^{Ab} ±1.42
	30	2.32 ^{Cb} ±0.29	5.17 ^{Aab} ±1.21	8.74 ^{Aa} ±1.58	5.11 ^{Aab} ±1.65
	45	3.17 ^{ABc} ±0.47	5.13 ^{Ab} ±0.59	10.24 ^{Aa} ±0.45	4.70 ^{Ab} ±0.39
	60	3.46 ^{Ac} ±0.16	5.14 ^{Ab} ±0.98	9.83 ^{Aa} ±0.53	4.55 ^{Abc} ±0.21
	75	3.37 ^{Ac} ±0.13	4.74 ^{Ab} ±0.19	8.82 ^{Aa} ±0.40	3.43 ^{Ac} ±0.30
	90	2.43 ^{BCc} ±0.22	3.91 ^{Ab} ±0.62	7.94 ^{Aa} ±0.20	3.41 ^{Abc} ±0.18
b^*	0	9.45 ^{Ba} ±0.97	1.59 ^{Ab} ±0.28	2.51 ^{Ab} ±0.99	2.57 ^{Ab} ±0.26
	15	9.63 ^{Ba} ±0.59	1.66 ^{Ac} ±0.24	4.18 ^{Ab} ±1.23	2.35 ^{Abc} ±0.18
	30	10.28 ^{ABa} ±0.46	1.69 ^{Ab} ±0.52	2.93 ^{Ab} ±0.63	2.33 ^{Ab} ±0.33
	45	12.50 ^{Aa} ±1.77	1.75 ^{Ab} ±0.30	4.02 ^{Ab} ±0.45	2.39 ^{Ab} ±0.29
	60	10.99 ^{ABa} ±0.78	1.81 ^{Ac} ±0.14	3.77 ^{Ab} ±0.31	2.53 ^{Abc} ±0.21
	75	10.84 ^{ABa} ±0.40	1.70 ^{Ad} ±0.21	3.30 ^{Ab} ±0.31	2.50 ^{Ac} ±0.36
	90	11.06 ^{ABa} ±0.39	1.91 ^{Ac} ±0.25	2.74 ^{Ab} ±0.28	2.81 ^{Ab} ±0.16
h^o	0	68.05 ^{Ca} ±2.67	16.87 ^{Abc} ±3.39	14.13 ^{Ac} ±5.31	25.02 ^{Bb} ±2.56
	15	75.97 ^{ABa} ±1.17	18.33 ^{Ab} ±1.89	21.66 ^{Ab} ±1.55	24.67 ^{Bb} ±5.76
	30	77.36 ^{Aa} ±1.18	17.96 ^{Ab} ±2.19	18.39 ^{Ab} ±0.90	25.89 ^{Bb} ±5.93
	45	75.75 ^{ABa} ±1.54	19.15 ^{Ac} ±4.49	21.39 ^{Abc} ±1.73	27.10 ^{Bb} ±3.92
	60	72.51 ^{Ba} ±0.78	19.98 ^{Ac} ±4.14	20.97 ^{Ac} ±0.77	29.12 ^{ABb} ±2.60
	75	72.77 ^{Ba} ±0.60	19.82 ^{Ac} ±2.68	20.57 ^{Ac} ±2.12	35.97 ^{ABb} ±3.15
	90	77.66 ^{Aa} ±1.03	26.51 ^{Ac} ±5.53	19.05 ^{Ac} ±2.05	39.52 ^{Ab} ±2.11
C^*	0	10.18 ^{ABa} ±0.89	5.52 ^{Ab} ±0.52	10.20 ^{Aa} ±0.53	6.10 ^{Ab} ±0.35
	15	9.93 ^{Bab} ±0.59	5.29 ^{Ab} ±0.70	11.20 ^{Aa} ±2.55	5.93 ^{Ab} ±1.33
	30	10.54 ^{ABa} ±0.50	5.45 ^{Ab} ±1.30	9.22 ^{Aab} ±1.69	5.64 ^{Ab} ±1.56
	45	12.90 ^{Aa} ±1.80	5.43 ^{Ab} ±0.51	11.00 ^{Aa} ±0.54	5.28 ^{Ab} ±0.32
	60	11.52 ^{ABa} ±0.78	5.46 ^{Ab} ±0.92	10.53 ^{Aa} ±0.59	5.21 ^{Ab} ±0.19
	75	11.35 ^{ABa} ±0.40	5.04 ^{Ac} ±0.16	9.42 ^{Ab} ±0.36	4.25 ^{Ac} ±0.41
	90	11.32 ^{ABa} ±0.40	4.37 ^{Ac} ±0.52	8.40 ^{Ab} ±0.17	4.42 ^{Ac} ±0.18

L^* : Parlaklık, a^* : Kırmızılık, b^* : Sarılık, C^* : Renk yoğunluğu, h^o : Renk tonunu ifade etmektedir. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Tablo 3.21.'de ise 30°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin renklerinde meydana gelen değişimler görülmektedir. 30°C'de depolanan elma sularının L^* değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Kontrol örneklerinin 60 gün süreyle depolanması sonucunda aydınlık

değerlerinin 10.81-10.00 arasında değiştiği belirlenmiş olup, bu grubun en yüksek L^* değerine sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. KLE ile renklendirilen elma sularının L^* değerleri 5.19-3.94 aralığında, ÜKE ile renklendirilen örneklerin aydınlık değerleri ise 3.97-3.17 aralığında tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi örneklerin L^* değerlerinde depolama süresince bir azalma gözlenmiş ve bu azalmanın sadece kontrol örneklerinde istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Tablo 3.21. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 30°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri

Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE	
L^*	0	10.81 ^{Aa} ±0.31	4.40 ^{Abc} ±0.27	5.19 ^{Ab} ±0.56	3.97 ^{Ac} ±0.24
	15	10.17 ^{ABa} ±0.41	4.26 ^{Abc} ±0.23	5.00 ^{Ab} ±0.43	3.43 ^{Ac} ±0.41
	30	10.06 ^{Ba} ±0.44	3.90 ^{Ab} ±0.29	4.49 ^{Ab} ±0.49	3.63 ^{Ab} ±0.27
	45	9.96 ^{Ba} ±0.20	3.91 ^{Ab} ±0.74	4.35 ^{Ab} ±0.22	3.37 ^{Ab} ±0.20
	60	10.00 ^{Ba} ±0.34	3.74 ^{Ab} ±0.21	3.94 ^{Ab} ±0.42	3.17 ^{Ab} ±0.28
a^*	0	3.78 ^{Ac} ±0.28	5.28 ^{Ab} ±0.55	9.85 ^{ABa} ±0.42	5.52 ^{Ab} ±0.37
	15	3.23 ^{Ac} ±0.38	5.22 ^{Ab} ±0.15	10.32 ^{Aa} ±0.59	5.17 ^{ABb} ±0.34
	30	3.01 ^{Ac} ±0.16	4.57 ^{Ab} ±0.40	9.18 ^{ABa} ±0.22	4.44 ^{BCb} ±0.54
	45	3.04 ^{Ac} ±0.39	4.86 ^{Ab} ±0.58	9.60 ^{ABa} ±0.15	4.50 ^{BCb} ±0.25
	60	3.24 ^{Ab} ±0.38	4.49 ^{Ab} ±0.84	8.74 ^{Ba} ±0.66	4.15 ^{Cb} ±0.64
b^*	0	9.45 ^{Aa} ±0.97	1.59 ^{Ab} ±0.28	2.51 ^{Ab} ±0.99	2.57 ^{Ab} ±0.26
	15	9.55 ^{Aa} ±0.24	2.01 ^{Ac} ±0.30	4.27 ^{Ab} ±0.78	2.42 ^{Ac} ±0.78
	30	10.19 ^{Aa} ±0.34	1.80 ^{Ac} ±0.26	3.41 ^{Ab} ±0.23	2.15 ^{Ac} ±0.65
	45	10.39 ^{Aa} ±0.29	1.87 ^{Ac} ±0.14	4.13 ^{Ab} ±1.00	2.41 ^{Ac} ±0.35
	60	10.51 ^{Aa} ±0.25	2.14 ^{Ad} ±0.26	4.32 ^{Ab} ±0.22	2.68 ^{Ac} ±0.25
h^o	0	68.05 ^{Ba} ±2.67	16.87 ^{Abc} ±3.39	14.13 ^{Bc} ±5.31	25.02 ^{Ab} ±2.56
	15	71.39 ^{ABa} ±2.12	20.97 ^{Ab} ±2.82	22.37 ^{ABb} ±3.12	24.61 ^{Ab} ±6.49
	30	73.59 ^{ABa} ±1.11	21.66 ^{Ab} ±3.78	20.37 ^{ABb} ±1.28	25.75 ^{Ab} ±7.82
	45	73.77 ^{Aa} ±2.03	21.25 ^{Ac} ±2.98	23.15 ^{ABbc} ±5.51	28.06 ^{Ab} ±2.91
	60	72.94 ^{ABa} ±1.80	26.17 ^{Ab} ±5.83	26.54 ^{Ab} ±2.53	33.18 ^{Ab} ±3.02
C^*	0	10.18 ^{Aa} ±0.89	5.52 ^{Ab} ±0.52	10.20 ^{ABa} ±0.53	6.10 ^{Ab} ±0.35
	15	10.09 ^{Aa} ±0.26	5.60 ^{Ab} ±0.19	11.18 ^{Aa} ±0.77	5.74 ^{Ab} ±0.57
	30	10.63 ^{Aa} ±0.32	4.92 ^{Ac} ±0.36	9.79 ^{AB} ±0.23	4.97 ^{Ac} ±0.51
	45	10.84 ^{Aa} ±0.30	5.21 ^{Ab} ±0.53	10.50 ^{ABa} ±0.28	5.11 ^{Ab} ±0.34
	60	11.00 ^{Aa} ±0.30	5.00 ^{Ab} ±0.73	9.76 ^{Ba} ±0.56	4.95 ^{Ab} ±0.64

L^* : Parlaklık, a^* : Kırmızılık, b^* : Sarılık, C^* : Renk yoğunluğu, h^o : Renk tonunu ifade etmektedir. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Tablo 3.21. incelendiğinde depolama süresi uzadıkça örneklerin a^* değerlerinin azaldığı ancak bu düşüşün sadece KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) olduğu görülmektedir. Diğer sıcaklıklarda depolanan elma sularında olduğu gibi 9.85-

8.74 aralığında tespit edilen en yüksek a^* değerlerinin KLE ile renklendirilen örneklere ait olduğu belirlenmiştir. Beklendiği üzere 30°C’de 60 gün süreyle depolanan elma suları arasında, sarı rengin hakim olduğu kontrol örneklerinde en düşük a^* değerleri 3.78-3.24 aralığında belirlenmiştir. Örneklerin b^* değerleri üzerine renklendirici materyalin etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, depolama süresinin etkisinin istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin depolama süresince b^* değerlerinde bir miktar artış gözlenmiş olup, en yüksek b^* değerinin kontrol örneklerinde belirlenmiş ve değerlerin 9.45-10.51 aralığında olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.21.’de görülebileceği gibi 30°C’de depolanan elma suyunun h^o değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu bulunmuştur. Örneğin, kontrol örneklerinin h^o değerleri 68.05-72.94 aralığında tespit edilirken, SHE ile renklendirilen örneklerde bu değer 16.87-26.17 aralığında, ÜKE ilave edilen elma sularında ise 25.02-33.18 aralığında saptanmıştır. KLE ile renklendirilen örneklerin başlangıç h^o değeri olan 14.13, 60 gün süreyle depolanmaları halinde 26.54 seviyesine ulaşmıştır. Depolama süresince elma sularının h^o değerlerinde hafif dalgalanmalar olmakla birlikte, bu değerde genel olarak bir artış eğilimi belirlenmiştir. h^o değerlerindeki bu artışın kontrol örnekleri ile KLE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Kontrol örneklerinin C^* değerlerinde depolama süresince hafif bir artış olmakla birlikte bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) tespit edilmiştir. Depolama süresince ABE’ların ilave edilmesiyle renklendirilen elma sularının C^* değerlerinde ise hafif dalgalanmalar tespit edilmiş ve genel olarak eğiliminin artma yönünde olduğu belirlenmiştir. Renklendirici materyallerin elma suyunun C^* değerleri üzerine olan etkisi önemli bulunurken, depolama süresinin sadece KLE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. C^* değerleri dikkate alındığında en parlak örneğin kontrol örneği (10.18-11.00) olduğu, bunu 10.20-9.76 C^* değerleri sahip KLE ile renklendirilen örneklerin izlediği belirlenmiştir. SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin C^* değerlerinin ise sırası ile 5.52-5.00 ve 6.10-4.95 aralıklarında olduğu belirlenmiş olup, bu örneklerin diğerlerinden daha mat bir görünüm sergilediği sonucuna ulaşılmıştır (Tablo 3.21.).

3.5.1.6. Elma sularının duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi

Farklı ABE'lar ilave edilerek renklendirilen elma sularının depolama süresince renk, tat, koku ve genel beğeni özellikleri tecrübeli panelistler tarafından değerlendirilmiştir. 4°C'de depolanan örneklere ait duyuşal analiz bulguları Tablo 3.22.'de verilmiştir.

Tablo 3.22. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 4°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyuşal analiz bulguları

	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
Renk	0	6.78 ^{Ab} ±0.81	8.50 ^{Aa} ±0.62	7.83 ^{Aa} ±0.51	8.39 ^{Aa} ±0.61
	30	6.78 ^{Ab} ±1.00	8.39 ^{Aa} ±0.70	7.89 ^{Aa} ±1.02	8.11 ^{ABa} ±0.58
	60	6.78 ^{Ab} ±0.73	8.11 ^{Aa} ±0.68	7.72 ^{Aa} ±1.18	8.11 ^{ABa} ±0.76
	90	6.83 ^{Ab} ±1.04	7.89 ^{Aa} ±0.58	7.72 ^{Aa} ±1.07	7.94 ^{ABa} ±0.64
	120	7.44 ^{Aa} ±0.78	7.83 ^{Aa} ±0.79	7.83 ^{Aa} ±0.99	7.94 ^{ABa} ±0.87
	150	6.72 ^{Ab} ±0.96	7.89 ^{Aa} ±0.47	7.89 ^{Aa} ±0.83	7.78 ^{ABa} ±0.88
	180	6.89 ^{Ab} ±1.02	8.00 ^{Aa} ±0.97	7.78 ^{Aa} ±0.88	7.50 ^{Bab} ±0.92
Tat	0	8.00 ^{Aa} ±0.77	7.72 ^{Aa} ±0.75	6.94 ^{ABb} ±1.51	7.67 ^{Aa} ±1.33
	30	7.89 ^{Aa} ±1.13	7.72 ^{ABb} ±1.18	6.83 ^{ABb} ±0.79	7.78 ^{AAb} ±0.88
	60	7.39 ^{ABab} ±1.09	7.78 ^{Aa} ±0.81	6.72 ^{ABb} ±1.13	7.61 ^{ABab} ±0.92
	90	7.17 ^{ABab} ±0.79	7.56 ^{Aa} ±0.78	6.44 ^{ABb} ±1.69	7.67 ^{Aa} ±0.49
	120	7.17 ^{ABa} ±1.62	7.72 ^{Aa} ±0.67	7.61 ^{Aa} ±1.38	7.89 ^{Aa} ±0.76
	150	5.94 ^{BCb} ±1.16	7.94 ^{Aa} ±0.80	5.83 ^{Bb} ±2.01	6.83 ^{ABab} ±1.65
	180	6.67 ^{Cab} ±0.84	7.39 ^{Aa} ±1.24	5.94 ^{Bb} ±0.94	6.56 ^{Bab} ±1.46
Koku	0	7.61 ^{ABa} ±0.85	7.39 ^{Aa} ±0.85	6.28 ^{Ab} ±1.81	8.06 ^{Aa} ±0.87
	30	7.89 ^{Aa} ±1.08	7.78 ^{Aa} ±0.81	6.28 ^{Ab} ±1.41	7.89 ^{Aa} ±0.90
	60	7.28 ^{ABa} ±1.13	7.67 ^{Aa} ±0.69	6.06 ^{Ab} ±1.16	7.83 ^{Aa} ±0.79
	90	7.28 ^{ABb} ±0.75	7.67 ^{Aa} ±0.77	5.61 ^{Ac} ±1.46	7.61 ^{Aab} ±0.61
	120	7.28 ^{ABab} ±1.67	7.83 ^{Aa} ±0.79	6.44 ^{Ab} ±1.98	7.89 ^{Aa} ±0.83
	150	6.17 ^{Bab} ±1.20	7.78 ^{Aa} ±0.65	5.83 ^{Ab} ±1.69	7.78 ^{Aa} ±0.65
	180	7.17 ^{ABa} ±1.10	7.50 ^{Aa} ±1.34	6.00 ^{Aa} ±1.41	7.11 ^{Aa} ±1.23
Genel Beğeni	0	7.78 ^{Aa} ±0.55	7.78 ^{Aa} ±0.65	6.94 ^{Ab} ±1.47	7.89 ^{ABa} ±0.96
	30	7.72 ^{Aa} ±0.89	7.89 ^{Aa} ±0.68	6.83 ^{Ab} ±0.86	8.00 ^{Aa} ±0.77
	60	7.33 ^{ABab} ±1.08	7.83 ^{Aa} ±0.79	6.67 ^{Ab} ±1.07	7.78 ^{ABa} ±0.88
	90	7.17 ^{ABab} ±0.79	7.78 ^{Aa} ±0.55	6.44 ^{Ab} ±1.58	7.72 ^{ABa} ±0.46
	120	7.33 ^{ABa} ±1.37	7.78 ^{Aa} ±0.73	7.00 ^{Aa} ±1.46	7.89 ^{ABa} ±0.76
	150	6.33 ^{Bab} ±0.91	7.83 ^{Aa} ±0.79	6.06 ^{Ab} ±1.51	7.39 ^{ABab} ±1.20
	180	7.22 ^{ABa} ±1.06	7.56 ^{Aa} ±1.25	6.67 ^{Aa} ±1.41	7.06 ^{Ba} ±1.16

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. 1, kabul edilemez, 9, fazlasıyla beğendim. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

Renklendirmede kullanılan ekstraktların elma suyunun renk skorları üzerine etkisi istatistiki olarak önemli (p<0.05) bulunmuştur. Sonuçlar irdelendiğinde renk açısından SHE ile renklendirilen elma sularının renk skorları 8.50-8.00 aralığında bir değişme

göstermiş ve bu grubun en çok beğenilen örnekler olduğu saptanmıştır. Bu örnekleri, ÜKE ve KLE ile renklendirilen elma sularının izlediği belirlenmiştir. Yine renk skoru 6.78-6.89 aralığında olan kontrol örneklerinin, panelistlerce renk açısından en az beğenilen grup olduğu saptanmıştır. Depolama süresinin uzamasıyla elma sularının renk skorlarında hafif bir düşme saptanırken, renk değerindeki bu azalmanın sadece ÜKE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Kullanılan renklendirici materyallerin örneklerin tadı üzerine olan etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, depolama süresinin sadece KLE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Yine 6.94-5.94 aralığında tat skorlarına sahip olan KLE ilave edilen örneklerin tat açısından en az beğenildiği belirlenirken, SHE (7.72-7.39) ve ÜKE (7.67-6.56) ile renklendirilen elma sularının ise tat açısından daha çok beğenildiği tespit edilmiştir (Tablo 3.22.).

Tablo 3.22.'den de takip edilebileceği gibi örneklerin kokusu üzerine renklendirici materyalin etkisi önemli bulunurken, depolama süresinin sadece kontrol örnekleri üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Örneğin, 180 gün süren depolama sonucunda 6.28-6.00 aralığında koku skorları alan KLE ile renklendirilen elma sularının kokusu kusurlu bulunmuş olup, genel olarak diğer örneklerin ise beğenildiği tespit edilmiştir (Tablo 3.22.).

Genel beğeni skorları dikkate alındığında 180 gün süreyle depolama sonunda dahi başlangıç beğeni skoruna (7.78) son derece yakın (7.56) bir genel beğeni skoruna sahip olan SHE ile renklendirilen elma sularının en çok beğenilen örnekler olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.22.). KLE içeren örneklerin ise başlangıç genel beğeni değeri 6.94 iken 180 gün depolandıktan sonra bu değer 6.67'ye düşmüş olup, bu grubun panelistler tarafından en az beğenilen örnekler olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.23.'te görülebildiği gibi 20°C sıcaklıkta depolanan elma sularının renk skorlarının genel olarak 4°C'de depolanan örneklerden biraz daha düşük olduğu belirlenmiştir. Yine 4°C'de depolanan örneklerde olduğu gibi en düşük renk skorlarının kontrol örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir. En yüksek renk skorlarının ise SHE (8.50-7.83) ve ÜKE (8.39-7.78) ile renklendirilen gruplara ait olduğu saptanmıştır. Renklendirici materyalin renk üzerine etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, depolama

süresinin etkisi ÜKE ile renklendirilen örnekler dışında istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur.

Tablo 3.23. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 20°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyuusal analiz bulguları

	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
	Renk	0	6.78 ^{Ab} ±0.81	8.50 ^{Aa} ±0.62	7.83 ^{Aa} ±0.51
15		7.22 ^{Ab} ±0.94	8.44 ^{Aa} ±0.51	7.72 ^{Ab} ±0.75	8.22 ^{ABa} ±0.43
30		7.28 ^{Ab} ±0.96	8.50 ^{Aa} ±0.62	7.83 ^{Ab} ±1.20	8.00 ^{ABab} ±0.49
45		7.22 ^{Ab} ±0.55	8.06 ^{Aa} ±0.73	7.89 ^{Aa} ±0.96	8.00 ^{ABa} ±0.77
60		6.94 ^{Ab} ±0.80	8.00 ^{Aa} ±0.69	7.83 ^{Ab} ±1.15	8.06 ^{ABa} ±0.73
75		6.72 ^{Ab} ±0.67	7.94 ^{Aa} ±0.54	7.61 ^{Aa} ±0.85	7.72 ^{Ba} ±0.57
90		6.78 ^{Ac} ±0.88	7.83 ^{Aa} ±0.86	7.28 ^{Abc} ±0.67	7.78 ^{Ab} ±0.94
Tat	0	8.00 ^{Aa} ±0.77	7.72 ^{Aa} ±0.75	6.94 ^{Ab} ±1.51	7.67 ^{Aa} ±1.33
	15	7.50 ^{Aa} ±0.99	8.22 ^{Aa} ±0.73	6.56 ^{ABb} ±1.04	7.83 ^{Aa} ±0.71
	30	7.72 ^{Aa} ±0.96	8.11 ^{Aa} ±0.76	6.00 ^{Bb} ±1.57	7.39 ^{Aa} ±1.09
	45	7.44 ^{Aa} ±0.70	8.11 ^{Aa} ±0.76	6.50 ^{ABb} ±0.99	7.94 ^{Aa} ±0.87
	60	7.22 ^{Ab} ±0.88	7.83 ^{Aa} ±0.71	6.78 ^{ABb} ±0.88	7.22 ^{Ab} ±1.00
	75	7.33 ^{Aa} ±0.69	7.44 ^{ABa} ±0.86	6.56 ^{ABa} ±1.25	7.28 ^{Aa} ±1.18
	90	6.94 ^{Ab} ±0.73	6.56 ^{Bab} ±1.34	6.17 ^{ABb} ±1.42	7.61 ^{Aa} ±1.09
Koku	0	7.61 ^{Aa} ±0.85	7.39 ^{ABa} ±0.85	6.28 ^{ABb} ±1.81	8.06 ^{Aa} ±0.87
	15	7.17 ^{Aa} ±0.92	7.56 ^{ABa} ±0.62	5.39 ^{Bb} ±0.98	7.56 ^{Aa} ±0.78
	30	7.56 ^{Aa} ±0.98	8.00 ^{Aa} ±1.19	5.39 ^{Bb} ±1.65	7.39 ^{Aa} ±0.78
	45	7.33 ^{Ab} ±0.77	7.94 ^{Aa} ±0.80	6.72 ^{Ab} ±1.56	7.94 ^{Aa} ±0.87
	60	7.33 ^{Aa} ±0.91	7.56 ^{ABa} ±0.70	6.50 ^{ABa} ±1.10	7.50 ^{Aa} ±1.10
	75	7.33 ^{Aa} ±0.59	6.72 ^{Ba} ±1.67	5.89 ^{ABa} ±1.94	7.11 ^{Aa} ±1.28
	90	7.00 ^{Ab} ±0.69	6.67 ^{Bab} ±1.57	6.17 ^{ABb} ±1.95	7.61 ^{Aa} ±0.61
Genel Beğeni	0	7.78 ^{Aa} ±0.55	7.78 ^{Aa} ±0.65	6.94 ^{Ab} ±1.47	7.89 ^{Aa} ±0.96
	15	7.39 ^{Aa} ±0.85	8.22 ^{Aa} ±0.73	6.33 ^{ABb} ±0.77	7.75 ^{Aa} ±0.60
	30	7.61 ^{Aa} ±0.98	8.06 ^{Aa} ±0.73	6.17 ^{ABb} ±1.69	7.56 ^{Aa} ±0.92
	45	7.44 ^{Aa} ±0.78	7.94 ^{Aa} ±0.73	6.56 ^{ABb} ±1.15	7.94 ^{Aa} ±0.87
	60	7.19 ^{Ab} ±0.86	7.92 ^{Aa} ±0.60	6.72 ^{ABb} ±0.96	7.39 ^{Ab} ±0.92
	75	7.22 ^{Aa} ±0.55	7.28 ^{ABa} ±0.96	6.50 ^{ABa} ±1.20	7.39 ^{Aa} ±1.04
	90	6.89 ^{Ab} ±0.76	6.61 ^{Bab} ±1.54	5.89 ^{Bb} ±1.91	7.61 ^{Aa} ±0.85

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. 1, kabul edilemez- 9, fazlasıyla beğendim. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Renklendirici materyalin elma suyunun tat skorları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Kontrol (8.00-6.94) grubu ile SHE (7.72-6.56) ve ÜKE (7.67-7.61) ile renklendirilen örneklerin tat olarak beğenildiği saptanmıştır. Örnekler arasında KLE ile renklendirilen elma sularının panelistler tarafından tadının pek beğenilmediği ve

tat skorlarının 6.94-6.17 aralığında değiştiği bulunmuştur. Ayrıca depolama süresinin uzamasına bağlı olarak örneklerin tat skorlarının düştüğü gözlenmiştir (Tablo 3.23.).

Elma suları içinde kokusu en az beğenilen (6.28-6.17) grubun KLE ilave edilen örnekler olduğu saptanmıştır. Kontrol grubunun koku skorları 7.61 ile 7.00 aralığında iken, SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin koku değerlerinin sırası ile 7.39-6.67 ve 8.06-7.61 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak koku açısından en beğenilen örneğin ÜKE ile renklendirilen örnekler olduğu belirlenmiştir. Renklendirici materyalin koku üzerine etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, depolama süresinin kontrol örnekleri ve ÜKE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu bulunmuştur. Ayrıca depolama süresi uzadıkça, koku skorlarının bir düşme eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 3.23.).

20°C sıcaklıkta depolanan elma sularının genel beğeni skorlarının 4°C’de depolanan örneklerden biraz daha düşük olduğu belirlenmiş olup, KLE (6.94-5.89) ile renklendirilen örnekler haricinde örneklerin genel olarak beğenildiği sonucuna ulaşılmıştır. Örneğin, SHE ile renklendirilen ve 20°C’de 90 gün süreyle depolanan örneklerin 7.89 ile 7.61 aralığında genel beğeni skorlarına sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.23.). Yine renklendirici materyallerin panelistlerin genel beğenileri üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak genel beğeni değerlerinde bir düşüş gözlenirken, bu düşüşün SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada 30°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyuusal analiz sonuçları Tablo 3.24.’te verilmiştir. Elma sularının renk değerleri üzerine renklendirici materyalin etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, renklendirilen örneklerin renginin daha çok beğenildiği fakat genel olarak renk kaynakları arasında önemli bir fark olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır. Örneğin, ÜKE ile renklendirilen örneklerin renk skorları 8.39-7.72 aralığında iken, SHE ile renklendirilen örneklerin renk skorlarının 8.50-7.72 aralığında olduğu belirlenmiştir. KLE ile renklendirilen elma sularının renk skorlarının SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin renk skorlarından biraz daha düşük olduğu ve 7.83 ile 7.44 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Başlangıç renk skoru 6.78 olan kontrol örneklerinin depolama sürecinde renk skorları dalgalanmalar göstermiş ve 90 gün

depolamanın sonunda yine başlangıç skoru olan 6.78 ile renk olarak en az beğenilen grup olduğu saptanmıştır. Depolama süresince örneklerin renk skorlarının düştüğü, ancak depolama süresinin sadece KLE ilave edilen örneklerde önemli ($p>0.05$) olduğu bulunmuştur.

Altmış gün süreyle depolanan elma sularının tat skorları incelendiğinde kontrol örneklerinin tat skorları 8.00-7.56, SHE ile renklendirilen örneklerinki 7.72-7.94 ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin ise 7.67-7.44 aralığında olduğu tespit edilmiş ve aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu saptanmıştır. Ancak KLE ile renklendirilen örneklerin tat skorları 6.94 ile 6.56 aralığında tespit edilmiş olup, diğer örneklerden istatistiksel olarak farklı ($p<0.05$) olduğu bulunmuştur. Örneklerin tat skorlarında zamanla ortaya çıkan değişikliklerin çok az olduğu ve depolama süresinin örneklerin tat skorları üzerine etkisinin ise önemli olmadığı ($p>0.05$) tespit edilmiştir (Tablo 3.24.).

Tablo 3.24. Farklı ABE'lar ile renklendirilen ve 30°C sıcaklıkta depolanan elma sularının duyu analizi bulguları

	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	SHE	KLE	ÜKE
Renk	0	6.78 ^{Ab} ±0.81	8.50 ^{Aa} ±0.62	7.83 ^{ABa} ±0.51	8.39 ^{Aa} ±0.61
	15	7.00 ^{Ab} ±0.69	8.17 ^{Aa} ±0.51	7.72 ^{Aa} ±0.96	8.22 ^{Aa} ±0.55
	30	7.11 ^{Ab} ±0.58	8.22 ^{Aa} ±0.73	7.83 ^{ABab} ±0.62	8.06 ^{Aa} ±0.80
	45	6.72 ^{Ab} ±0.57	7.78 ^{Aa} ±1.17	7.94 ^{Aa} ±1.00	8.00 ^{Aa} ±0.91
	60	6.78 ^{Ab} ±0.65	7.72 ^{Aa} ±0.67	7.44 ^{Ba} ±0.92	7.72 ^{Aa} ±0.83
	Tat	0	8.00 ^{Aa} ±0.77	7.72 ^{Aa} ±0.75	6.94 ^{Ab} ±1.51
15		7.83 ^{Aa} ±0.79	7.61 ^{Aa} ±0.70	6.78 ^{Ab} ±0.81	7.56 ^{Aa} ±0.70
30		7.56 ^{Aa} ±0.92	8.33 ^{Aa} ±0.77	6.56 ^{Ab} ±1.42	8.00 ^{Aa} ±0.77
45		7.72 ^{Aa} ±0.67	7.89 ^{Aa} ±0.96	6.39 ^{Ab} ±1.54	7.44 ^{Aa} ±0.86
60		7.56 ^{Aa} ±0.86	7.94 ^{Aa} ±0.64	6.56 ^{Ab} ±1.10	7.44 ^{Aa} ±0.92
Koku		0	7.61 ^{Aa} ±0.85	7.39 ^{Ba} ±0.85	6.28 ^{Ab} ±1.81
	15	7.67 ^{Aa} ±0.69	7.61 ^{ABa} ±0.50	5.39 ^{Ab} ±1.20	7.17 ^{Ba} ±0.79
	30	7.83 ^{Aa} ±0.86	8.22 ^{Aa} ±0.73	5.28 ^{Ab} ±0.89	8.00 ^{Aa} ±0.59
	45	7.33 ^{Aa} ±0.77	7.61 ^{ABa} ±0.92	6.00 ^{Aa} ±1.64	7.50 ^{ABa} ±0.71
	60	7.61 ^{Aa} ±0.85	7.89 ^{ABa} ±0.76	5.61 ^{Ab} ±1.29	7.50 ^{ABa} ±0.99
	Genel Beğeni	0	7.78 ^{Aa} ±0.55	7.78 ^{Aa} ±0.65	6.94 ^{Ab} ±1.47
15		7.83 ^{Aa} ±0.62	7.67 ^{Aa} ±0.59	6.36 ^{Ab} ±1.11	7.33 ^{Aa} ±0.84
30		7.78 ^{Aa} ±0.81	8.22 ^{Aa} ±0.73	6.39 ^{Ab} ±1.38	7.89 ^{Aa} ±0.58
45		7.33 ^{Aab} ±0.77	7.83 ^{Aa} ±0.99	6.50 ^{Ab} ±1.50	7.50 ^{Aab} ±0.71
60		7.19 ^{Aab} ±0.93	7.94 ^{Aa} ±0.64	6.33 ^{Ab} ±1.24	7.50 ^{Aa} ±0.79

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı.1, kabul edilemez - 9, fazlasıyla beğendim. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Renklendirici materyallerin örneklerin koku skorları üzerine etkileri önemli ($p < 0.05$) bulunurken, en kusurlu kokunun KLE ile renklendirilen örneklere ait olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Nitekim, KLE ile renklendirilen örneklerin tat skorları 6.28-5.61 aralığında iken, diğer grupların tat skorlarınının 60 gün depolama sonunda dahi 7.50'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Diğer örneklerin kokuları ise panelistler tarafından iyi olarak değerlendirilmiştir. Depolama süresinin uzamasıyla örneklerin koku skorlarınının SHE ile renklendirilen örneklerin haricinde genellikle düşme eğiliminde olduğu saptanmıştır. Bu değişimin SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.24.).

Diğer sıcaklıklarda depolanan örneklerde olduğu gibi, 30°C'de depolanan elma sularının da genel beğeni değerleri depolama süresinin uzamasıyla genel olarak azalmıştır. Örneğin, kontrol örneklerinin başlangıç genel beğeni skoru 7.78'den 60 gün sonunda 7.19'a, KLE ile renklendirilen örneklerin skorları 6.94'ten 6.33'e ve ÜKE ilavesi yapılan örneklerinki ise 7.89'dan 7.50'ye düşmüştür. Ancak depolama süresinin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir. Örneklerin genel beğeni değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. KLE ile renklendirilen örneklerin 6.94-6.33 aralığındaki genel beğeni skoru ile en az beğenilen elma suyu örneği olduğu saptanırken, diğer örneklerin 60 gün süren depolama sonunda bile genel beğeni skorlarınının 7'nin üzerinde olduğu görülmektedir (Tablo 3.24.).

Farklı (4, 20 ve 30°C) sıcaklıklarda depolanan elma sularının duyu analizi sonuçlarının kısaca değerlendirilmesi gerekirse, her üç depolama sıcaklığında da renk açısından en az beğenilen örneklerin kontrol grubu örnekleri olduğu belirlenmiştir. SHE ile renklendirilen örneklerin başlangıç renk skoru olan 8.50 değerinin, örneklerin 4°C'de 180 gün, 20°C'de 90 gün ve 30°C'de 60 gün süreyle depolanmaları halinde sırası ile 8.00, 7.83 ve 7.72 seviyelerine gerilediği belirlenmiştir. Tat açısından tüm sıcaklıklarda gerek kontrol gerekse de SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin beğenildiği tespit edilmiştir. Başlangıç tat skoru 6.94 olan KLE ile renklendirilen örneklerin 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolandıktan sonra tat skorları sırası ile 5.94, 6.17 ve 6.56'ya düşmüştür. KLE ile renklendirilen örneklerin tat açısından en kusurlu bulunan grup olduğu tespit edilmiştir. Bu örnek grubunun başlangıç tat skorunun 6.94 olduğu 4, 20 ve 30°C'lerde

depolandığında bu değerin sırası ile 5.94, 6.17 ve 6.56 seviyelerine düştüğü belirlenmiştir. Genel olarak örneklere ait koku skorlarının zamanla dalgalanmalar olsa da biraz düştüğü belirlenmiştir. Örneğin, koku açısından en az beğenilen KLE ile renklendirilen elma sularında 6.28 olan başlangıç koku skorunun 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolandıktan sonra sırası ile 6.00, 6.17 ve 5.61'e düştüğü saptanmıştır. Genel beğeni kriterleri incelendiğinde ise genel olarak depolama sıcaklığı ve süresinin uzamasına bağlı olarak skorların düştüğü belirlenmiştir. Örnekler arasında genel beğeni skoru en yüksek örnek ÜKE ile renklendirilen elma suları olup, bunu sırası ile SHE ilave edilmiş örneklerle kontrol grubu izlemiştir. KLE ile renklendirilen örneklerin genel beğeni skorları ise diğer gruplardan daha düşüktür. Örneğin, 4°C'de 180 gün depolanmaları sonrası ÜKE ve KLE ile renklendirilen örneklerin genel beğeni skorları sırası ile 7.89-7.50 ve 6.94-6.67 aralığında tespit edilmiştir. ÜKE ve KLE ile renklendirilen örneklerin 20°C'de depolanmaları sonucunda genel beğeni skorlarının sırası ile 7.89-7.61 ve 6.94-5.89 aralıklarında değiştiği belirlenmiştir. Yine ÜKE ve KLE ilave edilen örneklerin 30°C'de 60 gün depolanmaları sonucunda da skorlarda diğer sıcaklıklarda olduğu gibi bir azalma olmuştur. ÜKE ile renklendirilen örneklerde depolama sonunda genel beğeni skoru 7.50 olarak belirlenirken, KLE ile renklendirilen örneklerde bu değerin 6.33 seviyesinde olduğu saptanmıştır.

3.5.2. Dondurma

Yapılan ön denemelerde 100 mL dondurma miksinin 3 mg antosiyanin seviyesinde ABE'lar ile renklendirilmeleri halinde duyuşal olarak en yüksek skorlara (renk ve genel beğeni skorları dikkate alınmıştır) sahip olduğu belirlenmiş ve denemelerde sadece bu konsantrasyon kullanılmıştır. ABE'larda toplam antosiyanin tayini yapılarak 3 mg antosiyanin içeren miktarları hesaplanmış (SHE'ndan 0.9009g/100 mL miks, KLE'ndan 0.3778g/100 mL miks veya ÜKE'ndan 0.2775g/100 mL miks) dondurmaların renklendirilmesinde kullanılmışlardır. Dondurma mikslерinin 100 mL'si 3 mg antosiyanin veya 3 mg karmin ile renklendirilmeleri halinde, dondurmaların kazandıkları renkler Şekil 3.14.'te gösterilmiştir.

Farklı ABE'lar ile renklendirilen dondurma örneklerinin 0. gün kuru madde, kül ve pH değerleri Tablo 3.25.'te verilmiştir.

Tablo 3.25. Dondurma örneklerinin % kuru madde, % kül ve pH değerleri (ilk gün)

	Kontrol	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
pH	6.67 ^A ±0.01	6.71 ^A ±0.02	6.53 ^B ±0.04	6.57 ^B ±0.01	6.52 ^B ±0.01
% Kuru madde	26.30 ^A ±0.24	26.36 ^A ±0.29	26.94 ^A ±0.70	26.37 ^A ±0.54	26.36 ^A ±0.30
% Kül	0.51 ^C ±0.03	0.52 ^{BC} ±0.04	0.60 ^A ±0.03	0.55 ^B ±0.04	0.54 ^{BC} ±0.03

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} aynı satırdaki harfler renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır (p<0.05).

Dondurma örneklerinin pH ve kül değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkileri önemli (p<0.05) bulunmuştur (Tablo 3.25.). En yüksek ve en düşük pH değerleri sırası ile karmin (6.71) ve ÜKE (6.52) ile renklendirilen örneklerde belirlenmiştir. Örneklerin % kuru madde ve kül miktarlarının ise ilave edilen renklendirici materyal ile bir miktar arttığı saptanmıştır. Örneğin kontrol grubunun kuru madde miktarı %26.30 iken, SHE ile renklendirilen dondurmalarda bu değer %26.94'ya yükseldiği belirlenmiştir. Benzer şekilde kontrol grubunun kül miktarının %0.51 olduğu saptanırken, SHE ile renklendirilen dondurmalarda bu değer %0.60 seviyesinde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.25.).



Şekil 3.14. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurmalar

3.5.2.1. Dondurmaların toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler

-18°C sıcaklıkta 3 ay süreyle depolanan dondurma örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarında ve antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişim Tablo 3.26.'da verilmiştir.

Tablo 3.26.'da görülebildiği gibi dondurma örneklerinin başlangıç toplam fenolik madde içerikleri 0.39 (kontrol) ile 138.20 (SHE ile renklendirilen örnekler) mg GAE/kg arasında büyük bir değişim göstermektedir. Karmin ile renklendirilen dondurmaların toplam fenolik madde içerikleri kontrol grubuna çok yakın bulunmuştur. Dondurma örneklerinin renklendirilmesinde kullanılan renklendirici materyallerin, örneklerin toplam fenolik madde içeriğine olan etkileri istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak toplam fenolik madde içeriğinde çok hafif bir azalma olduğu saptanmıştır (Tablo 3.26). Depolama süresinin sadece SHE ile renklendirilen dondurmaların fenolik içeriği üzerine olan etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Dondurmaların renklendirilmesi için ilave edilen ABE'lerin toplam fenolik madde miktarları da dondurma örneklerinin fenolik madde tayininde kullanılan Hwang *et al.* [26] tarafından verilen metotta bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiş olup, SHE, KLE ve ÜKE için sırası ile 15.171, 23.084 ve 102.237 mg GAE/g kuru ekstrakt olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.26. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin toplam fenolik madde miktarlarındaki ve antiradikal aktivitelerindeki değişim

	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
TFM* (mg/kg)	0	0.39 ^{Ad} ±0.16	0.42 ^{Ad} ±0.34	138.20 ^{Aa} ±2.43	67.28 ^{Ac} ±2.56	128.71 ^{Ab} ±2.06
	30	0.31 ^{Ad} ±0.25	0.36 ^{Ad} ±0.32	133.93 ^{ABa} ±1.83	66.73 ^{Ac} ±4.36	128.06 ^{Ab} ±1.86
	60	0.29 ^{Ad} ±0.14	0.31 ^{Ad} ±0.24	130.15 ^{Ba} ±1.22	65.40 ^{Ac} ±0.98	127.52 ^{Ab} ±2.15
	90	0.27 ^{Ad} ±0.18	0.27 ^{Ad} ±0.28	131.67 ^{Ba} ±2.06	64.70 ^{Ac} ±5.51	125.07 ^{Ab} ±1.61
Antiradikal aktivite (%)	0	1.91 ^{Ac} ±0.84	2.00 ^{Ac} ±0.66	43.82 ^{Aa} ±1.97	36.19 ^{Ab} ±1.25	35.72 ^{Ab} ±1.82
	30	1.43 ^{ABd} ±0.63	2.04 ^{Ad} ±0.78	41.51 ^{ABa} ±1.60	35.63 ^{ABb} ±1.65	32.40 ^{ABc} ±1.34
	60	1.08 ^{Bc} ±0.48	1.69 ^{Ac} ±0.92	40.49 ^{ABa} ±2.62	33.74 ^{Bb} ±2.45	30.87 ^{Bb} ±1.58
	90	1.18 ^{Bd} ±0.92	1.06 ^{Ad} ±0.81	40.11 ^{Ba} ±1.90	33.58 ^{Bb} ±2.80	30.66 ^{Bc} ±2.74

*: Toplam fenolik madde, SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. Her bir özellik için; ^{AB} aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

3.5.2.2. Dondurmaların antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Araştırmanın depolama sürecinde dondurma örneklerinin antiradikal aktivitelerindeki değişim Tablo 3.26.'da görülmektedir. En yüksek antiradikal aktiviteye sahip olan örneklerin %43.82-40.11 inhibisyon kapasiteleri ile SHE ile renklendirilen örnekler olduğu bulunmuştur. Bu grubu sırası ile KLE ve ÜKE ile renklendirilen dondurmalar izlemiş ve bunların antiradikal kapasitelerinin sırası ile %36.19-33.58 ve %35.72-30.66 aralığında olduğu belirlenmiştir. Karmin ile renklendirilen dondurmaların antiradikal kapasitelerinin %2.00-1.06 aralığında olduğu ve sonuçların renklendirilmemiş sade dondurmaların antiradikal kapasitelerine (1.91-1.18) son derece yakın olduğu saptanmıştır. Genel olarak depolama süresinin uzamasına bağlı olarak örneklerin antiradikal kapasiteleri azalmış olup, bu azalmanın istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

3.5.2.3. Dondurmaların renginde meydana gelen değişimler

Farklı antosiyanin kaynaklarından elde edilen ekstraktlar veya karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin renk parametrelerinde meydana gelen değişim Tablo 3.27.'de verilmiştir. En yüksek L^* değeri kontrol grubunda (68.55) saptanırken, bunu sırasıyla karmin (67.40), KLE (58.55), SHE (57.70) ve ÜKE (56.79) ile renklendirilen dondurmalar izlemiştir. L^* değerinin artması örneklerin renginin daha parlak olduğunun bir göstergesi olup, dondurma örnekleri arasında sade dondurmaların en parlak grup olduğu saptanmıştır. Depolama süresinin uzamasıyla L^* değerlerinin az da olsa azaldığı ve bu değişimin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Dondurma örneklerinin kırmızılık değerleri üzerine renklendirici materyalin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Örneklerin SHE ile renklendirilen örneklerin 8.03 değeri ile en yüksek a^* değerlerine sahip olduğu, bunu 7.58 a^* değerine sahip olan karmin ile renklendirilen dondurmaların izlediği belirlenmiştir. Dolayısıyla a^* değeri en yüksek olan SHE ile renklendirilen dondurmalar diğer örneklerden daha kırmızı olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Renklendirici içermeyen kontrol (sade dondurma) örneklerinin a^* değeri ise beklendiği gibi diğer örneklerden daha düşük olup, 0.07 seviyelerindedir (Tablo 3.27.). Depolama süresinin uzamasıyla birlikte, genel olarak örneklerin hepsinin a^* değerlerinde hafif bir azalma olduğu tespit

edilmiştir. Ancak depolama süresinin etkisi sadece karmin ile renklendirilen örneklerde önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Dondurmanın renklendirilmesinde kullanılan renklendirici materyallerin örneklerin b^* değerleri üzerine olan etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. En yüksek b^* değerleri 3.80 olarak kontrol örneklerinde belirlenirken, KLE (-3.69) ve ÜKE (-4.10) ile renklendirilen dondurmaların renginin morumsu olması nedeniyle b^* değerleri negatif olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.27.). Örneklerin b^* değerleri dikkate alındığında pozitif ve negatif b^* değerlerine sahip olan örneklerin sırasıyla sarımsı ve mavimsi-mor oldukları sonucuna ulaşılmaktadır. Depolama süresinin b^* değerlerine olan etkisi kontrol örneklerinin yanı sıra SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak dondurmaların b^* değerlerinde dalgalanmalar gözlenmiştir.

Tablo 3.27. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri

	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol (Sade)	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
L^*	0	68.55 ^{Aa} ±0.88	67.40 ^{Aa} ±0.52	57.70 ^{Ab} ±0.85	58.55 ^{Ab} ±2.94	56.79 ^{Ab} ±0.43
	30	68.52 ^{Aa} ±0.38	65.91 ^{Ab} ±1.06	57.20 ^{Ac} ±0.65	58.15 ^{Ac} ±0.45	56.53 ^{Ac} ±0.98
	60	68.48 ^{Aa} ±0.60	66.58 ^{ABa} ±1.48	55.21 ^{ABb} ±2.32	58.33 ^{Ab} ±1.19	56.57 ^{Ab} ±1.41
	90	68.38 ^{Aa} ±1.81	63.69 ^{Bb} ±1.33	52.72 ^{Bd} ±1.08	56.82 ^{Ac} ±1.33	52.42 ^{Bd} ±1.10
a^*	0	0.07 ^{Ad} ±0.07	7.58 ^{Aa} ±0.24	8.03 ^{Aa} ±0.77	5.29 ^{Ab} ±0.32	3.90 ^{Ac} ±0.43
	30	0.06 ^{Ad} ±0.05	7.25 ^{Aa} ±0.24	7.62 ^{Aa} ±0.28	5.30 ^{Ab} ±0.40	3.75 ^{Ac} ±0.35
	60	0.02 ^{Ac} ±0.02	7.22 ^{Ab} ±0.21	7.66 ^{Aa} ±0.27	5.09 ^{Ac} ±0.26	3.53 ^{Ad} ±0.31
	90	0.02 ^{Ac} ±0.02	6.63 ^{Bb} ±0.20	7.59 ^{Aa} ±0.12	4.92 ^{Ac} ±0.15	3.26 ^{Ad} ±0.16
b^*	0	3.8 ^{Aa} ±0.32	0.24 ^{Ab} ±0.06	0.77 ^{Cb} ±0.17	-3.69 ^{Ac} ±0.29	-4.10 ^{Ac} ±0.57
	30	3.50 ^{Aa} ±0.35	0.64 ^{Ab} ±0.21	1.01 ^{BCb} ±0.26	-3.45 ^{Ac} ±0.37	-4.45 ^{Ad} ±0.38
	60	3.41 ^{Aa} ±0.37	0.69 ^{Ab} ±0.20	1.22 ^{ABb} ±0.27	-3.96 ^{Ac} ±0.59	-4.68 ^{Ad} ±0.29
	90	2.45 ^{Ba} ±0.20	0.60 ^{Ab} ±0.17	1.44 ^{Ab} ±0.08	-4.36 ^{Ac} ±0.57	-5.68 ^{Bd} ±0.21
h^o	0	89.07 ^{Ac} ±0.90	1.85 ^{Ad} ±0.48	5.54 ^{Cd} ±1.33	325.48 ^{ABa} ±3.32	314.26 ^{Ab} ±6.47
	30	89.02 ^{Ac} ±0.79	5.08 ^{Ad} ±1.74	7.58 ^{BCd} ±2.10	326.95 ^{Aa} ±3.12	310.08 ^{ABb} ±3.11
	60	89.69 ^{Ac} ±0.38	5.45 ^{Ad} ±1.61	9.04 ^{ABd} ±2.04	322.34 ^{ABa} ±4.96	307.03 ^{ABb} ±3.29
	90	89.51 ^{Ac} ±0.41	5.22 ^{Ac} ±1.48	10.75 ^{Ad} ±0.45	318.62 ^{Ba} ±3.39	299.83 ^{Bb} ±1.38
C^*	0	3.81 ^{Ad} ±0.32	7.58 ^{Ab} ±0.24	8.00 ^{Aa} ±0.77	6.45 ^{Abc} ±0.22	5.63 ^{Bc} ±0.34
	30	3.50 ^{Ac} ±0.35	7.29 ^{Aa} ±0.22	7.69 ^{Aa} ±0.26	6.33 ^{Ad} ±0.43	5.83 ^{Bd} ±0.42
	60	3.41 ^{Ac} ±0.37	7.26 ^{Ab} ±0.20	7.76 ^{Aa} ±0.24	6.46 ^{Ac} ±0.42	5.87 ^{ABd} ±0.26
	90	2.45 ^{Bc} ±0.20	6.66 ^{Bb} ±0.19	7.73 ^{Aa} ±0.13	6.59 ^{Ab} ±0.45	6.55 ^{Ab} ±0.22

L^* : Parlaklık, a^* : Kırmızılık, b^* : Sarılık, C^* : Renk yoğunluğu, h^o : Renk tonunu ifade etmektedir. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Daha öncede belirtildiği gibi h° renk tonu ilgili bir diğer nitelik olup, bu değer 0–360° arasında değişmekte olup 0°=360° kırmızı, 90° sarı, 180° yeşil ve 270° mavi rengi temsil etmektedir [154]. Dondurma örneklerinin renk tonları hakkında fikir veren h° incelendiğinde, kontrol grubunun sarı (89.07-89.51), karmin ile (1.85-5.22) ve SHE (5.54-10.75) ile renklendirilen örneklerin kırmızı, KLE (325.48-318.62) ve ÜKE (314.26-299.83) ile renklendirilen örneklerin ise morumsu kırmızı oldukları belirlenmiştir. Renklendirici materyallerin h° üzerine etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu saptanırken, depolama süresinin etkisi sadece ABE'lar ile renklendirilen dondurma örneklerinde önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Renk yoğunluğunu temsil eden C^* değerleri incelendiğinde renklendirici materyalin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır (Tablo 3.27.). SHE (8.00-7.73) ile renklendirilen örneklerin en yüksek C^* değerlerine sahip olduğu, dolayısı ile en parlak örnek grubunu oluşturdukları belirlenmiştir. Bu grubu karmin (7.58-6.66) ile renklendirilen örneklerin izlediği saptanmıştır. 3.81-2.45 aralığındaki C^* değerlerine sahip olan kontrol grubunun en mat örnek grubunu oluşturduğu belirlenmiştir. Örneklerin C^* değerlerinde depolama süresince genel olarak dalgalanmalar tespit edilmiştir. Depolama süresinin kontrol örneklerinin yanı sıra karmin ve ÜKE ile renklendirilen dondurmalar üzerinde etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, diğer örnekler üzerine etkisinin istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu saptanmıştır.

3.5.2.4. Dondurmaların duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi

Bu araştırmada 3 ay süreyle depolanan dondurma örneklerinin depolama sürecinde duyuşal olarak değerlendirilen renk, tat, koku ve genel beğeni kriterlerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.28.'de görülmektedir. Dondurmaların renk skorları dikkate alındığında genel olarak tüm örneklerin panelistler tarafından beğenildikleri ve depolama süresinin uzamasına bağlı olarak da skorlarda çok az da olsa bir düşüş olduğu gözlenmektedir. Renklendirici materyalin duyuşal analiz renk skorları üzerine etkisi sadece depolamanın 90. gününde istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Depolama süresinin örneklerin renkleri üzerindeki etkisinin ise sadece SHE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Özellikle depolamanın 90. gününde dondurmaların panelistler tarafından biraz daha az beğenildiği saptanmıştır.

Renk bakımından dondurma örneklerinin hepsinin depolama süresince panelistler tarafından iyi olarak nitelendirildiği saptanmıştır (Tablo 3.28.). Araştırmada dondurmaların renklendirilmesinde kullanılan renklendirici materyallerin ürünün tadı üzerine olan etkisinin istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Tat açısından kontrol grubu (8.28-7.89) ve SHE ile renklendirilen örneklerin (8.44-7.56) arasında tat olarak en çok kabul gören örnekler olduğu saptanmıştır. Genel olarak tat açısından KLE ilave edilen dondurmaların diğer örneklerden istatistiki olarak farklı ($p<0.05$) olduğu ve nispeten daha az beğenildiği tespit edilmiştir (Tablo 3.28.).

Üç ay süren depolama süresince renklendirilen dondurmalar arasında koku açısından en çok beğenilen örneklerin SHE (8.17-7.50) ve ÜKE (7.78-7.61) ile renklendirilen dondurmalar olduğu belirlenirken, en az beğenilen grubun KLE (5.56-5.78) ilave edilen örnekler olduğu saptanmıştır. Kontrol örneklerinin koku skorlarının da yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 3.28.). Örnekler arasında yalnızca KLE ile renklendirilen örneklerin koku değerlerinin, diğer gruplardan istatistiki olarak farklı ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Depolama süresinin örneklerin koku değerleri üzerine olan etkisi ise önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur.

Tablo 3.28. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin duyu analizi bulguları

	Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
Renk	0	8.39 ^{Aa} ±0.85	8.11 ^{Aa} ±0.83	8.39 ^{Aa} ±0.50	8.00 ^{Aa} ±0.97	8.22 ^{Aa} ±0.65
	30	8.39 ^{Aa} ±0.50	8.11 ^{Aa} ±0.83	8.28 ^{Aa} ±0.67	8.11 ^{Aa} ±0.90	8.06 ^{Aa} ±0.80
	60	7.89 ^{Aa} ±1.23	8.11 ^{Aa} ±0.96	8.06 ^{Aa} ±0.87	8.00 ^{Aa} ±0.84	8.17 ^{Aa} ±1.19
	90	7.89 ^{Aa} ±0.90	7.83 ^{Aa} ±1.10	7.11 ^{Bb} ±0.83	7.44 ^{Aab} ±0.62	7.44 ^{Aab} ±0.70
Tat	0	8.28 ^{Aa} ±1.07	7.78 ^{Aa} ±0.88	8.44 ^{Aa} ±1.04	5.50 ^{Ab} ±2.15	7.89 ^{Aa} ±0.96
	30	8.22 ^{Aa} ±0.55	7.78 ^{Aa} ±1.26	8.50 ^{Aa} ±0.71	5.67 ^{Ab} ±2.14	7.61 ^{Aa} ±0.98
	60	7.94 ^{Aa} ±1.06	7.17 ^{Aa} ±1.47	7.67 ^{ABa} ±1.14	5.83 ^{Ab} ±1.58	7.17 ^{Aa} ±1.51
	90	7.89 ^{Aa} ±0.90	6.44 ^{Aab} ±1.82	7.56 ^{Ba} ±1.25	5.39 ^{Ab} ±1.33	7.22 ^{Aa} ±1.22
Koku	0	7.89 ^{Aa} ±1.53	8.00 ^{Aa} ±0.77	8.17 ^{Aa} ±0.62	5.56 ^{Ab} ±2.06	7.78 ^{Aa} ±0.73
	30	8.39 ^{Aa} ±0.85	8.06 ^{Aa} ±0.80	8.17 ^{Aa} ±0.99	6.28 ^{Ab} ±1.69	7.72 ^{Aa} ±1.36
	60	7.83 ^{Aa} ±1.04	7.22 ^{Aa} ±1.56	7.67 ^{Aa} ±1.14	5.78 ^{Ab} ±1.73	7.48 ^{Aa} ±1.56
	90	7.89 ^{Aa} ±0.83	6.61 ^{Aab} ±1.88	7.50 ^{Aa} ±0.99	5.78 ^{Ab} ±1.22	7.61 ^{Aa} ±1.04
Genel Beğeni	0	8.28 ^{Aa} ±1.07	8.00 ^{Aa} ±0.77	8.33 ^{Aa} ±0.69	5.56 ^{Ab} ±1.82	7.94 ^{Aa} ±0.80
	30	8.50 ^{Aa} ±0.62	8.06 ^{Aa} ±0.87	8.33 ^{Aa} ±0.69	6.17 ^{Ab} ±1.69	7.78 ^{Aa} ±0.81
	60	7.89 ^{Aa} ±1.13	7.28 ^{Aab} ±1.36	7.83 ^{ABa} ±1.04	5.94 ^{Ab} ±1.59	7.41 ^{Aa} ±1.59
	90	7.89 ^{Aa} ±0.83	6.56 ^{Aa} ±2.09	7.56 ^{Ba} ±0.78	5.94 ^{Aa} ±1.16	7.44 ^{Aa} ±1.04

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı.1, kabul edilemez - 9, fazlasıyla beğendim. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Dondurma grupları arasında genel özellikleri itibariyle en çok beğenilen örnek grupları kontrol grubunun (8.28-7.89) yanı sıra SHE (8.33-7.56) ve ÜKE (7.94-7.44) ile renklendirilen dondurmalar olduğu bulunmuştur (Tablo 3.28.). Örneklerin depolama süreçlerinde genel beğeni skorlarının az da olsa düştüğü belirlenmiş olmakla birlikte, genel beğeni üzerine olan etkisinin sadece SHE ile renklendirilen örneklerde önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). KLE ile renklendirilen dondurmaların ise 5.56-5.94 arasında değişen ve son derece düşük genel beğeni skorlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Genel beğeni skorları dikkate alındığında panelistler tarafından dondurmalara KLE ilavesinin kabul görmediği, ancak SHE ve ÜKE ile dondurmaların başarılı bir şekilde renklendirilebileceği bulgusuna ulaşılmaktadır. Duyusal beğenin renk parametresi haricinde ürünlerin tat ve kokuları ile de ilgili olması nedeniyle özellikle KLE ile renklendirilen örneklerde lahana kokusunun ve tadının algılanması, ürünün duyuşal skorları üzerine olumsuz etkide bulunmuştur. Bununla birlikte SHE ve ÜKE'lerinin ürünlerin tat ve koku parametrelerini olumsuz etkilemediği gibi bazı panelistler tarafından çok beğenildiği belirlenmiştir.

3.5.3. Lokum

Araştırmada farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen lokum örneklerinin 0. gün % kuru madde, % kül ve pH değerleri Tablo 3.29.'da verilmiştir.

Tablo 3.29. Lokum örneklerinin % kuru madde, % kül ve pH değerleri (ilk gün)

	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
pH	3.68 ^A ±0.02	3.66 ^A ±0.01	3.66 ^A ±0.02	3.57 ^B ±0.02
% Kuru madde	86.55 ^A ±0.11	86.57 ^A ±0.22	86.56 ^A ±0.11	86.57 ^A ±0.31
% Kül	0.02 ^A ±0.02	0.02 ^A ±0.01	0.02 ^A ±0.01	0.02 ^A ±0.01

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} aynı satırdaki harfler renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

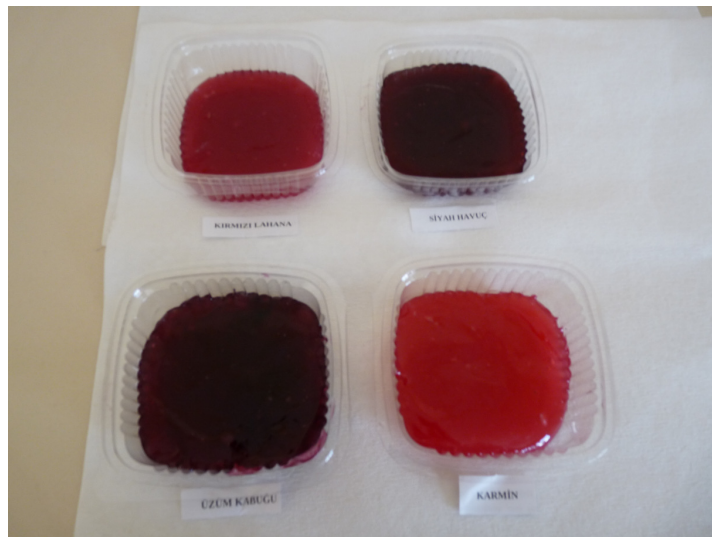
Karmin ile renklendirilen lokum örneklerinin pH değerleri 3.68 iken, SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerin pH değerleri 3.66, ÜKE ile renklendirilen lokumların pH değerleri ise 3.57 düzeyinde tespit edilmiştir. ÜKE ile renklendirilen lokum örneklerinin pH değerlerinin istatistiki olarak diğer gruplardan farklı ($p<0.05$) olduğu görülmektedir. Yine araştırmada üretilen şekerleme örneklerinin % kuru madde değerleri %86.55-86.57 aralığında, kül miktarları ise tüm örneklerde %0.02 seviyesinde belirlenmiş olup ilave

edilen renklendiricilerin örneklerin gerek kuru madde ve gerekse de kül miktarları üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır.

Araştırmada lokum olarak hazırlanan lokum örnekleri farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilerek 20°C'de 6 ay süreyle depolanmışlardır. Bu süreçte örnek olarak alınan lokumların renk ve duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişimler incelenmiş ve sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir.

3.5.3.1. Lokumların renginde meydana gelen değişimler

Araştırmada kullanılan ABE'lar ve karmin ile renklendirilen lokum örneklerinin resimleri Şekil 3.15.'te görölmektedir.



Şekil 3.15. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen lokum örnekleri

Tablo 3.30.'da lokum örneklerinin 180 gün süreyle 20°C sıcaklıkta depolanmaları sonucu L^* , a^* , b^* , h° ve C^* değerlerinde meydana gelen değişimler görölebilmektedir. Lokumların L^* değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkileri istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Karmin ile renklendirilen lokumların L^* değerleri 16.84-15.19 aralığında belirlenmiş ve dolayısı ile en yüksek aydınlığa sahip örneklerin bu grup olduğu tespit edilmiştir. 20°C'de 180 gün depolanan ÜKE ile renklendirilen örneklerin 12.32-10.84 parlaklık değerleri ile L^* değerleri en düşük olan grup olduğu saptanmıştır. Tablo 3.30. incelendiğinde ABE'larla renklendirilen örneklerden KLE ilave edilen lokumların parlaklık değerlerinin karmin ile renklendirilen örneklere son derece yakın

olduğu görülmektedir. Depolama süresinin uzamasıyla örneklerin parlaklık değerlerinin de genel olarak azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 3.30.).

Tablo 3.30. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen lokum örneklerinin L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerleri

Depolama Süresi (Gün)	Karmin	SHE	KLE	ÜKE	
L^*	0	16.84 ^{Aa} ±0.59	13.09 ^{Ac} ±1.43	14.55 ^{ABb} ±0.46	12.32 ^{Ac} ±1.28
	30	15.46 ^{Aa} ±1.28	11.89 ^{Abc} ±0.78	13.74 ^{ABab} ±1.72	11.45 ^{ABc} ±1.34
	60	15.37 ^{Aa} ±0.96	11.89 ^{Ab} ±1.21	14.06 ^{ABa} ±0.98	10.63 ^{ABCb} ±0.62
	90	16.10 ^{Aa} ±0.69	11.82 ^{Ac} ±1.13	13.47 ^{ABb} ±1.41	10.01 ^{BCd} ±0.74
	120	16.05 ^{Aa} ±0.89	10.45 ^{Ab} ±2.13	14.73 ^{ABa} ±1.13	9.42 ^{Cb} ±0.69
	150	15.56 ^{Aa} ±1.29	10.28 ^{Ab} ±2.60	13.30 ^{Bab} ±1.20	10.36 ^{BCb} ±1.34
	180	15.19 ^{Aa} ±0.50	11.10 ^{Ab} ±0.33	15.35 ^{Aa} ±1.01	10.84 ^{ABCb} ±1.27
a^*	0	12.76 ^{Aa} ±1.70	11.40 ^{Aa} ±1.21	11.37 ^{Aa} ±1.10	10.48 ^{Aa} ±1.49
	30	13.58 ^{Aa} ±0.93	11.18 ^{Ab} ±1.49	10.70 ^{Ab} ±1.19	10.42 ^{ABb} ±0.69
	60	12.90 ^{Aa} ±1.80	10.36 ^{Aab} ±1.51	9.92 ^{Aab} ±0.97	9.46 ^{ABb} ±0.44
	90	11.81 ^{Aa} ±1.74	10.10 ^{Aa} ±1.67	9.64 ^{Aa} ±1.28	9.51 ^{ABa} ±1.01
	120	12.38 ^{Aa} ±1.01	11.34 ^{Aa} ±2.03	10.06 ^{Aa} ±1.86	9.31 ^{ABa} ±1.44
	150	10.33 ^{Aa} ±1.23	9.96 ^{Aa} ±1.30	9.49 ^{Aa} ±2.19	9.26 ^{ABa} ±0.85
	180	10.27 ^{Aa} ±0.52	8.66 ^{Ab} ±0.95	9.86 ^{Aa} ±0.65	7.73 ^{Bb} ±0.83
b^*	0	2.14 ^{Aa} ±0.54	1.89 ^{Aa} ±0.85	-0.62 ^{Ab} ±0.12	-0.48 ^{Ab} ±0.22
	30	2.00 ^{Aa} ±0.27	2.17 ^{Aa} ±0.39	-0.51 ^{Ab} ±0.46	-0.52 ^{Ab} ±0.26
	60	2.04 ^{Aa} ±0.89	2.17 ^{Aa} ±0.41	-0.57 ^{Ab} ±0.37	-0.53 ^{Ab} ±0.28
	90	2.18 ^{Aa} ±1.27	2.51 ^{Aa} ±0.95	-0.40 ^{Ab} ±0.28	-0.78 ^{Ab} ±0.29
	120	2.22 ^{Aa} ±0.85	2.38 ^{Aa} ±0.68	-0.64 ^{Ab} ±0.27	-0.74 ^{Ab} ±0.43
	150	2.51 ^{Aa} ±0.30	2.62 ^{Aa} ±0.57	-0.63 ^{Ab} ±0.24	-0.77 ^{Ab} ±0.28
	180	2.74 ^{Aa} ±1.20	2.56 ^{Aa} ±0.32	-0.83 ^{Ab} ±0.37	-0.88 ^{Ab} ±0.21
h^o	0	9.60 ^{Ab} ±2.65	9.51 ^{Ab} ±4.21	356.82 ^{Aa} ±0.71	357.29 ^{Aa} ±1.33
	30	8.40 ^{Ab} ±1.03	11.03 ^{Ab} ±1.66	357.06 ^{Aa} ±2.82	357.06 ^{Aa} ±1.58
	60	8.61 ^{Ab} ±3.05	12.09 ^{Ab} ±2.98	356.57 ^{Aa} ±2.44	356.78 ^{Aa} ±1.70
	90	9.85 ^{Ab} ±5.37	13.44 ^{Ab} ±3.49	357.64 ^{Aa} ±1.63	355.18 ^{Aa} ±2.04
	120	10.03 ^{Ab} ±3.23	11.84 ^{Ab} ±2.84	356.13 ^{Aa} ±1.94	355.03 ^{Aa} ±3.21
	150	13.79 ^{Ab} ±2.10	14.71 ^{Ab} ±1.99	356.19 ^{Aa} ±1.36	355.20 ^{Aa} ±1.97
	180	14.74 ^{Ab} ±6.22	16.64 ^{Ab} ±3.00	355.25 ^{Aa} ±1.92	353.47 ^{Aa} ±1.45
C^*	0	12.95 ^{Aa} ±1.69	11.59 ^{Aa} ±1.20	11.39 ^{Aa} ±1.09	10.50 ^{Aa} ±1.49
	30	13.73 ^{Aa} ±0.94	11.39 ^{Ab} ±1.51	10.72 ^{Ab} ±1.17	10.44 ^{ABb} ±0.69
	60	13.08 ^{Aa} ±1.90	10.60 ^{Aab} ±1.48	9.95 ^{Ab} ±0.95	9.48 ^{ABb} ±0.44
	90	12.06 ^{Aa} ±1.87	10.42 ^{Aa} ±1.83	9.65 ^{Aa} ±1.28	9.55 ^{ABa} ±1.00
	120	12.60 ^{Aa} ±1.10	11.60 ^{Aa} ±2.07	10.08 ^{Aa} ±1.85	9.36 ^{ABa} ±1.40
	150	10.64 ^{Aa} ±1.20	10.30 ^{Aa} ±1.37	9.52 ^{Aa} ±2.19	9.30 ^{ABa} ±0.84
	180	10.69 ^{Aa} ±0.64	9.04 ^{Ab} ±0.90	9.90 ^{Ab} ±0.67	7.79 ^{Bc} ±0.83

L^* : Parlaklık, a^* : Kırmızılık, b^* : Sarılık, C^* : Renk yoğunluğu, h^o : Renk tonunu ifade etmektedir. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Karmin ile renklendirilen örnekler 180 gün süreyle depolanmaları halinde başlangıçtaki a^* değerinin 12.76'dan 10.27'ye düştüğü belirlenmiştir. ÜKE ile renklendirilen lokumların ise 10.48-7.73 skorları ile en düşük a^* değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Lokumların renklendirilmesinde kullanılan farklı renk materyallerinin a^* değeri üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. Yine depolama süresi uzadıkça örneklerin a^* değerlerinde azalma olduğu saptanmakla birlikte, depolama süresinin a^* değeri üzerine olan etkisinin sadece ÜKE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p < 0.05$) olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tablo 3.30.).

Lokum örneklerinin renklendirilmesinde kullanılan farklı renklendiricilerin b^* değeri üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu sonucuna ulaşılmıştır. KLE ilave edilmiş lokumların b^* değerleri, -0.62 ile -0.83 aralığında, ÜKE ile renklendirilen örneklerin b^* değerlerinin ise -0.48 ile -0.88 aralığında olduğu tespit edilmiştir. KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin morumsu kırmızı olması nedeni ile b^* değerleri negatif bulunmuştur. Karmin ve SHE ile renklendirilen örneklerin b^* değerlerinin sırası ile 2.14-2.74 ve 1.89-2.56 aralıklarında oldukları belirlenmiştir. Depolama süresinin b^* değeri üzerine olan etkisi önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.30.).

Kullanılan renklendirici materyallerin, örneklerin h^o değerleri üzerine olan etkilerinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. Karmin ve SHE ile renklendirilen örneklerin h^o değerlerinin sırası ile 9.60-14.74 ve 9.51-16.64 aralıklarında oldukları belirlenmiş olup, tonlarının birbirine son derece yakın olduğu görülmektedir (Tablo 3.30.). KLE ve ÜKE ile renklendirilen lokumların h^o değerlerinin ise sırası ile 356.82-355.25 ve 357.29-353.47 aralıklarında oldukları belirlenmiştir. Sonuçlar karmin ve SHE ile renklendirilen örneklerin kırmızı, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin ise morumsu kırmızı olduklarını ortaya koymaktadır. Örneklerin depolama süresince h^o değerlerinde dalgalanmalar olmakla birlikte, bu durumun istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.30.).

Örneklerin C^* değerleri üzerine kullanılan renklendirici materyallerin etkilerinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Örneğin, en yüksek C^* değerlerine karmin ile renklendirilen lokum örneklerinin sahip olduğu ve dolayısı ile en

parlak grubunda bu grup olduğu belirlenmiştir. En düşük C^* değerlerine sahip olan yani en mat grubun ise ÜKE ile renklendirilen örnekler olduğu tespit edilmiştir. Lokumların C^* değerleri üzerine depolama süresinin sadece ÜKE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin C^* değerlerinde bazı dalgalanmalar olmakla birlikte, genel olarak depolama süresindeki uzamaya bağlı olarak nispi bir düşüş olduğu saptanmıştır (Tablo 3.30.).

3.5.3.2. Lokumların duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi

Lokum örneklerine ait renk, tat, koku ve genel beğeni skorları Tablo 3.31.'de verilmiştir. Genel olarak ABE'lar ile renklendirilen şekerlemeler, karmin ile renklendirilen gruptan daha yüksek renk skorlarına sahip olmakla birlikte, renklendirici materyallerin renk üzerine etkileri sadece 0. gün örneklerinde önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Renk açısından en yüksek skorların SHE ve ÜKE ile renklendirilen lokumlara ait olduğu Tablo 3.31.'de görülebilmektedir. Lokumların duyuşal özelliklerinden renk üzerine depolama süresinin etkisi önemli ($p<0.05$) bulunurken, genel olarak 180 gün depolama süresince tüm lokum örneklerinin renklerinin panelistler tarafından iyi olarak değerlendirildiği saptanmıştır.

Tat skorları 6.78-6.17 aralığında olan KLE ilave edilen lokumların, tat açısından en kusurlu örnekler olduğu saptanmıştır. SHE ve ÜKE ile renklendirilen lokumların tat skorlarının ise sırası ile 8.33-7.67 ve 8.44-7.83 aralıklarında oldukları belirlenmiştir (Tablo 3.31.). Bu sonuçlar tat açısından en beğenilen örneklerin SHE ve ÜKE ile renklendirilen lokumlar olduklarını ortaya koymaktadır. Depolama süresinin uzamasıyla birlikte örneklerin tat skorlarında düşüşler gözlenmiştir. KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin tat skorları üzerine depolama süresinin etkisi istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunurken, karmin veya SHE ile renklendirilen örneklerde sürenin önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır.

Araştırmada renklendirilen lokumların kokusu üzerine renklendirici materyallerin etkileri istatistiki olarak önemli ($p>0.05$) bulunmuştur. SHE ve ÜKE ile renklendirilen lokumların 180 gün süreyle depolanmaları halinde her iki örnek grubunun da koku değerlerinin 8.83-7.67 aralığında değiştiği ve koku açısından en çok beğenilen örneklerin bu gruptakiler olduğu saptanmıştır. Yine KLE ilavesi yapılan örneklerin kokuları,

panelistler tarafından fazla beğenilmemiş ve bu skorlarının 7.00-6.61 aralığında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 3.31.). Depolama süresinin etkisi de KLE ile renklendirilen örnekler haricinde istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Depolama süresince örneklerin koku değerlerinde dalgalanmalar olmakla birlikte, genel olarak koku skorlarında nispi bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 3.31. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen şekerleme örneklerinin duyu analizi bulguları

	Depolama Süresi (Gün)	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
Renk	0	8.17 ^{ABb} ±0.79	8.61 ^{Aa} ±0.50	8.44 ^{Aab} ±0.62	8.50 ^{Aab} ±0.62
	30	8.28 ^{Aa} ±0.46	8.33 ^{ABa} ±0.59	8.28 ^{Aa} ±1.13	8.33 ^{Aa} ±0.84
	60	8.17 ^{ABa} ±0.92	8.33 ^{ABa} ±0.69	8.22 ^{Aa} ±1.00	8.39 ^{Aa} ±0.50
	90	8.17 ^{ABa} ±0.92	8.17 ^{ABa} ±0.92	8.28 ^{Aa} ±0.96	8.33 ^{Aa} ±0.77
	120	8.17 ^{ABa} ±0.92	8.17 ^{ABa} ±0.71	8.28 ^{Aa} ±0.83	8.17 ^{Aa} ±0.71
	150	7.89 ^{BCa} ±1.02	8.06 ^{ABa} ±0.73	7.94 ^{ABa} ±0.94	7.78 ^{Aa} ±0.81
	180	7.61 ^{Ca} ±1.09	7.78 ^{Ba} ±1.06	7.39 ^{Ba} ±1.65	7.78 ^{Aa} ±0.73
Tat	0	8.00 ^{ABa} ±0.91	8.33 ^{Aa} ±0.69	6.78 ^{Ab} ±0.73	8.44 ^{Aa} ±0.51
	30	8.28 ^{Aa} ±0.67	8.33 ^{Aa} ±0.49	6.81 ^{Ab} ±0.82	8.50 ^{Aa} ±0.62
	60	8.17 ^{ABa} ±0.86	8.33 ^{Aa} ±0.59	6.89 ^{Ab} ±1.45	8.39 ^{Aa} ±0.50
	90	8.00 ^{ABa} ±0.91	8.00 ^{ABa} ±1.03	6.78 ^{Ab} ±1.73	8.33 ^{Aa} ±1.03
	120	7.67 ^{BCb} ±0.97	8.00 ^{ABab} ±0.00	6.28 ^{Ac} ±0.89	8.17 ^{Aa} ±0.71
	150	7.67 ^{BCa} ±0.91	7.89 ^{ABa} ±0.58	6.17 ^{Ab} ±1.58	8.17 ^{Aa} ±0.79
	180	7.39 ^{Ca} ±0.98	7.67 ^{Ba} ±0.84	6.17 ^{Ab} ±1.72	7.83 ^{Aa} ±0.92
Koku	0	8.50 ^{Aa} ±0.51	8.83 ^{Aa} ±0.38	7.00 ^{Ab} ±1.37	8.83 ^{Aa} ±0.38
	30	8.00 ^{Bb} ±0.59	8.33 ^{ABab} ±0.59	7.00 ^{Ac} ±1.19	8.56 ^{ABa} ±0.51
	60	8.00 ^{Bb} ±0.59	8.33 ^{ABa} ±0.49	6.89 ^{Ac} ±1.13	8.28 ^{Bab} ±0.46
	90	8.06 ^{ABa} ±0.87	7.94 ^{Ba} ±0.94	6.61 ^{Ab} ±1.50	8.11 ^{BCa} ±1.02
	120	7.67 ^{BCa} ±0.97	7.89 ^{Ba} ±0.83	6.56 ^{Ab} ±1.50	8.11 ^{BCa} ±0.68
	150	7.28 ^{Cab} ±1.32	8.11 ^{ABa} ±0.68	6.67 ^{Ab} ±1.53	8.11 ^{BCa} ±0.96
	180	7.39 ^{Ca} ±0.61	7.67 ^{Ba} ±0.69	6.61 ^{Ab} ±1.09	7.67 ^{Ca} ±0.69
Genel Beğeni	0	8.00 ^{ABa} ±0.77	8.56 ^{Aa} ±0.70	6.67 ^{Ab} ±1.57	8.39 ^{Aa} ±0.70
	30	8.25 ^{Aa} ±0.65	8.33 ^{Aa} ±0.59	6.78 ^{Ab} ±0.81	8.39 ^{Aa} ±0.61
	60	8.06 ^{ABb} ±0.87	8.44 ^{Aa} ±0.51	6.94 ^{Ac} ±1.16	8.39 ^{Aab} ±0.61
	90	8.17 ^{ABa} ±0.92	7.94 ^{ABa} ±1.00	6.69 ^{Ab} ±1.38	8.28 ^{Aa} ±1.02
	120	7.83 ^{ABa} ±0.79	7.94 ^{ABa} ±0.54	6.67 ^{Ab} ±1.08	8.17 ^{Aa} ±0.71
	150	7.56 ^{Ba} ±1.10	8.06 ^{ABa} ±0.64	6.50 ^{Ab} ±1.42	8.06 ^{Aa} ±0.87
	180	7.56 ^{Ba} ±1.04	7.61 ^{Ba} ±0.61	6.28 ^{Ab} ±1.64	7.94 ^{Aa} ±0.64

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. 1, kabul edilemez - 9, fazlasıyla beğendim. ^{AB} Aynı sütündeki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Tablo 3.31.'den de takip edilebildiği gibi şekerlemelerin genel beğeni skorları üzerine renklendirici materyallerin etkileri istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çalışılan örneklerden 8.39-7.94 aralığında genel beğeni skorlarına sahip ÜKE ile renklendirilen grubun en çok beğenilen grup olduğu ve bunu sırası SHE ve karmin ile renklendirilen örneklerin izlediği tespit edilmiştir. Depolama süresinin uzamasıyla genel beğeni skorlarında hafif düşüşler gözlenmiş ve depolama süresinin sadece KLE ile renklendirilen şekerlemelerin genel beğeni skorları üzerine olan etkilerinin önemsiz ($p>0.05$) olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Şekerleme grupları içerisinde genel özellikleri itibarıyla en fazla beğenilen örnekler ÜKE ile renklendirilen grup iken, bunu sırası ile SHE ve karmin ile renklendirilen gruplar izlemiştir. Yine KLE ile renklendirilen örneklerin ise panelistler tarafından pek beğenilmediği saptanmıştır (Tablo 3.31.).

3.5.4. Çemen

Çemen örneklerinin pH, kuru madde ve kül değerleri Tablo 3.32.'de görülmektedir. En düşük kül miktarı %2.54 ve %43.21 kuru madde miktarı ile kontrol örneğine aittir. İlave edilen renklendirici materyaller örneklerin kuru madde ve kül miktarlarında çok az da olsa artışlara neden olmakla birlikte, bu artışların istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu saptanmıştır. SHE ile renklendirilen çemenlerin pH değeri 5.84 olarak belirlenmişken, diğer örneklerin pH değerlerinin 5.85 olduğu ve dolayısı ile de çemenlerin pH değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkilerinin de istatistiki olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) tespit edilmiştir.

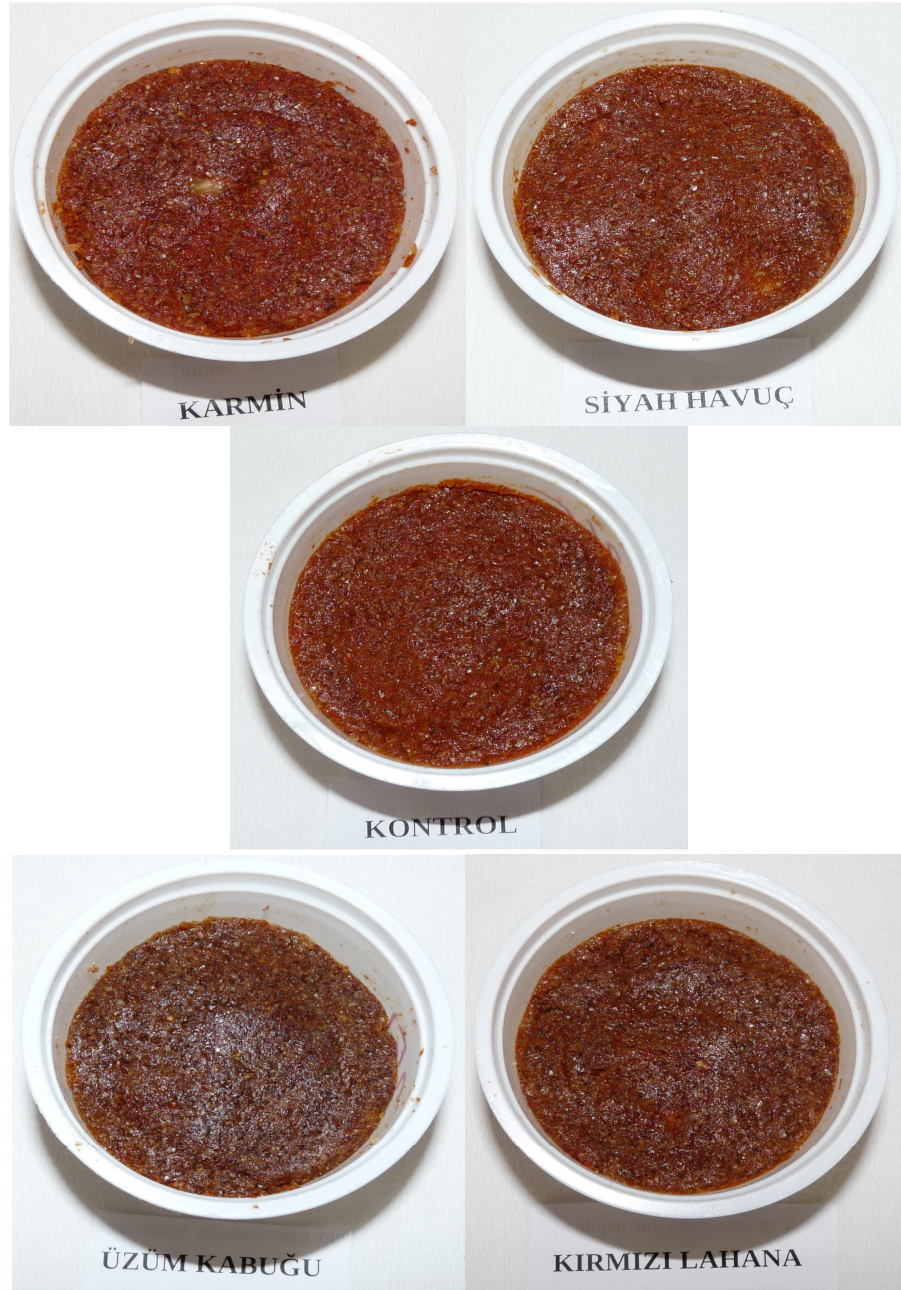
Tablo 3.32. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen çemen örneklerinin % kuru madde, % kül ve pH değerleri (ilk gün)

	Kontrol	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
% Kül	2.54 ^A ±0.05	2.55 ^A ±0.05	2.63 ^A ±0.01	2.60 ^A ±0.08	2.61 ^A ±0.04
% Kuru madde	43.21 ^A ±0.81	43.23 ^A ±0.33	43.73 ^A ±0.36	43.48 ^A ±0.84	43.27 ^A ±0.57
pH	5.85 ^A ±0.01	5.85 ^A ±0.01	5.84 ^A ±0.02	5.85 ^A ±0.01	5.85 ^A ±0.03

SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı ile renklendirilmiş. ^{AB} Aynı satırdaki harfler renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistiki olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

3.5.4.1. Çemenlerin renginde meydana gelen değişimler

Farklı ABE'lar veya karmin ile renklendirilen çemen örnekleri Şekil 3.16.'da görülebilmektedir.



Şekil 3.16. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen çemen örnekleri

Araştırmada kullanılan çemen örneklerinin L^* , a^* , b^* , h° ve C^* değerlerinde meydana gelen değişim Tablo 3.33.'te verilmiştir. Bu amaçla 4°C sıcaklıkta depolanan çemen örneklerinin L^* , a^* , b^* , h° ve C^* değerleri üzerine depolama süresi ve renklendirici materyallerin etkilerinin önemli ($p < 0.05$) olduğu bulunmuştur. Çemenlerin L^* değerleri depolama süresi boyunca bir azalma göstermiştir. 21 gün depolanmaları neticesinde 40.08-30.74 aralığında L^* değerlerine sahip olan kontrol grubu çemenler en parlak örnekler arasında iken, ÜKE ile renklendirilen örneklerin 32.63-27.92 aralığında L^*

değerine sahip olduğu ve en koyu çemen örnekleri arasında yer aldığı belirlenmiştir.

Tablo 3.33. Farklı ABE'lar ve karmin ile renklendirilen çemen örneklerinin depolanma sürecinde L^* , a^* , b^* , h^o ve C^* değerlerindeki değişimler

Depolama Süresi (Gün)	Kontrol	Karmin	SHE	KLE	ÜKE
L^*					
0	40.08 ^{Aa} ±0.88	38.14 ^{Aab} ±0.75	35.29 ^{AcD} ±1.84	35.60 ^{Abc} ±1.17	32.63 ^{Ad} ±0.90
1	39.40 ^{Aa} ±0.39	35.74 ^{Bb} ±0.54	35.16 ^{Ab} ±0.65	35.33 ^{Ab} ±0.37	32.99 ^{Ac} ±1.01
3	39.39 ^{Aa} ±0.22	37.30 ^{ABb} ±0.40	35.03 ^{Ac} ±1.36	35.71 ^{Abc} ±0.50	31.48 ^{ABd} ±0.41
5	39.07 ^{Aa} ±0.68	37.65 ^{Ab} ±0.58	34.54 ^{ABc} ±0.42	35.16 ^{Ac} ±0.47	30.40 ^{Bd} ±0.23
7	34.19 ^{Ba} ±0.21	31.12 ^{Cab} ±0.68	32.55 ^{ABCa} ±2.69	34.01 ^{Ba} ±0.62	27.03 ^{Cb} ±1.17
14	31.08 ^{Ca} ±0.48	29.76 ^{Ca} ±0.76	30.29 ^{BCa} ±1.06	30.48 ^{Ca} ±0.46	25.92 ^{Cb} ±0.35
21	30.74 ^{Ca} ±0.72	30.59 ^{Ca} ±0.57	29.20 ^{Cab} ±0.70	30.85 ^{Ca} ±0.34	27.92 ^{Cb} ±1.09
a^*					
0	16.85 ^{Cb} ±0.55	18.80 ^{Da} ±0.42	14.00 ^{Dc} ±1.02	15.21 ^{Cbc} ±0.41	11.83 ^{Dd} ±0.52
1	24.09 ^{Aab} ±0.28	25.19 ^{Aa} ±0.58	21.90 ^{Ac} ±0.57	23.32 ^{Abc} ±0.82	16.80 ^{Bd} ±0.08
3	21.26 ^{Bb} ±0.57	25.56 ^{Aa} ±0.54	19.16 ^{Bc} ±0.80	18.68 ^{Bc} ±0.39	18.86 ^{Ac} ±0.33
5	23.25 ^{ABa} ±1.28	20.91 ^{Cb} ±0.50	18.84 ^{Bc} ±0.18	18.37 ^{Bc} ±0.19	18.11 ^{Ac} ±0.61
7	21.15 ^{Ba} ±0.46	22.23 ^{Ba} ±0.49	16.56 ^{Cb} ±0.55	15.00 ^{Cc} ±0.34	15.75 ^{Bbc} ±0.55
14	17.90 ^{Ca} ±0.80	18.44 ^{Da} ±0.44	15.15 ^{CDb} ±0.34	14.35 ^{CDb} ±0.24	13.82 ^{Cb} ±0.54
21	15.66 ^{Cab} ±0.81	16.61 ^{Ea} ±0.63	14.26 ^{Dcb} ±0.39	13.77 ^{CDd} ±0.49	12.68 ^{CDd} ±0.51
b^*					
0	41.34 ^{Aa} ±0.37	39.68 ^{Ab} ±0.41	34.62 ^{Bd} ±1.21	37.49 ^{Ac} ±0.34	30.34 ^{ABc} ±0.37
1	41.70 ^{Aa} ±0.28	39.51 ^{Ab} ±0.41	38.36 ^{Ac} ±0.28	38.30 ^{Ac} ±0.64	29.36 ^{Bd} ±0.21
3	39.33 ^{Ba} ±0.38	38.67 ^{Aa} ±0.68	32.88 ^{BCb} ±0.30	33.45 ^{Bb} ±0.51	31.12 ^{Ac} ±0.31
5	39.75 ^{Ba} ±0.45	33.76 ^{Bb} ±0.40	30.93 ^{CDd} ±0.18	32.67 ^{Bc} ±0.36	30.40 ^{ABd} ±0.70
7	32.98 ^{Ca} ±0.83	31.96 ^{Ca} ±0.43	24.29 ^{Eb} ±1.16	21.93 ^{Cc} ±0.39	22.13 ^{Cc} ±0.52
14	29.66 ^{Da} ±0.24	28.00 ^{Db} ±0.63	29.46 ^{Da} ±0.27	21.52 ^{Cc} ±0.65	20.24 ^{Dd} ±0.44
21	24.41 ^{Ea} ±0.33	22.46 ^{Eb} ±0.77	24.81 ^{Ea} ±0.70	22.09 ^{Cb} ±0.75	19.52 ^{Dc} ±0.21
h^o					
0	67.86 ^{Aa} ±0.72	64.68 ^{Ab} ±0.63	68.02 ^{Aa} ±1.27	67.95 ^{Aa} ±0.55	68.73 ^{Aa} ±0.95
1	60.02 ^{BCab} ±0.38	57.51 ^{BCc} ±0.55	60.31 ^{Ca} ±0.67	58.70 ^{Cbc} ±0.92	60.26 ^{Ba} ±0.18
3	61.64 ^{Ba} ±0.73	56.56 ^{CDd} ±0.79	59.81 ^{Cbc} ±0.98	60.85 ^{Bab} ±0.23	58.81 ^{BCc} ±0.54
5	59.72 ^{BCab} ±1.43	58.26 ^{Bb} ±0.67	58.68 ^{Cab} ±0.27	60.67 ^{Ba} ±0.38	59.25 ^{BCab} ±1.08
7	57.35 ^{Ca} ±0.39	55.20 ^{Dab} ±0.85	55.72 ^{Dab} ±1.23	55.65 ^{Dab} ±0.73	54.59 ^{Eb} ±1.18
14	58.94 ^{BCb} ±1.07	56.66 ^{CDc} ±0.72	62.82 ^{Ba} ±0.46	56.33 ^{Dc} ±1.04	55.70 ^{DEc} ±0.82
21	57.36 ^{Cb} ±1.32	53.55 ^{Ec} ±0.66	60.14 ^{Ca} ±0.98	58.07 ^{Cab} ±1.14	57.02 ^{CDb} ±1.06
C^*					
0	44.65 ^{Ba} ±0.36	43.92 ^{Ba} ±0.33	37.35 ^{Bc} ±1.34	40.46 ^{Bb} ±0.37	32.57 ^{Cd} ±0.34
1	48.16 ^{Aa} ±0.24	46.86 ^{Ab} ±0.55	44.17 ^{Ac} ±0.37	44.85 ^{Ac} ±0.75	33.83 ^{Bd} ±0.20
3	44.71 ^{Bb} ±0.37	46.36 ^{Aa} ±0.59	38.06 ^{Bc} ±0.56	38.31 ^{Cc} ±0.62	36.39 ^{Ad} ±0.28
5	46.07 ^{Ba} ±0.71	39.71 ^{Cc} ±0.43	36.22 ^{Bd} ±0.18	37.48 ^{Cc} ±0.32	35.39 ^{Ad} ±0.66
7	39.18 ^{Ca} ±0.91	38.93 ^{Ca} ±0.31	29.40 ^{Db} ±1.11	26.57 ^{Dc} ±0.39	27.17 ^{Dc} ±0.51
14	34.65 ^{Da} ±0.53	33.53 ^{Dab} ±0.64	33.12 ^{Cb} ±0.34	25.87 ^{Dc} ±0.51	24.51 ^{Ec} ±0.60
21	29.01 ^{Ea} ±0.57	27.94 ^{Ea} ±0.94	28.62 ^{Da} ±0.63	26.04 ^{Db} ±0.73	23.28 ^{Fc} ±0.35

L^* : Parlaklık, a^* : Kırmızılık, b^* : Sarılık, C^* : Renk yoğunluğu, h^o : Renk tonunu ifade etmektedir. SHE: Siyah havuç ekstraktı, KLE: Kırmızı lahana ekstraktı, ÜKE: Üzüm kabuğu ekstraktı. Her bir özellik kendi içinde değerlendirilmiştir. ^{AB} Aynı sütundaki büyük harfler depolama süresinin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistik olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$). ^{ab} Aynı satırdaki küçük harfler ise renklendirici materyallerin karşılaştırılması olup, aynı harflerle simgelenen örnekler arasında istatistik olarak fark bulunmamaktadır ($p<0.05$).

Çemen örneklerinin a^* değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar saptanmış ve depolama süresinin a^* değerleri üzerindeki etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Depolamanın ilk bir haftasında genel olarak örneklerin a^* değerlerinin arttığı, sonrasında ise düştüğü belirlenmiştir (Tablo 3.33.). Kullanılan renklendirici

materyallerin örneklerin a^* değerleri üzerindeki etkilerinin önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Yine karmin ile renklendirilen örneklerin a^* değerlerinin 18.80-16.61 aralığında olduğu, yani kırmızılık değeri en yüksek örneklerin bu gruba dahil olduğu saptanmıştır. ABE'lar ile renklendirilen örnekler arasında ÜKE ile renklendirilen örneklerin a^* değerleri 11.83-12.68 aralığında ve en düşük kırmızılık skorlarına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.33.'ten de görülebildiği gibi çemenlerin b^* değerlerinde de depolama süresince dalgalanmalar saptanmış olup, genel olarak bu değerlerin zamanla azaldığı belirlenmiştir. Depolama süresinin b^* değerleri üzerindeki etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneğinin b^* değeri 41.34-24.41 aralığında saptanırken, en düşük b^* değerlerinin, 30.34-19.52 aralığındaki değerlerle ÜKE ile renklendirilen örneklere ait olduğu belirlenmiştir.

Örneklerin a^* ve b^* değerlerinde meydana gelen değişimlerin h° ve C^* değerlerine yansımaları nedeni ile bu değerlerde de dalgalanmalar ve benzer azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.33.). h° ve C^* değerleri üzerine depolama süresi ve renklendirici materyallerin etkilerinin önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. C^* değerleri dikkate alındığında en parlak örneklerin kontrol örnekleri olduğu ve bunu karmin, KLE ve SHE ile renklendirilen örneklerin izlediği saptanmıştır. Başlangıç C^* değeri 32.57 olan ve 21 gün depolama sonucunda C^* değeri 23.28'e düşen ÜKE ile renklendirilen örneklerin ise en mat görüntüye sahip çemen örnekleri olduğu belirlenmiştir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada, siyah havuç, kırmızı lahana ve ülkemize has önemli bir şaraplık çeşit olan Öküzgözü üzümünün kabuklarından klasik ekstraksiyon yönteminin yanı sıra PEF ve ultrason teknikleri ile ekstraksiyon yapılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde, toplam antosiyanin miktarı, antiradikal kapasite ve antioksidan aktivite gibi bazı biyolojik özellikleri ile 15 farklı mikroorganizma üzerine antimikrobiyel etkileri araştırılmıştır. Ayrıca araştırmada, klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ABE'lerin farklı gıda gruplarında renklendirici olarak kullanım imkanları da araştırılmıştır. Yine bu çalışma kapsamında klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve gıda ürünlerinin renklendirilmesinde kullanılan ABE'lerin, pH değerleri 3 ve 4 olan 2 farklı tampon çözelti içerisinde 90°C sıcaklığa maruz bırakılmış ve antosiyaninlerde meydana gelen değişimler izlenmiştir. Aynı ekstraktların elma sularında ısı işlem sırasında ortaya çıkan parçalanma kinetikleri incelenmiştir. Klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların elma sularının renklendirildiği konsantrasyonda (4 mg siy-3-glikozit/100 mL) *Escherichia coli* O157:H7 ve *Bacillus cereus* F2 üzerine olan inhibitif etkileri 4 ve 20°C sıcaklıklarda 96 saat süreyle inkübe edilerek, ekstraktların bu mikroorganizmalar üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. “4. Bölüm, Araştırma Bulguları” kısmında verilen sonuçlar, bu bölümde diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılarak detaylı bir şekilde tartışılmıştır.

4.1. Antosiyanin Kaynaklarının Nitelikleri

Daha öncede belirtildiği gibi araştırmada kullanılan siyah havuç örneklerinden rasgele 15 adet örnek alınmış ve bu örneklerin boy, ağırlık, alt ve orta kısım çapları ölçülerek, örneklerin görünümüleri hakkında fikir sahibi olunmaya çalışılmıştır. Siyah havuçların ortalama ağırlıkları 132.67 g iken, ortalama boylarının 223.90 mm olduğu

belirlenmiştir. Alt ve orta kısımların ortalama çaplarının ise sırası ile 38.75 ve 23.55 mm olduğu saptanmıştır (Tablo 3.1.).

Araştırmada kullanılan üzüm posaları laboratuara getirildiğinde nem kaybını engellemek amacı ile hiç zaman kaybetmeden 3 adet 1'er kg ağırlığında posa tartılarak; kabuk, sap ve çekirdek kısımları özenle ayrılmıştır. Sonuçlar üzüm posasının yaklaşık %54.5'inin kabuk, %28'inin çekirdek ve %17.5'inin ise sap olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada preslenmiş üzümde elde edilen cibrenin %50'sinin kabuk %25'inin ise çekirdek olduğu bildirilmektedir [171]. Bir diğer çalışmada ise üzüm posasının kuru ağırlık üzerinden %38-52 kadarının çekirdek olduğu aktarılmaktadır [102]. Bu sonuçlar dikkate alındığında Öküzgözü cinsi üzümlerden elde edilen posanın kabuk oranının nispeten daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Bu sonuçlar, araştırmada kullanılan Öküzgözü cinsine ait posanın miktar olarak antosiyanin üretimine uygun bir kaynak olabileceğini göstermektedir.

Araştırma için laboratuara getirilen kırmızı lahanalardan rasgele 10 adet örnek seçilerek, lahanaların ağırlıkları, boy ve iki farklı yerinden çap ölçümleri yapılmıştır. Tablo 3.2.'den de görülebileceği gibi kırmızı lahanaların ortalama ağırlık ve boylarının sırası ile 1249.50 g ve 187.50 mm olduğu belirlenmiştir. Örneklerin orta kısımlarının ortalama çaplarının ise 133.19 mm olduğu saptanmıştır.

4.2. Antosiyanin Kaynaklarının Bazı Analitik Özellikleri

Araştırma kapsamında antosiyanin kaynağı olarak kullanılan siyah havuç, kırmızı lahanalar ve üzüm kabuklarının bazı genel bileşim unsurları belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.3.'te verilmiştir. Siyah havucun kuru madde, kül, toplam şeker ve indirgen şeker miktarları sırası ile %14.05, %0.96, %7.28 ve %2.33 olarak tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda havuçların kuru madde içeriklerinin genel olarak %9.3-16.0 aralığında olduğu belirtilmektedir [171]. Bir diğer çalışmada havuçların kül miktarları %0.97 toplam şeker içerikleri ise %7.1 olarak belirlenmiştir [173]. Rodriguez-Sevilla *et al.* [174] ise siyah havuçların şeker içeriğinin %4.97 düzeyinde olduğunu belirtmektedir. Yine 15 farklı siyah havuç çeşidinde yapılan bir çalışmada, havuçların toplam şeker miktarı 142.0-424.9 g/kg kuru madde olarak belirlenirken, sakaroz miktarları ise 120.2-

331.9 g/kg kuru madde düzeyinde tespit edilmiştir. Araştırmalarda siyah havuçların şeker içeriğinin, yaklaşık %60-90 oranında sakarozdan oluştuğu belirtilmiştir [43]. Belirtilen sonuçlar, bu çalışmada elde edilen verilere paralellik arz etmektedir. Siyah havuç örneklerinin pH değeri 5.79 olarak belirlenirken, titrasyon asitliği susuz sitrik asit cinsinden %0.16 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.3.). Utuş [173] siyah havuçların pH değerini 6.03 olarak belirlerken, bir diğer çalışmada bu değer 5.80 olarak saptandığı bildirilmiştir [175]. Yine siyah havuçların titrasyon asitliğinin farklı araştırmalarda 0.30–0.75 g/L düzeyinde belirlendiği aktarılmaktadır [172].

Kırmızı lahanalar örneklerinin kuru madde, kül, toplam şeker ve indirgen şeker miktarları sırası ile %8.15, %0.77, %5.26 ve %5.00 olarak belirlenmiştir. Yine örneklerin pH değeri 6.26, titrasyon asitliği ise susuz sitrik asit cinsinden %0.13 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.3.). Arıcı ve Yılmaz [175] ise kırmızı lahanaların pH değerinin 5.32 olarak belirlediklerini aktarmaktadır. Üç farklı kırmızı lahanalar türünde yapılan bir çalışmada da, örneklerin kuru madde içeriklerinin 5.19-7.76 g/100 g, toplam şeker miktarlarının 2.17-3.66 g/100 g düzeyinde olduğu belirlenmiştir [176]. Örneklerin genel bileşim içeriklerindeki farklılıkların tür, yetiştirme koşulları, iklim şartları gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Öküzgözü üzüm posasının ayıklanması ile elde edilen üzüm kabuklarının kuru madde içeriği %47.80, kül miktarı ise %3.80 olarak saptanmıştır. Örneklerin titrasyon asitliği tartarik asit cinsinden %1.06, pH değeri ise 3.51 olarak ölçülmüştür. Üzüm kabuklarının indirgen şeker miktarı %3.33 düzeyinde iken, toplam şeker miktarının %3.70 seviyesinde olduğu saptanmıştır (Tablo 3.3.). Beş farklı üzüm çeşidinin posasının incelendiği bir çalışmada, Öküzgözü üzüm posasının kuru madde ve kül miktarlarının sırası ile %91.38 ve %4.00 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada örneklerin titrasyon asitliği %1.80, pH değeri ise 4.02 düzeyinde saptanmıştır. Yine bu posalarda toplam şeker ve indirgen şeker miktarlarının ise sırası ile %5.86 ve %2.9 olduğu belirtilmiştir [177].

4.3. Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen ABE'lerin Bazı Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi

Daha önce de belirtildiği üzere araştırmada antosiyanin kaynağı olarak kullanılan siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarından klasik ekstraksiyon, ultrason ve PEF (üzüm kabuğu haricinde) teknikleri kullanılarak ABE'lar elde edilmiştir. Bu amaçla çözgen olarak su ve AES (PEF tekniğinde sadece saf su) kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde, toplam antosiyanin miktarı, antioksidan aktivite ve antiradikal kapasiteleri gibi bazı biyolojik özellikleri belirlenmiştir.

4.3.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin verimleri

Araştırma kapsamında farklı ekstraksiyon yöntemleri ve çözgenler ile elde edilen ABE'lerin verimleri belirlenmiştir. Kırmızı lahananın PEF yöntemi ile elde edilen ekstraktının %5.64 verime sahip olduğu saptanmış ve su ekstraktları arasında en yüksek verimin bu gruba ait olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.4.). Siyah havucun PEF ekstraktının verimi ise %8.38 düzeyindedir. Siyah havuç ve kırmızı lahananın ultrason yöntemi ile elde edilen AES ekstraktlarının verimlerinin sırası ile %9.25 ve %6.45 olduğu saptanmıştır. Kırmızı lahana ve siyah havuçlarda ultrason yöntemi ile elde edilen AES ekstraktlarının verimleri diğer ekstraktlardan daha yüksek çıkmıştır. Bunun ultrasonun kullanılan çözgen olan AES ile sinerjik etki göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Üzüm kabuğunun ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemlerinde çözgen olarak AES kullanılması durumunda ekstraktların verimlerinin su ekstraktlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine bu örneklerde klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların ultrason ekstraktlarından biraz daha yüksek verime sahip oldukları Tablo 3.4.'ten görülebilmektedir. Kullanılan çözgenin asitlendirilmiş olması durumunda dokunun daha iyi parçalanması nedeni ile verimin artabileceği bildirilmektedir [178]. Üzüm kabuklarında ekstraksiyon yönteminin ekstrakt verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) iken, diğer örneklerde önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

4.3.2. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin toplam fenolik içerikleri

Araştırma kapsamında incelenen antosiyanin kaynakları arasında en yüksek fenolik madde içeriğinin üzüm kabuklarına ait olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.5). Her üç antosiyanin kaynağının ekstraksiyonunda da çözgen AES'nin kullanılması halinde ekstraktların toplam fenolik madde miktarının, yalnızca su kullanılarak elde edilen ekstraktlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, klasik ekstraksiyon yöntemleri ile çözgen olarak su ve AES'nin kullanılması durumunda ÜKE'lerinin toplam fenolik madde içeriklerinin sırası ile 78.83 ve 101.90 mg GAE/g kuru ekstrakt olduğu belirlenmiştir. Kırmızı lahananın klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen su ve etanol:su ekstraktlarının ise sırası ile 20.68 ve 38.72 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeylerinde toplam fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Diğer bir antosiyanin kaynağı olan siyah havucun klasik ekstraksiyonla elde edilen su ve AES ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarlarının ise 21.89 ve 31.55 mg GAE/g kuru ekstrakt seviyelerinde olduğu tespit edilmiştir. Daha öncede belirtildiği üzere ekstraksiyonda kullanılan çözgenin asitlendirilmiş olması durumunda da dokunun daha iyi parçalanması nedeni ile gerek ekstrakte edilen madde miktarı ve gerekse de ekstraktların kimyasal kompozisyonları etkilenmektedir [178]. Yapılan araştırmalarda %50 civarında etanol içeren sulu sistemlerde fenolik bileşenlerin başarılı bir şekilde ekstrakte edilebildiği belirtilmektedir. Çözgen kompozisyonunun yoğunluk ve dinamik vizkozite gibi parametreleri etkilemek sureti ile difüzyon ve ekstraksiyon oranlarını etkilediği bilinmektedir [179]. Örneğin, kırmızı üzüm posasının ekstraksiyonunda farklı etanol konsantrasyonu ve asitlerin kullanıldığı bir çalışmada toplam fenolik madde miktarlarının, 2546 ile 5402 mg GAE/100 g kuru ağırlık düzeylerinde geniş bir dağılım gösterdiği aktarılmaktadır. Aynı çalışmada kırmızı üzüm posasının ekstraksiyonunda %0.1 HCl ile asitlendirilen %57'lik etanol çözeltisinin kullanılması ile toplam fenolik madde miktarının 3424 mg GAE/100 g kuru ağırlık civarında olduğu belirlenmiştir [179]. Üzüm posasından farklı çözgenlerle antosiyanin ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir diğer çalışmada, etanole su ilave edilmesiyle ekstrakt miktarının arttığı, ancak su oranının çok fazla artmasıyla ekstraktta istenmeyen diğer bileşenlerin

miktarının da arttığı, neticede ekstraktta fenolik bileşen oranının azaldığı belirtilmektedir [180].

Çalışma kapsamında kullanılan üzüm kabukları, şarap üretimi için 6 gün süreyle cibre fermentasyonuna tabi tutulan Öküzgözü üzüm çeşidinin posasından ayıklanarak elde edilmiştir. Kırmızı şarap yapımında uygulanan cibre fermentasyonu süresinin çeşide bağlı olarak değiştiği ve Öküzgözü çeşidi için 6 günlük bir sürenin yeterli olduğu bildirilmektedir [181]. Üzümlerin şaraba işlenirken fermentasyona bırakılma süreleri doğal olarak posanın fenolik bileşimini etkilemektedir. Örneğin üzümlerin 4, 8 veya 12 gün süreyle cibre fermentasyonuna bırakılmasından sonra üzüm posalarının su ile ekstraksiyona tabi tutulduğu bir araştırmada, 12 gün süren fermentasyon sonrasında elde edilen posaların ve kontrol örneğinin su ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri 123.5-138.2 mg klorojenik asit eşdeğeri/L düzeyinde saptanırken, antosiyanin miktarlarının 1466.6-4051.5 µg malvidin-3-glikozit/L olduğu belirlenmiştir. Beklenebileceği gibi sonuçlar, fermentasyon süresinin uzamasına bağlı olarak üzüm posalarının toplam fenolik ve antosiyanin miktarlarının düştüğünü ortaya koymaktadır [182]. Cibre fermentasyonunun ilk yedi günü içerisinde antosiyaninlerin önemli bir kısmının çözünerek şıraya geçtiği, sonraki günlerde kabukta yaklaşık %30-40 oranında antosiyanin kaldığı bildirilmektedir. Yedi gün süren fermentasyondan sonra fermentasyon süresinin uzamasına bağlı olarak kabuktaki antosiyanin miktarının pek değişmediği belirtilmektedir [77; 183].

Taze üzümlerin ekstrakte edilebilir fenolik bileşiminin %10'unun pulpta, %60-70'inin çekirdekte ve %28-35'lik kısmının ise kabukta olduğu bildirilmektedir [184]. Çekirdek, kabuk ve sap kısmından oluşan üzüm posasının fraksiyonlarına ayrılması ile doğal olarak fenolik bileşimi de azalmaktadır [185]. Nitekim bu araştırmada Öküzgözü üzüm çeşidinin kabuklarının çözgen olarak AES'nin kullanıldığı klasik ekstraksiyon uygulamasında toplam fenolik madde miktarı, 101.90 mg GAE/g kuru ekstrakt olarak belirlenmiştir (Tablo 3.5.). Oysa Öküzgözü üzüm çeşidi posasında yapılan bir başka çalışmada toplam fenolik madde miktarının çözgen olarak metanol kullanılması halinde 281.4 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde belirlendiği aktarılmaktadır [159]. Sicilya'ya özgü beş farklı üzüm posası üzerinde yapılan bir araştırmada örneklerin fenolik madde

içeriklerinin, 6.91-49.33 mg/g MeOH ekstraktı seviyesinde olduğu belirtilmektedir [186]. Bahse konu araştırma sonuçlarına göre Öküzgözü üzüm çeşidinin kabuklarının fenolik bileşim açısından son derece zengin bir kaynak olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Genel olarak bu çalışmada ultrason uygulamasının, siyah havuç, kırmızı lahanalar ve üzüm kabuğu ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarının artmasına neden olduğu belirlenmiştir. Örneğin, üzüm kabuklarından ultrason yöntemi ile elde edilen su ve AES ekstraktlarının sırası ile 77.56 ve 100.20 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde toplam fenolik madde içerdikleri saptanmıştır. Benzer şekilde ultrason yöntemi kullanıldığında kırmızı lahananın su ve AES ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarlarının sırası ile 21.71 ve 39.88 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Siyah havuçlarda ise yine ultrason yöntemi ile elde edilen su ekstraktlarının 25.99 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde toplam fenolik madde içerirken, AES ekstraktlarının ise 35.44 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Literatürde, farklı materyallerde ultrasonik ekstraksiyonun klasik ekstraksiyon yöntemlerinden daha etkili olduğuna dair çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Örneğin, üzüm posasının ultrason tekniği ile ekstraksiyonda (24 kHz), kontrol örneğine kıyasla fenolik madde miktarının %11-35 oranında arttığı bildirilmektedir [36]. Portakal (*Citrus sinensis* L.) kabuğuna 25 kHz düzeyinde 1 saat süreyle ultrason uygulaması ile toplam fenolik madde miktarının yaklaşık %40 düzeyinde arttığı belirtilmektedir [187]. Benzer şekilde Satsuma mandalinalarından (*Citrus unshiu* Marc.) fenolik madde ekstraksiyonunda ultrason uygulamasının ekstraktların fenolik madde ve antioksidan kapasitelerini arttırdığı saptanmıştır [188]. Buğday (*Triticum aestivum*) kepeğinden fenolikçe zengin heteroksiklanların ekstraksiyonunda, ultrason uygulamasının ekstraksiyon süresini 60 dakikadan 5 dakikaya kadar düşürdüğü bildirilmektedir [189]. Özellikle üzüm sanayi atıklarından biyoaktif özellikteki ekstraktlarının eldesinde ultrason uygulamalarının iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir. Örneğin, çözgen olarak etanolün kullanıldığı bir çalışmada *Pinot noir* üzüm çeşidinin kabukları 19 saat süreyle katı/sıvı ekstraksiyonuna veya 1 saat süreyle ultrasonik ekstraksiyonlarına tabi tutulmuş ve toplam fenolik madde miktarları sırası ile 105.1 ve 90.0 mg/100 g kuru madde olarak belirlenmiştir [190]. Katı/sıvı ekstraksiyon yöntemi ile kıyaslandığında ultrason tekniği ile ekstraksiyon işleminin, toplam ekstraksiyon süresinin daha kısa olması nedeni ile başarı ile

kullanılabileceği bildirilmektedir [190]. Taze üzüm kabuklarına ultrasonik ekstraksiyon tekniğinin uygulandığı bir araştırmada, kontrol grubu 1 saat süreyle 70°C sıcaklıktaki su banyosunda inkübe edilmiştir. Çözgen olarak %50 etanol kullanılan bu çalışmada, kontrol grubunun toplam fenolik madde miktarının, ultrason ekstraktlarından daha düşük olduğu belirlenmiştir [118].

Bu araştırmada siyah havuca PEF uygulanması sonucunda 1 g kuru ekstraktın, 23.84 mg GAE düzeyinde fenolik madde içerdiği saptanmıştır (Tablo 3.5.). Siyah havuçta çözgen olarak suyun kullanıldığı klasik ve ultrason ekstraksiyon uygulamalarında bu değer sırası ile 21.89 ve 25.99 mg GAE/g kuru ekstrakt olarak belirlenmiştir. Tablo 3.5. incelendiğinde en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahip olan siyah havuç ekstraktının, çözgen olarak AES'nin kullanıldığı ultrason uygulamasında elde edilen örnekler olduğu görülmektedir (35.44 mg GAE/g kuru ekstrakt). Literatürde siyah havuç konusunda benzer bir çalışmaya rastlanamamış olması nedeni ile çalışma kapsamında elde edilen sonuçların kıyaslanması mümkün olamamıştır.

Kırmızı lahanalar örneklerinin ekstraksiyonunda çözgen olarak suyun kullanıldığı uygulamalarda, fenolik madde miktarları dikkate alındığında, yöntemlerin etkinliği PEF (25.18 mg GAE/g kuru ekstrakt) > ultrason (21.71 mg GAE/g kuru ekstrakt) > klasik (20.68 mg GAE/g kuru ekstrakt) ekstraksiyon şeklinde sıralandığı görülmektedir. Tablo 3.5.'ten de AES'nin kırmızı lahanalarda da fenolik madde ekstraksiyonunu olumlu yönde etkilediği görülmekte olup, ultrason ve klasik ekstraksiyonlarında fenolik madde miktarları sırası ile 39.88 ve 38.72 mg GAE/g kuru ekstrakt düzeyinde olmuştur. Bu araştırmada PEF uygulaması ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları, beklenen aksine daha düşük bulunmuştur (Tablo 3.5.). Bu durumun 3 kV/cm şiddetindeki elektrik alan uygulamasının örneklerdeki polifenoloksidaz enzimini yeterince inaktive edememesi nedeni ile ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir. PEF uygulanmış örneklerde hücre klasik ekstraksiyona göre daha çok parçalanmakta ve fenoliklerle polifenoloksidaz enzimi daha çok bir araya gelmektedir. Enzimin inaktive edilmemesi nedeni ile de PEF uygulamasını izleyen 2 saatlik ekstraksiyon işlemi sırasında fenoliklerin parçalandığı düşünülmektedir. Nitekim PEF uygulamasının polifenoloksidaz enzimi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 24 kV/cm

düzeyinde bipolar tarzda 20 μ s süreyle uygulanan 300 adet vurgunun elmanın polifenoloksidaz miktarını %97 düzeyinde azalttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada şeftali polifenoloksidaz seviyesinin bipolar tarzda 24 kV/cm düzeyinde PEF uygulaması ile %70 azaldığı belirtilmektedir. Artan vurgu şiddeti veya vurgu sayısının enzimin inaktivasyon seviyesini arttırdığı saptanmıştır [191]. Bir diğer araştırmada, PEF işleminin 15-80 kV/cm elektrik alan şiddetinde, vurgu sıklığı 1-100 arasında değişmek sureti ile 1-100 μ s süreyle uygulanması durumunda bunun bakteriler ve enzimlerin inaktivasyonu için yeterli olduğu bildirilmiştir [30]. Ancak mikrobiyal ve enzimatik inaktivasyonun hedeflenmediği durumlarda, doku parçalanması ile biyoaktif bileşenlerin ortaya çıkarılması için 3 kV/cm düzeyinde nispeten düşük elektrik alan şiddeti uygulanabilmektedir [191]. Bu çalışmada 3 kv/cm doku parçalanması ve antosiyanin ekstraksiyonu için yeterli olmuş, fakat enzimatik inaktivasyon muhtemelen sağlanamamıştır. Bu nedenle de PEF uygulaması ile elde edilmiş siyah havuç ve kırmızı lahana ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarlarının özellikle çözgen olarak AES'nin kullanıldığı ultrason tekniği ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların miktarından daha düşük tespit edilmiştir.

Literatürde yer alan çalışmalarda, ekstrakte edilen maddenin çeşidi, ekstraksiyon uygulaması, kullanılan çözgen ve hesaplamalarda mevcut çalışma ile bazı farklılıklar bulunabilmektedir. Bu nedenle gerek toplam fenolik ve gerekse de diğer biyoaktivite analiz sonuçlarının literatürle birebir kıyaslanması söz konusu olamamıştır. Yine literatürde PEF uygulamalarının fenolik madde üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Örneğin bir çalışmada 35 kV/cm şiddetinde, 750 μ s süreyle 4 μ s bipolar vurgu uygulanan portakal sularında toplam flavonon, flavanon glikozitleri veya bunların aglikonları olan hesperidin ve naringenin miktarlarının fazla değişmediği belirtilmiştir [140]. Araştırmamızda elde edilen bulgular bu literatüre benzerlik arz etmektedir. Ayrıca PEF uygulamasının ardından yapılan ısıl işlem uygulamasının, hücrelerin daha fazla zarar görmesi nedeni ile sinerjistik bir etki gösterdiği ve ekstrakte edilen madde miktarında da bir artışa neden olduğu belirtilmektedir [31]. Bu nedenle ileride yapılacak araştırmalarda bu hususun dikkate alınarak çalışmaların sürdürülmesi gerektiği düşünülmektedir.

4.3.3. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin toplam antosiyanin miktarları

Bu araştırmada farklı ekstraksiyon yöntemleri ve çözügenlerin kullanılması durumunda üzüm kabuklarından elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarları, 16.17-6.93 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt aralığında belirlenmiştir. Üzüm kabuğundan ultrason uygulaması ile elde edilen su ekstraktlarının, en yüksek antosiyanin içeriğine sahip ekstraktlar olduğu saptanmıştır (Tablo 3.6). Sicilya'ya özgü beş farklı üzüm posası üzerinde yapılan bir araştırmada örneklerin toplam antosiyanin içerikleri, 3.75-45.27 mg/g MeOH ekstraktı düzeyinde belirlenmiştir [186]. Mevcut araştırma kapsamında kullanılan Öküzgözü cinsi üzüm kabuklarının antosiyanin miktarları, 6.93-16.17 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt aralığında belirlenmiş olup, sonuçların Ruberto *et al.* [186]'ın bulgularından biraz daha düşük olduğu görülmektedir. Bu farkın, çalışmada kullanılan üzüm çeşidinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim hammaddelerin antosiyanin kompozisyonları ve biyoaktif içerikleri üzerine varyete, tür, olgunluk, yetiştirme şartları ve iklim etkili olmaktadır. Farklı çeşitlerle yapılan araştırmalarda, genetik kontrol altında sentezlenen ikincil metabolitler olan fenolikler ve dolayısı ile antosiyanin miktarlarının farklı bulunması doğal karşılanmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon koşulları ve çözügen farklılıkları da antosiyanin miktarları üzerine etkili olabilmektedir [77; 192].

Çözügen olarak su yerine AES'nin kullanılması durumunda, bu araştırmada çalışılan her üç antosiyanin kaynağından elde edilen ekstraktlarda da antosiyanin miktarlarının arttığı belirlenmiştir (Tablo 3.6.). Literatürde kullanılan çözügenin elde edilen ekstraktların gerek verimleri ve gerekse de kimyasal kompozisyonları üzerine etkili olduğunu gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Örneğin üzümde yapılan bir çalışmada antosiyanin ekstraksiyonunda metanolün etanolden %20, sudan ise %73 oranında daha etkili olduğu belirlenmiştir [192]. Kırmızı üzüm posasından su/etanol karışımının hidroklorik, asetik veya tartarik asitler ile asitlendirilerek biyoaktif özelliklerin karşılaştırıldığı bir çalışmada kırmızı üzüm posasının toplam antosiyanin miktarının, 114.2 ile 266.2 mg malvidin eşdeğeri/100 g kuru ağırlık aralığında bulunduğu belirtilmektedir. Aynı çalışmada maksimum antosiyanin seviyesine ekstraksiyonda %85.5'lik etanol kullanılması halinde ulaşıldığı aktarılmaktadır [179]. Yine 14 çeşit

üzümde yapılan bir diğer araştırmada ise renkleri pembeden kırmızı-mora kadar değişen üzümlerin antosiyanin içeriklerinin, 8.1-239.6 mg/100 mL aralığında belirlendiği aktarılmaktadır [192].

Araştırmada kırmızı lahanaların ekstraksiyonunda suyun çözen olarak kullanıldığı PEF, ultrason ve klasik ekstraksiyon uygulamalarıyla elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarları sırası ile 6.85, 5.88 ve 3.83 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeylerinde tespit edilmiştir (Tablo 3.6.). Saf suyun çözen olarak kullanıldığı başka bir çalışmada PEF (2.5 kV/cm elektrik alan şiddeti; 15 µs vurgu genişliği; 50 vurgu sayısı) uygulanmış kırmızı lahana ekstraktlarının antosiyanin miktarı, 3.46 mg/mL iken, kontrol örneğinin (4 saat 22°C’de karanlık bir ortamda saf su ile çalkalanması ile elde edilen ekstrakt) 1.65 mg/mL düzeyinde toplam antosiyanin içerdiği belirlenmiştir [143]. Görüldüğü üzere kırmızı lahananın su ekstraktlarında en yüksek antosiyanin seviyesine, PEF yöntemi ile erişilmekle birlikte, kırmızı lahananın etanol:su ekstraktlarında daha yüksek antosiyanin seviyesine ulaşıldığı belirlenmiştir. Nitekim kırmızı lahanaların ultrason ekstraktlarında antosiyanin miktarı, 9.15 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt iken klasik yöntemle elde edilen ekstraktlarda bu değer biraz daha düşük olup 7.94 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt seviyesindedir (Tablo 3.6.).

Araştırmada antosiyanin kaynakları olarak kullanılan 3 grup materyalden en düşük antosiyanin içeriği, siyah havuç ekstraktlarında 1.37-4.62 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeyinde saptanmıştır. Siyah havucun su ekstraktları kendi aralarında kıyaslandığında, en düşük antosiyanin miktarının klasik yöntemle elde edilen ekstraktlarda ve 1.37 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeyinde saptandığı görülmektedir. Bunu sırası ile ultrason (1.68 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt) ve PEF (1.95 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt) teknikleri ile elde edilen ekstraktların izlediği belirlenmiştir (Tablo 3.6.). Hem kırmızı lahana ve hem de siyah havucun su ile ekstraksiyonunda en iyi sonucun PEF uygulamaları ile elde edildiği görülmektedir. Literatürde antosiyanin ekstraksiyonunda PEF yönteminin uygulandığı sınırlı sayıda referans bulunmaktadır. Örneğin, kırmızı lahana antosiyaninlerinin PEF ile ekstrakte edildiği sadece bir çalışmaya rastlanırken, siyah havuçlardan antosiyanin ekstraksiyonunda PEF uygulamasına rastlanamamıştır. Ancak farklı bir materyal olan

cranberry sularında yapılan bir çalışmada, 150 µs süreyle 40 kV/cm şiddetinde PEF uygulamasının, örneklerin antosiyanin içeriğine iz miktarda etki ettiği belirtilmektedir [138]. Kırmızı ahududulardan (*Rubus idaeus* L., *heritage*) siyanidin-3-glikozitin izole edilerek depolama stabilitesinin incelendiği bir diğer çalışmada ise PEF uygulamasının, antosiyaninin depolama stabilitesi üzerine önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir [139]. Bu araştırma kapsamında çözgen olarak AES'nin kullanılması halinde ise siyah havuçların ultrason ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarının sırası ile 4.62 ve 3.33 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt düzeylerinde antosiyanin içerdikleri saptanmıştır (Tablo 3.6.).

Ekstraksiyon yöntemleri arasında antosiyanin miktarı üzerine en etkili uygulamanın, ultrason olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde ahududularda ultrason uygulamasının antosiyanin miktarını arttırdığı ve uygulamanın antosiyaninlerin kimyasal yapısını olumsuz yönde etkilemediği belirtilmektedir [151]. Farklı üzüm çeşitlerine ait kabukların %1 oranında HCl ile asitlendirilmiş metanolla 1 saat süreyle ultrason tekniği kullanılarak yapılan ekstraksiyonda örneklerin antosiyanin ve toplam fenolik madde içeriklerinin sırası ile 581.36-5226.93 µg/g ve 614.21-5452.44 µg/g olarak belirlendiği aktarılmaktadır [178]. Bu çalışmada ultrasonik ekstraksiyonda çözgen olarak %0.1 HCl ile asitlendirilmiş etanol:su (1:1) karışımı kullanıldığında tüm antosiyanin kaynaklarından elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarının diğer ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla biraz daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 3.6.). Bu durumda asidik çözgenle birlikte ultrason uygulamasının sinerjik bir etki gösterebileceği düşünülmektedir.

4.3.4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antioksidan kapasiteleri

Araştırmada elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri fosfomolibden metoduyla belirlenmiş olup, genellikle çözgen olarak AES'nin kullanıldığı ekstraktların antioksidan aktivitelerinin, su ekstraktlarınınkinden biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Örneğin, siyah havucun su ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri, 27.92-32.89 mg AAE/g kuru ekstrakt iken, etanol:su ekstraktlarının, 29.86-32.98 mg AAE/g kuru ekstrakt düzeylerinde antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo

3.7.). Benzer şekilde üzüm kabuğunun su ekstratlarının, 42.47- 44.50 mg AAE/g kuru ekstrakt düzeyinde antioksidan kapasiteye sahip oldukları saptanmıştır. Üzüm kabuğunun etanol:su ekstraktlarının ise 51.84-54.50 mg AAE/g kuru ekstrakt seviyelerinde antioksidan kapasiteye sahip oldukları tespit edilmiştir (Tablo 3.7.). Flavonol ve antosiyaninlerin organik çözümlerde suya göre daha iyi çözüldüğü bilinmektedir. Ekstraksiyonda kullanılan çözümler, fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda çok önemli olduğu gibi ekstraktların antioksidan aktivitelerinde de büyük önem taşımaktadır. Fenolik bileşiklerin farklı çözümlerde çözümleri halinde antioksidan aktiviteleri de değişmektedir. Bu sıralama çözümler için en az polariteden en yüksek polariteye doğru; etanol > metanol > su şeklindedir [27]. Üzüm çekirdeklerinin aseton:su:asetik asit (90:9.5:0.5) ve metanol:su:asetik asit (90:9.5:0.5) ile ekstrakte edildiği bir çalışmada da çözümlerin antioksidan aktiviteyi etkilediği ve metanol yerine aseton kullanımının antioksidan aktiviteyi arttırdığı saptanmıştır [194].

Bu çalışmada üzüm kabukları ve çözümler olarak AES'nin kullanıldığı ultrason tekniği ile elde edilen ekstraktın, 54.50 mg AAE/g kuru ekstrakt düzeyinde bir antioksidan aktivite düzeyi ile en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Öküzgözü üzüm posasının antioksidan aktivitesinin fosfomolibden metodu ile belirlendiği bir diğer çalışmada, posanın 139 mg AAE/g kuru ekstrakt düzeyinde antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir [159]. Ancak mevcut çalışma kapsamında elde edilen ekstrakt, posadan değil kabuktan elde edilmiş olduğundan antioksidan aktivitesi doğal olarak daha düşük bulunmuştur. Nitekim, üzüm çekirdeğinin daha yüksek bir düzeyde antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [195].

Bu çalışma kapsamında çalışılan örnekler arasında en düşük antioksidan aktiviteye, siyah havucun su ekstraktlarının sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 3.7.). Bunun su fraksiyonuna geçen fenolik ve antosiyaninlerin yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim siyah havucun su ekstraktlarının antosiyanin (1.37-1.95 mg siy-3-glikozit/g kuru ekstrakt) ve fenolik madde miktarlarının da (21.89-23.84 mg GAE/g kuru ekstrakt) genel olarak düşük olduğu gözlenmektedir (Tablo 3.7.). Fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteleri reaksiyona girebilecek hidroksil grubu sayısıyla

orantılıdır. Nitekim farklı model sistemler içerisinde B halkasında 3', 4' ve 5' pozisyonlarında hidroksil içeren flavonoidler üzerinde yapılan çalışmalar, aynı halkada sadece bir hidroksil içeren flavonoidlerden çok daha yüksek antioksidan aktivite sergilediklerini ortaya koymaktadır [186]. Örneğin, üzüm kabuklarının farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edildiği bir çalışmada, kontrol örnekleri ile ultrasonik ekstraksiyon uygulanan örneklerin antosiyanin miktarları sırası ile 7.93 mg/g ve 7.76 mg/g olarak belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada ultrason ekstraktlarının antioksidan aktivitesi 308.13 μmol Troloks eşdeğeri (TE)/g kuru madde düzeyinde iken kontrolde bu değer 187.13 TE/g kuru madde olduğu belirlenmiştir. Yine bu çalışmada kontrol örneğinin antosiyanin miktarı ultrason ekstraktından daha yüksek olmasına rağmen ekstraktların antosiyanin profillerinin farklı olabileceğinden dolayı ultrason yöntemiyle elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu sonucuna ulaşıldığı aktarılmaktadır [27].

Yaptığımız çalışmada kırmızı lahanaya ekstraktları arasında PEF yöntemi ile elde edilen ekstraktların, 41.74 mg AAE/g kuru ekstrakt düzeyi ile en yüksek antioksidan aktiviteye sahip ekstraktlar olduğu saptanmıştır (Tablo 3.7.). Burada da kırmızı lahananın PEF ekstraktının bileşiminde özellikle asillenmiş yapıdaki antosiyanin miktarındaki artışa bağlı olarak daha yüksek antioksidan aktivite sergileyebilecekleri düşünülmektedir. Nitekim farklı kırmızı lahanaya çeşitlerinde antioksidan aktivitenin 24.2-30.3 μmol TE/g olarak belirlendiği bir çalışmada antioksidan kapasitesi en yüksek olan çeşidin, asillenmiş antosiyaninlerce en zengin olan lahanaya çeşitleri olduğu vurgulanmaktadır [47].

4.3.5. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antiradikal kapasiteleri

Araştırmada kullanılan tüm örneklerin antiradikal kapasiteleri dikkate alındığında, genel olarak en yüksek antiradikal aktivitenin çözgen olarak AES'nin kullanılması halinde ortaya çıktığı belirlenmiştir (Tablo 3.8.).

Elde edilen ABE'ler arasında en yüksek antiradikal aktivitenin (102.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$), çözgen olarak AES'nin kullanıldığı kırmızı lahanaya örneklerinin klasik yöntemle elde edilen

ekstraktlarına ait olduğu görülmektedir (Tablo 3.8.). Kırmızı lahanaların, üzüm kabuklarından daha düşük fenolik madde içermesine rağmen daha yüksek antiradikal özellik sergilemelerinin kırmızı lahanaların diasillenmiş, üzüm kabuklarının ise daha çok asillenmemiş yapıda antosiyaninlerce zengin olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim kırmızı lahanalarda yapılan bir araştırmanın sonuçları da bu doğrultudadır [47]. Yapılan bir çalışmada Öküzgözü üzüm çeşidi kabuğunun IC₅₀ değerleri, 115.87-160.66 µg/mL düzeylerinde belirlenmiş olup, aynı çeşidin posasının metanol ekstraktlarının antiradikal aktivitesinin 109.79 µg/mL seviyesinde olduğu belirtilmiştir [159]. Sicilya'ya özgü beş farklı üzüm posasının DPPH radikali üzerindeki inhibisyon etkileri (IC₅₀ değerleri) 38.93 ile 14.45 µg/mL düzeyinde bulunmuş olup, posaların kabuk fraksiyonundan daha yüksek antiradikal aktiviteye sahip olması çekirdekten kaynaklanan katkı nedeniyle olağan karşılanmaktadır [186]. Üzüm kabuklarının fenolik madde miktarlarının, gerek siyah havuç ve gerekse de kırmızı lahanalardan fazla olmasına rağmen bunların antiradikal aktivitesinin daha düşük olmasının, fenolik profilinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim DPPH ile antiradikal aktivite tayini, gıda örneklerindeki serbest antioksidanları belirlerken, Folin-Ciocalteu ayırıcı serbest ve bağlı fenolikleri belirlemektedir. Bu nedenle fenolik ve DPPH sonuçları korelasyon göstermeyebilmektedir [196]. Örneğin, farklı üzüm çeşitlerinden elde edilen posalarla yapılan bir çalışmada Nerello Mascalese cinsinde toplam antosiyanin ve toplam fenolik miktarları sırası ile 9.10 mg/g MeOH ekstrakt ve 12.36 mg/g MeOH ekstrakt olarak saptanmıştır. Bir diğer çeşit olan Nero d'Avola'da ise antosiyanin miktarı 28.70 mg/g MeOH ekstrakt, fenolik madde ise 323.33 mg/g MeOH ekstrakt düzeylerinde belirlenmiştir. Nerello Mascalese'nin IC₅₀ değeri 14.45 µg/mL olarak belirlenirken, bu değer Nero d'Avola için 38.93 µg/ml olarak tespit edilmiştir [186]. Nerello Mascalese'nin gerek toplam antosiyanin gerekse de toplam fenolik miktarı Nero d'Avola çeşidinden çok daha düşük olmasına rağmen antiradikal aktivitesinin çok daha yüksek olması Nerello Mascalese'nin Nero d'Avola'dan yapılarındaki minör antosiyaninler olan petunidin-3-*O*-glikozit, delfinidin-3-*O*-glikozit ve siyanidin-3-*O*-glikozitlerini daha fazla miktarda içermeleriyle ilişkilendirilmiştir. Nitekim adı geçen bu antosiyaninler, yapılarında serbest bir kateşol yapısı içerdiklerinden tüm antioksidan aktivitelere daha çok katkıda bulunmaktayken, üzümlerin yapılarındaki major antosiyanin olan malvidin-3-*O*-(6''-*O*-*p*-kumaril)-

glikozit sadece bir adet serbest hidroksil grubu içermektedir [186]. Ayrıca kırmızı üzüm posası ekstraktı gibi kompleks matrikslerde antioksidan ve antiradikal etkilerin yalnızca toplam fenolik madde miktarı ile ilişkilendirilmesinin doğru olmadığı belirtilmektedir [179].

Bu araştırmada siyah havucun ultrason uygulaması ile elde edilen su ekstraktlarının antiradikal aktivitesi, 150.35 $\mu\text{g/mL}$ iken, PEF ve klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen örnekler için bu değer sırası ile 173.81 $\mu\text{g/mL}$ ve 177.40 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir (Tablo 3.8.). PEF ve klasik ekstraksiyon uygulamalarının örneklerin antiradikal aktivite üzerine etkilerinin istatistiksel olarak farklı olmadıkları ($p>0.05$) saptanırken, ultrasonik ekstraksiyonun etkisi ise önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Kırmızı lahana su ekstraktları arasında da en yüksek antiradikal aktivitenin ultrason (122.42 $\mu\text{g/mL}$) uygulamasında elde edilirken, bunu sırası ile PEF (125.28 $\mu\text{g/mL}$) ve klasik (129.80 $\mu\text{g/mL}$) ekstraksiyon uygulamalarının izlediği belirlenmiştir. Görüldüğü üzere bu araştırmada ultrason uygulaması ile elde edilen ekstraktların nispeten daha yüksek antiradikal aktiviteye sahip oldukları anlaşılmakla birlikte, *Pinot noir* üzüm kabuğunun etanol ile 19 saat süreyle katı/sıvı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarının antiradikal aktivitesinin 1.1 μL ekstrakt/ $\mu\text{g}_{\text{DPPH}}$, 1 saat süreyle ekstraksiyona tabi tutulan ultrasonik ekstraktlarının ise 7.5 μL ekstrakt/ $\mu\text{g}_{\text{DPPH}}$ olduğu bildirilmiştir [190].

Bu araştırmada ve diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlar, ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktlardaki antiradikal aktivitenin genel olarak (üzüm kabuğu haricinde) biraz daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durumun ultrason yöntemi ile elde edilen ekstraktların kısmen de olsa farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim ahududu antosiyaninlerin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların cyanidin-3-(2^G-glucosylrutinoside) ve malvidin glikoziti (molekül tam anlamıyla tanımlanamamış) miktarlarının geleneksel metotlarla elde edilen ekstraktlardan biraz daha az olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte ultrason ekstraktlarında siyanidin-3-sambubioside miktarının geleneksel yöntemlerle elde edilen ekstraktlardan biraz daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak ahududuların ekstraksiyonunda ultrason yöntemi uygulandığında, geleneksel yöntemle elde edilen ekstraktlara kıyasla ekstraktın antosiyanin kompozisyonunda kısmi bir değişiklik olduğu

belirlenmektedir [151]. Ultrason uygulamalarından elde edilen ekstraktların diğer uygulamalardan biraz da olsa yüksek antiradikal aktiviteye sahip olmasının ekstraktların fenolik ve antosiyanin bileşimlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Örneğin, siyah havucun ultrason ve klasik ekstraksiyon uygulamalarında çözgen olarak yalnızca suyun kullanılması halinde elde edilen ekstraktların, toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarlarının klasik ekstraksiyona kıyasla sırası ile %15.78 (Tablo 3.5.) ve %18.45 (Tablo 3.6.) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı ekstraktların antiradikal kapasiteleri kıyaslandığında ise ultrason ekstraktlarının %17.99 oranında daha yüksek bir antiradikal aktivite sergilediği görülmektedir (Tablo 3.8.). Ancak, ekstraktların antiradikal kapasitelerindeki değişimin toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarlarının yanısıra kompozisyonları ile de alakalı olduğu düşünülmektedir. Örneğin, üzüm kabuğunun AES ile gerçekleştirilen klasik ekstraksiyona kıyasla ultrason ekstraksiyonunda toplam fenolik madde miktarının %1.67 oranında daha düşük olduğu, antosiyanin miktarının ise %33.15 oranında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak üzüm kabuğunun ultrason ekstraktlarının DPPH radikalini inhibisyon kapasitesinin klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara kıyasla %16.19 oranında daha düşük olduğu saptanmıştır. Nitekim fenolik ve antosiyaninlerin yapısal farklılıkların antioksidan ve antiradikal aktivitede değişikliklere sebep olduğu, çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmektedir [27; 47; 187].

4.3.6. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antimikrobiyel özellikleri

4.3.6.1. Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ABE'lerin antimikrobiyel aktivitelerinin agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

Bu araştırmada ultrason ve PEF teknikleri veya klasik yöntemlerle ekstrakte edilen ve çözgen olarak su veya AES ile ekstrakte edilen ABE'lerin ikisi maya olmak üzere toplam 15 farklı mikroorganizma üzerindeki inhibitif etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Genel olarak çalışılan örneklerin antimikrobiyel aktiviteleri değerlendirildiğinde KLE, SHE ve ÜKE'lerinin *S. cerevisiae* ve *C. albicans* üzerine herhangi bir antimikrobiyel etkilerinin olmadığı saptanmıştır (Tablo 3.9., Tablo 3.10. ve Tablo 3.11.). Denemeye alınan örnekler arasında ÜKE'lerinin en yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu

tespit edilmiş olup, antimikrobiyel etkinliklerinin, sınıdıkları çok sayıda test mikroorganizması üzerine %2.5 konsantrasyonda dahi etkili oldukları saptanmıştır. AES ekstraktlarının su ekstraktlarından daha aktif olduğu belirlenmiştir. Yine ultrason tekniği veya klasik ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ÜKE'lerinin inhibitif etkilerinin genel olarak birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.11.). Ancak bu araştırmada üzüm posasından ayıklanan kabukların sağlam yapıda olmamaları nedeni ile PEF uygulaması ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilememiştir. Ultrason tekniği ile elde edilen ÜKE'ların AES ekstraktlarının %10'luk konsantrasyonlarda *L. monocytogenes* (19.0 mm), *B. cereus* FMC 19 (16.5 mm), *B. cereus* F2 (15.5 mm) ve *P. aeruginosa* (13.0 mm) başta olmak üzere *E. coli* O157: H7 (12.5 mm), *B. subtilis* ATCC (13.5 mm), *S. typhimurium* (11.5 mm) ve *S. aureus* ATCC 1135 (13.0 mm) üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğu saptanmıştır (Tablo 3.11.). Ancak istisnai bir durum olarak çözgen olarak su kullanılması halinde klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ÜKE'nin *B. cereus* F2 üzerine olan inhibitif etkisinin (%10'luk konsantrasyonda; 16.5 mm) AES ekstraktından (%10'luk konsantrasyonda; 13.5 mm) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Daha önce yapılan araştırmalar da üzüm posası ekstraktının çeşitli patojen ve saprofit mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur [197-199]. Ayrıca bu posa, yüksek miktarda fenolik madde (kateşin, epikateşin, gallik asit gibi) içermektedir. Bu bileşiklerin de antimikrobiyel etkiye sahip olduğu bilinmektedir [104; 194; 200; 201]. Örneğin, Özkan *et al.* [199] Emir (beyaz üzüm) ve Kalecik karası (siyah üzüm) çeşitlerinin posalarından elde edilen ekstraktların %1, %2.5, %5, %10 ve %20 konsantrasyonlarında 14 farklı bakteri (*Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Mycobacterium smegmatis*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica*) üzerine olan antimikrobiyel etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada %2.5 konsantrasyonda sadece *Y. enterocolitica*'nın inhibe edilemediği ve genel olarak Kalecik karasının, Emir çeşidine ait posa ekstraktlarından daha etkili olduğu saptanmıştır. Çalışma kapsamında Öküzgözü üzüm cinsinin kabuklarından elde edilen ekstraktların, Özkan *et al.* [199]'ın antimikrobiyel analiz bulgularından daha düşük antimikrobiyel aktiviteye sahip olmalarının nedeninin üzüm çeşidinin farklı olmasının haricinde, gerek ekstraksiyon koşullarının farklı olması ve gerekse de materyal olarak

posa değil de sadece kabuk fraksiyonunun kullanılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

PEF uygulaması ile elde edilen kırmızı lahanaya ekstraktlarının %5 ve %10 konsantrasyonlarda etkili olduğu belirlenmiştir. Bu ekstraktların, *B. cereus* F2 (7.5-11.0 mm), *B. cereus* FMC 19 (9.0-12.5 mm) ve *S. aureus* ATCC 1135 (6.0-8.5 mm) suşları üzerine antimikrobiyel etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ancak kırmızı lahanaların ultrasonik ve klasik ekstraksiyonlarında çözgen olarak su kullanıldığında elde edilen ekstraktların antimikrobiyel etkiye sahip olmadıkları saptanmıştır (Tablo 3.10.). Araştırmada kırmızı lahanaya ekstraksiyonunda da AES'nin çözgen olarak kullanılması halinde antimikrobiyel etkilerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kırmızı lahanalarda AES'nin çözgen olarak kullanılması halinde genel olarak ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstraktların, klasik yöntemle elde edilen ekstraktlardan daha yüksek antimikrobiyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Örneğin, %10 konsantrasyonda hazırlanan ultrasonik tekniği veya klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen AES ekstraktlarının *L. monocytogenes*'e karşı oluşturdukları inhibisyon zonları sırası ile 14.0 mm ve 12.5 mm olarak belirlenmiştir. Kırmızı lahanaların ultrasonik ve klasik ekstraksiyon uygulamalarında çözgen olarak suyun kullanılması halinde elde edilen ekstraktlarının hiçbir antimikrobiyel özellik taşımadığı saptanmıştır (Tablo 3.10.).

Bu araştırmada siyah havuçlarda da kırmızı lahanaya ekstraktlarına benzer sonuçlar elde edilmiş olup, SHE'nin en çok *L. monocytogenes*, *B. cereus* F2 ve *P. aeruginosa* üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Çözgen olarak sadece saf suyun kullanıldığı PEF uygulamasında SHE'lerinin hiçbir mikroorganizma üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir. Siyah havuç örneklerinin klasik ekstraksiyon ve su ile elde edilen ekstraktlarının tüm konsantrasyonlarda etkisiz olduğu belirlenirken, ultrasonik yöntem ve su ile elde edilen ekstraktlarının ise *B. cereus* F2 (9.5 mm), *P. aeruginosa* (6.5 mm) ve *B. subtilis* ATCC (7.0 mm) üzerine etkili olduğu saptanmıştır (Tablo 3.9.). Üzüm kabuğu ve kırmızı lahanaya örneklerinde olduğu gibi siyah havucun AES ekstraktlarının, yalnızca su ekstraktlarından daha yüksek bir antimikrobiyel etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Siyah havuçların AES ekstraktları arasında ultrasonik tekniği ile elde

edilenlerin klasik yöntemle elde edilen ekstraktlara kıyasla genel olarak biraz daha yüksek antimikrobiyel aktivite sergiledikleri tespit edilmiştir. Örneğin, %10 düzeyindeki konsantrasyonlarında AES ve su ekstratlarının *L. monocytogenes*'e karşı oluşturdukları inhibisyon zonları sırası ile 12.0 mm ve 9.5 mm olarak belirlenmiştir (Tablo 3.9.). Yine aynı şekilde *P. aeruginosa* üzerine inhibisyon zonları ise sırası ile 14.5 mm ve 9.5 mm olarak ölçülmüştür. Literatürde özellikle siyah havuç ve kırmızı lahana ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitelerinin belirlendiği bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Genel olarak mikroorganizmalar üzerine AES ekstraktlarının yalnızca su ile elde edilen ekstraktlarından daha etkili oldukları ve özellikle konsantrasyondaki artışın antimikrobiyel etkiyi olumlu yönde etkilediği saptanmıştır. Nitekim ekstraktların en etkili dozunun %10'luk konsantrasyonları olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.9., Tablo 3.10. ve Tablo 3.11.). Ekstraktların eldesi, mikrobiyal denemedeki farklılıklar antimikrobiyel aktivitenin farklı ifade edilmesine neden olduğundan elde edilen sonuçların direkt olarak kıyaslanabileceği literatür bulunmamaktadır. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda antosiyaninlerin mikroorganizmalar üzerine inhibitif veya stimülatif etkilerinin olabileceği belirtilmektedir. Örneğin 10 mg pelargonidin 3-monoglikozit ve siyanidin 3-monoglikozit ilavesinin *E. coli*'nin gelişimini başlangıçta stimüle ettiği, ancak 28. saatten sonra *E. coli* gelişiminde antosiyanin pigmenti içeren ortamla kontrol ortamındaki gelişimleri arasında fark olmadığı bildirilmektedir [59]. Bir diğer çalışmada ise pelargonidin 3-monoglikozit ve delfinidin 3-monoglikozitin *E. coli* gelişimini inhibe ederken, delfinidin ve malvidinin stimüle ettiği belirtilmektedir [59]. Ancak ekstraktlarda gerek çeşitli fenolik bileşikler arasındaki sinerjik etkinin gerekse de diğer biyoaktif bileşenlerin yalnız başlarına veya fenollerle etkileşerek antimikrobiyel aktiviteyi olumlu yönde etkilemiş olabileceği aktarılmaktadır [59].

Fenolik bileşikler gibi ikincil metabolitlerin, bitkileri UV ışığından, parazitlerden ve serbest radikallerden koruduğu bilinmektedir. Genellikle bitkiler, hücrelerini tatsız ve zehirli forma çevirerek kendilerini çevre etkenlerinden özellikle de parazitlerden korumaktadırlar. Hücre strese girdiğinde de bu kimyasalların miktarı daha da artmaktadır. Bitkiler ile çevre arasındaki bu etkileşim, bitkilerden ekstrakte edilen

fenolik bileşenler ile antosiyaninlerin antioksidan ve antimikrobiyel etkilerini daha iyi açıklamaktadır [89]. Kateşinler, basit fenoller ve fenolik asitler, antimikrobiyel aktiviteye sahip bileşiklerdir [202]. Ancak bireysel bazda ele alındıkları takdirde hepsinin farklı antimikrobiyel aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. Örneğin, kateşinin birçok Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye karşı kumarinler ve gallik asitten daha zayıf bir aktivite gösterdiği bildirilmektedir [203]. Ayrıca tanenlerin antimikrobiyel etkilerinin mikrobiyal enzimler ve hücre proteinleri ile oluşturduğu komplekslerden kaynaklandığı belirtilmektedir [202]. Kateşinlerin antibakteriyel etkilerinin yanı sıra antifungal ve antiviral etkilerinin de olduğu aktarılmaktadır [184]. Çalışma kapsamındaki ABE'lerin genel olarak Gram pozitif bakterilere karşı biraz daha fazla etkili olduğu belirlenmiş olup, bu sonuç literatür verileri ile uyum içerisindedir. Nitekim fenolik bileşiklerin, genellikle Gram pozitif bakterilere karşı daha yüksek bir antimikrobiyel etkiye sahip oldukları belirtilmektedir [204]. Gram negatif bakterilerin lipopolisakkarit yapısındaki hücre membranlarının, kimyasal strese direnç göstermesinde çok önemli bir etken olduğu düşünülmektedir. *E. coli* gibi Gram negatif bakteriler nispeten düşük molekül ağırlıklı besin maddelerini porin adı verilen hidrofilik kanallar vasıtası ile sağlamaktadır. En dıştaki membran, eksternal ajanlara karşı bariyer görevini üstlenmiş olmasına rağmen özellikle antimikrobiyel ajanlar tarafından kolayca etkisiz hale getirilebilmektedir. Örneğin, bir şelatlama ajanı olan etilendiamintetraasetik asit (EDTA) membranın stabilizasyonunda görev alan divalent katyonları (Ca^{++} ve Mg^{++}) etkileyerek membranların parçalanmasına neden olmaktadır. Proantosiyanidinler metal iyonlarını şelatlayarak lipopolisakkarit yapısını etkilemektedir [89]. Yapılan çalışmalarda ahududu polifenollerinin yine EDTA gibi lipopolisakkarit yapıyı parçalayarak, en dıştaki membranın geçirgenliğini arttırdığı belirlenmiştir [89]. Antosiyaninlerin hidroksil, metoksil, şeker ve şeker substitue grupları antosiyanin stabilitesini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır ve bu yapısal farklılıklar antosiyaninlerin iyon şelatör olarak görev üstlenmelerinde etkili olmaktadır [89].

Gerek üzüm posası [197-199] ve gerekse de çekirdeklerinden [194; 205; 206] elde edilen ekstraktların antimikrobiyel aktiviteleri belirlenmiş olsa da spesifik olarak Öküzgözü üzüm cinsinin kabukları ile yapılmış benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısı ile bu üzüm çeşidi için on üçü bakteri ve iki adedi maya olan toplam on beş

mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel aktiviteleri ayrıntılı bir şekilde ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, başta üzüm kabuğu olmak üzere siyah havuç ve kırmızı lahananın özellikle AES ekstraktlarının, antibakteriyel etkiye sahip olduğunu, dolayısıyla bu bileşiklerin gıdaları patojen ve saprofit bakterilere karşı koruyabileceğini ortaya koymaktadır.

4.3.6.2. ABE'lerin elma suyunda *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* F2 üzerine antimikrobiyel etkisinin saptanması

1980'li yılların başında tanımlanan *E. coli* O157:H7, en önemli gıda patojenleri arasında yer almaktadır. Kanlı diyare, hemolitik üremik sendrom gibi rahatsızlıklara neden olan *E. coli* O157:H7; süt, kıyım, içme suyu, elma suyu, marul gibi farklı gıdalarda bulunabilmektedir [207]. Elma sularının pH değerleri genellikle 3.3-4.1 aralığında olduğundan, gıda patojenleri için çok uygun bir gelişme ortamı değildir. Ancak elma suları özellikle asit toleransı yüksek olan *E. coli* O157:H7'nin gelişimi için son derece uygundur [208]. *E. coli* O157:H7'nin, asidik meyve sularında buzdolabı sıcaklığında 1-2 haftadan daha uzun süre canlılığını koruyabildiği bildirilmektedir [209]. Hem buzdolabı hem de oda sıcaklığında gelişebilen bir mikroorganizma olan *E. coli* O157:H7'nin asidik ananas suyunda da hem 20-25°C hem de 4°C'de gelişebildiği aktarılmaktadır [210]. Aside toleransı yüksek olduğundan bu bakterinin 1980'lerde Kanada'da kontamine elma suyu tüketimine bağlı olarak çeşitli gıda zehirlenmelerine neden olduğu bildirilmektedir [208]. 1970-2000 yılları arasında A.B.D.'de elma suyu tüketimiyle ortaya çıkan 78 *E. coli* O157:H7 enfeksiyon vakasından biri ölümle sonuçlanmış olup bu vaka, elma suyu kaynaklı *E. coli* O157:H7 enfeksiyonuna bağlı ilk ölüm olarak rapor edilmiştir [211]. 1995'ten 2005 yılına kadar Hastalık Kontrolü ve Koruma Merkezi'ne meyve suyu zehirlenmeleri ile ilgili olarak ise 21 vaka bildirildiği ve yine bunun 10 tanesinin elma suları ile ilgili olduğu belirtilmektedir [208].

Bu araştırmada gerek kontrol ve gerekse de ABE'lar ile renklendirilen örneklerde inkübasyon süresi uzadıkça *E. coli* O157:H7'nin inhibe olduğu belirlenmiştir. İnkübasyon süresinin bakteri sayısı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunurken, renklendirici materyalin etkisinin ise sadece 72. saatte önemsiz ($p > 0.05$) olduğu saptanmıştır (Tablo 3.12.). Özellikle 72. saat inkübasyondan sonra inhibisyonun

hızlı bir şekilde gerçekleştiği belirlenmiştir. Örneğin, kontrol grubu örneklerde yaklaşık 2 log azalma belirlenirken, ABE'lar ile renklendirilen örneklerde ise bu düşüş 5-6 log civarında saptanmıştır. Benzer şekilde Frenk üzümü ve mürver konsantrelerinin, *E. coli* DSM 498 suşu üzerine antimikrobiyel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, sadece Frenk üzümü konsantresinin *E. coli* gelişiminde 1. ve 3. günlerde 1 log'luk azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir [59].

Araştırmada gerek 4°C gerekse de 20°C sıcaklıklarda inkübe edilen örnekler incelendiğinde *B. cereus* F2 inhibisyonun oranlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.12.). *B. cereus* F2'nin sporlu olması nedeni ile ortam şartları uygun olmadığında spor oluşturduğu, ancak şartların uygun olması durumunda (örneğin besiyerine ekim yapılması halinde) vejetatif hale geçtiği bilinmektedir [212]. Elma suyu asidik olduğundan *B. cereus* F2'nin spor oluşturması nedeni ile inhibisyonun *E. coli* O157:H7'den daha düşük olduğu düşünülmektedir. Nitekim *B. cereus* F2 sayısında her iki inkübasyon sıcaklığında da yaklaşık 2 log'luk bir azalış tespit edilirken, *E. coli* O157:H7'de bu azalış 4 ve 20°C sıcaklıklar için sırası ile yaklaşık 3.5-4.5 log ve 5.0-8.0 log olarak belirlenmiştir. Ancak 4°C'de inkübe edilen örnekler arasında sadece 72. saat, 20°C'de muhafaza edilen örneklerden ise 24. saat örneklerinde ilave edilen ekstraktların *B. cereus* F2 üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.12.). Yapılan bir çalışmada 14 üzüm kabuğundan elde edilen ekstraktların *B. cereus*'un ve *E. coli* O157:H7'nin inhibisyonları için gerekli minimum konsantrasyonlarının (MIC) sırası ile 0.08-0.34 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/mL mikrobiyal besiyeri ve 0.15-0.44 mg GAE/mL mikrobiyal besiyeri aralığında bulunduğu ve bu etkinin ekstraktların fenolik bileşimine bağlı olduğu belirtilmektedir [204]. Nitekim hücre membranı zarar gördüğünde, oluşan küçük porlardan fenolik bileşikler hücreye girmekte ve metabolizmaya zarar vererek antimikrobiyel etkide bulunmaktadırlar [89].

Daha önce de belirtildiği gibi bu araştırmada kontrol ve SHE ile renklendirilen örneklerin pH değerleri 4.01, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin pH değerleri ise sırası ile 4.02 ve 3.98'tir. Yine elma sularının nispeten düşük pH değerine sahip olmalarının da ekstraktların etkinliğini arttırmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim

özellikle düşük pH değerlerinin *E. coli* O157:H7'nin hücre membranına zarar vererek antimikrobiyel maddelerin etkinliğini arttırdığı aktarılmaktadır [213]. Depolama işleminde sıcaklığın *E. coli* O157:H7 üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada 23°C'de depolanan elma suyuna ilave edilen %0.025 (hacim/hacim) oranındaki trans-sinimaldehit *E. coli* O157:H7'yi 5 gün içerisinde tamamen inaktive ederken, 8°C'de inkübe edilen örneklerde ise benzer inaktivasyonun ancak 2 haftanın sonunda ortaya çıktığı belirlenmiştir [213]. Elma sularında nisin ve tarçın kombinasyonlarının antimikrobiyel aktivitelerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da *E. coli* O157:H7'nin 20°C'de 5°C'ye kıyasla daha fazla inaktive olduğu aktarılmaktadır [213]. Zhao *et al.* [214] tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlara ulaşıldığı bildirilmektedir. Pastörize edilmemiş elma sularına *E. coli* O157:H7 inoküle edilerek %0.1 potasyum sorbat ve %0.1 sodyum benzoat veya kombinasyonlarının antibakteriyel etkisinin incelendiği bu çalışmada, örnekler 8°C ve 25°C sıcaklıklarda inkübe edilmişlerdir. *E. coli* O157:H7, 8°C'de inkübe edilen elma sularında 10-31 gün canlı kalırken, 25°C'de inkübe edilen örneklerde ise ancak 2-3 gün süreyle canlı kalabildiği belirtilmektedir [214]. *E. coli* O157:H7'nin düşük sıcaklıklarda, oda sıcaklığına kıyasla daha az inaktive olması, mikroorganizmaların bu sıcaklıkta daha az metabolik aktivite göstererek gelişmeleri ve ölüm hızının düşük olmasına bağlanmaktadır. Ayrıca düşük sıcaklıklarda çözünürlüğün azalmasına bağlı olarak, ilave edilen ekstraktların etkinliğinin de azalabileceği düşünülmektedir. Yine düşük sıcaklıkların bakteri hücre membranının akışkanlığında değişikliklere sebep olabileceği veya bakteri hücre membranının yapısındaki yağ asidi profilinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir. Nitekim antimikrobiyel ajanlar için hücre membranı en önemli bariyer olup, yapılan çalışmalarda mikroorganizmaların soğukta inkübe edilmeleri halinde hücre lipid kompozisyonunda farklılıklar olduğu, yağ asitlerinde nispi değişimler gözlemlendiği, doymamışlık oranının arttığı ve tüm bunların sonucunda da hücrenin akışkanlığının değiştiği bildirilmektedir [213].

4.4. Antosiyaninlerin Isıl Stabilitelerinin Belirlenmesi

4.4.1. ABE'ların tampon çözeltilerdeki ısıl stabiliteleri

Antosiyaninler özellikle düşük pH değerlerinde daha yüksek stabilizasyon sergilemelerinin [22] yanı sıra meyve sularının pH değerlerinin genellikle 3-4 aralığında bulunması [215] nedeni ile de çalışma için bu pH değerleri seçilmiştir. pH değerleri düşük olan ve antosiyanin içeren meyve sularının pastörize edilerek dayanıklı hale getirilmeleri sırasında sıcaklık süre normunun biraz yüksek tutulması halinde ortaya çıkabilecek durumun değerlendirilebilmesi için bu çalışma tasarlanmıştır. pH değerleri 3 ve 4 olan tampon çözeltilere, depolanan elma sularının renklendirilmesinde kullanılan konsantrasyonda ABE ilavesi yapılarak, örnekler 90°C sıcaklıkta 3 saat süreyle ısıtılma maruz bırakılmıştır. Isıl işlemin antosiyaninlerin parçalanmalarına neden olduğu ve bu parçalanmanın özellikle ÜKE'de yoğunlaştığı belirlenmiştir. pH derecesi 3 olan tampon çözeltiler 90°C'de 180 dakika süreyle ısıtılma maruz bırakılmaları halinde ÜKE, SHE ve KLE için kayıplar sırası ile %65.54, %53.04 ve %45.07 olarak belirlenmiştir (Şekil 3.4.). Üzüm antosiyaninlerinin asillenmemiş antosiyanin içeriğinin yüksek olması nedeni ile ısıtılma stabilizasyonunun düşük olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde Sodalova *et al.* [216] yaptıkları bir çalışmada 95°C'de 3 dakika ısıtılma maruz kalan mürver pigmentlerinin %50'sinin degrade olduğunu ve bunun antosiyanin kompozisyonuyla çok yakından ilgili olduğunu belirlemişlerdir. pH değeri 3 olan tampon çözeltide 90°C'de 180 dakika süreyle ısıtılma tabii tutulan KLE'lerinin antosiyanin kaybının %45.07 olduğu ve dolayısı ile de kırmızı lahanadan elde edilen ekstraktların en yüksek ısıtılma stabilizasyona sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.4.). Benzer şekilde antosiyanin bazlı kırmızı patates ve mor mısır ekstraktlarının farklı pH ve sıcaklıklarda stabilitesinin incelendiği bir diğer çalışmanın sonuçları, asillenmiş antosiyanin içeren ekstraktların ısıtılma stabilitesinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur [217]. Kırmızı lahanada antosiyaninlerinin ısıtılma stabilitesinin özellikle diasillenmiş yapılarından kaynaklandığı belirtilmektedir [218; 219]. Kırmızı lahananın antosiyanin pigmentlerinin üzüm veya cranberry antosiyaninlerinden sadece depolama sürecinde değil aynı zamanda ısıtılma sürecinde de daha dayanıklı oldukları farklı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir [47; 92].

pH değeri 4 olan tampon çözeltilerde renklendirici olarak kullanılan her üç ekstraktta da antosiyanin kaybının pH 3'te saptanan kayıplara yakın olduğu ve antosiyanin kaybı üzerine pH farklılığının etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$)

saptanmıştır. Bu sonucun, pH değerlerinin birbirine son derece yakın olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim pH değerleri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerde siyah havuç antosiyaninlerinin ısı stabilitesinin incelendiği bir çalışmada da 90°C sıcaklıkta antosiyaninlerin her iki tampon içerisinde de yarılanma sürelerinin 6.3 saat olduğu aktarılmaktadır [22].

Antosiyanin ve diğer fenolik bileşenlerin parçalanmaya meyilli oldukları bilinmektedir. Antosiyaninler, asidik koşullarda stabil olmakla birlikte, diğer şartlarda hızla renksiz türevlerine dönüşebilmektedirler. Zaten antosiyanin parçalanmasında en önemli parametrelerin pH ve sıcaklık derecesi olduğu bildirilmektedir [75].

4.4.2. ABE'lerin elma sularındaki ısıl stabiliteleri

Bu araştırmada çalışılan elma suları, 40 mg antosiyanin/L düzeyinde farklı ABE'lar ile renklendirildikten sonra bunların parçalanma kinetikleri hesaplanmıştır. Depolama sürecindeki sıcaklığa bağlı olarak ortaya çıkan antosiyanin parçalanmasının birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uyduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir [92; 139; 161; 162; 219; 220]. KLE antosiyaninlerinin reaksiyon hız sabitleri 70, 80 ve 90°C için sırası ile 0.46×10^{-3} , 0.92×10^{-3} ve $2.30 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$ olarak belirlenmiş olup, antosiyanin kaynakları arasında ısıl işleme en dayanıklı antosiyanin kaynağının bu grup olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tablo 3.13.). Isıl işleme maruz bırakıldığında en çok parçalanmaya uğrayan grubun ÜKE antosiyaninleri olduğu ve reaksiyon hız sabitlerinin 70, 80 ve 90°C sıcaklıklar için sırası ile 1.61×10^{-3} , 2.76×10^{-3} ve $4.38 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$ olduğu tespit edilmiştir. Siyah havuç antosiyaninleri içinse reaksiyon hız sabitleri 70°C' de 0.92×10^{-3} , 80°C'de 1.84×10^{-3} , 90°C'de ise $3.22 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. 100 mL elma suyunun 1.5 g siyah havuç konsantresi ile renklendirildiği bir çalışmada 70, 80 ve 90°C sıcaklıklarda hız sabitleri sırası ile 0.69×10^{-3} , 1.15×10^{-3} ve $2.30 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$ olarak saptanmış [219] olup, çalışma kapsamında elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında havuç suyu konsantresinin stabilitesinin SHE'ndan biraz daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. pH değeri 3.0 olan model sistemlerde kırmızı lahana, Frenk üzümü, mürver ve siyah üzüm antosiyaninlerinin 80°C sıcaklıkta ısıl stabilitelerinin incelendiği bir başka çalışmada, birinci dereceden reaksiyon hız sabitleri

sırası ile 0.06×10^{-3} , 1.45×10^{-3} , 3.0×10^{-3} ve 5.33×10^{-3} dak^{-1} olarak belirlenmiştir. Reaksiyon hız sabitleri dikkate alındığında en yüksek antosiyanin stabilitesinin kırmızı lahana tarafından sergilendiği, en düşük stabilitenin ise siyah üzüm antosiyaninlerine ait olduğu bildirilmiştir [92]. Mevcut araştırmada KLE ve ÜKE için 80°C 'de elde edilen hız sabitleri sırası ile 0.92×10^{-3} ve 2.76×10^{-3} olarak belirlenmiş olup, Dyrby *et al.* [92]'ın bulgularıyla kıyaslandığında, KLE'nin stabilitesinin daha düşük, Öküzgözü cinsinden elde edilen ÜKE'nin ise daha yüksek stabiliteye sahip olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Wang and Xu [162] ise yaptıkları bir çalışmada, böğürtlen suyunun 70 , 80 ve 90°C sıcaklıklar için hız sabiti değerlerini sırası ile 1.32×10^{-3} , 2.47×10^{-3} ve 3.94×10^{-3} dak^{-1} olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada siyah havuç ve kırmızı lahana antosiyaninlerinin böğürtlen antosiyaninlerinden daha yüksek stabiliteye sahip olduğu, üzüm kabuğu antosiyaninlerinin ise böğürtlen antosiyaninlerinden daha zayıf bir stabilite gösterdikleri sonucuna ulaşılmıştır.

Sıcaklıktaki artış, reaksiyon hız sabitini (k değeri) arttırırken, yarılanma süresini ($t_{1/2}$) kısaltmaktadır. Örneğin, ABE'lar arasında en yüksek k değerine (4.38×10^{-3} dak^{-1}) sahip olan 90°C 'de ısıtılma maruz bırakılan üzüm kabuğu antosiyaninlerinin 2.6 saat yarılanma süresi ile en düşük stabiliteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Birçok çalışmada sıcaklık derecesindeki artışa bağlı olarak k değeri artarken, $t_{1/2}$ değerinin ise azaldığı belirlenmiştir [162; 218-220]. Bir çalışmada böğürtlen suyunun 70 , 80 ve 90°C sıcaklıklar için $t_{1/2}$ değerleri sırası ile 8.8, 4.7 ve 2.9 saat olarak belirlenirken, aktivasyon enerjisi $58.95 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir [162]. Vişne sularında 60 , 70 ve 80°C sıcaklıklarda $t_{1/2}$ değerinin sırası ile 54.3, 22.5 ve 8.1 saat olduğu belirtilmiştir [161]. Model içecek sistemlerinde Frenk üzümü antosiyaninlerinin 80°C sıcaklıktaki hız sabiti 78×10^{-3} saat ve $t_{1/2}$ değeri ise 9 saat olarak belirlenmiştir [220]. Bu araştırmada da sıcaklığın antosiyanin stabilitesi üzerine etkisinin belirlenmesi için aktivasyon enerjileri hesaplanmış ve bu değer; KLE, SHE ve ÜKE için sırası ile 83.24, 64.94 ve $51.87 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Araştırmada elde edilen ekstraktların ısıtılma stabiliteyi, $\text{KLE} > \text{SHE} > \text{ÜKE}$ olarak belirlenmiş ve asillenmiş yapıdaki antosiyanin içeriği yüksek olan ekstraktların ısıtılma stabiliteyi daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tablo 3.13.). Benzer şekilde

yapılan başka bir çalışmada, pH değerleri 0.9-4 aralığında olan tampon çözeltilerde depolanan ABE'lerin stabiliteleri kırmızı patates \geq mor havuç > mor mısır > kırmızı üzüm olarak belirlenmiş ve asillenmiş antosiyanin içeren örneklerin ısıl işleme karşı daha yüksek stabilite sergiledikleri tespit edilmiştir [217]. Kammerer *et al.* [43] farklı bölgelerden temin edilen 14 farklı havuçta yaptıkları çalışmalarında Amasya, Konya ve Afyon bölgelerine ait siyah havuçların antosiyaninlerinin sırası ile %55, %87 ve %93'ünün asillenmiş yapıda olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışma kapsamında ise Konya Ereğli'den temin edilen siyah havuçların asillenmiş antosiyanin içeriğinin benzer şekilde yüksek olabileceği ve bu nedenle daha iyi bir stabilite gösterdiği düşünülürken, ÜKE'nin kırmızı lahana ve siyah havuç antosiyaninlerine kıyasla ısıl işlem stabilitesinin biraz daha zayıf olduğu saptanmıştır. Antosiyanin stabilitelerindeki farklılıkların örneklerin antosiyanin kompozisyonundan kaynaklanabileceği bildirilmektedir [162]. Beklendiği üzere sıcaklık derecesindeki artışa ve sürenin uzamasına bağlı olarak antosiyanin kaybının hızlandığı belirlenmiştir. Nitekim pigment parçalanması depolama sıcaklığı, antosiyanin yapısı ve ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişmekte olup [47], ısıl işlem sıcaklığındaki artışa bağlı olarak antosiyanin kaybının hızlandığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir [162; 218-220].

4.5. Renklendirilen Gıdalar

4.5.1. Elma Suları

Araştırmada farklı ABE'lar ile renklendirilen elma sularının, briks değerleri dikkate alındığında kontrol grubunun 12.20° briks ile en düşük, SHE ile renklendirilen örneklerin ise 13.35° briks ile en yüksek briks değerine sahip olduğu belirlenmiştir. İlave edilen ABE'ların elma sularının pH değerleri ve % titrasyon asitliği üzerine etkisi çok az olmakla birlikte, istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.15.). Örneğin, ABE ilavesi yapılmamış kontrol grubunun pH'sı 3.42 iken, SHE ile renklendirilen örneklerde bu değer 3.43 olarak bulunmuştur. KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin pH değerleri ise sırası ile 3.42 ve 3.40 olarak belirlenmiştir. Örnekler arasında en düşük pH değerine sahip olan ÜKE ile renklendirilen örneklerin titrasyon asitliği %0.48 seviyesinde belirlenirken, diğer örneklerin titrasyon asitliklerinin ise %0.45 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin briks, pH ve

titrasyon asitliklerindeki değişikliklerin ilave edilen ABE'lardan kaynaklanabileceği düşünölmektedir (Tablo 3.15.). Laboratuar şartlarında üretilmiş elma suları üzerinde yapılan bir araştırmada ise örneklerin briksi 18.68, pH'sı 3.88 ve titrasyon asitliği 0.462 g/100 mL düzeyinde tespit edilmiştir [22].

4.4.1.1. Elma sularının toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler

Elma sularının renklendirilmesi amacıyla 100 mL örneğe, daha önce hazırlanan ABE'lardan 4 mg antosiyanin içeren ekstrakt ilavesi yapılmış ve bu amaçla, 100 mL elma suyuna SHE'ndan 1.20 g, KLE'ndan 0.50 g veya ÜKE'ndan 0.37 g ekstrakt ilave edilerek, örnekler renklendirilmiştir. Daha önce de belirtildiği gibi ABE'ların içerdikleri toplam antosiyanin miktarları farklı olduğundan elma sularının renklendirilmesi için ilave edilmesi gereken ekstrakt miktarları farklı olmuştur.

Farklı kültürlerdeki toplumlarda, en çok tüketilen meyvelerden biri olan elmanın fenolik bileşimi, çeşide bağlı olarak değişmekle birlikte, klorojenik asit, kafeik asit, *p*- kumarik asit, ferulik asit, kateşin, epikateşin, pyrosiyanidinler (B1, B2, trimer C1), rutin ve floridzinden oluşmaktadır [221]. Elma sularında koku-lezzet karakteristikleri, fenolik bileşimi ile ilgilidir. Aynı zamanda fenolik bileşikler, meyve ürünlerinin fizyolojik yapısının yanı sıra kalitesi hakkında da fikir vermesi nedeni ile büyük önem taşımaktadır [119].

Bu araştırmada kontrol grubu elma sularının depolamanın başlangıcında (ilk gün) 326.36 mg GAE/L toplam fenolik madde miktarı içerdieği saptanmıştır (Tablo 3.16.). Elma sularının fenolik bileşimleri başta çeşit olmak üzere kültivasyon, ekstraksiyon metodu, proses koşulları ve enzim uygulamalarına bağlı olarak geniş bir varyasyon gösterebilmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada taze elma suyunun toplam fenolik madde içeriği 6380 mg GAE/L olarak belirlenirken, bir başka çalışmada bu değer 154-970 mg/L düzeyinde tespit edilmiştir [222].

SHE, KLE ve ÜKE ile renklendirilen elma sularının 0. gün toplam fenolik madde miktarları sırası ile 695.96, 521.92 ve 706.05 mg/L olarak belirlenmiştir (Tablo 3.16.).

Elma sularına ABE ilave edilmesi durumunda ekstraktların fenolik maddelerinin hemen hiçbir parçalanma reaksiyonuna uğramadan korunduğu saptanmıştır. Nitekim elma sularına ilave edilen ekstraktların fenolik madde miktarları dikkate alındığında SHE ile renklendirilen elma sularının 704.96 mg GAE/L elma suyu ((12.00 g x 31.55 mg GAE/g kuru ekstrakt) + 326.36 mg GAE/L = 704.96 mg GAE/L elma suyu), KLE ile renklendirilen örneğin ise 519.96 mg GAE/L elma suyu ((5.00 g x 38.72 mg GAE/g kuru ekstrakt) + 326.36 mg GAE/L = 519.96 mg GAE/L elma suyu), ÜKE ile renklendirilen elma sularının ise 703.39 mg GAE/L elma suyu ((3.70 g x 101.90 mg GAE/g kuru ekstakt) + 326.36 mg GAE/L = 703.39 mg GAE/L elma suyu) düzeyinde toplam fenolik madde içeriğine sahip olması beklenmekteydi. Tespit edilen toplam fenolik madde miktarları, olması gereken düzeylere çok yakın olduğundan ilave edilen ABE'lerin elma sularının renklendirilmesi aşamasında oldukça stabil olduğu sonucuna varılmıştır.

Araştırmada 4, 20 ve 30°C sıcaklıkta depolanan elma suyu örneklerinin fenolik madde bileşimleri dikkate alındığında her üç depolama sıcaklığında da depolama süresince toplam fenolik madde açısından SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin fenolik madde içeriklerinin birbirine çok yakın oldukları belirlenmiştir (Tablo 3.16.). Örneğin, 4°C'de 180 gün süreyle depolanan SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin toplam fenolik madde içeriklerinin sırası ile 695-523.33 mg GAE/L ve 706-507.76 mg GAE/L düzeylerinde olduğu belirlenmiştir. ABE'lar arasında en düşük fenolik madde içeriğine sahip olan KLE ile renklendirilen örneklerin toplam fenolik madde miktarlarının ise 521.92-428.18 mg GAE/L aralığında değiştiği saptanmıştır. Örnekler arasında en düşük fenolik madde içeriğine ise beklendiği üzere 326.36-283.47 mg GAE/L toplam fenolik madde içeriğiyle ABE ilave edilmeyen kontrol grubu örneklerin sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.16.). Depolama süresince ortaya çıkan fenolik madde kayıplarının ise 4°C'de 180 gün süreyle depolanan ÜKE, SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerde sırasıyla %28.08, %24.80 ve %17.96 seviyelerinde olduğu saptanmıştır. Yine 20°C'de 90 gün süreyle depolanan ABE'lerle renklendirilen örneklerde ise kayıplar şu şekilde gerçekleşmiştir; ÜKE %14.44, SHE %7.95 ve KLE %5.84. Ayrıca 60 gün 30°C'de depolanan ÜKE, SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerin toplam fenolik madde kayıplarının ise sırası ile %11.69, %8.33 ve %7.14 düzeylerinde olduğu belirlenmiştir.

Depolama süresince elma sularının fenolik bileşimlerinde genel olarak azalmalar olmakla birlikte, bazı dalgalanmalar olduğu da saptanmıştır. Fenolik bileşiklerin parçalanma ürünlerinin veya enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının Folin-Ciocalteu uygulamalarında interferans bileşenler olabileceği belirtilmektedir. Örneklerin yapısında bulunan şekerlerin de fenolik madde sonuçlarının olduğundan biraz daha yüksek çıkmasına neden olabildiği bildirilmektedir [5]. Ayrıca Folin-Ciocalteu ayırıcının karotenoidler ve aminoasitlerle de reaksiyona girebileceği aktarılmaktadır [196]. Depolama süresinin uzamasıyla elma sularının toplam fenolik madde miktarında genel bir düşüş olduğu belirlenmiştir. Her üç depolama sıcaklığında da renklendirici materyal ve depolama süresinin toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Literatürde gerek fenolik madde içeriği gerekse de antioksidan aktivitenin depolama süresince sabit kaldığı ya da azaldığına dair çok sayıda araştırmalar yer almaktadır. Örneğin, böğürtlenlerin buzdolabı sıcaklığında 9 gün süreyle depolandıkları bir çalışmada, fenolik bileşiklerin miktarlarında dalgalanmalar olmakla birlikte, depolama süresinin sonuna doğru fenolik madde miktarlarının azaldığı belirtilmektedir [223]. Dai *et al.* [75] böğürtlenden elde edilen ve başlangıç fenolik madde miktarı 1899 mg GAE/L olan ABE'leri 90 gün süreyle -80, 4 ve 25°C olmak üzere 3 ayrı sıcaklıkta depoladıkları çalışmalarında, depolamanın sonunda ekstraktların fenolik madde miktarlarının 1696-1537 mg GAE/L aralığında tespit etmişlerdir. Kevers *et al.* [224] yaptıkları çalışmada birçok meyve sebzenin fenolik bileşiminin depolama süresince sabit kaldığını belirtmektedirler. Aynı çalışmada örneklerin antiradikal aktivitelerinin de depolama süresince olumsuz etkilenmediği aktarılmıştır. Benzer şekilde elma sularının buzdolabı veya oda sıcaklıklarında bir ay süreyle depolanması sırasında fenolik madde miktarlarındaki değişimin önemli olmadığı belirtilmektedir [225]. Frenk üzümü, kızılıcık, yaban mersini, nar, çilek ve vişne sularının 4°C sıcaklıkta 29 gün süreyle depolanmaları sırasında fenolik madde miktarlarında ise dalgalanmalar olduğu belirtilmektedir [196].

4.5.1.2. Elma sularının antosiyanin miktarlarında meydana gelen değişimler

Araştırmada elde edilen veriler incelendiğinde, beklendiği üzere depolama sıcaklığındaki artışa bağlı olarak örneklerin antosiyanin kaybının da arttığı saptanmıştır.

Daha önce de belirtildiği gibi 4, 20 ve 30°C’de depolanan KLE ile renklendirilmiş örneklerin depolama sürecinde antosiyanin kayıpları sırasıyla %24.51, %30.44 ve %54.78 iken, SHE ile renklendirilen örneklerde meydana gelen değişimler ise sırasıyla %24.24, %36.52 ve %65.98 düzeylerinde belirlenmiştir. Örnekler arasında en yüksek antosiyanin kaybının ÜKE ile renklendirilen elma sularında meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu örneklerde antosiyanin kayıpları, 4°C’de 6 ay depolama sonunda %38.85, 20°C’de 3 ay depolama sonunda %40.95 ve 30°C’de 2 ay depolama sonunda ise %71.38 olarak gerçekleşmiştir (Şekil 3.11., Şekil 3.12. ve Şekil 3.13.) .

Pigment parçalanması depolama sıcaklığı, antosiyanin yapısı ve ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişmekle birlikte [47] antosiyanin parçalanmasında en önemli parametreler, pH ve sıcaklıktır [75; 97]. Çalışmalarda sıcaklığın aritmetik olarak artması ile antosiyanin kaybının logaritmik olarak arttığı bildirilmektedir [16; 50]. Siyah havuç konsantrelerinin 4, 20 ve 37°C sıcaklıklarda depolanarak stabiliteilerinin incelendiği bir çalışmada, sıcaklıktaki artışa bağlı olarak parçalanma hızının da arttığı belirlenmiştir [219]. Bir diğer çalışmada da benzer sonuçlar elde edildiği ve antosiyanin kaybında, 37°C ile karşılaştırıldığında 20°C’de daha az bir kayıp meydana geldiği bildirilmektedir [45]. Benzer şekilde nar sularının 4, 20 ve 37°C sıcaklıkta 210 gün süreyle depolandığı bir çalışmada da antosiyanin miktarının depolama sıcaklığındaki artışa bağlı olarak nispi bir düşüş olduğu belirtilmektedir [226]. Benzer şekilde başlangıç antosiyanin miktarı, 710 mg/L olan ve böğürtlenden elde edilen ABE’ların, -80, 4 ve 25°C sıcaklıklarda 90 gün süreyle depolanmaları sonucunda antosiyanin içeriklerinin sırasıyla 684, 621 ve 261 mg/L seviyelerine düştüğü belirtilmektedir [75]. Brownmiller *et al.* [227] yaban mersini püresinin 6 ay depolanmasıyla antosiyanin miktarının %50’den fazla kayba uğradığını belirlemişlerdir. Hager *et al.* [228] da durultulmamış siyah ahududu suyunun 6 ay süreyle depolanması halinde antosiyanin miktarındaki azalmanın %60’ın üzerinde olduğunu saptamışlardır. Diğer bir çalışmada ise 23°C sıcaklıkta 60 gün süreyle depolanan ahududu sularında antosiyanin kaybının %50 civarında olduğu bildirilmektedir [229]. Ngo *et al.* [230] çilek konservelerinin oda sıcaklığında 60 günün üzerinde depolanmasıyla toplam antosiyanin miktarındaki kaybın %69 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Yine ahududu püresi üretiminde de benzer bir düşüş olduğu bildirilmiştir [231]. *Cabernet sauvignon* cinsi üzüm kabuklarından elde edilen

ekstraktların $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ve $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda depolandığı bir çalışmada, literatürde yer alan çalışmalara paralel olarak depolama sıcaklığındaki artışın antosiyanin parçalanmasını arttırdığı saptanmıştır [232]. Görüldüğü üzere yapılan çalışmalar antosiyaninlerin depolama süresince parçalanma uğradığını ortaya koymakta ve mevcut araştırma bulgularıyla paralellik sergilemektedir.

Araştırmada ABE'lar ile renklendirilmemiş kontrol grubu elma suyu örneklerinde antosiyanin saptanamamıştır. Daha önce de belirtildiği gibi her üç depolama sıcaklığında da en stabil antosiyanin kaynağının kırmızı lahana olduğu, bunu sırasıyla siyah havuç ve üzüm kabuğunun izlediği belirlenmiştir. Bu çalışmada seçilen tüm depolama sıcaklıklarında antosiyanin kaynaklarının ve depolama süresinin antosiyanin miktarı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Antosiyaninlerin gıdalardaki stabilizasyonları üzerine antosiyanin kompozisyonlarının etkili olduğu bildirilmektedir [233]. Nitekim asillenmiş antosiyaninlerin asillenmemiş formdaki antosiyaninlerden daha stabil olduğu bildirilmiştir [1; 40; 44; 219]. Yapılan bir çalışmada siyah havuç antosiyaninlerinin %41 kadarının asillenmiş yapıda olduğu saptanırken, kırmızı lahana antosiyaninlerinin %81.1'inin asillenmiş pozisyonda olduğu belirtilmektedir [74]. Bu sonuçlarda kırmızı lahana antosiyaninlerinin niçin daha stabil olduğunun bir göstergesi olabilir. Siyah üzüm antosiyaninlerinde asillenmemiş antosiyanin formlarının daha ağırlıklı olduğu bildirilmektedir [22]. Başat siyah üzüm antosiyaninleri arasında, malvidin, siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve pelargonidin yer almaktadır [118]. Antosiyanin bazlı kırmızı patates ve mor mısır ekstraktlarının farklı pH ve sıcaklıklarda stabilitelerinin incelendiği bir çalışmanın sonuçları, asillenmiş antosiyanin içeren ekstraktların daha stabil olduğunu ortaya koymaktadır. Nitekim 20°C sıcaklıkta, pH değerleri 0.9-4 aralığında olan tampon çözeltilerde 138 gün süreyle depolanan örneklerin stabilitelerinin kırmızı patates \geq mor havuç $>$ mor mısır $>$ kırmızı üzüm olarak belirlendiği aktarılmaktadır [217].

Daha önce de belirtildiği gibi genel olarak asillenmiş olan antosiyaninlerin asillenmemiş formlarından daha yüksek bir termal stabiliteye sahip olduğu bilinmektedir. Siyah havuç [219] ve kırmızı lahana [82; 234; 235] antosiyaninlerinin yüksek stabilizasyonları da asillenmiş formları ile ilişkilendirilmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada, siyah

havuç antosiyaninlerinin elderberry ve çilek antosiyaninlerinden daha stabil bulunması da yine asillenmiş yapı ile ilişkilendirilmiştir [5].

Bu çalışmada daha önce de bahsedildiği üzere KLE ile renklendirilen örneklerin antosiyaninlerinin depolama süresince diğer örneklerden daha stabil olduğu belirlenmiştir. En düşük antosiyanin stabilizasyonu ise ÜKE ilave edilmiş elma sularında tespit edilmiştir. Bu durum diglukozitlerin gerek monoglikozitlerden gerekse de asillenmemiş formlardan daha stabil olması ile açıklanabilir [1; 47]. Antosiyaninlerin yapısında en çok bulunan şekerler glukoz, galaktoz, ramnoz ve arabinozdur. Bu monosakkaritlerden oluşan di- ve trisakkaritler de bazı antosiyanidinlerle glikozit yapmaktadır. Antosiyanidin glikozitlerinin en yaygınları, 3-monozidler, 3-biozidler, 3,5-diglikozitler ve 3,7- diglikozitlerdir. Doğada 3-glikozitler 3,5-diglikozitlerden yaklaşık 2.5 kat daha fazla bulunmaktadır. Dolayısı ile doğada en yaygın olarak bulunan antosiyanin siyanidin 3-glikozittir [14; 22]. Bazı durumlarda 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 asitlerle asillenmektedir. Bu asil grupları genellikle C3 şeker bağına bağlanmış ve şekerin 6-OH veya 4-OH grubuyla esterleşmiştir. Ancak daha kompleks asilasyon modelleri ve farklı şeker bağlantılarının da olabileceği belirtilmektedir. Antosiyaninlerin asilasyonu stabiliteyi üzerindeki en önemli faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir [22]. Antosiyaninlerin yapısı kadar örneklerin fenolik bileşimi de antosiyanin stabilitesini etkileyen faktörler arasındadır. Nitekim acerola (*Malpighia glabra*) ve açai meyvelerinden elde edilen antosiyanin ekstraktlarının izotonik içecek sistemlerindeki stabiliteyi incelediği bir çalışmada, açainin daha stabil olduğu belirlenmiştir. Her iki materyalin başat antosiyaninlerinin benzer yapıda olması nedeni ile bu durum açainin fenolik içeriğinin daha yüksek olması ile ilişkilendirilmiştir. Fenolik bileşiklerin antosiyaninlerin parçalanmasını yavaşlattığı bilinmektedir [233].

4.5.1.3. Elma sularının antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Farklı sıcaklıklarda depolanan elma sularının depolama sürecindeki antiradikal aktivite düzeylerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, depolama süresinin uzamasına

bağlı olarak örneklerde antiradikal aktivitenin azaldığı belirlenmiştir (Tablo 3.17.). ÜKE ile renklendirilen elma sularının 0. gün antiradikal aktiviteleri %78.81 iken, bunu %77.10 oranında inhibisyon kapasitesine sahip SHE ile renklendirilen örnekler izlemektedir. Yine %65.80 inhibisyon kapasitesi ile KLE ile renklendirilen örnekleri, %47.89 antiradikal aktiviteye sahip kontrol örneklerinin izlemiştir. Elma sularının ilk gün örneklerinin antiradikal kapasiteleri dikkate alındığında toplam fenolik madde içerikleri yüksek olan ÜKE ve SHE ile renklendirilen örneklerin antiradikal kapasitelerinin de yüksek olduğu görülmektedir. Depolama sıcaklığı arttıkça örneklerin antiradikal kapasitelerindeki kayıpların daha çok olduğu belirlenmiştir. Örneğin, kontrol örneklerinin antiradikal kapasitesinde 4°C’de 180 gün depolandığında %36.88, 20°C’de 90 gün depolandığında %42.47 ve 30°C’de 60 gün depolandığında ise %42.93 kayıp olduğu belirlenmiştir. ABE’lerle renklendirilen örnekler arasında en yüksek antiradikal kapasiteye sahip olan ÜKE ile renklendirilen örneklerin 4, 20 ve 30°C’de depolanması halinde antiradikal kapasitelerindeki kayıplar ise sırası ile %12.71, %13.65 ve %12.37 olarak tespit edilmiştir. Her üç depolama sıcaklığında da renklendirici materyal ve depolama süresinin antiradikal aktivite üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.17.).

Antosiyaninler zamanla degrade olarak, renksiz fenolik formlara dönüşmekte ve oluşan bu yeni formların biyoaktivitesi daha düşük olmaktadır [90]. Polifenollerin polimerizasyon derecesi belli bir değere ulaştığında molekül kompleksliği artarak, DPPH radikali ile reaksiyona girecek hidroksil grup sayısının azalmasına neden olmaktadır. Bu reaksiyonlar sonucunda da örneklerin antiradikal kapasiteleri düşmektedir [196]. Elma sularının depolanması sırasında gerek antosiyanin gerekse de fenolik madde miktarlarında azalmalar tespit edilmiştir. Örneklerin antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin düşmesinin bununla ilgili olduğu düşünülmektedir. Antosiyanince zengin meyvelerle yapılan bir çalışmada da böğürtlen, ahududu ve çileklerin antioksidan özelliklerindeki azalmalar, örneklerin antosiyanin miktarlarındaki azalmayla ilişkilendirilmektedir [12].

Bu araştırmada elma sularının antiradikal aktivitelerinin, depolama süresinin uzamasına bağlı olarak genel olarak azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar da depolama

süresince genellikle antiradikal aktivitede benzer şekilde azalma olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin, böğürtlenlerin buzdolabı sıcaklığında 9 gün süreyle depolanmaları sırasında örneklerin antiradikal aktivitelerinde dalgalanmalar olmakla birlikte, depolama süresinin sonuna doğru antiradikal aktivitenin azaldığı belirlenmiştir. Böğürtlenlerin depolama süresince antiradikal aktivitelerindeki bu azalmanın, örneklerin antosiyanin kayıplarından kaynaklanmış olabileceği belirtilmektedir [223]. Yine böğürtlenden elde edilen ABE'lerin 90 gün süreyle -80, 4 ve 25°C olmak üzere 3 ayrı sıcaklıkta depolandığı bir çalışmada da depolama sıcaklığındaki artışa bağlı olarak, örneklerin antosiyanin, toplam fenolik madde içeriği ve antiradikal kapasitelerinde düşüş gözlemlendiği belirtilmektedir [75]. Yapılan bir başka çalışmada ise kayısı ve muzların depolama sürecinde fenolik madde içeriği ve antiradikal aktivitelerinde önemli düzeyde azalmalar saptandığı bildirilirken [224], bir diğer çalışmada ise bu sonucun aksine depolama süresince muzların antioksidan aktivitelerinin depolama süresinin sonuna doğru arttığı bildirilmektedir [224].

4.5.1.4. Elma sularının antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Elma sularının 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolandığı bu çalışmada, örneklerin fosfomolibden metodu ile belirlenen antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.18.'de görülmektedir. Antiradikal aktiviteye benzer şekilde en yüksek antioksidan aktivite de 37.52 mg AAE/mL değeri ile ÜKE ile renklendirilen örneklere aittir. En düşük antioksidan aktivite ise 32.37 mg AAE/mL değeri ile kontrol grubunda saptanmıştır. Her üç depolama sıcaklığında da renklendirici materyal ve depolama süresinin antioksidan aktivite üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Daha öncede belirtildiği gibi depolama sıcaklığı arttıkça antioksidan aktivite kaybının hızlandığı tespit edilmiştir. Örneğin, 4°C'de 180 gün, 20°C'de 90 gün ve 30°C'de 60 gün süreyle depolanan kontrol örneklerinin antioksidan aktivite kayıpları sırası ile %7.94 %7.66 ve %8.74 olarak belirlenmiştir. ABE'lar ile renklendirilen elma suları arasında en düşük antioksidan aktivite kaybı KLE ilave edilmiş grupta saptanmıştır. KLE ile renklendirilen elma sularının 4, 20 ve 30°C'de depolanması sonucunda antioksidan aktivite kayıplarının sırası ile %11.42, %8.50 ve %7.47 düzeylerinde olduğu saptanmıştır.

Literatürde farklı meyve sebzelerin veya bunlardan elde edilen meyve sebze sularında depolama sürecinde meydana gelen antioksidan aktivite kayıplarının farklı antioksidan yöntemleri ile edildiği çalışmalara rastlamak mümkündür. Nitekim antioksidan aktivitenin belirlenmesinde Troloks eşdeğeri antioksidan yöntemi (TEAC), demir iyon indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP), oksidan olarak Cu (II) kullanılan toplam antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC), DPPH antiradikal kapasite ve fosfomolibden gibi farklı metotlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [236]. Örneğin, frenk üzümü, cranberry, yaban mersini, nar, çilek ve vişne suları gibi antosiyanin içeriği zengin örneklerin 29 gün süreyle buzdolabında depolanması sürecinde meydana gelen antioksidan değişimlerin TEAC ile izlendiği bir çalışmada, örneklerin depolama sonunda antioksidan kaybına uğradığı sonucuna ulaşılmıştır. Örneklerden cranberry suları %15 oranında antioksidan kaybına uğrarken, vişne sularının %62 oranında antioksidan kaybına uğradığı belirlenmiştir [196]. Bir başka çalışmada ise ıspanak, brokoli ve pırasanın buzdolabında 30 gün süreyle depolanması halinde antioksidan aktivitelerinin %50'nin üzerinde kayba uğradığı belirlenmiştir [224]. Portakal sularının 4 ay süreyle 18, 28 ve 38°C'de 60 gün süreyle depolanması sırasında antioksidan aktivite kaybının FRAP yöntemi ile belirlendiği bir çalışmada, kayıpların sırası ile %23, %34 ve %57 oranlarında olduğu tespit edilmiştir [237]. Elma sularının 11 ay süreyle oda sıcaklığında depolandığı diğer bir çalışmada ise TEAC değerinin %6-14 oranlarında azaldığı belirtilmektedir [238]. Mevcut çalışma kapsamında ise kontrol grubu elma sularının 20°C'de 90 gün süreyle depolandığında fosfomolibden metodu ile belirlenen antioksidan aktivite kaybının %7.66 seviyesinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.18.).

Daha öncede belirtildiği gibi 100 mL elma suyuna 4 mg antosiyanin içerecek miktarda ABE ilavesi yapıldığında örneklerin sadece antosiyanin içeriği zenginleşmemiş aynı zaman da fenolik madde miktarı da önemli derecede artmıştır. Nitekim kontrol örneklerinin toplam fenolik madde miktarı 326.36 mg/L iken, SHE, KLE ve ÜKE ile renklendirilen elma sularının 0. gün toplam fenolik madde miktarları sırası ile 695.96, 521.92 ve 706.05 mg/L olarak belirlenmiştir (Tablo 3.16.). Örneklerin gerek antiradikal (Tablo 3.17.) ve gerekse de antioksidan aktivitelerinin (Tablo 3.18.) kontrol örneklerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Antioksidanlar özellikle serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesinde önem taşımaktadırlar. Metabolik faaliyetler

sonucu ortaya çıkan serbest radikaller, yaşlanmayı da kapsayan hücre denatürasyonlarına sebep olan önemli faktörler arasında yer almaktadır. Bu tür hücre denatürasyonları; deri, damar, mide rahatsızlıkları, tümör oluşumu ve kanser gibi çok farklı hastalıklara yol açabilmektedir [107]. Bazı gıdaların içerdiği antioksidan bileşenler yüksek radikal tutma kapasiteleri sayesinde, hücrelerin yaşlanmasını geciktirmekte, tümör oluşumunu engellenmekte ve dolayısı ile de antikanserojen aktivite göstermektedir [104; 108]. Yapılan çalışmalar siyah havuç [43-45], kırmızı lahana [46] ve üzüm posasının [159] içerdiği fenolik bileşenler nedeni ile antioksidan aktivite sergilediklerini ortaya koymaktadır. Çalışmada elde edilen sonuçlar da ABE'lerin elma sularının biyoaktif özelliklerini olumlu yönde etkilediğini ortaya koymaktadır.

4.5.1.5. Elma sularının renginde meydana gelen değişimler

Daha önce de belirtildiği üzere L^* parlaklığı ($L^* 100=$ beyaz, $L^* 0=$ siyah), pozitif ve negatif a^* değerleri sırası ile kırmızı ve yeşili, diğer bir renk parametresi olan b^* değeri pozitif ise sarı, negatif ise mavi rengi temsil etmektedir. C^* değeri, renk doygunluğu veya renk yoğunluğu (kroma değeri) ile ilgili bir nitelik olup, 0 ile 60 aralığında değişmektedir. C^* değerleri, renk düzleminin merkezinde matken (0), merkezden uzaklaştıkça parlak (vivid) tonları temsil etmektedir. Hue açısı (h°) ise renk tonuyla ilgili bir diğer niteliklerdir [154].

Elma sularının 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolandığı bu çalışmada her üç sıcaklıkta da en yüksek L^* değeri kontrol grubuna aitken, en düşük L^* değeri ÜKE ile renklendirilen örneklerde tespit edilmiştir. Yine örneklerin L^* değerlerinde de zamanla azalmalar olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.19., Tablo 3.20. ve Tablo 3.21.). L^* değerlerindeki azalmanın depolama sıcaklığındaki artışa bağlı olarak daha da hızlandığı saptanmıştır. Örneğin, başlangıç L^* değeri 10.81 olan kontrol elma sularının 4°C'de 180 gün, 20°C'de 90 gün ve 30°C sıcaklıkta 60 gün süreyle depolandıktan sonra L^* değerleri sırası ile 4.67, 8.25 ve 10.00 seviyelerine düşmüştür. Örnekler arasında parlaklık değeri en düşük olan ÜKE ile renklendirilen elma sularının L^* değerleri ise 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda sırası ile 3.97-2.59, 3.97-3.19 ve 3.97-3.17 aralığında tespit edilmiştir (Tablo 3.19.,

Tablo 3.20. ve Tablo 3.21.). Nispeten yüksek sıcaklıklarda gerek enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları gerekse de pigment yıkımı hızlandığından renk değişimleri daha fazla dikkat çekmektedir. Örneğin, 4°C sıcaklıkta depolanan nar sularının renk değerlerindeki değişimin 20 ve 37°C sıcaklıklarda depolanan örneklerden daha az olduğu bildirilmektedir [226]. Benzer şekilde Golden Delicious ve Amasya olmak üzere iki farklı çeşitten üretilen elma suyu konsantrelerinin 5, 20 veya 37°C sıcaklıklarda 4 ay süreyle depolandığı bir çalışmada, örneklerin L^* değerlerinde hafif dalgalanmalar olduğu saptanmıştır. Çalışmada depolama sıcaklığı ve süresinin uzamasına bağlı olarak örneklerin L^* değerlerindeki düşüşler, konsantrelerde meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ile ilişkilendirilmiştir. L^* değerlerinin Golden Delicious cinsinden üretilen konsantrelerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, elma çeşitlerinin bileşim kompozisyonlarındaki farklılık nedeni ile Amasya elmalarının esmerleşme reaksiyonlarına daha meyilli olabileceği şeklinde açıklanmıştır [239]. Depolama sırasında şekerlerin ve askorbik asidin bozulma bileşiklerinin de antosiyaninlerin kahverenkli bileşiklere dönüşümünde öncü rol oynayabildiği bilinmektedir [240]. Gıdaların yapısındaki antosiyaninler üretim esnasında değişime uğramakta ve renk parametrelerinde değişimler meydana gelmektedir. Örneğin, nar sularının konsantreye işlenmeleri sırasında uygulanan yöntemlere göre L^* değerlerinin %43.4-55.3 oranlarında azaldığı belirlenmiştir [242]. L^* değerinin aydınlık-karanlık eksenini olması nedeniyle, örneklerin L^* değerlerindeki düşüş örneklerin koyulaştığını göstermektedir. Daha önce de belirtildiği gibi genel olarak L^* değerindeki düşüşler gıdaların esmerleşmesi ve pigment yıkımı ile ilişkilendirilmektedir [241].

Araştırmada tüm sıcaklıklarda depolama süresinin uzamasıyla genel olarak ABE ile renklendirilen örneklerin a^* değerlerinde az da olsa azalmalar tespit edilmiştir. KLE ile renklendirilen örneklerin 4°C'de 180 gün depolama sonunda 9.85-5.33, 20°C'de 90 gün depolandığında 9.85-7.94 ve 30°C'de 60 gün depolandığında ise 9.85-8.74 aralığında a^* değerlerine sahip olduğu saptanmıştır (Tablo 3.19., Tablo 3.20. ve Tablo 3.21.). ABE ile renklendirilen örnekler arasında en yüksek a^* değeri, KLE ile renklendirilen örneklerde saptanmış ve bu örneklerin depolama süresince kırmızılığını en iyi koruyan grup olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında SHE ile renklendirilen örneklerin a^* değerlerinin ÜKE ile renklendirilenlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun

ABE'lerin antosiyanin kompozisyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Nitekim kırmızı lahananın stabil yapıda olan mono ve diasillenmiş yapıdaki antosiyanin içeriğinin siyah havuçtan ve üzüm kabuğundan yüksek olduğu belirtilmektedir [22]. Dolayısı ile daha stabil antosiyaninleri daha yoğun şekilde içeren KLE ile renklendirilmiş elma sularının a^* değerleri, diğer örneklere kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise sadece 4°C'de depolananların a^* değerlerinde azalmalar tespit edilirken, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolanan kontrol örneklerinin a^* değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar olmakla birlikte, depolama sonunda başlangıç değerlerine yakın a^* değerlerine sahip oldukları saptanmıştır. Antosiyanin içeren örneklerle yapılan araştırmalarda depolama süresinin uzamasına ve sıcaklık derecesindeki artışa bağlı olarak genellikle a^* değerlerinin düştüğü belirtilmektedir. Örneğin nar sularının 20 ve 37°C sıcaklıkta depolanması halinde antosiyaninlerin parçalanması veya polimerizasyonu sonucu örneklerin L^* ve a^* değerlerinde azalma gözlemlendiği aktarılmaktadır. Bu durum, yüksek sıcaklıklarda depolanan meyve sularında rengin esmerleştiğinin de bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir [226]. Acerola (*Malpighia glabra*) ve açai meyvelerinden elde edilen antosiyanin ekstraktlarının izotonik içecek sistemlerindeki stabilitelelerinin incelendiği bir çalışmada da depolama süresi uzadıkça a^* değerlerinin azaldığı belirlenmiştir [231]. Farklı ambalaj materyalleri ile depolanan nar sularının depolama süresince L^* değerlerinde artış, a^* değerlerinde ise düşüş olduğu bildirilmektedir [242]. Mevcut araştırmada renklendirilen elma sularında olduğu gibi nar sularının da a^* ve L^* değerlerindeki azalmalar özellikle yüksek sıcaklıklarda antosiyaninlerin parçalanma veya polimerizasyonları ile tipik kırmızı renginin solmasına bağlanmaktadır [226; 241].

Tablo 3.19., Tablo 3.20. ve Tablo 3.21.'den de takip edilebileceği gibi elma sularının b^* değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar olmakla birlikte, 4°C sıcaklıkta depolanan örnekler arasında SHE ile renklendirilenlerde, 20°C'de depolanan örneklerden ise kontrol grubunun b^* değerlerinde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. En yüksek b^* değerlerinin kontrol grubuna ait olduğu ve başlangıç b^* değeri 9.45 olan örneklerin b^* değerlerinin 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolandıktan sonra sırası ile 11.51, 11.06 ve 10.51 değerlerine ulaştığı saptanmıştır. Genel olarak ABE ile renklendirilen örneklerde depolama

sıcaklığındaki artışın b^* değerlerinin yükselmesine neden olduğu belirlenmiştir. Örneğin, başlangıç b^* değeri 1.59 olan SHE ile renklendirilen örneklerin en düşük b^* değerlerine sahip olduğu ve 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolama sonrasında sarılık göstergesi olan b^* değerlerinin sırası ile 1.66, 1.91 ve 2.14 değerlerine çıktığı belirlenmiştir. Benzer şekilde farklı ambalaj materyalleri ile depolanan nar sularının depolama süresince b^* değerlerinde artış gözlemlendiği bildirilmektedir [242].

Araştırmada genel olarak depolama sıcaklığının artmasına bağlı olarak örneklerin h^o değerlerinin arttığı tespit edilmiştir (Tablo 3.19., Tablo 3.20. ve Tablo 3.21.). Farklı sıcaklıklarda depolanan kontrol örneklerinin başlangıçta 68.05 olan h^o değerlerinin 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolama sonrasında sırası ile 83.63, 77.66 ve 72.94 düzeylerine çıktığı, yani örneklerin daha da sarı bir renk kazandığı belirlenmiştir. Benzer şekilde ABE ile renklendirilen örneklerde de depolama süresince h^o değerlerinde dalgalanmalar olmakla birlikte, örneklerin h^o değerlerinin genel olarak artış eğilimi sergiledikleri saptanmıştır. Örneğin başlangıç h^o değerlerinin 25.02 olan ÜKE ile renklendirilen 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda depolama sonrasında sırası ile 36.34, 39.52 ve 33.18 değerlerine ulaşmış ve örneklerin renklerinin kırmızıdan sarıya doğru kaydığı tespit edilmiştir. SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerde de benzer eğilimler saptanmıştır (Tablo 3.19., Tablo 3.20. ve Tablo 3.21.).

C^* değeri, rengin canlılığı hakkında fikir veren bir parametre olup, yükselmesi halinde rengin parlaklığında artış olduğu anlaşılmaktadır [5]. Kontrol örneklerinin C^* değerleri tüm depolama sıcaklıklarında artma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Örneğin, 4°C sıcaklıkta depolanan kontrol örneklerinin başlangıç C^* değerinin 10.18'den 11.59'a çıktığı tespit edilmiştir. ABE ile renklendirilen örneklerin C^* değerlerinde ise depolama sürecinde dalgalanmalar olmakla birlikte genel olarak C^* değerlerinin düşme eğiliminde oldukları belirlenmiştir (Tablo 3.19.). ABE'lar ile renklendirilen örnekler arasında en parlak örneğin KLE ile renklendirilen örnekler olduğu saptanmış olup, yine 4°C'de 180 gün süreyle depolanmaları sonunda C^* değeri 10.20'den 6.31'e düşmüştür. Elde edilen bulgulara paralel olarak ticari kırmızı lahana antosiyaninleri ile yapılan bir çalışmada, depolama süresinin uzamasına ve sıcaklığının artmasına bağlı olarak genellikle C^* değerinin azaldığı, renk tonundaki değişimi ifade eden h^o değerinin ise arttığı

bildirilmektedir. Bu değerler, rengin sarıya doğru döndüğünü göstermektedir [48]. Benzer şekilde çilek ve mürver antosiyaninlerinin ısı işleme maruz bırakılmaları halinde h° değerlerinin arttığı ve rengin hafifçe sarıya kaydığı belirtilmektedir [5]. Yapılan bir diğer çalışmada pH değeri 3.6 olan bir model içecek sistemine ticari kırmızı lahana ekstraktından 0.05 g/100mL düzeyinde ilave edilmiş ve örnekler 30°C sıcaklıkta 12 hafta süreyle depolanmışlardır. Depolama süresince örneklerin C^* değerlerinde önemli değişiklikler olduğu saptanmıştır [11]. Yüksek sıcaklıklarda depolanan nar sularının [226] ve portakal sularının [243] C^* değerlerinde genel olarak bir düşüş gözlemlendiği belirtilmektedir. Benzer şekilde Mozetic *et al.* [244] C^* değerinin antosiyanin miktarındaki değişimle ilişkili olduğunu ve antosiyanin miktarı için bu değer iyi bir indikatör olduğunu bildirmektedir.

ABE ile renklendirilen örneklerin depolama süresince renk değişimlerinin b^* değerlerinde artış ile L^* ve a^* değerlerinde düşüş ile karakterize olduğu saptanmıştır. Örneklerin h° değerlerinde artış gözlenirken, C^* değerlerinde ise düşüşler olduğu gözlenmiştir. Genel olarak depolama sıcaklığının artmasıyla örneklerin rengindeki değişimlerin de hızlandığı belirlenmiştir. Benzer şekilde depolama süresince antosiyanin açısından son derece zengin olan nar sularının rengindeki koyulaşma da h° değerlerinde artış ve L^* değerlerindeki düşüşlerle karakterize edilmiştir. Örneklerin renk değerlerinde meydana gelen değişimin depolama sıcaklığının artışına paralel olarak arttığı belirtilmektedir [245].

4.5.1.6. Elma sularının duyuşsal özelliklerinin değerlendirilmesi

Bu araştırmada elma suları için belirlenen duyuşsal analiz sonuçları, ABE ile renklendirilen örneklerin renk skorlarının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin, 4°C’de depolanan kontrol örneklerin renk skorları 6.78-6.89 aralığında değişirken, SHE ile renklendirilen örneklerin renk skorlarının 8.50-8.00 aralığında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.22.). Depolama süresinin uzamasıyla örneklerin renk değerlerinde dalgalanmalar ve kısmen düşmeler gözlenmiştir. Panelistler tarafından özellikle SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin duyuşsal (renk, tat, koku ve genel beğeni kriterleri) olarak daha çok beğenildiği belirlenmiştir. Depolama sıcaklığındaki artışın, duyuşsal renk skorları üzerine çok etkili olmadığı

görülmektedir. Örneğin, başlangıç skoru 8.50 olan SHE ile renklendirilen örneklerin 4, 20 ve 30°C sıcaklıklarda 60 gün süreyle depolanmaları sonrasında renk skorlarının sırası ile 8.11, 8.00 ve 7.72'ye düştüğünü ortaya koymaktadır. Ayrıca KLE ile renklendirilen örneklerin tat ve koku kriterleri açısından en kusurlu bulunan grup olduğu saptanmıştır. Tat ve koku kriterleri dikkate alındığında SHE ve ÜKE ile renklendirilen elma sularıyla birlikte kontrol örneklerinin de beğenildiği saptanmıştır (Tablo 3.22., Tablo 3.23. ve Tablo 3.24.).

Araştırmada üç depolama sıcaklığında da depolama süresinin elma sularının genel beğeni skorları üzerine etkisinin, 4°C'de depolanan kontrol ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin haricinde istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Örneklerin renklendirilmesinde kullanılan materyallerin elma sularının genel beğeni skorları üzerine etkisinin ise önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.22., Tablo 3.23. ve Tablo 3.24.). Elde edilen bulgular elma sularının renklendirilmesinde SHE ve ÜKE'lerinin başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Literatürde bu konuda yapılan benzer bir çalışmaya rastlanamamış olması nedeni ile elde edilen sonuçların karşılaştırılma imkanı olmamıştır.

4.5.2. Dondurma

Mevcut araştırmada 100 g dondurma miksine ABE'lardan 3 mg antosiyanin içerecek şekilde 0.9009 g SHE, 0.3778 g KLE veya 0.2775 g ÜKE'lerinden ilave edilerek üretilen Maraş usulü dondurmalar renklendirilmiştir. Dondurma miksi, Bölüm "2.2.5.2. Dondurma" bölümünde belirtildiği şekilde hazırlanmış ve 0. gün örneklerinin pH, kuru madde ve kül analizleri yapılmıştır (Tablo 3.25). Dondurma örneklerinin kuru madde içeriklerinin %26.30-26.94 aralığında değiştiği ve en düşük kuru madde içeriği, %26.30 değeri ile sade dondurmalarda saptanırken, en yüksek kuru madde içeriğine sahip grubun %26.94 değeri ile SHE ile renklendirilen örnekler olduğu belirlenmiştir. SHE ile renklendirilen örneklerin haricinde diğer dondurmaların % kuru madde miktarları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Bu sonucun ilave edilen SHE miktarının diğerlerinden biraz daha fazla olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Literatür çalışmaları dondurmaların kuru madde içeriklerinin genel olarak formülasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymaktadır.

Örneğin, Kaçar ve Şahan [246] düşük kalorili dondurmaların % kuru madde miktarlarının %22.22-27.39 aralığında bulunduğunu aktarırken, Çelik ve ark. [247] safranlı dondurma örneklerinin %33.14-33.88 düzeyinde kuru madde içerdiğini bildirmektedir. Yapılan bir diğer çalışmada, piyasadan toplanan sade ve meyveli dondurmaların kuru madde değerleri sırası ile %29.69-37.81 ile %26.46-32.67 aralıklarında belirlenmiştir [248]. Bazı pekmez çeşitlerinin dondurma üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise kuru madde değerlerinin %26.49-36.81 aralığında saptandığı bildirilmektedir [249]. Çay aromalı dondurma üretimi olanaklarının araştırıldığı bir çalışmanın bulguları ise dondurmaların %37.90-41.34 aralığında kuru madde içerdiğini ortaya koymaktadır [250].

Bu araştırmada, dondurma örneklerinin % kül miktarları, %0.51-0.60 aralığında belirlenmiş ve örneklerin renklendirilmesinde kullanılan renklendirici materyallerin kül miktarı üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. İlave edilen ekstrakt miktarının artmasına bağlı olarak örneklerin kül miktarlarının kontrole kıyasla arttığı saptanmış olup, en yüksek kül miktarı SHE ile renklendirilen örneklerde %0.60 düzeyinde saptanmıştır. Bu artışın ilave edilen ekstrakt miktarının fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Örnekler arasında en düşük kül miktarı %0.51 değeri ile kontrol örneğinde saptanmıştır. Ankara piyasasında satılan dondurmaların incelendiği bir çalışma, sade dondurmalarda %0.216-2.857, meyveli dondurmalarda %0.103-0.625 ve çikolatalı dondurmalarda da %0.269-1.039 düzeyinde kül olduğunu ortaya koymaktadır [250]. Çay aromalı dondurmaların kül miktarının %1.16-1.28 aralığında [250], pekmez ilave edilen dondurmalarda ise bu değer %0.76-1.02 düzeyinde olduğu aktarılmaktadır [249].

Dondurmaların pH değerlerinin 6.52-6.71 aralığında olduğu saptanmıştır. Karminik asidin alkali tuzu olan karmin, kontrol ile kıyaslandığında dondurmaların pH değerlerinde hafif bir artışa neden olurken, ABE ilavesinin pH değerlerinde hafif bir azalmaya sebep olmuştur. Dondurmaların renklendirilmesi amacıyla ilave edilen renklendirici materyallerin dondurmanın pH değeri üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda dondurmaların pH değerlerinin farklı aralıklarda olduğu belirtilmektedir. Örneğin, yağ ikame maddeleri

kullanılarak üretilen düşük kalorili dondurmaların 6.35-6.45 [246], Maraş usulü dondurmaların 6.42-6.64 [251], sade dondurmaların ise ortalama 6.52 [252] pH değerlerine sahip olduğu aktarılmaktadır. Yapılan bir diğer çalışmada, dondurmaların pH değerlerinin 6.56-6.65 aralığında olduğu belirtilmektedir [253]. Kola ilave edilerek üretilen dondurmaların pH değerlerinin kontrol grubunda 6.41 iken, %1.5 oranında kola içeren örneklerde ise 5.13'e düştüğü bildirilmektedir [254].

Literatür çalışmaları dikkate alındığında dondurma örneklerinin pH değerlerinin yanı sıra kuru madde ve kül miktarlarının da formülasyonlarla direkt olarak ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Çalışma kapsamında üretilen dondurmaların pH, kuru madde ve kül değerlerinin literatür verileriyle uyumlu olduğu belirlenmiştir.

4.5.2.1. Dondurmaların toplam fenolik madde miktarlarında meydana gelen değişimler

Dondurmalara ilave edilen ekstraktlar, içerdiği antosiyaninlerle örneklerle çekici renkler kazandırırken, ekstraktların fenolik maddelerce de zengin olması nedeni ile örnekler fonksiyonel özellik de kazanmışlardır (Tablo 3.26.). Renklendirici madde ilavesi yapılmayan kontrol örneklerinin 0. gün fenolik madde miktarı 0.39 mg/kg iken, karmin ile renklendirilen örnekler için bu değer 0.42 mg/kg olarak belirlenmiştir. Kontrol ve karmin ile renklendirilen örneklerin fenolik madde içerikleri açısından aralarında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır. Hayvanların taze yemlerle beslenmesi başta olmak üzere bakterilerin protein katabolizması veya çevreden olabilecek kontaminasyonlar (sanitizer vs.) gibi nedenlerle süt ve ürünlerinde iz miktarda fenolik maddeler bulunabilmesi nedeniyle [24] kontrol örneklerinde iz miktarda da olsa fenolik madde saptanabileceği düşünülmektedir. SHE, ÜKE ve KLE ile renklendirilen örneklerin 0. gün fenolik madde içerikleri sırası ile 138.20, 128.82 ve 67.28 mg/kg düzeylerinde belirlenmiştir. Hwang *et al.* [26]'ın dondurmanın toplam fenolik madde tayininde kullandıkları metot uygulandığında SHE, KLE ve ÜKE'larının toplam fenolik madde miktarları sırası ile 15.171, 23.084 ve 102.237 mg/g kuru ekstrakt olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada 1 kg dondurma miksi; SHE, KLE veya ÜKE'larından sırası ile 9.009 g, 3.778 g veya 2.775 g eklenerek renklendirilmiştir. Ekstraktların fenolik madde miktarları dikkate alındığında SHE ile renklendirilen

örneğin 137.06 mg GAE/kg dondurma [(9.009 g x 15.171 mg GAE/g kuru ekstakt) + 0.39 mg GAE/kg = 137.06 mg GAE/kg dondurma], KLE ile renklendirilen örneğin ise 87.60 mg GAE/kg dondurma [(3.778 g x 23.084 mg GAE/g kuru ekstakt) + 0.39 mg GAE/kg = 87.60 mg GAE/kg dondurma] düzeyinde fenolik madde içermesi beklenmekteydi. SHE'nın dondurmanın işlenmesi sırasında kayba uğramadığı, ancak KLE'nın dondurmanın üretimi sırasında %23.20'sinin kayba uğradığı belirlenmiştir. ÜKE ile renklendirilen örneğin fenolik madde içeriğinin 284.10 mg GAE/kg dondurma [(2.775 g x 102.237 mg GAE/g kuru ekstakt) + 0.39 mg GAE/kg = 284.10 mg GAE/kg dondurma] düzeyinde olması beklenirken, dondurmanın 128.82 mg GAE/kg dondurma düzeyinde fenolik içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.26.). Ayrıca dondurmalara ilave edilen antosiyanin bazlı renklendirici materyallerin toplam fenolik madde miktarı üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. Hwang *et al.* [26] üzüm şaraplarının bulunduğu kaplarda dibe çöken tortu kısmını dondurmaya farklı oranlarda (50, 100 ve 150 g/kg) ilave ederek, dondurmaların biyoaktif özelliklerindeki değişimini incelemiştir. Hiç tortu ilave edilmemiş kontrol grubunun toplam fenolik madde miktarı 1.52 mg/mL olarak belirlenirken, 150 g/kg tortu ilave edilmiş örneklerde bu miktar 3.58 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Tortunun bileşimindeki toplam fenolik madde miktarı ise 7.51 mg/mL olarak saptanmıştır. Çalışmada dondurmalara ilave edilen şarap tortusunun dondurma üretim süresince stabil olduğu sonucuna ulaşıldığı belirtilmekte olup, bu sonuç bizim bulgularımızla örtüşmemektedir. Dondurma üretiminde kullanılacak sütün farklı bitkisel çaylarla aromalize edildiği bir çalışmada ise siyah çayla (10 g) 80°C'de demlenen örneklerin (415.20 ppm) en yüksek fenolik madde miktarına sahip olduğu belirlenirken, en düşük toplam fenolik madde konsantrasyonunun ise kontrol örneğinin ardından papatya çayı (5 g) ile 40°C sıcaklıkta demlenen örneklerde (123.37 ppm) saptandığı aktarılmaktadır [250].

Dondurmaların fenolik bileşimleri dikkate alındığında özellikle SHE'nın dondurma üretimi sırasında oldukça stabilken, ÜKE'nın fenolik bileşiminin yaklaşık yarısının kayba uğradığı dikkat çekmektedir. KLE ile renklendirilmiş örneklerde ise toplam fenolik madde kaybı %23.20 olarak belirlenmiştir. Bunun ekstraktların fenolik ve antosiyanin profili ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Özellikle asillenmemiş yapıda

antosiyenin içeren ÜKE'lerinin pH değişimlerine hassas olduğu bilinmektedir. Nitekim İsabel çeşidi üzüm kabuklarından elde edilen ABE ile kopigmentasyon ajanı olarak tannik asidin yoğurtlara ilave edildiği bir çalışmada, örnekler 4°C'de 45 gün süreyle depolanmıştır. Elde edilen bulgular, üzüm kabuk ekstraktlarının tannik asitle kopigmente olmaları halinde, yoğurt örneklerinde kontrol (tannik asit içermeyen) örneğine nazaran daha stabil olduğunu ortaya koymaktadır [255]. Ancak yoğurt örneklerinin pH değerleri dondurma örneklerinden daha düşük olduğundan, antosiyenin stabilitesinin daha yüksek olması doğal karşılanmaktadır. KLE ve ÜKE'lerinin dondurmaya ilave edildikten sonra sırasıyla %23.20 ve %54.66 oranlarında kayba uğradığı belirlenmiştir. Bu durumun, ABE'lardaki fenolik maddelerin proteinlerle reaksiyona girmesi sonucunda ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Fenolik maddeler ve proteinlerin interaksiyona girdikleri bilinmektedir. Fenolik madde ve proteinlerin yapısal farklılıkları nedeni ile interaksiyonlarında hidrojen bağı, iyonik bağı, hidrofobik bağı veya kovalent bağı gibi farklı bağlanmalar söz konusu olabilmektedir. Proteinlerle reaksiyona giren fenolik maddelerin başında ise tanenler gelmektedir [256-258]. Ayrıca düşük molekül ağırlıklı fenolik maddelerin de proteinlerle reaksiyona girdiği belirlenmiştir. Nitekim ferulik asit, kafeik asit ve (+)-kateşin gibi düşük molekül ağırlıklı fenolik maddelerin, ortamda protein bulunduğunda antioksidan kapasitelerindeki nispi düşüşler de bu bileşenlerin protein matriksi ile bağ oluşturmaya dayandırılmaktadır [259]. Daha önce de belirtildiği gibi üzüm kabuğunun tanen içeriği çok yüksektir. Kateşin, epikateşin ve epikateşin gallat kabuktaki başlıca tanenler olup, az miktarda da gallokateşin ve epigallokateşin bulunmaktadır [102]. Ancak çeşit, yetiştirme şartları ve iklim gibi faktörler üzümlerin fenolik bileşimleri üzerine son derece etkilidir [76]. Dondurmalara ilave edilen ABE'lar arasında en yüksek fenolik madde kaybı ÜKE ile renklendirilen örneklerde saptanmış (%54.66) olup, bu durumun ÜKE'lerinin yüksek düzeyde tanen içermesine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmada 3 ay süreyle depolanan örneklerin toplam fenolik madde miktarlarında sürenin uzamasına bağlı olarak bir miktar azalma saptanmakla birlikte, depolama süresinin etkisi sadece SHE ile renklendirilen örneklerde istatistiki olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Özellikle ÜKE'lerinin üretim sırasında kayba uğramasına rağmen, depolama sırasında ABE'lerle renklendirilen tüm dondurmaların fenolik

bileşimlerinde çok az kayıplar olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar ABE'lerin dondurmaların uzun süre depolanmaları halinde de yeterince stabil olabileceğini ortaya koymaktadır.

4.5.2.2. Dondurmaların antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Fenolik madde içeriği en yüksek grup olan SHE ile renklendirilen örneklerin %43.82 inhibisyon derecesi ile en yüksek antiradikal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu örneği %36.19 ve %35.72 inhibisyon düzeyleri ile KLE ve ÜKE ilavesiyle renklendirilen örnekler izlemiştir (Tablo 3.26.). Kontrol örneklerinin ve karmin ile renklendirilen örneklerin antiradikal aktiviteleri son derece düşük olup, hemen hemen hiç antiradikal aktivite sergilemedikleri sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan bir çalışmada, üzüm şaraplarının bulunduğu kaplarda dibe çöken tortu kısmının dondurmaya farklı oranlarda (50, 100 ve 150 g/kg) ilave edilmesi ile dondurmaların antiradikal aktivitelerinin arttığı saptanmıştır. Çalışmada 50 g dondurma 25 ml metanol ile ekstrakte edilmiş ve 90 dakika süreyle DPPH radikali ile muamele edilmiştir. Kontrol örneği ile kıyaslandığında 150 g/kg düzeyinde tortu ilave edilen örneklerin DPPH radikalini yaklaşık 4 kat daha fazla inhibe ettiği belirlenmiştir [26].

KLE ile renklendirilen örneklerin toplam fenolik madde miktarları ÜKE ile renklendirilen örneklerden daha düşük olmasına rağmen, antiradikal aktivitelerinin biraz daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durumun örneklerin antosiyanin ve fenolik madde kompozisyonlarındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, kırmızı lahananın antosiyanin profillerinde siyanidin-3,5-diglikozit ve siyanidin-3-sophorosit-5-glikozitin sinapik asit, ferulik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve malonik asit ile asillenmiş yapıları yaygın olarak bulunmaktadır [21]. Yapılan bir çalışmada kırmızı lahananın yüksek antioksidan aktivite göstermesi, diasillenmiş formdaki antosiyanin içeriğinin yüksek olması ile ilişkilendirilmektedir. Nitekim diasillenmiş yapıdaki antosiyaninler pH ve sıcaklık gibi antosiyanin profilini en çok etkileyen faktörlere karşı daha stabildirler [47]. Kırmızı üzümün başat antosiyaninleri ise malvidin başta olmak üzere peonidin, delfinidin, petunidin ve siyanidin 3-glikozitleri, 3-asetilglikozitleri ve

3-*p*-kumarilglükozitleridir [77]. Fenolik bileşikler bireysel bazda ele alınmaları halinde farklı antiradikal veya antioksidan aktivite gösterebilmektedirler [10].

Tablo 3.26. incelendiğinde dondurma örneklerinin antiradikal aktivitelerinde depolama sürecinde az da olsa düştüğü görülmektedir. Örneklerin antiradikal kapasiteleri depolama süresinin uzamasına bağlı olarak azalmış olup, bu azalmanın karmin ile renklendirilen örneklerin haricinde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır. Örneğin, SHE, KLE ve ÜKE ile renklendirilen dondurmaların 3 aylık depolama süreçlerinde antiradikal aktivitelerinde meydana gelen değişimler sırası ile %43.82-40.11, %36.19-33.58 ve %35.72-30.66 aralıklarında belirlenmiştir. Kontrol ve karmin ile renklendirilen dondurmaların ise %1.91-1.18 ve %2.00-1.06 aralıklarında antiradikal kapasiteye sahip oldukları ve hemen hemen hiç antiradikal aktivite göstermedikleri saptanmıştır.

ABE'lerle renklendirilen örneklerin son derece aktif bir radikal olan DPPH'i gerek karmin ile renklendirilen dondurmalarından ve gerekse de kontrol örneklerinden çok daha iyi inhibe ettiği saptanmıştır. İlave edilen ekstraktların fenolik maddelerce zengin olması nedeniyle antiradikal aktiviteyi arttırdığı düşünülmektedir. Ulaşılan literatürler arasında Hwang *et al.* [26]'ın yaptıkları çalışma haricinde dondurmalarda benzer bir çalışmaya rastlanamamıştır. Özellikle dondurmaların depolama sürecindeki toplam fenolik madde ve antiradikal aktivite değişiminin incelendiği literatüre ulaşamamış olmamız nedeni ile verilerimizi karşılaştırma olanağımız olmamıştır.

4.5.2.3. Dondurmaların renginde meydana gelen değişimler

Farklı antosiyanin kaynaklarından elde edilen ekstraktlar veya karmin ile renklendirilen dondurma örneklerinin renk parametrelerinde meydana gelen değişim Tablo 3.27.'de görülebilmektedir. Daha önce de belirtildiği üzere L^* parlaklığı ($L^* 100 =$ beyaz, $L^* 0 =$ siyah), pozitif ve negatif a^* değerleri sırası ile kırmızı ve yeşili ifade etmektedir. Pozitif b^* değeri sarı iken, negatif b^* değeri ise mavi rengi temsil etmektedir. 0 ile 60 aralığında değişen C^* değeri renk yoğunluğu (kroma değeri), hue açısı (h°) ise renk tonuyla ilgili niteliklerdir [154].

Dondurmaların renklendirilmesi amacı ile kullanılan ABE'lar örneklerin L^* değerlerinin düşmesine neden olmuştur. L^* değeri en yüksek olan grubun kontrol (68.55-68.38) olduğu saptanırken, bunu sırasıyla karmin (67.40-63.69), KLE (58.55-56.82), SHE (57.70-52.72) ve ÜKE (56.79-52.42) ile renklendirilen örneklerin izlediği belirlenmiştir. Yapılan diğer araştırmalarda da genel olarak dondurmanın rengini değiştiren pigment ilavesinin L^* değerini azalttığı belirtilmektedir. Örneğin, çay veya bazı bitki çaylarıyla aromatzize edilen dondurma örneklerine ait en yüksek ve düşük L^* değerlerinin sırasıyla kontrol (65.48) ve siyah çayla (48.91) aromatzize edilmiş dondurma örneklerinde saptandığı belirtilmektedir. Aynı çalışmada dondurmaların L^* değerlerinin örnek formülasyonuna bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir [250]. Soya proteini ilaveli, karmosin ve pancar ekstraktı karışımı ile renklendirilmiş dondurmaların L^* değerlerinin 72.34-77.70 [260], pekmez ilave edilen dondurmaların L^* değerlerinin ise 72.35-82.33 aralığında olduğu tespit edilmiştir [249]. 1 kg dondurmaya 50, 100 veya 150 g düzeyinde ilave edilen kırmızı şarap tortusunun örneklerin L^* değerini düşürdüğü saptanmıştır. Benzer şekilde, bu araştırmada en yüksek L^* değeri 96.4 ile kontrol örneğinde saptanırken, en düşük aydınlık değeri ise 59.4 değeri ile 1 kg'ında 150 g tortu içeren örneklerde tespit edilmiştir [26]. Örneklerin L^* değerlerinde depolama süresinin uzamasına bağlı olarak genel olarak bir düşüş olduğu belirlenmiştir. Ancak bu düşüşün kontrol grubu ve KLE ile renklendirilen örneklerde önemli olmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır.

Dondurmaların a^* değerleri üzerine renklendirici materyalin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Beklendiği üzere en düşük a^* değeri 0.07-0.02 değerleri ile kontrol grubu dondurmalarda saptanmıştır. Başlangıç a^* değeri 8.03 olan ve 3 ay depolama sonucunda bu değer 7.59'a düştüğü SHE ile renklendirilen örneklerin, en yüksek a^* değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.27.). Bu örneği sırasıyla karmin, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin izlediği tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada soya proteini ile üretilen dondurmaların a^* değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Kontrol örneklerinin (soya proteini ilave edilmemiş) a^* değerleri -1.94 ile -2.09 aralığında tespit edilirken, diğer örneklerin a^* değerlerinin 4.39-6.62 aralığında değiştiği saptanmıştır [260]. Bir diğer çalışmada yine benzer şekilde dondurmaya ilave edilen kırmızı şarap tortusu miktarının artmasına bağlı olarak a^* değerinin -0.2

seviyesinden (kontrol örneği) 5.4'e (150 g tortu/kg dondurma) çıktığı saptanmıştır [26]. Farklı çaylarla aromatize edilen dondurmaların a^* değerleri 3.55 ile -2.62 arasında değişirken, kontrol örneklerinin a^* değerinin -2.79 olduğu belirlenmiştir. Siyah çayla aromatize edilen örneğin en yüksek a^* değerine sahip olduğu saptanırken, adaçaylı, ihlamurlu ve papatyalı örneklerin renginde yeşil rengin daha baskın çıktığı belirlenmiştir [250]. Elde edilen bulgular, 3 aylık depolama süresince örneklerin a^* değerinde hafif bir düşüş olduğunu ortaya koymaktadır. Depolama süresinin a^* değeri üzerine olan etkisinin SHE ile renklendirilen örnekler haricindeki gruplarda önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.27.).

Dondurmanın renklendirilmesinde kullanılan materyallerin örneklerin b^* değerleri üzerine olan etkisinin de önemli ($p<0.05$) olduğu saptanmıştır. Morumsu kırmızı rengin hakim olması nedeni ile KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin depolama başlangıcında b^* değerleri sırası ile -3.69 ve -4.10 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.27.). Kırmızı lahanada olduğu gibi sinapik asitle asillenmiş antosiyaninlerin ilave edildiği gıdaların rengini kırmızıdan morumsu kırmızıya kaydıracağı belirtilmektedir [74]. Örnekler arasında krem beyaz renkteki kontrol grubunun en yüksek b^* değerlerine sahip olduğu ve 3 ay depolama süresince b^* değerlerinin 3.8-2.45 aralığında değiştiği saptanmıştır. Örneklerin b^* değerlerinde depolama süresinin uzamasına bağlı olarak dalgalanmalar olduğu saptanmıştır. Kontrol örneklerinin yanı sıra SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerde depolama süresinin b^* değerlerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Karaman [250] siyah çay veya bitkisel çaylarla aromatize edilen dondurmalarda, kontrol örneklerinin 4.63 değeri ile en düşük b^* değerine sahip olduğunu belirlerken, en yüksek b^* değerinin ise siyah çayla aromatize edilen örnek grubunda olduğunu saptamıştır. Soya proteini ile üretilmiş dondurmalarda ise b^* değerleri 10.46-14.63 aralığında tespit edilirken [260], pekmezli dondurmalarda bu değer 19.81-26.92 aralığında olduğu belirtilmektedir [249]. Bir diğer çalışmada ise dondurmaya ilave edilen kırmızı şarap tortusu miktarına bağlı olarak b^* değerinin 2.3-10.7 aralığında değiştiği aktarılmaktadır [26]. Dondurmaların b^* değerlerinin genel olarak literatür verilerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın dondurma formülasyonu ve ilave edilen renklendirici materyaller ile alakalı olabileceği düşünülmektedir.

Dondurma örneklerinin renk tonları hakkında fikir veren h° değerleri dikkate alındığında, renklendirici materyallerin etkisinin önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanırken, depolama süresinin etkisi sadece ABE'lar ile renklendirilen dondurma örneklerinde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Tüm dondurma örneklerinin h° değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar olmakla birlikte, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin h° değerlerinin azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Kontrol örneklerinin h° değeri sarıyı temsil eden 90° 'ye son derece yakın bulunmuştur ($89.07-89.69^\circ$). Depolama süresince KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin renk değerleri ise sırası ile $326.95-318.62^\circ$ ve $314.26-299.83^\circ$ aralığında tespit edilmiş olup, renklerinin morumsu kırmızı olduğu belirlenmiştir. Karmin ve SHE ile renklendirilen örneklerin h° değerleri ise sırası ile $1.85-5.45$ ve $5.54-10.75$ aralığında belirlenmiş ve renklerinin kırmızımsı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.27.).

Bu araştırmada C^* değeri $8.00-7.73$ aralığında değişen SHE ile renklendirilen örneklerin en yoğun renge sahip olduğu belirlenirken, bunu karmin ile renklendirilen grubun izlediği saptanmıştır. Sade (kontrol) dondurmaların C^* değerlerinin $3.81-2.45$ aralığında değiştiği ve örnekler arasında renk yoğunluğu en düşük grubu oluşturduğu saptanmıştır. Dondurma örneklerinin C^* değerleri üzerine renklendirici materyalin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Genel olarak örneklerin renk yoğunluklarında depolama süresince dalgalanmalar tespit edilmiş, ancak depolama süresinin SHE ve KLE ile renklendirilen dondurmalar üzerinde etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) saptanmıştır (Tablo 3.27.).

Dondurmaların genel görünümleri dikkate alındığında karmin ile renklendirilen dondurmalar uçuk pembe, SHE, KLE ve ÜKE ilavesi ile örneklerin ise sırası ile kırmızımsı mor, eflatun ve morumsu olduğu saptanmıştır. ABE'lar ile renklendirilen örneklerin depolama süresince renklerini özellikle ilk 2 ay son derece iyi korudukları belirlenmiştir. Benzer şekilde pH değerleri yaklaşık $4.2-4.5$ olan yoğurt ve ekşi kremaya renklendirici özelliklerini değerlendirmek amacı ile 5 mg antosiyanin/100 g ürün dozunda kırmızı turp, kırmızı lahana ve siyah havuç gibi farklı antosiyanin kaynaklarından elde edilen ekstraktların ilave edildiği bir çalışmada, kırmızı turp ve siyah havuç ekstraktları ilavesinin ürünlere hoş bir kırmızılık verirken, kırmızı

lahananın ürünlerde çekici bir mor renk oluşturduğu aktarılmaktadır [15]. Yapılan bir diğer çalışmada ise asillenmiş petunidin türevlerinin nötral ve hafif alkali ortamlarda dahi oldukça yoğun bir şekilde renk verdiği aktarılmaktadır. Süt ürünlerinin raf ömrünün yaklaşık birkaç hafta olduğu dikkate alındığında doğal antosiyanin kaynaklarının bu tip ürünlerde başarı ile kullanılabilceği bildirilmektedir [15].

4.5.2.4. Dondurmaların duyuusal özelliklerinin değerlendirilmesi

Araştırmada panelistler tarafından dondurma örneklerinin renk, tat, koku ve genel beğeni kriterleri değerlendirilmiştir. Kontrol ve karmin veya ABE ile renklendirilen dondurmaların depolama sürecinin ilk 60 gününde renk skorlarında dalgalanmalar olmakla birlikte çok hafif bir düşüş belirlenmiş, ancak bu değişim istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.28.). Renklendirici materyalin duyuusal analiz renk skorları üzerine etkisi sadece depolamanın 90. gününde istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Örnekler farklı renklerde olmalarına rağmen, depolamanın özellikle ilk 60 gününde panelistler tarafından çok beğenildikleri saptanmıştır. Depolamanın 90. gününde ise özellikle ABE ile renklendirilen örneklerin renk skorlarında düşüş olduğu saptanmakla birlikte, bu düşüşün sadece SHE (8.39-7.11) ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Antosiyanin ve diğer fenolik bileşenlerin parçalanmaya meyilli oldukları bilinmektedir. Antosiyaninler asidik koşullarda stabil olmakla birlikte, diğer şartlarda hızla renksiz türevlerine dönüşebilmektedirler [75]. Dondurma örneklerinin pH değerlerinin yüksek olması nedeni ile depolamanın özellikle üçüncü ayında antosiyanin parçalanmaya maruz kaldığı ve panelistler tarafından başlangıç beğenilerini kısmen yitirdiği düşünülmektedir.

Dondurmaların tat skorları ele alındığında en beğenilen grupların kontrol (8.28-7.89) örnekleri ve SHE (8.44-7.56) ile renklendirilen örnekler olduğu, bunları ÜKE (7.89-7.22) ve karmin ile (7.78-6.44) renklendirilen örneklerin izlediği saptanmıştır. KLE (5.50-5.369) ile renklendirilen örneklerin tadı ise kusurlu bulunmuş ve örneklerin panelistlerin beğenisini kazanamadığı belirlenmiştir. Dondurmaların renklendirilmesinde kullanılan renklendirici materyallerin tat skorları üzerine etkisi

istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Depolama süresinin uzamasıyla dondurmaların tat skorlarında genel olarak bir düşüş olduğu saptanmış, ancak tat değerlerindeki bu azalmanın sadece SHE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Üç ay süreyle depolanan örneklerden kontrol grubunun yanı sıra SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin tadı panelistler tarafından iyi olarak değerlendirilmişken, özellikle KLE ilavesiyle renklendirilen dondurmaların tadının pek beğenilmediği saptanmıştır.

Dondurma örneklerinin koku değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. KLE (5.56-5.78) ile renklendirilen örneklerin koku açısından kusurlu bulunduğu saptanmıştır. Duyusal değerlendirmede örneklerin depolama süresince koku değerlerinde hafif azalmalar olduğu, ancak genel olarak örneklerin koku skorları üzerine depolama süresinin etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) sonucuna ulaşılmıştır. Panelistler tarafından SHE (8.17-7.50) ve ÜKE (7.78-7.61) ile renklendirilen gruplara ilaveten kontrol (7.89-7.89) grubunun üç aylık depolama sonunda dahi koku açısından iyi olarak değerlendirildiği, karmin ile (8.00-6.61) renklendirilen grubun biraz daha az beğenildiği saptanmıştır. Dondurmalar arasında koku açısından en az puan alan grubun KLE ile renklendirilen örnekler olduğu ve duyusal olarak fazla kabul görmediği belirlenmiştir (Tablo 3.28.).

Dondurma grupları arasında genel özellikleri itibariyle en az beğenilen grubun KLE (5.56-5.94) ile renklendirilen örnekler olduğu saptanmıştır. Genel beğeni skorlarının depolama süresinin uzamasına bağlı olarak kısmen azaldığı saptanmıştır. Depolama süresinin genel beğeni üzerine olan etkisinin sadece SHE ile renklendirilen örneklerde önemli ($p < 0.05$) olduğu saptanmıştır (Tablo 3.28.).

Bu araştırmada elde edilen duyusal analiz sonuçları değerlendirildiğinde, pH değeri 6.52-6.71 arasında değişen dondurmaların 3 ay kadar uzun bir süre depolanmaları halinde dahi ABE'lerin başarı ile kullanılabilmesi sonucuna ulaşılmaktadır. Özellikle SHE ve ÜKE ile renklendirilen dondurmaların renk, tat, koku ve genel beğeni skorlarının karmin ile renklendirilen örneklerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. KLE ile renklendirilen örneklerin ise özellikle dondurma örneklerine geçen lahana kokusu nedeni ile fazla beğenilmediği açıktır. Ancak bu örneklerin renk skorları dikkate

alandığında, bu açıdan beğenildiği görülmektedir. Renk bakımından değerlendirildiğinde, dondurma örneklerinin hepsinin depolama süresince panelistler tarafından iyi olarak nitelendirildiği saptanmıştır.

Yapılan çalışmalar farklı amaçlarla dondurmaların formülasyonlarında yapılan çeşitli değişikliklerin panelistler tarafından farklı skorlar aldığını göstermektedir. Örneğin, dondurma miksine ilave edilen safranın panelistlerin genel beğeni kriterlerini olumlu yönde etkilediği belirtilirken, maltitollü örneklerin duyuusal anlamda kabul görmedikleri bildirilmektedir [247]. Çikolatalı dondurma formülasyonunda şeker ve kakaoyla birlikte kırmızı patates kullanım olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada, %8 kırmızı patates, %12 şeker ve %1.5 oranında kakao içeren dondurmaların tüketici tarafından beğenildiği aktarılmaktadır [250]. Diğer bir çalışmada ise dört farklı oranda (%0, %15, %30 ve %45) yaban mersini pulpu ilave edilen dondurmalar arasında, duyuusal anlamda en çok beğenilen örneğin %30 oranında yaban mersini içeren grup olduğu belirtilmektedir [261].

Her yaşa ve her kesime hitap eden bir süt ürünü olan dondurmanın renklendirilmesinde özellikle SHE ve ÜKE kullanılması durumunda dondurmaların duyuusal anlamda beğenildiği saptanmıştır. ABE'lerin bu örneklerde rengin çekici hale getirilmesinin yanı sıra örneklere fonksiyonel özellikler de kazandırdıkları sonucuna ulaşılmıştır. Dünya genelinde özellikle son yıllarda yapılan yeni gıda formülasyonu oluşturma ve geliştirme çalışmalarında 96 adet yeni gıda formülasyonununun 76'sının dondurma üzerine olduğu belirtilmektedir [250]. Bu kapsamda fenolik bileşenlerce de zengin siyah havuç ve üzüm kabuğu ekstraktı ile renklendirilen dondurmaların da farklı tat ve aromalarıyla tüketicilerin beğenisine sunulabileceği düşünülmektedir

4.5.3. Şekerleme

Çalışma kapsamında üretilen ve karmin ve ABE'lerle renklendirilen şekerlemeler 20°C'de 180 gün süreyle depolanmışlardır. Şekerleme (lokum) örneklerinin 3.57-3.68 aralığında pH değerlerine sahip oldukları saptanmıştır. Bu çalışmadaki şekerlemelere benzer şekilde üretilen lokum örneklerinin 20°C'de depolandığı bir çalışmada, örneklerin 4.80 ile 4.92 aralığında değişen pH değerlerine sahip oldukları ve depolama

süresince örneklerin pH'larında meydana gelen değişimlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) bildirilmiştir [262]. Farklı firmalardan alınan lokum örneklerinin incelendiği bir diğer çalışmada ise örneklerin pH değerlerinin 3.99-5.54 aralığında geniş bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir [168]. Bu çalışmada üretilen şekerlemelerin pH değerleri yukarıda belirtilen çalışmalardan biraz daha düşük bulunmuş ve bu durumun da formülasyonla ilgili olduğu düşünülmektedir. Yine bu çalışmada üretilen lokumların kuru madde değerlerinin ise %86.55 ile %86.57 aralığında olduğu belirlenmiş ve ilave edilen renklendirici ajanların örneklerin kuru madde değerleri üzerine etkisinin istatistiki olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu saptanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada piyasadan temin edilen lokumların % kuru madde değerlerinin %78.40-93.00 aralığında olduğu belirtilmiştir [168]. Yine bu çalışmada üretilen örneklerin % kül miktarları ise %0.02 düzeyinde belirlenmiş olup, renklendirici madde ilavesinin örneklerin kül miktarları üzerine olan etkilerinin istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.29.).

4.5.3.1. Şekerlemelerin renginde meydana gelen değişimler

Osmanlıca *rahat ul-hulküm*, yani boğaz rahatlatan kelimesinden türetilmiş olan lokum geleneksel bir Türk şekerlemesidir. Anadolu'da yaklaşık 15. yüzyıldan itibaren bilinen lokumun özellikle 17. yüzyılda Osmanlı İmparatorluğu sınırları içinde yaygınlaştığı tahmin edilmektedir. Avrupa ülkelerinde, bir İngiliz gezgin aracılığı ile "Turkish delight" adıyla 18. yüzyılda tanınmaya başlanan [168] lokum günümüzde de sevilerek tüketilen bir şekerlemedir. Çok farklı tatlarda üretilen lokumun renklendirilmesinde de yaygın olarak karmin kullanılmaktadır [167].

Örneklerin L^* değeri parlaklığı ($L^* 100=$ beyaz, $L^* 0=$ siyah), pozitif ve negatif a^* değerleri sırası ile kırmızı ve yeşili ifade etmektedir. b^* değeri pozitif ise sarı, negatif ise mavi rengi temsil etmektedir. 0 ile 60 aralığında değişen C^* değeri renk yoğunluğu (kroma değeri), hue açısı (h°) ise renk tonuyla ilgili niteliklerdir [154].

Lokumların renklendirilmesinde karmin ve ABE'lerin kullanıldığı bu çalışmada, örneklerin L^* değerleri üzerine renklendirici materyallerin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Örneğin, 20°C 'de 180 gün süreyle depolanan

şekerlemelerden karmin ile (13.09-11.10) renklendirilen şekerlemelerin en parlak örnekler olduğu belirlenirken bu grubu, sırasıyla KLE (14.55-15.35), SHE (13.09-11.10) ve ÜKE (12.32-10.84) ile renklendirilen örneklerin izlediği saptanmıştır (Tablo 3.30.). Örneklerin L^* değerlerinde depolama süresince genel olarak bir düşüş olduğu saptanmıştır. Yine bu araştırmada örneklerin renklendirilmesinde kullanılan materyallerin a^* değeri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Karmin ile renklendirilen şekerlemelerin 12.76-10.27 değerleri ile en yüksek a^* değerlerine sahip olduğu ve 6 aylık depolama süresince bu grubun en kırmızı örnek olma özelliğini koruduğu saptanmıştır. Bu durum karminin son derece stabil bir boya olması ile açıklanabilir. KLE ile renklendirilen örneklerin 11.37-9.86 aralığındaki a^* değerlerinin karmin ile renklendirilen örneklere çok yakın olduğu belirlenmiştir. Örneklerin a^* değerlerinde genel olarak depolama süresinin uzamasına bağlı olarak hafif bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Ancak a^* değerlerinde gözlenen bu düşüş sadece ÜKE ile renklendirilen örneklerde istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Örneklerin L^* değerlerindeki düşüşün ürünün depolama sürecindeki esmerleşmesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim örneklerin b^* değerlerinin de depolama süresi uzadıkça genel olarak arttığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir. Şekerlemeler arasında en yüksek b^* değerleri karmin ile renklendirilen örneklerde 2.14-2.74 aralığında tespit edilmiştir (Tablo 3.30.).

Karmin ve SHE ile renklendirilen şekerleme gruplarının h^o değerleri sırası ile 9.60-14.74 ve 9.51-16.64 aralıklarında tespit edilmiştir. KLE ve ÜKE ile renklendirilen ve 180 gün süreyle depolanan şekerlemelerin h^o değerleri ise sırası ile 356.82-355.25 ve 357.29-353.47 aralıklarında belirlenmiştir (Tablo 3.30.). h^o değerleri dikkate alındığında karmin ve SHE ile renklendirilen şekerlemelerin renkleri daha kırmızıyken, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin renginin morumsu-kırmızı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Örneklerin h^o değerlerinde de depolama süresince dalgalanmalar olduğu, ancak bu durumun istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0.05$) saptanmıştır.

Depolama süresince örneklerin C^* değerlerinde dalgalanmalar olmakla birlikte, genel olarak depolama süresi uzadıkça C^* değerlerinin azaldığı, diğer bir anlatımla daha mat bir görüntüye sahip oldukları gözlenmiştir. Nitekim C^* değeri merkezde (0) matken,

merkezden uzaklaştıkça (60) daha parlak bir görünüm sergilemektedir. Örnekler arasında en parlak örneğin karmin ile (12.95-10.69) renklendirilen grup olduğu belirlenirken, ÜKE (10.50-7.79) ile renklendirilen şekerlemelerin ise genel olarak diğerlerinden daha mat olduğu saptanmıştır (Tablo 4.30.). Lokumların renklendirilmesi üzerine yapılan ender çalışmalardan birinde, 1 kg lokum hamuruna renklendirici olarak 6.6 g siyah havuç konsantresi ilave edilmiştir. Renklendirilen örnekler 12, 20 ve 30°C sıcaklıklarda 5 ay süreyle depolanmıştır. Depolama süresinin uzamasına bağlı olarak lokumların a^* ve b^* değerlerinin azaldığı, C^* ve h° değerlerinin ise arttığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada lokum gibi nişasta içeren gıdalarda düşük sıcaklıkta muhafazada retrogradasyon nedeni ile üründeki serbest su miktarının artarak, antosiyanin parçalanmasını hızlandırdığı belirlenmiştir. Nitekim antosiyaninlerin en düşük çalışma sıcaklığı olan 12°C'ye kıyasla 20°C'de daha iyi korunduğu saptanmış ve elde edilen bulgular, lokumların sentetik gıda boyaları yerine siyah havuç antosiyaninleri ile renklendirilebileceğini ortaya koymuştur [23].

4.5.3.2. Şekerlemelerin duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi

Bu araştırmada ABE'lar kullanılarak üretilen şekerlemeler arasında renk skoru en yüksek olan gruplar, SHE (8.61-7.78) ve ÜKE (8.50-7.78) ile renklendirilen örnekler olmakla birlikte, renklendirici materyallerin şekerlemelerin renk skorları üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak sadece 0. gün örneklerinde önemli ($p < 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.31.). Böylece panelistler tarafından ABE ile renklendirilen şekerlemelerin renklerinin karmin ile (8.17-7.61) renklendirilen örnekler kadar beğenildiği sonucuna ulaşılmıştır. Ancak depolama süresinin uzamasına bağlı olarak örneklerin renk değerlerinde genel olarak bir azalma olduğu saptanmıştır. Yapılan duyuşal analizler sonucunda ÜKE (8.44-7.83) ve SHE (8.33-7.67) ile renklendirilen şekerlemelerin tat açısından en beğenilen örnekler olduğu belirlenirken, bu kriterlerin KLE (6.78-6.17) ile renklendirilen şekerlemelerin tadının pek beğenilmediği saptanmıştır. Depolama süresince örneklerin koku değerlerinde dalgalanmalar olmakla birlikte, genel olarak depolama süresinin uzamasıyla koku skorlarında bir düşüş gözlenmiştir. Tat parametresinde olduğu gibi koku açısından en beğenilen örnekler yine ÜKE (8.83-7.67) ve SHE (8.83-7.67) ile renklendirilen şekerlemeler olmuştur.

Şekerlemelerin genel beğeni skorları üzerine renklendirici materyalin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunurken, depolama süresinin sadece KLE ile renklendirilen şekerlemelerde önemli olmadığı ($p>0.05$) sonucuna ulaşılmıştır. Şekerleme grupları içerisinde genel özellikleri itibarıyla en fazla beğenilen örnekler ÜKE (8.39-7.94) ile renklendirilen grupken, bunu sırası ile SHE (8.56-7.61) ve karmin (8.00-7.56) ile renklendirilen grup izlemiştir. KLE (6.67-6.28) ile renklendirilen örneklerin ise panelistler tarafından pek beğenilmediği saptanmıştır (Tablo 3.31.). Elde edilen duyu analizi bulguları lokumun renklendirilmesinde özellikle ÜKE ve SHE'lerinin başarılı bir biçimde kullanılabilmesini ortaya koymaktadır. Literatürde benzer bir araştırmaya rastlanmadığından araştırma kapsamında elde edilen verilerin kıyaslanması mümkün olmamıştır.

4.5.4. Çemen

Araştırmada üretilen çemen örnekleri bazı genel bileşim analizlerine tabi tutulmuş ve sonuçlar Tablo 3.32.'de verilmiştir. Kontrol örneğinin kuru madde değeri %43.21 iken SHE ile renklendirilen örneklerde bu değer %43.73 olarak belirlenmiştir. Örneklerin rengini daha çekici kılmak için ilave edilen ABE'lerin örneklerin kuru madde miktarlarını çok az da olsa arttırdığı, ancak bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir (Tablo 3.32.). Yine çemenlerin kül miktarlarının %2.54-2.63 aralığında değiştiği ve ilave edilen renklendiricilerin çemenlerin kül miktarları üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir. Kontrol örneklerinin yanı sıra karmin, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin pH değerleri 5.85 iken, SHE ile renklendirilen çemenlerde bu değer 5.84 olduğu saptanmış olup, örneklerin aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Pastırma üzerine yapılan araştırmaların aksine çemen konusunda çok fazla literatüre ulaşılamamıştır. Yapılan bir çalışmada, olgunlaştırılmış pastırmanın çemen tabakasının %34.3-41.3 nem ve %3.7-6.4 kül içerdiği belirtilmektedir [263]. Bu farklılıklar çemen formülasyonlarındaki farklılıkların yanı sıra kullanılan malzemeler arasındaki farklılardan da kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, çemenlerin renklendirilmeleri amacı ile katılan ABE'lerin örneklerin % kuru madde, % kül ve pH değerlerinde istatistiksel olarak önemli değişikliklere sebep olmadığı belirlenmiştir.

4.5.4.1. Çemenlerin rengine meydana gelen değişimler

Çemenleme pastırmanın kendine özgü tat, aroma, renk ve lezzet kazanmasını sağlamak amacıyla yapılan bir soslama işlemidir. Yapılan araştırmalar pastırma çemeninin pastırmayı dış etkenlerden koruma, pastırmanın fazla kurummasını engelleme, pastırmanın hava ile temasını önleyerek bozulma ve küflenmesinin engellenmesi, daha lezzetli ürün eldesi ve özellikle içeriğindeki sarımsağın antibakteriyel etkisinden faydalanma gibi çok farklı faydaları olduğunu göstermektedir [264]. Pastırmalarda ortaya çıkan en önemli kusurlar çoğunlukla çemen ve çemenleme işlemine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır [263]. Üreticilerin ekonomik nedenlerle çemene buğday ve burçak unları karışırtmaları, ucuz ve kalitesiz kırmızı biber kullanımı ve boya ilave etmelerine bağlı olarak çemenlerde gerek renk gerekse de yapısal kusurlar ortaya çıkmaktadır [265].

Çemen yapımında, boya maddesi genel olarak çemende istenilen kırmızımsı rengi elde etmek ve renk standardizasyonunun sağlanması için renklendirici katkı maddelerinden faydalanılmaktadır. Fakat bu katkı maddelerinin kullanılma oranları bilinmemektedir. Çünkü geleneksel yöntemlerle üretilen çemenin yapımında teknolojiden çok fazla faydalanılmamaktadır. Bu durum da insan sağlığını tehdit eden renklendiricilerin kullanılma olasılığını arttırmaktadır.

Demirer [266] 1972 yılında yaptığı çalışmada Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün (GMT) 170. maddesi pastırma çemeninde boya kullanımını yasaklamasına rağmen, piyasada bulunan pastırmaların çemenlerine renk vermek amacı ile çeşitli renklendirici maddelerin katıldığını belirlemiştir. Piyasada bulunan pastırmaların çemenleri üzerinde yapılan bu çalışmada, çemenlerin %97-98'i gibi çok büyük bir kısmında sağlığa zararlı bir boya maddesi olan Orange II saptandığı bildirilmiştir. Günümüzde ise Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği [68]'ne göre pastırma çemeni üretiminde kurkumin, riboflavin ve karmin gibi boya maddelerinin kullanılmasına izin verilmektedir.

Daha önce de belirtildiği üzere CIE L^* , a^* , b^* ölçüm sisteminde L^* parlaklığı ($L^* 100$ = beyaz, $L^* 0$ = siyah), pozitif a^* değerleri kırmızıyı, b^* değeri pozitif ise rengin sarı

olduğu anlaşılmaktadır. C^* değeri renk yoğunluğunu (kroma değeri) ve hue açısı (h°) ise renk tonunu temsil etmektedir. C^* ve h° değerleri ile, aynı a^* değerine sahip örnekler arasındaki farklılık daha açık bir şekilde ifade edilebilmektedir [154].

Araştırmada 4°C sıcaklıkta depolanan çemen örneklerinin L^* , a^* , b^* , h° ve C^* değerleri üzerine depolama süresi ve renklendirici materyallerin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. L^* değeri en yüksek olan örnek kontrol grubu (40.08-30.74) iken, bunu sırası ile karmin (38.14-30.59), KLE (35.60-30.85), SHE (35.29-29.20) ve ÜKE (32.63-27.92) ile renklendirilen örneklerin izlediği belirlenmiştir (Tablo 3.33.). Genel olarak, renklendirici materyal ilavesinin gıda maddelerinin L^* değerlerinde düşmeye neden olduğu bilinmektedir [267]. En yüksek a^* değeri karmin (18.80-16.61) ile renklendirilen örneklerde saptanırken, en düşük a^* değerinin ÜKE (11.83-12.68) ile renklendirilen gruba ait olduğu tespit edilmiştir. En yüksek b^* değerleri kontrol grubuna (41.34-24.41) aitken, en düşük b^* değerlerin ise ÜKE (30.34-19.52) ile renklendirilen gruba ait olduğu belirlenmiştir. Örneklerin a^* ve b^* değerlerinde depolama süresince dalgalanmalar saptanmış olup, genel olarak her iki değer de depolama süresinin uzamasıyla birlikte azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde çemenin hammaddelerinden biri olan kırmızı toz biberin bir ay depolandığı başka bir çalışmada örneklerin L^* , a^* ve b^* değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir [268]. Kırmızı biberlerin farklı depolama koşullarında renk değişimlerinin incelendiği bir diğer çalışmada da kontrol örneklerinin geleneksel depolama yöntemine uygun olarak çuvallarda depolanması halinde benzer şekilde L^* , a^* ve b^* değerlerinin azaldığı saptanmıştır. Kırmızı biberlerin a^* değerlerindeki azalmanın, karotenoidlerin oksidasyonu ile ilgili olduğu belirtilmiştir [269].

Araştırmada üretilen çemen örneklerinin a^* ve b^* değerlerinde meydana gelen değişimlerin h° ve C^* değerlerine yansımaları nedeni ile bu değerlerde de depolama süresince dalgalanmalar söz konusu olmakla birlikte, h° ve C^* parametrelerinde de zamanla azalmalar olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.33.). Örneğin, SHE ile renklendirilen çemen örneklerinin h° değerlerinin başlangıçta 68.02 iken 21 gün depolanmaları halinde 60.14'e düştüğü saptanmıştır. Benzer şekilde kontrol örneklerinde h° değerleri 67.86-57.36 aralığında değişmiştir. Çemenlerin C^* değerleri

de zamanla azalmış ve dolayısı ile renklerinin zamanla matlaştığı saptanmıştır. En yüksek C^* değeri 44.65-29.01 aralığında kontrol grubunda saptanırken, en düşük C^* değerleri ise ÜKE ile renklendirilen örneklerde 32.57-23.28 aralığında belirlenmiştir. Genel olarak ABE ve karmin ilavesinin örneklerin az da olsa matlaşmasına sebep olduğu görülmektedir (Tablo 3.33.). Kırmızı biberlerde yapılan çalışmaların sonuçları da h° ve C^* değerlerinin zamanla azaldığını ve bu üründeki eğilimin çemen örneklerindeki eğilime paralel olduğunu ortaya koymaktadır [268; 269].

Bazı gıdaların depolama sürecinde renk pigmentlerindeki değişimin izlendiği çok sayıda araştırma yapılmıştır. Örneğin, likopen yönünden zengin bir ürün olan domates salçasının üretiminde ısı işlem uygulanırken L^* , a^* ve b^* değerlerinin azalma eğilimi sergilediği, h° değerinin ise arttığı bildirilmektedir [270]. Domates tozlarıyla yapılan bir diğer çalışmanın sonuçları da örneklerin renk değerlerinin bir önceki çalışmanın bulgularına benzer olduğunu, özellikle yüksek sıcaklıklarda depolanmaları sırasında renk değişiminin daha hızlı olduğunu ortaya koymaktadır [271].

Çemenin depolama süresince renk değişiminin a^* ve b^* değerlerinde dalgalanmalar ve parlaklığın hafifçe düşmesiyle karakterize edilebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan ön denemelerde, çemenlerin formülasyonlarında yer alan sarımsak ve baharatların ABE'lerden özellikle KLE'lerinin lahana kokusunu baskıladığı ve hiçbir örnekte yabancı ya da rahatsız edici bir tadın veya kokunun algılanmadığının belirlenmesi ve herhangi bir farkın olmayacağı kanısı üzerine örneklerde duyu analizi yapılmamasına karar verilmiştir. ÜKE ilave edilen örneklerin renklerinin hafifte olsa kahverengine dönmesi nedeni ile çemenlerin ÜKE ile renklendirilmesinin çok uygun olmadığı, ancak özellikle KLE ve SHE'lerinin çemenin renklendirmesinde başarı ile kullanılabileceği belirlenmiştir. Nitekim, örneklerin a^* ve b^* değerleri kullanılarak $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ eşitliği ile hesaplanan C^* değerleri (renk yoğunluğu) C^* değeri 0-60 aralığında değişmekte olup, merkezde (0) matken, merkezden uzaklaştıkça parlak tonları temsil etmektedir [154]. Depolamanın 21. gününde örneklerin C^* değerleri karşılaştırılacak olursa, kontrol örnekleri (29.01) en parlak renge sahiptir. Bunu sırası ile SHE (28.62), karmin (27.94), KLE (26.04) ve ÜKE (23.28) ile renklendirilen örneklerin izlediği belirlenmiştir (Tablo 3.33.). Daha önce de belirtildiği üzere renklendirici ilave edilen

örneklerin parlaklık değerleri azalmaktadır [267]. SHE ile renklendirilen çemen örneklerinin C^* değerlerinin, depolamanın 21. gününde dahi karmin ile renklendirilen örneklerden yüksek olduğu belirlenmiştir. KLE ile renklendirilen örneklerin C^* değerleri ise karmin ile renklendirilen örneklere son derece yakındır. Hue açısı (h°) renk tonu ilgili bir diğer nitelik olup $0-360^\circ$ arasında değişmektedir. Bu değer 0° 'de kırmızı, 90° 'de ise sarı rengi temsil etmektedir. h° 'nın $0-90^\circ$ aralığındaki artışı rengin hafifçe sarıya döndüğünün göstergesi kabul edilmektedir [154]. SHE ile renklendirilen örneklerde 21 gün depolanma sonunda bu değer 60.14, KLE ile renklendirilen grupta 58.07 olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunun 21 günlük depolama süresinin bitiminde h° değerleri 57.36, ÜKE ile renklendirilen örneklerin h° değerleri ise 57.02 olarak bulunmuştur. Karmin ile renklendirilen örneklerin h° değerleri ise 53.55 seviyesinde belirlenmiş olup, en düşük h° değeri ile örnekler arasında en kırmızı grup olma niteliğini taşıdığı saptanmıştır. Sonuçlar genel olarak özellikle SHE ve KLE ile renklendirilen örneklerin depolama süresince renk değerlerinin karminle renklendirilen örneklere yakın olduğunu ortaya koymaktadır.

Kök [265] 1985 yılında çemenin rengi üzerine yaptığı bir çalışmada GMT'nün yeniden düzenlenmesi şartıyla çemende %0.1 oranında 2/3 Ponceau 4R (E 124) ve 1/3 Sunset Yellow (E 110) karışımının renklendirici olarak kullanılabileceğini aktarmaktadır. Kullanılması önerilen bu boyalardan Ponceau 4R toz veya granüller halinde bulunan kırmızı renkli, suda çözünür bir boyadır [272]. AB, Norveç ve Finlandiya'da yapılan araştırmalar sonucunda bunların kanserojenik olduğu belirlenmiştir [273]. Önerilen diğer bir boya maddesi olan Sunset Yellow ise sentetik bir boyadır [274]. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda Sunset Yellow'un meme tümörü, diyare ve sekum (kör bağırsak) genişlemesine yol açtığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, Ponceau 4R boyasının 50, 500, 1250 mg/kg gün dozunda tüketen sıçanlarda ise vücutta yaralar, küçük benekli timüs, böbrek taşı oluşumu, sekum genişlemesi, benekli karaciğer, beyin ağırlıklarında artış ve hatta ölümlerin gözlemlendiği bildirilmektedir [56]. Sunset Yellow da Ponceau 4R gibi hiperaktiviteye sebep olmaktadır [276].

Daha önce de belirtildiği gibi günümüzde Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği [68]'ne göre pastırma çemeni üretiminde kurkumin, riboflavin

ve karmin gibi boya maddelerinin kullanılmasına izin verilmektedir. Belirtilen boyalar doğal boyalar olmakla birlikte, içlerinde son derece stabil olması nedeni ile yaygın olarak kullanılan karmindir. Bilindiği gibi karmin, dişi *Cochineal (Dactylopius coccus)* böceklerinden elde edilmektedir [7]. Bu boyanın, gerek bazı insanlarda anafilaktik şok etkisine sebep olması [6] ve gerekse de Musevi ve Müslümanların dini inançları nedeni ile şüpheyle yaklaştıkları bir gıda katkı maddesi olması [70] nedeni ile kullanımının sınırlandırılması ya da alternatif çözümler önerilmesi önem taşımaktadır. Ayrıca çemenlerin doğal boyar madde olarak ABE ilavesi ile hem daha fonksiyonel hem de daha doğal ürünler elde etmenin mümkün olabileceği düşünülmektedir.

4.6. Çalışma Sonucunda Elde Edilen Bazı Önemli Bulgular

Daha öncede belirtildiği gibi bu araştırmada, siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ABE'lerin bazı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bazı gıdalarda renklendirici olarak kullanılabilme imkanlarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, belirtilen antosiyanin kaynakları, PEF, ultrason tekniği veya klasik ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilmişlerdir. PEF uygulamalarında çözgen olarak sadece saf su kullanılırken, diğer uygulamalarda saf suyun yanı sıra AES de kullanılmıştır. Ekstraktların toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarları, antiradikal, antioksidan aktiviteleri ve toplam 15 farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyel etkileri belirlenmiştir. Ayrıca Starking cinsi elmalardan laboratuvarında üretilip pastörize edilen elma suları 4 mg antosiyanin/100 mL konsantrasyonunda ABE'lar ile renklendirilmiş ve ekstraktların *E. coli* O157:H7 veya *B. cereus* F2'ye karşı antimikrobiyel etkileri incelenmiştir.

Araştırmada, çözgen olarak AES'nin kullanıldığı, klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ABE'lar elma suyu, dondurma, şekerleme (lokum) ve çemenin renklendirilmesinde kullanılmıştır. Elma suyuna 4 mg antosiyanin/100 mL, dondurma miksine 3 mg antosiyanin/100 mL, şekerlemeye (lokum) 3 mg antosiyanin/100 g ve çemene 2 mg antosiyanin/100 g düzeyinde ABE'lar ilave edilerek renklendirilen örnekler, ürün gruplarına göre farklı sıcaklık ve sürelerde depolanarak, bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca pH ve sıcaklığa karşı hassas oldukları bilinen antosiyaninlerin, pH değeri 3 ve 4 olan tampon çözeltiler ile elma

sularındaki ısıl stabiliteleri de incelenmiştir. Bu kapsamda elde edilen bazı önemli sonuçlar aşağıda kısaca belirtilmiştir.

1. ABE üretiminde hammadde olarak kullanılan siyah havuç, kırmızı lahanaya ve üzüm kabuğundan klasik ekstraksiyon yöntemi, PEF (üzüm kabuğu hariç) ve ultrason teknikleri ile ekstraktlar elde edilmiştir. Ekstraksiyonda çözgen olarak AES kullanıldığında, elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarının saf su ekstraktlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ekstraktlar arasında toplam fenolik madde içeriği en yüksek örneğin, çözgen olarak AES'nin kullanıldığı üzüm kabuklarından klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlar olduğu saptanmıştır. Siyah havucun su ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları, ultrason > PEF > klasik yöntem şeklinde sıralanırken, kırmızı lahanada bu sıralama PEF > ultrason > klasik yöntem olarak tespit edilmiştir. Siyah havuç ve kırmızı lahananın ekstraksiyonunda AES'nin çözgen olarak kullanılması halinde ekstraktların toplam fenolik madde miktarının klasik ekstraksiyon yöntemine kıyasla ultrason tekniğinde biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
2. Siyah havuç ve kırmızı lahananın su ekstraktları arasında PEF yöntemi ile elde edilen ekstraktların en yüksek antosiyanin içeriğine sahip olduğu ve bunu sırası ile ultrason tekniği ve klasik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktların izlediği belirlenmiştir. Su ekstraktlarına kıyasla çözgen olarak AES'nin kullanılması durumunda her üç materyalden elde edilen ekstraktlarda da antosiyanin miktarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
3. Ekstraktlar arasında genel olarak en yüksek antioksidan aktiviteye ÜKE'nin sahip olduğu ve bunu sırası ile KLE ve SHE'nin izlediği saptanmıştır. Yine genel olarak AES çözgen olarak kullanıldığında, ekstraktların antioksidan aktivitesinin su ekstraktlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.
4. Genel olarak AES ekstraktlarının daha yüksek antiradikal kapasiteye sahip oldukları belirlenmiş olup, en yüksek antiradikal kapasitenin kırmızı lahanaların AES ekstraktları tarafından sergilendiği ortaya konmuştur. ÜKE'leri haricinde ultrason ekstraktlarının, diğer ekstraktlardan biraz daha yüksek bir antiradikal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir.

5. Ekstraktların genel olarak antimikrobiyel aktiviteleri değerlendirildiğinde KLE, SHE ve ÜKE'lerinin *S. cerevisiae* ve *C. albicans* üzerine hiçbir antimikrobiyel etkide bulunmadığı görülmüştür. Tüm materyallerin AES ekstraktlarının su ekstraktlarından daha yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ekstraktlar arasında en yüksek antimikrobiyel aktivitenin ÜKE'ları tarafından sergilendiği tespit edilmiştir. Özellikle ülkemiz açısından en önemli kırmızı şaraplık üzüm çeşitlerinden biri olan Öküzgözü cinsinden elde edilen ÜKE'larının hem biyoaktivite değerlerinin yüksek olması hem de antimikrobiyel etkisinin çok iyi olması nedeni ile doğal boya üretiminde kullanılabilir önemli bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.
6. Çözgen olarak AES'nin kullanıldığı klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve farklı gıdaların renklendirilmesinde kullanılan ekstraktların 90°C sıcaklıkta pH değerleri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerdeki ısıl stabilitesi değerlendirilmiştir. Bu amaçla tampon çözeltilerin 100 mL'si, çalışmada elma sularının renklendirilmesinde kullanıldığı şekilde 4 mg antosiyanin içeren ABE'lar ile renklendirilmiştir. Beklendiği üzere ısıl işlem süresinin uzamasına bağlı olarak antosiyanin miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. Her iki ortamda da ABE'ların ısıl işlem stabilizasyonları dikkate alındığında sıralama KLE > SHE > ÜKE olarak belirlenmiştir. pH değeri 4 olan tampon çözeltilerde ısıl işlem sırasında antosiyanin kaybının pH 3'teki kayıplara çok yakın olduğu saptanmıştır.
7. Depolanan elma sularına ilave edilen düzeyde (4 mg antosiyanin/100 mL elma suyu) farklı ABE'lar ile renklendirilen elma suları 70, 80 ve 90°C sıcaklıklarda ısıl işleme maruz bırakılmış ve ısıl degradasyonun birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği belirlenmiştir. KLE'nin ısıl işleme en dayanıklı antosiyaninleri içerdiği belirlenirken, bunu sırası ile SHE ve ÜKE'larının izlediği tespit edilmiştir.
8. Yapılan ön denemelerde elma sularına farklı miktarlarda ABE ilavesi yapılmış ve duyuusal anlamda en çok beğenilen örneklerin 4 mg antosiyanin/100 mL seviyesinde ABE ilave edilmesi durumunda elde edildiği belirlenmiştir. Bu nedenle araştırmada elma sularının renklendirilmesinde 100 mL elma suyuna 4 mg antosiyanin içerecek şekilde ABE ilavesi yapılmıştır. ABE ilave edilerek renklendirilen elma suları, depolama süresi ve uygulanan sıcaklığa bağlı olarak

4°C'de 6 ay, 20°C'de 3 ay ve 30°C sıcaklıkta ise 2 ay süreyle depolanmıştır. Beklendiği üzere depolama sıcaklığının artması ve depolama süresinin uzaması ile örneklerin antosiyanin miktarlarında azalma meydana gelmiştir. Renklendirilen elma sularının depolama süresince her üç depolama sıcaklığında da antosiyanin kaybı çoktan aza doğru ÜKE > SHE > KLE olarak belirlenmiş olup, depolama sıcaklığının yükselmesine bağlı olarak antosiyanin kaybının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneklerinde ise antosiyanin saptanamamıştır.

9. Depolanan elma sularının toplam fenolik madde miktarlarında da depolama sıcaklığına ve süresine bağlı olarak genel olarak bir düşüş olduğu belirlenmiştir. Her üç sıcaklıkta depolanan örneklerde de en yüksek toplam fenolik madde miktarının SHE ile renklendirilen örneklerde olduğu saptanırken, bu grubu sırası ile ÜKE ve KLE ile renklendirilen örneklerin izlediği tespit edilmiştir. SHE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin kontrol örneklerinin yaklaşık 2 katı daha fazla toplam fenolik madde içerdiği belirlenmiştir.
10. ABE ile renklendirilen elma sularının antiradikal kapasitesi ve antioksidan aktivitelerinin yüksekte düşüğe doğru ÜKE > SHE > KLE > kontrol şeklinde olduğu saptanmıştır.
11. Elma sularının ABE ile renklendirilmesi sonucunda örneklerin gerek toplam fenolik madde içeriklerinde ve gerekse de antiradikal kapasiteleri ile antioksidan aktivitelerinde artışa sebep olarak, elma sularına fonksiyonel özellikler kazandırdığı saptanmıştır.
12. Tüm depolama sıcaklıklarında zamanla örneklerin genel olarak sırasıyla parlaklığın ve kırmızılık değerinin birer ölçüsü olan L^* ve a^* değerlerinin azalma, sarılığın bir göstergesi olan b^* değerlerinin ise artma eğiliminde oldukları saptanmıştır. Elma sularının renk tonları hakkında fikir veren h^o değerlerinde depolama süresince hafif dalgalanmalar olmakla birlikte, genellikle bir artış olduğu tespit edilmiştir. Farklı ekstraktlar ile renklendirilen örneklerin renklerinin yoğunluğunun göstergesi olan C^* değerlerinde ise azalma eğilimi gözlenmiştir.
13. ABE ile renklendirilen elma suları arasında renk, tat, koku ve genel beğeni kriterleri açısından en çok beğenilen örneklerin SHE ve ÜKE ile renklendirilen

elma suları olduğu belirlenirken, genel olarak KLE ile renklendirilen grubun fazla beğenilmediği tespit edilmiştir.

14. Yapılan ön denemelerde 100 mL dondurma miksine 3 mg antosiyanin içerecek şekilde ABE ilavesi gerçekleştirildiğinde, örneklerin duyusal olarak çok beğenildikleri saptanmıştır. Bu nedenle dondurmaların renklendirilmesinde bu konsantrasyon seviyesi kullanılmıştır.
15. ABE'lar ile renklendirilen dondurmaların toplam fenolik madde içeriklerinin kontrol örneklerinden çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 3 aylık depolama süresince örneklerin toplam fenolik madde içeriğinde çok az bir kayıp olduğu saptanmıştır.
16. Dondurma örneklerine ilave edilen ABE'ların örneklerin antiradikal aktivitelerini olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Kontrol örneğinin DPPH inhibisyon kapasitesi %1.91 iken, SHE, KLE ve ÜKE ile renklendirilen örneklerin inhibisyon değerleri ise sırası ile %43.82, %36.19 ve %35.72 olarak belirlenmiş ve depolama süresince antiradikal aktivite kaybının çok az olduğu saptanmıştır.
17. Renklendirici materyallerin dondurmaların rengi üzerine etkilerinin önemli olduğu belirlenmiştir. Depolama süresinin uzamasıyla dondurmaların L^* ve a^* değerlerinin azaldığı, b^* değerlerinin ise dalgalandığı tespit edilmiştir.
18. Duyusal analiz renk skorları bakımından depolama süresince dondurma örneklerinin hepsinin panelistler tarafından beğenildiği saptanmıştır. Renklendirilmiş dondurmalar arasında tat olarak en çok beğenilen grubun SHE ile renklendirilen örnekler olduğu belirlenmiştir. Genel beğeni kriteri dikkate alındığında en az beğenilen grup KLE ile renklendirilen örnekler olmakla birlikte diğer örneklerin genel olarak panelistler tarafından beğenildiği sonucuna ulaşılmıştır.
19. Çalışma kapsamında 100 g lokum örneği yapılan ön denemeler sonucunda duyusal olarak en çok kabul gören konsantrasyon olan 3 mg antosiyanin içeren farklı ABE'lar ile renklendirilmiştir. Bir grup örnek ise 0.8 mg/100 g şekerleme düzeyinde karmin ile renklendirilmiştir. Beklendiği üzere kullanılan renklendirici ajanların şekerlemelerin renkleri üzerine etkili oldukları

saptanmıştır. Depolama süresinin uzamasıyla örneklerin genel olarak L^* ve a^* değerlerinin azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir.

20. Panelistler tarafından renk açısından en çok beğenilen şekerleme örneklerinin SHE ve ÜKE ile renklendirilen şekerlemeler olduğu belirlenmiştir. Genel olarak 6 ay depolama süresince örneklerin renk skorlarının panelistler tarafından iyi olarak değerlendirildiği saptanmıştır. Şekerleme grupları içerisinde genel özellikleri itibariyle ÜKE ile renklendirilen örnekler en fazla beğenilen grup iken, bunu sırası ile SHE ve karmin ile renklendirilen gruplar izlemiştir. KLE ile renklendirilen örnekler ise panelistler tarafından pek beğenilmemiştir.
21. Hazırlanan çemen örneğinde yapılan ön denemeler sonucunda duyusal olarak en çok beğenildiği saptanan 2 mg antosiyanin/100 g çemen düzeyinde ABE ilavesi gerçekleştirilmiştir. Çemenin depolama süresince renk değişiminin a^* ve b^* değerlerinde dalgalanmalar ve parlaklığın hafifçe düşmesi şeklinde karakterize edilebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Neticede çemenlerin renklendirilmesi için SHE ve KLE'lerinin uygun renklendirici ajanlar olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

4.7. Çalışma Sonucunda Yapılabilecek Öneriler

Bu araştırmanın sonuçları dikkate alındığında aşağıdaki önerilerin yapılabileceği düşünülmektedir;

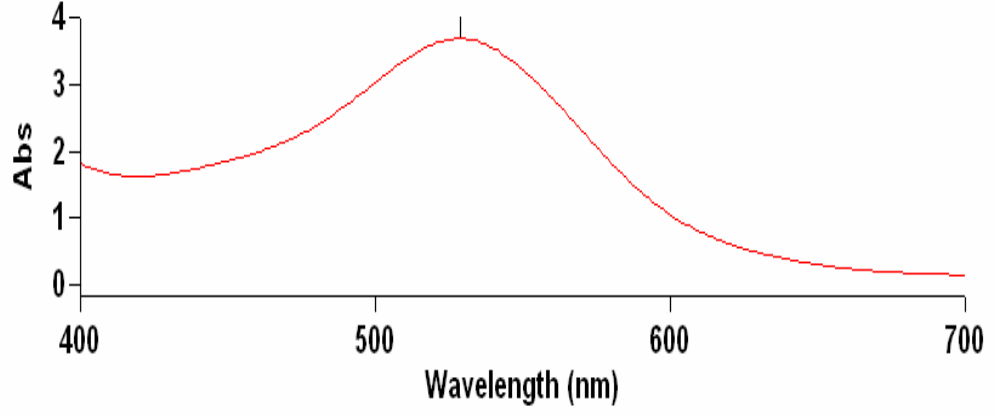
1. Seçilen bitkisel materyallerde antosiyanin ekstraksiyonunda, bizim yaptığımız sınırlı çalışmada olumlu sonuçlar alınamamasına rağmen PEF ve ultrason gibi nispeten yeni teknikler detaylıca çalışılmalı ve ekstraksiyon koşulları optimize edilmelidir.
2. ABE'lar arasında özellikle SHE ve ÜKE'lerinin ilave edildikleri gıdalara çekici renkler kazandırmalarının yanı sıra panelistler tarafından duyusal olarak da beğenilmeleri nedeni ile ülkemizde özellikle bu iki ABE'in farklı gıdalarda doğal gıda boyası olarak kullanımını üzerine de geniş çapta araştırmalar yapılmalı ve gıda sektörü doğal alternatif gıda boya kullanımı konusunda teşvik edilmelidir. Özellikle ÜKE'lerinin aynı zamanda yüksek antibakteriyel etkiye sahip olması, bu ürünün renklendirici özelliğiyle beraber antimikrobiyel özellikli

kombine etkiye sahip bir katkı olabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

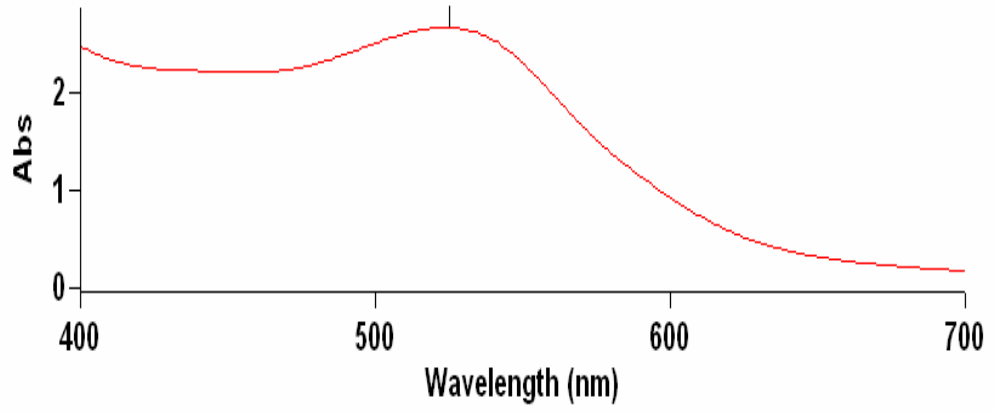
3. Ülkemiz açısından önem taşıyan diğer kırmızı üzüm kabukları üzerinde de benzer araştırmalar yapılarak, antosiyanince en zengin çeşit veya çeşitlerin tespit edilmesinin faydalı olabileceği düşünülmektedir. Nitekim bu tarz çalışmalarla son yıllarda dikkatleri üzerine çeken üzüm posası gibi gıda sanayi atıklarının çok kıymetli bir geri dönüşüme uğraması gerek sağlık açısından ve gerekse de ekonomik açıdan önem taşımaktadır.
4. Farklı antosiyanin kaynaklarından elde edilen ABE'lerden antosiyaninler saflaştırılmaksızın, ekstraktların gıda maddelerine direkt olarak ilave edilmesi ile örneklerin renklendirilmesinin yanında gıdalara fonksiyonel özellikler de kazandırılmış olmaktadır. Bu özellikle son yıllarda “doğal gıda tüketiminin” sağlıklı yaşam ile ilişkilendirilmiş olması açısından da büyük önem arz etmektedir.
5. Ülkemizde doğal gıda katkıları kullanımı ve tüketimi teşvik edilmeli ve yapay gıda katkılarından mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Ayrıca toplum özellikle antosiyanince zengin “çılgın renkli” meyve sebzelerin tüketimi konusunda da bilinçlendirilmelidir.
6. Özellikle ÜKE'ların çok yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahip oldukları belirlenmiş olup, farklı gıda ürünlerinde antimikrobiyel madde olarak kullanım imkanlarının detaylıca araştırılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

EKLER

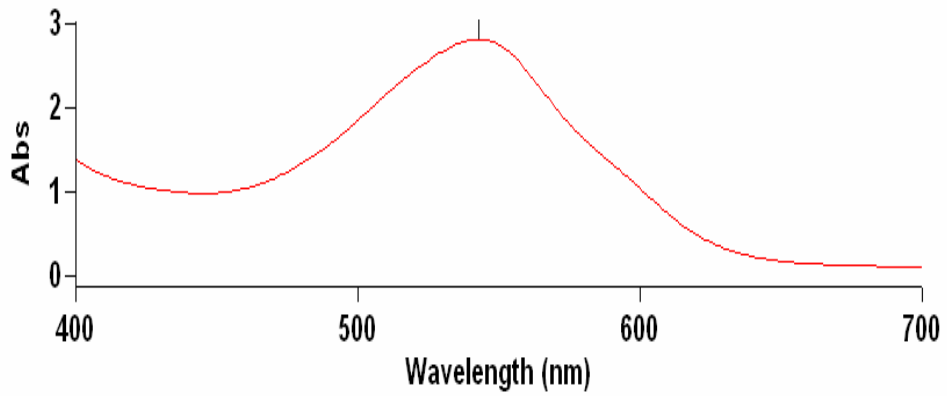
Ek-1. Antosiyanin kaynaklarının spektral özellikleri



Üzüm kabuğu ekstraktı, $\lambda_{\max} = 529$ nm, absorbans = 3.695



Siyah havuç ekstraktı, $\lambda_{\max} = 525$ nm, absorbans = 2.659



Kırmızı lahana ekstraktı, $\lambda_{\max} = 543$ nm, absorbans = 2.901

Ek-2. İnvvert şeker tablosu [148].

0.1 N Sodyum tiyosülfat çöz. ml sayısı	0.1 N-Sodyum tiyosülfat çözeltisinin 0.1 ml sayısı									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Miligram invert şeker									
0	0.00	0.24	0.48	0.72	0.96	1.20	1.44	1.68	1.92	2.16
1	2.40	2.64	2.88	3.12	3.36	3.60	3.84	4.08	4.32	4.56
2	4.80	5.04	5.28	5.52	5.76	6.00	6.24	6.48	6.72	6.96
3	7.20	7.45	7.70	7.95	8.20	8.45	8.70	8.95	9.20	9.45
4	9.70	9.95	10.20	10.45	10.70	10.95	11.20	11.45	11.70	11.95
5	12.20	12.45	12.70	12.95	13.20	13.45	13.70	13.95	14.20	14.45
6	14.70	14.95	15.20	15.45	15.70	15.95	16.20	16.45	16.70	16.95
7	17.20	17.46	17.72	17.98	18.24	18.50	18.76	19.02	19.28	19.54
8	19.80	20.06	20.32	20.58	20.84	21.10	21.36	21.62	21.88	22.14
9	22.40	22.66	22.92	23.18	23.44	23.70	23.96	24.22	24.48	24.74
10	25.00	25.26	25.52	25.78	26.04	26.30	26.56	26.82	27.08	27.34
11	27.60	27.87	28.14	28.41	28.68	28.95	29.22	29.49	29.76	30.03
12	30.30	30.57	30.84	31.11	31.38	31.65	31.92	32.19	32.46	32.73
13	33.00	33.27	33.54	33.81	34.08	34.35	34.62	34.89	35.16	35.43
14	35.70	35.98	36.26	36.54	36.82	37.10	37.38	37.66	37.94	38.22
15	38.50	38.78	39.06	39.34	39.62	39.90	40.18	40.46	40.74	41.02
16	41.30	41.49	41.88	41.17	42.46	42.75	43.04	43.33	43.62	43.91
17	44.20	44.49	44.78	45.07	45.36	45.65	45.94	46.23	46.52	46.81
18	47.10	47.39	47.68	47.97	48.26	48.55	48.84	49.13	49.42	49.71
19	50.00	50.30	50.60	50.90	51.20	51.50	51.80	52.10	52.40	52.70
20	53.00	53.30	53.60	53.90	54.20	54.50	54.80	55.10	55.40	55.70
21	56.00	56.31	56.62	56.93	57.24	57.55	57.86	58.17	58.48	58.79

İnvvert şeker tablosunun kullanılması: Tablonun ilk sütunu harcanmış tiyosülfat çözeltisinin (0.1 N) ml tam sayıları gösterir. "0" dan 9'a kadar olan yandaki rakamlar ise harcanan 0.1 N tiyosülfat çözeltisinin, ondalık sayılarını göstermektedir. Örneğin 11.8 ml tiyosülfat çözeltisi harcanmışsa, "11" sayısı ilk sütundan yukarıdan aşağıya doğru inilerek bulunur. "8" sayısı ise desimal hane olan yandaki satırdan bulunur. Her iki rakam 29.76 mg değerinde kesiştiği için, 11.8 ml 0.1 N tiyosülfatın eşdeğeri olan invert şeker, 29.76 mg'dır.

Ek-3. Duyusal panel formu

Panel Üyesinin									
Adı Soyadı:					Tarih:			Numune No:	
ÖZELLİKLER									
Renk									
Arzu Edilir Renk					Arzu Edilmeyen Renk				
9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Tat									
Çok iyi			İyi		Orta			Bozuk	
9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Koku									
Çok iyi			İyi		Orta			Bozuk	
9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Genel Beğeni									
Çok iyi			İyi		Orta			Kötü	
9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Not: Örnekler arasında ağızınızı su ile çalkalayınız.									
Bu örnekle ilgili belirtmek istediğiniz husus veya düşünceleriniz:									

KAYNAKLAR

1. Delgado-Vargas, F., Paredes-Lopez, O., 2003. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses, CRC Pres, USA, 327 pp.
2. Bechtold, T., Mussak, R., 2009. Handbook of Natural Colorants, Wiley Series in Renewable Resources, United Kingdom, 412 pp.
3. Rangan, C., Barceloux, D.G., 2009. Food additives and sensitivities. **Disease-a-Month**, **55** (5): 292-311.
4. Minioti, K.S., Sakellariou, C.F., Thomaidis, N.S., 2007. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. **Analytica Chimica Acta**, **583**:103-110.
5. Sodilova, E., Stintzing, F.C., Kammerer, D.R., Carle, R., 2009. Matrix dependent impact of sugar and ascorbic acid addition on color and anthocyanin stability of black carrot, elderberry and strawberry single strength and from concentrate juices upon thermal treatment. **Food Research International**, **42**: 1023-1033.
6. Anonymous, 2010. Carmine. (Web sayfası: <http://www.en.wikipedia.org>), (Erişim tarihi: Eylül 2010).
7. Velioglu, H.M., Yılmaz, İ., Velioglu, S.D., 2006. Gıdalarda kullanılan doğal renklendiricilerden karmin, ss. 347-350. *Türkiye 9. Gıda Kongresi, Mayıs 24-26, 2006, Bolu*.
8. Anonymous, 2008. Karmin (Web sayfası: www.sile75.k12.tr/forum/index.php?topic=18778.0 - 37k -), (Erişim tarihi: 09.09.2008).
9. Longo, L., Vasapollo, G., 2006. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. **Food Chemistry**, **94**, 226-231.
10. Pazmino-Duran, E.A., Giusti, M.M., Wrosted, R.E., Gloria, B.A., 2001. Anthocyanins from banana bracts (*Musa x paradisiaca*) as potential food colorants. **Food Chemistry**, **73**: 327-332.

11. Duangmal, K., Saicheua, B., Sueeprasan, S., 2008. Colour evaluation of freeze-dried rosella extract as a natural food colorant in a model system of a drink. **LWT-Food Science and Technology**, **41**: 1437-1445.
12. Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, Ma. de L., Paez-Hernandez, Ma E., Rodriguez, J.A., Galan-Vidal, C.A., 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, **113**: 859-871.
13. Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M.M., Toth-Markus, M., 2005. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. **Food Research International**, **38**: 1023-1029.
14. Kong, J-M., Chia, L-S., Goh, N-K., Chia, T-F., Brouillard, R., 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, **64**: 923-933.
15. Giusti, M.M., Wroslstad, R.E., 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food system. **Biochemical Engineering Journal**, **14**: 217-225.
16. Rhim, J.W., 2002. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. **Food Science and Biotechnology**, **11**: 361-364.
17. Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt 1, Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara, 670 s.
18. Newsome, R.L., 1986. Food colors. **Food Technology**, **40**: 49-56.
19. Bridle, P., Timberlake, F., 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. **Food Chemistry**, **58** (1-2): 103-109.
20. Hendry, G.A.F., Houghton, J.D., 1996. Natural Food Colorants, 2nd edition, Blackie Academic & Professional, London, United Kingdom, 348 pp.
21. Uyan Ersus, S., 2004. Kara Havuç (*Daucus carota* L.) Antosiyanin Ekstraktının Püskürtmeli Kurutucu Kullanılarak Mikroenkapsülasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir, 167 s.
22. Kırca, A., 2004. Siyah Havuç Antosiyaninlerinin Bazı Meyve Ürünlerinde Isıl Stabilitesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 109 s.
23. Özen, G., Akbulut, M., Artık, N., 2009. Stability of black carrot anthocyanins in the Turkish delight (lokum) during storage. **Journal of Food Process Engineering**, DOI: 10.1111/j.1745-4530.2009.00412.x.

24. O'Connell, J.E., Fox, P.F., 2001. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products, a review. **International Dairy Journal**, **11** (3): 103-120.
25. Fossen, T., Cabrita, L., Andersen, O.M., 1998. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. **Food Chemistry**, **63**: 435-440.
26. Hwang, J-Y., Shyu, Y-S., Hsu, C-K., 2009. Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. **LWT-Food Science and Technology**, **42**: 312-318.
27. Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., Tauscher, B., 2008. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, **9**: 85-91.
28. Angersbach, A., Knorr, D., 1997. High intensity electric field pulses as pretreatment for affecting dehydration characteristics and rehydration properties potato cubes. **Nahrung**, **41**: 194-200.
29. Puertolas, E., Lopez, N., Condon, S., Alvarez, I., Raso, J., 2010. Potential applications of PEF to improve red wine quality. **Trends in Food Science & Technology**, **21**: 247-255.
30. Wesierska, E., Trziszka, T., 2007. Evaluation of the use of pulsed electrical field as a factor with antimicrobial activity. **Journal of Food Engineering**, **78**: 1320-1325.
31. Lebovka, N.I., Praporscic, I., Ghnimi, S., Vorobiev, E., 2005. Temperature enhanced electroporation under the pulsed electric field treatment of food tissue. **Journal of Food Engineering**, **69**: 177-184.
32. Gachovska, T.K., Adedeji, A.A., Ngadi, M., Raghavan, G.V.S., 2008. Drying characteristics of pulsed electric field-treated carrot. **Drying Technology**, **26** (10): 1244-1250.
33. Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Cullen, P.J., 2009. Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. **Trends in Food Science & Technonology**, **20**: 137-145.

34. Gunasekaran, S., Chiyung, A., 1994. Evaluating milk coagulation with ultrasonics. **Food Technology, 48** (12): 74–78.
35. Bayraktaroğlu, G., Obuz, E., 2006. Ultrasound yönteminin ilkeleri ve gıda endüstrisinde kullanımı, s. 57-60. *Türkiye 9. Gıda Kongresi, Mayıs 24-26, Bolu.*
36. Vilku, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D., 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry: A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9**: 161-169.
37. Bleve, M., Ciurlia, L., Erroi, E., Lionetto, G., Longo, L., Rescio, L., Schettino, T., Vasopollo, G., 2008. An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide. **Separation and Purification Technology, 64**: 192-197.
38. Vatai, T., Skerget, M., Knez, Z., 2009. Extraction of phenolic compounds from elderberry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering, 90**: 246-254.
39. Sağdıç, O., Özkan, G., Göktürk Baydar, N., 2005. Yeni bitkisel doğal bir antimikrobiyal ve antioksidan: Üzüm posası. **Gıda Teknolojisi, 9** (4): 78-80.
40. Malien-Aubert, C., Dangles, O., 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.
41. Uysal, V., 2000. Kara Havuçtaki Renk Maddelerinin (Antosiyaninlerin) Ekstraksiyonu ve Özelliklerinin İncelenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 71 s.
42. FAO, 2007, Agricultural data. (Web sayfası: <http://faostat.org>), (Erişim tarihi: Eylül 2009).
43. Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A., 2004. Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. **European Food Research and Technology, 219**: 479-486.
44. Gizir, M., Turker, N., Artuvan, E., 2008. Pressurized Acidified water extraction of black carrot [*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.] anthocyanins. **European Food Research & Technology, 226**: 363-370.

45. Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C., Tiwari, B.K., 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, **21**: 3-11.
46. Arapitsas, P., Sjöberg, P.J.R., Turner, C., 2008. Characterisation of anthocyanins in red cabbage using high resolution liquid chromatography coupled with photodiode array detection and electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry. **Food Chemistry**, **109**: 219–226.
47. Pliszka, B., Huszcza-Ciolkowska, G., Mielezko, E., Czaplicki, S., 2009. Stability and antioxidative properties of acylated anthocyanins in three cultivars of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **89**: 1154-1158
48. Walkowiak-Tomczak, D., Czapski, J., 2007. Colour changes of a preparation from red cabbage during storage in a model system. **Food Chemistry**, **104**: 709–714.
49. Werlein, H.D., Küttemeyer, C., Schatton, G., Hubbermann, E.M., Schwarz, K., 2005. Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms. **Food Control**, **16**: 729-733.
50. Drdak, M., Daucik, P., 1990. Changes of elderberry (*Sambucus nigra*) pigment concentrates. **Acta Aliment**, **19**, 3-7.
51. Garcia-Viguera, C., Zafrilla, P., Romero, P., Abellan, P., Artes, F., Tomas-Barberan, F.A., 1999. Color stability of strawberry jams as affected by cultivar and storage temperature. **Journal of Food Science**, **64** (2): 243-247.
52. Kırca, A., Özkan, M., Cemeroğlu, B., 2006. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. **Food Chemistry**, **97**: 598-605.
53. Sharif, A., Saim, N., Jasmani, H., Ahmad, W.Y.W., 2010. Effect of solvent and temperature on the extraction of colorant from onion (*Allium cepa*) skin using pressurized liquid extraction. **Asian Journal of Applied Science**, **3** (4): 262-268.
54. Henry, B.S., 1992. Natural Food Colours, In Natural Food Colourants, G.A.F. Hendry and J.D. Houghton (Eds.), Blackie and Son Ltd., New York, 39-78 p.
55. Downham, A., Collins, P., 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science and Technology**, **35**: 5-22.

56. Erdoğan, Ş., 2007. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Bazı Gıdalarda Sentetik Boya Miktarlarının Araştırılması. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 120 s.
57. Çakmakçı, S., Çelik, İ., 1995. Gıda Katkı Maddeleri, 2. Baskı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notu No: 164, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, 249 s.
58. Calvo, C., Salvador, A., 2000. Use of natural colorants in food gels, influence of composition of gels on their colour and study of their stability during storage. **Food Hydrocolloids**, **14**: 439-443.
59. Miniati, E., Damiani, P., Mazza, G., 1992. Copigmentation and self-association of anthocyanins in food model systems. **Italian Journal of Food Science**, **4** (2): 109-116.
60. Saldamlı, İ., 1998. Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 527 s.
61. Doğruyol, H., 2006. Gıdalardaki katkı maddeleri ve zararları çocukluk hiperaktivitesi. **Güncel Pediatri**, **2**: 42-48.
62. Chappel, C. I., Howell, J.C., 1992. Caramel colours-a historical introduction. **Food and Chemical Toxicology**, **30**, 351-357.
63. Cunha, S.C., Barrado, A. I., Faria, J. O., 2011. Assessment of 4-(5-)methylimidazole in soft drinks and dark beer. **Journal of Food Composition and Analysis**, in press.
64. Code of Federal Regulations, Listing of Color Additives Exempt from Certification. 2003. 21 CFR 73, Office of the Federal Register, U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
65. Hutchings, J.B., 1999. Food Colour and Appearance, Second Edition, Apsen Publishers Inc, Maryland, p. 613.
66. Anonymous, 2010. Karmin. (Web sayfası: <http://www.forumfood.net/kosineal-kirmizi-boya-karmin-karminik-asit-e120-t5711.html>), (Erişim tarihi: Eylül 2010).
67. Anonymous, 2010. Cochineal. (Web sayfası: <http://www.food-info.net/tr/colour/cochineal.htm>), (Erişim tarihi: Eylül 2010).
68. Anonymous, 2002. Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği, Tebliğ No: 2002/55.

69. Lucas, C.D., Hallagan, J.B., Taylor, S.L., 2001. The role of natural color additives in food allergy. **Advances in Food and Nutrition Research**, **43**: 195-215.
70. Anonymous, 2011. Karmin. (Web sayfası: http://www.gidaraporu.com/cocuk-gidalarinda-katki-maddeleri_p.htm), (Erişim tarihi, Aralık, 2010).
71. Jordheim, M., 2007. Isolation, Identification and Properties of Pyroanthocyanins and Anthocyanin Forms, Dissertation for the Degree of Philosophiae Doctor (PhD), Department of Chemistry University of Bergen, Bergen, Norway, 98 p.
72. Einbond, L.S., Reynertson, K.A., Luo, X-D., Basile, M.J., Kennelly, E.J., 2004. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, **84**, 23-28.
73. Lopez, N., Puertolas, E., Condon, S., Raso, J., Alvarez, I., 2009. Enhancement of the extraction of betanine from red beetroot by pulsed electric field. **Journal of Food Engineering**, **90**: 60-66.
74. Stintzing, F.C., Stintzing, A.S., Carle, R., Frei, B., Wrosta, R.E., 2002. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **50**: 6172-6181.
75. Dai, J., Gupte, A., Gates, L., Mumper, R.J., A., 2009. Comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. **Food and Chemical Toxicology**, **47**: 837-847.
76. Gonzalez-Neves, G., Barreiro, L., Gil, G., Franco, J., Ferrer, M., Moutounet, M., Carbonneau, A., 2004. Anthocyanic composition of Tannat grapes from the south region of Uruguay. **Analytica Chimica Acta**, **513**: 197-202.
77. Luque-Rodriguez, J.M., Luque de Castro, M.D., Perez-Juan, P., 2007. Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and other phenolics from red grape skins of winemaking residues. **Biosource Technology**, **98**: 2705-2713.
78. Lila, M.A., 2004. Anthocyanins and human health: An *in vitro* investigative approach. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, **5**: 306-313.
79. Koca, İ., Karadeniz, B., Tural, S., 2006. Antosiyaninlerin antioksidan aktivitesi, s. 133-136, *Türkiye 9. Gıda Kongresi, Mayıs 24-26, Bolu*.
80. Wang, L-S., Stoner, G.D., 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**, **269**: 281-290.

81. Stoner, G.D., Sardo, C., Apsehoff, G., Mullet, D., Wargo, W., Pound, V., Singh, A., Sanders, J., Aziz, R., Casto, B., Sun, X., 2005. Pharmacokinetics of anthocyanins and ellagic acid in healthy volunteers fed freeze-dried black raspberries daily for 7 days. **Journal of Clinical Pharmacology**, **45**: 1153–1164.
82. Wang, J., Mazza, G., 2002. Inhibitory effects of anthocyanins and other phenolic compounds on nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 2647 macrophages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **50**: 850-857.
83. Stintzing, F.C., Carle, R., 2004. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, **15**: 19-38.
84. Jing, P., Bomser, J.A., Schwartz, S.J., He, J., Magnuson, B.A., Guisti, M.M., 2008. Structure-function relationships of anthocyanins from various antocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **56**: 9391-9398.
85. Kamei, H., Hashimoto, Y., Koide, T., Kojima, T., Hasegawa, M., 1998. Anti-tumor effect of methanol extracts from red and white wines. **Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals**, **13** (6): 447-452.
86. Ghiselli, A., Nardini, M., Baldi, A., Scaccini, C., 1998. Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **46** (2): 361-367.
87. Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Meier, C., Kahkonen, M., Heinonen, M., Hopia, A., Oksman-Caldentey, K.-M., 2001. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. **Journal of Applied Microbiology**, **90**: 494-507.
88. Rauha, J.-P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Phlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P., 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, **56** (1): 3-12.
89. Lacombe, A., Vivian, C.H., Tyler, S., Edwards, K., 2010. Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. **International Journal of Food Microbiology**, **139**: 102–107.

90. Sodilova, E., Carle, R., Stintzing, F.C., 2007. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and *in vitro* antioxidant capacity. **Molecular Nutrition & Food Research**, **51**: 1461-1471.
91. Khandare, V., Walia, S., Singh, M., Kaur, C., 2010. Black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice: Processing effects on antioxidant composition and color. **Food and Bioproducts Processing**, DOI: 10.1016/j.fbp.2010.07.007.
92. Dyrby, M., Westergaard, N., Stapelfeldt, H., 2001. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. **Food Chemistry**, **72**: 431-437.
93. Singh, J., Upadhyay, A.K., Bahadur, A., Singh, B., Singh, K.P., Rai, M., 2006. Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleracea* L. var *capitata*). **Scientia Horticulturae**, **108**: 233-237.
94. Podsedek, A., Sosnowska, D., Redzynia, M., Koziolkiewicz, M., 2008. Effect of domestic cooking on the red cabbage hydrophilic antioxidants. **International Journal of Food Science and Technology**, **43**: 1770-1777.
95. Lo Scalzo, R., Genna, A., Branca, F., Chedin, M., Chassaingne, H., 2008. Anthocyanin composition of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var *botrytis*) and cabbage (*Brassica oleracea* L. var *capitata*) and its stability in relation to thermal treatments. **Food Chemistry**, **107**: 136-144.
96. McDougall, G.J., Fyffe, S., Dobson, P., Stewart, D., 2007. Anthocyanins from red cabbage stability to simulated gastrointestinal digestion. **Phytochemistry**, **68**, 1285-1294, 2007.
97. Anonymous, 2004. Üzüm. (Web sayfası: http://www.tzob.org.tr/tzob/tzob_urun_rapor/rapor_2003-uzum.htm), (Erişim tarihi: 2004).
98. Ekici, L., 2005. Farklı Polimer Filmlerde Ambalajlanan Üzüm Suyu Konsantresinde HMF Oluşumu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 46 s.
99. Soyer, Y., Koca, N., Karadeniz, F., 2003. Organic acid profiles of Turkish white grapes and grape juices. **Journal of Food Composition and Analysis**, **16**: 629-636.
100. Kaya, S., Maskan, A., 2003. Water permeability of pestil (a fruit leather) made from boiled grape juice with starch. **Journal of Food Engineering**, **57**: 295-299.

101. Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D.R., Carle, R., 2009. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, **112**: 551-559.
102. Pinelo, M., Arnous, A., Meyer, A.S., 2006. Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. **Trends in Food Science & Technology**, **17**: 579-590.
103. Frankel, E.N., Kanner, J., German, J.B., Parks, E., Kinsella, J.E., 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. **The Lancet**, **341** (20): 454–457.
104. Ahn, H.S., Jeon, T.I., Lee, J.Y., Hwang, S.G., Lim, Y., Park, D.K., 2002. Antioxidative activity of persimmon and grape seed extract: *In vitro* and *in vivo*. **Nutrition Research**, **22**: 1265-1273.
105. Guandez, R., Kallithraka, S., Makris, D.P., Kefalas, P., 2005. Determination of low molecular weight polymeric constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. **Food Chemistry**, **89**: 1-9.
106. Çetin, A., 2010. İyileştirir Güzelleştirir Üzüm. Hayykitap, Pasifik Ofset, İstanbul, 192 s.
107. Bagchi, M., Balmoori, J., Bagchi, D., Ray, S.D., Kuszynski, C., Stohs, S.J., 1999. Smokeless tobacco, oxidative stress, apoptosis, and antioxidants in human oral keratinocytes. **Free Radical Biology & Medicine**, **26**: 992-1000.
108. Moreno, D.A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D.L., Fried, S.K.Ç., Raskin, I., 2003. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. **Nutrition**, **19**: 876-879.
109. Falcao, L.D., Gauche, C., Barros, D.M., Prudencio, E.S., Gris, E.F., Sant'anna E.S., Ogliari, P.J., Luiz, M.T.B., 2004. Stability of anthocyanins from grape (*Vitis vinifera* L.) skins with tannic acid in a model system. **Italian Journal of Food Science**, **16** (3): 323-332.
110. Kelebek, H., 2009. Değişik Bölgelerde Yetiştirilen Öküzgözü, Boğazkere ve Kalecik Karası Üzümlerinin ve Bu Üzümlerden Elde Edilen Şarapların Fenol Bileşikleri Profili Üzerinde Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 259 s.

111. Ju, Z. Y., Howard, L. R., 2003. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **51**: 5207-5213.
112. A'lvarez, I., Raso, J., Palop, A., Sala, FJ., 2000. Influence of different factors on the inactivation of *Salmonella senftenberg* by pulsed electric fields. **International Journal of Food Microbiology**, **55**: 143-146.
113. Bazhal, M., Lebovka, N., Vorobiev, E., 2003. Optimisation of pulsed electric field strength for electroporation of vegetable tissues. **Biosystems Engineering**, **86** (3): 339-345.
114. Ade-Omowaye, B.I.O., Angersbach, A., Taiwo, K.A., Knorr, D., 2001. Use of pulsed electric field pre-treatment to improve dehydration characteristics of plant based foods. **Trends in Food Science and Technology**, **12**: 285-295.
115. Fincan, M., De Vito, F., Dejmeek, P., 2004. Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment. **Journal of Food Engineering**, **64**: 381-388.
116. Jaeger, H., Balasa, A., Knorr, D., 2008. Food Industry Applications for PEF, In *Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials*, 8th Ed., Food Engineering Series, Vorobiev, Eugene, Lebovka, Nikolai (Eds.), 240 pp.
117. Baysal T., 1997. Gıda işlemede yeni ve gelişmekte olan teknolojiler. **Gıda Teknolojisi Dergisi**, **2** (2): 40-45.
118. Corrales, M., Garcia, A.F., Butz, P., Tauscher, B., 2009. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. **Journal of Food Engineering**, **90**: 415-421.
119. Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martin-Belloso, O., Ortega-Rivas, E., 2007. Thermal and pulsed electric field pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. **Journal of Food Engineering**, **83**: 41-46.
120. Adedeji, A.A., Gachovska, T.K., Ngadi M. O., Raghavan, G.S.V., 2008. Effect of pretreatments on drying characteristics of okra. **Drying Technology**, **26** (10): 1251–1256.

121. Lebovka, N.I., Praporscic, I., Vorobiev, E., 2004. Combined treatment of apples by pulsed electric fields and by heating at moderate temperatures. **Journal of Food Engineering**, **65**: 211-217.
122. Bajgai, T. R., Hashinaga, F., 2001. High electric field drying of japanese radish. **Drying Technology**, **19** (9): 2291-2302.
123. Gachovska, T.K., Adedeji, A.A., Ngadi, M.O., 2009. Influence of pulsed electric field energy on the damage degree in alfalfa tissue. **Journal of Food Engineering**, **95** (4): 558-563.
124. Vorobiev, E.I., M.I. Bazhal, N.I. Lebovka, 2000. Optimization of pulsed electric field treatment of apple slices by pressing, p. 265. *In Proceedings of the 8. International Congress on Engineering and Food, ICEF8, April 9-13, 2000, Puebla, Mexico.*
125. Vorobiev, E., Jemail, A.B., Bouzzara, H., Lebovka, N.I., Bazhal, M.I., 2004. Pulse electric field assisted extraction of juice from food plant, pp. 105-130. *In: Novel Food Processing Technologies* (Eds. G., Barbosa-Canovas, M.P. Cano). Marcel Dekker Inc., New York.
126. Amami, E., Fersi, A., Vorobiev, E., Kechaou, N., 2007. Osmotic dehydration of carrot tissue enhanced by pulsed electric field, salt and centrifugal force. **Journal of Food Engineering**, **83**: 605-613.
127. Praporcis, I., Lebovka, N., Vorobiev, E., Mietton-Peuchot, M., 2007. Pulsed electric field enhanced expression and juice quality of white grapes. **Separation and Purification Technology**, **52**: 520-526.
128. Guderjan, M., Elez-Martinez, P., Knorr, D., 2007. Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, **8**: 55-62.
129. Sharma, S.K., Zhang, Q.H., Chism, G.W., 1998. Development of a protein fortified fruit beverage and its quality when processed with pulsed electric field treatment. **Journal of Food Quality**, **21** (6): 459-473.
130. Sánchez-Moreno, C., Cano, M.P., Ancos, B., Plaza, L., Olmedilla, B., Granado, F., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., Martín, A., 2004. Pulsed electric field-processed orange juice consumption increases plasma vitamin C and decreases F2-

- isoprostanes in healthy humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, **15**: 601-607.
131. Wu, V.C.H., Qiu, X., Hsie, Y.H.P., 2008. Evaluation of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice with cornus fruit (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.) extract by conventional media and thin agar layer method. **Food Microbiology**, **25**: 190–195.
132. Elez-Martinez, P., Martin-Bellosa, O., 2007. Effect of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. **Food Chemistry**, **102**: 201-209.
133. Li, Y., Chen, Z., 2006. Effect of high intensity pulsed electric field on the functional properties of protein isolated from soybean. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, **22** (8): 194-198.
134. Yeom, H.W., Zhang, Q.H., Dunne, C.P., 1999. Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. **Food Chemistry**, **67**: 53-59.
135. Zhong, K., Hu, X., Zhao, G., Chen, F., Liao, X., 2005. Inactivation and conformational change of horseradish peroxidase induced by pulsed electric field. **Food Chemistry**, **92**: 473-479.
136. Aguayo, I.A., Serrano, I.O., Teixeira, L.J.Q., Beloso, O.M., 2008. Inactivation of tomato juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as affected by process conditions. **Food Chemistry**, **107**: 949-955.
137. Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Lyng, J.G., 2008. Combined effect of temperature and pulsed electrical fields on apple juice peroxidase and polyphenoloxidase inactivation. **Food Chemistry**, **109**: 402-407.
138. Soliva-Fortuny, R., Balasa, A., Knorr, D., Martin-Bellosa, O., 2009. Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, **20** (11-12): 544-556.
139. Zhang, Y., Hu, X.S., Chen, F., Wu, J.H., Liao, X.J., Wang, Z.F., 2008. Stability and colour characteristics of PEF-treated cyanidin-3-glucoside during storage. **Food Chemistry**, **106**: 669-676.
140. Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martinez, P., De Ancos, B., Martin-Bellosa, O., Cano, M.P., 2005. Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with

- traditional thermal processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **53**: 4403-4409.
141. Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J., O'Donnell, C.P., 2010. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, **17**: 598-604.
142. Balasa, A., Toepfl, S., Knorr, D., 2006. Pulse electric field treatment of grapes. Food Factory of the Future 3, Gothenburg, Sweden, June 7-9.
143. Gavhovska, T., Cassada, D., Subbiah, J., Hana, M., Thippareddi, H., Snow, D., 2010. Enhanced anthocyanin extraction from red cabbage using pulsed electric field processing. **Journal of Food Science**, **75** (6): E323-E329.
144. Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z., 2009. Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. **Gıda**, **34** (3): 175-182.
145. Floros, J.D., Liang, H., 1994. Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. **Food Technology**, **48**: 79 -84.
146. Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., Cullen, P.J., 2008. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **56** (21): 10071-10077.
147. Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Cullen, P.J., 2009. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. **Journal of Food Engineering**, **93**: 166-171.
148. Cemeroğlu, B., 2007. Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No: 34, Ankara, 535 s.
149. AOAC., 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15th Edition), Washington.
150. Ersus, S., Yurdagel, U., 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering**, **80**: 805-812.
151. Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., Wang, Z., 2007. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, **14**: 767-778.

152. Singleton, V.L., Rossi, J.A. Jr., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, **16**: 144-158.
153. Fuleki, T., Francis, F.J., 1968. Quantitative methods for anthocyanins 2. determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice. **Journal of Food Science**, **50**: 754-756.
154. Wrostand, R.E., 1976. Color and pigment analyses in fruit products. Agric. Exp. Stn., Corvallis, Oregon State University, Station Bulletin 624, 17 p.
155. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, **28**: 25–30.
156. Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, **269**: 337-341.
157. Sagdic, O., Karahan, A.G., Ozcan, M., Ozkan, G., 2003. Effect of some spice extracts on bacterial inhibition. **Food Science and Technology International**, **9** (5): 353-356.
158. Sagdic, O., Kuscu, A., Ozcan, M., Ozcelik, S., 2002. Effect of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. **Food Microbiology**, **19**: 473-480.
159. Sagdic, O., Ozturk, I., Ozkan, G., Yetim, H., Ekici, L., Yilmaz, M.T., 2011. RP-HPLC-DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. **Food Chemistry**, **126**: 1749-1758.
160. Anonymous, 2008. Tampon hazırlanması. (Web sayfası: <http://lisanskimya.balikesir.edu.tr/~f10501/tam.htm>), (Erişim tarihi: Şubat 2008).
161. Cemeroğlu, B., Velioglu, S., Işık, S., 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. **Journal of Food Science**, **59** (6): 1216-1218.
162. Wang, W-D., Xu, S-Y., 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. **Journal of Food Engineering**, **82**: 271-275.

163. Zhang, Y., Wang, S.Y., Wang, C.Y., Zheng, W., 2007. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. **LWT- Food Sciene and Technology**, **40** (1): 49-57.
164. Yetim, H., Kesmen, Z., 2008. Gıda Analizleri, Erciyes Üniversitesi Ders Yayınları No 163. Kayseri, 346 s.
165. Dogan, M., Kayacier, A., 2007. The effect of ageing at low temperature on the rheological characteristics of Kahramanmaraş-type ice-cream mix. **International Journal of Food Properties**, **10** (1): 19-24.
166. Kurt, A., Çakmakçı, Çağlar, A., 1996. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi, 6. baskı, Atatürk Üniversitesi Yayınları 252/d Ziraat Fakültesi Yayınları, No:18, 238 s.
167. Anonymous, 2010. Çadırcı Gıda San. Tic. Ltd. Şti.'nden Mustafa Kılçadır ile lokum üretim teknikleri üzerine söyleşi.
168. Doyuran, S.D., Gültekin, M., Güven, S., 2004. Geleneksel gıdalardan lokumun üretimi ve özellikleri, 334-338 s., *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 23-24 Eylül,2004, Van.*
169. Yetim, H., Sagdic, O., Dogan, M., Ockerman, H.W., 2006. Sensitivity of three pathogenic bacteria to Turkish cemen paste and its ingredients. **Meat Science**, **74**: 354–358.
170. SAS., 2000. SAS/STAT User's Guide (Version 8.2); SAS Institute, Inc.: Cary, NC.
171. Kocabıyık, S. Yurdagel, Ü., 1987. Kırmızı üzüm cibresinden boyar bileşiklerin eldesi ve gıda sanayinde kullanım olanakları üzerine araştırma. **Gıda**, **12** (1): 47-53.
172. Güneş, G., 2008. Şalgam Suyu Üretiminde En Uygun Siyah Havuç (*Daucus carota*) Miktarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 48 s.
173. Utuş, D., 2008. Şalgam Suyu Üretiminde Kullanılan Siyah Havuç (*Daucus Carota*) Boyutunun Şalgam Suyu Kalitesi Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 55 s.
174. Rodriguez-Sevilla, M.D., Villanueva-Suarez, M.J., Redondocuenca, A., 1999. Effects of processing conditions on soluble sugars content of carrot, beetroot and turnip. **Food Chemistry**, **66**: 81-85.

175. Arıcı, M., Yılmaz, S., 2006. Paketlenmiş taze sebzelerin bazı mikrobiyolojik özellikleri ve raf ömrünün belirlenmesi. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, **1**: 9-21.
176. Majkowska-Gadomska, J., Wierzbicka, B., 2008. Content of basic nutrients and minerals in heads of selected varieties of red cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* F. *rubra*). **Polish Journal of Environmental Studies**, **17** (2): 295-298.
177. Sağdıç, O., Yetim, H., Doğan, M., Kayacı, A., Özkan, G., 2005. Üzüm posasının antimikrobiyel ve antioksidan katkı olarak gıda sanayinde değerlendirilmesi. TÜBİTAK-TOVAG Proje No:105O154 kodlu proje raporu.
178. Novak, I., Janerio, P., Seruga, M., Oliveira-Brett, A.M., 2008. Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytica Chimica Acta**, **630**: 107-1115.
179. Makris, D.P., Boskou, G., Chiou, A., Andrikopoulos, N.K., 2008. An investigation on factors affecting recovery of antioxidant phenolics and anthocyanins from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace employing water/ethanol-based solutions. **American Journal of Food Technology**, **3** (3): 164-173.
180. Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. **Journal of Food Engineering**, **81**: 200-208.
181. Canbaş, A., Erten, H., Cabaroğlu, T., Nurgel, C., Selli, S., 2000. Önemli bazı üzüm çeşitlerinin şaraplık değerlerinin belirlenmesi ve elde edilen şarapların kalitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, 1-17. *Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Sempozyumu, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Ankara.*
182. Gomez-Plaza, E., Minano, A., Lopez-Roca, J.S., 2006. Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. **Food Chemistry**, **97**: 87-94.
183. Romero-Cascales I., Fernandez-Fernandez J.I., Lopez-Roca J.M., 2005. The maceration process during winemaking extraction of anthocyanins from grape skins into wine. **European Food Research and Technology**, **221**: 163–167.

184. Shi, J., Yu, J., Pohorly, J.E., Kakuda, Y., 2003. Polyphenolics in grape seeds biochemistry and functionality. **Journal of Medicinal Food**, **6** (4): 291-299.
185. Ozcan, E., 2006. Ultrasound Assisted Extraction of Phenolics from Grape Pomace. Middle East Technical University, The graduate School of Natural and Applied Sciences, PhD, Ankara, 69 p.
186. Ruberto, G., Renda, A., Daquino, C., Amico, V., Spatafora, C., Tringali, C., De Tommasi, N., 2007. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Scilian red grape cultivars. **Food Chemistry**, **100**: 203-210.
187. Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A-S., Dangles, O., Chemat, F., 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. **Food Chemistry**, **119**: 851–858.
188. Ma, Y., Ye, X., Fang, Z., Chen, J., Xu, G., Liu, D., 2008. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, **56**: 5682-5690.
189. Hromadkova, Z., Kostalova, Z., Ebringerova, A., 2008. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of phenolics-rich heteroxylans from wheat bran. **Ultrasonics Sonochemistry**, **15**: 1062-1068.
190. Casazza, A.A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., Perego, P., 2010. Extraction of phenolics *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. **Journal of Food Engineering**, **100**: 50-55.
191. Van Loey, A., Verachtert, B., Hendrickx, M., 2002. Effect of high electric field pulses on enzymes. **Trends in Food Science & Technology**, **12**, 94-102.
192. Yang, J., Martinson, T.E., Liu, R.H., 2009. Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. **Food Chemistry**, **116**: 332–339.
193. Xu, Z., Wu, J., Zhang, Y., Hu, X., Liao, X., Wang, Z., 2010. Extraction of anthocyanins from red cabbage using high pressure CO₂. **Biosource Technology**, **101**: 7151-7157.
194. Jayaprakasha, G.K., Selvi, T., Sakariah, K.K., 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Research International**, **36**: 117-122.

195. Sağdıç, O., Ekici, L., 2005. Üzüm (*Vitis vinifera*) çekirdeğinin fenolik bileşikleri ve biyoaktif özellikleri. **Hasad Gıda**, **21** (244): 30-34.
196. Piljac-Zegarac, J., Valek, L., Martinez, S., Belcak, A., 2009. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. **Food Chemistry**, **113**: 394–400.
197. Göktürk Baydar, N., Özkan, G., Sağdıç, O., 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. **Food Control**, **15**: 335-339.
198. Göktürk Baydar, N., Özkan, G., Sağdıç, O., 2004. *In vitro* antioxidant and antibacterial activity of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extract, 78-81 s. 4th Environmental Micropaleontology, Microbiology and Meiobentholog, 13-18 September 2004, Isparta-Turkey.
199. Ozkan, G., Sagdic, O., Gokturk Baydar, N., Kurumahmutoglu, Z., 2004. Antibacterial activities and total phenolic contents of grape pomace extracts. **Journal of Science of Food and Agriculture**, **84** (14): 1807-1811.
200. Negro, C., Tommasi, L., Miceli, A., 2003. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. **Bioresource Technology**, **87**: 41-44.
201. Amico, V., Napoli, E.M., Renda, G., Spatafora, C., Tringali, C., 2004. Constituents of grape pomace from the Sicilian Cultivar 'Nerello Mascalese'. **Food Chemistry**, **88**: 599-607.
202. Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, **12**, 564-582.
203. Kayser, O., Kolodziej, H., 1997. Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. **Planta Medica**, **63**: 508-510.
204. Katalinic, V., Smole Mozina, S., Skroza, D., Generalic, I., Abramovic, H., Milos, M., Ljubenkovic, I., Piskernik, S., Pezo, I., Terpinc, P., Boban, M., 2010. Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). **Food Chemistry**, **119**: 715-723.

205. Furiga, A., Lonvaud-Funel, A., Badet, C., 2009. In vitro study of antioxidant capacity and antibacterial activity on oral anaerobes of a grape seed extract. **Food Chemistry**, **113**, 1037-1040.
206. Kao, T-T., Tu, H-C., Chang, W-N., Chen, B-H., Shi, Y-Y., Chang, T-C., Fu, T-F., 2010. Grape seed extract inhibits the growth and pathogenicity of *Staphylococcus aureus* by interfering with dihydrofolate reductase activity and folate-mediated one-carbon metabolism. **International Journal of Food Microbiology**, **141**: 17–27.
207. Wu, Y., Mittal, G.S., Griffiths, M.W., 2005. Effect of pulsed electric field on the inactivation of microorganisms in grape juices with and without antimicrobials. **Biosystems Engineering**, **90** (1): 1-7.
208. Patil, S., Valdramidis, V.P., Cullen, P.J., Frias, J., Bourke, P., 2010. Inactivation of *Escherichia coli* by ozone treatment of apple juice at different pH levels. **Food Microbiology**, **27**: 835-840.
209. Gabriel, A.A., Nakano, H., 2009. Inactivation of *Salmonella*, *E. coli* and *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and apple juice by ultraviolet and heat treatments. **Food Control**, **20**: 443–446.
210. Mutaku, I., Erku, W., Ashenafi, M., 2005. Growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 in fresh tropical fruit juices at ambient and cold temperatures. **International Journal of Food Sciences & Nutrition**, **56** (2): 133-139.
211. Dingman, D.W., 2000. Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in bruised apple (*Malus domestica*) tissue as influenced by cultivar, date of harvest, and source. **Applied and Environmental Microbiology**, **66** (3): 1077-1083.
212. Erkmen, O., 2010. Gıda Mikrobiyolojisi. Efil Yayınevi, Gaziantep, 552 s.
213. Baskaran, S.A., Amalaradjou, M.A.R., Hoagland, T., Venkitanarayanan, K., 2010. Inactivation of *E. coli* O157:H7 in apple juice and apple cider by trans-cinnamaldehyde. **International Journal of Food Microbiology**, **141**: 126-129.
214. Zhao, T., Doyle, M.P., Beser, R.E., 1993. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. **Applied and Environmental Microbiology**, **59** (8): 2526-2530.
215. Bahçeci, S., Acar, J., 2003. Meyve suyu sanayiinde yeni bir problem: *Alicyclobacillus*. **Gıda Mühendisliği Dergisi**, 26-31.

216. Sodilova, E., Stintzing, F. C., Carle, R., 2006. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. **Journal of Food Science**, **71**: 504-512.
217. Cevallos-Casals, B.A., Cisneros-Zevallos, L., 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. **Food Chemistry**, **86**: 69-77.
218. Kirca, A., Özkan, M., Cemeroğlu, B., 2003. Thermal stability of black carrot anthocyanins in blood orange juice. **Journal of Food Quality**, **26** (5): 361-366.
219. Kirca, A., Özkan, M., Cemeroğlu, B., 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. **Food Chemistry**, **101**: 212-218.
220. Harbourne, N., Jacquier, J.C., Morgan, D.J., Lyng, J.G., 2008. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. **Food Chemistry**, **111**: 204-208.
221. Karaman, Ş., Tütem, E., Sözgen Başkan, K., Apak, R., 2010. Comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. **Food Chemistry**, **120**: 1201-1209.
222. Torres, B., Tiwari, B.K., Patras, A., Wijngaard, H.H., Brunton, N., Cullen, P.J., O'Donnell, C.P., 2011. Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. **Food Chemistry**, **124** (3): 721–726.
223. Wu, R., Frei, B., Kennedy, J.A., Zhao, Y., 2010. Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of Marion and Evergreen blackberries. **LWT-Food Science and Technology**, **43**: 1253-1264.
224. Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J.O., Dommès, J., Pincemail, J., 2007. Evaluation of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **55**: 8596–8603.
225. Van der Sluis, A.A., Dekker, M., Van Boekel, M.A.J.S., 2005. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 3. stability during storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **53**: 1073–1080.

226. Alighourchi, H., Barzegar, M., 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. **Journal of Food Engineering**, **90**: 179-185.
227. Brownmiller, C., Howard, L.R., Prior, R.L., 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. **Journal of Food Science**, **5** (73): H72-H79.
228. Hager, A., Prior, R.L., 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**: H139-H143.
229. Srivastava, A., Akoh, C.C., Yi, W., Fischer, J., Krewer, G., 2007. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, **55**: 2705-2713.
230. Ngo, T., Wrolstad, R.E., Zhao, Y., 2007. Color quality of Oregon strawberries-impact of genotype, composition, and processing. **Journal of Food Science**, **72**: C25-C32.
231. Ochoa, M.R., Kessler, A.G., Vullioud, M.B., Lozano, J.E., 1999. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: Storage effect on composition and color. **LWT- Food Science and Technology**, **149**: 149-153.
232. Falcao, L.D., Falcao, A.P., Gris, E.F., 2008. Spectrometric study of the stability of anthocyanins from Cabernet sauvignon grape skins in a model system. **Brazilian Journal of Food Technology**, **11**(1): 63-69.
233. de Rosso, V.V., 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.
234. Degenhardt, A., Knapp, H., Winterhalter, P., 2000. Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **48**: 338-343.
235. Shimizu, T., Muroi, T., Ichi, T., Nakamura, M., Yoshihira, K., 1997. Analysis of red cabbage colors in commercial foods using high performance liquid chromatography with photodiode array detection-mass spectrophotometry. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, **38**: 34-38.

236. Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A., 2010. Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. **Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, **26** (4): 401-409.
237. Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M., Gliszczynska-Swiglo, A., 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. **Journal of Food Composition and Analysis**, **20**: 313–322.
238. Gliszczynska-Swiglo, A., Tyrakowska, B., 2003. Quality of commercial apple juices evaluated on the basis of the polyphenol content and the TEAC antioxidant activity. **Journal of Food Science**, **68**: 1844–1849.
239. Burdurlu, H.S., Karadeniz, F., 2003. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. **Food Chemistry**, **80**: 91–97.
240. Krifi, B., Maurice, M., 2000. Degradation of anthocyanins from blood orange juices. **International Journal of Food Science and Technology**, **35**: 275-283.
241. Maskan, M., 2006. Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: Colour degradation and kinetics. **Journal of Food Engineering**, **72** (3): 218-224.
242. Perez-Vicente, A., Serrano, P., Abellan, P., Garcia-Viguera, C., 2004. Influence of packaging material on pomegranate juice color and bioactive compounds, during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **84**: 639–644.
243. Piljak-Zegarac, Valek, L., Martinez, S., Belscak, A., 2009. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. **Food Chemistry**, **113**: 394-400.
244. Mozetic, B., Trebse, Simcic, M., Hribarb, J., 2004. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, **37**, 123–128.
245. Marti, N., Perez-Vicente, A., Garcia-Viguera, C., 2002. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **82** (2): 217-221.
246. Kaçar, A., Şahan, N., 2004. Yağ ikame maddeleri kullanılarak üretilen enerjisi azaltılmış dondurmaların kimyasal özellikleri. **Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **8** (1): 7-13.

247. Çelik, Ş., Cankurt, H., Doğan, C., 2010. Safran ilavesinin sade dondurmanın bazı özelliklerine etkisi. **Gıda**, **35** (1): 33-39.
248. Akyüz, N., Andiç., S., 1992. Van ilinde üretilen dondurmaların duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fak. Dergisi**, **2** (2): 13-28.
249. Yeşilsu, A. F., 2006. Dondurmanın Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Bazı Pekmez Çeşitlerinin Etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 88 s.
250. Karaman, S., 2009. Çay veya Bazı Bitki Çayları ile Aromatize Edilmiş Dondurma Üretim Olanaklarının Araştırılması. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 86 s.
251. Or, F., 2009. Kahramanmaraş'ta Üretilen Maraş Usulü Dondurmaların Mikrobiyolojik Kalitelerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 46 s.
252. Evrensel, S., Güneş, E., 1998. Bursa'da tüketilen dondurmaların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. **Gıda**, **23** (4): 261-265.
253. Mayadalı, Y., 2004. Farklı Oranda Emülgatör ve Stabilizatör Kullanımının Enerjisi Azaltılmış Dondurma Niteliklerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 52 s.
254. Dervişoğlu, M., Yazıcı, F., 2001. Kolalı dondurma üretimi. **The Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **25**: 283-289.
255. Bordignon-Luiz, M.T., Gauche, C., Gris, E.F., Falcao, L.D., 2007. Colour stability of anthocyanins from Isabel grapes (*Vitis labrusca* L.) in model systems. **LWT-Food Science and Technology**, **40**: 594-599.
256. Oh, H., Hoff, J.E., Armstrong, G.S., Haff, L.A., 1980. Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, **28**: 394-398.
257. Hagerman, A.E., Butler, L.G., 1981. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. **The Journal of Biological Chemistry**, **256** (9): 4444-4497.
258. Bartolome, B., Estrella, I., Hernandez, M. T., 2000. Interaction of low molecular weight phenolics with proteins (BSA). **Journal of Food Science**, **65** (4): 617-621.

259. Heinonen, M., Rein, D., Satue-Gracia, M.T., Huang, S.W., German, J.B., Frankel, E.N., 1998. Effect of protein on the antioxidant activity of phenolic compounds in a lecithin-liposome oxidation system. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, **46**: 917-922.
260. Dervişoğlu, M., Yazıcı, F., Aydemir, O., 2005. The effect of soy protein concentration on the physical, chemical and sensory properties of strawberry flavored ice cream. **European Food Research and Technology**, **221**: 446-470.
261. Aliyev, C., 2006. Kefir ve Yaban Mersininin Dondurmanın Fizikokimyasal, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkisi. On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Samsun.
262. İpek, D., Zorba, N.N., 2008. Türk lokumuna uygulanan farklı ambalajlama tekniklerinin mikrobiyolojik kalitesine etkileri. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi**, **1**: 1-6.
263. Nizamlıoğlu, M., Doğruer, Gürbüz, Ü., 1998. Çeşitli çemen karışımlarının pastırma kalitesine etkisi I, kimyasal ve duyuşal nitelikler. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, **22**: 299-308.
264. Doğruer, Y. , Nizamlıoğlu, M., Gürbüz, Ü., Kayaardı, S., 1998. Çeşitli çemen karışımlarının pastırma kalitesine etkisi II: Mikrobiyolojik nitelikler. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, **22**: 221-229.
265. Kök, I. 1985. Pastırmanın imalatında kullanılan çemen (*Trigonella foenum graecum*) hamurunun geliştirilmesi, standardizasyonu üzerinde araştırmalar. **Doğa Bilim Dergisi**, **D1, 9** (3): 241-248.
266. Demirer, M.A., 1972. Pastırma çemenlerinde boya araştırmaları. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, **19**: 106-116.
267. Kammerer, D.R., Schillmöller, S., Maier, O., Schieber, A., 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.
268. Topuz, A., Feng, H., Kushad, M., 2009. The effect of drying method and storage on color characteristics of paprika. **LWT - Food Science and Technology**, **42** (10): 1667-1673.

269. Duman, A.D., 2010. Storage of red chili pepper under hermetically sealed or vacuum conditions for preservation of its quality and prevention of mycotoxin occurrence. **Journal of Stored Products Research**, **46**: 155-160.
270. Barreiro, J.A., Milano, M., Sandoval, A. J., 1997. Kinetics of colour change of double concentrated tomato paste during thermal treatment. **Journal of Food Engineering**, **33** (3-4): 359-371.
271. Liu, F., Cao, X., Wang, H., Liao, X., 2010. Changes of tomato powder qualities during storage. **Powder Technology**, **204** (1): 159-166.
272. Altuğ, T. 2006. Gıda Katkı Maddeleri, Sidas Medya, 3. Baskı, İzmir, 268 s.
273. Anonymous, 2010. (Web Adresi: <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/scdoc/1328.htm>). (Erişim Tarihi: Ekim 2010).
274. Ibero, M., Eseverri, J.L., Barroso, C., Botey, J., 1982. Dyes, preservatives and salicylates in the induction of food intolerance and/or hypersensitivity in children. **Allergol Immunopathol (Madr)**, **10** (4): 263–8.
275. McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J.O., Stevenson, J., 2007. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **Lancet**, **370** (9598): 1560–7.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Lütfiye EKİCİ
 Uyruğu: Türkiye (TC)
 Doğum Tarihi ve Yeri: 1978, Kayseri
 Medeni Durumu: Evli
 Tel: +90 352 437 49 01-32727
 Fax: +90 352 437 57 85
 email: lutfiyed@erciyes.edu.tr
 Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği
 Bölümü 38039, Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü	2005
Lisans	Pamukkale Üniv. Müh. Fak. Gıda Müh. Bölümü	2000
Lise	Melikgazi Lisesi, Kayseri	1996

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2005-	Erciyes Üniv.Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.	Araş. Gör.
2002-2005	Ankara Üniv. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.	Araş. Gör.
2001–2002	Erciyes Üniv. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.	Araş. Gör.

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

SCI, SSCI, AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- 2011, Sagdic, O., Ozturk, I., Ozkan, G., Yetim, H., Ekici, L., Yilmaz, M.T., RP-HPLC-DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. Food Chemistry, 126, 1749-1758.
- 2011, Sagdic, O., Silici, S., Ekici, L., Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activity of different floral sources of honey, International Journal of Food Properties, in press.

- 2011, Yetim, H., Sarioglu, K., Ekici, L., Ozturk, I., Sagdic, O., Some characteristics of meats from the chickens fed with *Lamiaceae* spices: Proximate composition, lipid oxidation, color and sensory properties. *Archiv für Lebensmittelhygiene (Journal of Food Safety and Food Quality)*, 62, 58-64.
- 2010, Sağdıç, O., Öztürk, I., Ekici, L., Şimşek, H., Yetim, H., Die Antioxidativen, Antiradikalen und Antimikrobiellen Aktivitäten der Extrakte vom Kern und der Schale des Granatapfels, *Ernährung/Nutrition*, 34 (9), 376-379.
- 2010, Silici, S., Sagdic, O., Ekici, L., Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys, *Food Chemistry*, 121 (1), 238-243.
- 2010, Ozturk, I., Sahan, S., Sahin, U., Ekici, L., Sagdic, O., Bioactivity and mineral contents of wild-grown edible *Morchella conica* in the Mediterranean Region, *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5, 453-457
- 2010, Ozturk I., Ekici L., Yetim H., Sagdic O. 2010. Antioxidative, antiradikale und antimikrobielle Aktivitäten des Fruchthüllen-Extrakts von frischen Antep-Pistazien, *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5, 163-167.
- 2009, Tulukcu E., Sagdic O., Albayrak S., Ekici L., Yetim H., Effect of collection time on biological activity of Clary sage (*Salvia sclarea*), *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 83, 44-49.
- 2009, Ekici, L., Karacan, S., Velioglu, Y.S., Optimization of HMF formation in white and red grape juice concentrates stored in various laminated films using response surface methodology, *Journal of Food Processing and Preservation*, 33, 313-328.
- 2008, Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Ekici, L., Albayrak, S., Biological activities of the extracts of two endemic *Sideritis* species in Turkey, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 80-84.
- 2008, Albayrak, S., Aksoy, A., Hanizaoglu, E., Ekici, L., Budak, U., Antimicrobial and antioxidant activities of *Senecio* species growing in the Black Sea region, Turkey. *Acta Botanica Gallica*, 155 (3), 447-456.
- 2007, Özkan, G., Sağdıç, O., Ekici, L., Ozturk, I., Özcan, M., Phenolic compounds of Turkish endemic *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities, *Journal of Food Lipids*, 14, 157-169.

2006, Velioglu, S., Ekici, L., Poyrazoglu, E. S., Phenolic composition and astringency removal of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) juice, International Journal of Food Science and Technology, 41, 1011-1015.

Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- 2008, Sağdıç, O., Ekici, L., Serbest radikaller ve antioksidan gıdalarla inhibisyonu, Gıda Dergisi, 33 (5), 251-260.
- 2008, Ekici, L., Telli, R., Yetim, H., Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyon bakterileri-I, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2, 29-42.
- 2008, Telli, R., Ekici, L., Yetim, H., Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyon bakterileri-II. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 3, 31-39.
- 2007, Ekici, L., Ercoşkun, H., Et ürünlerinde diyet lif kullanımı. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 1, 83-90.
- 2006, Ekici, L., Sağdıç, O., Kesmen, Z., Gıda endüstrisinde alternatif bir dezenfektan: Ozon. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 1, 53-63.
- 2005, Sağdıç, O., L. Ekici, Üzüm (*Vitis vinifera*) çekirdeğinin fenolik bileşikleri ve biyoaktif özellikleri, Hasad Gıda, 21 (244), 30-34.
- 2004, Ekici, L., Velioglu, S., Bazı gıdalarda doğal acılığın ve burukluğun azaltılma yöntemleri. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5(2), 213-222.
- 2003, Ekici, L. and Velioglu, S., Gilaburu ve sağlık. Cıneterım, 46, 38-39.

Hakemli Konferans/Sempozyumların Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

Uluslararası Kongre ve Sempozyumlar

- 2010, Yetim, H., Ekici, L., Şimsek, Z., Sağdıç, O., The effect of anthocyanin based extracts on the color of cemen paste used on pastırma, a dry cured meat product. 56th Int. Cong. of Meat Sci. and Technol. 15-20 Aug. 2010 Jeju, Korea, pp. 217.
- 2010, Karaman, K., Polat, B., Ozturk, I., Ekici, L., Sağdıç, O., Biological activity of menengic (*Pistacia terebinthus* L), traditional Turkish snack food and coffee 1. International Symposium Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, Proceedings Book, page:648-649, 15-17 May 2010, Tekirdağ, Turkey.

- 2009, Yetim H., Ekici L., Sarioglu K., Ozturk I., Sagdic O., The fatty acid composition and volatile aroma compounds of the chicken muscles fed with thyme, 23-24 October 2009, Plovdiv-Bulgaria.
- 2008, Sagdic, O., Ozturk, I., Ekici, L., Yetim, H., Antioxidative, antiradikale und antimikrobielle Eigenschaften von Granatapfel-Kernextract und Granatapfel-Schalenextract, 10. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, Poster No: P25, 9-11. April, Stuttgart.
- 2008, Yetim, H., Ozturk, I., Ekici, L., Sagdic, O., Antioxidative, antiradikale und antimikrobielle aktivitäten des auBereren rindeextrakts von frischen Antep-pistazien, 10. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, Poster No: P24, 9-11. April, Stuttgart.
- 2008, Sagdic, O., Ozturk, I., Ekici, L., Yetim, H., Antioxidative, antiradikale und antimikrobielle eigenschaften von granatapfel-kernextract und granatapfel-schalenextract, 10. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, Poster No: P25, 9-11. April, Stuttgart.
- 2008, Sagdic, O., Ozturk, I., Ekici, L., Yetim, H., Antioxidative, antiradikale und antimikrobielle Eigenschaften von Granatapfel-Kernextract und Granatapfel-Schalenextract, 10. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, Poster No: P25, 9-11. April, Stuttgart.
- 2008, Yetim H., Sağdıç O., Ekici L., Ockerman, H.W., The fatty acid composition of chicken muscles fed with thyme. 54rd Int. Cong. of Meat Sci. and Technol. 10-15 Aug. 2008 Cape Town, South Africa pp. 79.
- 2007, Silici, S., O. Sagdic, O., Ekici, L., Biological activity of rhododendron honeys, 2nd International Congress on Food and Nutrition, Book of Abstracts, Poster No: 82, page 129, 24-26 October, İstanbul.
- 2007, Yetim, H., Sagdic, O., Ekici, L., Compositions of the essential oils of *Origanum onites*, *Satureja hortensis* and *Thymbra spicata* grown in Turkey, 30th International Symposium on Essential Oils, Book of Abstract, Poster No: 156, page 221, 9-12 September, Graz-Austria.
- 2006, Sagdic, O., Aksoy, A., Ozkan, G., Ekici, L., Biological activity of the extract of *Sideritis ozturkii*, Turkish endemic mountain tea, International Congress on

Bioprocesses in Food Industries (ICBF), Congress Proceedings, page 206, University of Patras, 18 – 21 June, Rio – Patras, Greece.

2005, Ekici, L., Velioglu, Y.S., Poyrazoglu, E.S., HMF Formation in grape juice concentrate packaged in various polymer films. International workshop on Agro-processing techniques of fruits and vegetables for income generation. 28-30 March, Dhaka, Bangladesh.

2005, Sagdic, O., Ekici, L., Oral, R.A., Yetim, H., Bioactivities and human health effects of flavonoids and some other phenolic compounds, ITAFE 2005 Information Technology in Agriculture, Food & Environment, Proceedings Volume II, page 869-874, 12-14 October, Adana, Turkey.

Ulusal Kongre ve Sempozyumlar

2009, Öztürk, İ., Sağdıç, O., Şimşek, Z., Ekici, L. 2009. "Bitkisel doğal ajanların gıdaların muhafazasında kullanımı", 3. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Poster no:4, sayfa 143-148. 14-16 Mayıs 2009, Bursa.

2008, Ekici L., Öztürk, İ., Sağdıç, O., Yetim, H., Kekik uçucu yağı ilavesinin kuşbaşı etler ve bonfilenin bazı özelliklerine etkisi, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Poster No:23, Sayfa No: 557-560, 21-23 Mayıs, Erzurum, 2008.

2008, Sağdıç O., Ekici L., Yetim, H., Gıdaların muhafazasında yeni mikrobiyal inaktivasyon metotları, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Poster No:39, Sayfa No: 949-952, 21-23 Mayıs, Erzurum.

Yaptığı Tezler

2005, Yüksek Lisans, "Farklı Polimer Filmlerde Ambalajlanan Üzüm Suyu Konsantresinde HMF Oluşumu", Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.