

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN PROFİLİ
VE ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ**

İrem DAMAR

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA

2010

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Vişne suyunun antosiyanin profili ve antioksidan kapasitesi

İrem DAMAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aziz EKŞİ

Bu araştırma, vişne suyunun antosiyanin profili ve antioksidan kapasitesi ile durultma, filtrasyon ve evaporasyon işlemleri sırasındaki değişimin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Araştırma materyali olarak Türkiye'deki başlıca yetiştirme yörelerinden sağlanan 11 farklı vişne çeşidinden elde edilen 11 farklı vişne suyu örneğinin analizi yapılmıştır. Belirlenen başlıca özellikler; toplam fenolik madde, monomerik antosiyanin, antosiyanin degradasyon indeksi, antosiyanin profili, antioksidan kapasite ve ayrıca briks derecesi, pH değeri, titrasyon asitliği ve renk (L, a, b) değerleridir.

Sonuçlara göre; vişne suyu örneklerinin briks derecesi, pH değeri ve titrasyon asitliği sırası ile 15.97-26.33 ve 2.84-3.16 ve %1.64-2.3 (malik asit olarak) arasında değişmektedir. Rengi tanımlayan sisteme göre, L, a ve b için ortalama değerler sırası ile 19.52, +2.49 ve - 0.59 'dur. Antioksidan kapasite ve toplam fenolik miktarı sırası ile 20.0-37.9 TEAC mmol/L ve 1510-2550 mg/L, monomerik antosiyanin miktarı ile degradasyon indeksi ise sırası ile 350-633.5 mg/L ve %9.5-32.9 arasında bulunmaktadır.

Antioksidan kapasite ile toplam fenolik madde arasındaki korelasyon istatistik olarak önemli ($r=0.738$, $p<0.01$), antioksidan kapasite ile monomerik antosiyanin miktarı ve degradasyon indeksi arasındaki korelasyonlar ise önemli değildir ($p>0.05$). İşlemeye ilişkin olarak ise; degradasyon indeksinde durultma ve evaporasyon ($p<0.01$), toplam fenolik miktarında ise evaporasyon basamağındaki değişimler istatistik olarak önemli ($p<0.05$), buna karşılık diğer değişimler önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

HPLC kromatogramındaki başlıca antosiyanin fraksiyonları siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-rutinozit, siyanidin-3-soforozit ve siyanidin-3-glukozit olarak tanımlanmıştır. Bulgulara göre vişne suyundaki başat antosiyanin, miktarı 140.3-320.8 mg/L ve toplam antosiyanindeki payı %63.7-75.4 arasında değişen siyanidin-3-glukozitrutinozittir.

Ocak 2010, 72 sayfa

Anahtar Kelimeler: Vişne suyu, antosiyanin, antioksidan kapasite, degradasyon indeksi

ABSTRACT

Master Thesis

Irem DAMAR

Anthocyanin profile and antioxidant capacity of sour cherry juice

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

Supervisor: Prof. Dr. Aziz EKSI

This study was conducted to determine the anthocyanins profile and antioxidant capacity of sour cherry juice and their changes during clarification, filtration and evaporation processes. As research material, 11 different sour cherry juice samples obtained from different sour cherry types, which were collected from main producing regions in Turkey. The analytical properties analysed in juice samples are total phenolics, monomeric anthocyanins, degradation index, anthocyanins profile, antioxidant capacity, brix degree, pH value, titratable acidity and colour (L, a, b) values.

According to the results; brix degree, pH value and titratable acidity in sour cherry juice samples were changed between 15.97-26.33, 2.84-3.16 and %1.64-2.3 respectively. The mean values of L, a and b were measured as 19.52, +2.49 and -0.59. While antioxidant capacity and total phenolic were found between 20.0-37.9 TEAC mmol/L and 1510-2550 mg/L, monomeric anthocyanins content and degradation index were changed between 350-633.5 mg/L and 9.5-32.9% respectively.

While a significant correlation between antioxidant activity and total phenolic content was found ($r= 0.738$, $p<0.01$), the correlations of antioxidant capacity with monomeric anthocyanins content and degradation index were not significant statistically ($p>0.05$).

Regarding the changes during processing; only the changes of degradation index at clarification and evaporation and changes of total phenolic content at evaporation steps were found significant ($p<0.01$), but the other changes were not important statistically ($p>0.05$).

The anthocyanins peaks on HPLC-chromatogrammes were identified as cyanidin-3-glucosylrutinoside, cyanidin-3-rutinoside, cyanidin-3-sophoroside and cyanidin-3-glucoside. According the results, the pre-dominant anthocyanins of sour cherry juice was cyanidin-3-glucosylrutinoside which was found between 140.3-320.8 mg/L and consisted of %63.7-75.4 of the total anthocyanins.

January 2010, 72 pages

Key Words: Sour cherry juice, anthocyanins, antioxidant capacity, degradation index

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, eksilmeyen hoşgörüsü ile desteğini her zaman hissettiğim sevgili hocam sayın Prof. Dr. Aziz EKŞİ' ye (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı)

Eğitim hayatım boyunca bilgi ve tecrübelerinin yanı sıra manevi desteğini benimle her zaman paylaşan ve hep yanımda olan sevgili hocam sayın Prof. Dr. Kamuran AYHAN' a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı)

Tez çalışmam süresince yanımda olan, fikirlerini benimle paylaşan, yardımlarıyla bana destek olan başta Emel OĞRAŞICI olmak üzere diğer çalışma arkadaşlarıma,

Bu araştırmaya, 1080610 hızlı destek projesi kapsamında destek sağlayan ve bu nedenle bursiyeri olduğum Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu' na,

HPLC analizlerinin yürütülmesinde yardımı olan GÖKNUR A.Ş./Niğde firmasına,

Var olmamın ve bugünlere ulaşmamın sebebi, tükenmeyen sevgi ve destekleriyle yaşama gücümün kaynağı olan sevgili AİLEME,

Sonsuz teşekkürler...

İrem DAMAR

Ankara , Şubat 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Antosiyaninlerin Yapısı	4
2.2 Antosiyaninlerin Stabilitesi.....	7
2.2.1 Kimyasal yapı.....	7
2.2.2 Kopigment varlığı.....	8
2.2.3 Metal iyonu.....	8
2.2.4 pH değeri.....	9
2.2.5 Sıcaklık derecesi.....	10
2.2.6 Enzim varlığı.....	11
2.3 Vişne Antosiyaninleri.....	11
2.4 Vişne Antosiyaninlerinin Sağlık Üzerine Etkisi.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Materyal	18
3.1.1 Vişne Meyvesi.....	18
3.1.2 Vişne Suyu.....	19
3.2 Yöntem	20
3.2.1 Pomolojik özelliklerin belirlenmesi	20
3.2.2 Meyve suyu veriminin belirlenmesi.....	21
3.2.3 Çözünür katı madde (briks) tayini.....	21
3.2.4 pH değeri tayini.....	21
3.2.5 Titrasyon asitliği tayini.....	21
3.2.6 Renk ölçümü.....	21
3.2.7 Toplam monomerik antosiyanin tayini.....	22
3.2.8 Antosiyanin degradasyon indeksi tayini.....	25
3.2.9 Toplam antioksidan kapasite tayini.....	28
3.2.10 Toplam fenolik madde tayini.....	31
3.2.11 Antosiyanin profilinin belirlenmesi.....	34

3.2.12 İstatistik değerlendirme.....	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	37
4.1 Vişne Meyvesi ve Vişne Suyunun Genel Özellikleri.....	37
4.1.1 Vişne meyvesinin genel özellikleri.....	37
4.1.2 Vişne suyunun genel özellikleri.....	38
4.2 Vişne Suyunun Antosiyanin ve Fenolik Düzeyi ile Antioksidan Kapasitesi....	40
4.2.1 Antosiyanin ve fenolik miktarı ile antioksidan kapasite.....	40
4.2.2 Antioksidan kapasite ile antosiyanin ve fenolik madde arasındaki korelasyon.....	42
4.2.3 Vişne suyunun antosiyanin profili.....	42
4.3 Vişne Suyunda Antosiyanin Miktarı Ve Antioksidan Kapasitenin Bazı Proseslerden Etkilenmesi.....	45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR	52
EKLER.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	72

SİMGELER DİZİNİ

Abs	Absorbans
ABTS	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
ABTS ^{*+}	ABTS radikali
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (Commission Internationale de L.Eclairage)
COX I,II	Siklooksigenaz enzimi
CV	Varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation)
Cya-3-soph	Siyanidin-3-soforozit (Cyanidin-3-sophoroside)
Cya-3-glurut	Siyanidin-3-glikozilrutinozit (Cyanidin-3-glucosylrutinoside)
Cya-3-glu	Siyanidin-3-glukozit (Cyanidin-3-glucoside)
Cya-3-rut	Siyanidin-3-rutinozit (Cyanidin-3-rutinoside)
DNA	Deoksiribonükleik asit (Deoxyribonucleic acid)
E	Molar absorbans
HPLC	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)
IFU	Uluslar arası meyve suyu üreticileri federasyonu (International Federation of Fruit Juice Producers)
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein (Low density lipoprotein)
MW	Molekül ağırlığı (Molecule weight)
ROS	Reaktif oksijen formları (Reactive Oxygen Species)
Sx	Standart hata (Standart error of mean)
TA	Titrasyon asitliği
TEAC	Troloks esdeger antioksidan kapasite (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
TROLOX	6-Hidroks-2,5,7,8-tetrametilkroman-2 karboik asit
UV	Ultraviöle (Ultraviyölet)
X	Ortalama
λ_{max}	Maksimum absorbans dalga boyu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Vişne üreten başlıca ülkeler.....	1
Şekil 2.1	Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları ve yapıya bağlanan gruplar.....	5
Şekil 2.2	Antosiyanidinlere şeker bağlanması	6
Şekil 2.3	Siyanidin-3-glukozit yapısı.....	6
Şekil 2.4	Antosiyaninlerin pH' ya bağlı kimyasal yapıları.....	9
Şekil 2.5	Siyanidin-3-glukozilrutinozit ve siyanidin-3-rutinozit.....	13
Şekil 2.6	Melatoninin vücudu kanserden korumaya yönelik etkileri.....	17
Şekil 3.1	Tokat' tan vişne ve elde dilen meyve suyu örneği.....	19
Şekil 3.2	Vişne suyuna uygulanan işlemler ve örnek alma noktaları.....	19
Şekil 3.3	Antosiyaninlerin farklı pH' lardaki kimyasal yapıları.....	22
Şekil 3.4	Standart trolox eğrisi.....	31
Şekil 3.5	Standart kateşin eğrisi.....	33
Şekil 4.1	Yalova çeşidi vişne suyunun HPLC antosiyanin kromatogramı.....	43
Şekil 4.2	Farklı proses basamaklarında vişne suyundaki monomerik antosiyanin miktarı.....	47
Şekil 4.3	Farklı proses basamaklarında vişne suyunda antosiyanin degradasyon indeksi.....	47
Şekil 4.4	Farklı proses basamaklarında vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarı.....	48
Şekil 4.5	Farklı proses basamaklarında vişne suyunun antioksidan kapasitesi.....	48

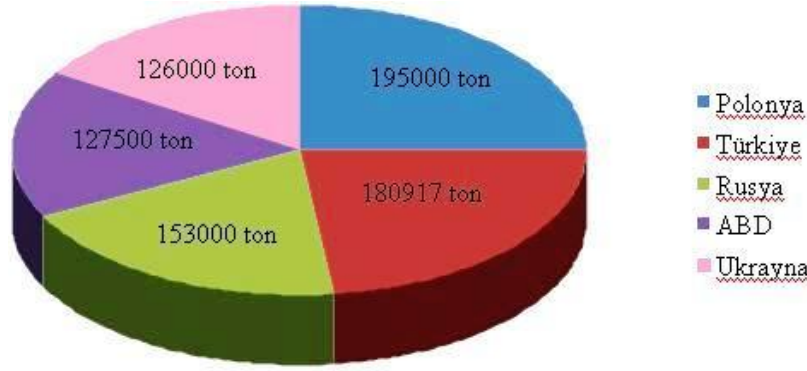
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1	Türkiye’ de yıllara göre vişne üretimi.....	2
Çizelge 3.1	Vişne meyvesi örneklerine ilişkin bilgiler.....	18
Çizelge 3.2	Antosiyaninler için uygulanan elüasyon profili.....	35
Çizelge 4.1	Vişne meyvesi örneklerinin bazı pomolojik özellikleri.....	38
Çizelge 4.2	Vişne suyunun pomolojik özelliklerine ilişkin deskriptif değerler.....	38
Çizelge 4.3	Vişne suyu örneklerinin analitik özelliklerine ilişkin analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.4	Vişne suyunun analitik özelliklerine ilişkin deskriptif değerler...	39
Çizelge 4.5	Vişne suyu örneklerinin renk (L, a, b) değerleri.....	40
Çizelge 4.6	Vişne suyunun renk ölçümlerine ilişkin deskriptif değerler.....	40
Çizelge 4.7	Vişne suyu örneklerinin analitik özelliklerine ilişkin analiz sonuçları.....	41
Çizelge 4.8	Vişne suyunun analitik özelliklerine ilişkin deskriptif değerler...	41
Çizelge 4.9	Vişne suyunda antioksidan kapasite ile monomerik antosiyanin ve degradasyon indeksi arasındaki korelasyon.....	42
Çizelge 4.10	HPLC kromatogramındaki başlıca antosiyanin fraksiyonları.....	43
Çizelge 4.11	Vişne suyu örneklerinin antosiyanin miktarları (mg/L).....	44
Çizelge 4.12	Vişne suyunda antosiyanin dağılımı.....	44
Çizelge 4.13	Vişne sularının analitik özelliklerinin proses basamakları arasındaki değişiminin istatistik analizi.....	46

1. GİRİŞ

Vişne (*Prunus cerasus L.*), anavatanı Kuzeydoğu Anadolu olan gülgiller familyasından bir meyve türüdür. Botanikteki adı olan *P. cerasus*, Giresun' un eski adı olan Kerasus' tan gelmektedir. Kendine özgü ekşimsi tadı, koyu kırmızı rengi ve kendine özgü lezzeti ile yaz aylarının vazgeçilmez meyveleri arasında yerini almaktadır (Anonymous 2008).

Dünya vişne üretiminde 195 000 ton ile Polonya birinci sırayı, 180 917 tonluk üretimle Türkiye ikinci sırayı ve 153 000 ton ile Rusya üçüncü sırayı almaktadır. Bu ülkeleri sırası ile Amerika Birleşik Devletleri ve Ukrayna izlemektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Vişne üreten başlıca ülkeler (Anonymous 2007)

Türkiye' nin 2000 yılında 106 000 ton olan vişne üretimi, 2008 yılında 7.708.314 toplam ağaç sayısı ile 185 435 tona ulaşmış ve böylece son sekiz yıllık dönemde yaklaşık %75 artış sağlanmıştır (Çizelge 1.1).

Vişne farklı şekillerde değerlendirilmekte ve tüketilmektedir. Taze olarak tüketildiği gibi dondurularak ve kurularak muhafaza edilmekte, konserve ve reçele işlenmekte, ayrıca doğal renklendirici ve fonksiyonel gıda katkısı olarak da kullanılmaktadır (Anonymous 2008).

Vişnenin en yaygın değerlendirme şekli ise meyve suyuna işlenmesidir. Bunun nedeni; meyve suyu randımanının yüksek, toplam asitliğin yeterli ve renginin çekici olmasıdır (Anonymous 2008). Vişne üretimi artışını sağlayan başlıca itici güç de esasen meyve

suyu sektörüdür. Öyleki, 2007 yılında vişne üretiminin yaklaşık %43' ü meyve suyuna işlenmiştir.

Çizelge 1.1 Türkiye' de yıllara göre vişne üretimi (Anonymous 2008)

Yıl	Meyve Veren Yaşta Ağaç Sayısı	Meyve Vermeyen Yaşta Ağaç Sayısı	Toplam Ağaç Sayısı	Üretim (Ton)
2000	4.160.000	1.950.000	6.110.000	106.000
2001	4.400.000	2.250.000	6.650.000	120.000
2002	4.650.000	2.200.000	6.850.000	100.000
2003	4.900.000	2.170.000	7.070.000	145.000
2004	5.000.000	2.150.000	7.150.000	138.000
2005	5.150.000	2.044.000	7.194.000	140.000
2006	5.213.959	2.462.976	7.676.935	121.499
2007	5.846.431	1.803.572	7.650.003	180.917
2008	5.944.032	1.764.282	7.708.314	185.435

Ekşiliği nedeni ile vişneden %100 meyve suyu yerine daha çok meyve nektarı işlenmektedir ve vişne nektarı Türkiye'de en çok sevilen içeceklerden biridir. Türkiye'nin 2007 yılı toplam meyve suyu vb. içecek tüketimi 710 milyon litredir ve bunun 502 milyon litresi (yaklaşık %70' i) meyve nektarıdır. Meyve nektarı tüketiminde şeftali %35.6 payla birinci sırayı alırken, vişne nektarı da %23.5 payla ikinci sırayı almaktadır (Ekşi ve Akdağ 2008).

Ancak dünya ölçeğinde vişne suyuna duyulan ilgi oldukça düşüktür. Bunun başlıca nedeni, vişnenin yeterince tanınmaması ve vişne suyunun özellikle beslenme açısından öneminin ve insan sağlığı üzerine olan olumlu etkilerinin bilinmemesidir. Öyleki; yaban mersini, siyah üzüm, mavi yemiş, açai gibi çok sayıda meyve suyunun antosiyanin içeriği ve antioksidanca zenginliğinden söz edilirken (Borowska vd. 2005, Mac Donald 2005) vişnenin adı bile geçmemektedir.

Vişne suyu hakkında çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunların bir kısmı, vişne suyunun genel kimyasal bileşimi ve değişkenliğinin belirlenmesine yöneliktir (Ekşi vd. 1980, Erbaş 1981, Toht-Marcus vd. 1993, Velioğlu ve Yıldız 1996). Bir kısmı vişnenin içerdiği antosiyaninlerin rengi ve stabilitesi ile ilgilidir (Cemeroğlu vd. 1994, Will ve

Dietrich 2006, Bonerz vd. 2007). Dięer bir kısmı (Meyer 1999, Kang vd. 2003, Borowska vd. 2005, Ataie-Jafari vd. 2008) ise antosiyaninlerin renkten öte antioksidan aktivite nedeni ile sağlıklı beslenme ve hastalıklardan korunma açısından da önemli olduğunu göstermektedir. Bu olgu; vişnenin fenolik bileşenleri ve özellikle antosiyaninleri konusundaki araştırma (Wang vd. 1997, Wang vd. 1999, Burkhardt vd. 2001, Kim vd. 2005, Šimunić vd. 2005, Kirakosyan vd. 2009) sayısında hızlı bir artışa yol açmıştır.

Her meyve gibi vişnenin de kendine özgü bir antosiyanin dağılımı vardır ve vişnenin rengi gibi antioksidan kapasitesi büyük ölçüde bu bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Dolayısı ile, gerek kalite ve gerekse sağlık açısından bu bileşiklerin olabildiğince korunması gereklidir. Ancak bu bileşiklerin proses ve depolama sırasında hızlıca form değiştirerek biyoyararlılığın ve biyoaktivitenin azalması söz konusudur (Bonerz vd. 1997, Kirakosyan vd. 2009). Bu nedenle, uygulanan proseslerden antosiyaninlerin etkilenip etkilenmediğinin ortaya konulması ve koşulların buna göre belirlenmesi oldukça önemlidir.

Antosiyaninlerin bir diğer önemi de, bir meyve suyunda başka bir meyve suyu katkısının kanıtlanması açısından parmak izi işlevi görmesidir (Koswig 2008). Başka meyve suyu katkısının kanıtlanması açısından sorbitol miktarı da önemlidir (Türkmen 2008).

Bu araştırmanın amacı; vişne suyunda doğal antosiyanin düzeyi ve dağılımı ile antioksidan kapasitenin ve işleme sırasındaki değişmelerin belirlenmesi, fenolik ve antosiyanin düzeyi ile antioksidan kapasite arasındaki ilişkinin ortaya konulması ve böylece kalitenin korunmasına ve gerçeklik kontrolüne katkıda bulunulmasıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Antosiyaninlerin Yapısı

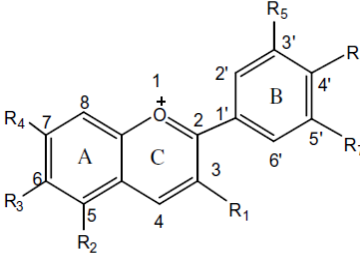
Antosiyanin, Yunancadaki çiçek (anthos) ve mavi (kianos) kelimelerinden türeyen bir kavramdır (Mazza ve Miniati 1993, Castañeda-Ovando vd. 2009) ve bitkilerin meyve, çiçek, yaprak, kök gibi organlarında bulunan, bitkiye kendine özgü pembe, kırmızı, mor ve maviye kadar geniş bir aralıktaki rengini veren ve suda çözünen doğal pigment grubunun adıdır (Chandra vd. 2001, Blando vd. 2004).

Flavilyum ya da 2- fenilbenzopirilyum tuzlarının polihidroksi ve polimetoksi türevleri olan antosiyaninler fenolik bileşiklerin flavonoid grubunda yer almaktadır. Kimyasal olarak glikozit yapıdadırlar. Glikozidin aglikon kısmına genel olarak antosiyanidin denilmektedir ve antosiyanidinlere farklı sakkaritlerin glikozidik olarak bağlanması ile farklı antosiyaninler oluşmaktadır (Mazza ve Miniati 1993).

Antosiyanidinler, bitkilerde genellikle serbest formda değil şekerler ile oluşturduğu glikozit ya da antosiyanin formunda bulunurlar (Clifford 2000). Doğada 23 adet antosiyanidin bulunmasına (Castañeda-Ovando vd. 2009) karşılık; moleküldeki hidroksil grubu sayısına, hidroksil gruplarının metilasyon derecesine, moleküle bağlanan şeker sayısına ve şekerin bağlanma pozisyonuna, ayrıca moleküldeki şeker bağlanan alifatik ve aromatik asitlerin yapısına ve sayısına bağlı olarak (Mazza ve Miniati 1993) birbirinden farklı 500' den fazla antosiyanin oluşmaktadır (Castañeda-Ovando vd. 2009).

Genel olarak bitkilerde yaygın olarak rastlanılan antosiyanidinler; pelargodin (Pg), siyanidin (Cy), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv)' dir ve karbon iskeletleri C₆-C₃-C₆ şeklindedir (Clifford 2000). Meyve ve sebzelerde en yaygın bulunan antosiyanidin %50 oranı ile Cy'dir. Dp, Pg ve Pn %12, Pt ve Mv ise %7 oranında bulunmaktadır. Antosiyanidinlerin kimyasal yapısında; aromatik A halkası, oksijen içeren heterosiklik C halkası ve C halkasına C-C bağı ile bağlanan aromatik B

halkası bulunmaktadır. Gıdalarda bulunan başlıca antosiyanidinlerin kimyasal yapısı ve yapıya bağlı gruplar Şekil 2.1’de verilmiştir (Castañeda-Ovando vd. 2009).

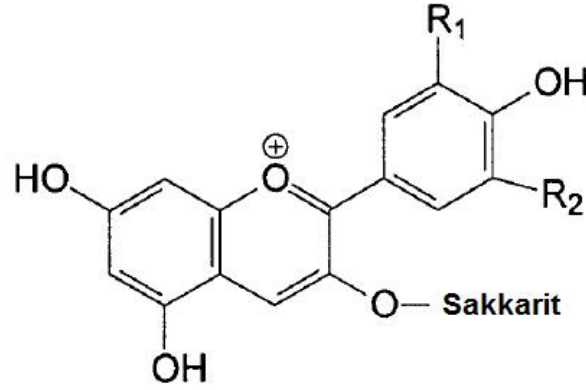
<p style="text-align: center;">Antosiyanidin</p> 	Bağlı Gruplar							Renk
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
Siyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu-kırmızı
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mavi-kırmızı
Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Mavi-kırmızı
Pelargodin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu-somon
Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Turuncu-kırmızı
Petunidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Mavi-kırmızı

Şekil 2.1 Antosiyanidinlerin kimyasal yapıları ve yapıya bağlanan gruplar (Castañeda-Ovando vd. 2009)

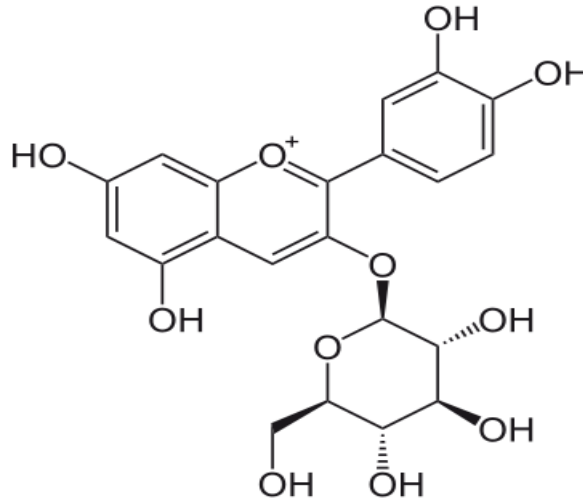
Antosiyanidinlere en yaygın bağlanan monosakkaritler glukoz, galaktoz, ramnoz ve arabinozdur. Bağlanma sonucunda genellikle 3-glikozit veya 3,5-diglikozit yapı oluşmaktadır. Rutinoz (6-O- α -L-ramnozil-D-glukoz), soforoz (2-O- β -D-glukozil-D-glukoz) ve sambubiyoz (2-O- β -D-ksilozil -D-glukoz) gibi şekerler ise 3,7-diglikozit ve 3-trioz yapı oluşturabilmektedir (Clifford 2000).

Antosiyaninler içerdikleri şeker molekülü sayısına göre de sınıflandırılmaktadır. Tek yönlü antosiyaninler yalnızca 3. pozisyonunda tek bir şeker molekülü içerirken, çift yönlü antosiyaninler 3. veya 5., bazen de 3. veya 7. pozisyonlarında iki şeker molekülü içerirler. Üç yönlü antosiyaninler ise 3 adet şeker içerirler. Genellikle bunlardan iki tanesi 3. pozisyonunda, bir tanesi de 5. pozisyonundadır. Bazen 3 şeker doğrusal olarak 3. pozisyonunda olabildiği gibi, iki tanesi 3. pozisyonunda, bir tanesi ise 7. pozisyonunda da olabilmektedir (Saldamlı vd. 2005). Sakkaritlerin antosiyanidinlere genel olarak bağlanma şekli Clifford’ a göre (2000) Şekil 2.2’de verilmiştir. Örneğin siyanidin 3. pozisyonuna bir glukoz molekülünün bağlanması ile, doğada en yaygın

olarak bulunan, kimyasal yapısı Şekil 2.3’de ki gibi gösterilen (Anonymous 2009), siyanidin 3-glukozit oluşmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004).



Şekil 2.2 Antosiyanidinlere şeker bağlanması (Clifford 2000)



Şekil 2.3 Siyanidin-3-glukozit yapısı (Anonymous 2009)

Antosiyanidinlere bağlanan bileşikler sadece şekerlerle sınırlı değildir. Bazen sinamik asitler (kafeik, p-kumarik, ferulik ve sinapik) veya alifatik asitler (asetik, malik, malonik, oksalik ve süksinik) de bağlanabilmektedir (Clifford 2000).

Bitki dokularında bulunan antosiyaninler; bitkinin genetik mirasına, büyümesi sırasındaki çevresel faktörlere, bitkinin maruz kaldığı stres koşullarına, kullanılabilir su miktarına ve topraktaki mineral ve organik bileşiklerin varlığı ve miktarına bağlı olarak

farklı konsantrasyonlarda sentezlenmektedirler. Ayrıca yetiştirme yılı ile olgunluk derecesi ve hasat sonrası depolama süresi ve sıcaklığı da meyvedeki antosiyanin miktarı üzerine etkilidir (Gonçalves vd. 2004).

2.2 Antosiyaninlerin Stabilitesi

Çok sayıda bitkide doğal ve yaygın olarak bulunmakla birlikte antosiyanin pigmentlerinin yapısı stabil değildir. Proses ve ticari depolama süresince maruz kaldıkları dış etkiler nedeniyle, renklerini kaybetme ve parçalanma eğilimindedir (Seeram vd. 2001). Buna karşılık, sağlık üzerine olumlu etkileri ve fonksiyonel özellikleri nedeni ile kullanım alanları artmaktadır. Son yıllarda antosiyaninlerin kimyasal stabilizasyonu hakkındaki araştırmaların sayısı da bu nedenle artmıştır (Castañeda-Ovando vd. 2009).

Genel olarak, antosiyaninlerin stabilitesi; kimyasal yapı, kopigment varlığı, pH değeri, sıcaklık derecesi, enzim (polifenol oksidaz ve peroksidaz) varlığı, metal iyonu gibi çok sayıda fiziksel ve kimyasal faktörden etkilenmektedir (Chandra vd. 1993, Cemeroglu vd. 1994).

2.2.1 Kimyasal yapı

Kimyasal yapı ile ilgili olarak; bağlı şekerin yer değiştirmesi, B halkasındaki metoksillenme (OCH₃) ve hidroksillenme (OH) derecesi ve açıl gruplarının varlığı pigment stabilitesini ve renk yoğunluğunu etkilemektedir (Guisti vd. 1999). Kimyasal yapıda meydana gelen metoksilasyon stabiliteyi arttırırken, hidroksilasyonun azaltmaktadır. Bu nedenle yüksek metoksilasyona sahip maldivin en kararlı, delfinidin ise yüksek hidroksilasyon özelliğinden dolayı en kararsız antosiyanidin olarak bildirilmektedir (Ersus ve Yurdagel 2006).

B halkasındaki hidroksil grubu arttıkça stabilitenin azalmasına ek olarak arttığında, antosiyanidinin maksimum dalga boyu daha yükseğe kaymakta ve rengi de değişmektedir. Örneğin % 0.01 HCl-MeOH çözeltisinde hidroksil sayısı diğerlerine

göre az olan pelargonidin maksimum absorbanans verdiği dalga boyu 520 nm ve rengi turuncu iken, hidroksil sayısı diğerlerine göre daha fazla olan delphinidin maksimum dalga boyu olan 545 nm ve rengi ise mavimsi kırmızıdır (Mazza ve Miniati 1993).

2.2.2 Kopigment varlığı

Antosiyaninlerle kompleks oluşturarak, stabil ve hatta farklı renkli bileşik oluşturan maddelere ‘‘kopigment’’ denir. Bu maddeler, antosiyaninlerin renkli formlarını stabilize ederek, pH derecesi uygun olmasına rağmen onların renksiz karbonil form oluşturmalarını engellemektedir (Cemeroğlu vd. 2004). Genellikle renksiz bileşikler olan kopigmentler, antosiyaninleri hidrasyona karşı koruyarak renklerinin stabil olarak kalmasını sağlamaktadır. Kopigment gibi davranan bileşiklerin başında; flavonoidler, polifenoller, alkaloidler, amino asitler ve organik asitler gelmektedir (Chandra vd. 1993). Kopigmentasyon oluşumunun duyarlılığını; kopigmentasyona katılan antosiyaninin konsantrasyonu ve yapısı, kopigmentin konsantrasyonu ve yapısı, ortamın ve çözücünün pH' sı ve sıcaklığı etkilemektedir (Mazza ve Miniati 1993).

Antosiyaninlerde kopigmentasyon esas olarak 3 farklı şekilde gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi antosiyanidin çekirdeği veya antosiyanidin çekirdeği ile aromatik açıl grupları arasında molekül içi interaksiyonla gerçekleşen kendiliğinden birleşme (self-association); ikincisi, antosiyanidin çekirdeği ve molekülün kromoforik olmayan kısımları (aromatik asit) arasındaki interaksiyonla gerçekleşen molekül içi kopigmentasyon; üçüncüsü ise iki veya daha fazla molekül arasında gerçekleşen moleküller arası kopigmentasyondur (Kırca 2004, Castañeda-Ovando vd. 2009).

2.2.3 Metal iyonu

Kopigmentasyonda olduğu gibi birçok antosiyanin demir, alüminyum, bakır gibi bir çok metal iyonu ile kompleks oluşturmakta ve böylece stabil olmayan kırmızı rengi stabil bir mavi veya violeye dönüştürülmektedir (Cemeroğlu vd. 2004). Gıda endüstrisinde gerekli ilgiyi bulmasa da antosiyanin-metal kompleksi, renk stabilizasyonu açısından oldukça önemli bir interaksiyondur. Bu komplekslerin bileşimindeki metal miktarı

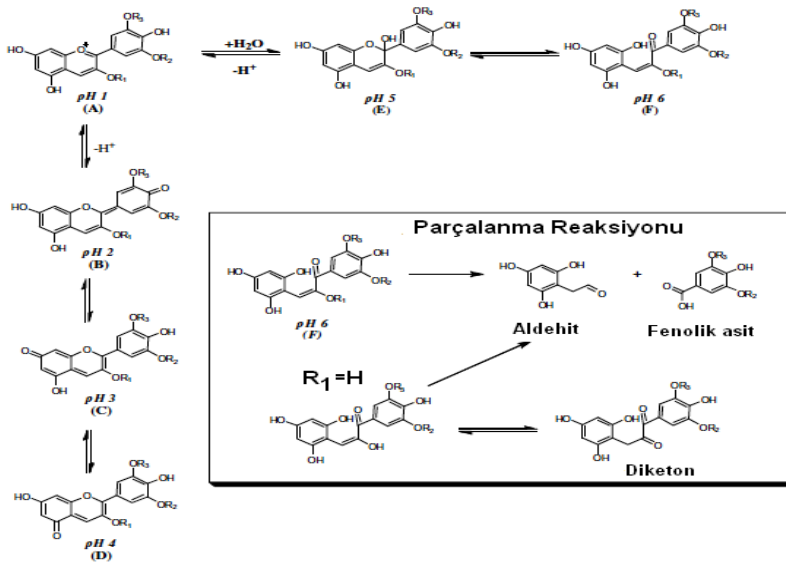
sağlık açısından zararlı düzeyde olmadığı gibi bazıları diyetle alınması gereken temel besin ögesidir (Castañeda-Ovando vd. 2009).

Al(III)-antosiyenin interaksyonu ile quiniodal baz oksidasyona karşı korunduğu için mavi renk stabil kalmaktadır (Moncada vd. 2003). Fe(III) ve Mg(II) ile antosiyenin arasında pH 5' teki mavi renk oluşumu açısından iyon için stakiyometrik oranın en iyisi 1.6 veya daha fazla olmasıdır. Dokuya Mo (IV ve VI) eklenmesi, antosiyenin-molibden kompleksi ile mavi rengin stabilizasyonunu artırmaktadır (Castañeda-Ovando vd. 2009).

NaCl çözeltisinde antosiyenin kendiliğinden birleşmesi nedeniyle renk stabilizasyonu artarken, MgCl₂ çözeltisinde magnezyum iyonlarının hidratasyonu ve serbest suyun azalması nedeniyle azalmaktadır (Mazza ve Miniati 1993).

2.2.4 pH değeri

Sulu ortamlarda antosiyenin renk stabilitesi üzerine etkili en önemli faktör pH değeridir (Mazza ve Miniati 1993). Antosiyenler, çözeltinin pH' sına bağlı olarak farklı kimyasal formlara dönüşmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Antosiyenin pH' ya bağlı kimyasal yapıları (Castañeda-Ovando vd. 2009) (R₁:H ya da sakkarit, R₂ ve R₃:H ya da metil)

Şekil 2.4'ten de anlaşılacağı gibi pH= 1' de kırmızı renkteki flavilyum katyonu (A) baskındır ve mor-kırmızı rengin oluşumunda rolü vardır (Castañeda-Ovando vd. 2009). Örneğin, vişnenin başat antosiyanidini olan siyanidin flavilyum katyonu yapısındadır ve meyveye kendine özgü koyu kırmızı rengini verir (Seeram vd. 1999). Buna karşılık pH 2-4 aralığında quiniodal baz (B-D) baskın hale geçer ve mavi rengi sağlarken, pH 5-6' da karbinol psödobaz (E) ve kalkon (F) adı verilen renksiz yapılar oluşmaktadır (Castañeda-Ovando vd. 2009). Bu aralıkta, antosiyaninler oldukça kararsızdır ve antosiyanidin yapısının 2. pozisyonunun hidratlanması nedeni ile hızlı renk değişimleri oluşmaktadır (Ersus ve Yurdagel 2006). Eğer pH değeri 7'den yüksek ise antosiyaninler gibi (Şekil 2.4) kendilerini oluşturan bileşiklere parçalanmaktadır (Castañeda-Ovando vd. 2009).

2.2.5 Sıcaklık

Proses ve depolama sıcaklığı antosiyaninlerin parçalanmaları üzerinde etkili olan en önemli faktörlerden biridir. Yapılan araştırmalar, sıcaklık artışı ile parçalanma hızı arasında doğrusal bir korelasyon olduğu göstermektedir (Seeram vd. 2001)

Asafi ve Cemeroğlu (2000), vişne ve nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin parçalanması üzerine sıcaklığın etkilerini araştırmışlardır. Bulgulara göre; depolama sıcaklığı arttıkça antosiyaninlerin degradasyon hızı artmakta ve antosiyaninlerin parçalanmasının birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uymaktadır.

Başka bir araştırmada Cemeroğlu vd. (1994); +5°C'de depolanan vişne suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin yarılanma süresinin 356 gün olduğunu, fakat depolama sıcaklığı 20 °C'ye çıkarıldığında bu sürenin 38 güne düştüğünü bulmuştur.

Bonerz vd. (2007) ise, 5 farklı vişne varyetesinden elde edilen ve 20°C'de depolanan vişne suyu örneklerinde antosiyanin miktarının 6 ay sonra başlangıçtakine göre %70-75 oranında azaldığını ancak renksiz polifenol miktarı ve antioksidan kapasitesinin (TEAC) değişikliğe uğramadığını saptanmıştır.

Kırca (2004)'nın belirttiğine göre Forni vd. (1993), izotonik şeker şurubu olan vişne konservesine izotonik şurup içinde 85° C'de 25 dakika ve 85°C'deki izotonik şurup içine 3 dakika daldırma olmak üzere iki farklı ısıl işlem uygulamışlardır. Kısa süreli uygulama yalnızca kabuk rengini etkilerken, uzun süreli klasik pastörizasyon önemli ölçüde antosiyanin parçalanmasına yol açmıştır.

2.2.6 Enzim varlığı

Ortamdaki enzim varlığı antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen diğer bir etkidir. Glikozidaz (antosiyanaz), antosiyaninlerde bulunan glikozidik bağları hidroliz ederek, stabil olmayan birçok antosiyanidin oluşmasını sağlamaktadır. Bu reaksiyon sonucunda spontan olarak parçalanma ve renkte açılma meydana gelmektedir (Seeram vd. 2001).

Glikosidazlardan başka ortamda bulunan polifenol oksidaz ve peroksidazların katalize ettiği tepkimelerde antosiyaninleri etkilemektedir (Chandra vd. 1993) Antosiyaninler bitki polifenoloksidazlarına karşı oldukça dayanıksız bileşiklerdir. Diğer fenoliklerin oksidasyonu sonucu oluşan o-kinonlar ile tepkimeye girmektedirler. O-difenolik yapıdaki antosiyaninlerin oksidasyonu sonucu çok kararsız olan antosiyanin kinonları oluşmaktadır. Bu reaksiyonlar önemli düzeyde renk kaybına yol açmaktadır (Ersus ve Yurdagel 2006).

2.3 Vişne Antosiyaninleri

Her meyve ve sebzenin antosiyanin dağılımı diğerlerinden farklıdır. Başka bir deyişle her meyve ve sebzenin, parmak izi niteliğinde, kendine özgü bir antosiyanin profili vardır. Bu olgu, yabancı meyve suyu katkısının analitik olarak kanıtlanması açısından oldukça önemlidir (Clifford 2000). Nitekim vişne suyundaki, koyu renkli üzüm sü meyve suyu katkısının, antosiyanin analizi ile kanıtlanabildiği belirtilmektedir (Hang ve Wrolstad 1990). Antosiyaninler, antioksidan etkileri nedeni ile sağlıklı beslenme açısından da önemlidir ve vişne antosiyanince zengin meyvelerden birisidir (Kim vd. 2005).

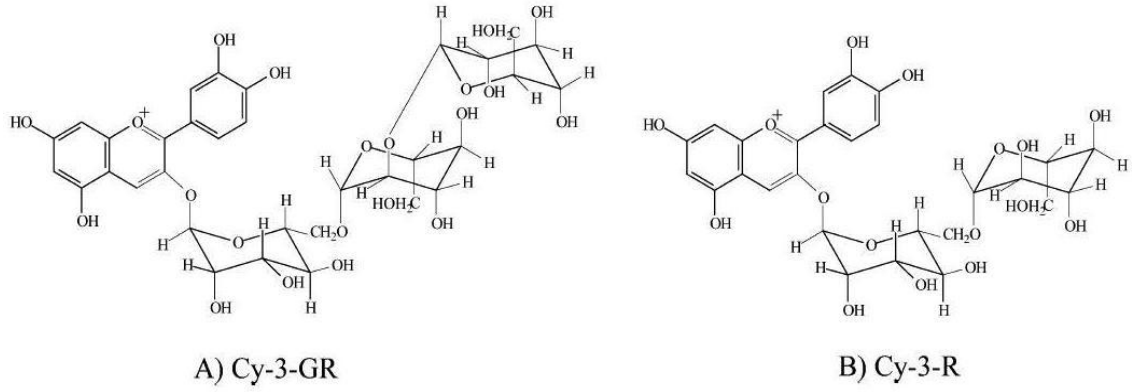
Mazza ve Miniati (1993)' nin aktardığına göre, vişnenin antosiyanin bileşenleri hakkındaki araştırmalar 1870 yılına kadar uzanmaktadır. İzole edilen ilk pigmente “kerasiyanin” adı verilmiş ve sonra bunun siyanidin-3-ramnoglikozit olduğu kanıtlanmıştır. Daha sonra Li ve Wagenknecht (1956) Montmorency cinsi vişnelere hem siyanidin-3-ramnoglikoziti (kerayasin), hem de siyanidin-3-gentobiyoziti (mecosiyanin) izole etmişlerdir. Bu iki pigmentin varlığını Dekazos (1970)' ta elektroforez yöntemi ile doğrulamıştır. Harborne ve Hall (1964) 6 farklı vişne çeşidinde; siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-soforozit (siyanidin-3-arabinozilrutinozit), siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin-3-glukozit olmak üzere 4 farklı antosiyaninin saptamıştır (Hang vd. 1990). Shrickhande ve Francis (1973) ise üç farklı vişne varyetesinde; siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-soforozit, siyanidin-3-rutinozit ve peonidin-3-rutinozit varlığını kanıtlamıştır.

Morello A çeşidi vişnenin başlıca antosiyaninleri Harbone ve Hall' a (1964) göre siyanidin-3-glukozit ve siyanidin-3-glukozilrutinozittir (Hang ve Wrolstad 1990). Dekazos (1970) aynı çeşidinde bu temel pigmentlere ek olarak peonidin-3-glukozit ve peonidin-3-rutinozit de bulunduğunu saptamıştır. Hang ve Wrolstad (1990)' ın HPLC yöntemi ile Morello 240, Morello 240D, Morello 348 vişne çeşitlerinde saptadığı antosiyaninler sırası ile; siyanidin-3-soforozit, siyanidin-3-glukozit, siyanidin-3-glukozilrutinozit ve siyanidin-3-rutinozittir. Saptanan pigmentlerin çeşitlere göre yüzde olarak dağılımı ise; geliş sırasına göre Morello 240 için; %1' den daha az, %65, %14, %14; Morello 240D için; %3, %74, %3, %16 ve Morello 348 için; %3, %72, %4, %15' tir.

Balaton ve Montmorency çeşidi vişnelere antosiyaninleri, Wang vd. (1997) tarafından HPLC yöntemi ile araştırılmıştır. Bulgulara göre her iki çeşitte de 2 temel (siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-rutinozit) ve 1 minör (siyanidin-3-glukozit) antosiyanin saptanmıştır. Montmorency çeşidinin Balaton çeşidine göre daha az miktarda antosiyanin içerdiği belirtilmiştir.

Šimunić vd. (2005) de 4 farklı vişne çeşidinde (Pertovaradinska, Cigančica, Oblačinska ve Erdy Jubileum) HPLC yöntemi ile yaptıkları araştırmanın bulgularına göre temel

antosiyeninleri siyanidin-3-glukozilrutinozit ve siyanidin-3-rutinozit (Şekil 2.5) olarak tanımlamıştır. Ayrıca temel antosiyeninlerin miktarlarının çeşitlere göre farklılık gösterdiği vurgulanmıştır.



Şekil 2.5 Siyanidin-3-glukozilrutinozit ve siyanidin-3-rutinozit (Šimunić vd. 2005)

Blando vd. (2004)' in bulgularına göre; toplam antosiyenin miktarı gibi tek antosiyeninlerin miktarı da çeşide bağlı olarak farklılık göstermektedir. Toplam antosiyenin miktarı 100 g da 27.8 ile 80.4 mg arasında değişmektedir. Başat antosiyenin siyanidin-3-glukozilrutinozittir ve bunu siyanidin-3-rutinozit, siyanidin-3-soforozit ve siyanidin-3-glukozit izlemektedir.

Danube, Balaton, Schattenmorelle ve Sumadinka vişne çeşitlerinin birbirinden farklı miktarlarda siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-glukozit, siyanidin-3-rutinozit içerdiği, Balaton çeşidinin diğer 3 çeşitten farklı olarak ayrıca iz miktarda (1.76 mg/100g) peonidin-3-rutinozit içerdiği belirtilmiştir (Kim vd. 2005).

Bonerz vd. (2007) ise 5 farklı çeşitten elde edilen vişne sularında, siyanidin-3-(2^G-glukozilrutinozit), siyanidin-3-(2^G-siklozilrutinozit), siyanidin-3-soforozit, siyanidin-3-glukozit, siyanidin-3-rutinozit ve peonidin-3-rutinozit olmak üzere 6 adet başat antosiyenin saptamıştır. Bunun gibi Will vd. (2007) de, vişne suyu ve konsantrelerinde, miktarı en fazla siyanidin-3-(2^G-glukozilrutinozit) olmak üzere 6 adet antosiyenin belirlemiştir.

Chandra vd. (2001), Balaton çeşidinden elde edilen vişne tozunun; siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-soforozit, siyanidin-3-rutinozit ve peonidin-3-rutinozit olmak üzere 4 adet antosiyanin içerdiğini bulmuştur. Daha sonra Kirakosyan vd.' in (2009) HPLC ve kütle spektrofotometresi ile yaptığı araştırma da; Balaton ve Montmorency çeşitlerinden elde edilen dondurulmuş vişne, vişne kurusu, vişne tozu, vişne suyu konsantresi gibi ürünlerde siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-rutinozit, siyanidin-3-soforozit ve peonidin-3-glukozit bulunduğunu göstermektedir.

2.4 Vişne Antosiyaninlerinin Sağlık Üzerine Etkisi

Son yıllarda gıdaların biyoaktif ve özellikle de antioksidan bileşenleri hakkında çok sayıda yayın yapılmaktadır (Lee vd. 2003, MacDonald 2005) ve ilk sırayı da kuşkusuz meyve ve meyve suyu almaktadır (Miller ve Rice-Evans 1997, Dechnet 2000, Borowska vd. 2005, Karadeniz vd. 2005, Salıcı vd. 2005). Yapılan birçok araştırmaya (Tsuda vd. 1994, Wang vd. 1997) göre meyve ve sebzelerin antioksidan kapasitesi ile toplam antosiyanin ve fenolik miktarı arasında doğrusal bir ilişki vardır (Stintzing vd. 2002).

Canlılarda oksidasyon gibi doğal kimyasal süreçler sonucunda oluşan reaktif maddelere serbest radikaller ya da serbest oksijen türü (ROS) adı verilmektedir. Bu maddeler buldukları ortamdaki yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi farklı moleküller üzerinde oksidatif etkiye sahip oldukları için DNA gibi makromoleküllere zarar verebilirler. Bu nedenle, insan vücudunda kanser, katarakt ve eklem romatizması gibi kronik hastalıklara neden olurlar. Sonuç olarak, antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek canlıyı hastalıklara karşı korumaktadır (Başer 2002, Garcia-Alonso vd. 2004).

Vişne fenoliklerinden özellikle antosiyaninlerin antioksidan kapasiteleri nedeniyle, insan sinir hücrelerinin oksidatif stres sonucunda hasar görmesini engellediği aktarılmıştır (Kim vd. 2005). Buna paralel olarak, antioksidan aktivite nedeni ile meyve ve sebze tüketiminin, bireylerde mide kanserine yakalanma riskini azalttığı belirtilmiştir (Serafini vd. 2002).

Damar sertliğinin, LDL (low-density lipoprotein) üzerindeki oksidatif tahribattan kaynaklandığı ve bunun sonucunda da kalp damar hastalıklarının oluştuğu bilinmektedir. Meyve sularının içerdiği fenolik maddelerin büyük bir miktarının sahip olduğu antioksidan aktivite, kalp damar hastalıklarından tüketicileri koruyacak niteliktedir (Meyer 1999).

Seeram vd. (2001) tarafından Balaton çeşidi vişneden elde edilen siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-rutinozit ve siyanidin-3-glukozitin yapay kültür ortamında parçalanma ürünlerini tanımlamış ve bunların antioksidan potansiyellerini ticari antioksidanlarla karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu ürünlerin ateşlenmeyi tetikleyen siklooksigenaz (COX-I, COX-II) enzimleri üzerine olan inhibitör etkisi araştırılmış ve çalışma sonunda vişne ve ürünlerinin daha çok tüketilmesini gerekli kılabilecek olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Vişne antosiyaninlerinin ve siyanidinlerinin tümör oluşumunu ve kolon kanseri hücrelerinin gelişmesini engelleme potansiyelinin belirlenmesi için Kang vd. (2003), Apc^{min} farelerin günlük diyetine vişneden izole edilen 3-siyanidin-2-O- β -D-glukopiranozil-6-O- α -L-ramnopiranozil- β -D-glukopiranozit ve 3-siyanidin-6-O- α -L-ramnopiranozil- β -D-glukopiranozit antosiyaninleri ve siyanidin aglikonu eklemiştir. Araştırma sonunda, antosiyaninler ve antosiyanidinlerin insan kolon kanseri hücrelerinin büyümesini engellediği görülmüş ve buna dayanılarak günlük diyetle tüketilen vişnenin kolon kanseri riskini azaltabileceği bildirilmiştir.

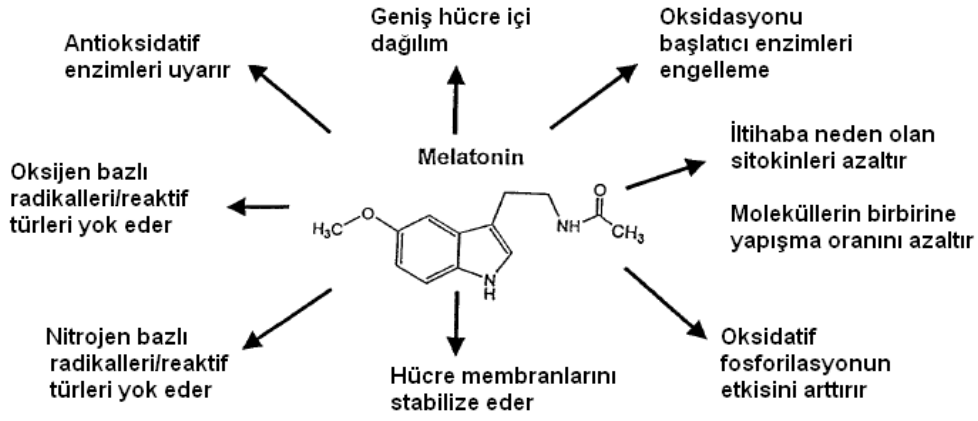
Sağlıklı bir diyetle desteklenen vişne ve vişne suyu tüketiminin, yumuşak doku romatizması olarak da bilinen fibromiyaloji hastalığına bağlı ağrıları hafiflettiği, ayrıca kandaki ürik asit seviyesini düşürerek gut hastalığının da neden olduğu eklem ağrılarını da azalttığı belirtilmiştir (Wang vd. 1996, Wang vd. 1999). Bunlara ek olarak; vişne antosiyaninlerinin ve antosiyaninlerin aglukonlarının aspirinden daha iyi bir iltihap giderici olduğuna değinilmiştir (Wang vd. 1999).

Jayaprakasam vd. (2005) tarafından; vişnede bulunan siyanidin-3-glukozitin de içinde yer aldığı Comus bitkisinden izole edilen 4 farklı antosiyanin ve 5 antosiyanidin in

vitro koşullarda pankreasın β hücrelerinden insülin salgılanması üzerine etkisini araştırmış ve antosiyanin ve antosiyanidinlerin B halkasındaki hidroksil sayısına baēlı olarak, pankreasın β hücrelerinden insülin salgılanmasını önemli miktarda arttırdıēı saptamıştır. Bundan yola çıkılarak, polifenollerce ve antosiyaninlerce zengin olan meyve ve sebze gibi gıdaların tip 2 diyabete yakalanmamak için sıkça tüketilmesi gerektiēi, ayrıca izole edilmiş saf antosiyaninlerin ve antosiyanidinlerin diyabette tedavi amacıyla kullanılabileceēi üzerinde durulmuştur. Fakat bu mekanizmanın tam olarak anlaşılması için canlı dokular üzerinde araştırmaların yoēunlařtırılması gerektiēi vurgulanmıştır.

Başka bir araştırmada (Ataie-Jafari vd. 2008), vişne suyu antosiyaninlerinin tip 2 diyabetlilerin beslenmesine yönelik etkileri incelenmiştir. Araştırma 19 diyabetik kadın hasta ile yürütölmüş ve hastalara 6 hafta boyunca günde 40 g vişne suyu konsantresi verilmiş ve sonuç olarak hastaların kan basınçlarının, vücut aēırlıklarının ve hemoglobin A1c' nin (HbA1cv) önemli miktarda azaldıēı saptanmıştır. Bu olumlu sonuçlar nedeniyle, vişne suyunun diyabetik diyet için uygun olduēu belirtilmiştir.

Vişnede antosiyanin bileşiklerin yanında yüksek miktarlarda bulunan melatonin, yüksek antioksidan kapasitesi ve saēlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle dikkat çeken diēer bir fenolik maddedir. Melatoninin (N-acetyl-5-methoxytryptamine), uçuk sarı kristal formda, erime nokrası 116-118 °C olan organik bir bileşiktir. İnsanlarda beyin epifizi (pineal gland) tarafından salgılanan iki hormondan bir tanesidir (Yu ve Reiter 1992). Karanlıkta salgılanarak, derin uyku saēlar ve vücudun biyolojik saatini düzenler. Bunun yanında, hem hidrofilik ve hem de lipofilik karaktere sahip olduēundan biyolojik membranlardan kolayca geçerek, hücre içinde güçlü antioksidan aktivite gösterir. Böylece oksidatif zararı azaltarak; lipid, protein ve DNA gibi makromolekülleri serbest radikallere karşı korumaktadır (Burkhardt vd. 2001). Melatoninin ayrıca kansere neden olan bileşiklerden koruma yönünde de bir çok olumlu etkisi (şekil 2.6) bulunmaktadır (Reiter vd. 2005).



Şekil 2.6 Melatoninin vücudu kanserden korumaya yönelik etkileri (Reiter vd. 2005)

Melatonin insanlarda hormon olarak salgılanmasının yanında, bakterilerde, protozoalarda ve bitkilerde de bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan melatoninin insanlardakine paralel olarak, bitkiyi serbest radikallere ve çevre koşullarının yarattığı strese karşı korumak için oluşturulduğu belirtilmiştir. Gıdalarla alınan melatonin kandaki indol miktarını değiştirerek, insanı oksidatif hasardan korumaktadır. Yapılan bir araştırma (Burkhardt vd. 2001), vişnede fazla miktarda melatonin bulunduğunu göstermiştir. Bu nedenle vişne ve vişne suyu ile birlikte alınan melatoninin, antosiyaninlerin yarattığı antioksidan etki ile de birleşerek, insanları yaşlanma etkilerinden ve kanserden koruyabileceği, ayrıca uyku verici olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Görüldüğü gibi antosiyaninler vişne ve vişne suyunun en tipik bileşenidir. Gerek kalite ve gerekse sağlık açısından vişne suyunun önemini artırmaktadır. Çünkü vişne suyunun rengi ve antioksidan etkisi bu bileşik grubundan kaynaklanmaktadır. Diğer ülkelerdeki başlıca vişne çeşitlerinin antosiyanin miktarı ve profili konusunda çok sayıda araştırma vardır. Ancak vişne üreten ülkelerin başına gelen Türkiye’de yetişen vişne çeşitlerinin antosiyanin profili ve antioksidan kapasitesi hakkında yeterli bilgi yoktur. Ayrıca, vişnenin meyve suyuna işlenmesi sırasında antosiyaninlerde ortaya çıkması olası değişimler de yeteri kadar bilinmemektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Araştırma materyali farklı yörelerden sağlanan 11 adet farklı çeşit vişne meyvesi ve bunlardan elde edilen vişne suyu örneklerinden oluşmaktadır.

3.1.1 Vişne meyvesi

Meyve örnekleri 2008 yılı Haziran-Temmuz döneminde sağlanmıştır. Örneklerden yalnızca Yalova (Tarım Bakanlığı Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü) ve Haymana' dan (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği) sağlananların çeşidi bilinmektedir.

Vişne örneklerinin kodu, çeşidi, sağlandığı yöre meyve suyuna işlenme tarihi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Vişne meyvesi örneklerine ilişkin bilgiler

Örnek Kodu	Vişne Çeşidi	Sağlandığı Yöre	İşlenme Tarihi
A01	1350	YALOVA	18.06.2008
A02	1353	YALOVA	18.06.2008
A03	1408	YALOVA	18.06.2008
A04	-	AMASYA	19.06.2008
A05	-	TOKAT	26.06.2008
A06	MACAR	HAYMANA	09.07.2008
A07	KÜTAHYA	HAYMANA	09.07.2008
A08	-	ÇUBUK	14.07.2008
A09	-	EBER	30.07.2008
A10	-	DEREÇİNE	30.07.2008
A11	-	SULTANDAĞ	30.07.2008

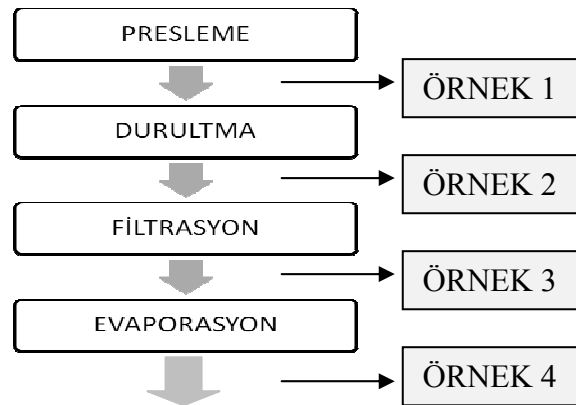
3.1.2 Vişne suyu

Meyve suyuna işlenecek vişneler önce iyice yıkanmış ve saplarından ayrıldıktan sonra elle ezilmiştir. Böylece elde edilen mayşe, endüstriyel işlemeye uygun olarak 85 °C' ye ısıtılmış ve enzimasyon için taşıma su ile 45°C' ye soğutulmuştur. Bu amaçla mayşeye, renkli meyveye uygun ticari enzim preparatından (PECTINEX BE COLOUR, NOVOZYMES), prospektüsünde önerilen miktarda (100 g/ton) dozlanarak iyice karıştırılmış ve bir saat süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda mayşe, temiz bir bez içine konularak sıkılmıştır. Her bir meyveden bu yolla elde edilen vişne suyu örnekleri şişelenerek 90 °C'de 10 dakika pastörize edilmiş ve taşıma su ile soğutulmuştur (Şekil 3.1). Örnekler analiz edilene kadar +4 °C de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1 Tokat' tan vişne ve elde edilen meyve suyu örneği

Ayrıca; antioksidan kapasitesi, antosiyanin miktarı ve profili üzerine olası etkisini belirlemek için örneklerden 3'üne endüstriyel proses akışına (Ekşi 1988, Ekşi ve Karadeniz 1997) uygun olarak durultma, filtrasyon ve evaporasyon işlemi uygulanmıştır (Şekil 3.2)



Şekil 3.2 Vişne suyuna uygulanan işlemler ve örnek alma noktaları

Durultma: Sıcak durulma yöntemine (Ekşi 1988) uygun olarak 50°C’de uygulanmıştır. Bu amaçla meyve suyuna sırası ile %5’ lik jelatin çözeltisinden (Türker Kimya-280 Bloom) 40 gram/ton ve %5’ lik bentonit çözeltisinden (Karakaya) 4 gram/ton katılmış ve iyice karıştırıldıktan sonra 30 dakika beklenmiş ve analiz örneği (ÖRNEK 2) üstteki berrak tabakadan alınmıştır.

Filtrasyon: Örneklere amaca uygun olarak kaplamalı filtrasyon “kizelgur (harborlite aegean a.s.) + perlit (gaziper)” uygulanmıştır. Kaplama materyali olarak 1+4 oranında karıştırılmış kizelgur + perlit kullanılmıştır. Elde edilen karışım, buhner hunisinin üzerine yerleştirilen kaba filtre kağıdı üzerine 0.5 santim kadar kaplanmış ve durultulan meyve suyu bu düzenek üzerinden vakum yardımı ile filtre edilmiştir. Analiz örneği (ÖRNEK 3) filtre çıkışında alınmıştır.

Evaporasyon: Filtre edilen örneğe uygulanmış ve laboratuvar tipi bir döner evaporatörde (Buchi R 210) gerçekleştirilmiştir. Deneme koşullarında evaporasyon sıcaklığı 45°C’dir. Analiz örneği; konsantrenin briks derecesi 60-65’ e ulaşınca alınmıştır.

3.2 Yöntem

Vişnelerde; meyve eti, sap ve çekirdek ağırlığı gibi pomolojik özellikler ve meyve suyu verimi saptanmış; vişne sularında ise çözünür katı madde (briks), pH, titrasyon asitliği, renk ölçümü, antioksidan kapasite, toplam fenolik madde, monomerik antosiyanin miktarı ile degradasyon indeksi analizi yapılmış ve ayrıca antosiyanin profili belirlenmiştir.

3.2.1 Pomolojik özelliklerin belirlenmesi

Bu amaçla meyveden 100 gram tartılmıştır. Önce sapsız olarak sap ve meyve ağırlığı tartımla belirlenmiştir. Daha sonra çekirdekler çıkarılarak tartılmış ve meyve ağırlığı ile çekirdek ağırlığı arasındaki farktan meyve eti ağırlığı bulunmuştur. Başlangıçta tartılan meyve miktarına göre sap, çekirdek ve meyve eti oranı (%w/w) hesaplanmıştır.

3.2.2 Meyve suyu veriminin belirlenmesi

Her bir meyve için; elde edilen meyve suyunun (mL) deneme için tartılan meyve miktarına (gram) oranı (% v/w) olarak hesaplanmıştır.

3.2.3 Çözünür katı madde (briks) tayini

Uluslararası Meyve Suyu Üreticileri Federasyonu (IFU) tarafından önerilen refraktometrik yöntem uygulanmıştır (Anonymous 1991). Bu amaçla, Abbe refraktometresi (NOW, Nippon Optical Work Co., Ltd., Tokyo) kullanılmış ve ölçümler 20°C' de yapılmıştır.

3.2.4. pH değeri tayini

Örnekler sıvı ve homojen olduğu için ölçümler doğrudan pH metre (Consort P407, Schott Gerate, Belgium) aygıtı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Titrasyon asitliği tayini

Titrasyon asitliği, pH metre ile izlenen titrasyonla saptanmıştır. Bu amaçla örnekler pH 8.1'e 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiş ve harcanan baz çözeltisi miktarından titrasyon asitliği (g/L malik asit olarak) hesaplanmıştır (Anonymous 1996).

3.2.6 Renk ölçümü

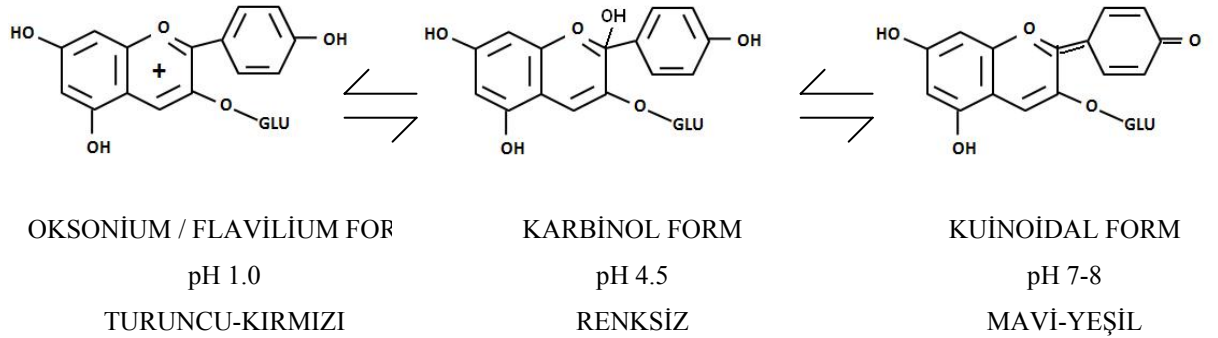
CIE renk ölçüm sistemine göre, ve MİNOLTA CR-300 (Osaka, Japan) reflektans kolorimetresi kullanılarak vişne suyunun L, a ve b değerleri doğrudan ölçülmüştür. Her ölçümden önce aygıt, beyaz plakaya karşı standardize edilmiştir. L değeri parlaklık/aydınlık; a değeri + ise kırmızı, - ise yeşil; b ise + ise sarı, - ise mavi koordinatlarını göstermektedir (Anonymous 1996).

3.2.7 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Toplam monomerik antosiyanin tayini için Fuleki ve Francis (1968) tarafından tanımlanan pH diferansiyel yöntemi uygulanmıştır.

Yöntemin ilkesi

Antosiyaninler birçok meyve, sebze ve çiçeklerin kendine özgü pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir. Antosiyanin pigmentlerinin pH' ya bağlı olarak adeta bir indikatör gibi renk değiştirmesi bu bileşiklerin başlıca özelliklerinden biridir. Bu durum pigmentlerin değişik pH' larda değişik formlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. pH 1.0'da antosiyaninler, oksonium yada flavilium formu adı verilen renkli karaktere sahip olurken, pH 4.5'da ağırlıklı olarak renksiz karbinol formda ve pH 7-8 aralığında mavi yeşil renkli kuinoidal susuz formda bulunmaktadır. Antosiyaninlerin bu formlarının kimyasal yapısı Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3 Antosiyaninlerin farklı pH' lardaki kimyasal yapıları

pH 1.0 ve pH 4.5'a ayarlanmış örneklerin spektrofotometrede ölçülen absorbans değerleri arasındaki fark, örneğin antosiyanin miktarıyla doğru orantılı olarak değişmektedir. Bu nedenle yöntemin temel ilkesi, pH 1.0 ve pH 4.5'teki renk farklılığının spektrofotometrik yolla ölçümüdür.

Gerekli çözeltiler

Bu analizde; pH 1.0 ile pH 4.5 arasındaki renk farklılığını gözleyebilmek amacıyla, bu pH değerlerinde iki farklı tampon çözelti hazırlanmaktadır.

pH 1,0 tampon: 250 ml 0.2 N KCl (14.9 g/L), 650 ml 0.2 N HCl (17 ml/L) çözeltisi bir behere alınır ve karıştırılır. Çözeltinin pH değeri 1.0 olmalıdır. Eğer değil ise HCl çözeltisi ile ayarlanır.

pH 4.5 tampon: 1.64 g sodyum asetat ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 100 mL saf suda çözülür ve üzerine 1 N HCl (83 ml yoğun HCl/L) eklenerek pH' sı 4.5 ± 0.1 olacak şekilde ayarlanır.

Örnek hazırlama

Maksimum dalga boyunda 0.4-0.8 aralığında absorbans vermesi için vişne suyu örneklerinden 5 mL alınarak 50 mL' lik ölçülü balona aktarılmış ve balon çizgisine saf su ile tamamlanmış ve seyreltme oranı not edilmiştir.

Hazırlanan bu seyreltiden 2 ayrı beher 10'ar mL alınarak; pH metrede seyreltik asit (0.1 N HCl çözeltisi) veya alkali (0.1 N NaOH) çözeltisi ile birinin pH' sı 1.0'a, diğerininki ise 4.5'a ayarlanmıştır. Bu örnekler 50 mL' lik ölçülü balona kayıp olmayacak şekilde özenle aktarılmış ve aynı pH' daki tampon çözeltiler (pH 1.0 tampon ve pH 4.5 tampon) ile çizgilerine tamamlanmıştır.

Hazırlanan bu örneklerin konulduğu ölçülü balonun ağızları kapatılmış ve ışık almaması için hemen alüminyum folyo ile sarılarak ve buzdolabında en az 2 saat bekletilmiştir.

Çalışma koşulları

Dalga boyu : 516 nm (maksimum absorbans noktası), 700 nm

Cam küvet : Işık yolu 1 cm olan cam küvet ya da tek kullanımlık küvet

Sıcaklık : 20-25 °C

Son hacim : ~3.0 mL

Okuma : Okuma saf suya karşı sıfırlanmış spektrofotometrede yapılmıştır

Absorbans ölçümü

Absorbans ölçümlerinde UNİCAM UV2/UV VIS spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla öncelikle hazırlanan vişne suyu örneklerinin hangi dalga boyunda maksimum absorbans verdiğini bulmak amacıyla, spektrofotometrede 400 nm ile 600 nm arasındaki dalga boyları taratılmış ve maksimum absorbans noktasının alındığı 516 nm çalışılacak dalga boyu olarak belirlenmiştir. pH 1.0 ve pH 4.5 için hazırlanmış olan her iki örnek içinde 516 nm (maksimum dalga boyu) ve bulanıklık unsurlarının tespit edilmesi için de 700 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır.

Hesaplama

Örneklerin 516 ve 700 nm' de okunan absorbanslarının farkları ($A_{516} - A_{700}$) hesaplanmış, daha sonra pH 1.0 için bulunan absorbans farkı, pH 4.5 için hesaplanan absorbans farkından çıkarılarak gerçek absorbans bulunmuştur.

$$\text{Absorbans} = (A_{516} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{516} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

Örneklerdeki toplam antosiyanin konsantrasyonu aşağıdaki bağıntı ile hesaplanmıştır:

$$\text{Toplam antosiyanin, mg/L} = \frac{(A) (10^3) (MW) (DF)}{(E) (L)}$$

Bu bağıntıda; A: absorbans, MW: pigmentlerin molekül ağırlığı, DF: seyreltme faktörü, E: molar absorbans, L: küvetin optik yolu (1cm) karşılığıdır.

Örnekte bulunan antosiyanin miktarı o örnekteki başat antosiyanin cinsinden belirlenir. Örnekte başat olan antosiyanin türü bilinmiyorsa sonuç siyanidin-3-glikozit üzerinden

verilebilir. Vişne meyvesinin başat antosiyaninleri yapılan araştırmalar sonucunda siyanidin-3-glukozilrutinozit ve siyanidin-3-rutinozit olarak belirlenmiştir. Toplam antosiyanin miktarının farklı örneklerde karşılaştırılmasını kolaylaştırmak amacı ile yöntemde; molekül ağırlığı (MW) 449.2, molar absorbansı (E) 26 900 ve maksimum dalga boyu ($\lambda_{\text{vis-max}}$) 528 olan siyanidin-3-glukozit üzerinden hesaplama yapılmıştır.

3.2.8 Antosiyaninlerin degradasyon indeksi tayini

Antosiyaninlerin parçalanma ölçütlerinin tayini için Fuleki ve Francis (1968) tarafından tanımlanan ve Giusti ve Wrolstad (2000) tarafından geliştirilen, monomerik antosiyaninlerin pH ile renk değiştirmesi ve sodyum bisülfid ile tepkimesi temeline dayanan yöntem uygulanmıştır.

Yöntemin ilkesi

Antosiyaninler, işlem sıcaklığı ve depolama süresi gibi faktörlerin etkisi ile parçalanmakta ve buna bağlı olarak ürünün rengi de değişmektedir. Vişne suyu gibi gıdalarda bu renk değişimi göz ile ya algılanamamakta veya daha yoğun gibi yanlış algılanabilmektedir. Bunun nedeni; antosiyaninlerin parçalanma ürünlerinin polimerizasyonu ile koyu renkli bileşikler oluşmasıdır. Objektif değerlendirme için; “renk yoğunluğu” ve “polimerik renk” değerleri belirlenmekte ve bunlardan üçüncü bir ölçüt olarak “polimerik renk yüzdesi” hesaplanmaktadır.

Doğal haldeki monomerik antosiyaninler sodyum bisülfid çözeltisi ile reaksiyona girdiklerinde renksiz sülfonik asit formu oluşurmaktadır. Buna karşın “polimerik antosiyanin-tanen” kompleksleri ve esmerleşme reaksiyonunda oluşun “melanoidin” pigmentleri bisülfidlerin ağartma etkisine karşı direnç göstererek renklerini korumaktadır. Ortama sodyum bisülfid çözeltisi eklenmesinden sonra monomerik antosiyaninlerin renkleri hızlı bir şekilde açılırken, esmer renkli pigmentlerin ortamdaki konsantrasyonu ve buna bağlı olarak 400-440 nm aralığında verdikleri absorbans değerleri artmaktadır. Bu nedenle bisülfid uygulamaksızın $\lambda_{\text{vis-max}}$ dalga boyunda ve bisülfid uygulandıktan sonra 420 nm dalga boyunda yapılacak iki absorbans ölçümü ile

“renk yoğunluğu”, “polimerik renk” ve “polimerik renk yüzdesi” gibi antosiyaninlerin parçalanması ile ilgili önemli üç nitelik belirlenebilmektedir.

Gerekli çözeltiler

Bisülfid çözeltisi: 1g potasyum metabisülfid ($K_2S_2O_5$) 5 mL damıtık su içinde çözündürülür. Bu çözelti günlük hazırlanmalıdır. Yoksa eskiyen çözeltide sarı bir renk gelişerek analizi olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Örnek hazırlama

Vişne sularının maksimum dalga boyunda 0.4-0.8 aralığında absorbands vermesi amacıyla, örneklerden 2.5 mL alınarak 50 mL' lik ölçülü balona aktarılmış ve balon çizgisine saf su ile tamamlanarak seyreltilmiştir. Seyreltme oranı not edilmiş ve bu çözelti analizde kullanılmıştır.

Çalışma koşulları

Dalga boyu	: 420 nm, 516 nm ($\lambda_{vis-max}$), 700 nm
Cam küvet	: Işık yolu 1 cm olan cam küvet ya da tek kullanımlık küvet
Sıcaklık	: 20-25 °C
Son hacim	: 3.0 mL
Okuma	: Okuma saf suya karşı sıfırlanmış spektrofotometrede yapılmıştır

Absorbans ölçümü

Absorbans ölçümlerinde UNICAM UV2/UV VIS spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla biri tanık, diğeri örnek için ayrılan iki küvete aşağıdaki çözeltiler sırası ile eklenmiş ve absorbans değerleri ölçülmüştür.

1. KÜVET: 2.8 mL seyreltilmiş vişne suyu örneği
0.2 mL bisülfid çözeltisi

2. KÜVET: 2.8 mL seyreltilmiş vişne suyu örneği
0.2 mL damıtık su

Bisülfıt çözeltisinin eklenmesinden sonra 15 dakika ile 1 saat arasındaki zaman diliminde, her iki küvetteki çözeltinin absorbandsı; 420 nm, 516 nm ($\lambda_{\text{vis-max}}$), 700 nm dalga boylarında damıtık suya karşı ölçülmüştür.

Hesaplama

Renk Yoğunluğu: Bu değer; “bisülfıt uygulanmamış küvette bulunan örneğin, $\lambda_{\text{vis-max}}$ (516 nm) ve 420 nm dalga boylarındaki absorbandslarının toplamı” olarak tanımlanır ve aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Renk Yoğunluğu} = [(A_{516} - A_{700}) + (A_{420} - A_{700})] (\text{Sf})$$

Polimerik Renk: Bu değer; “bisülfıt uygulanmış küvetteki örneğin, $\lambda_{\text{vis-max}}$ (516 nm) ve 420 nm dalga boylarındaki absorbands toplamı” olarak tanımlanır ve aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır.

$$\text{Polimerik Renk} = [(A_{516} - A_{700}) + (A_{420} - A_{700})] (\text{Sf})$$

Polimerik Renk Yüzdesi: Bu değer ise; “polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı” olarak tanımlanır. Polimerik renk yüzdesi; ürünün renginin % kaçının polimerize olmuş bileşiklerden kaynaklandığının bir göstergesidir ve aşağıdaki eşitlikle hesaplanmaktadır.

$$\text{Polimerik Renk Oranı} = \frac{\text{Polimerik Renk}}{\text{Renk Yoğunluğu}} \times 100$$

Polimerik renk ve polimerik renk oranının yükselmesi, polimerik bileşiklerden kaynaklanan renk yoğunluğunun fazla olduğunu yani, koşullara bağlı olarak antosiyaninlerin parçalandığını ve esmer renkli pigmentlerin miktarlarının arttığını göstermektedir. Hiçbir işlem görmemiş taze meyve ve sebze sularında polimerik renk

yüzdesi genellikle %10'un altında iken, işlem uygulanmış, uzun süre depolanmış, depolama koşulları iyi sağlanmamış olanlarda bu oran artarak %30 veya daha yüksek değerlere ulaşabilmektedir. Bu değerler ürünün maruz kaldığı koşullara bağlı olarak çok fazla değişkenlik göstermektedir.

3.2.9 Toplam antioksidan kapasite tayini

Toplam antioksidan kapasite tayini için Miller vd. (1995) tarafından tanımlanan TEAC-dekolorizasyon (renksizleşme) yöntemi uygulanmıştır.

Yöntemin ilkesi

Yöntem, yapay bir bileşik ve suda çözünür E vitamin türevi olan TROLOX' un (6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2 karboik asit) antioksidatif kapasitesi ile analiz örneğinin antioksidatif kapasitesinin karşılaştırılmasına dayanmaktadır. ABTS' den (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) hazırlanan çözeltiye potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$) eklenmesi uzun ömürlü $ABTS^{*+}$ radikal katyonunu oluşturur. Bu katyon maksimum absorpsiyonunu 734 nm dalga boyunda göstermektedir. Antioksidan etkisi ile bu katyon parçalanır ve koyu mavi renkli çözelti rengi açılır. Örnek çözeltisindeki renk açılması antioksidatif kapasitesinin bir ölçütüdür ve TROLOKS EŞDEĞERİ (TEAC) olarak ifade edilir.

Gerekli çözeltiler

Fosfat tampon çözeltisi (50 mmol/L): 7.14 g (41 mmol) dipotasyumhidrojenfosfat ve 1.23 g (9 mmol) potasyumdihidrojenfosfat su ile çözülür ve 1 litreye tamamlanır. Çözeltinin pH değeri 7.2-7.4 arasında olmalıdır.

ABTS stok çözeltisi (7000 μ mol/L): 77 mg ABTS 20 mL' lik ölçülü balon içinde fosfat tampon çözeltisi ile çözülür. Küçük bir behere 13 mg potasyum persülfat tartılır, bir miktar fosfat tampon çözeltisi ile ultra titreşimli su banyosunda çözülür ve ABTS çözeltisi üzerine eklenir. Ölçülü balon fosfat tampon çözeltisi ile çizgisine tamamlanır

ve balon alüminyum folyo ile sarılır. Koyu renkli bir kompleks olan ABTS*⁺ radikal katyonu oluşturmak için bu çözelti oda sıcaklığında bir gece beklemeye bırakılır. Oluşan ABTS stok çözeltisi ışıktan korunursa dayama süresi en çok 5 gündür.

ABTS analiz çözeltisi (~140 µmol/L): ABTS stok çözeltisi, absorbans değeri 0.7-0.8 arasında olacak şekilde seyreltilir (seyreltme oranı 1:50-1:70 arasında). Bu çözelti her gün yeniden hazırlanmalı ve alüminyum folyo ile sarılarak ışıktan korunmalıdır. Eğer berrak değil ise katlı bir filtre kağıdından geçirilmelidir. Çözelti hazırlandıktan hemen sonra kullanılmalıdır.

TROLOKS stok çözeltisi (2,5 mmol/L): 32 mg TROLOX küçük bir behere tartılır, çözünmesi için üzerine birkaç mililitre etilalkol eklenir. Beher içeriği 50 mL' lik ölçülü balona eksiksiz aktarılır ve fosfat tampon çözeltisi ile balon çizgisine tamamlanır.

Örnek hazırlama

Vişne suyundan 5 mL alınarak bir behere aktarılmıştır, üzerine yaklaşık 80 mL fosfat tampon ilave edildikten sonra örneğin pH değeri 0.1 N NaOH ile 7.2-7.4 aralığına ayarlanmıştır ve pH ayarlaması yapılan bu örnek eksik olmayacak şekilde 100 mL' lik ölçülü balona aktarılmış, balon çizgisine fosfat tampon ile tamamlanmıştır. Seyreltmeden kaynaklanabilecek hataları azaltmak amacıyla örneğe ikinci bir seyreltme daha uygulanmıştır. 100 mL' lik ölçülü balonda bulunan seyreltiden 2.5 mL örnek alınarak 25 mL' lik ölçülü balona aktarılmış ve balon çizgisine fosfat tampon ile tamamlanmıştır. Bu şekilde analizde kullanılacak örneklere toplamda 200 kat seyreltme uygulanmıştır.

Çalışma koşulları

Dalga boyu	: 734 nm
Cam küvet	: Işık yolu 1 cm olan cam küvet ya da tek kullanımlık küvet
Sıcaklık	: 20-25 °C
Son hacim	: 2000 µL

Okuma : Okuma ışık yoluna küvet koymadan havaya karşı sıfırlanmış spektrofotometrede yapılmıştır.

Örnek çözeltisi : Küvete konulan örnek çözeltisi 100 µL' dir

Absorbans ölçümü

Absorbans ölçümlerinde UNİCAM UV2/UV VIS spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla biri tanık, diğeri örnek için ayrılan iki küvete aşağıdaki çözeltiler sırası ile eklenmiş ve absorbans değerleri ölçülmüştür.

TANIK: 1900 µL ABTS analiz çözeltisi
100 µL fosfat tampon çözeltisi

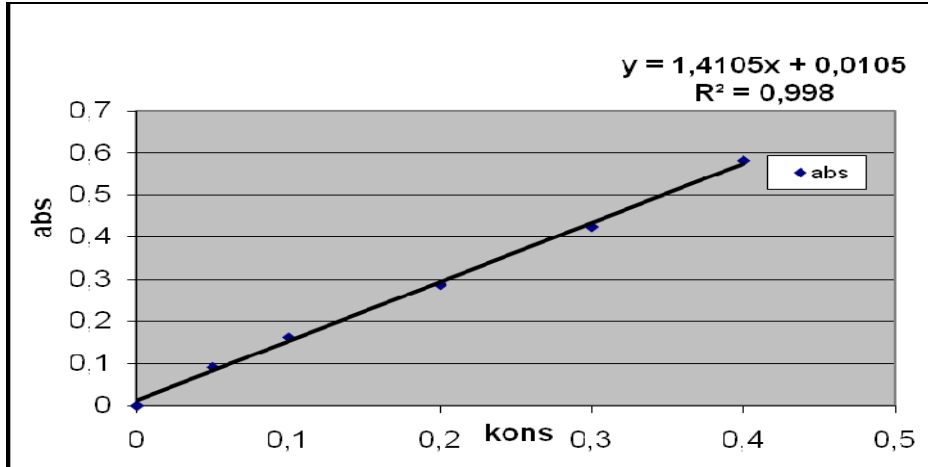
ÖRNEK: 1900 µL ABTS analiz çözeltisi
100 µL örnek çözeltisi

Tepkime, örnek çözeltisinin katılması ile başlamaktadır. Küvetteki çözeltiler iyice karıştırılır ve 6. dakikada örneğin absorbansı tanığa karşı ölçülür. Örnek, absorbans değeri 0.2' nin altında olmayacak şekilde seyreltilmelidir.

Hesaplama

Antioksidatif kapasitenin hesaplanması için örnek ve tanık arasındaki absorbans farkı bulunur. Bu fark ile kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem ve seyreltme faktörü dikkate alınarak "Trolox Eşdeğeri" hesaplanır.

Kalibrasyon Eğrisini çizebilmek amacıyla; 50 mL' lik ölçülü balonlara sıra ile 1; 2; 4; 6; 8 mL TROLOX stok çözeltisi pipetlenir ve fosfat tampon çözeltisi ile balonlar çizgisine tamamlanır (0.050-0.400 mmol/L). Hem tanık çözelti hem de her bir standart çözeltiden paralel ölçüm yapılır. Değerler EXCEL tablosuna taşınır ve regresyon eğrisi ordinatların kesişim noktasından geçecek şekilde çizilir ($y=ax$).



Şekil 3.4 Standart troloks eğrisi

3.2.10 Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayini için, Rentschler ve Tanner (1976) tarafından tanımlanan Folin-Ciocalteu ayracı ile toplam fenollerin tayin yöntemi kullanılmıştır.

Yöntemin ilkesi

Fenolik bileşikler bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştürür. Folin-Ciocalteu ayracı bu redoks reaksiyonunda oksitleyici bir bileşik olarak rol almaktadır. Reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi rengin fotometrik olarak ölçülmesiyle, analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarlarının hesaplanması mümkün olmaktadır.

Gerekli çözeltiler

Folin-Ciocalteu ayracı: Hazır olarak satın alınmıştır (SIAL F9252-1L, 500mL).

Doymuş sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi: 35 g Na_2CO_3 üzerine, 100 mL su ekledikten sonra $70-80^\circ\text{C}$ ' ye ısıtılarak ve karıştırılarak çözündürülür. Soğuması için bir gece kendi haline bırakılır. Bu şekilde aşırı doymuş çözeltiliye, birkaç $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

kristali eklenerek, kristalizasyon başlatılır. Kristalizasyon sona erince, çözelti cam yününden süzülerek doymuş sodyum karbonat çözeltisi elde edilir.

Kateşin standart: Hazır olarak satın alınmıştır (FLUKA 22100, 41 g).

Örnek hazırlama

Vişne suyundan 10 mL alınarak 50 mL' lik ölçülü balona aktarılmış, balon çizgisine saf su ile tamamlanarak seyreltilmiştir. Seyreltme oranı hesaplamada kullanılmak üzere not edilmiştir. 100 mL' lik ölçü balonuna 1 mL seyreltilmiş örnek, 75 mL saf su ve 5 mL Folin-Ciocalteu ayracı konulmuş, homojen hale gelmesi amacıyla 1 dakika vortekste karıştırılmış, 3 dakika bekletilmiştir. Üzerine 10 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş, balon çizgisine saf su ile tamamlanmış ve yine vortekste iyice karıştırılmıştır. Reaksiyonun tamamlanması için 1 h bekletilmiştir. Süre sonunda, spektrofotometrede (Unicam UV-VIS (UV-2)) 720 nm dalga boyunda havaya karşı örneklerin verdikleri absorbanslar okunmuştur.

Çalışma koşulları

Dalga boyu	: 720 nm
Cam küvet	: Işık yolu 1 cm olan cam küvet ya da tek kullanımlık küvet
Sıcaklık	: 20-25 °C
Son hacim	: ~3.0 mL
Okuma	: Okuma ışık yoluna küvet koymadan havaya karşı sıfırlanmış spektrofotometrede yapılmıştır.

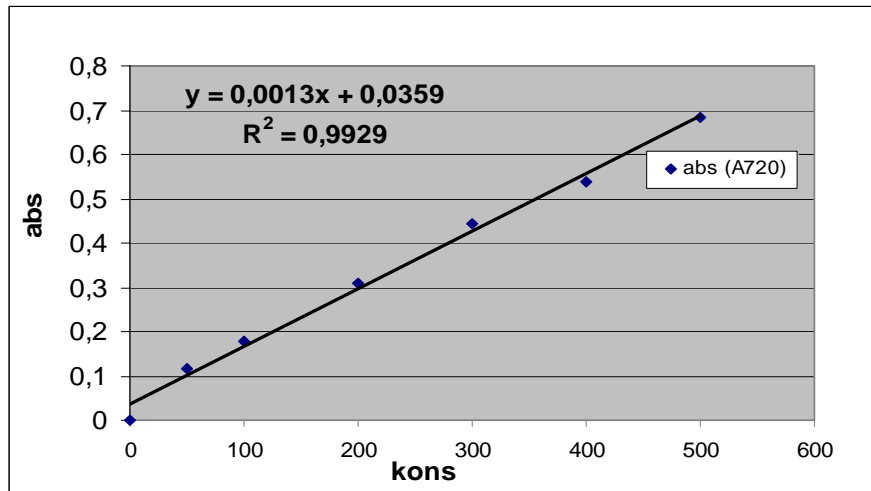
Absorbans ölçümü

Absorbans ölçümlerinde UNİCAM UV2/UV VIS spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla analiz için hazırlanan vişne suyu örneklerinin ve aynı şekilde hazırlanmış tanık çözeltinin absorbansları 720 nm de havaya karşı belirlenmiştir.

Hesaplama

Toplam fenolik madde miktarının hesaplanması için örnek ve tanık arasındaki absorbans farkı bulunur. Bu fark ile kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem ve seyreltme faktörü dikkate alınarak örneklerdeki fenolik bileşiklerin toplamı hesaplanmış ve sonuç, mg kateşin/kg olarak ifade edilmiştir.

Kalibrasyon Eğrisini çizebilmek amacıyla; 25 mg kateşin 50 mL absöü alkolde çözüdürülerek 500 mg/L konsantrasyonda kateşin stok çözültisi hazırlanır. Stok çözültiden 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 ve 8.0 mL alınarak her biri 10 mL' lik ölçü balonlarına aktarılır ve balonlar absöü alkolle çizgisine kadar tamamlanır. Böylece, sıra ile 50, 100, 200, 300 ve 400 mg kateşin/L konsantrasyonunda 5 çözülti hazırlanmıştır. 6. çözülti olarak 500 mg kateşin/L konsantrasyonundaki stok çözülti kullanılır. Bu çözülti örnek hazırlamada verilmiş işlemler uygulanarak 720 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Standart kateşin eğrisi Şekil 3.5' de gösterilmektedir.



Şekil 3.5 Standart kateşin eğrisi

3.2.11 Antosiyanin profilinin belirlenmesi

Uluslararası Meyve Suyu Üreticileri Federasyonu (IFU) tarafından önerilen HPLC yöntemi uygulanmıştır (Anonymous 1998).

Yöntemin ilkesi

Antosiyaninler, antosiyanidinlerin glikositleridir ve kırmızı renkli meyve ve sebze sularının çoğunluğunun renk maddeleridir. Kırmızı renkli meyve ve sebze suları ve bu suların konsantrelerinde bulunan antosiyaninlerin ayrılması ve kalitatif olarak miktarının bulunması için HPLC yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde; kalistefin klorür standardı filtre edilmiş meyve suyu örneğine ilave edilir. Elde edilen bu karışım HPLC' de ters faz çözücü gradiyenti tarafından ayrıştırılır ve antosiyaninler fotometrik olarak 518 nm dalga boyunda belirlenir. Ayrıca, yöntem sonunda elde edilen kromatogramlar parmak izi niteliğini taşıdığı için analize alınan örnekte taşış olup olmadığı kolaylıkla belirlenebilmektedir.

Kimyasallar

Asetonitril HPLC gradient (SIAL 34851, 2.5 L), Formik asit: %98-%100 saflıkta (RIEDEL, RH27001, 2.5L), Metanol %98-%100 saflıkta (SIAL 34851, 2.5 L), kalistefin klorür (=pelargonidinklorür 3-glukozit) (FLUKA 79576, 1 mg).

Çözeltiler

Kalistefin stok çözeltisi: 5 mg kalistefin klorit 0.25 ml metanol içinde çözündürülür, üzerine 0.75 ml su eklenir. Bu çözelti 5 mg/mL kalistefin içermektedir.

Kalistefin standard çözeltisi: 1000 µL su içine stok çözeltilerden 10 µL pipetlenir. Bu çözelti her gün yeniden hazırlanmalıdır.

Solvent A: 900 mL su ve 100 mL formik asit

Solvent B: 400 mL su, 100 mL formik asit ve 500 mL asetonitril

Örnek hazırlama

HPLC' nin otomatik örnekleme ünitesinde kullanılan amber renkli şişelere meyve suyu örneklerinden 1ml konulmuş ve 10 µL de kalistefin standart çözeltisi eklenerek HPLC' ye enjekte edilmiştir.

Kromatografi koşulları

Ölçümlerde WATERS marka 2002 model HPLC sistemi, WATERS 996 PDA (photodiode array) dedektör ve ters faz C₁₈ kolon (250 x 4.0 mm, 5µL) kullanılmıştır. HPLC çalışma koşulları aşağıdaki gibidir:

Kolon sıcaklığı : 40 °C
Akış hızı : 1mL/dakika
Dalga boyu : 518 nm
Elüasyon süresi : 46 dakika
Elüasyon profili : Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.2 Antosiyaninler için uygulanan elüasyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	88	12
1	88	12
26	70	30
35	0	100
38	0	100
43	88	12
46	88	12

Tanımlama ve hesaplama

Elde edilen kromatogramlar Milanium-32 yazılım programı ile değerlendirilmiştir. Bunlara ek olarak, kromatogramlarda saptanan pikler, hazır olarak alınmış kuromanin

klorür (=Siyanidin-3-O-glukozit klorür, FLUKA 52976, 1mg) standardına göre hesaplanarak verilmiştir (Will vd. 2007)

Kromatogramdaki başlıca antosiyanin fraksiyonları, eldeki standartların geliş zamanı ve literatür bilgileri ile karşılaştırılarak tanımlanmış ve siyanidin-3-glukozidin alanı üzerinden kantitatif olarak hesaplanmıştır.

3.2.12 İstatistik değerlendirme

Vişne suyunun analitik özelliklerine ilişkin değişim aralığı, ortalama (X), standart hata (S_x), varyasyon katsayısı (VC) ve % 99 güven aralığı gibi deskriptif değerleri MINITAB programı ile hesaplanmış, proses basamaklarına göre bileşim değişiminin tesadüf blokları deneme düzeninde varyans analizi tekniği uygulanarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılığın önemi DUNCAN çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir (Kesici ve Kocabaş 2007).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Vişne suyunun gerçeklik kontrolünün belirlenmesi ve sağlık üzerine olumlu etkilerinin açığa çıkarılması amacıyla yürütülen bu araştırma kapsamında, monomerik antosiyanin, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan kapasite, antosiyanin profili ve degradasyon indeksi analizleri yapılmıştır. Ayrıca bu parametrelerin; durultma, filtrasyon ve evaporasyon gibi endüstriyel proses akışında yer alan basamaklardan etkilenip etkilenmediği belirlenmiştir.

Materyali tanımlamak için ayrıca meyvenin bazı pomolojik özellikleri ve meyve suyu randımanı saptanmış, vişne suyunda ayrıca briks derecesi, pH değeri, renk koordinatları ve titrasyon asitliği belirlenmiştir.

4.1 Vişne Meyvesi ve Vişne Suyunun Genel Özellikleri

4.1.1 Vişne meyvesinin genel özellikleri

Vişne meyvesi, sert çekirdekli meyveler arasında olup, küçük bir çekirdek ve saplardan oluşmaktadır. Meyve ağırlığı ve tane oranı birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle materyal olarak kullanılan vişne örneklerinde meyve eti, sap ve çekirdek ağırlığının başlangıçta tartılan meyve miktarına göre yüzdeleri ile meyve suyu randımanı belirlenmiştir.

Bulgulara göre, sap oranı % 2.14-3.57, çekirdek oranı % 5.53-11.26 ve meyve eti oranı % 85.16-91.35 ve vişne meyvelerinde briks derecesi 17.6 ile 22.0 arasında değişmektedir. Meyve suyu randımanı ise meyveye göre % 65.3-80.0 arasındadır. Tokat ve Haymana (Macar) yörelerinden sağlanan vişnelerin sap oranı diğerlerine göre daha düşüktür. Buna karşılık çekirdek oranı açısından diğerleri arasında belirgin bir fark bulunmamaktadır. Bu iki yöreden sağlanan vişnelerin meyve suyu verimi de diğerlerine göre daha yüksektir (Çizelge 4.1 - 4.2).

Çizelge 4.1 Vişne meyvesi örneklerinin bazı pomolojik özellikleri

Örnek Kodu	Meyve sapı (%w/w)	Çekirdek (%w/w)	Meyve eti (%w/w)	Meyve briksi	M. Suyu V. %(v/w)
A01	3.45	6.81	89.74	17.8	74.9
A02	3.12	5.53	91.35	19.4	78.4
A03	3.57	11.26	85.16	17.6	75.0
A04	2.91	9.14	87.95	18.9	73.3
A05	2.14	7.90	89.95	18.0	80.0
A06	2.25	8.25	89.50	18.8	80.0
A07	2.82	10.80	86.38	18.5	73.3
A08	2.82	8.36	88.82	18.2	79.9
A09	2.72	7.86	89.42	18.6	76.9
A10	2.73	8.64	88.63	19.2	79.9
A11	2.26	7.75	89.99	22.0	65.3

Çizelge 4.2 Vişne suyunun pomolojik özelliklerine ilişkin deskriptif değerler

Analitik Özellik	Min.	Max.	$\bar{X} \pm S_x$	CV %	%99 Güven Aralığı
Meyve sapı (%w/w)	2.14	3.57	2.79±0.14	16.65	2.35-3.24
Çekirdek (%w/w)	5.53	11.26	8.39±0.48	19.33	6.84-9.94
Meyve eti (%w/w)	85.16	91.35	88.80±0.53	1.98	87.13-90.48
Briks derecesi	17.60	22.00	18.81±0.36	6.36	17.67-19.96
M. suyu verimi (%v/w)	65.30	80.00	76.08±1.35	5.88	71.81-80.36

X: Ortalama, S_x : Standart Hata, CV: Varyasyon Katsayısı

4.1.2 Vişne suyunun genel özellikleri

Çeşidi ve yetiştirme yöresi farklı meyvelerden elde edilen 11 farklı vişne suyu örneğinde briks, pH ve titrasyon asitliği belirlenmiş ve analiz bulguları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Vişne suyunun belirlenen analitik özellikleri için ayrıca; değişim sınırları, ortalama, standart hata, varyasyon katsayısı ve %99 güven aralığı hesaplanmış ve bu deskriptif değerler Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4’de ki bulgulardan, vişne suyu örneklerinde briks derecesinin 15.97 ile 26.33 arasında değiştiği ve ortalamaların 19.33 olduğu anlaşılmaktadır. Belirlenen vişne suyu

pH' ları 2.84-3.16 arasında olup, ortalama olarak saptanan değer 2.98' dir. Ortalama % 2.09 olan titrasyon asitliği ise % 1.64-2.63 aralığında değişmektedir.

Çizelge 4.3 Vişne suyu örneklerinin analitik özelliklerine ilişkin analiz sonuçları

Örnek Kodu	Briks Derecesi	pH Değeri	Titrasyon Asitliği % ^a
A01	17.3	2.94	1.71
A02	18.5	2.98	1.77
A03	20.2	2.87	2.09
A04	18.0	3.13	1.65
A05	16.0	2.92	2.24
A06	18.5	2.85	2.64
A07	16.9	2.99	2.50
A08	19.1	2.85	2.41
A09	20.2	3.10	1.89
A10	21.7	3.08	2.17
A11	26.3	3.16	2.09

^a:Malik asit olarak

Çizelge 4.4 Vişne suyunun analitik özelliklerine ilişkin deskriptif değerler

Analitik Özellik	Min.	Max.	X±S _x	CV%	%99 Güven Aralığı
Briks derecesi	15.97	26.33	19.33±0.85	14.70	16.62-22.05
pH	2.84	3.16	2.98±0.03	3.82	2.87-3.09
TA (%)	1.64	2.63	2.09±0.09	15.71	1.78-2.41

TA : Titrasyon asitliği

Hazırlanan vişne suyu örneklerinin renklerinin ölçümü; CIE renk ölçüm sistemine göre MİNOLTA CR-300 (Osaka, Japan) reflektans kolorimetresi kullanılarak yapılmıştır. Analiz sonunda elde edilen bulgular Çizelge 4.5'te, L değeri parlaklık/aydınlık, a değeri + ise kırmızı, - ise yeşil; b ise + ise sarı, - ise mavi koordinatlarını gösterecek şekilde verilmiştir. Renk ölçümünde elde edilen bulgular her vişnenin kendine özgü rengini tanımlamaktadır. Ayrıca örneklerin renk ölçümü için; değişim sınırları, ortalama, standart hata, varyasyon katsayısı ve %99 güven aralığı hesaplanmış ve bu deskriptif değerler Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.5 Vişne suyu örneklerinin renk (L, a, b) değerleri

Örnek Kodu	L	a	b
A01	19.44	+2.23	-0.75
A02	19.37	+1.72	-0.92
A03	19.37	+1.80	-0.90
A04	19.35	+1.56	-0.88
A05	19.73	+3.07	-0.47
A06	19.53	+2.91	-0.43
A07	19.77	+3.33	-0.29
A08	19.31	+2.29	-0.62
A09	19.68	+2.78	-0.43
A10	19.75	+2.91	-0.47
A11	19.44	+2.70	-0.47

L: Lightness

Çizelge 4.6 Vişne suyunun renk ölçümlerine ilişkin deskriptif değerler

Analitik Özellik	Min.	Max.	X±Sx	CV %	%99 Güven Aralığı
L	19.30	19.78	19.52±0.05	0.92	19.35-19.69
+a	1.56	3.33	2.49±0.17	23.73	1.92-3.05
-b	0.29	0.92	0.59±0.06	36.70	0.38-0.81

4.2 Vişne Suyunun Antosiyanin ve Fenolik Düzeyi İle Antioksidan Kapasitesi

4.2.1 Antosiyanin ve fenolik miktarı ile antioksidan kapasite

Vişne suyu örneklerinin antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde içeriği, monomerik antosiyanin miktarı ve degradasyon indeksi Çizelge 4.7’de sırasıyla verilmiştir. Vişne suyunun belirlenen analitik özellikleri için ayrıca; değişim sınırları, ortalama, standart hata, varyasyon katsayısı ve % 99 güven aralığı hesaplanmış ve bu deskriptif değerler Çizelge 4.8’de sunulmuştur.

Çizelge 4.7 incelendiğinde; en düşük antioksidan kapasite 20.0 TEAC mmol/L ile Tokat yöresinden sağlanan vişnelerden elde edilen vişne suyunda bulunurken, en yüksek antioksidan kapasite 37.9 TEAC mmol/L ile Çubuk yöresinden sağlanan vişnelerden

elde edilen vişne suyunda saptanmıştır. Bütün çeşitlerde ölçülen antioksidan kapasitenin ortalamasının 28.5 TEAC mmol/L olduğu gözlemlenmektedir. Toplam fenolik madde miktarı; tüm çeşitlerde ortalama olarak 1947 mg/L bulunurken, en düşük toplam fenolik madde içeriği Dereçine yöresinden sağlanan vişnelerden elde edilen vişne suyunda (1510 mg/L) saptanmış, en yüksek toplam fenolik madde içeriği antioksidan kapasiteye uygun olarak Çubuk yöresinden sağlanan vişnelerden elde edilen vişne suyunda (2550 mg/L) saptanmıştır. Monomerik antosiyanin en düşük miktarda Haymana' dan sağlanan Kütahya çeşidinde (350 mg/L) bulunurken, Yalova yöresinden sağlanan 1408 çeşidinde (633.5 mg/L) en yüksek miktarda ölçülmüştür. Bütün örneklerde ortalama olarak 472 mg/L hesaplanmıştır. Ayrıca örneklerin % degradasyon indeksi değerleri 9.5 (Tokat) ile 32.9 (Eber) gibi geniş bir aralıkta değişirken, ortalama olarak % 19.6 değeri hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7 Vişne suyu örneklerinin analitik özelliklerine ilişkin analiz sonuçları

Örnek Kodu	Antioksidan Kapasite (TEAC mmol/L)	Toplam Fenolik Madde (mg/L)	Monomerik Antosiyanin (mg/L)	Degradasyon İndeksi (%)
A01	30.1	1841	575	16.9
A02	28.3	2297	548	19.1
A03	31.1	2158	633	20.4
A04	27.0	1639	573	15.2
A05	20.0	1625	366	9.5
A06	30.7	2102	392	14.5
A07	37.4	2095	350	12.4
A08	37.9	2550	612	11.7
A09	21.4	1587	364	32.9
A10	25.5	1510	394	32.5
A11	23.7	2010	380	30.4

Çizelge 4.8 Vişne suyunun analitik özelliklerine ilişkin deskriptif değerler

Analitik Özellik	Min.	Max.	X ±Sx	CV%	%99 Güven Aralığı
AO (TEAC mmol/L)	19.93	37.87	28.47±1.75	20.38	22.93-34.02
TF (mg/L)	1510	2550	1947±100	17.12	1628-2265
MA (mg/L)	350.0	633.5	471.5±34.5	24.26	362.2-580.9
Dİ (%)	9.45	32.85	19.59±2.57	43.54	11.44-27.74

AO: Antioksidan Kapasite, TF: Toplam Fenolik Madde, MA: Monomerik Antosiyanin, Dİ: Degradasyon İndeksi, CV: Varyasyon Katsayısı

4.2.2 Antioksidan kapasite ile antosiyanin ve fenolik madde arasındaki korelasyon

Yapılan analizler sonucunda birbiriyle ilişkili olduğu düşünülen antioksidan kapasite ile monomerik antosiyanin, degradasyon indeksi ve toplam fenolik madde arasında ilişki bulunup bulunmadığını ve varsa önem derecesini belirlemek amacı gruplar arasında korelasyon analizi yapılmıştır. Hesaplanan korelasyon katsayıları ve önem düzeyleri Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9 Vişne suyunda antioksidan kapasite ile monomerik antosiyanin ve degradasyon indeksi arasındaki korelasyon katsayıları

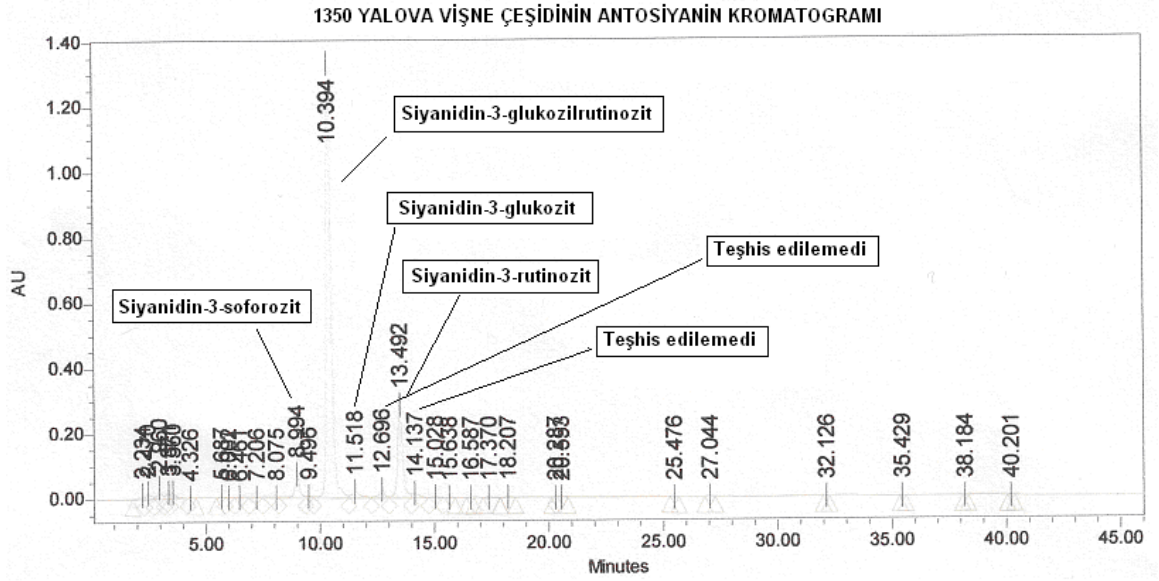
ÖZELLİK	AO	MA	Dİ	TF
AO	-	0.420	-0.482	0.738**
MA	-	-	-0.287	0.456
Dİ	-	-	-	-0.402
TF	-	-	-	-

AO: Antioksidan Kapasite, MA: Monomerik Antosiyanin, Dİ: Degradasyon İndeksi, TF: Toplam Fenolik Madde , **: Gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (P<0.01)

Antioksidan kapasite ile toplam fenolik madde arasındaki ilişki için korelasyon katsayısı $r=0,738$ olarak hesaplanmış ve istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır (P<0.01). Diğer bileşenler arasındaki korelasyonlar istatistik olarak önemsizdir.

4.2.3 Vişne suyunun antosiyanin profili

Vişne suyu örneklerinin antosiyanin profili, Uluslararası Meyve Suyu Üreticileri Federasyonu (IFU) tarafından önerilen HPLC yöntemi (Anonymous 1998) ile belirlenmiştir. Elde edilen kromatogramların bir örneği Şekil 4.1’de, diğerleri ise ek olarak (EK 1-11) verilmiştir.



Şekil 4.1 1350 Yalova çeşidi vişne suyunun HPLC antosiyanin kromatogramı

Piklerin geliş zamanına göre tanısı yapılan başlıca antosiyanin fraksiyonları siyanidin-3-soforozit, siyanidin-3-glukozilrutinozit, siyanidin-3-glukozit ve siyanidin-3-rutinozittir. Buna karşılık 3 pikin tanısı yapılamamıştır.

Çizelge 4.10 HPLC kromatogramdaki başlıca antosiyanin fraksiyonları

Pik no	Geliş süresi (dakika)	Antosiyanin fraksiyonu
1	9.077	Siyanidin-3-soforozit
2	10.48	Siyanidin-3-glukozilrutinozit
3	11.61	Siyanidin-3-glukozit
4	12.785	X ₁
5	13.589	Siyanidin-3-rutinozit
6	14.228	X ₂

Tek tek antosiyaninlerin miktarı; kendi pik alanı ve standart siyanidin-3-glukozit çözeltisinin pik alanı dikkate alınarak hesaplanarak Çizelge 4.11’de, antosiyanin toplamındaki % oranları ise Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Vişne suyu örneklerinin antosiyanin miktarları (mg/L)

Örnek Kodu	Cya-3-soph	Cya-3-glurut	X ₁	Cya-3-glu	X ₂	Cya-3-rut	X ₃	Toplam
A01	12.7	247.3	-	5.6	4.7	53.5	3.6	327.4
A02	16.2	246.7	-	6.6	4.4	60.9	3.8	338.6
A03	17.2	291.4	-	7.4	6.1	62.4	4.8	389.3
A04	8.1	186.3	-	6.0	3.2	85.5	3.4	292.5
A05	15.1	169.6	-	5.6	3.0	44.9	2.0	240.2
A06	6.9	183.0	-	4.4	3.2	52.0	2.5	252
A07	6.4	179.8	-	5.1	3.1	64.8	2.5	261.7
A08	21.5	320.9	-	9.9	7.1	73.2	5.3	437.9
A09	9.4	178.7	6.8	3.7	3.2	35.4	4.0	241.2
A10	6.0	182.6	7.3	3.4	3.9	40.4	4.6	248.2
A11	2.6	140.3	5.2	2.0	2.8	39.2	3.7	195.8
MİN.	2.6	140.3	5.2	2.0	2.8	35.4	2.0	195.8
MAX.	21.5	320.9	7.3	9.9	7.1	85.5	5.3	437.9
ORT.	11.1±1.76	211.5±17.1		5.4±0.64	4.1±0.42	55.7±4.67	3.7±0.31	293.2±22.0

Cya-3-soph: siyanidin-3-soforozit, Cya-3-glurut: siyanidin-3-glikozilrutinozit, Cya-3-glu: siyanidin-3-glukozit, Cya-3-rut: siyanidin-3-rutinozit, X₁, X₂, X₃: Tanımlanamayan antosiyanin fraksiyonları

Çizelge 4.12 Vişne suyunda antosiyanin dağılımı¹

Örnek Kodu	Cya-3-soph	Cya-3-glurut	X ₁	Cya-3-glu	X ₂	Cya-3-rut	X ₃
A01	3.9	75.5	-	1.7	1.4	16.3	1.1
A02	4.8	72.9	-	1.9	1.3	18.0	1.1
A03	4.4	74.9	-	1.9	1.6	16.0	1.2
A04	2.8	63.7	-	2.1	1.1	29.2	1.2
A05	6.3	70.6	-	2.3	1.2	18.7	0.8
A06	2.7	72.6	-	1.7	1.3	20.6	1.0
A07	2.4	68.7	-	1.9	1.2	24.8	1.0
A08	4.9	73.3	-	2.3	1.6	16.7	1.2
A09	3.9	74.1	2.8	1.5	1.3	14.7	1.7
A10	2.4	73.6	2.9	1.4	1.6	16.3	1.9
A11	1.3	71.7	2.7	1.0	1.4	20.0	1.9
MİN.	1.3	63.7	-	1.0	1.1	14.7	0.8
MAX.	6.3	75.5	-	2.3	1.6	29.2	1.9
ORT.	3.6±0.44	72.0±1.01	-	1.8±0.12	1.4±0.05	19.2±1.31	1.3±0.11

¹Antosiyanin toplamındaki % oranı olarak

Görüldüğü gibi vişne suyundaki başat antosiyanin, miktarı 140.3-320.8 mg/L arasında değişen siyanidin-3-glukozitrutinozittir ve toplam antosiyaninin % 63.7-75.5'ünü oluşturmaktadır. Bunu siyanidin-3-rutinozit izlemektedir. Siyanidin-3-rutinozitin miktarı 35.4-85.5 mg/L, antosiyanin toplamındaki payı ise % 14.7-29.2 arasında değişmektedir. Vişne suyunda 2.6-21.5 mg/L siyanidin-3-soforozit ve 2.0-9.9 mg/L arasında da siyanidin-3-glukozit bulunmuştur. Tanısı yapılamayan 3 pikten her birinin

toplam antosiyanindeki payı % 3.0' ten düşüktür. Bulgular, kaynaklardaki (Hang ve Wrolstad 1990, Wang vd. 1997, Blando vd. 2004, Will vd. 2007) bilgilerle uyumludur. Bulgulardaki antosiyaninlere ek olarak bazı kaynaklarda (Shrickhande ve Francis 1971, Chandra vd. 2001, Kim vd. 2005, Bonerz vd. 2007, Kirakosyan vd. 2009) az miktarlarda peonidin-3-rutinozit tespit edilmiştir.

4.3 Vişne Suyunda Antosiyanin Miktarı ve Antioksidan Kapasitesinin Bazı Proseslerden Etkilenmesi

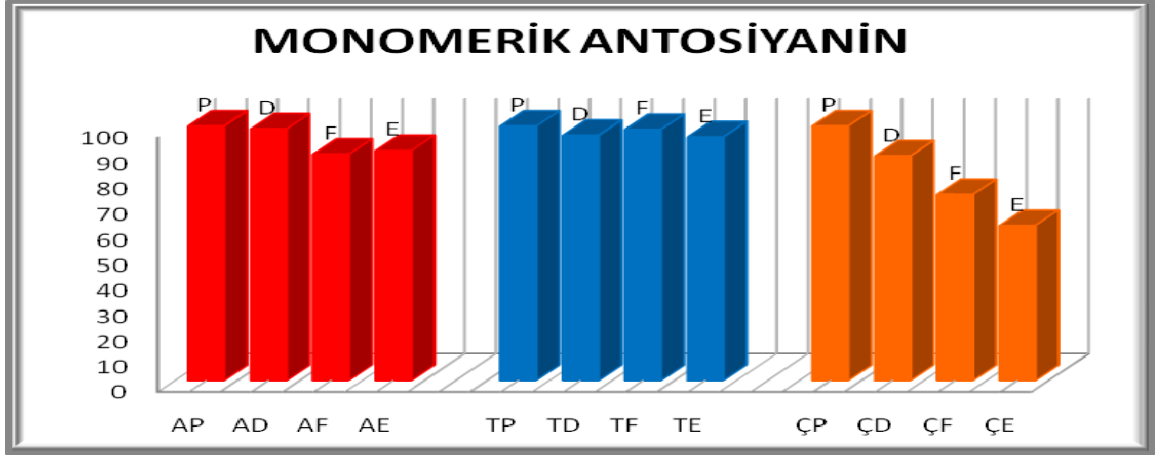
Meyve suyu üretim prosesinde yer alan basamakların, ham maddenin içermiş olduğu önemli bazı özellikleri değiştirdiği yönünde bulgular bulunmakla birlikte, bu değişkenliğin miktarı yapılan çalışmalarla tam olarak ortaya koyulmamıştır. Bu nedenle vişne suyu örneklerinden 3' üne (Amasya, Tokat ve Çubuk), klasik proses akışına uygun olarak preslemeden sonra durultma, filtrasyon ve evaporasyon işlemleri uygulanmıştır. Bu basamakların seçilme nedeni; fenolik madde miktarını etkileme olasılığıdır. Bu örneklerde preslemeden, durultmadan, filtrasyondan ve evaporasyondan sonra saptanan toplam fenolik ve monomerik antosiyanin miktarı ile degradasyon indeksi ve antioksidan kapasite düzeyi belirlenmiş ve bulgular örneklerin tümünde 13.5 brikse (Anonymous 1990) göre hesaplanmıştır. Bulgular Çizelge 4.13'te toplu olarak verilmiştir.

İncelenen özellikler bakımından prosesler arasında fark olup olmadığını belirlemek için vişne çeşitleri (Amasya, Çubuk, Tokat) “blok”; proses basamakları (presleme, durultma, filtrasyon, evaporasyon) “uygulama” olarak seçilmiş ve proses basamaklarına göre bileşim değişimi, tesadüf blokları deneme düzeninde varyans analizi tekniği uygulanarak değerlendirilmiştir. Gruplar arası farklılığın önemi DUNCAN çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Çizelge 4.13'te aynı zamanda bu değerlendirme sonuçlarını da yansıtmaktadır.

Çizelge 4.13 Vişne sularının analitik özelliklerinin proses basamakları arasındaki değişiminin istatistik analizi

ÖZELLİK	PROSES	X	S _x	MİN	MAX	F
MONOMERİK ANTOSİYANİN	Presleme	353.70	62.70	232.00	441.00	2.16
	Durultma	332.30	54.20	224.00	389.00	
	Filtrasyon	298.80	35.30	229.50	345.00	
	Evaporasyon	280.70	37.60	222.50	351.00	
	Prosesler arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir (p>0.05).					
DEGRADASYON İNDEKSİ	Presleme	8.30 C	1.04	6.50	10.10	50.07
	Durultma	11.47 B*	1.29	8.95	13.25	
	Filtrasyon	9.77 C	1.43	7.10	12.00	
	Evaporasyon	13.05 A*	1.63	9.95	15.50	
	Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.01).					
TOPLAM FENOLİK	Presleme	1781 AB	190	1423	2070	6.36
	Durultma	1688 B	188	1388	2034	
	Filtrasyon	1684 B	188	1405	2041	
	Evaporasyon	1867 A*	158	1595	2141	
	Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0.05).					
ANTİOKSİDAN KAPASİTE	Presleme	20.28	4.07	15.05	28.30	3.74
	Durultma	19.00	3.94	14.50	26.85	
	Filtrasyon	18.52	4.02	14.35	26.55	
	Evaporasyon	19.72	4.34	15.35	28.40	
	Prosesler arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir (p>0.05).					

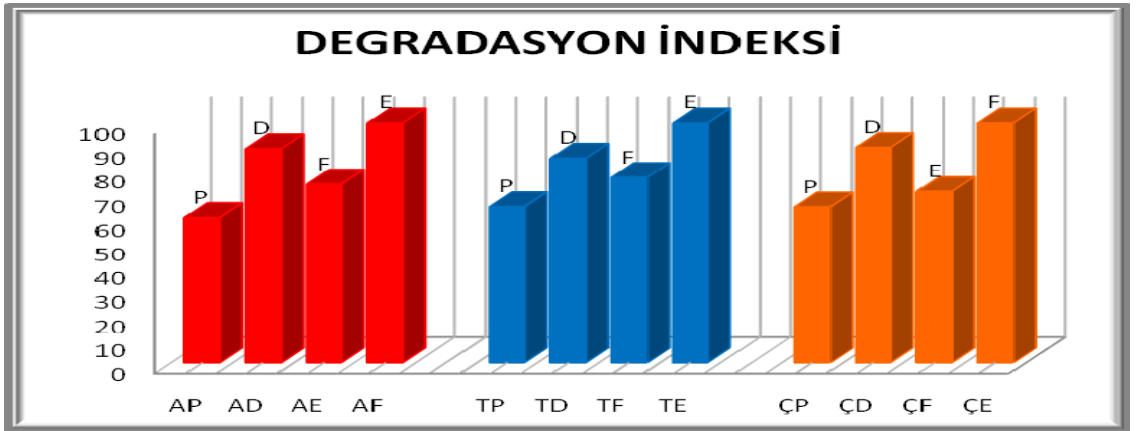
Çizelge 4.13'ten anlaşılacağı gibi monomerik antosiyanin miktarı açısından proses basamakları arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Başka bir deyişle, deneme koşullarında vişne suyundaki monomerik antosiyanin miktarı durultma, filtrasyon ve evaporasyon işlemlerinden etkilenmemiştir. Genel olarak farklar önemli bulunmasa da, özellikle Çubuk vişnesinde monomerik antosiyanin miktarının preslemeden evaporasyona doğru azaldığı görülmektedir (Şekil 4.2)



Şekil 4.2 Farklı proses basamaklarında vişne suyundaki monomerik antosiyanin miktarı

A: Vişne (Amasya), T: Vişne (Tokat), Ç: Vişne (Çubuk)
P: Presleme, D: Durultma, F: Filtrasyon, E: Evaporasyon

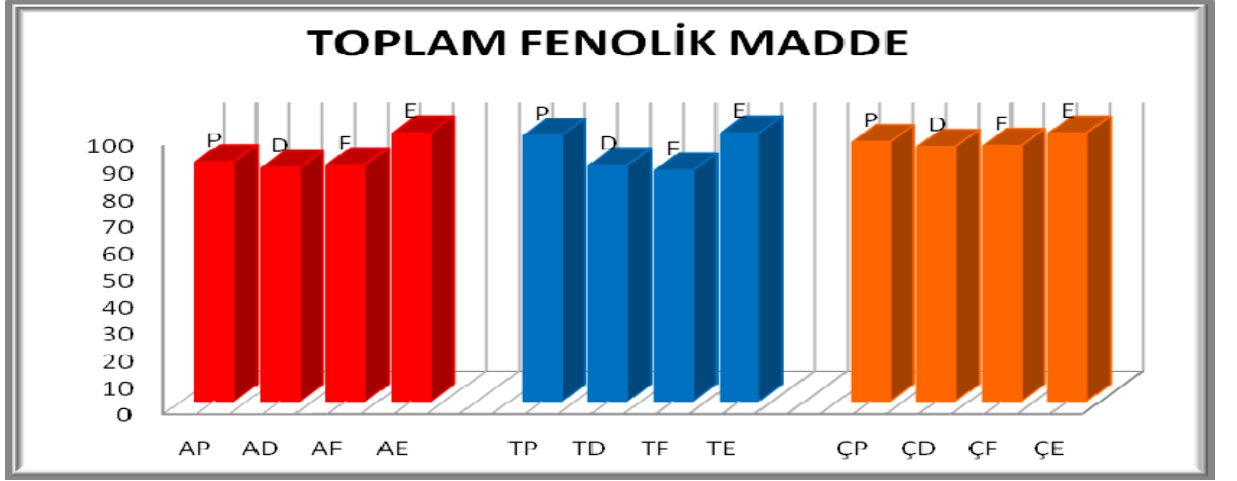
Buna karşılık degradasyon indeksi durultma ve evaporasyon basamağında diğeri iki basamaktan ve birbirinden farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Genel olarak ise, preslemeden evaporasyona doğru bir artış eğilimi izlenmektedir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3 Farklı proses basamaklarında vişne suyunda antosiyanin degradasyon indeksi

A: Vişne (Amasya), T: Vişne (Tokat), Ç: Vişne (Çubuk)
P: Presleme, D: Durultma, F: Filtrasyon, E: Evaporasyon

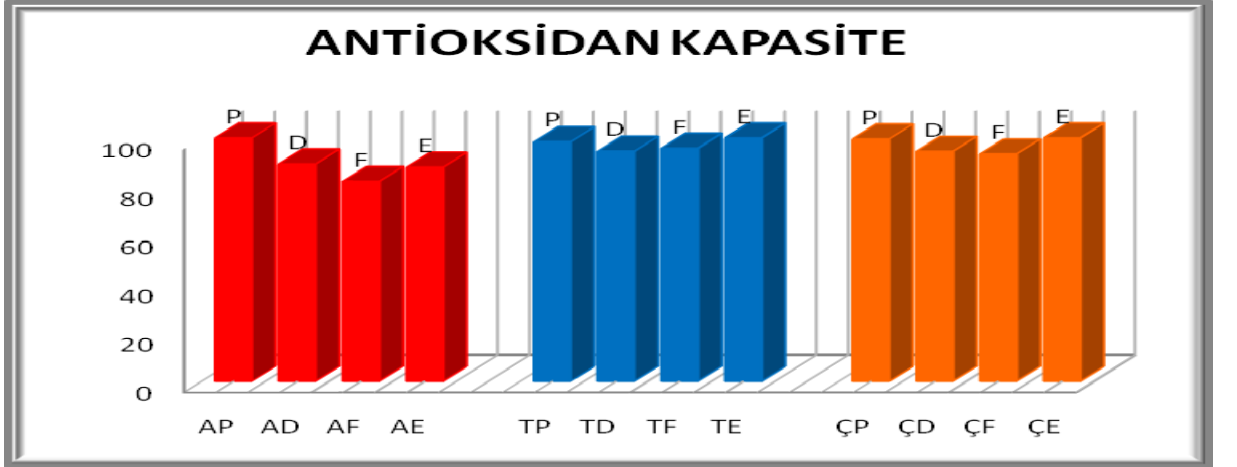
Toplam fenolik miktarı ise varyans analizi sonuçlarına göre yalnızca evaporasyon basamağında diğeri basamaklardan önemli bir fark ($P < 0.05$) göstermektedir. Bu durum, Şekil 4.4'de daha açık olarak görülmektedir.



Şekil 4.4 Farklı proses basamaklarında vişne suyundaki toplam fenolik madde miktarı

A: Vişne (Amasya), T: Vişne (Tokat), Ç: Vişne (Çubuk)
P: Presleme, D: Durultma, F: Filtrasyon, E: Evaporasyon

Antioksidan kapasite açısından ise prosesler arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmaması ilginçtir (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Farklı proses basamaklarında vişne suyunun antioksidan kapasitesi

A: Vişne (Amasya), T: Vişne (Tokat), Ç: Vişne (Çubuk)
P: Presleme, D: Durultma, F: Filtrasyon, E: Evaporasyon

Kısaca; preslemeden evaporasyona doğru monomerik antosiyanin miktarı artarken degradasyon indeksi artmakta, buna karşılık fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite deneme koşullarında bu proseslerden etkilenmemektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırma kapsamında farklı yörelerden sağlanan 11 farklı vişne ve bunlardan elde edilen vişne suyu örneklerinin bazı genel özellikleri ve ayrıca vişne suyunda antosiyanin miktarı ile antioksidan kapasite ve bunların durultma, filtrasyon, evaporasyon gibi proseslerden etkilenmesi araştırılmıştır

Vişne örneklerinde çeşide göre sap oranı % 2.14- 3.57, çekirdek oranı % 5.53-11.26 ve meyve eti oranı % 85.16-91.35 arasında değişmektedir. Meyve suyu randımanı ise meyve çeşidine bağlı olarak % 65.3-80.0 aralığındadır. Meyve suyu verimi bulguları Önal' ın (2002) bulguları (% 62.0-84.0) ile uyumlu iken, Karadeniz ve Ekşi' nin (1999) bulgularına (% 57.93-62.85) göre daha yüksektir. Bu farklılığın olası nedeni, meyve ve presleme farkıdır.

Briks derecesi vişne örneklerinde 17.6-22.0 arasında iken, vişne suyu örneklerinde 16.0 - 26.3 arasında değişmektedir. Ortalama ise sırası ile 18.8 ve 19.3'tür. Bu farkın nedeni, mayşe ısıtma sırasında bir miktar suyun buharlaşmasıdır. Vişne suyu pH değeri 2.85-3.16, titrasyon asitliği ise % 1.65-2.64 aralığında değişmektedir. Titrasyon asitliği sonuçları; Ekşi vd. (1980), Karadeniz ve Ekşi (1999) ve Bonerz vd. (2007)' in bulgularına yakındır. Bazı vişnelerde briksin, RSK değerlerinde (Bielig vd. 1987) vişne suyu için belirlenen maksimum limiti (19.3) aşması ise ilginçtir.

Vişne suyu örneklerinde objektif renk ölçümü de yapılmıştır. Bulgulara göre L değeri (parlaklık/aydınlık) 19.31 ile 19.77, a değeri +1.56 ile +3.33, b değeri ise -0.29 ile -0.92 arasındadır. Bilindiği bu sistemde +a değeri kırmızılığı, -b değeri ise maviliği göstermektedir. Bulgular, vişne çeşitleri arasında renk açısından önemli farklar bulunduğunu göstermektedir. Varyasyon katsayılarının yüksekliği de (a için % 23.73, b için % 36.70) bunu doğrulamaktadır.

Bu araştırmanın bulgularına göre vişne suyunda monomerik antosiyanin miktarı 350-633 mg/L, degradasyon indeksi ise % 9.5-32.9 gibi oldukça geniş bir aralıkta değişmektedir. Ortalama değer ise monomerik antosiyanin için 471.5 mg/L,

degradasyon indeksi için %19.59'dur. Monomerik antosiyanin miktarı ile degradasyon indeksi (polimerik renk yüzdesi), vişne suyunun renk koyuluğu ve doğallığının değerlendirilmesi açısından önemlidir. Ochoa vd. (2001)' in Montmorency vişne çeşidinde ve Blando vd. (2004) farklı vişne çeşitlerinde belirlediği monomerik antosiyanin miktarları sırası ile (25.2 mg/100g ve 27.8-80.4 mg/100g) saptamıştır, ayrıca Kim vd. (2005) da 49.1-109.2 mg/100g olarak belirlemiştir. Kirakosyan vd. (2009), vişne ve vişne ürünleri monomerik antosiyaninleri pH diferansiyel yöntemi ile 62-1741 µg/g saptarken, Bonerz vd. (2007) vişne suları için aynı analizi HPLC ile yapmış ve sonuçları 569-858 mg/L olarak vermiştir. Monomerik antosiyanin tayini sonuçları yazılan bu literatür sonuçları ile paralellik göstermektedir. Buna karşılık, Karadeniz ve Ekşi (1999) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları (119-157 mg/L), bu çalışmanın bulgularına göre düşüktür.

Vişne suyu örneklerinde saptanan toplam fenolik miktarı ortalama 1947 mg/L dir ve 1510-2550 mg/L arasında değişmektedir. TEAC yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite ise ortalama 28.47 mmol/L dir ve 19.93-37.87 mmol/L arasında bulunmaktadır.

Fenolik madde sonuçları; değişim aralığı açısından Kim vd. (2005)' nin (161.7-312.4 mg/100g), Bonerz vd. (2007)' in (2704-4998 mg/L) ve Kirakosyan vd. (2009)' in (2541-12665 µg/g) bulguları ile uyumludur.

Antioksidan aktivite sonuçları; 3 farklı vişne çeşidinde Blando vd. (2004) tarafından saptanan (2000-2600 µmol TE/100g) ve 5 farklı vişne çeşidinde Bonerz vd. (2007) tarafından saptanan (27.5-54.6 mmol/L trolox) sonuçlar ile paralellik göstermektedir. Buna karşılık Kirakosyan vd. (2009)' in vişnede saptadığı değerlerin (9.804-9.565 mmol TEAC/L) bu araştırmanın bulgularına göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun nedeni de kuşkusuz vişne materyali arasındaki çeşit ve yöre farklılığıdır.

Vişne suyunda antioksidan kapasite ile monomerik antosiyanin ve degradasyon indeksi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Buna karşılık toplam fenolik düzeyi ile antioksidan kapasite arasında doğrusal bir ilişki ve istatistik olarak önemli bir

korelasyon ($p<0.01$) saptanmıştır. Bu durum, vişne suyunu antioksidan kapasitesinin daha çok antosiyanin dışındaki fenoliklerden etkilendiğini göstermektedir.

HPLC analizine göre vişne suyunun başat antosiyanini 140.3-320.9 mg/L ile siyanidin-3-glukozilrutinozittir. Bunu 35.4-85.5 mg/L ile siyanidin-3-rutinozit ve 2.6-21.5 mg/L ile siyanidin-3-soforozit izlemektedir. Bu bulgular; Hang ve Wrolstad (1990), Wang vd. (1997), Blando vd. (2004), Will vd. (2007)' nin bulguları ile de doğrulanmaktadır. Ayrıca Shrickhande ve Francis (1971), Chandra vd. (2001), Kim vd. (2005), Bonerz vd. (2007), Kirakosyan vd. (2009) tarafından yapılan çalışmalarda bu antosiyaninlere ek olarak az miktarlarda peonidin-3-rutinozit tespit edilmiştir.

Monomerik antosiyanin, degradasyon indeksi ile toplam fenolik miktarı ve antioksidan kapasitenin işleme sırasında değişimini belirlemek amacı ile presleme, durultma, filtrasyon ve evaporasyon sonrası alınan vişne suyu örnekleri analiz edilmiştir.

Bulgulara uygulanan varyans analizine göre monomerik antosiyanin ve antioksidan kapasite açısından proses basamakları arasında istatistik olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Toplam fenolik açısından evaporasyon, degradasyon indeksi açısından ise durultma ve evaporasyon işlemlerinin etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

KAYNAKLAR

- Anonymous. 2009. Web Sitesi: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cyanidin-3-glucosid.svg> Wikimedia commons. Erişim Tarihi: 11.09.2009.
- Anonymous. 2009. R&C Chemical. Web sitesi. http://www.rdchemicals.com/chemicals.php?mode=details&mol_id=7984 Erişim Tarihi: 12.09.2009.
- Anonymous. 2009. R&C Chemical. Web sitesi. http://www.rdchemicals.com/chemicals.php?mode=details&mol_id=7980 Erişim Tarihi: 12.09.2009.
- Anonymous. 2008. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu. Web sitesi. <http://www.tuik.gov.tr> Erişim Tarihi: 23.06.2009
- Anonymous. 2008. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Web sitesi: http://www.tarim.gov.tr/uretim/BitkiselUretim,Kiraz_Ve_Visne_Yetistiriciligi.html Erişim Tarihi: 23.06.2009.
- Anonymous 2008. Vişnenin Anavatanı Kuzey Anadolu Dağları, Giresun' dan çıktık yola. 4 Mevsim Meyve Suyu, 6(1), 8-9.
- Anonymous. 2007. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. Web sitesi: <http://faostat.fao.org/default.aspx> Erişim Tarihi:10.06.2009.
- Anonymous. 1998. Anthocyanins by HPLC. IFU-Analysis Nr. 71. International Federation of Fruit Producers. Paris.
- Anonymous. 1996. Determination of titratable acidity. IFU-Analysis Nr. 3. International Federation of Fruit Producers. Paris.
- Anonymous. 1996. Hunter lab color scale applications note, vol.8, No.9, Hunter associates Lab., Virginia, pp. 1-4.
- Anonymous. 1991. Determination of soluble solids (indirect method by refractometry). IFU-Analysis Nr. 8. International Federation of Fruit Producers. Paris.
- Anonymous. 1990. Code of Practice for evaluation of fruit and vegetable juices. A.I.J.N. Brussel.

- Asafi, N. ve Cemeroglu, B. 2000. Vişne ve Nar Suyu ve Konsantratlarında Antosiyaninlerin Degradasyonu, *Gıda* 25(6): 407-411p.
- Ataie-Jafari, A., Hosseini, S., Karimi, F. and Pajouhi, M. 2008. Effects of sour cherry juice on blood glucose and some cardiovascular risk factors improvements in diabetic women. *Nutrition & Food Science*, 38, 4: 355-360.
- Başer, K.H.C. ve Kırimer, N. Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, Eds.
- Bielig, H.J., Faethe, W., Fuchs, G., Koch, J., Wallrauch, S. and Wucherpfenning, K.1987. RSK-Values. The Complete Manual. Verlag Flüssiges Obst GmbH. Schönborn. 197 s.
- Blando, F., Gerardi, C. and Nicoletti, I. 2004. Sour Cherry (*Prunus cerasus* L) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004:5, 253–258.
- Bonerz, D., Würth, K., Dietrich, H. and Will, F. 2007. Analytical characterization and impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices made from five different sour cherry cultivars. *Eur Food Res Techn.*, 224, 3: 355-364.
- Borowska, E. J., Szajdek, A. and Borowski, J. 2005. Antioksidant properties of fruits, vegetables and their products. *Fruit Processing*, 15, 38-43.
- Burkhardt, S., Tan, D. X., Manchester, L. C., Hardeland, R. and Reiter, R. J. 2001. Detection and Quantification of the Antioxidant Melatonin in Montmorency and Balaton Tart Cherries (*Prunus cerasus*). *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4898-4902.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. L., Páez- Hernández, M. E., Rodriguez, J. A. and Galán-Vidal, C. A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859–871.
- Chandra, A., Nair, M. G. and Iezzoni, A.F. 1993. Isolation and Stabilization of Anthocyanins from Tart Cherries (*Prunus cerasus* L.) *J. Agrlc. Food Chem.* 47, 1062-1065
- Chandra, A., Rana, J. and Li, Y. 2001. Separation, Identification, Quantification, and Method Validation of Anthocyanins in Botanical Supplement Raw Materials by HPLC and HPLC-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3515-3521

- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S., Erbaş, Ş., Ünal, Ç. ve Yıldız, O. 1994. Vişne ve nar sularının kimyasal tanı değerlerinin saptanması üzerine araştırmalar. TÜBİTAK, TGGAG-29/A. Ankara.
- Cemeroğlu B., Velioğlu S. and Işık S. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59, 6, 1216-1218.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2004. Meyve ve sebzelerin bileşimi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt I*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 1-188, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B. 2007. *Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*. No:34, 294s, Ankara.
- Clifford, M. N. 2000. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary Burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80:1063-1072.
- Dechent, H. M. 2000. Bioactive polyphenolics from fruit and plants. *Fruit Processing*, No:8, 312-316.
- Dekazos, E. D. 1970. Anthocyanin pigments in red part cherries. *J. Food Science*, 35, 237.
- Ekşi, A., Reicheneder, E. und Kieninger, H. 1980. Über die chemische Zusammensetzung der Sauerkirshcmuttersaeftte aus verschiedenen Sorten. *Flüssiges Obst*, 47: 494-496.
- Ekşi, A. 1988. Meyve suyu durultma tekniği. *Gıda Teknolojisi Derneği yayını*, Ankara, 127 s.
- Ekşi, A. ve Akdağ, E. 2008. 2006'dan 2007'ye Türkiye' de meyve suyu üretimi ve tüketimi. *Dört Mevsim Meyve Suyu*, 6, 2, 18-23.
- Erbaş, S. 1981. Vişne suyunda yapılan tağşişin saptanma olanakları üzerine araştırma (Doktora Tezi). TÜBİTAK, TOAG 396. Ankara. 34s.
- Ersus, S. ve Yurdagel, Ü. 2006. Meyve ve Sebzelerde Bulunan Antosiyaninlerin Kimyasal Yapısı ve Stabilesini Etkileyen Faktörler (Chemical Composition and Factors Affecting the Stability of Anthocyanins in Fruit and Vegetables), *Dünya Gıda*, 10: 78-87 p.

- Forni, E., Polesello, A. and Torreggiani, D. 1993. Changes in anthocyanins in cherries (*Prunus avium*) during osmodehydration, pasteurization and storage. *Food Chem.* 48; 295-299.
- Fuleki, T. and Francis, F. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Science*, 33, 72-77, 78-83.
- Garcia-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. 2004. *Food Chemistry*, 84, 13–18.
- Gonçalves, B., Landbo, A. K., Knudsen, D., Silva, A. P., Moutinho-Pereira, J., Rosa, E. and Meyer, A. S. 2004. Effect of Ripeness and Postharvest Storage on the Phenolic Profiles of Cherries (*Prunus avium* L.) *J. Agric. Food Chem.*, 52, 523-530.
- Giusti, M. M., Rodriguez-Saona, L. E. and Wrolstad, R. E. 1999. Molar Absorptivity and Color Characteristics of Acylated and Non-Acylated Pelargonidin-Based Anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 47 (11), 4631-4637
- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 2000. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. Web sitesi. <http://www.does.org/masterli/facsample.htm>. Erişim Tarihi: 27.10.2009
- Hang, V. and Wrolstad, R. E. 1990. Characterization of Anthocyanin-Containing Colorants and Fruit Juices by HPLC/Photodiode Array Detection?. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 3, 698-708.
- Hang, V. and Wrolstad, R. E. 1990. Use of HPLC Separation/Photodiode Array Detection for Characterization of Anthocyanins?. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 3, 708-715.
- Harborne, J. B. and Hall, E. 1964. Plant Polyphenols-XIII. The Systematic Distribution and Origin of Anthocyanins Containing Branched Trisaccharides. *Phytochemistry* 3, 453-463.
- Jayaprakasam, B., Vareed, K. S., Olson, L. K. and Nair, G. M. 2005. Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1: 28-31.
- Kang, S.Y., Seram, N. P., Nair, M. G. and Bourquin, L.D. 2003. Tart cherry anthocyanins inhibit tumor development in ApcMin mice and reduce proliferation of human colon cancer cells. *Cancer Letters*, 194, 13–19.

- Karadeniz, F. ve Ekşi, A. 1999. Mayse Enzimasyonunun Visne Suyu Randımanı ve Kimyasal Bileşimi Üzerine Etkisi. Tr. J. of Agriculture and Forestry, Ankara, 347-353.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Koca, N. and Soyer, Y. 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey, Turk J Agric For 29, 297-303.
- Kesici, T. ve Kocabaş, Z. Biyoistatistik. Anakara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Basımevi, 2007. 369s.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora tezi (basılmamış), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kim, D. O., Heo, H. J., Kim, Y. J., Yang, H. S. and Lee, C. Y. 2005. Sweet and Sour Cherry Phenolics and Their Protective Effects on Neuronal Cells. J. Agric. Food Chemistry, 53, 9921-9927.
- Kirakosyan, A., Seymour, E.M., Llanes, D. E. U., Kaufman, P. B. and Bolling, S. F. 2009. Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products. Food Chemistry, 115, 20-25.
- Koswig, S. 2008. A review of the analytical methods to determine accidental or deliberate presence of foreign fruit. Asia Juice Conference, Agra Food Ltd. London.
- Lee, K. W., Kim, J. Y., Lee, H. J. and Lee, C. Y. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and higher antioksidant capacity than teas and red wine. J. Agric. Food Chem. 51,25, 7292-7295.
- Li, K. C. and Wagenknecht, A. C. 1956. The anthocyanin pigments of sour cherries. J. Am. Chem. Soc., 78, 979.
- MacDonald, A. 2005. The colour of health. Fruit Processing, 15, 6-9.
- Markakis, P. 1960. Zone electrophoresis of anthocyanins. Nature, 187, 1092.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC Pres. London. 362 p.
- Meyer, A. S. 1999. Antioksidant activity of phenolic compounds in grape juice and prune juice on human low-density lipoproteins. Fruit Processing, 9, 426-430.

- Miller, N. J., Diplock, A. T. and Rice-Evans, C. A. 1995. Evaluation of the total antioxidative activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *J. Agric. Food. Chem.*, 43. 1794-1801.
- Miller, N.J. and Rice-Evans, C.A. 1997. The relative contribution of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*,60,3, 331-337.
- Moncada, M.C., Moura, S. M. and Melo, J. 2003. Complexation of aluminum(III) by anthocyanins and synthetic flavylum salts A source for blue and purple color. *Inorganica Chimica Acta* 356, 51-61.
- Ochoa, M. R., Kessler, A. G., Michelis, A. D., Mugridge, A. and Chaves, A. R. 2001. Kinetics of colour change of raspberry, sweet (prunus avium) and sour (prunus cerasus) cherries preserves packed in glas containers: light and room temperature effects. *Journal of Food Engineering*, 49, 55-62.
- Önal, M. K. 2002. Ege Bölgesi'nden toplanan vişne (Prunus cerasus L.) gen kaynakları materyalinin değerlendirilmesi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,15(2), 39-44.
- Reiter, R. J., Tan, D.-X., Leon, J., Kılıç, U. and Kılıç E. 2005. When Melatonin Gets on Your Nerves: Its Beneficial Actions in Experimental Models of Stroke. *Exp Biol Med.* 230:104–117.
- Rentschler, H. und Taner, H. 1976. Anleitung für die Getraenke-Analyse, Eidg. Forschungsanstalt, Waedenswil, Germany.
- Saldamlı, İ. (ed.) 2005. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2. baskı. 587 s. Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi. Ankara.
- Salıcı, E., Gokmen, V. and Acar, J. 2005. Evaloation of total antioksidan aktivities of freshly squeezed and commercial orange beverages as influenced by their ascorbic acid and total phenolics constituents. *Fruit Processing*, No:3, 15, 38-43.
- Serafini, M., Bellocco, R., Wolk, A. and Ekström, A. M. 2002. Total Antioxidant Potential Of Fruit And Vegetables And Risk Of Gastric Cancer. *Gastroenterology*; 123: 985–991.
- Seeram, N. P., Bourquin, L.D. and Nair, M. G. 2001. Degradation Products of Cyanidin Glycosides from Tart Cherries and Their Bioactivities. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4924-4929.

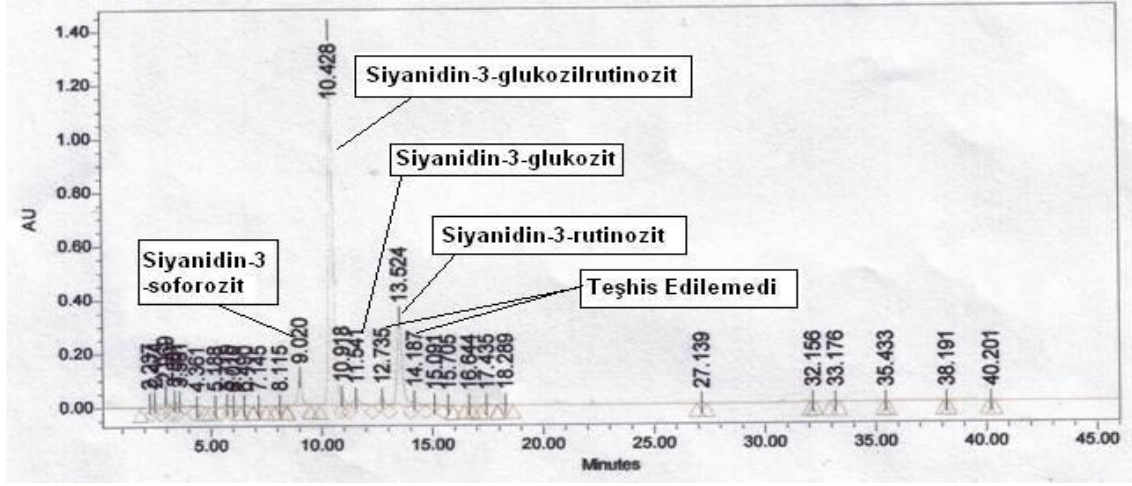
- Shrickhande, A. J. and Francis, F. J. 1973. Anthocyanin pigments of sour cherry. *J. Food Science*. 38-649.
- Šimunić, V., Kovač, S., Gašo-Sokač, D., Pfannhauser, W. and Murkovic M. 2005. Determination of anthocyanins in four Croatian cultivars of sour cherries (*Prunus cerasus*). *Eur. Food Res. Technol.*, 220:575–578.
- Stintzing, F.C., Stintzing, A. S., Carle, R., Frei, B. and Wrolstad, R. E. 2002. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments *J. Agric. Food Chem.* 50, 6172-6181.
- Toht-Marcus, M., Boross, F. and Molnar, P. 1993. Characterisation of hungarian sour cherry fruit juices and juice product. IFU Symposium, (Page: 329-334). Paris.
- Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Norinobu, S., Choi, S.W., Kawakishi, S. and Osawa, T. 1994. Antioxidative Activity of the Anthocyanin Pigments Cyanidin 3-O-β-D-Glucoside and Cyanidin. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 2407-2410.
- Türkmen, İ. 2008. Nar suyunda gerçeklik kriteri olarak sorbitol içeriği (Yüksek Lisans Tezi) Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 53s.
- Yu, H.-S. and Reither, R. J. 1992. Melatonin, biosynthesis, physiological effects, and clinical applications. CRC Pres. 534s. Florida.
- Velioğlu, S. ve Yıldız O. 1996. Türk vişne sularının kimyasal bileşimi. *Gıda*, 21, 103-107.
- Wander, M. 1985 Anthocyanins in sour cherries. *Gartenbauwissenschaft*, 50, 183.
- Wang, H., Cao, G. and Prior, R. L. 1996. Total Antioxidant Capacity of Fruits. *J. Agric. Food Chem*, 44, 701-705.
- Wang, H., Nair, M. G., Iezzoni, A. F., Strasburg, G. M., Booren, A. M. and Gray, J. I. 1997. Quantification and Characterization of Anthocyanins in Balaton Tart Cherries. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2556-2560.
- Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, G. M., Chang, Y. C., Booren, A. M., Gray, J. I. and DeWitt, D. L. 1999. Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Anthocyanins and Their Aglycon, Cyanidin, from Tart Cherries. *J. Nat. Prod.*, 62, 294-296.

- Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, G. M., Booren, A. M. and Gray, J. I. . 1999. Novel Antioxidant Compounds from Tart Cherries (*Prunus cerasus*). *J. Nat. Prod.*, 62, 86-88.
- Will, F. and Dietrich, H. 2006. Optimised processing technique for colour- and cloud-stable plum juices and stability of bioactive substances. *Eur Food Res. Techn.*, 223, 3: 419-425.
- Will, F., Ludwig, M., Bonerz, D. and Dietrich, H. 2007. Anthocyanins in sour cherry juices and nectars. *Fruit processing*, 17, 262-268

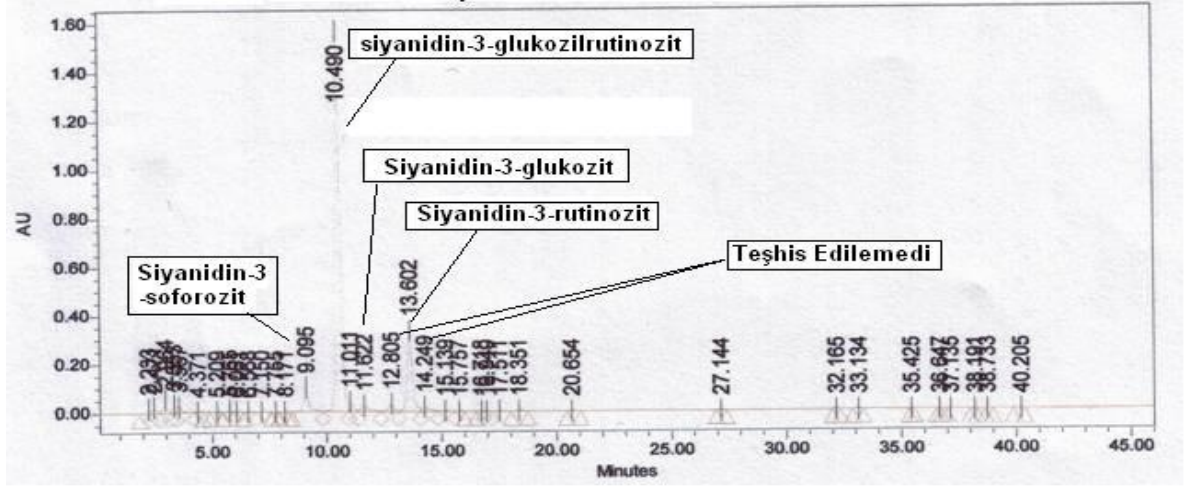
EKLER

- EK 1** 1353 Yalova çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 2 1408 Yalova çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 3 Amasya çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 4 Tokat çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 5 Macar Haymana çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 6 Kütahya Haymana çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 7 Çubuk çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 8 Eber çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 9 Dereçine çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 10 Sultandağ çeşidi vişne suyunun antosiyanin kromatogramı
EK 11 Siyanidin-3-glukozit standardının antosiyanin kromatogramı

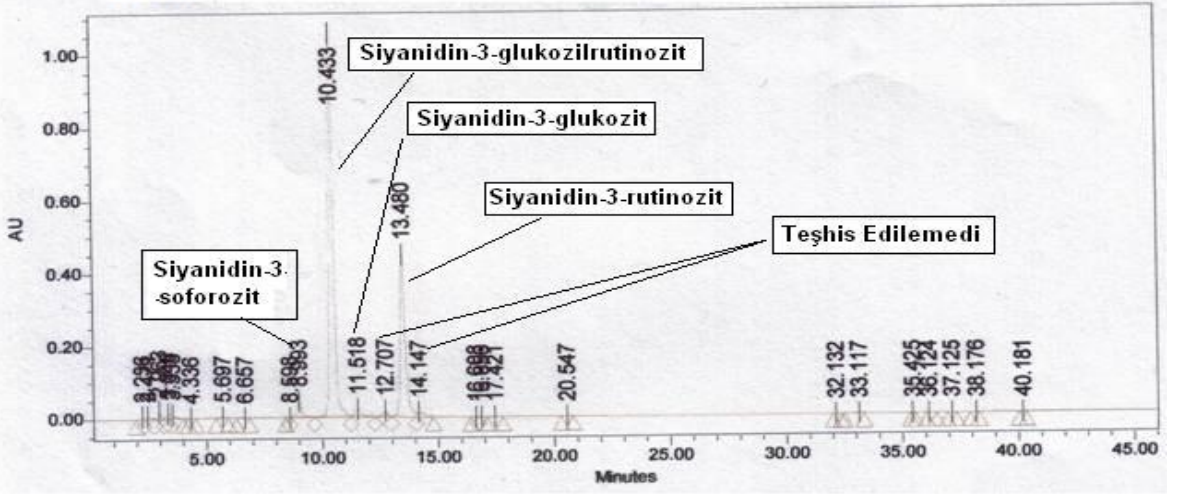
EK 1: 1353 YALOVA ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



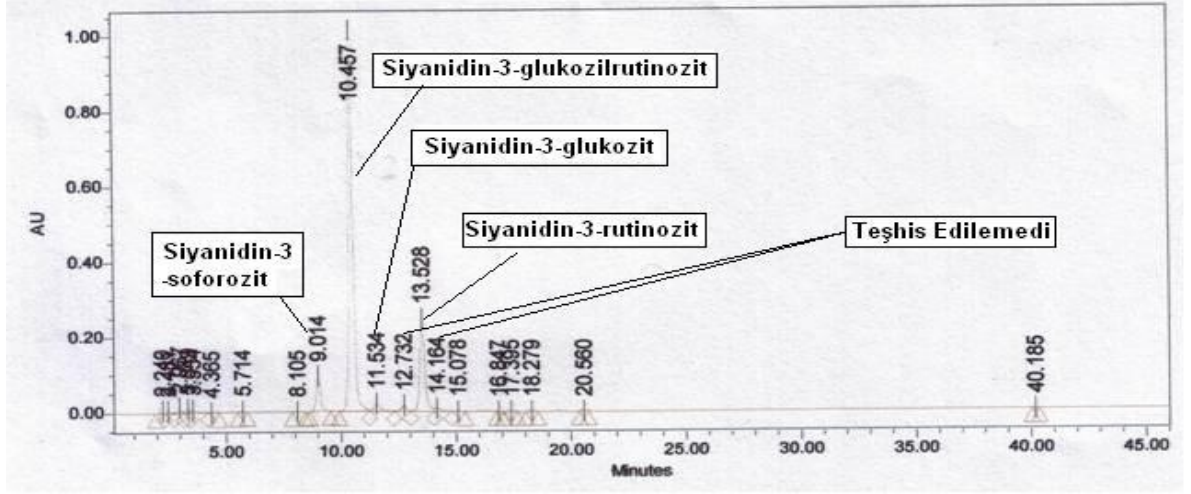
EK 2: 1408 YALOVA VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



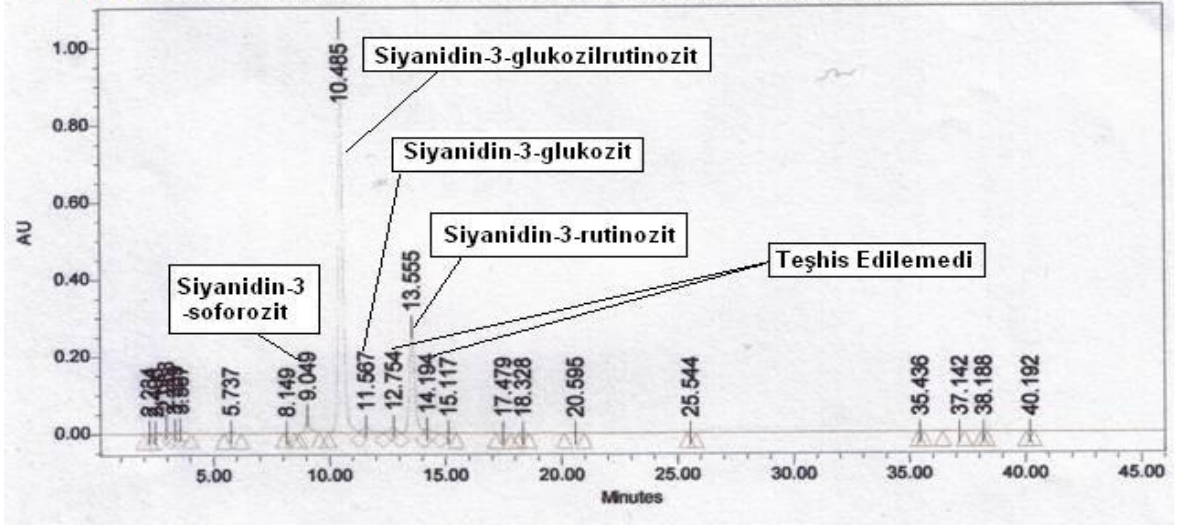
EK 3: AMASYA ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



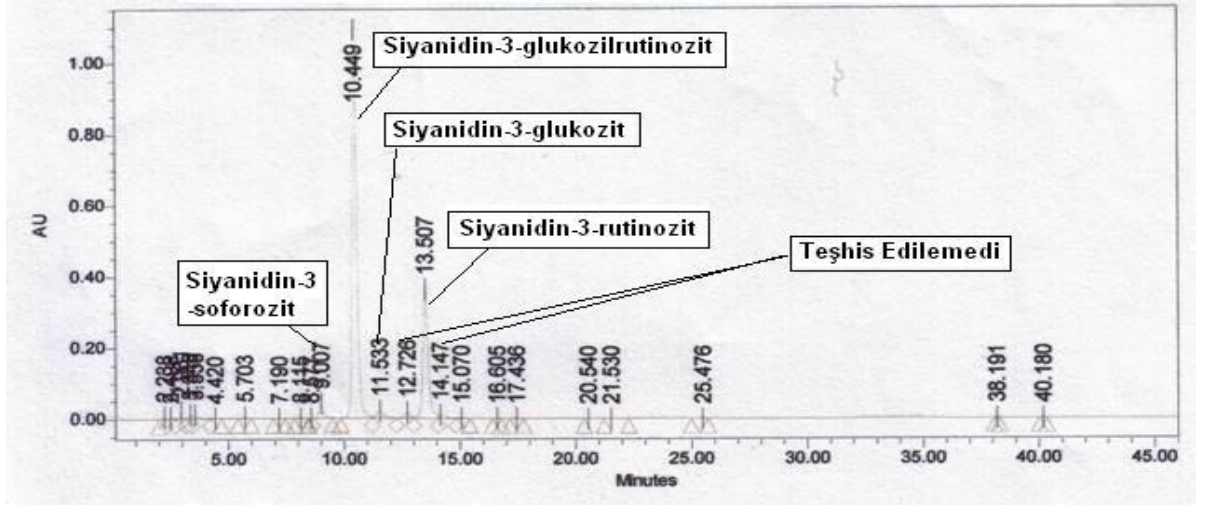
EK 4: TOKAT ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



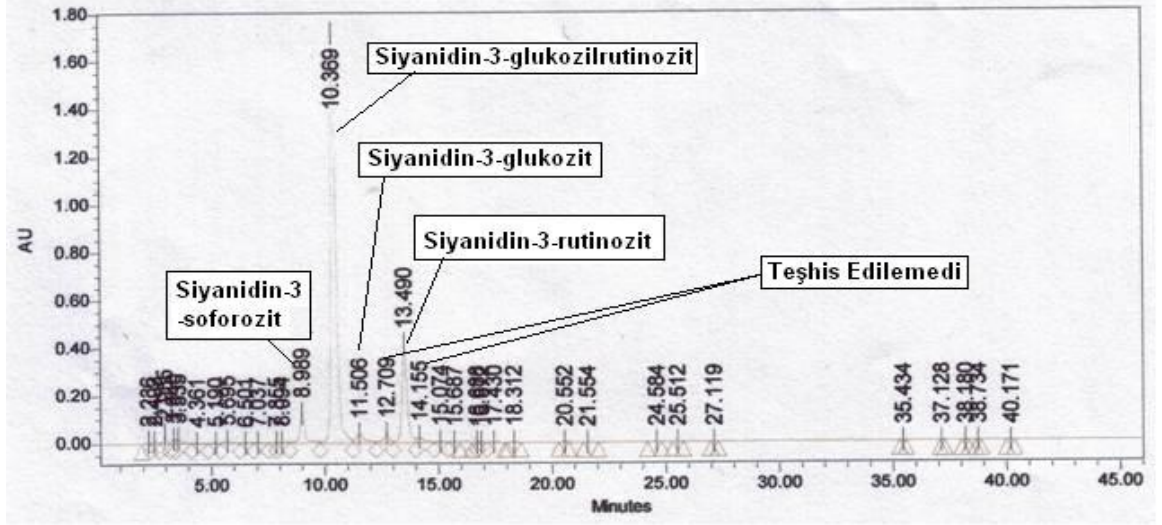
EK 5: MACAR HAYMANA ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



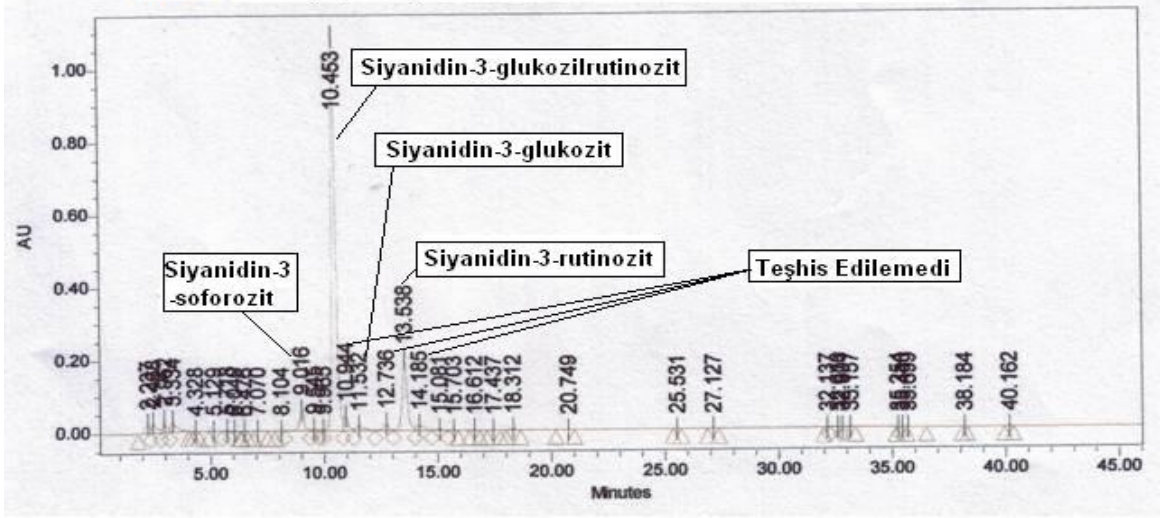
EK 6: KÜTAHYA HAYMANA ÇEŞİDİ VİŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



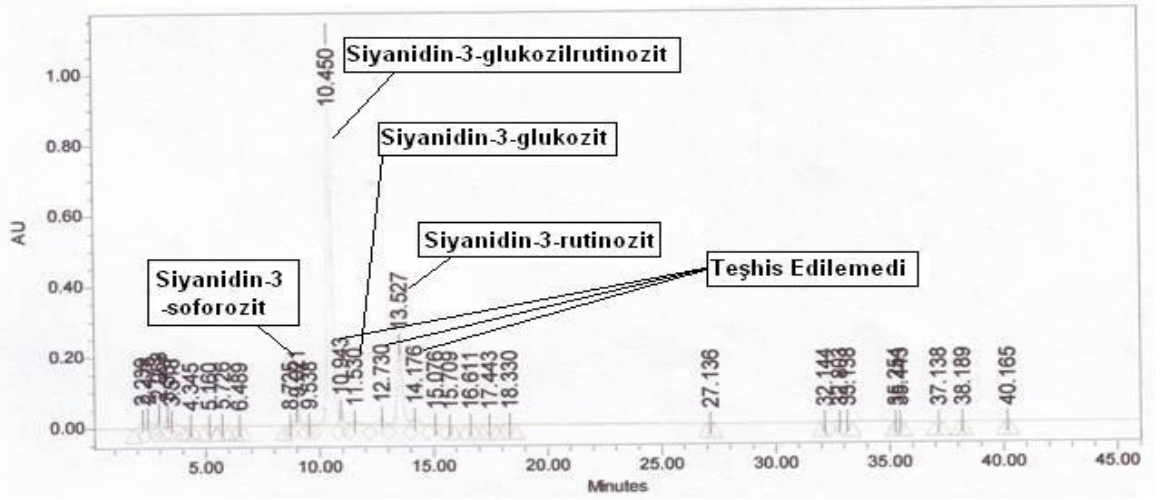
EK 7: ÇUBUK ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



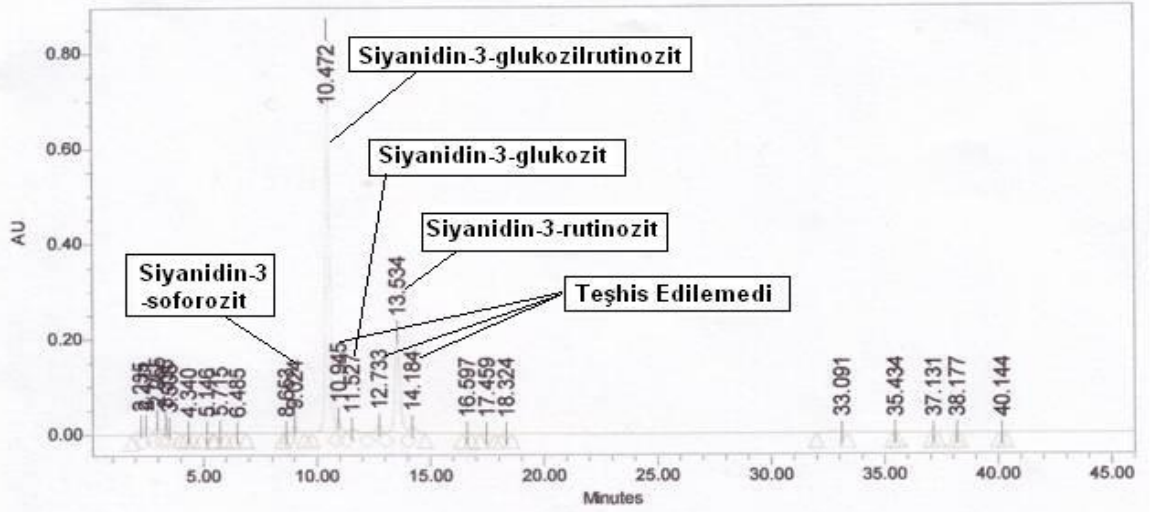
EK 8: EBER ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



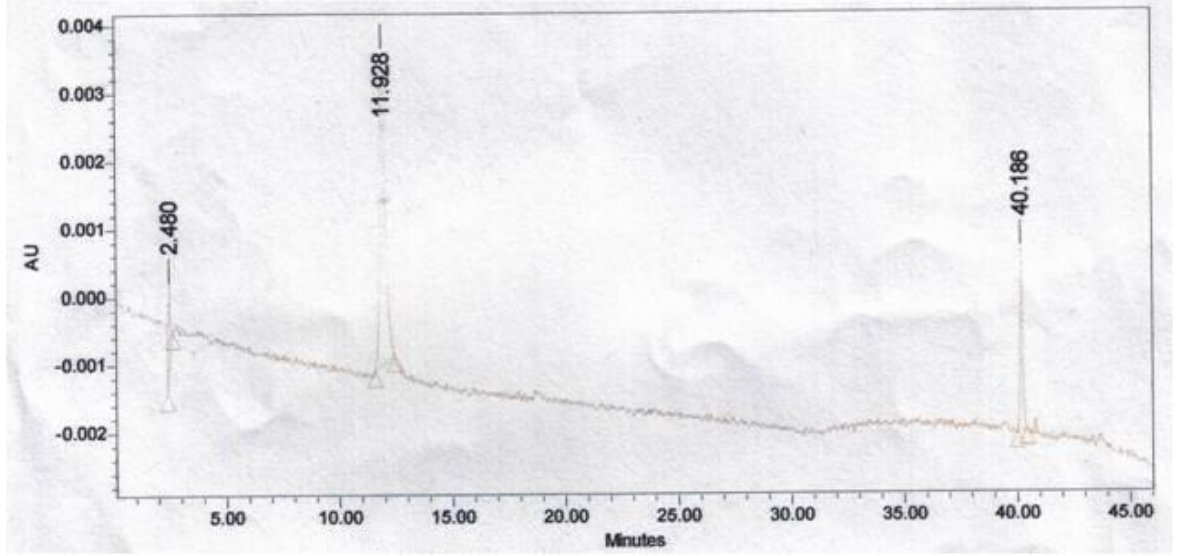
EK 9: DEREÇİNE ÇEŞİDİ VIŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



EK 10: SULTANDAĞ ÇEŞİDİ VİŞNE SUYUNUN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



EK 11: SİYANİDİN-3-GLUKOZİT STANDARININ ANTOSİYANİN KROMATOGRAMI



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : İrem DAMAR
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 1984
Medeni Durumu : Bekar
Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Kalaba Anadolu Lisesi (1995-2002)
Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Gıda Mühendisliği Bölümü (2002-2007)
Yüksek lisans : Ankara Üniversitesi fen bilimleri enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Eylül 2007- Şubat 2010)

Çalıştığı Kurum

Trakya Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Araştırma Görevlisi, 2009-

Bilimsel Etkinlikler

“Avrupa Ülkelerinde Ticari Sofralık Zeytin ile Zeytinyağı Üretim Teknikleri Konusunda Eğitim (TOTE)” başlıklı AB Projelerinden Leonardo da Vinci Projesi yararlanıcısı, 07.2006 - 10.2006

I.Ulusal Öğrenci Zeytin Kongresi, Edremit/BALIKESİR, “Avrupa Ülkelerinde Ticari Sofralık Zeytin ile Zeytinyağı Üretim Teknikleri Konusunda Eğitim-I-Zeytincilik Araştırma Sahası” başlıklı sözlü bildiri, 17-18 Mayıs 2008

“Vişne Suyunun Antosiyanin Profili Ve Antioksidan Kapasitesi Ve İşleme Sırasında Değişimi” başlıklı 108 O 610 numaralı tübitak hızlı destek projesi bursiyeri, 11.2008-11.2009