

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ARONYA (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) MEYVE SUYU  
ANTOSİYANİNLERİNİN ISIL VE DEPOLAMA  
STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Aysun ÖZTÜRK**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**NİSAN 2023**



T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ARONYA (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) MEYVE SUYU  
ANTOSİYANİNLERİNİN ISIL VE DEPOLAMA  
STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Aysun ÖZTÜRK**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Oktay YEMİŞ**

**NİSAN 2023**



Aysun ÖZTÜRK tarafından hazırlanan “Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) Meyve Suyu Antosiyaninlerinin Isıl ve Depolama Stabilitelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 28.04.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

### **Tez Jürisi**

**Jüri Başkanı :** **Prof. Dr. Yusuf YILMAZ**  
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

**Jüri Üyesi :** **Prof. Dr. Zehra AYHAN**  
Sakarya Üniversitesi

**Jüri Üyesi :** **Prof. Dr. Hande Selen ERGE**  
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

**Jüri Üyesi :** **Prof. Dr. Omca DEMİRKOL**  
Sakarya Üniversitesi

**Jüri Üyesi :** **Doç. Dr. Oktay YEMİŞ** (Danışman)  
Sakarya Üniversitesi



## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “ARONYA (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) MEYVE SUYU ANTOSİYANİNLERİNİN ISIL VE DEPOLAMA STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

28/04/2023

Aysun ÖZTÜRK





*Sevgili babam Mehmet Ali ÖZTÜRK'e*



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi birikimlerini ve tecrübelerini benimle paylaşan, çalışmamın her aşamasında çözüm odaklı yaklaşımlarıyla bana yol gösteren çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Oktay YEMİŞ'e teşekkürlerimi sunarım. Tez izleme komitelerinde değerli ve önemli katkılarıyla tezimin gelişmesinde büyük destekleri olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Zehra AYHAN'a ve Prof. Dr. Hande Selen ERGE'ye çok teşekkür ederim. Bu zor ama bir o kadar da öğretici süreçte hem akademik hem de insanı özellikleriyle bana örnek olan desteğini daima hissettiğim Doç. Dr. Gökçe POLAT YEMİŞ'e sonsuz teşekkürler.

Ayrıca bu çalışmamın maddi desteklerini sağlayan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırma ve Politikalar Genel Müdürlüğü (Proje No: TAGEM/HSGYAD/17/A03/P01/120), Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü ve Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Komisyon Başkanlığı'na (Proje No: 2018-50-02-01) teşekkürlerimi sunuyorum. Araştırmam kapsamında meyve suyu işleme sırasında kullanılan enzim ve durultma yardımcı maddelerini sağlayan SİNERJİ A.Ş.'ye, meyve suyu proses bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Sayın Mehmet M. CAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamın bir bölümünü gerçekleştirdiğim, hem mesleki bilgi hem de bilimsel bakış açımına çok önemli katkılar sağlayan Hohenheim Üniversitesi (Stuttgart, Almanya), Gıda ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Bitkisel Gıdalar Teknoloji ve Analizleri Bölüm Başkanı Prof. Dr. habil. Dr. h. c. Reinhold CARLE ve ekibine sonsuz şükranlarımı sunarım. Ayrıca süpervizör olarak liderliği, yönlendirici katkı ve desteği için Dr. Christof STEINGASS'a, öğrettikleri ve emekleri için Dr. Sevcan ERŞAN'a, orada bulunduğum süre boyunca arkadaşlıkları için Dr. Graziana DIFONZO ve Dr. Talita ARAÚJO'ya en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Enstitü Müdürüm Sayın Dr. Yılmaz BOZ'a, Ülkemizi ve beni aronya ile tanıştıran Sayın Zir. Müh. Ayşe FİDANCI'ya, doktora çalışmalarımda hem teknik bilgi hem de motivasyon desteği aldığım, bir bilim insanı olarak fikir ve tezime katkılarıyla daima yanımda olan Dr. Yasin ÖZDEMİR'e çok teşekkür ederim. Ayrıca çalışmam sırasında destek ve anlayışlarından dolayı bölüm arkadaşlarım Dr. Seda KAYAHAN ve Gıda Yük. Müh. Hasret ALTUNKANAT'a, emekli Bölüm Başkanım Dr. Seçil ERDOĞAN ve yeni Bölüm Başkanım Dr. Zekiye GÖKSEL'e, laborantımız ve arkadaşım Belgin UZUN ALTIPARMAK'a teşekkürlerimi sunarım. Bölümümüzde stajyer olarak bulunan ve tez çalışmalarımın farklı dönemlerinde önemli desteklerini aldığım Sümeyye KARTAL, Seçil AYDOĞAN COŞGUN, Burcu YILMAZ ve Nazar FENERCİ iyi ki vardınız, sonsuz teşekkürler.

Bu stresli, yorucu ve yoğun doktora sürecinde varlıklarıyla hayatım ve çalışmalarımı kolaylaştıran ve güzelleştiren isimlerini buraya sığdıramayacağım sevgili arkadaşlarım dostlarım sizlere de çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca bana olan inancıyla motivasyon kaynağım olan rahmetli canım babam Mehmet Ali ÖZTÜRK'e, daima yanımda ve en büyük destekçim olan canım annem Gülseren ÖZTÜRK'e bu yolculuktaki anlayış, sabır ve destekleri için canım kardeşlerim Aynur ÖZTÜRK ve Yusuf ÖZTÜRK'e sonsuz teşekkürler.

Aysun ÖZTÜRK



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>ix</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>xi</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>xvii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>xix</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>xxi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>xxiii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>5</b>
2.1. Aronya Meyvesi .....	5
2.1.1. Botanik ve pomolojik özellikleri.....	5
2.1.2. Dünyada ve Türkiye’de üretimi .....	6
2.1.3. Kullanım alanları.....	8
2.2. Aronya Meyvesinin Kimyasal Bileşimi .....	9
2.2.1. Fenolik bileşikler.....	13
2.2.2. Antosiyaninler .....	18
2.2.2.1. Antosiyaninlerin ısıl ve depolama stabiliteleleri.....	28
2.2.3. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve analizleri.....	32
2.2.3.1. Ultrases destekli ekstraksiyon .....	34
2.3. Aronya meyvesinin sağlık üzerine etkileri .....	36
2.3.1. Antioksidan aktivite özelliği .....	36
2.3.2. Antikanser özelliği .....	38
2.3.3. Antidiyabetik özelliği .....	39
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>43</b>
3.1. Materyal .....	43
3.1.1. Kimyasal malzemeler .....	43
3.2. Yöntem .....	44
3.2.1. Berrak aronya suyu optimizasyonu .....	44
3.2.1.1. Mayşe enzimasyonu (maserasyon) .....	45
3.2.1.2. Ham aronya suyunun durultulması .....	47
3.2.1.3. Filtrasyon .....	48
3.2.2. Berrak aronya suyu üretimi .....	48
3.2.3. Berrak aronya sularının konsantreye işlenmesi ve depolanması .....	50
3.2.4. Antosiyaninlerin ısıl stabilite deneyleri .....	50
3.2.5. Fiziksel analizler .....	51
3.2.5.1. pH değeri tayini.....	51
3.2.5.2. Suda çözünür kuru madde tayini.....	51
3.2.5.3. Toplam kuru madde analizi.....	51
3.2.5.4. Meyve suyu randımanı .....	52
3.2.5.5. Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi.....	52

3.2.5.6. Reflektans renk tayini.....	52
3.2.6. Kimyasal analizler.....	52
3.2.6.1. Titrasyon asitliği.....	52
3.2.6.2. C vitamini (L– Askorbik asit) analizi.....	53
3.2.6.3. Toplam fenolik madde analizi.....	53
3.2.6.4. Antioksidan aktivite analizleri .....	54
3.2.6.5. Toplam monomerik antosiyanin tayini .....	55
3.2.6.6. Durultma testleri.....	56
3.2.6.7. Antosiyaninlerin parçalanma ölçütleri .....	57
3.2.6.8. Aronya fenolik bileşiklerinin tanımlanması.....	59
3.2.6.9. Aronya fenolik bileşiklerinin meyve suyu prosesi sırasındaki değişimi .....	66
3.2.7. Kinetik katsayıların hesaplanması.....	69
3.2.7.1. Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması .....	70
3.2.7.2. Yarı ömür süresinin hesaplanması .....	70
3.2.7.3. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması .....	71
3.2.7.4. Q <sub>10</sub> değerlerinin hesaplanması .....	71
3.2.8. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi .....	72
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>73</b>
4.1. Viking ve Nero Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	73
4.2. Aronya Fenolik Bileşiklerinin Tanımlanması .....	77
4.2.1. Fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu.....	77
4.2.1.1. Ekstraksiyon solventinin seçimi.....	77
4.2.1.2. Ekstraksiyon döngü (tekrar) sayısı.....	79
4.2.1.3. Örneklere ön işlemin etkisi .....	80
4.2.1.4. Son ekstraksiyon prosedürü .....	81
4.2.2. HPLC ve UHPLC ayırımlarının karşılaştırılması .....	81
4.2.3. Aronya fenolik bileşiklerinin HPLC-DAD-ESI-MS <sup>n</sup> analizleri.....	82
4.2.4. Metot validasyon .....	85
4.2.5. Viking ve Nero çeşitlerine ait fenolik bileşiklerin HPLC-DAD analizi ..	87
4.3. Berrak Aronya Suyu Üretimi.....	90
4.3.1. Isıl işlem ve mayşe enzimasyonu .....	90
4.3.2. Ham aronya sularının durultulması .....	94
4.3.3. Aronya sularının filtrasyonu.....	97
4.4. Aronya Fenolik Bileşiklerinin Meyve Suyu Prosesi Sırasındaki Değişimi.....	98
4.5. Aronya Sularının Isıl ve Depolama Stabiliteleri .....	104
4.5.1. Viking ve Nero aronya suları antosiyaninlerinin ısıl stabilitesi .....	104
4.5.2. Farklı sıcaklıklarda ısıtılan Viking ve Nero sularının antosiyanin parçalanma ölçütleri .....	108
4.5.3. Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyaninlerdeki değişimler .....	112
4.5.4. Farklı sıcaklıklarda depolanan aronya suyu konsantrelerinin antosiyanin parçalanma ölçütleri .....	116
4.5.5. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler .....	120
4.5.6. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antioksidan aktivitelerindeki değişimler .....	123
4.5.7. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince reflektans değerlerindeki değişimler .....	128
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>135</b>

<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>141</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>155</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>159</b>





## KISALTMALAR

<b>ABTS</b>	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
<b>CGE</b>	: Siyanidin glukozit eşdeğeri
<b>CID</b>	: Çarpışma kaynaklı ayrışma (Collision induced dissociation)
<b>CIE</b>	: International Commission Illumination
<b>CUPRAC</b>	: Copper Reducing Antioxidant Capacity
<b>CV</b>	: Varyasyon katsayısı (Coefficients of variation)
<b>DAD</b>	: Diode array detektör
<b>dak.</b>	: Dakika
<b>dp</b>	: Kolon dolgu maddesinin boyutu
<b>DPPH</b>	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
<b>E<sub>a</sub></b>	: Aktivasyon enerjisi
<b>ESI</b>	: Elektrosprey kaynağı
<b>GAE</b>	: Gallik asit eşdeğeri
<b>k</b>	: Reaksiyon hız sabiti
<b>KM</b>	: Kuru madde
<b>LOD</b>	: En düşük tespit limiti (Limit of detection)
<b>LOQ</b>	: En düşük miktar limiti (Limit of quantification)
<b>NTU</b>	: Nephelometric Turbidity Unit
<b>Q<sub>10</sub></b>	: Sıcaklığın 10°C arttırılmasıyla reaksiyon hızının artış katsayısı
<b>Rs</b>	: Komşu iki pik arasındaki uzaklık
<b>sa</b>	: Saat
<b>SÇKM</b>	: Suda çözünür kuru madde
<b>t<sub>1/2</sub></b>	: Yarılanma süresi
<b>TAM</b>	: Toplam antosiyanin miktarı
<b>TE</b>	: Troloks® eşdeğeri
<b>TFM</b>	: Toplam fenolik madde
<b>TTA</b>	: Titre edilebilir toplam asitlik



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b> Türkiye’de aronya üretim alanı ve fidan sayıları (2019) (Poyraz Engin ve Boz, 2019). .....	8
<b>Tablo 2.2.</b> Aronya meyvesi ve ürünlerinde makro ve mikro mineral miktarları (mg/kg) (Pavlović ve ark, 2015). .....	12
<b>Tablo 2.3.</b> Flavilyum katyonundaki antosiyanidinlerin temel yapıları (Wu ve ark, 2004; Castañeda–Ovando, 2009). .....	19
<b>Tablo 2.4.</b> Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019). .....	22
<b>Tablo 2.5.</b> Antosiyaninlerin bozunma kinetik parametreleri (Nayak ve ark, 2015)..	29
<b>Tablo 3.1.</b> Aronya fenolik bileşiklerinin tanımlanmasında kullanılan UHPLC ve HPLC metotlarına ait gradient programları. ....	63
<b>Tablo 3.2.</b> Meyve suyu prosesi fenolik bileşenlerine ait HPLC metodu gradient programı. ....	69
<b>Tablo 4.1.</b> Viking ve Nero aronya meyvelerinin 2017–2018 yıllarına ait bazı fiziksel ve kimyasal içerikleri. ....	75
<b>Tablo 4.2.</b> Aronya fenolik bileşiklerinin alıkonma süreleri ve HPLC–DAD–ESI–MS <sup>n</sup> verileri. ....	84
<b>Tablo 4.3.</b> HPLC ve UHPLC yöntemlerin doğrulanması için kullanılan referans standartların doğrusal konsantrasyon aralıkları, saptama parametreleri, alıkonma zamanları, kalibrasyon eğrilerinin eğimleri, tespit limitleri (LOD) ve miktar limitleri (LOQ). ....	86
<b>Tablo 4.4</b> Dondurarak kurutulmuş aronyalardan fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonlarına ait HPLC-DAD analizlerinin geri kazanımları ve tekrarlanabilirliği. ....	86
<b>Tablo 4.5.</b> Viking ve Nero aronya çeşitlerine ait fenolik bileşiklerin HPLC-DAD metodu analiz sonuçları. ....	87
<b>Tablo 4.6.</b> Isıl işlem ve enzim uygulamalarının aronya suyu randımanı, bulanıklık ve pektin varlığı analiz sonuçları. ....	91
<b>Tablo 4.7.</b> Jelatin uygulanmış aronya suları (100 mL) deneme ve durultma test sonuçları. ....	95
<b>Tablo 4.8.</b> Aronya sularına (100 mL) durultma yardımcı maddelerinin kombinasyon uygulamalarına ait bulanıklık test sonuçları. ....	96
<b>Tablo 4.9.</b> Viking ve Nero aronya sularına ait bazı analitik özellikler. ....	98
<b>Tablo 4.10.</b> Viking aronya meyvesindeki fenolik bileşik miktarlarının (mg/100 g) aronya suyu prosesi sırasındaki değişimi. ....	100
<b>Tablo 4.11.</b> Nero aronya meyvesindeki fenolik bileşik miktarlarının (mg/100 g) aronya suyu prosesi sırasındaki değişimi. ....	101
<b>Tablo 4.12.</b> Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Viking ve Nero aronya sularına ait antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin kinetik parametreler. ....	106
<b>Tablo 4.13.</b> Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Viking ve Nero aronya sularına ait antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin Q <sub>10</sub> değerleri. ....	107

<b>Tablo 4.14.</b> Farklı sıcaklıklarda (80, 90 ve 100 °C) ısıtıl işlem uygulanmış Viking aronya sularına ait renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler. ....	110
<b>Tablo 4.15.</b> Farklı sıcaklıklarda (80, 90 ve 100 °C) ısıtıl işlem uygulanmış Nero aronya sularına ait renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler. ....	111
<b>Tablo 4.16.</b> Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sürecince antosiyanin degradasyonuna ilişkin kinetik parametreler.....	115
<b>Tablo 4.17.</b> Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sürecince antosiyanin degradasyonuna ilişkin Q <sub>10</sub> Değerleri. ....	116
<b>Tablo 4.18.</b> 37°C depolanan aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.....	117
<b>Tablo 4.19.</b> 20°C depolanan aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.....	119
<b>Tablo 4.20.</b> 4°C depolanan aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.....	120
<b>Tablo 4.21.</b> Farklı sıcaklıklarda depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler (mg GAE/100 g). ....	121
<b>Tablo 4.22.</b> Farklı sıcaklıklarda depolanan Nero aronya suyu konsantrelerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler (mg GAE/100 g). ....	122
<b>Tablo 4.23.</b> Farklı sıcaklıklarda depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince antioksidan aktivite miktarlarındaki değişimler (µmol TE/g).....	126
<b>Tablo 4.24.</b> Farklı sıcaklıklarda depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince antioksidan aktivite miktarlarındaki değişimler (µmol TE/g).....	127
<b>Tablo 4.25.</b> Viking aronya suyu konsantrelerinde 4 ve 20 °C depolama süresince reflektans renk değerleri.....	130
<b>Tablo 4.26.</b> Nero aronya suyu konsantrelerinde 4 ve 20°C depolama süresince reflektans renk değerleri.....	131
<b>Tablo 4.27.</b> Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin 37 °C'de depolama süresince reflektans renk değerleri. ....	132

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1. Viking ve Nero aronya çeşitleri ait meyveler (Poyraz Engin, 2020).....	6
Şekil 2.2. Fenol halkası.....	14
Şekil 2.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Karabulut ve Yemiş, 2019).....	14
Şekil 2.4. Aronyanın proantosiyandinlerinin kimyasal yapısı (Ćujić ve ark, 2018). 17	
Şekil 2.5. Flavilyum katyonu.....	19
Şekil 2.6. Pelargonidin 3–rutinozit (A) ve siyanidin 3,5–dişlukozit (B)’nin kimyasal yapıları.....	20
Şekil 2.7. Biyolojik sıvılar, içecekler, bitkiler ve gıdalarda fenolik asitlerin ve flavonoidlerin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin şeması (Tsao, 2010). .....	33
Şekil 2.8. Ultrasonik kaviteasyon (Wilhelm ve ark, 2020, modifiye edilmiştir).....	35
Şekil 3.1. Viking çeşidi aronya örnekleri. ....	43
Şekil 3.2. Aronya meyvesi mayşe enzimasyon optimize çalışmaları. ....	46
Şekil 3.3. Berrak aronya suyu üretim akış şeması. ....	49
Şekil 3.4. Viking aronya çeşidine ait depolama deneyleri için konsantre örnekleri..	50
Şekil 3.5. Isıl stabilite deneyleri.....	51
Şekil 3.6. Ultrases destekli ekstraksiyon işlemi.....	60
Şekil 3.7. Ultrases destekli ekstraksiyon prosedürü.....	61
Şekil 3.8. Berrak aronya suyu üretim sırasında örnek alma basamakları. ....	67
Şekil 3.9. Mayşe (katı) örnekleri için ekstraksiyon prosedürü. ....	68
Şekil 4.1. Farklı solventlerle ekstrakte edilen aronya fenolik bileşenleri. ....	78
Şekil 4.2. Ultrases destekli ekstraksiyon döngü sayısının aronya fenolik bileşikleri üzerine etkisi. ....	80
Şekil 4.3. Aronya meyvesine ait fenolik bileşiklerin 520, 360 ve 320 nm kromatogramları (pik–2: Klorojenik asit, pik–11: Kuersetin 3–O–rutinozit ve pik–3: siyanidin 3–O–şalaktozit bileşimine ait kimyasal yapılar). ....	82
Şekil 4.4. Alkol testi sonuçları (A; enzim uygulanmış, B; enzim uygulanmamış meyve suyu örnekleri). ....	93
Şekil 4.5. Aronya suyu filtrasyon basamakları. ....	98
Şekil 4.6. Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Viking aronya suyunda antosiyanın kayıp düzeyleri. ....	104
Şekil 4.7. Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Nero aronya suyunda antosiyanın kayıp düzeyleri. ....	105
Şekil 4.8. Viking aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolama süresince antosiyanın kayıp düzeyleri.....	112
Şekil 4.9. Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanma süresince antosiyanın kayıp düzeyleri.....	113



**ARONYA (*Aronia melonocarpa* ((Michx) Elliot) MEYVE SUYU  
ANTOSİYANİNLERİNİN ISIL VE DEPOLAMA STABİLİTELERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**ÖZET**

Bu tez çalışmasında; ülkemizde ilk defa 2012 yılında yetiştiriciliğine başlanan ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerine ait 2017 ve 2018 yıllarında hasat edilen meyvelerin bazı biyo-kimyasal özellikleri incelenmiştir. Aronya meyvesinin fenolik bileşiklerce (1564–1739 mg GAE/100 g) oldukça zengin olduğu ve buna paralel olarak antioksidan aktivitesinin (DPPH yöntemiyle; 122–147 ve ABTS yöntemiyle; 106–128 µmol TE/g) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yapılan analizlerle aronya çeşitlerinin pH, toplam fenolik madde (TFM), toplam antosiyanin miktarları (TAM) ve antioksidan aktiviteleri bakımından yıllar arasında, toplam titre edilebilir asitlik (TTA), suda çözünür kuru madde (SÇKM) ve kuru madde (KM) oranları bakımından ise hem çeşitler hem de yıllar arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir ( $p<0,01$ ).

Bu doktora tezinin birinci basamağında, aronya fenolik bileşiklerinin beş farklı solvent karışımı ile ultrases-destekli ekstraksiyonu optimize edilmiştir. Test edilen solvent karışımlarının ekstraksiyon verimleri açısından istatistiki olarak farklı olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). Metanol/formik asit (95:5, v/v) solvent karışımı, diğer karışımlara kıyasla hızlı evapore edilmesinden dolayı ekstraksiyon solventi olarak seçilmiştir. Ayrıca, her biri 20 saniye olan ekstraksiyon süresi, üç tekrarlı olarak (60 saniye) gerçekleştirilmiş olup hedef fenolik grupların (antosiyeninler, hidrokisinsamik asitler ve flavonoller) başarılı bir şekilde ekstrakte edildiği saptanmıştır. Bir ön işlem olarak dondurarak kurutma ile ekstraksiyonda ürünün toz formda kullanılması, elde edilen değerlerin daha düşük varyasyon katsayılarına sahip olmasına neden olmuştur. Ekstraksiyon optimizasyonundan sonra, elde edilen metanolik ekstrakt hem HPLC hem de UHPLC tekniği ile analiz edilmiştir. Valide edilen her iki yöntemden, UHPLC’nin HPLC’ye göre fenolik bileşikleri 2,3 kat daha hızlı ayırdığı ve daha az solvent tükettiği tespit edilmiştir. Her iki çeşitte de 4 siyanidin grubu antosiyanin, 2 hidrokisinsamik asit ve 5 kuersetin grubu flavonol fenolik bileşik, HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> tekniği ile tanımlanmıştır. Bu bileşiklerin sırasıyla toplam miktarları 425–438 mg/100 g, 173–179 mg/100 g ve 37–37 mg/100 g (taze ağırlık) aralığında tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci basamağında, aronya meyvelerinden berrak meyve suyu elde etmek için mayşe enzimasyon, durultma ve filtrasyon basamaklarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Aronya sularına bentonit, jelatin ve Becosol 30 yardımcı maddeleri kullanılarak sıcak durultma işlemi uygulanmıştır. Mayşe enzimasyonu için en uygun enzim dozajı 0,086 mL/kg (Pectinex Ultra Color), durultma işlemi için ise en uygun dozajlar ise 2 g/L bentonit, 0,2 g/L jelatin ve 1 g/L Becosol 30 olarak belirlenmiştir. Daha sonra Viking çeşidinden 1,52 NTU bulanıklık ve 20,8 °Briks, Nero çeşidinden ise 1,95 NTU bulanıklık ve 20,0 °Briks düzeylerinde aronya suları

üretimleri gerçekleştirilmiştir. Her iki çeşide ait aronya suyu proses basamaklarında meydana gelen değişiklikler incelenmiş ve prosesler sonunda toplam antosiyanin miktarlarının %75, hidroksisinnamik asitlerin %59, flavonollerin %54–55 ve toplam fenolik bileşiklerin %70 oranlarında azaldığı saptanmıştır.

Çalışmanın son basamağında ise, çeşitlere ait aronya suyu ve konsantrelerinde antosiyaninlerin farklı sıcaklıklardaki ısı (80, 90 ve 100°C) ve depolama (4, 20 ve 37°C) stabiliteyi araştırılmıştır. Antosiyanin degradasyonlarının incelenen tüm ortamlarda birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olarak gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışma bulgularına göre sıcaklık ve süre arttıkça, aronya suyu ve konsantrelerinde antosiyaninlerin degradasyon hızlarının arttığı tespit edilmiştir. Viking aronya sularının 80, 90 ve 100°C sıcaklıklarda yarılanma süreleri ( $t_{1/2}$ ) sırasıyla; 6,8; 3,2 ve 1,5 saat, aktivasyon enerjisi ( $E_a$ ) 81,23 kJ mol<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Aynı sıcaklıklarda Nero aronya sularının  $t_{1/2}$  değerleri sırasıyla; 6,4; 2,8 ve 1,5 saat ve  $E_a$  79,63 kJ mol<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra 4, 20 ve 37°C depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinin (68° Briks)  $t_{1/2}$  sırasıyla; 866, 122 ve 17 gün ve Nero çeşidine ait konsantrelerde (68° Briks) ise; 693, 120 ve 15 gün olarak saptanmıştır. Viking ve Nero aronya suları konsantrelerinin depolama sıcaklıklarına ait  $E_a$  değerleri ise sırasıyla; 84,89 ve 83,31 kJ mol<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Ayrıca aronya suyu ve konsantrelerinin antosiyanin parçalanma ölçütleri de hesaplanmış sıcaklık ve süre arttıkça bu değerlerden renk yoğunluğu azalırken, polimerik renk ve polimerik renk oranının arttığı görülmüştür. Örneğin 80, 90 ve 100 °C’lerde ısıtılan Viking aronya suyu örneklerinde polimerik renk oranı başlangıçta %17 iken 14 saat sonunda sırasıyla; %55, %73 ve %87 oranlarına kadar artış belirlenmiştir. Aynı çeşide ait konsantre örneklerinde ise başlangıçta %20 olarak hesaplanan polimerik renk oranının 4°C’de 18 ay depolama sonunda %46, 20°C’de 12 ay depolama sonunda %57 ve 37°C’de 3 ay depolama sonunda %71’e kadar arttığı saptanmıştır. Benzer artışlar, Nero çeşidine ait hem aronya suyu hem de konsantre örneklerinde gözlenmiştir.

Aynı zamanda Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam fenolik madde (TFM) miktarları, antioksidan aktiviteleri (ABTS, DPPH ve CUPRAC yöntemleriyle) ve reflektans renk ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) değerlerinin değişimleri incelenmiştir. Yapılan analiz bulgularına göre depolama sıcaklık ve süre artışına bağlı olarak konsantrelerin TFM miktarlarının ve antioksidan aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. Nero aronya suyu konsantrelerinin 4, 20, 37°C’de sırasıyla; 18, 12 ve 3 ay depolama sonrasında TFM miktarlarındaki azalma oranları sırasıyla; %23, 46 ve 45, Viking aronya suyu konsantrelerinde ise; %23, 52 ve 48 olarak belirlenmiştir. Çeşitlerin aronya suyu konsantrelerinde en yüksek antioksidan aktivitelerin CUPRAC yöntemi sonuçlarına ait olduğu Viking örneklerinde 580,91 µmol TE/g ve Nero örneklerinde ise 474,51 µmol TE/g olarak bulunmuştur. Tüm sıcaklıklarda depolama sonunda her iki çeşide ait konsantre örneklerinde  $L^*$  parlaklık değerlerinin arttığı,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin ise azaldığı ve bu değişimlerin istatistiksel olarak önemli olduğu ( $p<0,05$ ) tespit edilmiştir.



# DETERMINATION OF THE THERMAL AND STORAGE STABILITIES OF ARONIA (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) FRUIT JUICE ANTHOCYANINS

## SUMMARY

Chokeberry or Aronia is a deciduous shrub of the Rosaceae family. Native to North America, it spread to Europe and Russia. *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot (black), *A. arbutifolia* (L.) Pers. (red), and *A. prunifolia* (Marshall) Rehder (purple) are three well known chokeberry species. Among them, cvs. 'Viking' and 'Nero' are two prominent European cultivars of economic importance. In Türkiye, cultivation of these cultivars were started in 2012 and gradually spread to larger areas. The plant bears edible, cherry-like fruits that are commonly used for the production of juice, jam, tea, and wine. Owing to its high anthocyanin content, black chokeberry has a large potential in the food industry, e.g., as a natural colorant. Black chokeberry is currently of particular interest due to its phenolic composition, being rich in anthocyanins along with several phenolic acids, flavonols, and proanthocyanidins. Geographic location, agronomic practices, and seasonal differences have been reported to largely impact the accumulation of phenolic compounds in the berries. A previous study has already shown the differences in the phenolic contents of black chokeberries grown in Germany and Poland. The phenolic composition of black chokeberries cultivated in Türkiye has not existed in previous studies.

In this study; some bio-chemical properties of fruits harvested in 2017 and 2018 belonging to 'Viking' and 'Nero' aronia varieties, which were first time grown in Türkiye in 2012, were examined. The results revealed that pH values, total phenolic content (TPC), total anthocyanin content (TAC) and antioxidant activities of aronia cultivars were statistically found to be different between years. It was determined that there were differences between both cultivars and years for total titratable acidity (TTA), water-soluble dry matter (WSDM) and dry matter (DM) ratios ( $p < 0,01$ ). It was confirmed that Aronia fruit was a rich source of phenolic compounds (1564–1739 mg GAE/100 g), and had a high antioxidant capacity (with DPPH method; 122–147 and ABTS method; 106–128  $\mu\text{mol TE/g}$ ).

Extraction is a critical step for analysis of phenolic compounds as their physicochemical properties largely differ, ranging from highly water-soluble anthocyanins to mid-polar quercetins. A comprehensive approach aiming at exhaustive extraction of all individual phenolic compounds is a prerequisite for their accurate quantitation. As an alternative to the commonly applied stirring- and high-shear force homogenization-based methods, ultrasound-assisted extraction is often the method of choice providing fast extraction and low solvent consumption. Most recently, a report about ultrasound-assisted extraction followed by determination of total phenolic and anthocyanin contents has become available. However, this promising method for screenings has not been considered for the quantitation of individual phenolic compounds from black chokeberry.

The present study aimed at establishing a fast and exhaustive ultrasound-assisted extraction method for the subsequent liquid chromatographic determination of phenolic compounds from black chokeberry cultivated in Türkiye. In the first step of this doctoral study, ultrasound-assisted extraction of aronia phenolic compounds with five different solvent mixtures was optimized. It was found that the tested solvent mixtures were not statistically different in terms of extraction efficiency. The methanol/formic acid (95:5, v/v) solvent mixture was chosen as the extraction solvent due to its rapid evaporation compared to other mixtures. In addition, it was determined that the phenolic groups (anthocyanins, hydroxycinnamic acids, and flavonols) were successfully extracted by three cycles (60 seconds) of each with an extraction time of 20 seconds. The use of powder form obtained by freeze-drying as a pre-treatment resulted in the lower coefficients of variation in the yield of phenolic extraction. After extraction optimization, the obtained methanolic extract was analyzed by both HPLC and UHPLC techniques. The results revealed that UHPLC achieved the separation of aronia phenolic compounds 2,3 times faster and consumed less solvent than HPLC. In both cultivars, 4 cyanidin group anthocyanin, 2 hydroxycinnamic acid and 5 quercetin group flavonol phenolic compounds were identified by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> technique. The total amounts of these compounds were 425–438 mg/100 g, 173–179 mg/100 g and 37–37 mg/100 g (fresh weight), respectively. Both cultivars from Turkey displayed similar phenolic compositions that resembled the profile previously reported in literature. Noteworthy, merely a few contributions have assessed Aronia fruit cultivated in a Mediterranean climate. Consequently, from a nutritional point of view, chokeberries from Turkey may be considered equally rich in the studied phenolic compounds as compared to berries from other provenances. The validated extraction and (U)HPLC methods established in this contribution may be applied in the food industry, e.g., for quality control and authentication of black chokeberry products.

In the second step of the study, optimization of mash enzymation, clarification and filtration steps was carried out to obtain clear juice from aronia fruits. A hot clarification process was applied to aronia fruit juices by using clarifying agents which consist of bentonite, gelatin, and Becosol 30. The most suitable enzyme dosage for mash enzymation was 0.086 mL/kg of Pectinex Ultra Color. The most appropriate dosages for clarification process were 2 g/L of bentonite, 0,2 g/L of gelatin, and 1 g/L of Becosol 30. After the optimization, juice were produced from Viking and Nero variety of Aronia fruit. The turbidity of Viking aronia juice with 20,8 °Brix was 1,52 NTU, while Nero aronia juice with 20,0 °Brix had a turbidity of 1,95 NTU. The changes in phenolic compounds at main steps of juice production were investigated during the processing of aronia juice for both cultivars, and it was observed that the total amount of anthocyanins decreased by 75%, hydroxycinnamic acids by 59%, flavonols by 54–55%, and total phenolic compounds by 70% at the end of the processing.

In the last step of the study, the thermal (80, 90, 100°C) and storage (4, 20, 37°C) stability of anthocyanins in aronia juice and concentrates of both varieties were determined. Anthocyanin degradations in both juice and concentrate followed to the first-order reaction kinetics. Kinetic data showed that the degradation rates of anthocyanins in aronia juice and concentrates increased with increasing temperature and time. The half-life times ( $t_{1/2}$ ) for anthocyanins in Viking aronia juices were 6,8; 3,2 and 1,5 h at 80, 90, 100°C, respectively, and activation energy ( $E_a$ ) was calculated as 81,23 kJ mol<sup>-1</sup>. At the same temperatures, the  $t_{1/2}$  values of anthocyanins in Nero aronia juice were 6,4; 2,8 and 1,5 h, respectively, and  $E_a$  were found as 79,63 kJ mol<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>. In addition,  $t_{1/2}$  values of anthocyanins in Viking aronia juice concentrates (68° Brix) stored at 4, 20 and 37°C were 866, 122 and 17 days, respectively, while  $t_{1/2}$  values in Nero aronia juice concentrates (68° Brix) were determined as 693, 120 and 15 days. The  $E_a$  values for the degradation of anthocyanin in Viking and Nero aronia juice concentrates during storage at the range of 4–37°C were 84,89 and 83,31 kJ mol<sup>-1</sup>, respectively. In addition, the color intensity, the ratio of polymeric color and polymeric color formation, which are the primary color indices, were calculated to determine the color degradation in aronia juice and concentrates. As expected, the color intensity in juices and concentrates decreased with increasing temperature and time while the ratio of polymeric color and polymeric color formation increased. For example, a 55%, 73% and 87% increases in juice samples heated at 80, 90, 100°C were observed at the end of 14 hours while Viking aronia juice samples had a 17% of the initial polymeric color ratio. In the concentrate samples of the same variety, the polymeric color ratio was 20% at beginning of storage. The initial value increased up to 46% at the end of 18 months of storage at 4°C, 57% at 12 months of storage at 20°C, and 71% at 3 months of storage at 37°C has been found to increase. Similar increases were also observed in both aronia juice and concentrate samples of Nero variety.

In addition, the changes in TPC, antioxidant activities (with ABTS, DPPH and CUPRAC methods) and reflectance color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) values were also evaluated at different temperatures during the storage of Viking and Nero aronia juice concentrates. It was observed that the TPC and antioxidant activities of the concentrates decreased with increasing temperature and time of storage. For example, the reduction rates in TPC contents of Nero aronia juice concentrates at 4, 20, 37°C were 23%, 46% and 45%, respectively, at the end of 18, 12 and 3 months of storage. These losses in Viking aronia juice concentrates were 23%, 52% and 48%. Increases in the  $L^*$  brightness values of the concentrate samples of both cultivars were observed, while the  $a^*$  and  $b^*$  values decreased at the end of storage at all temperatures, and these changes were statistically significant ( $p < 0,05$ ).



## 1. GİRİŞ

Aronya meyvesi, *Rosaceace* familyasına ait olup, anavatanı Kanada ve Kuzey Amerika olan üzüksü bir meyvedir. Göç yoluyla Avrupa ve Rusya'ya yayılmış, son yıllarda Doğu Avrupa ve Almanya'da geniş çapta üretimi yapılmaktadır (Kulling ve Rawel, 2008). Siyah-mor arası renge sahip olan aronya meyvesi 6–13 mm çapında ve 0,8–2 gram ağırlığında üzüksü bir meyvedir. Meyveleri taze tüketildiğinde ağızda buruk ve kekremsi bir tat bıraktığından dolayı genellikle gıda sanayisinde meyve suyu, konsantre, reçel, kuru meyve, çay, şarap ve diğer alkollü içeceklerle işlenmektedir (Chrubasik ve ark, 2010; Ochmian ve ark, 2012). Bunun yanı sıra aronya meyvelerinin, sağlıklı atıştırmalık yiyecekler (Oniszczuk ve ark, 2019), fonksiyonel gıda ambalajları (Staroszczyk ve ark, 2020) ve et ürünlerinde antimikrobiyal ve antioksidan ajan olarak (Anton ve ark, 2019) kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Aronya fenolik bileşimi, antosiyaninler, fenolik asitler, flavonoller ve proantosiyanidinler açısından zengin olması nedeniyle son zamanlarda oldukça dikkat çeken bir meyvedir (Sidor ve Gramza-Michałowska, 2019). Bu bileşiklerin güçlü antioksidan (Sidor ve ark, 2019) etkilerinin yanı sıra, hipertansiyon (Pokimica ve ark, 2019), obezite (Kim ve ark, 2018), glukoz metabolizması bozuklukları (Milutinović ve ark, 2019) gibi sağlığa karşı metabolik fonksiyonların gelişmesine yol açan risk faktörlerini azaltma özelliği olduğu belirtilmiştir. Yüksek antosiyanin içeriği nedeniyle, aronyanın gıda endüstrisinde fonksiyonel ve doğal bir renklendirici olarak oldukça önemli bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Espín ve ark, 2000).

Pembe, kırmızı, viole, mor tonlarında ve suda çözünebilir özellikleri olan antosiyaninler meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü doğal renklerinden sorumlu bileşiklerdir. Birçok gıda bileşeninde antosiyaninler çeşitli faktörlerin etkisiyle parçalanarak, kendilerine özgü renklerini kaybetmekte ve hatta bazen istenmeyen renkler oluşturmaktadırlar. Bundan dolayı gıda maddesi tüketici tarafından olumsuz algılanmakta ve ticari değerini önemli ölçüde kaybetmektedir. Antosiyaninlerin stabilitesi pH, sıcaklık, ışık, oksijen, enzimler, askorbik asit, şekerler ve şekerlerin parçalanma ürünleri, metal iyonları, kükürtdioksit, ve kopigmentler gibi

birçok faktöre bağlıdır (Kırca 2004; Wrolstad ve ark, 2005). Bir gıda maddesi satın alınırken tüketici tarafından ilk dikkat edilen özelliği rengi olup, ürünün kalitesi rengi ile ilişkilendirilmektedir. Bununla birlikte renk, bir gıda maddesinin üretildiği hammaddenin özellikleri, proses parametreleri ve depolama koşulları hakkında tahmini bilgiler verebilmektedir.

Aronya yukarda bahsi geçen zengin bileşiklerden dolayı son zamanlarda oldukça popüler ve birçok araştırmaya konu olmasına rağmen, yapılan detaylı literatür taramasında antosiyaninlerinin ısıl stabilitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca aronya meyvesinin biyo–kimyasal içeriğinin çeşit, olgunluk, iklim, hava, hasat zamanı ve gübreleme gibi faktörlere bağlı olarak değiştiği birçok çalışma sonuçlarının yer aldığı bir derleme tarafından rapor edilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008). Rodríguez-Werner ve ark. (2019), yaptıkları bir çalışmada Almanya ve Polonya'da yetiştirilen aronya meyvelerinin fenolik içeriklerindeki farklılıkları belirlemişlerdir.

Fenolik bileşiklerin analizi için ekstraksiyon işlemi kritik bir basamak olup kullanılan solvent ve metot parametrelerine bağlı olarak bu bileşiklerin kazanımlarının büyük ölçüde farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Naczki ve Shahidi, 2004). Özellikle bireysel fenolik bileşiklerin ayrıntılı ekstraksiyonunu amaçlayan kapsamlı bir yöntem, bileşiklerin doğru miktar analizi için bir ön koşuldur. Yaygın olarak kullanılan parçalayarak karıştırma ve homojenizasyona dayalı metotlara alternatif olarak, hızlı ekstraksiyon ve düşük solvent tüketimi sağlayan ultrases destekli ekstraksiyon metodu son zamanlarda tercih edilen bir yöntemdir (Tiwari, 2015).

Tüm bu bilgilerin ışığında planlanan bu tez çalışmasında Türkiye’de ilk defa yetiştirilen Viking ve Nero aronya meyvelerinin fiziksel ve kimyasal kompozisyonları ortaya koyulmuştur. Aronya çeşitlerinin fenolik bileşiklerinin ultrases destekli ekstraksiyon metodu optimize edilmiştir. Bu bileşikler modern analitik bir teknik olan HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> metodu ile tanımlanmış, geliştirilen ve valide edilen HPLC ve UHPLC metotları ile konsantrasyonları tespit edilmiştir. Ayrıca ülkemizde ilk defa aronya suyu proses koşulları optimize edilerek meyve suyu endüstrisi için önemli olan bazı temel üretim parametreleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra proses basamakları sırasında aronya fenolik bileşiklerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Daha sonra üretilen aronya suyu ve konsantrelerine ait antosiyaninlerin ısıl ve depolama stabiliteyi belirlenerek hem literatürdeki bu boşluk doldurulmuş hem de meyve suyu endüstrisinin kullanabileceği bilimsel nitelikte veriler üretilmiştir.

Bu doktora tez çalışmasının hipotezleri aşağıda sıralanmış olup, bunlar;

1. Viking ve Nero aronya çeşitlerine ait meyvelerin fiziksel ve kimyasal kompozisyonları yıllar (2017 ve 2018) arasında değişim göstermiştir.
2. Her iki çeşide ait fenolik bileşiklerinin ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi geliştirilmesinde solvent seçiminin, ekstraksiyon döngü sayısının ve ön işlemin etkisi vardır.
3. Her iki çeşide ait fenolik bileşikler (antosiyantinler, hidroksisinamik asitler ve flavonoller) geliştirilecek UHPLC tekniği ile, HPLC tekniğine kıyasla daha kısa sürede kantitatif olarak saptanabilir.
4. Sıcak durultma tekniği ile üretim prosesinde mayşe enzimasyon, durultma ve filtrasyon basamakları optimize edilerek 5 NTU'dan düşük bulanıklık düzeyinde berrak berrak aronya suyu elde edilebilir.
5. Viking ve Nero aronya suyu ve konsantrelerine ait antosiyantinlerin ısıl ve depolama stabiliteleri birinci dereceden kinetik model ile tanımlanabilir.





## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Aronya Meyvesi

#### 2.1.1. Botanik ve pomolojik özellikleri

Aronya *Rosaceae* familyası *Maloideae* alt familyasından *Aronia* cinsi üyesi olup yaprak dökken çalı formunda bir bitkidir (Lupascu, 2019). Üzüksü meyvelerinden dolayı bu cinsin İngilizce genel adı 'Chokeberry' olarak tanımlanmıştır. *Aronia* cinsine ait yaygın olarak bilinen *Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot (Black chokeberry, siyah aronya), *Aronia arbutifolia* (L.) Elliot (Red chokeberry, kırmızı aronya) ve bunların melezi olduğu düşünülen *Aronia prunifolia* (Marsh) (Purple chokeberry, mor aronya) olmak üzere 3 türü vardır (Kulling ve Rawel, 2008; Šnebergrová ve ark, 2014). Özellikle siyah aronya türüne ait Viking ve Nero Avrupa ve Kuzey Amerika'da ekonomik öneme sahip önde gelen iki aronya çeşididir. Bu ticari çeşitler birçok bilimsel çalışmada *A. melanocarpa* olarak rapor edilmiştir. Ancak son zamanlarda yapılan araştırmalar, *A. melanocarpa* olarak adlandırılan ticari Viking ve Nero çeşitlerinin aslında dördüncü bir tür olarak *Aronia mitschurinii* olduğunu ortaya koymuştur. Çeşitlerin, *Sorbus aucuparia* L. x *A. melanocarpa* arasındaki melezin tekrar *A. melanocarpa* ile geri çaprazlanması sonucu elde edildiği ifade edilmektedir (Brand, 2010; Leonard ve ark, 2013; Mahoney ve ark, 2019; King ve Bolling, 2020).

Odunsu, çok yıllık çalı formunda olan aronya, hafif asitli ve çok çeşitli nötr topraklara uygun bir bitkidir. Yaklaşık  $-30^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğuğa dayanıklıdır. Ayrıca bitkiler çok geç çiçek açtıklarından (Mayıs ortası) ilkbahar donlarından etkilenmezler (Mckay, 2001; Ochmain ve ark, 2012). Aronya geniş bir pH (5–8,5 ) ve toprak tipi aralığında yetişmesine rağmen pH'sı 6–6,5 olan, güneş alan ve iyi drenajlı topraklar yetiştirme açısından daha uygundur (Fidancı, 2015). Aronya bitkisinin tür ayrımı (siyah–kırmızı) en basit şekilde meyve renklerine göre yapılır. Bitki üzerinde meyve olmadığı dönemlerde ise; bitki sap, yaprak ve çiçek salkımlarında tüylenme derecesine bakılmaktadır. Siyah meyveli aronya (1,2–2,4 m) kırmızı meyveli aronyaya (1,8–3 m) göre daha kısa ve meyveleri (meyve çapı 0,8–1,3 cm) kırmızı aronya türüne göre (meyve çapı 0,60–0,65 cm) daha büyüktür. Siyah türde meyveler Ağustos sonunda

olgunlaşırken kırmızı aronya türünde Eylül sonu ve Ekim başlarında olgunlaşmakta, ayrıca meyveler bozulmadan bitki üzerinde Aralık ayına kadar kalabilmektedir (Brand, 2010). Hasat olgunluğunda olan bir siyah aronya meyvesi 0,5–2 g ağırlığa ve siyah-mor arası bir renge sahiptir. Aronya meyveleri kalın dış kabuğundan dolayı diğer üzüksü meyvelere göre çevre koşullarına daha dayanıklı olup bitki üzerinde 7 haftaya kadar kalabilmekte ve mekanik hasadı yapılabilmektedir (Şekil 2.1). Olgunlaşmış aronya bitkilerinden (yaklaşık 5 yıllık) hektar başına 5 ile 12 ton arasında meyve toplanabilmektedir. Ayrıca hasattan sonra birkaç hafta soğuk depoda kalabildiği ve taşıma sırasındaki zararlanmalara karşı oldukça dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008; Mckay, 2001).



**Şekil 2.1.** Viking ve Nero aronya çeşitleri ait meyveler (Poyraz Engin, 2020).

Genellikle siyah aronya türleri meyveleri için yetiştirilmekle birlikte, yaygın çeşitleri Aron, Nero, Viking, Rubin, Kurkumäcki, Hugin ve Fertödi'dir. (Kulling ve Rawel, 2008; Šnebergrová ve ark, 2014). Ayrıca Albigowa, Dabrowice, Egerta, Kurkumacki, Kutno, Nova Wies, Hakkija, Ahonnen, Serina, Rubina, Autum Magic, McKenzie, Morton (Iroquois Beauty) ve Galicjanka meyve ve süs bitkisi amacıyla seleksiyon ve ıslah yoluyla elde edilmiş aronya çeşitleridir (Fidancı, 2015).

### **2.1.2. Dünyada ve Türkiye'de üretimi**

Anavatanı Kanada ve Kuzey Amerika olan aronya, Kuzey Amerika Orman Potawatomi Kabilesi tarafından “niki'minun veya sakwako'minun” olarak adlandırılmıştır. 1803 yılında ise Fransız botanikçi bilim adamı André Michaux siyah aronyayı ilk defa *Mespilus arbutifolia* var. *melanocarpa* olarak tanımlamıştır (Walther ve Müller, 2012). Aronya bir Kuzey Amerika bitkisi olmasına rağmen ıslah çalışmaları 1910 yılında Rusya'da başlamıştır. Rus bilim adamı, Ivan Mitschurin “Likernaja” ve “Desertnaja Mitschurina” çeşitlerini geliştirmiş ve bu çeşitler yeni bir hibrit tür olan

*A. mitschurinii* olarak isimlendirmiştir. II. Dünya savaşından sonra siyah aronya yetiştiriciliği Avrupa ve Rusya'ya yayılmıştır. 1946'da başlayan, başta Beyaz Rusya, Moldova, Rusya (Sibirya Federal Bölgesi) ve Ukrayna olmak üzere eski Sovyetler Birliği Cumhuriyetleri'nde büyük ölçekli aronya yetiştiriciliği istikrarlı bir şekilde dağılmıştır. Japonya'ya ise ilk olarak 1976 yılında eski Sovyetler Birliği tarafından tanıtılmıştır. Aronya 1980'lerde Bulgaristan, Çekoslovakya, Doğu Almanya, Polonya ve Slovenya olmak üzere eski Sovyet Bloğu ülkelerinde, ayrıca Danimarka ve Finlandiya gibi İskandinav ülkelerinde de yetiştirilmeye başlanmıştır. Avrupa'da ülkelere göre yetiştirilen aronya çeşitleri değişmekte olup Danimarka'da Aron, Çek Cumhuriyeti'nde Nero, Finlandiya'da Viking, Rusya'da Rubin, İsveç'te Hugin ve Macaristan'da Fertödi çeşiti yetiştiriciliği yapılmaktadır. Kuzey Amerika'da ise Viking ve Nero çeşitlerinin daha baskın olduğu bildirilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008; Šnebergrová ve ark, 2014). Dünya aronya üretiminin % 90'ını gerçekleştiren Polonya'da 2009 yılında 36.800 ton olan aronya üretimi istikrarlı bir şekilde artarak 2013 yılında 50.000 tona ulaşmıştır. Almanya'da ise sadece Saksonya'da her yıl ortalama 200 ton siyah aronya üretilmektedir. Doğu Almanya'da 1976'dan beri aronya yetiştiriciliği yapılmasına rağmen Polonya, Almanya'nın ana tedarikçisi haline gelmiştir (Engels ve Brinckmann, 2014). 2018 yılı itibariyle aronya üretimi Polonya'da 50 bin ton, Almanya'da 1434 ton, ABD'de yaklaşık 2500 ton ve Finlandiya'da 4 ton olarak bildirilmiştir (Poyraz Engin ve Boz, 2019).

Aronya Türkiye'ye ilk defa 2012 yılında Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü (Yalova) tarafından getirilmiş ve meyvecilik deneme parsellerine birer sıra 'Viking' ve 'Nero' aronya çeşitleri dikilerek küçük bir deneme bahçesi kurulmuştur. Aronya ile ilgili hem bilimsel çalışmalar hem de ülkemize tanıtım faaliyetleri bu bahçede başlatılmıştır. Araştırma Enstitüsü tarafından 2016 yılında 'Viking' 2018 yılında 'Nero' çeşitleri tescil ettirilmiş olup Yalova İl Tarım ve Orman Müdürlüğü tarafından ise 2021 yılında 'Yalova Aronyası' olarak coğrafi işaret alınmıştır. Ülkemizde 2014 yılı itibariyle küçük ölçekli aronya bahçeleri kurulmaya başlanmış olup Enstitü danışmanlığında başta Yalova İl Tarım Orman Müdürlüğü olmak üzere Kayseri ve Zonguldak İl Müdürlükleri tarafından yayım projeleri gerçekleştirilmiştir. 2017 yılında Kırklareli ve Manisa'da büyük ölçekli Yalova, Çanakkale, Samsun, İstanbul, Antalya ve Bursa'da ise küçük ölçekli bahçeler kurulmuştur. 2018-2019 yıllarında ise bu illeri Ankara, İzmir, Bolu, Trabzon, Giresun, Kırşehir ve Tekirdağ

takip etmiştir. Tablo 2.1’de 2018 yılına ait ülkemizin farklı illerine ait aronya üretim alanları ve fidan sayıları verilmiş olup toplam 777 da alanda 130 ton meyve üretimi gerçekleştiği bildirilmiştir (Poyraz Engin ve Boz, 2019).

**Tablo 2.1.** Türkiye’de aronya üretim alanı ve fidan sayıları (2019) (Poyraz Engin ve Boz, 2019).

İller	Fidan sayısı (adet)	Üretim Alanı (da)
Kırklareli	40 000	240
Bursa	23 500	141
Manisa	15 000	90
Yalova	8 000	48
Kırşehir	8 000	48
Çanakkale	7 000	42
Samsun	6 000	36
İzmir	5 000	30
Antalya	3 000	18
İstanbul	3 000	18
Ordu	3 000	18
Bolu	2 000	12
Ankara	2 000	12
Sakarya	1 500	9
Giresun	1 000	6
Amasya	500	3
Çorum	500	3
Tekirdağ	500	2
Trabzon	300	1
<b>Toplam</b>	<b>129 800</b>	<b>777</b>

### 2.1.3. Kullanım alanları

Aronya günümüzde taze olarak tüketilebildiği gibi buruk bir tada sahip olmasından dolayı genellikle gıda sanayisinde meyve suyu, konsantre, reçel, kuru meyve, çay, şarap, likör ve diğer alkollü içeceklerle işlenmektedir (Kapçı, 2013; Wilkes, 2014a). Ayrıca fitokimyasal içeriği ve potansiyel sağlık yararlarından dolayı Amerika Birleşik Devletleri'nde Swanson® tam spektrumlu 400 mg aronya gibi takviye ürünlerde de bulunmaktadır (Taheri, 2011). Aronya meyveleri koyu mor renginden dolayı zengin bir doğal gıda boyası hammaddesidir (Strigl ve ark, 1995). Aronya kek, pasta, çörek ve ekmek gibi fırıncılık ürünlerinde çikolata, yoğurt ve tatlılarda hem çeşitliliği hem de gıdanın fonksiyonel özelliğini artırmak için taze veya dondurulmuş olarak da kullanılmaktadır. Bazı tüketiciler aronya suyunu elma, armut, frenküzümü ve diğer meyve suları ile karıştırarak tüketmeyi tercih etmektedir (Boz ve ark, 2021).

Smith (2013) yaptığı bir çalışmada anavatanı Amerika olmasına rağmen Avrupa ülkelerinin aronya üretim ve ürün çeşitlerinde daha önde olduğunu rapor etmiştir. Aynı çalışmada; Dünya genelinde 33 ülkede, 279 gıda firması tarafından aronya içerikli 7 farklı ürüne (taze meyve, meyve suyu, konsantre, püre, posa, tozu ve ekstrakt) yer verilmiştir. Bu firmalar ve ürünlerin bulunduğu ilk 12 ülke ise Polonya (101), Almanya (24), ABD (24), Rusya (19), Japonya (12), Kanada (10), Norveç (10), Birleşik Krallık (8), Hollanda (7), İsveç(7), Fransa (6) ve Macaristan (6) olarak bildirilmiştir.

## **2.2. Aronya Meyvesinin Kimyasal Bileşimi**

Birçok çalışmada aronya meyvesinin kimyasal bileşenleri, besin maddeleri (karbonhidratlar, organik asitler, protein, lipitler, vitaminler ve mineral maddeler vb.) ve fenolik bileşikler olarak bildirilmiştir. Fenolik bileşikler, organik asitler, protein ve lipitler gibi diğer bileşenler aronyanın meyve kalitesine ve stabilitesine etki etmektedir. Yapılan literatür araştırmasında bu bileşenlerin miktar ve dağılımında önemli ölçüde farklılıklar görülmüştür. Bu farklılıkların tür ve çeşit gibi genetik faktörlere bağlı olduğu kadar olgunluk, hasat zamanı (Andrzejewska ve ark, 2015; Engin ve Mert, 2020), gübreleme (Jeppsson, 2000; Skupien ve Oszmianski, 2007), sulama, iklim, ışık, sıcaklık ve lokasyon gibi çevresel faktörlere de bağlı olduğu bildirilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008; King ve Bolling, 2020).

Aronya meyvesinin kuru madde (KM) oranları %27–31 (Skupien ve Oszmianski, 2007) ve %17–29 (Kulling ve Rawel, 2008) aralıklarında değiştiği bildirilmiştir. ‘Galicjanka’ ‘Hugin’ ‘Nero’ ve ‘Viking’ aronya çeşitlerinde sırasıyla %17,80; 19,50; 15,70 ve 15,30 olarak belirlenen KM oranlarının çeşitlere göre farklılık gösterdiğini rapor edilmiştir (Ochmian ve ark, 2012). Farklı aronya tür ve çeşitlerinde (kırmızı, mor ve siyah meyveli aronya ) KM oranlarının %24,0–36,4 arasında, Viking siyah aronya çeşidinde ise %24 olduğu belirtilmiştir (Taheri ve ark, 2013). Ayrıca Andrzejewska ve ark, (2015) bitki yaşı ve hasat zamanının meyvedeki KM oranlarını etkilediğini, yaşlı bitkilerin (16–17 yıllık) genç bitki (6–7 yıllık) meyvelerinkinden 2,7 kat daha fazla olduğunu ve meyvenin olgunlaşmasıyla da bu oranların arttığını bildirmişlerdir.

Aronya meyvelerinin pH değerleri 3,3–3,7 arasında değiştiği bildirilmiştir. Diğer üzümü meyvelerle karşılaştırıldığında organik asitler bakımından daha düşük bir orana sahip olan aronya meyvesine baskın ana asitin malik asit olduğu birçok çalışma tarafından rapor edilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008). Sırbistan’da yapılan bir

çalışmada aronyanın baskın organik asitlerinin malik ve sitrik asit olduğu bunların yanı sıra tartarik, süksinik ve fumarik asit organik asitleri içerdiği ve toplam organik asit oranlarının % 0,82–1,68 arasında belirlendiği bildirilmiştir (Djuric ve ark, 2015). Farklı çalışmalarda aronya suyunun pH değerleri 3,15–3,92 ve toplam titre edilebilir asitlik (TTA) oranlarının % 0,29–1,32 (sitrik asit cinsinden) aralığında olduğu rapor edilmiştir (Bolling ve ark, 2015; Tolic ve ark, 2015; Denev ve ark, 2018).

Aronya meyvesinin B grubu vitaminlerinin bazılarını, C ve K vitaminlerini, karotenoid ve tokoferollerini içerdiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Tanaka ve Tanaka (2001) farklı lokasyonlardan topladıkları aronya meyvelerinde; B<sub>1</sub> (0,017–0,019 mg/100g), B<sub>2</sub> (0,016–0,027 mg/100g), niasin (0,27–0,34 mg/100g), pantotenik asit (0,225–0,382 mg/100g), B<sub>6</sub> (0,024–0,029 mg/100g) belirlemiştir. Ayrıca aronyalarda 4,0–19,3 mg/100g arasında C vitamini ve 17,8–28,8 µg/100g arasında K vitamini bulunduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Skupien ve Oszmianski (2007) 100 g aronya meyvesinde C vitamini içeriklerinin 1,9–8,4 mg, Andrzejewska ve ark. (2015) ise 2,3–13,7 mg arasında değiştiğini belirlemiştir. Çalışmada meyvelerin (100 g) 1,35–1,47 mg α-tokoferol, 0,10–0,16 mg β-tokoferol, 0,08–0,10 mg, γ-tokopherol, 6,4–10,6 µg α-karoten ve 495–887 µg β-karoten ihtiva ettiği ifade edilmiştir. Başka bir çalışmada aronya meyvesinde C, A, E, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub> ve B<sub>7</sub> vitaminleri sırasıyla 7,25–98,75, 0,77, 0,008–0,031, 0,87, 2,85, 1,13 ve 0,62 mg/100g taze ağırlık olarak verilmiştir (King ve Bolling, 2020).

Taze aronya meyvesinin düşük yağ içeriğine sahip olduğu ve yapılan analizlerde toplam yağ içeriğinin %0,09–0,17 arasında değiştiği bildirilmiştir. Aronya meyvesinde bulunan lipidlerin önemli bir miktarının çekirdekte bulunan steroller ve fosfolipitler (%13,9) olduğu belirtilmiştir. Geri kalan lipidlerin ise posada (%2,9–9,8) olduğu, posadaki toplam yağ asitlerinin ise %90,49'unun doymamış ve %9,51'nin doymuş yağ asitlerinden oluştuğu bildirilmiştir. Bu yağ asitleri arasında en çok linoleik (C18:2) ve daha sonra oleik asidin (C18:1) olduğu ve yağ asitleri kompozisyonu içinde bu yağ asitlerinin sırasıyla %43,43 ve %16,38 oranlarında bulunduğu belirtilmiştir (Sidor ve Gramza-Michałowska, 2019).

Aronyanın karbonhidratları şekerler ve diyet lif olup taze aronya meyvesinde toplam karbonhidrat içeriğinin %6,21–20,9 arasında değiştiği bildirilmiştir (King ve Bolling, 2020). Aronya meyvesi ve meyve suyundaki esas şekerlerin fruktoz ve sorbitol olduğu glukoz ve sakkarozun ise düşük miktarlarda bulunduğu rapor edilmiştir. Aronya

meyvesinde %4,36–12,99 olarak tespit edilen ve bir şeker alkol olan sorbitol, aronyada bol miktarda bulunmakla birlikte gram başına 2,6 kalori değerinde olup idrar söktürücü, laksatif (müshil gibi) bir etkiye sahiptir. Meyve şekerlerinin çoğu meyve suyuna geçerken diyet lif esas olarak posada kalmaktadır. Kabuk, çekirdek ve meyve içi hücre yapılarından oluşan aronya posası zengin bir diyet lif kaynağıdır ve kuru maddenin yaklaşık % 70'ini oluşturur. Aronya meyve posasının kuru ağırlık üzerinden toplam diyet lif oranı % 57,8–71,5 arasında değişirken çözünmeyen lif içeriği ise %43,8–61,7 arasında belirlenmiştir (Schmid ve ark, 2020). Aronya posasındaki liflerin %34'ü selüloz, %32'si hemiselüloz, %22,7'si lignin ve %7,52'si pektin olarak bildirilmiştir (Sidor ve Gramza-Michałowska, 2019; King ve Bolling, 2020).

Ochmian ve ark, (2012) 'Galicjanka' 'Hugin' 'Nero' ve 'Viking' aronya çeşitlerinin meyvelerinde toplam şeker oranlarını sırasıyla %12,92; 13,79; 10,25 ve 9,16 indirgen şeker oranlarını ise %12,16; 12,48; 9,88 ve 8,83 olarak bildirmişlerdir. Başka çalışmalarda; toplam şeker oranı %19,32–20,92 ve indirgen şeker oranı %18,21–19,36 (Skupien ve Oszmianski, 2007), Galicjanka çeşidi meyvelerinde indirgen şeker oranı %6,8–9,0 olarak bildirilmiştir (Andrzejewska ve ark, 2015). Taze aronya meyvesinde indirgen şeker içeriğinin %16–18 arasında olduğu belirlenmiştir. Taze sıkılmış aronya meyve suyunda glukoz 30–60 g/L ve fruktoz 28–58 g/L miktarları arasında, sorbitol miktarı ise taze sıkılmış meyve suyunda 80 g/L ve pastörize edilmiş meyve suyunda ise 56 g/L olarak bildirilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008). Şeftali, kayısı, nektarin, elma, armut, ayva, kiraz, üvez, yaban mersini ve aronya meyvelerin analiz edildiği bir çalışmada, en yüksek sorbitol içeriğinin aronya meyvesinde (35–49 g/L) olduğu, bu durumun karışık meyve suları için önemli bir biyo-belirteç (biomarker) olarak kullanılabileceği araştırma sonucu olarak verilmiştir (Hofsommer ve Koswig, 2005).

Diğer üzümü meyvelerde olduğu gibi aronya meyvesinde de protein ve amino asit miktarı nispeten düşüktür. Farklı çalışmalarda aronya meyvesinde protein oranı taze meyve ağırlığı üzerinden %0,60–0,81 (Tanaka ve Tanaka 2001) ve %0,7; kuru ağırlık üzerinden ise %3,71 (Sidor ve Gramza-Michałowska, 2019) olarak bildirilmiştir. Aronya meyvesi, arginin, trozin, histidin, lizin, sistein, alanin, asparajin, serin, glutamik asit ve treonin olmak üzere hem esansiyel hem de esansiyel olmayan amino asitleri içermektedir. Amino asitler arasında en bol olanı 0,033–0,39 mg/100 g ile treonin ve daha sonra 0,023–0,39 mg/100 g ile serin olduğu belirtilmiştir (King ve Bolling, 2020).

Aronya meyvesinde kül oranları %0,44, %0,58 ve %0,37–0,49 (taze) belirlenmiş olup aronyanın mineral maddelerce zengin olduğu rapor edilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008). Aronya kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyum gibi başlıca makro (temel) minerallerin yanı sıra demir, bakır, iyot, çinko ve selenyum gibi mikro (eser) mineralleri de içermektedir (Kulling ve Rawel, 2008; Cindrić ve ark, 2017). Pavlović ve ark. (2015) tarafından bildirilen aronya meyvesi ve ürünlerinde makro ve mikro mineral miktarları (mg/kg) Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** Aronya meyvesi ve ürünlerinde makro ve mikro mineral miktarları (mg/kg) (Pavlović ve ark, 2015).

Mineral	Aronya meyvesi	Aronya suyu	Aronya çayı
<b>K</b>	2707–4977	19,6–56,3	385–2792
<b>Ca</b>	601–1167	138–1225	469–1395
<b>P</b>	239–956	167–1037	282–526
<b>Mg</b>	164–578	209–589	99–338
<b>Na</b>	12,5–16,8	19,6–56,3	9,4–40,8
<b>Fe</b>	9,4–14,2	7,2–25,2	22,8–58,1
<b>Mn</b>	5,49–17,89	2,98–11,77	2,63–52,2
<b>Zn</b>	4,09–8,40	0,89–3,45	2,41–8,27
<b>Si</b>	2,37–6,37	ND-7,4	2,18–6,30
<b>Al</b>	2,88–4,40	1,64–9,70	3,60–25,47
<b>B</b>	2,88–14,22	ND-9,32	2,60–4,96
<b>Sr</b>	1,57–7,05	0,34–3,67	1,01–9,10
<b>Ba</b>	1,48–6,66	0,77–2,06	1,48–9,62
<b>Cu</b>	0,82–2,11	0,68–4,51	1,76–4,00
<b>Sn</b>	0,62–0,72	0,86–1,09	0,58–0,89
<b>Cr</b>	0,49–0,53	0,55–0,74	0,44–0,85
<b>V</b>	0,40–1,58	0,47–1,43	0,31–0,96
<b>Se</b>	0,21–0,28	ND-1,73	0,26–0,56
<b>As</b>	0,20–0,36	0,37–0,79	0,30–0,98
<b>Ni</b>	0,143–0,740	0,130–0,860	0,204–0,568
<b>Pb</b>	0,048–0,091	ND-0,143	0,053–0,205
<b>Co</b>	0,019–0,043	ND-0,092	ND-0,144
<b>Mo</b>	0,016–0,021	ND-0,064	0,050–0,290
<b>Cd</b>	0,016–0,041	0,050–0,064	0,035–0,059
<b>Li</b>	ND-6,75	ND-0,072	ND-0,075
<b>Sb</b>	ND-0,29	ND-0,54	ND-0,66

Kaliçanın ve ark, (2022) aronya meyvesi, suyu ve posasında yaptıkları incelemede örneklerde en yüksek bulunan mineralin potasyum (3776–5110 mg/kg), ardından sırasıyla kalsiyum (163–2180 mg/kg), magnezyum (246–663 mg/kg) ve sodyum (229–493 mg/kg) olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonunda bu makro elementlerin

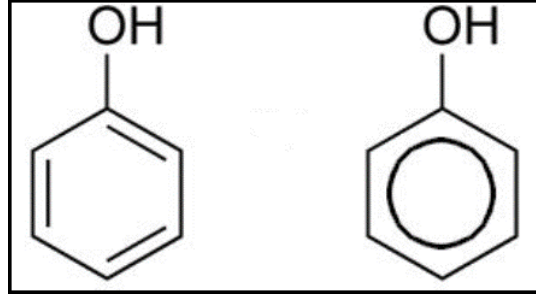


kardiyovasküler ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkilerinden dolayı aronya ve aronya bazlı ürünlerin sağlık açısından tüketiminin yararlı olabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca bu ürünlerin mikro elementler için iyi bir kaynak olduğu ve günlük 100g aronya meyve tüketiminin Cr, Mn, B ve Sr gibi belirli mikro elementler bakımından insan vücudunun günlük ihtiyacını karşılayabileceği bildirilmiştir.

Aronya meyvesinin en dikkat çeken aroma bileşeni karakteristik özelliği buruk tadına katkı sağlayan aynı zamanda acı badem kokusundan sorumlu olan amigdalin (amygdalin) aromatik bir siyojenik glikozittir (Kulling ve Rawel, 2008). Kulling ve Rawel (2008) amigdalin içeriğini aronya meyvesinde 20,1, meyve suyunda 5,8 ve meyve posasında 52,3 mg/100g (taze ağırlık), Sójka ve ark. (2013) ise aronya posasında 7,7 (çekirdeksiz) 185,7 (çekirdekli) mg/100g (kuru ağırlık) arasında bildirmişlerdir. Aronyada 48'den fazla uçucu bileşik tanımlanmış ve bunlardan bazıları benzaldehit siyanohidrin, hidrosiyanik asit, benzaldehit, benzil alkol, 2-fenilatanol, fenilasetaldehittir. Meyve suyu aromasının ana bileşikler ise alkoller (%48,9), ketonlar (%30,3), hidrokarbonlar (%0,2), asitler (%5,8), aldehitler (%2,9), terpenler (%0,6), esterler (%0,3) ve diğerleri (%1,3) gibi kimyasal gruplara ait bileşikler olarak bildirilmiştir (Jurendić ve Ščetar, 2021).

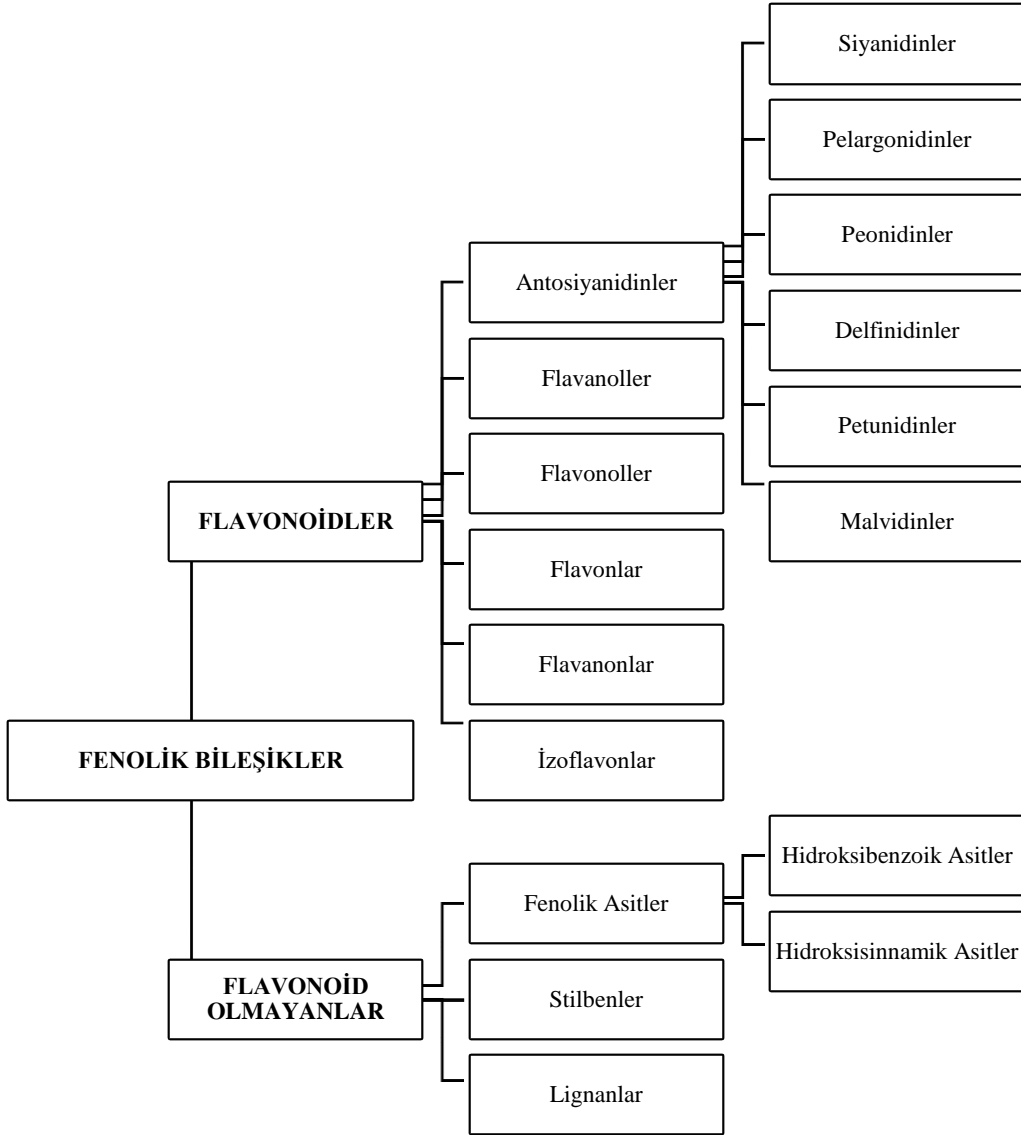
### **2.2.1. Fenolik bileşikler**

Fenolik bileşikler, bitkiler tarafından doğal olarak normal büyüme ve gelişmelerinin yanı sıra yaralanma, enfeksiyon ve UV radyasyon gibi stres koşullarında sentezlenen ikincil metabolitlerdir. Bu bileşikler virüs, parazit ve böcek gibi zararlılara karşı bitkilerin savunma mekanizmalarında oldukça önemli bir role sahiptirler. Fenolik bileşikler gıdaların renk, tat, koku, acılık, burukluk ve oksidatif stabilite gibi karakteristik özelliklerine katkı sağlamaktadırlar (Naczka ve Shahidi, 2004). Fenolik bileşikler, en az bir veya daha fazla hidroksil (-OH) grubu bağlanmış aromatik benzen halkası (Şekil 2.2) içeren organik maddeler olup oldukça geniş ve çeşitli bileşen gruplarına sahiptir.



**Şekil 2.2.** Fenol halkası.

Bitkilerde 8000'den fazla fenolik bileşik tanımlanmış ve basit kimyasal yapıları, aromatik halka sayıları, karbon iskelet yapıları ve flavonoid olup olmadıklarına göre (Şekil 2.3) 4 farklı şekilde sınıflandırılmıştır ( Karabulut ve Yemiş, 2019).



**Şekil 2.3.** Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Karabulut ve Yemiş, 2019).

Flavonoid olmayan fenolik bileşiklerin başında gelen ‘‘fenolik asitle’’ bir benzen halkasına sahiptirler. Fenolik asitler aromatik halkalarında bulunan hidroksil gruplarının yerlerinin farklılıklarıyla hidroksibenzoik asitler (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) ve hidroksisinnamik asitler (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) olmak üzere 2 alt gruba ayrılmaktadır. Bitkilerin meyve, kabuk ve yapraklarında bol miktarda bulunan hidroksisinnamik asitler; *p*-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitler meyvelerde esterleşmiş halde bulunabilmektedirler. Kafeik asitin kuinik asit ile yaptığı ester olan klorojenik asit en yaygın görülen sinnamik asit türevidir. Hidroksibenzoik asitler ise ellajik, salisilik (2-hidroksibenzoik asit), *p*-hidroksibenzoik asit (4-hidroksibenzoik asit), protokateşik asit (3,4-dihidroksibenzoik asit), vanilik asit (3-metoksi-4- hidroksibenzoik asit), gallik asit (3-4-5-trihidroksibenzoik asit) ve sirinjik asittir (Karaca, 2011; Demircan, 2018).

Flavonoidler, iki aromatik halkanın üç karbonlu bir köprüyle (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) birbirine bağlanması sonucu oluşan 15 karbonlu polifenolik bileşiklerdir. Bitkiler aleminde en çok bulunan fenolik bileşenler olup, heterosiklik yapılarına göre antosiyaninler, flavonoller, flavanonlar, flavonlar, flavanoller ve izoflavonlar olmak üzere 6 gruba ayrılırlar. Çiçeklere sarı, kırmızı, mor ve mavi gibi çeşitli renkleri verip bitkileri polinatörler (tozlaşmayı sağlayan canlılar) için çekici hale getirerek tozlaşmada etken bir rol oynarlar. Birçok gıdada bol miktarda flavonoid bulunmasına karşın en çok tıbbi bitkiler, baharatlarda ve meyvelerde, özellikle bitkilerin yapraklarında meyvelerin ise kabuklarında daha yoğun oldukları görülmüştür (Crozier ve ark, 2009; Demircan 2018). Basit bir flavonoid kimyasal yapısına çok sayıda ve çeşitte kimyasal bileşikler bağlanabilir. Flavonoidlerin çoğu doğal olarak şekerlerin bağlanmasıyla oluşan glikozitler halinde bulunur. Şeker ve hidroksil gruplarının bağlanmasıyla suda çözünürlüğü artan flavonoidler, metil grupları ve izopentil ünitelerinin bağlanması lipofilik (yağ, tolüen, hekzan gibi polar olmayan çözücüler) olmalarını sağlamaktadır (Crozier ve ark, 2009).

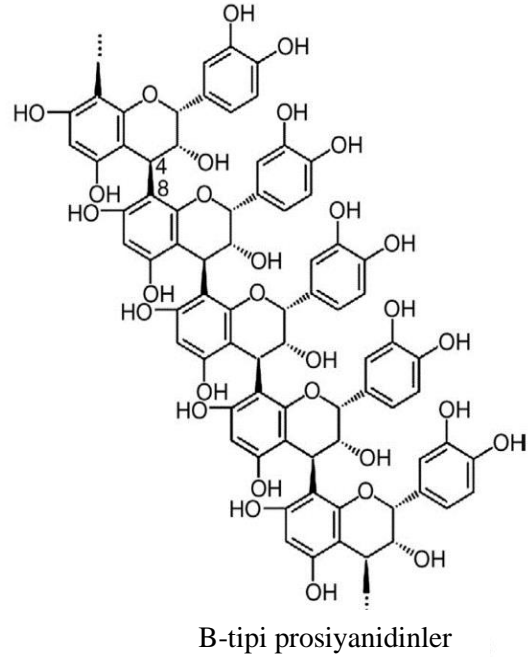
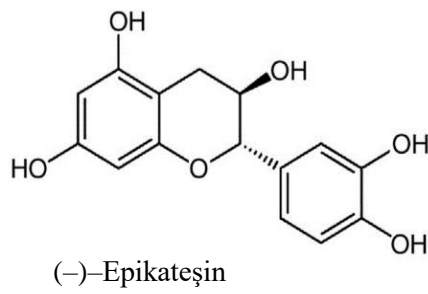
Flavonoller, algler haricinde bitkiler aleminde en yaygın bulunan flavonoid grubu olup başlıca kaempferol, kuersetin, isorhamnetin ve mirisetin genellikle *O*-glikozitler olarak bulunurlar ( Crozier ve ark, 2009). Flavanoller (flavan-3-oller), flavonoidler arasında yapısal olarak en karmaşık sınıf olup basit monomerler (+(-) kateşin), izomerler ((-) epikateşin) ve oligomerlerle (gallokateşinler) beraber proantosiyanidin (kondanse tanenler) gibi polimerlerde bu grupta yer almaktadır. Proantosiyanidinler,

50 üniteye kadar polimer oluşturabilmektedir. Sadece epi(kateşin) ünitelerinden oluşana “prosiyanidinler” denir ve bitkilerde en çok bulunan proantosiyandinlerdir. Tanenler, farklı fenolik kısımların çeşitli derecelerde esterifikasyonu ve oksidatif bağlanmasından oluşan yüksek moleköl ağırlıklı fenolik bileşik polimerleridir. Kimyasal yapılarına ve sentezlenme yollarına bağı olarak hidrolize olabilen ve kondense (proantosiyandinler) olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Tanenlerin diğer fenolik bileşiklerden farklı olan en belirgin özelliği, proteinleri ve alkaloitleri çökeltme özellikleridir. Tanenler, farmakolojik olarak aktif bileşenler olduklarından, özellikle Doğu Asya’da, boya ve mürekkep üretiminde veya geleneksel tedavilerde halk tarafından ilaç olarak da kullanılmıştır. Tanenler, kırmızı şarap, çay ve olgunlaşmamış meyveler gibi birçok yiyecek ve içecekte burukluk tadı ve kuruluk hissi vermektedir. Sıcak su ile hidrolize olabilen tanenler gallotanenler ve ellejitanenler olarak sınıflandırılır ve gıdalarda daha çok ellajitanenler (nar, ceviz ve üzümü meyveler) yaygın olarak bulunur. Kondense tanenler ise oldukça kuvvetli mineral asitlerin alkollü çözeltileri tarafından kendilerine karşılık gelen antosiyandinlerine parçalanabilir. Kondense tanenler doğal olarak kakao çekirdeklerinde, kırmızı şarapta, meyvelerde, kuruyemişlerde, çikolatada ve baklagillerde bulunur (Crozier ve ark, 2009; Erşan, 2017).

Aronyada bulunan en önemli bileşenler, aynı zamanda meyvenin yüksek antioksidan aktivitesi ve diğer tıbbi özelliklerinden de sorumlu tutulan fenolik bileşikleridir. Aronya meyveleri, proantosiyandinler, antosiyandinler, fenolik asitler, flavonoller ve flavanonlar gibi çok yüksek fenolik bileşik içeriğine sahiptir (Kulling ve Rawel, 2008; Rodríguez–Werner, 2019; Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019). Aronya toplam polifenollerin % 66’sını oluşturan polimerik prosiyanidinler meyvenin kendine özgü buruk ve ekşi tadını veren bileşikleri olarak bildirilmiştir (Oszmiański ve Wojdylo, 2005). Aronya prosiyanidinlerinin ağırlıklı olarak Şekil 2.4’de kimyasal yapıları gösterilen (–)–epikateşin (flavan–3–ol) alt birimlerinden ve bu fenoliklerin B–tipi (C<sub>4</sub>–C<sub>6</sub> ve C<sub>4</sub>–C<sub>8</sub>) bağlarından oluştuğu gözlemlenmiştir (Kokotkiewicz ve ark, 2010). Serbest (monomer flavan–3–ol) epikateşinler ise polimerik prosiyanidinlerle karşılaştırıldığında, çok daha düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Araştırmalarda aronyanın antioksidan aktivitesinin %40’ının prosiyanidinlerinden kaynaklandığını bildirilmiştir. Toplam prosiyanidinlerin içeriği en yüksek olgunlaşmamış meyvelerde belirlenmiş ve meyve olgunlaştıkça giderek azaldığı tespit

edilmiştir (Gralec, 2019). Oszmiański ve Wojdyło (2005) çalışmalarında aronya posasında (8191,58 mg/100g KM) polimerik prosiyanidin içeriğinin meyve (5181,60 mg/100g KM) ve meyve suyundan (1578,79 mg/100g KM) daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Sójka ve ark. (2013) ise aronya posasının çekirdeksiz fraksiyonlarının daha yüksek prosiyanidin içerdiğini bildirmişlerdir.

Proantosiyandinlerin polimerizasyon derecesi (mDP) aronya meyvelerinde 19–59, meyve suyunda 12–52 ve posada 18–34 olarak belirlenmiştir. Hellström ve ark. (2010) yaptıkları bir çalışmada aronya suyu ve ekstraktında oldukça yüksek derecede proantosiyandin polimerizasyonu (mDP > 100) olduğunu bildirmişlerdir. Aronya meyvesindeki (–)-epikateşinin bir kısmı monomer formundayken unu ve suyunda siyanidin glikozitleri ile bağlı şekilde olduğu görülmüştür (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).



**Şekil 2.4.** Aronyanın proantosiyandinlerinin kimyasal yapısı (Ćujić ve ark, 2018).

Wu ve ark. (2004) aronyadaki prosiyanidinlerin % 0,78'ini monomerler, %1,88'i dimerler, %1,55'i trimerler, %6,07'si 4–6–merler, %7,96'sı 7–10–merler ve %81,72'si ise 10'dan büyük polimerlerden oluştuğunu belirlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında siyah ve kırmızı frenk üzümü, beктаşi üzümü, aronya ve mürver çeşitlerinde aronya meyvesinin diğer üzümsü meyvelere göre oldukça fazla proantosiyandin içerdiğini (663,7 mg /100g taze ağırlık) bildirmişlerdir.

Aronyanın toplam fenolik bileşiklerinin %7,5'ini oluşturan konsantrasyon miktarı olarak üçüncü sırada yer alan bileşikler ise fenolik asitlerdir. Aronya meyvesinde baskın olduğu belirlenen klorojenik ve neoklorojenik asitler fenolik bileşiklerin hidroksinamik asitler grubunda yer almaktadır. Meyvenin diğer fenolik asitleri ise kriptoklorojenik asit, *p*-kumarik asit ve türevleri, kafeik asit ve türevleri, protokateşik vanilik, ferulik, salisilik, sirinjik, 4-hidroksibenzoik ve ellajik asitleri olarak bildirilmiştir (Oszmiański ve Wojdyło, 2005; Sidor ve Gramza-Michałowska, 2019).

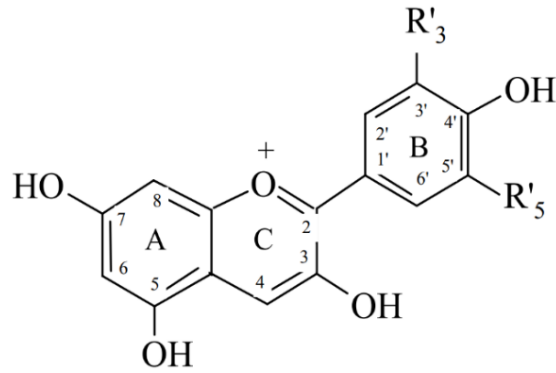
Toplam polifenollerinin 1,3'ünü oluşturan aronya flavonolleri ise esas olarak kuersetin türevleri (kuersetin-3-glukozit, 3-galaktozit, 3-rutinozit, 3-robinobinozit, 3-visinozit) olup düşük miktarlarda izorhamnetin 3-galaktozit, 3-glukozit, 3-neohesperidozit ve 3-rutinosit; mirisetin, kaemferol 3-galaktozit ve 3-glukozit bileşikler olarak bildirilmiştir (Wilkes ve ark, 2014).

### 2.2.2. Antosiyaninler

Antosiyaninler; Yunanca *anthos* = çiçek ve *kianos* = mavi kelimelerinin birleşimden gelmekte olup bitkilerde en çok bulunan pigmentlerdir. Antosiyaninler meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü, parlak turuncu, pembe, kırmızı, viole, mor ve mavi tonlarındaki çeşitli renklerini veren suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir (Castañeda-Ovando ve ark, 2009). Kimyasal olarak antosiyaninler, 'antosiyanidin'lerin glikozitleridir. Antosiyanidinler kararsız oldukları için doğada serbest halde bulunmazlar ve daima bir veya birkaç şeker molekülüyle esterleşmiş halde antosiyaninleri oluşturarak kararlı halde doğada bulunurlar (Rein, 2005).

Antosiyanidinler, fenolik bileşiklerin flavonidler grubuna ait olup C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> iskelet kimyasal yapısına sahiptirler (Rein, 2005). Antosiyanidinler (aglikonlar), oksijen içeren bir heterosiklik halkaya [C] bağlı bir aromatik halkanın [A] ve karbon-karbon bağıyla üçüncü bir aromatik halkanın [B] bağlanmasıyla oluşur. Antosiyanidinlere şekerlerin bağlanmasıyla antosiyaninler meydana gelmektedir (Castañeda-Ovando, 2009). Antosiyaninlerin temel yapısı onun aglikonu olan flavilyum (2-fenilbenzopirillium) katyonudur (Şekil 2.5). Bu katyon pigmentlerin insan gözüne kırmızı görünmesine neden olan 500 nm civarında ışığın absorpsiyonundan sorumlu konjuge çift bağları içermesidir. Antosiyanidinler flavilyum katyonunun B halkasındaki hidroksil (OH) ve metoksil (OCH<sub>3</sub> =OMe) gruplarının sayısı bakımından farklılık ve çeşitlilik göstermektedir (Rein, 2005). Günümüzde bilinen 23 farklı antosiyanidin olmasına rağmen bunlardan sadece 6'sı gıdalarda en yaygın ve

önemlidir. Bu antosiyanidinler siyanidin (Cy), pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv)'dir (Tablo 2.3). Metoksil grubu bulunmayan antosiyanidinlerin (Cy, Dp ve Pg) glikozitleri doğada en yaygın antosiyasinler olup ve pigmentli yaprakların % 80'inde, meyvelerin % 69'unda ve çiçeklerin % 50'sinde bulunurlar. Antosiyanidinlere bağlanan hidroksil grubu sayısı, yapılarına bağlı şekerlerin sayısı ve türü, bu şekerlere bağlı aromatik ve alifatik karboksilatların konumuna bağlı olarak çok çeşitli antosiyaninlerin oluştuğu ve doğada oldukça yaygın olarak bulunduğu bildirilmiştir (Kong ve ark, 2003; Castañeda–Ovando, 2009).



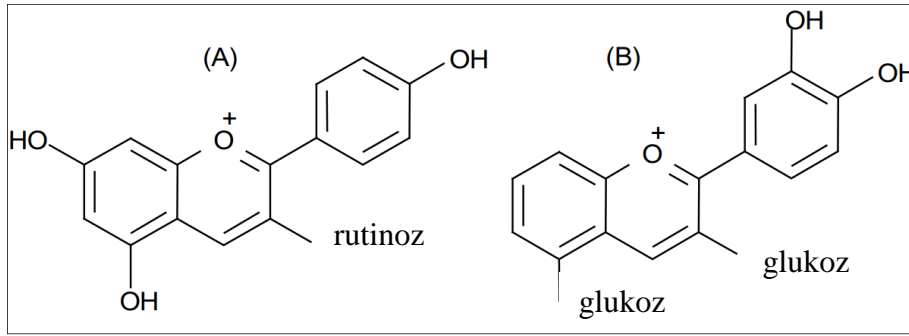
Şekil 2.5. Flavilyum katyonu.

**Tablo 2.3.** Flavilyum katyonundaki antosiyanidinlerin temel yapıları (Wu ve ark, 2004; Castañeda–Ovando, 2009).

Antosiyanidin	R <sub>3</sub> '	R <sub>5</sub> '	Renk	Moleküler Ağırlık
Siyanidin (Cy)	OH	H	Turuncu–kırmızı	287
Pelargonidin (Pg)	H	H	Turuncu	271
Peonidin (Pn)	OMe	H	Turuncu–kırmızı	301
Delfinidin (Dp)	OH	OH	Mavi–kırmızı	303
Petunidin (Pt)	OMe	OH	Mavi–kırmızı	317
Malvidin (Mv)	OMe	OMe	Mavi–kırmızı	331

Antosiyanidin glikozitlerin en yaygın şekeri glukozdur; onu sırasıyla ramnoz, galaktoz, arabinoz ve ksiloz monosakkaritleri takip eder. Rutinoz, sofroroz, sambubioz ve glukorutinoz şekerleri ise antosiyanidinlere en çok bağlanan di– ve trisakkaritlerdir.

Antosiyanin molekülüne çoğunlukla monoglikozit yani bir şeker molekülü (bazı istisnalar dışında) daima heterosiklik halkada bulunan 3. pozisyondaki karbon atomunun hidroksil grubuna bağlanır. Ancak diglikozitlerde 3. pozisyona her iki şeker molekülü de bağlanabildiği gibi 3. ve 5. pozisyona nadir de olsa 3.ve 7. pozisyonlara da bağlanabilirler (Şekil 2.5). Aynı zamanda şeker müküllerinin 3'–, 4'– ve 5'– pozisyonlarına bağladıkları da görülebilir (Rein, 2005). Antosiyanidin molekülüne şekerlerin bağlanmasıyla oluşan antosiyaninler, bağlanan şekerin ismi ve bağlandığı pozisyonun belirtilmesiyle adlandırılmaktadır. Örneğin Şekil 2.6'da gösterildiği gibi rutinozit bileşiği pelargonidin antosiyanidinin 3. pozisyondaki –OH grubuna bağlanarak pelargonidin 3–rutinozit (A) yapısını oluşturur ve bu şekilde adlandırılır. Şekildeki diğer bileşikte ise siyanidin antosiyanidin bileşiğinin 3. ve 5. pozisyonlarına birer glukoz bağlanarak siyanidin 3,5–diglukozit (B) antosiyanini oluşturur ve bu şekilde adlandırılır (Horbowicz ve ark, 2008).



**Şekil 2.6.** Pelargonidin 3–rutinozit (A) ve siyanidin 3,5–diglukozit (B)'nin kimyasal yapıları.

Meyve ve sebzelerde bu antosiyaninler sırasıyla %50 Cy, %12 Dp, %12 Pg, %12 Pn, %7 Pt ve %7 Mv olarak dağılım gösterir. Doğada 3–glukozit türevlerinin varlığı 3,5–diglukozitlerden 2,5 kat daha fazladır ve en yaygın antosiyanin Cy–3–glukozit olarak bildirilmiştir (Kong ve ark, 2003). Ayrıca antosiyaninler, antosiyaninin glikozil birimine bir ester bağıyla bağlanan organik asitlerle asil(açıl)lenebilir. Asillenme genellikle ya aromatik fenolik asitler ya da dikarbosilik asit ya da her ikisinin kombinasyonuyla gerçekleşmektedir. En çok bağlanan aromatik fenolik asitler; p–kumarik, ferulik, kafeik ve sinapik asitler gibi hidroksisinnamik asit türevleri ve gallik asit gibi hidroksibenzoik asit türevleridir. Antosiyaninlere en çok bağlanan alifatik asitler ise malonik, asetik, malik, süksinik ve okzalik asitlerdir (Rein, 2005).



Aronya meyvesinin önemli bileşiklerinden biri olan antosiyaninler ise meyveye koyu mavi–menekşe (dark blue–violet) rengini veren, suda çözünebilir, flavonid grubu fenolik bileşiklerdir. Aronya meyvesinde, toplam fenolik bileşiklerin yaklaşık olarak %25'i antosiyaninlerden meydana gelmiş olup, siyanidin 3–galaktozit, siyanidin 3–arabinozit, siyanidin 3–glukozit ve siyanidin 3–ksilozit yüksek konsantrasyonlarda bulunan antosiyaninlerdir. Bazı çalışmalarda aronya meyvesinde düşük oranlarda da olsa pelargonidin 3–galaktozit ve pelargonidin 3–arabinozit antosiyaninlerinin de varlığı tespit edilmiştir (Wu ve ark, 2004; Kim ve ark, 2013).

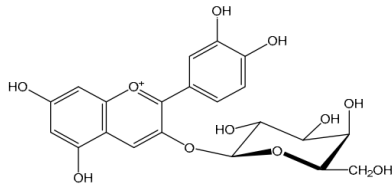
Aronya ile ilgili günümüze kadar birçok çalışma yapılmış olup, Tablo 2.4'te aronya meyvesi ve meyve suyunda bulunan önemli ve baskın fenolik bileşikler ile ilgili çalışmalardan elde edilen sonuçlara yer verilmiştir.

**Tablo 2.4.** Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).

Bileşik	Meyve	Meyve suyu
<b>Toplam fenolik bileşik</b> <b>(spektrofotometrik yöntem)</b>	1845–2340 mg GAE/100 g (Ochmian ve ark, 2012)	8834–11093 mg GAE/L (Tomić ve ark, 2017)
	7,78–12,85 g GAE/kg (Rop ve ark, 2010)	2,73–10,35 g GAE/L (Sosnowska ve ark, 2016)
	13,3 g GAE/kg (Kapçı ve ark, 2013)	4772,2 mg GAE/L (Daskalova ve ark, 2015)
	603 GAE/100 g (Dudonné ve ark, 2015)	4,00 g GAE/L (Popović ve ark, 2016)
	1079–1921 GAE/100 g (Wangensteen ve ark, 2014)	6484 mg GAE/L (Tomić ve ark, 2016)
	20,1 mg GAE/g (Wu ve ark, 2004)	6652 mg GAE/L (Valcheva-Kuzmanova ve ark, 2013)
	1540,01 mg GAE/100 g (Najda ve ark, 2013)	5461 mg GAE/L (Sainova ve ark, 2012)
	8563,8–12055,7 mg GAE/kg (Jakobek ve ark, 2012)	3172–7340 mg GAE/L (Borowska ve ark, 2009)
	8008 mg GAE/100 g KM (Samoticha ve ark, 2016)	6,3–6,6 g GAE/kg (Kapçı ve ark, 2013)
8008 mg GAE/100 KM (Taheri ve ark, 2013)	386 mg GAE/100 g (Kardum ve ark,2015)	
<b>Toplam antosiyanin</b> <b>(spektrofotometrik yöntem)</b>	4,5 g CGIE/kg (Kapçı ve ark, 2013)	1829–2768 mg CGIE/L (Tolić ve ark, 2017)
	488,8 mg CGIE/100 g D (Vagiri ve Jensen, 2017)	130,5–210,3 mg CGIE/100 g (Vagiri ve Jensen, 2017)
	3917 mg CGIE/100 g KM (Samoticha ve ark, 2016)	0,10–0,67 g CGIE/L (Sosnowska ve ark, 2016)
	498,98 mg/100 g (Jakobek ve ark, 2012)	456,2 CGIE/L (Daskalova ve ark, 2015)
	4341,06 mg CGIE/kg (Jakobek ve ark, 2007)	369,47 mg CGIE/ L(Popović ve ark, 2016)
		508–1087 mg CGaE/L (Borowska ve ark, 2009)

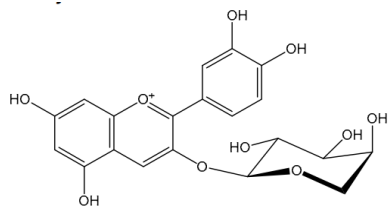
**Tablo 2.4. (Devamı)** Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).

<b>Toplam proantosiyanidinler (spektrofotometrik yöntem)</b>	8–178 g CE/kg (Mayer–Miebach ve ark, 2012)	4,6–15g CE/kg (Mayer–Miebach ve ark, 2012)
	2,46–3,74 g PCB2E/100 g (Wangensteen ve ark, 2014)	392,6–464,8 mg CE/100g (Wilkes ve ark, 2014)
	845,2 (D) –868,6 (H) mg CE/100 g (Wilkes ve ark, 2014)	3529,1mg CE/L (Oprea ve ark, 2014)
	9,25–13,5 mg CE/g KM (Taheri ve ark, 2013)	0,64–4,17 g CyE/L (Sosnowska ve ark, 2016)
		240 mg CE/L (Tomić ve ark, 2016)
	442 mg CE/100g (Kardum ve ark,2015)	
	3122,5 mg/mL (Krajka–Kuźniak ve ark, 2009)	
<b>Siyanidin-3-O-galaktozit</b>	417,3–636,0 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)	286,6–441,4 mg CGIE/kg (Kapçı ve ark, 2013)
	2917,2 mg CGIE/kg (Kapçı ve ark, 2013)	40,1–60,3 mg/100 g (Vagiri ve Jensen, 2017)
	1010,80–1203,56 mg /kg (Rop ve ark, 2010)	43–341 g CGIE/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)
	157,1 mg/100g D (Vagiri ve Jensen, 2017)	787 mg/100g KM (Oszmiański ve Wojdylo, 2005)
	379,36 mg/100g (Ochmian ve ark, 2009)	5,5–77,1 mg CGIE/100 g (Wilkes ve ark, 2014)
	473,54–515,22 mg/100g (Skupień ve Oszmiański, 2007)	46,58–96,88 mg CGIE/L (Sosnowska ve ark, 2016)
	1282,41 mg/100g KM (Oszmiański ve Wojdylo, 2005)	107,6 mg/100 g (Kardum ve ark,2015)
	315 mg CGaE/100g (Slimestad ve ark, 2005)	44,0–822,1 mg CGIE/L (Vlachoianis ve ark, 2015)
	168–282 mg/100g (Wangensteen ve ark, 2014)	
	424,7 (D)-205,5(H)mg CGIE/100g (Wilkes ve ark, 2014)	



**Tablo 2.4. (Devamı)** Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).

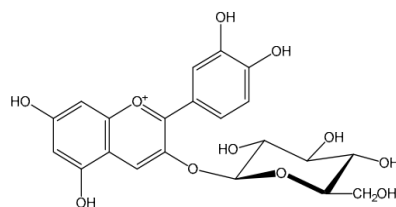
**Siyanidin-3-O-arabinozit**



128,0–299,4 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)  
 941,82–1553,29 mg/kg (Rop ve ark, 2010)  
 1359,4 mg CGIE/kg (Kapçı ve ark, 2013)  
 74.3 mg/100 g D (Vagiri ve Jensen, 2017)  
 1,9–2,1 g CGIE/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)  
 116,39 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009)  
 42–149 mg CGaE/100g (Wangensteen ve ark, 2014)  
 146 mg CGaE/100g (Slimestad ve ark, 2005)  
 154,7 (D) –57,5(H) mgCGIE/100g (Wilkes ve ark, 2014)

117,8–172,6 mg CGIE/kg (Kapçı ve ark, 2013)  
 16,9–27,7 mg/100 g (Vagiri ve Jensen, 2017)  
 14–108 g CGIE/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)  
 324,37 mg CGaE/100g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005)  
 1,0–20,4 mgCGIE/100g (Wilkes ve ark, 2014)  
 36,2 mg CGaE/100g (Kardum ve ark,2015)  
 11,3–249,9mg CGIE/L (Sosnowska ve ark, 2016)  
 110,1–178,7 mg CGaE/L (Borowska ve ark, 2009)  
 5,12 mg CGaE/100mL (Krajka-Kuźniak ve ark, 2009)

**Siyanidin-3-O-glukozit**

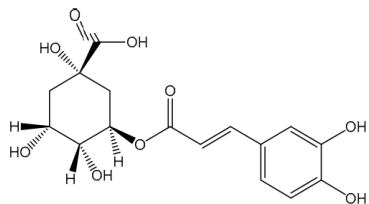
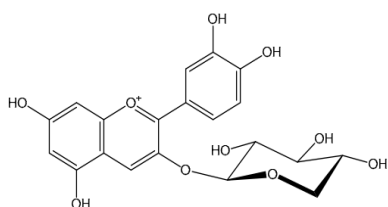


7,8-27,2 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)  
 127 mg/kg (Kapçı ve ark, 2013)  
 11,1 mg/100g D (Vagiri ve Jensen, 2017)  
 0,08–0,09 g/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)  
 7,11 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009)  
 18,15–21.51 mg/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007)  
 7,66 mg/100 g (Dudonné ve ark, 2015)  
 10 mg CGaE/100g (Slimestad ve ark, 2005)

15,2–19,9 mg/kg (Kapçı ve ark, 2013)  
 2,9–4,8 mg/100g (Vagiri ve Jensen, 2017)  
 0,5–9,9 g/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)  
 28,25 mg CGaE/100 KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005)  
 0,4–4,6 mg/100g (Wilkes ve ark, 2014)  
 2,01–4,37 mg/L (Sosnowska ve ark, 2016)  
 2,4–41,9 mg/L (Vlachojannis ve ark, 2015)  
 24,0–43,7 mg CGaE/L (Borowska ve ark, 2009)

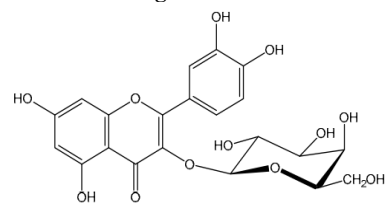
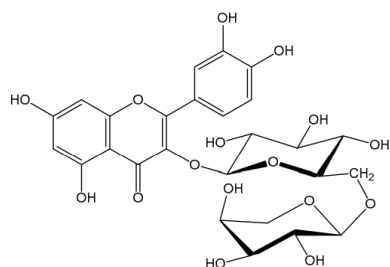
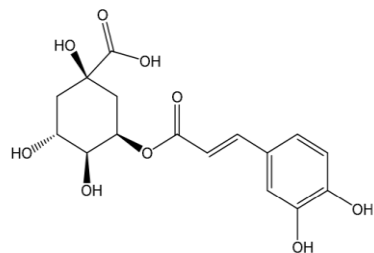
**Tablo 2.4. (Devamı)** Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).

<b>Siyanidin-3-O- ksilozit</b>	<p>29,0–38,2 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)</p> <p>165,8 mg CGIE/ kg (Kapçı ve ark, 2013)</p> <p>13,7 mg CGIE/100g (D) (Vagiri ve Jensen, 2017)</p> <p>0,13–0,14 g CGIE/ kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)</p> <p>26,40 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009)</p> <p>30,27–33,39 mg CGaE/100g (Skupień ve Oszmiański, 2007)</p> <p>52,71 mg CGaE/100g KM (Oszmiański ve Wojdylo, 2005)</p> <p>10 mg CGaE/100g (Slimestad ve ark, 2005)</p> <p>20,1 (D) –7,3 (H) mg CGIE/100g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>73 mg CGaE/100g (Tarko ve ark, 2009)</p>	<p>14,7–19,3 mg CGIE/ kg (Kapçı ve ark, 2013)</p> <p>3,7–5,8 mg CGIE/100g (D) (Vagiri ve Jensen, 2017)</p> <p>1–13 g CGIE/ kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)</p> <p>33,63 mg CGaE/100 KM (Oszmiański ve Wojdylo, 2005)</p> <p>0,21–2,7 mg CGIE/100g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>1,24–4,74 mg CGIE /L (Sosnowska ve ark, 2016)</p> <p>0,59 mg CGaE/100mL (Krajka-Kuźniak ve ark, 2009)</p> <p>19,8–29,4 mg CGaE/L (Borowska ve ark, 2009)</p>
<b>Klorojenik Asit</b>	<p>72,0–96,6 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)</p> <p>1131,15–1960,72 mg/kg (Rop ve ark, 2010)</p> <p>0,69–0,74 g/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)</p> <p>65,42 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009)</p> <p>83,97–110,62 mg/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007)</p> <p>301,85 mg /100 g KM (Oszmiański ve Wojdylo, 2005)</p> <p>70,2 (D) –80,2 (H) mg/100g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>218 mg/100g (Tarko ve ark, 2009)</p>	<p>0,2-0,3 g/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)</p> <p>415,86 mg /100 g KM (Oszmiański ve Wojdylo, 2005)</p> <p>30,4-47,7 mg /100 g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>463,31-642,28 mg NChAE/L (Sosnowska ve ark, 2016)</p> <p>45,50 mg /100 mL (Krajka–Kuźniak ve ark, 2009)</p> <p>32 mg /100g (Kardum ve ark,2014)</p> <p>858 mg/L (Sainova ve ark, 2012)</p> <p>453,3–628,1 µg/mL (Piasek ve ark, 2011)</p>



**Tablo 2.4. (Devamı)** Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).

<b>Neoklorojenik Asit</b>	<p>59,3–79,1 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)</p> <p>883,3–1156,59 mg/kg (Rop ve ark, 2010)</p> <p>0,71–0,72 g ChAE/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)</p> <p>56,51 mg/100g (Ochmian ve ark, 2009)</p> <p>74,60–96,76 mg ChAE/100g (Skupień ve Oszmiański, 2007)</p> <p>290,81 mg ChAE/100g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005)</p> <p>46,2 (D) –46,8 (H) mg ChAE /100g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>189 mg ChAE/100g (Tarko ve ark, 2009)</p>	<p>0,21–0,29 g ChAE/kg (Mayer-Miebach ve ark, 2012)</p> <p>393,10 mg ChAE/100g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005)</p> <p>18,4–30,1 mg ChAE /100g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>323,67–442,33 mg /L (Sosnowska ve ark, 2016)</p> <p>49,21 mg /100mL (Krajka-Kuźniak ve ark, 2009)</p> <p>28 mg/100g (Kardum ve ark, 2014)</p> <p>830 mg/L (Sainova ve ark, 2012)</p> <p>361,3–449,0 µg ChAE /mL (Piasek ve ark, 2011)</p>
<b>Kuersetin-3-O-visinozitol</b>	<p>2,6–4,3 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)</p> <p>2,36 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009)</p> <p>3,84–5,41 mg QRE/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007)</p> <p>36,4 mg QGaE/kg (Mikulic–Petkovsek ve ark, 2012)</p> <p>4,0 (D) – 4,5 (H) mg QRE/100 g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>8,5 mg QGIE/100 g (Tarko ve ark, 2009)</p>	<p>1,95–5,50 mg/100 KM (Oszmiański ve Lachowicz, 2016)</p> <p>2,5–3,1 mg QRE/100 g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>8,80–43,48 mg QGIE/L (Sosnowska ve ark, 2016)</p> <p>1,8–2,0 mg/L (Bursac Kovačević ve ark, 2016)</p> <p>1,15 mg QRE/100mL (Krajka–Kuźniak ve ark, 2009)</p>
<b>Kuersetin-3-O-galaktozitol</b>	<p>6,6–9,9 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012)</p> <p>8,31 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009)</p> <p>9,91–14,57 mg QRE/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007)</p> <p>36,98 mg QRE/100 g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005)</p> <p>65,6 mg mg /kg (Mikulic–Petkovsek ve ark, 2012)</p>	<p>6,77–16,46 mg/100 g KM (Oszmiański ve Lachowicz, 2016)</p> <p>49,76 mg QRE/100 g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005)</p> <p>4,1–5,7 mg QRE/100 g (Wilkes ve ark, 2014)</p> <p>7,0–10,3 mg/L (Bursac Kovačević ve ark, 2016)</p> <p>2,83 mg QRE/100 mL (Krajka–Kuźniak ve ark, 2009)</p>



**Tablo 2.4. (Devamı)** Aronya meyve ve meyve suyunda en çok bulunan fenolik bileşikler (Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019).

<b>Kuersetin-3-<i>O</i>-robinobiozit</b>	1,1–11,3 mg/100g (Ochmian ve ark, 2012) 1,03 mg /100 g (Ochmian ve ark, 2009) 5,42–5,76 mg QRE/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007) 11,1 mg QGIE/100 g (Tarko ve ark, 2009)	4,94–10,75 mg/100 g KM (Oszmiański ve Lachowicz, 2016) 1,6–2,1 mg QRE/100 g (Wilkes ve ark, 2014) 23,59–118,89 QGIE mg/L (Sosnowska ve ark, 2016) 1,17 mg QRE/100 mL (Krajka-Kuźniak ve ark, 2009)
<b>Kuersetin-3-<i>O</i>-glikozit</b>	4,4–11,3 mg/100g (Ochmian ve ark, 2012) 4,03 mg/100g (Ochmian ve ark, 2009) 7,07–8,87 mg QRE/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007) 21,64 mg QRE/100 g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005) 20,8 mg /100g (Tarko ve ark, 2009)	7,08–13,54 mg/100 g KM (Oszmiański ve Lachowicz, 2016) 3,2–4,2 mg QRE/100 g (Wilkes ve ark, 2014) 4,8–5,8 mg/L (Bursac Kovačević ve ark, 2016) 53 mg/L (Tomić ve ark, 2016) 2,25 mg QRE/100 mL (Krajka-Kuźniak ve ark, 2009)
<b>Kuersetin-3-<i>O</i>-rutinozit</b>	3,9–6,1 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2012) 5,51 mg/100 g (Ochmian ve ark, 2009) 5,50–6,27 mg/100 g (Skupień ve Oszmiański, 2007) 14,1 mg QE/100 g (Dudonné ve ark, 2015) 15,10 mg/100 g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005) 12,6 mg QGIE/100g (Tarko ve ark, 2009)	4,29–8,98 mg/100g KM (Oszmiański ve Lachowicz, 2016) 27,53 mg/100g KM (Oszmiański ve Wojdyło, 2005) 2,3–2,8 mg/100 g (Wilkes ve ark, 2014) 5,9–6,9 mg/L (Bursac Kovačević ve ark, 2016) 194 mg/L (Tomić ve ark, 2016) 1,68 mg/100mL (Krajka–Kuźniak ve ark, 2009)

KM: kuru madde, D: dondurulmuş, H: haşlanmış, Eşdeğerler: CaE: kafeik asit, CArE: siyanidin 3-*O*-arabinozit, CE: kateşin, CGaE: siyanidin 3-*O*-galaktozit, CGIE: siyanidin 3-*O*-glukozit, ChAE: klorojenik asit, CRE: siyanidin 3-*O*-rutinozit, CyE: siyanidin, GAE: gallik asit, NChAE: neoklorojenik asit, PCB2E: prosiyanidin B2, QE: kuersetin, QGaE: kuersetin 3-*O*-galaktozit, QGIE: kuersetin 3-*O*-glukozit, QRE: kuersetin 3-*O*-rutinozit

### **2.2.2.1. Antosiyaninlerin ısı ve depolama stabiliteleri**

Meyve, sebze ve tahıllarda serbest ve bağılı halde bulunan fenolik asit ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşiklerin ısı ve ısı olmayan çeşitli işleme prosesleri sırasında yapısal formları bozulur veya değişir. Bu bileşiklerin başında gelen antosiyaninler, birçok meyve ve sebzenin ana bileşenleri olup yapıları bozularak/parçalanarak (degradasyon) kendilerine özgü renklerini kaybederler. Bu istenmeyen durum gıda ürünlerinin albenisi dolayısıyla ticari değerini olumsuz etkilemektedir. Antosiyaninlerin stabilitesi etkileyen en önemli faktörlerden biri sıcaklık olmasına rağmen meyve suyu teknolojisinde ısı işlem ürünün raf ömrünü muhafaza etmek ve uzatmak için en sık uygulanan yöntemdir. Bugüne kadar birçok meyve ve sebze antosiyaninlerinin ısıl stabilitelerine ait degradasyon kinetikleri incelenmiş ve bunlardan bazıları Tablo 2.5'te verilmiştir. Ayrıca antosiyaninlerin degradasyonuna neden olan en önemli parametrelerden biri de sıcaklık-süre ilişkisi olup birçok çalışmada uygulanan sıcaklığın süresi artıkça degradasyon hızının arttığı belirlenmiştir. Tablo 2.5'te görüldüğü gibi hem ısı işlem hem de depolama stabilite çalışmalarının pek çoğunda antosiyaninlerin ısıl degradasyonunun birinci derece reaksiyon kinetiğine uyduğu bildirilmiştir (Kırca, 2004; Nayak ve ark, 2015).



**Tablo 2.5.** Antosiyaninlerin bozunma kinetik parametreleri (Nayak ve ark, 2015).

Meyve/sebze	İşleme koşulu	Bozunma kinetiği	Kinetik parametre	Kaynak
Acai	10–30 °C; H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0- 30 mmol/L)	1. derece	$k = (7,7-13,9) \times 10^3 \text{ dak.}^{-1}$ ; $t_{1/2} = 90-50 \text{ dak.}$ $Q_{10} = 1,5 (10-20 \text{ °C})$ ; $Q_{10} = 1,2 (20-30 \text{ °C})$	Del Pozo-Insfran ve ark. (2004)
Üzüm	25–98 °C; pH 3,0	1. derece	$k = 0,0006-0,2853 \text{ sa}^{-1}$ ; $t_{1/2} = 47 \text{ gün}-2,4 \text{ sa.}$ D-değeri = 157 gün–8,1 sa; z-değeri = 28 °C; $Q_{10}=2,28$ ; $E_a = 75,03 \text{ kJ/mol}$	Reyes ve Cisneros-Zevallos (2007)
Concord üzüm posası	30 dak. > için (126,7 °C)	Doğrusal olmayan regresyon (izotermal olmayan)	$k 110 \text{ °C} = 0,0607 \text{ dak.}^{-1}$ ; $E_a = 65,32 \text{ kJ/mol}$	Mishra ve ark. (2008)
Ahududu	5 ay, 4–40 °C	Doğrusal olmayan regresyon	$k = (2,00-7,10) \times 10^3 \text{ gün}^{-1}$ ; $E_a = 26 \text{ kJ/mol}$	Ochoa ve ark. (2001)
Tatlı kirazlar	5 ay, 4–40 °C	Doğrusal olmayan regresyon	$k = (1,28-6,95) \times 10^3 \text{ gün}^{-1}$ ; $E_a = 32,49 \text{ kJ/mol}$	Ochoa ve ark. (2001)
Ekşi kirazlar	5 ay, 4–40 °C	Doğrusal olmayan regresyon	$k = (1,10-5,37) \times 10^3 \text{ gün}^{-1}$ ; $E_a = 34,8 \text{ kJ/mol}$	Ochoa ve ark.(2001)
Erik püresi	0–20 dak. 50–90 °C	1. derece	$E_a = 37,48 \text{ kJ/mol}$	Ahmed ve ark. (2004)
Kan portakalı suyu	5–37 °C ve 70–90 °C	1. derece	$E_a = 73,2-89,5 \text{ kJ/mol}$ (11,2–69 °Briks)	Kirca ve Cemeroglu (2003)
Kan portakalı suyu	30–90 °C	1. derece	D-değeri = (13–158) $\times 10^3 \text{ s}$ ; Z-değeri = 36 °C; $E_a = 66 \text{ kJ/mol}$ ; $\Delta H D 63 \text{ kJ/mol}$ ; $\Delta S = -149 \text{ J/mol-K}$ $k = (0,064-2,25) \times 10^3 \text{ dak.}^{-1}$ ; $t_{1/2}=180,5-5,11 \text{ sa.}$ ;	Cisse ve ark. (2009)
Maviyemiş suyu	40–80 °C	1. derece	$Q_{10} = 4,27 (40-50 \text{ °C})$ ; $Q_{10} = 1,67 (50-60 \text{ °C})$ ; $Q_{10} = 2,95 (60-70 \text{ °C})$ ; $Q_{10} = 1,67 (70-80 \text{ °C})$ ; $\Delta H = 77,8 \text{ kJ/mol}$ ; $\Delta S = -43,07 \text{ J/mol-K}$	Kechinski ve ark. (2010)
Çilekler	25 °C ' de depolama	1. derece	$t_{1/2} = 56-934 \text{ gün}$	Garzon ve Wrolstad (2001)
Çilek konsantresi	0,5–1–2–4–6 sa, 95 °C	1. derece	$t_{1/2} = 1,95 \text{ sa.}$ (pH 3,5) $t_{1/2} = 3,2 \text{ sa.}$ (pH 1,0)	Sadilova ve ark. (2007); Sadilova ve ark. (2006)

**Tablo 2.5.(Devamı)** Antosiyaninlerin bozunma kinetik parametreleri (Nayak ve ark, 2015).

Mürver konsantresi	0,5–1–2–4–6 sa, 95 °C	1. derece	$t_{1/2} = 1,96$ sa. (pH 3,5) $t_{1/2} = 1,9$ sa. (pH 1,0)	Sadilova ve ark. (2007); Sadilova ve ark. (2006)
Frenk üzümü suyu (model sistem)	Isıtma (4–100 °C)	1. derece	$k = (0,16–310) \times 10^3 \text{ sa}^{-1}$ ; $t_{1/2} = 180$ gün–2,18 sa; $E_a = 73 \text{ kJ/mol}$ (21–100 °C)	Harbourne ve ark. (2008)
	1–30 dak. 110 °C	Doğrusal olmayan regresyon (izotermal olmayan)	$k_{110 \text{ °C}} = 1,02 \text{ sa}^{-1}$ ; $E_a = 81,5 \text{ kJ/mol}$	Harbourne ve ark. (2008)
	1 dak. 110–140 °C	Doğrusal olmayan regresyon (izotermal olmayan)	$k = 9,954 \text{ sa}^{-1}$ ; $E_a = 91,09 \text{ kJ/mol}$	Harbourne ve ark. (2008)
Böğürtlen suyu	60–90 °C (8,9° Briks için)	1. derece	$k = 0,69–3,94 \times 10^3 \text{ dak}^{-1}$ ; $t_{1/2} = 16,7$ sa.–2,9 sa.; $E_a = 58,95 \text{ kJ/mol}$	Wang ve Xu (2007)
Böğürtlen suyu	5–37 °C (8,9° Briks)	1. derece	$k = 2,0–59,1 \times 10^3 \text{ dak}^{-1}$ ; $t_{1/2} = 330,1$ sa. –11,7 sa.; $E_a = 75,5 \text{ kJ/mol}$	Wang ve Xu (2007)
Böğürtlen konsantresi	5–37 °C (65° Briks)	1. derece	$k = 5,2–89,9 \times 10^3 \text{ dak}^{-1}$ ; $t_{1/2} = 133,3$ sa. –7,7 sa.; $E_a = 65,06 \text{ kJ/mol}$	Wang ve Xu (2007)
Böğürtlen suyu	100–180 °C	Doğrusal olmayan regresyon (izotermal olmayan)	$E_a = 92 \text{ kJ/mol}$ (100–140 °C); $E_a = 44 \text{ kJ/mol}$ (140–180 °C);	Jimenez ve ark. (2010)
Böğürtlen suyu	100–180 °C	1. derece (izotermal)	$E_a = 74 \text{ kJ/mol}$	Jimenez ve ark. (2010)
Böğürtlen suyu	30–90 °C	1. derece	D-değeri = $(30–341) \times 10^3 \text{ s}$ , Z- değeri = 56–57 °C $E_a = 37 \text{ kJ/mol}$ $\Delta H = 34 \text{ kJ/mol}$ ; $\Delta S = -232$ ila $-233 \text{ J/mol-K}$	Cisse ve ark. (2009)
Hibiskus özü	30–90 °C	1. derece	D- değeri = $(30–2280) \times 10^3 \text{ s}$ , Z- değeri = 34–44 °C $E_a = 47–61 \text{ kJ/mol}$ $\Delta H = 44–58 \text{ kJ/mol}$ ; $\Delta S = -205$ ila $-165 \text{ J/mol-K}$	Cisse ve ark. (2009)

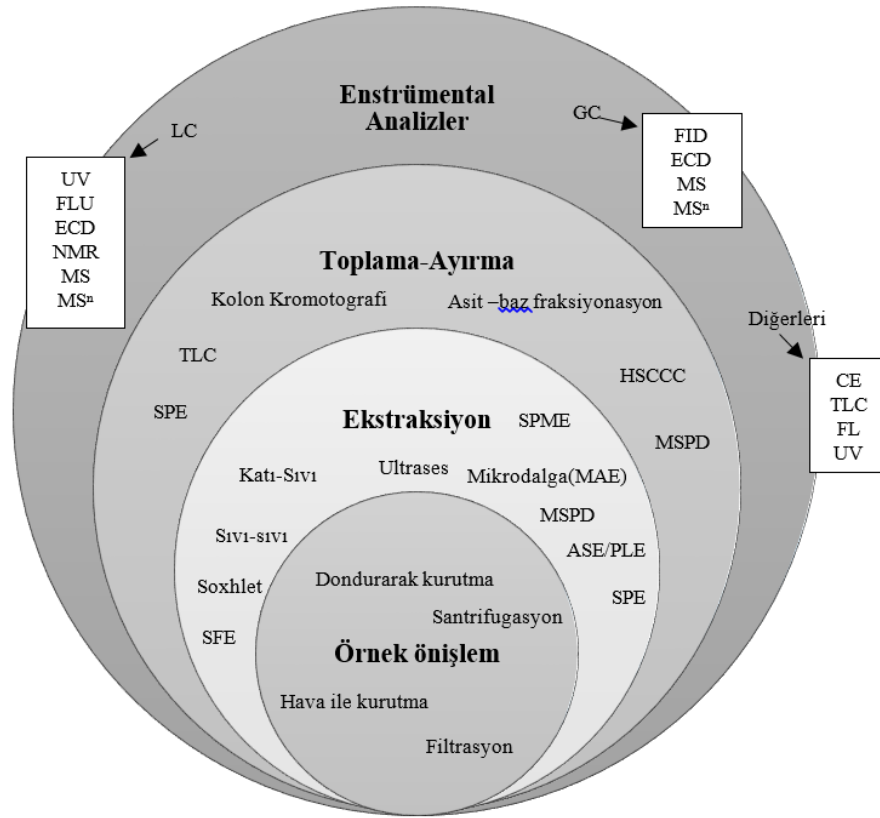
**Tablo 2.5.(Devamı)** Antosiyaninlerin bozunma kinetik parametreleri (Nayak ve ark, 2015).

Siyah havuç suyu	70–90 °C; pH 4,3 ve pH 6,0; 11–64° Briks	1. derece	$E_a = 62,5–95,1$ kJ/mol; $Q_{10} = 1,7–2,8$ (70–80 °C); $Q_{10} = 2,0–2,2$ (80–90 °C)	Kırca ve ark. (2007)
	70–90 °C; pH 2,5–7,0	1. derece	$E_a = 78,1–47,4$ kJ/mol	Kırca ve ark. (2007)
	Depolama 4–37 °C; pH 4,3	1. derece	$E_a = 62,1–86,2$ kJ/mol; $Q_{10} = 2,3–3,1$ (4–20 °C); $Q_{10} = 2,5–3,6$ (20–37 °C)	Kırca ve ark. (2007)
Siyah havuç konsantresi	70–90 °C; pH 2,5–7,0	1. derece	$t_{1/2} = 2,81$ sa. (pH 3,5) $t_{1/2} = 4,1$ sa. (pH 3,5)	Sadilova ve ark. (2007); Sadilova ve ark. (2006)
Kırmızı turp suyu konsantresi	Depolamada 4–37 °C; pH 4,3	2. derece	$t_{1/2} = 16$ hafta (25 °C) $t_{1/2} > 65$ hafta (2 °C)	Rodriguez-Saona ve ark. (1999)
Kırmızı etli patates Meyve suyu konsantresi	6–7 sa. 95 °C	2. derece	$t_{1/2} = 10$ hafta (25 °C) $t_{1/2} = 60$ hafta (2 °C)	Rodriguez-Saona ve ark. (1999)
Mor etli patates	2 veya 25 °C Depolama (65 hafta )	1. derece	$k = 0,0007–0,3259$ sa <sup>-1</sup> ; $t_{1/2} = 41$ gün–2,1 sa; D-değeri = 137 gün–7,1 saat; z-değeri = 28,4 °C; $Q_{10} = 2,25$ ; $E_a = 72,49$ kJ/mol;	Reyes ve Cisneros-Zevallos (2007)
Kırmızı etli patates	2 veya 25 °C Depolama (65 hafta )	1. derece	$k = 0,0003–0,0725$ sa <sup>-1</sup> ; $t_{1/2} = 89$ gün–9.6 saat; D-değeri = 297 gün–32 sa.; z-değeri = 31,5 °C; $Q_{10} = 2,08$ ; $E_a = 66,7$ kJ/mol;	Reyes ve Cisneros-Zevallos (2007)
Mor havuç	25–98 °C; pH 3,0	1. derece	$k = 0,0001–0,1004$ sa <sup>-1</sup> ; $t_{1/2} = 216$ gün–6,9 sa.; D-değeri = 717 gün–23 sa.; z-değeri = 26 °C $Q_{10} = 2,44$ ; $E_a = 81,34$ kJ/mol;	Reyes ve Cisneros-Zevallos (2007)

### 2.2.3. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve analizleri

Polifenoller ekstrakte edilmeden önce, bu bileşikleri içeren numuneler uygun şekilde toplanmalı, ayırt edilmeli ve hazırlanmalıdır. Numunelerin toplanması ifadesiyle genel olarak numunelerin tüm grubu (bitkiler, gıdalar, biyolojik sıvılar) temsil etmesi gerektiği anlaşılmalıdır. Numunelerin taşınması ve korunması sırasında ilgili bileşiklerin kaybını en aza indirmek için özen gösterilmelidir. Doğal polifenollerin bozunmasını önlemek için, numuneler ekstraksiyondan önce genellikle kurutulur, dondurulur veya liyofilize edilir çünkü yüksek nem veya su içeriği enzim aktivitelerini dolayısıyla bileşikleri etkiler. Isı, ışık ve oksijene maruz kalma gibi durumlar fenolik bileşikleri etkiler; bu nedenle mümkün olduğunca yüksek sıcaklıkta kurutmadan kaçınılmalıdır (Stalikas, 2007).

Konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri çoğunlukla daha büyük hacimli ekstraksiyon çözücülerini ve genellikle araştırmacıya bağlı olan ve yoğun emek gerektiren manuel prosedürler kullanılarak belirlenir; bu nedenle, teknikler ideal olarak tutarlı değildir. Katı-sıvı ekstraksiyonu (SLE) veya Soxhlet ekstraksiyonu, sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) ve maserasyonu geleneksel ekstraksiyon yöntemleri olarak bilinen yöntemlerdir. Bu yöntemlerin fazla çözücü gerektirmesi beraberinde çevresel sorunlara sebep olması ve düşük ekstraksiyon verimliliği gibi dezavantajlarından dolayı yeni ve teknolojik ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE), altkritik su ekstraksiyonu (SWE), süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SFE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), katı faz ekstraksiyonu (SPE), ultrases destekli ekstraksiyon (UAE), yüksek hidrostatik basınçlı ekstraksiyon (HHPE), katı destekli sıvı-sıvı ekstraksiyonu (SSLLE), matris katı faz dağılımı (MSPD) ve karşı akım kromatografisi (CCC) yer almaktadır. Enstrümantel yöntemler ve dedektörler ise; HSCCC: Yüksek hızlı karşı akım kromatografisi, TLC: İnce tabaka kromatografisi, FL: Floresan, FID: Alev iyonizasyon dedektör, ECD: Elektron yakalama dedektör; GC/LC: Gaz/sıvı elektrokimyasal dedektör, CE: kapiler elektroforez olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 2.7).



**Şekil 2.7.** Biyolojik sıvılar, içecekler, bitkiler ve gıdalarda fenolik asitlerin ve flavonoidlerin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin şeması (Tsao, 2010).

Polifenoller kimyasal yapılarından dolayı çoğunlukla hidrofilik olmaları sebebiyle su, metanol, etanol, asetonitril ve aseton gibi polar organik çözücüler veya bunların su karışımı kullanılarak ekstrakte edilir. Ayrıca ekstraksiyon solventinin pH'ı da önemli olup birçok fenolik bileşik ekstraksiyonu asidik koşullar altında gerçekleştirilir. Bunun nedeni ise fenoliklerin genellikle düşük pH'larda daha stabil olması ve asidik koşullarda nötr kalarak kolayca organik çözücülerle ekstrakte edilebilmeleridir (Tsao, 2010).

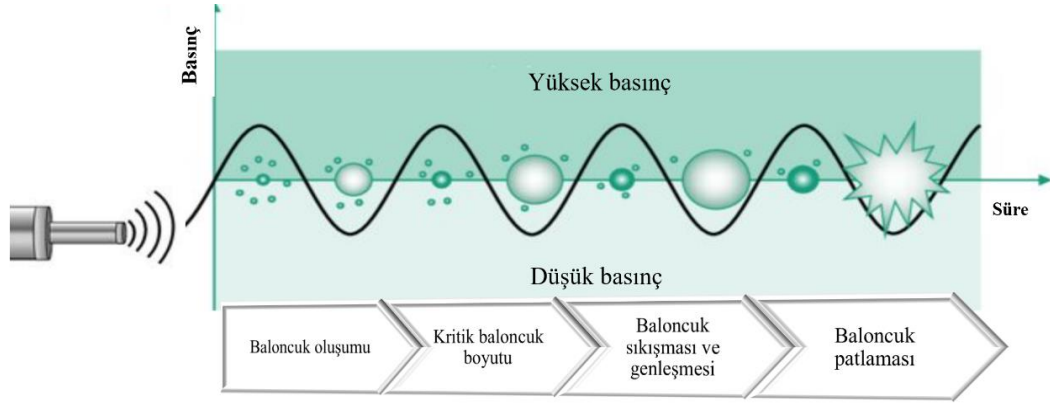
Geliştirilmiş spektrofotometrik yöntemler toplam fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarlarını belirlemek için kullanılmaktadır. Bu yöntemler hızlı ve basit olmakla birlikte, tek tek bileşikler için özgünlükten yoksundurlar. Numunenin polifenolik olmayan bileşenlerinden kaynaklanan etkileşimler de yanlış okumalara neden olabilir ve dolayısıyla hatalı sonuçlara yol açabilir. Tek tek polifenollerini doğru bir şekilde ölçmek ve tanımlamak için önce bu bileşiklerin ayrılması gerekmektedir. Çeşitli kromatografik teknikleri kullanan ayırma yöntemleri bulunmakla beraber, polifenollerin miktar tayini için en yaygın kullanılan DAD dedektör ve/veya kütle spektrometrisi (LC-MS) ile birleştirilmiş ters fazlı yüksek performans sıvı

kromatografisi (HPLC) cihazlarıdır. Kromatografide son gelişmelerden ultra yüksek performans sıvı kromatografi (UHPLC veya UPLC), ayırma performansını önemli ölçüde artırmış ve geleneksel HPLC'nin süresinin 1/10'una kadar azaltabilmiştir (Tsao, 2010).

### **2.2.3.1. Ultrases destekli ekstraksiyon**

Ultrases destekli ekstraksiyon, bir önışlem adımı olarak veya katı-sıvı ekstraksiyon sırasında ultrasonik ses dalgalarının (>20 kHz) kullanıldığı bir yöntemdir. Ses ve ultrases arasındaki fark, dalganın frekansı olup ultrases dalgaları insan işitme frekanslarının (16–20 kHz) üzerinde ancak mikrodalga frekanslarının (10 MHz) altında frekanslara sahiptir. Ultrases uygulamalarının sınıflandırılması için, ses gücü (W), ses yoğunluğu ( $W/m^2$ ) veya ses enerjisi yoğunluğu ( $W/m^3$ ) ile üretilen enerji miktarları temel kriterdir. Ultrasesin kullanım alanları yüksek yoğunluk ve düşük yoğunluk olmak üzere iki gruba ayrılır. Düşük yoğunluklu ultrases dalgaları; (yüksek frekans: 100 kHz–1 MHz, düşük güç:  $<1 W/cm^2$ ) özellikle kalite değerlendirmesi için matrikse yapısal olarak zarar vermeyen analizlerde tercih edilmektedir. Gıdaların sertlik, olgunluk, şeker içeriği ve asitlik gibi fiziko-kimyasal özellikleri belirlemek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yüksek yoğunluklu ultrases dalgaları (düşük frekanslı: 16–100 kHz, yüksek güç: 10–1000  $W/cm^2$ ) matriksin özelliklerini fiziksel veya kimyasal olarak değiştirebilir. Bu sebeple yüksek yoğunluklu ultrases, diğer uygulamaların yanı sıra, numune hazırlamanın verimliliğini artırmak ve hızlandırmak için kullanılmaktadır (Picó, 2013).

UAE için ana itici güç akustik kavitasyondur. Ultrases dalgalarının yapmış olduğu basınç farkından dolayı sıvılarda mikro baloncukların oluşması, genişlemesi ve içe doğru patlaması olayı “akustik kavitasyon” olarak tanımlanır (Şekil 2.8).



**Şekil 2.8.** Ultrasonik kaviteasyon (Wilhelm ve ark, 2020, modifiye edilmiştir).

Ultrases dalgaları mekanik olarak, solventin matriks içine daha fazla nüfuz etmesini sağlayarak kütle transferini hızlandırır. Hücre duvarlarının hasar görmesini sağlar ve hücre içerisindeki moleküller (bileşenler) serbest kalarak kolayca solvente geçer. Matriksin parçacık boyutu, seçilen solventin özellikleri, solvent matriks etkileşimi ve oranı, uygulanan ultrases genliği (yoğunluk ve güç), ultrasonik frekans, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi ultrases uygulamasını etkileyen faktörlerdir. Ekstraksiyon verimliliği artırmak için genlik, sıcaklık ve süre, solvent ve miktarı gibi parametreler optimize edilebilir (Tiwari, 2015). Proses parametrelerinin yanı sıra etkin bir ekstraksiyon için ultrases sistemleri de önemlidir. UAE sistemleri, ekstraksiyon ortamı ile ultrases kaynağı arasında doğrudan bir etkileşim olup olmadığına göre 2 şekilde sınıflandırılmaktadır. Prob sisteminde kaynak ve ekstraksiyon ortamı doğrudan temas halinde olduğu için ‘doğrudan ultrasonikasyon’ olarak adlandırılır. Su banyosu sisteminde ise kaynak ve ekstraksiyon ortamı doğrudan temas etmediği için ‘dolaylı ultrasonikasyon’ olarak tanımlanır. Her iki sistemde ekstraksiyon parametreleri optimize edilerek bileşenlerin ekstraksiyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Dzah ve ark, 2020).

UAE, ekstraksiyon veriminin artırılması, solventsiz sulu ekstraksiyon proseslerinin veya alternatif temiz-yeşil (toksik olmayan) solventleri kullanarak onların ekstraksiyon performanslarının geliştirilmesi (çevre dostu), ısıya duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonunun artırılması, kullanımının nispeten kolay ve çok yönlü olması ve ekstraksiyon süresininin daha kısa olması gibi önemli avantajlara sahiptir. Ayrıca UAE, diğer yeni ekstraksiyon tekniklerine (örneğin, SFE, PLE veya ASE) kıyasla düşük yatırım gerektirmektedir. UAE yöntemi polisakkaritler, uçucu yağlar, proteinler, peptitler, ince kimyasallar (boyalar ve pigmentler) ve ticari öneme sahip

biyoaktif moleküller dahil olmak üzere çok çeşitli moleküller ve biyomalzemeler için kullanılabilir (Tiwari, 2015).

### **2.3. Aronya meyvesinin sağlık üzerine etkileri**

Son zamanlarda antioksidan özelliği yüksek gıdalar sağlıklı beslenme bilinci olan tüketiciler tarafından özellikle hastalıklardan korunmak amacıyla diyetlerde tercih edilmektedir. Çalışmalarda çok yüksek antioksidan içerdiği tespit edilen aronya bu sebeple “süper meyve” olarak adlandırılmakta ve Dünya’da ve ülkemizde popülaritesi giderek artmaktadır. Literatür çalışmamızın bu bölümünde güncel çalışmalar ışığında aronya meyvesi ve ürünlerinin insan sağlığı üzerine potansiyel etkilerine yer verilmiştir.

Aronyanın ana bileşenleri olan polifenolik bileşikler ile aronyanın yüksek antioksidan aktivitesinin yanı sıra anti-inflamatuar (iltihap önleyici ve sökücü), antikanser, antimikrobiyal, antiviral, antidiyabetik, antiaterosklerotik (damar tıkanıklığını önleyici), hipotansif (tansiyon düşürücü) ve antiplatelet (kan trombositlerini yok eden) gibi özellikleri ilişkilendirilmektedir. Ayrıca bu bileşiklerin kanser ve kalp hastalıklarının gelişiminde önleyici bir rol oynadığı öne sürülmektedir (Jurendić ve Šćetar, 2021).

#### **2.3.1. Antioksidan aktivite özelliği**

Meyve, sebze ve antioksidanlar açısından zengin diğer gıdaların düzenli olarak tüketilmesi, genellikle sağlıkta iyileşme ve daha düşük oranda kronik hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Bitkiler aleminde 8000'den fazla bilinen polifenollerin en bol ve önemli antioksidanlar olduğu bildirilmiştir (Pavlovic ve ark, 2015; Ćujić ve ark, 2018). Tolić ve ark. (2017) çalışmalarında, aronya ve ürünlerinin güçlü antioksidan özelliğinden yüksek fenolik içeriğinin sorumlu olduğunu belirtmişlerdir. Farklı üzümü meyvelerin ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) yöntemi kullanılarak antioksidan kapasitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, en yüksek antioksidan aktivite değeri aronya meyvelerinde (160,2  $\mu\text{mol of TE/g}$ ) belirlenmiştir. Diğer örneklerle karşılaştırıldığında, kendine en yakın kırmızı yaban mersininden (38,1  $\mu\text{mol of TE/g}$ ) yaklaşık 4 kat ve en düşük kıvılcık (18,5  $\mu\text{mol of TE/g}$ ) örneklerinden ise yaklaşık 9 kat daha yüksek olarak bildirilmiştir. Ayrıca ORAC sonuçları ve aronya fenolik bileşikler arasında yüksek korelasyon (0,998) olduğu,



aronyanın antioksidan aktivitesinin %53,1 antosiyaninlerden, %38,2 fenolik asitlerden ve % 8,7 flavonollerden kaynaklandığını rapor edilmiştir (Zheng ve Wang, 2003).

Bazı küçük meyvelerin (*Sambucus*, *Aronia*, *Ribes*, *Hippophae rhamnoides*, *Rubus*) kimyasal bileşimleri ve antioksidan aktivitelerinin karşılaştırıldığı benzer bir çalışmada; en yüksek fenolik bileşik konsantrasyonunun ve antioksidan aktivitenin aronya cinsinin Viking, Aron ve Cleata çeşitlerinde olduğu tespit edilmiştir (Viskelis ve ark, 2010). Başka bir çalışmada (Jakobek ve ark, 2007a); siyah frenk üzümü, kırmızı frenk üzümü, ahududu, böğürtlen, vişne, kiraz, çilek, aronya, mürver ve yaban mersini olmak üzere bazı kırmızı meyvelerin fenolik bileşikleri ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Meyvelerin antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemleri ile analiz edilmiş olup her iki yöntemde de en yüksek antioksidan aktiviteyi aronya meyveleri göstermiştir. Ayrıca çalışmada hem DPPH hem de ABTS antioksidan aktivite sonuçları ile toplam fenolik bileşikler ( $r=0,98$  ve  $r=0,98$ ) ve toplam antosiyanin ( $r=0,93$  ve  $r=0,90$ ) sonuçları arasında yüksek korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Jakobek ve ark. (2012) 4 farklı aronya (Viking, Nero, Galicjanka ve yabani aronya) çeşidinde yaptıkları bir birini takip eden iki yıllık bir çalışmada çeşitlerin antiradikal aktivitelerini DDPH ve ABTS yöntemleriyle belirlemişlerdir. Çalışma sonunda en güçlü antiradikal aktivite ilk yıl Yabani ve Nero çeşidinde ikinci yıl ise yine yabani çeşit ve Viking çeşidinde tespit edilmiştir. Galicjanka çeşidi ise her iki araştırma yılında da en düşük fenolik bileşik içeriğe ve en zayıf antiradikal aktiviteye sahip olarak rapor edilmiştir.

Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir çalışmada (Rop ve ark, 2010) 'Aron', 'Fertödi', 'Hugin', 'Nero' ve 'Viking' aronya çeşitlerinin DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda çeşitler arasında en yüksek antioksidan kapasite 'Viking' ve 'Nero' çeşitlerinde en düşük ise 'Aron', ve 'Fertödi' çeşitlerinde bulunmuştur.

Aronyada bulunan polifenoller ve antioksidan kapasite sayesinde bağırsak mikrobiyotasında olumlu etkiler gösterdiği (Liu ve ark, 2021), bağışıklık düzenleyici özellikler sergilediği (Ali ve ark, 2021), DNA hasarlarına karşı koruyucu etkiler gösterdiği (Bakuradze ve ark, 2021) ve anti-inflamatuar aktiviteye sahip olduğu (Appel ve ark, 2015) bildirilmiştir. Son yıllarda sayısı hızla artan çalışmalarda

aronyaya ait farklı faydalı özelliklerin antioksidan aktivitesi ile ilişkili olduğu vurgulamaktadır (Bakuradze ve ark, 2021).

Aronyanın sahip olduğu antioksidan aktivitenin *in vivo* mekanizmalarda serbest radikalleri uzaklaştırmanın çok ötesinde etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bunlar reaktif nitrojen ve oksijen türlerinin baskılanmasını sağladığı, antioksidan enzimlerin geri kazanılmasını arttırdığı, prooksidanları inhibe ettiği ve hücre içinde antioksidan seviyelerini düzenlemek için hücresel sinyalleme etkilediği bildirilmiştir (Pavlovic ve ark, 2015; Romani ve ark, 2016; Kobus ve ark, 2019).

Düzenli antioksidan tüketiminin, oksidatif stres koşulları altında önemli oranda önleyici etkiler gösterdiği ve *in vivo* oksidatif strese karşı antioksidanların koruyucu özellikleri rapor edilmiştir (Del Bó ve ark, 2013; Bakuradze ve ark, 2021). Aronya suyunun antioksidan etkilerinin *in vivo* olarak incelendiği çok sayıdaki araştırmada fenolik içerikle antioksidan aktivitenin ilişkili olduğu bildirilmiştir. (Denev ve ark, 2010; Lee ve ark, 2014; Gill ve ark, 2021).

### **2.3.2. Antikanser özelliği**

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2022 yılı verilerine göre kanser, küresel olarak ilk sırada gelen ölüm nedenidir (6 ölümden 1'i kansere bağlıdır). Kansere ilişkili risk faktörleri arasında yüksek vücut kitle indeksi, düşük oranda meyve ve sebze tüketimi, fiziksel aktivite eksikliği, tütün ve/veya alkol kullanımı sayılmaktadır (Efenberger-Szmechtyk ve ark, 2020; WHO, 2022).

Son araştırmalar, fenolik bileşiklerden zengin meyve ve sebzeler de dahil olmak üzere sağlıklı bir diyetin kanser hücrelerinin büyümesini engelleyebileceğini ortaya koymuştur (Norat ve ark, 2015; Gill ve ark, 2021). Fenolik bileşikler bakımından zengin meyve ve sebzelerin antioksidan aktivitesinin kanseri önlemedeki potansiyel rolü geniş çapta araştırılmış, ancak aronya için daha fazla araştırma ile detaylı bilgilere ulaşılabileceği bildirilmiştir. Aronya, güçlü antikanser ajanları olarak hareket edebilen fitokimyasallar açısından zengin bulunmuştur. Aronyada bu özelliklere sahip olan fitokimyasalların başında antosiyaninler ve fenolik asitler gelmektedir (Gill ve ark, 2021).

Diğer üzüksü meyveler gibi, aronya fenollerinin hücre hatlarında ve hayvanlarda anti-tümör etkinlik ölçümleri yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde aronyanın yüksek oranda koruyucu özellikleri rapor edilmiştir. Aronyanın tümör hücreleri üzerine olan

etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda kanser gelişimine karşı bazı savunma mekanizmaları açıklığa kavuşturulabilmiştir. Aronyanın özellikle, meme kanseri, bağırsak kanseri ve lösemi gelişimini engelleme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir.

Ayrıca aronyanın kanser kök hücreleri üzerindeki seçici etkisi hakkında da raporlar mevcuttur (Choi ve ark, 2018; Sidor ve ark, 2019). Aronya ekstraktının, kanser ameliyatları önce ve sonrasında kadınlardan alınan numunelerde kan koruyucu antioksidanların konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca aronya ekstraktının kemoterapi sırasında tiyol üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Kemoterapinin her aşamasından sonra kandaki farklı özellikteki radikal savunucuların miktarında önemli ölçüde artış olduğu rapor edilmiştir (Kędzińska ve ark, 2013a; Sidor ve ark, 2019).

Fenolik bileşikler açısından çok zengin olduğu için aronya ekstraktı Caco-2 (7) ve HT-29 kanser hücrelerinin büyümesini engellediği bildirilmiştir (Gill ve ark, 2021). Aronyanın, *in vitro* sistemde, meme kanserli hastaların plazmasındaki oksidatif/nitratif stres ve hemostaz değişikliklerini azalttığı rapor edilmiştir. Ayrıca aronya tüketiminin cerrahi ve farklı kemoterapi aşamalarından sonra ortaya çıkan sağlık sorunlarını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Kędzińska ve ark, 2013b). Akut lenfoblastik lösemide yapılan bir çalışmada, 7,15 g/L polifenol içeren aronya suyu, G2/M fazında hücre döngüsü durmasıyla ilişkili hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve apoptozun indüklenmesine neden olduğu bildirilmiştir. Bu sayede aronya suyunun lenfoblast kaynaklı tümör hücrelerini seçici olarak hedefleyerek akut lenfoblastik lösemiye karşı kemoterapötik özellikler gösterdiği belirtilmiştir (Sharif ve ark, 2012; Lupascu 2019).

### **2.3.3. Antidiyabetik özelliği**

Diyabetin dünya genelinde yaygınlaşması ve getirdiği ekonomik yük nedeniyle acil önlem geritirilmesi gereken küresel bir pandemi olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle, mevcut tıbbi tedavilerin yanı sıra, antidiyabetik özellikteki gıdaların tespit edilmesi için çalışmalar yapılmıştır (Banjari ve ark, 2017; Gajic ve ark, 2020). Aronyanın vitaminler, mineraller ve polifenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif bileşenlerin yüksek oranda içermesi sayesinde sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkilere sahip ve bunlardan bir tanesinin antidiyabetik etkisi olduğu bildirilmiştir (Gajic ve ark, 2020).

$\alpha$ -Glukozidaz inhibisyonu, sindirim sürecini ince bağırsağın alt kısmına taşıyarak sakkaritlerin bölünmesini azaltmaktadır. Sonuç olarak, kana glukoz alımını azaltmaktadır. Bu nedenle  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyonu plazma glukoz seviyelerini düşürmek için iyi bir strateji olarak kabul edilmektedir. Bu, diyabetik komplikasyonları hafifletmeye yardımcı olabildiği bildirilmiştir. Aronya ve/veya aronya ekstraktı gibi polifenoller açısından zengin gıdaların bu açıdan diyabet hastaları için faydalı olabileceği fikrini oluşturmaktadır. Buna paralel olarak son yıllarda yapılan araştırmalarda, diyabeti önleyebilmek için farklı bitkisel kaynaklı ekstraktların  $\alpha$ -glukozidazı inhibe edebilme özelliklerini belirlenmesi için çalışılmıştır (Huang ve ark, 2010; Kumar ve ark, 2011; Švarc-Gajić ve ark, 2019).

İnsan bağırsak florası ile diyabet, obezite ve diğer metabolik hastalıkların oluşumu ve gelişimi arasında yakın bir ilişki vardır (Jung ve ark, 2015). Polifenollerin bağırsak florasında kısa zincirli organik asitlerin üretimini uyarabileceği ve fermente edilmiş polifenollerin Bifidobakterilerin çoğalmasını teşvik edebileceği, bağırsak Enterobakterilerinin sayısını azaltabileceği ve bu sayede vücut sağlığını iyileştirebileceği bildirilmiştir (Turroni ve ark, 2017). Bu sonuçlara paralel olarak aronyanın hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres ve diyabetin neden olduğu makrovasküler komplikasyonlar ile mücadele edebildiği bildirilmiştir (Bhaswant ve ark, 2017). Aronya ekstraktının hiperglisemik sıçanlara veya albino farelerine oral yoldan verilmesinden sonra anti-diyabetik etkiler gözlemlendiği bildirilmiştir (Valcheva-Kuzmanov ve ark, 2007; Jeon ve ark, 2018). Ayrıca, hiperkolesterolemili gönüllülerde yapılan klinik deneyler, aronya suyu tüketiminin toplam kolesterol seviyelerini düşürdüğünü ve kan glikoz seviyelerini hafifçe aşağı regüle ettiğini ortaya koyulmuştur (Skoczyńska ve ark, 2007).

Antosiyaninlerin diyabet başta olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer yetmezliği ve obezite gibi hastalıkları önleyebildiği ve/veya iyileştirdiği gösterilmiştir (Thilavech ve ark, 2019). Hiperkolesterolemik hastalar, antosiyaninler ve niasinler ile zenginleştirilmiş aronya suyunu düzenli olarak içtiğinde kandaki lipid konsantrasyonlarında faydalı etkiler gözlemlendiği bildirilmiştir (Valcheva-Kuzmanova ve ark, 2007).

Aronyadan elde edilen ekstraktın tip 2 diyabet ve obezite modeli farelere su ile verilmesi sayesinde, 3-CQA ve 4-CQA tarafından dipeptidil peptidaz IV aktivitesinin inhibisyonu yoluyla kan glukoz seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir (Imai ve ark,

2020). Aronya suyunun tüketim sonrasında yemek tolerans testinde glukoz seviyelerinin düştüğü ve doza bağlı bir şekilde dipeptidil peptidaz IV,  $\alpha$ -glukosidaz ve anjiyotensin enzimlerinin aktivitesini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Kumar ve ark, 2011). Tip 2 diyabetli yetişkinler üzerinde yapılan aronya suyu denemesinin, açlık kan şekeri ve glikolize hemoglobinde azalma ile glisemik kontrolün iyileştirilebildiği bildirilmiştir (Milutinović ve ark, 2019). Metabolik sendromlu ergenler için aronya özütünün, serum lipidlerini modüle etmek ve oksidatif stres ve inflamasyon biyobelirteçlerini azaltmak için umut verici olduğu görülmüştür. Ayrıca aronya tüketiminin HDL ve diyastolik kan basıncında artış sağladığı bildirilmiştir (Rahmani ve ark, 2019).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Aronya meyvesi Viking ve Nero çeşitleri Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü (Yalova) yetiştirme parsellerinden 1.yıl 21 Eylül 2017 ve 2. yıl 22 Eylül 2018 tarihlerinde hasat edilmiştir. Her iki çeşide ait aronya meyveleri Enstitü'nün Gıda Teknolojileri Bölümü laboratuvarına getirilerek yaprak, sap ve diğer yabancı maddelerinden temizlenmiş, yıkanmış ve kurutma kâğıtları üzerinde kısa bir süre bekletilerek kurutulmuştur. Aynı gün içerisinde ham madde analizleri için her iki çeşitten bir miktar taze aronya örneği ayrılmış diğer örnekler 2'şer kg'lık kilitli torbalar içerisinde derin dondurucuda ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) daha sonraki çalışmalar için muhafaza edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1.Viking çeşidi aronya örnekleri.

#### 3.1.1. Kimyasal malzemeler

Toplam antosiyanin, toplam fenol, antioksidan aktivite analizleri ve diğer analizlerde kullanılan, gallik asit, Folin&Ciocalteu ayracı (2N), sodyum karbonat, sodyum asetat, sodyum hidroksit, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit), bakır klorit, neocuprain, amonyum asetat, potasyum klorür, potasyum persülfat hidroklorik asit (%37 saflıkta), Troloks (( $\pm$ )-6-

hidroksi-106 2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) Sigma- Aldrich firmasından (St. Louis, Missouri, A.B.D.), asetonitril ve metanol (HPLC saflıkta), potasyum bisülfid, fosforik asit Merck KGaA firmasından (Darmstad, Almanya) satın alınmıştır.

Çalışmamızın '*Aronya Fenolik Bileşiklerinin Tanımlanması*' kısmı Hohenheim Üniversitesi Laboratuvarları'nda yürütülmüştür. Fenolik bileşiklerin tanımlanmasında kullanılan standartlar siyanidin 3-O-galaktozit klorür( $\geq\%97$ ), siyanidin 3-O-glukozit klorür( $\geq\%96$  saflıkta), siyanidin 3-O-arabinozit klorür( $\geq\%95$ ), kuersetin 3-O-galaktozit( $\geq\%98$ ), kuersetin 3-O-rutinozit ( $\geq\%99$ ), klorojenik asit( $\geq\%99$ ) ve neoklorojenik asit( $\geq\%99$ ) Extrasynthèse firmasından (Genay, Fransa) satın alınmıştır. Analitik saflıkta formik asit, aseton, etanol ve hidroklorik asit (HCl, %37 saflıkta) Merck (Darmstadt, Almanya) ve HPLC saflığında metanol VWR (Darmstadt, Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

Aronya suyu üretiminin optimizasyonunda kullanılan mayşe enzimasyon işlemi için Pectinex Ultra Color (Novozyme, Danimarka) enzimi, durultma denemelerinde Bentonit (Ticari ismi: Clarit 125 G), Jelatin (Ticari ismi: Jelatin 80-100 Bloom) ve silikasol (Ticari ismi: Becosol 30) durultma ajanları kullanılmış olup Sinerji A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den temin edilmiştir. Fenolik bileşiklerin aronya suyu proses basamaklarındaki miktarlarını belirlemek için ise; siyanidin 3-galaktozit, siyanidin 3-glukozit, siyanidin 3-arabinozit Polyphenols AS (Sandnes, Norveç), siyanidin 3-ksilozit Toronto Research Chemicals (Toronto, Kanada), kuersetin 3- glukozit, kuersetin 3-rutinozit ve klorojenik asit Sigma-Aldrich (Darmstadt, Almanya) firmalarından alınan standartlar kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Berrak aronya suyu optimizasyonu**

Berrak aronya suyu elde etme çalışmaları; Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Gıda Teknolojileri Bölümü Laboratuvarları'nda dondurulmuş 2'şer kg' lık Viking çeşidi aronya meyvesinden küçük ölçekli laboratuvar aletleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Aronya meyvesinin bulanıklık düzeyi 5 NTU (Nephelometric Turbidity Unit)'dan düşük olacak şekilde berrak meyve suyuna işlenmesi hedeflenmiştir. Bu sebeple meyve suyu üretim aşamalarından mayşe enzimasyonu, ham meyve suyunun durultulması ve filtrasyon basamakları optimize edilerek berrak



aronya suyu elde edilmiştir. Berrak meyve suyu elde etme prosesi ilk olarak enzim dozajı belirleme çalışmasıyla başlanmış olup daha sonra durultma yardımcı maddelerinin dozajlarının belirlenmesi ve filtrasyon basamağının optimize edilmesiyle sonlandırılmıştır.

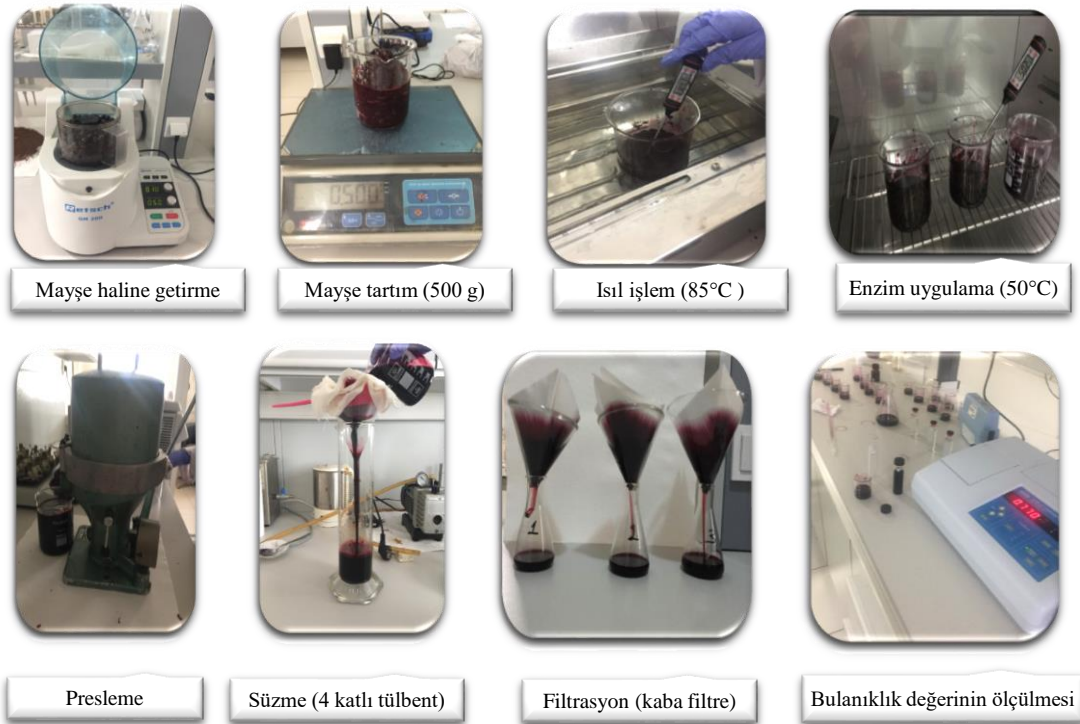
### 3.2.1.1. Mayşe enzimasyonu (maserasyon)

Dondurulmuş olarak kilitli torbalarda  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen numuneler bir gece  $4^{\circ}\text{C}$ 'de bırakılarak çözüldürülmüştür. Aronya örnekleri ertesi gün laboratuvarında Retsch Grindomix GM 200 (Haan, Almanya) model parçalayıcıda 500 rpm devirde 10 saniye tutularak mayşe haline getirilmiştir. Çalışmamızın ilk optimizasyon basamağı olan ısı işlem ve enzim uygulamaları için 1000 mL'lik beherlere 500 g mayşe haline getirilen aronya örneklerinden tartılmıştır. Enzim uygulamalarında üretici firma tarafından tavsiye edilen özellikle kırmızı renkli meyvelerin mayşe uygulamasında, durultma ve stabilizasyon için uygun olan 'Pectinex Ultra Color' enzimi kullanılmıştır. Pectinex Ultra Color enzimi firmadan sıvı halde temin edilmiş olup ürün teknik bilgilerinde pektin liyaz ve poligalakturonaz enzimlerini içerdiği, enzim aktivitesinin 10000 PECTU/mL ve enzim yoğunluğunun 1,16 g/mL olduğu belirtilmiştir. Ayrıca firma tarafından tavsiye edilen enzim dozajı mayşe uygulamaları için 100–200 g/ton mayşe olarak bildirilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda kullanılacak enzim uygulama dozajları (86–172  $\mu\text{L}/\text{kg}$  mayşe), sıcaklığı ( $50^{\circ}\text{C}$ ) ve süresi (2 saat) yine firma enzim kullanım tarifesine göre belirlenmiş ve hesaplanmış olup uygulamalar aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

1. *Mayşe*: 500 g mayşe hiçbir işlem yapılmadan doğrudan preslenmiştir.
2. *Mayşe+ısı işlem*: 500 g mayşe  $85^{\circ}\text{C}$  3 dak. (su banyosunda) ısı işlem uygulandıktan sonra preslenmiştir.
3. *Mayşe+ısı işlem+enzim yüksek*: 500 g mayşe  $85^{\circ}\text{C}$  3 dak. (su banyosunda) ısı işlem uygulandıktan sonra hızla soğutulup  $50^{\circ}\text{C}$ 'de 86  $\mu\text{L}$  (firmanın önerdiği üst sınır 200 g/ton mayşe dikkate alınarak hesaplanmıştır) enzim ilave edilmiş ve 2 saat bekletildikten sonra mayşe preslenmiştir.
4. *Mayşe+ısı işlem+enzim düşük*: 500 g mayşe  $85^{\circ}\text{C}$  3 dak. (su banyosunda) ısı işlem uygulandıktan sonra hızla soğutulup  $50^{\circ}\text{C}$ 'de 43  $\mu\text{L}$  (firmanın önerdiği 100 g/ton mayşe alt sınır dikkate alınarak hesaplanmıştır) enzim ilave edilmiş ve 2 saat bekletildikten sonra mayşe preslenmiştir.

5. *Mayşe+ısııl işlem+enzim (orta)*: 500 g mayşe 85°C 3 dak. (su banyosunda) ısııl işlem uygulandıktan sonra hızla soğutulup 50°C’de 65 µL (firmanın önerdiği alt ve üst sınır ortalaması 150 g/ton mayşe dikkate alınarak hesaplanmıştır enzim ilave edilmiş ve 2 saat bekletildikten sonra mayşe preslenmiştir.

Mayşe ısııl işlem uygulamaları 85°C’de (3 dak.) su banyosunda gerçekleştirilmiş ve enzim uygulamaları için buzlu su içerisinde hızla 50°C’ye kadar karıştırılarak soğutulmuştur. Enzim uygulamaları 2 saat süreyle Nüve KD 200 (Gena Med, Bursa) model inkübatörde yürütülmüş ve yapılan çalışmalara ait görseller Şekil 3.2’de verilmiştir. Her uygulamada mayşe preslendikten sonra elde edilen meyve suyu önce 4 katlı tülbent ve ardından laboratuvar tipi kaba filtre kağıdıyla süzölmüştür. Elde edilen ham meyve sularının meyve suyu randımanları hesaplanmış ve bulanıklık düzeyleri HACH marka 2100N IS Hach–Lange GMBH (Düsseldorf, Almanya) model türbidimetre ile belirlenmiştir. Ayrıca ham meyve suları pektin varlığı için alkol testine tabi tutulmuş, meyve suyu üretimi için alkol testi negatif olan uygulama tespit edilerek enzim miktarı belirlenmiştir.



**Şekil 3.2.** Aronya meyvesi mayşe enzimasyon optimize çalışmaları.

### 3.2.1.2. Ham aronya suyunun durultulması

Berrak meyve suyu elde etmek için meyve suyu ortamında bulanıklık meydana getiren bileşikleri uzaklaştırmak için, meyve suyuna “durultma” işlemi uygulanması gerekmektedir. Bu işlem sırasında meyve sularına “depektinizasyon + berraklaştırma + filtrasyon” olmak üzere üç basamaklı bir seri işlem uygulanmaktadır (Koç, 2013). Çalışmamızda mayşe enzimasyonu basamağından sonra ham meyve suyunda depektinizasyon işlemine gerek olmadığı alkol testi yapılarak belirlenmiştir. Durultma çalışmaları ağız kapaklı cam kavanozlarda 100 mL ham aronya suyuna durultma yardımcı maddelerinin eklenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Aronya sularını berraklaştırmak için durultma yardımcı maddelerinin (bentonit, jelatin ve silikasol) farklı dozajları yine üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda hesaplanarak soğuk ve sıcak durultma olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak uygulanmıştır. Durultma denemelerinde üretici firmanın tavsiye ettiği dozajlar (bentonit için 500–2.000 g/ton, jelatin için 100–200 g/ton ve silikasol için 500–1.000 g/ton meyve suyu) göz önünde bulundurulmuştur.

Soğuk durultmada sadece jelatin kullanılmış olup, her biri 100 mL ham aronya suyu içeren ağız kapaklı kavanozlara artan oranlarda % 0,5’lik jelatin (5, 10, 15, 20 ve 25 mg jelatin içeren) çözeltisi eklenmiştir. Kavanozlar +4 °C’de 16 saat bekletildikten sonra meyve suları kaba filtre kağıdından geçirilerek türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyleri belirlenmiştir.

Sıcak durultma çalışmalarında ise ham meyve sularına (her biri 100’er mL) sırasıyla 50, 100, 200 mg bentonit, 10, 15, 20 mg jelatin ve 50, 75, 100 mg silikasol (her bir jelatin uygulamasının 5 katı kadar Becosol 30 eklenmiştir) içeren çözelti kombinasyonları 5’er dakika ara ile etkin bir şekilde karıştırılarak ilave edilmiştir. Daha sonra meyve suları 50°C’de 1 saat süreyle inkübatörde karıştırılmadan bekletilmiş ve kaba filtre kağıdından süzülerek türbidimetre ile bulanıklık düzeyleri ölçülmüştür. Tüm uygulama ve deneyler 3’er tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

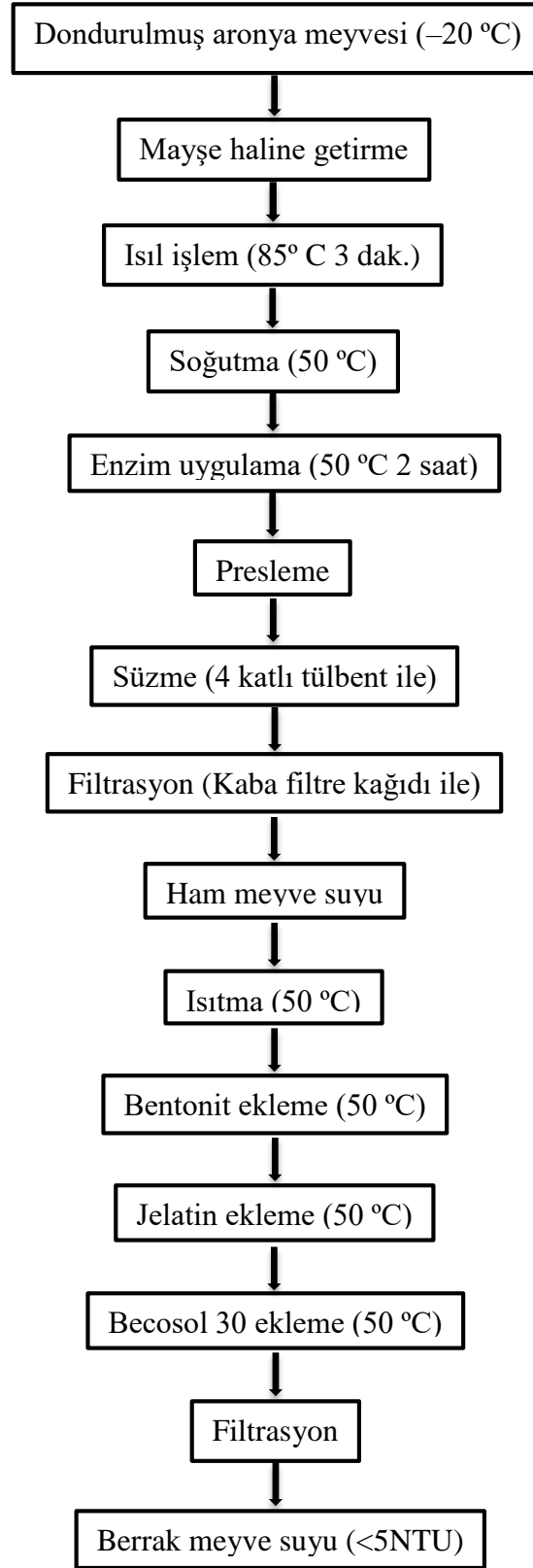
*Bentonit çözeltisinin hazırlanışı:* 100 g bentonit 900 mL su ile bir süre iyice karıştırılmış ve 24 saat boyunca şişmeye bırakılmıştır. Burada bentonitin her uygulamadan 1 gün önce taze olarak hazırlanmış, iyice şişmiş ve homojen olmasına özellikle dikkat edilmiştir.

### 3.2.1.3. Filtrasyon

Durultma basamağından sonra aronya suları önce 4 katlı tülbentten geçirilmiş sonra kaba filtre kağıdından süzlmüştür. Daha sonra meyve suları santrifüj edilmiş ve membran filtreden geçirilerek filtrasyon basamağı optimize edilmiş böylece berrak aronya suyu üretim (<5NTU) optimizasyonu tamamlanmıştır.

### 3.2.2. Berrak aronya suyu üretimi

Çalışmamızın bir diğer araştırma konusu olan meyve sularının ısıl stabilite deneyleri ve aronya konsantrelerinin depolama çalışmaları için berrak aronya suyu üretimi ise Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Gıda Teknolojileri Bölümü'ne ait pilot işletmede gerçekleştirilmiştir. Viking ve Nero çeşitlerinden berrak meyve suyu üretimlerinde 30'ar kg aronya meyvesi kullanılmıştır. Meyve sularının üretimi kısaca, dondurulmuş halde muhafaza edilen aronya meyveleri  $-20^{\circ}\text{C}$ 'den çıkarılmış 1 gece  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilerek çözdürülmüştür. Daha sonra aronya meyveleri meyve değirmeninde (Lan elec, Berks, İngiltere) parçalanarak mayşe haline getirilmiş ve elde edilen mayşeye ısıl işlem ( $85^{\circ}\text{C}$  3 dak.) uygulanmıştır. Mayşe hızlı bir şekilde  $50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuş ve mayşeye optimizasyonda belirlenen oranda Pectinex Ultra Color ( $86\mu\text{L}/\text{kg}$ ) enzimi ilave edilerek 2 saat süreyle mayşe enzimasyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemden sonra mayşe preslenerek ham meyve suyu elde edilmiştir.  $50^{\circ}\text{C}$ 'ye getirilen meyve suyuna durultma yardımcı maddeleri yine optimizasyonda belirlenen oranlarda 5'er dakika ara ile sırasıyla bentonit (2 g/L), jelatin (%0,5'lik 40 mL/L) ve Becosol 30 (0,84 mL/L) çözeltileri eklenmiştir. Meyve suyu 5 dakika karıştırılmış ve aynı sıcaklıkta 1 saat bekletildikten sonra filtre edilerek berrak aronya meyve suyu elde edilmiştir (Şekil 3.3). Elde edilen berrak meyve sularının bir kısmı daha sonraki ısıl stabilite deneyleri için pet şişelere konulup dondurularak  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Geri kalan berrak aronya suları ise farklı sıcaklıklarda depolama çalışmalarını yürütmek için konsantre edilmiştir.



Şekil 3.3. Berrak aronya suyu üretim akış şeması.

### 3.2.3. Berrak aronya sularının konsantreye işlenmesi ve depolanması

Filtrasyon sonrası berrak meyve suları depolama denemeleri için laboratuvar tipi döner evaporatörde (Heidolph Laborota 4000 Eff., HB Digital, Almanya) 50°C’de 68 °Briks derecesine kadar konsantre edilmiştir. Depolama boyunca meydana gelebilecek mikrobiyel gelişmenin önlenmesi amacıyla aronya konsantreleri evaporatörde 70°C’ye kadar ısıtılmış ve aynı sıcaklıkta 15 dakika tutulmuştur. Aronya konsantreleri ısıtılırken eş zamanlı olarak konsantreleri muhafaza etmek amacıyla alınan cam kavanoz ve kapakları yıkanmış, hafif aralıklı olarak kapatılarak 121°C’de 15 dakika otoklavda (Nüve SteamArt, Ankara, Türkiye) sterilize edilmiştir. Bu şekilde sterilize edilen kavanozlara hızlı bir şekilde 25’er gram aronya konsantresi ilave edilerek aseptik koşullarda ağızları hermetik olarak kapatılmıştır. Bu işlemden hemen sonra kavanozlar buzlu su içerisinde hızla oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Viking aronya çeşidine ait depolama deneyleri için konsantre örnekleri.

Daha sonra konsantre örnekleri, depolama deneyleri için +4°C’de (Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Hasat Sonrası Fizyolojisi ve Mekanizasyon Bölümü’ne ait soğuk hava deposunda), 20°C’de bir soğutmalı inkübatörde (Binder, Almanya) ve 37°C’de etüvde (KD 200, Nüve, Türkiye) muhafaza edilmiştir. Konsantrelerden örnek alma süresi, depolama sıcaklığına bağlı olarak değişmekte olup +37°C’de depolanan örneklerden her hafta (7 gün), +4 ve +20°C’de depolanan örneklerden ise 4 hafta (28 gün) aralıklarla 3’er kavanoz örnek alınmıştır. Depolama çalışmasına ait tüm analizler konsantre örneklerinde başlangıçtaki aronya sularının Briks derecelerine getirilerek (20–21°Briks) gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.4. Antosiyaninlerin ısıl stabilite deneyleri

Her iki çeşide ait aronya suları 80, 90 ve 100°C’lerde farklı sürelerle ısıtılmış ve bu örneklerde ısıtma süresince meydana gelen antosiyanin kaybı izlenmiştir. Isıl stabilite

deneyleri için  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen aronya suları bir gece oda sıcaklığında bekletilerek çözündürülmüştür. Örnekler ısıya dayanıklı ağzı kapaklı cam tüplere 20'şer mL konularak istenilen sıcaklığa ayarlanmış su banyosu (Stuart SBS40, Staffordshire, Birleşik Krallık) içerisine yerleştirilmiştir. Tüp içerisindeki örnek sıcaklığı bir termometreyle izlenerek deneyde istenilen sıcaklığa erişilen süre "gecikme süresi (lag periodu)" olarak belirlenmiş ve lag periodundan sonraki süre "sıfır süresi" olarak kabul edilmiştir. Sıfır süresini takiben  $80$  ve  $90^{\circ}\text{C}$ 'lerde 2 saat,  $100^{\circ}\text{C}$ 'de ise 1 saat zaman aralıklarıyla su banyosundan 3'er aronya suyu örneği alınmıştır. Alınan örnekler derhal buzlu su dolu beherlerde soğutularak toplam antosiyanin analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Isıl stabilite deneyleri.

### 3.2.5. Fiziksel analizler

#### 3.2.5.1. pH değeri tayini

Aronya meyve püre ve sularının pH değerleri potansiyometrik olarak Jenco 6173 (Taipei Hsien, Tayvan) marka pH metre yardımıyla belirlenmiş olup, analiz öncesi cihaz pH değerleri 4,0 ve 7,0 olan tampon çözeltilerle kalibre edilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

#### 3.2.5.2. Suda çözünen kuru madde tayini

Hanna (HI 96801, Woonsocket, RI, USA) marka dijital bir refraktometre kullanılarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2010).

#### 3.2.5.3. Toplam kuru madde analizi

Püre haline getirilmiş aronyalardan yaklaşık 5 g olacak şekilde tartım kaplarına tartılmıştır. Örnek ağırlıkları  $60^{\circ}\text{C}$ 'de sabit ağırlığa gelene kadar etüvde (Nüve FN300,

Ankara, Türkiye) kurutma sürdürülmüştür. Tartımlar arasındaki farktan toplam kuru madde miktarları hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2010).

#### 3.2.5.4. Meyve suyu randımanı

Presleme ile elde edilen aronya ham suyunun hacmi (L) aronya meyvelerinin başlangıç miktarına (kg) oranlanarak aşağıdaki eşitlik (3.1) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Randıman (\%)} = \frac{\text{Meyve suyu (mL)}}{\text{Meyve ağırlığı (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

#### 3.2.5.5. Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Aronya sularının bulanıklık düzeylerini ölçmek için HACH 2100N IS, Hach–Lange GMBH (Düsseldorf, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Sonuçlar NTU birimi şeklinde ifade edilmiştir.

#### 3.2.5.6. Reflektans renk tayini

Reflektans renk değerleri için Konica Minolta CM–5 (Osaka, Japonya) cihazı kullanılmış olup konsantrelerin renk ölçümleri damıtık su ilavesiyle Briks değerleri meyve suyu Briks değerine getirildikten sonra yapılmıştır. Örnekler 1 cm tabaka kalınlığı olan 10 mL hacimdeki kuvars küvetlere doldurulmuş ve CIE L\*a\*b\* sistemi kullanılarak L\*, a\* ve b\* değerleri belirlenmiştir.

### 3.2.6. Kimyasal analizler

#### 3.2.6.1. Titrasyon asitliği

Püre haline getirilen aronya örneklerinden 100 mL’lik beherlere 10’ar gram tartılmış ve üzerlerine 40 mL damıtık su eklenmiştir. Daha sonra örnekler 0,1 N NaOH çözeltisi ile pH 8,1’e ulaşıncaya kadar titre edilerek sonuçlar harcanan NaOH miktarı ve malik asit cinsinden hesaplanmış % olarak ifade edilmiştir (Eşitlik 3.2) (Cemeroğlu, 2010).

$$\text{Titrasyon Asitliği (\%)} = \frac{V \times N \times E}{M} \times 100 \quad (3.2)$$

Bu denklemde;

V: Titrasyonda harcanan NaOH miktarı (mL)

N: NaOH normalitesi (0,1)

E: Meyvedeki baskın asidin miliekivalen değeri (Malik asit:0,067)

M: Alınan örnek miktarı (g veya mL)



### 3.2.6.2. C vitamini (L– Askorbik asit) analizi

C vitamini analizi aşağıda verilen prosedür ve hazır test kiti ile gerçekleştirilmiştir. 5 g örneğe 100 mL %1'lik metafosforik asit eklenmiş ve 1 dak. homojenize edilmiştir. Daha sonra 8000 rpm devirde 10 dak. santrifüj edilerek numunenin sıvı kısmı (süpernatant) toplanarak L– askorbik asit analiz kiti\* ile Hitachi marka U–2900 UV–VIS (Tokyo, Japonya) model spektrofotometrede okumalar gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar mg/100g olarak verilmiştir (Orikasa, 2014).

\*Reflectoquant, ascorbic acid test (7.76044.0003–6001516376).” Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Almanya (Erişim Tarihi:29.01.2018).

### 3.2.6.3. Toplam fenolik madde analizi

*Ekstraksiyon:* Aronya meyveleri püre haline getirilip örneklerden 3 g falkon tüplerine tartılmış ve üzerine 25 mL metanol (%99,8 saflıkta) eklenmiştir. Karışım, bir homojenizatör (Ultra–Turax, IKA T25, İngiltere) yardımı ile 2 dakika süre ile (6000 rpm) homojenize edilmiş ve 12 saat +4°C bekletilmiştir. Daha sonra santrifüjde (Centrifuge 5804, Eppendorf AG, Hamburg, Almanya) 10000 rpm devirde 20 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantlar (berrak üst faz) renkli amber şişelere bir pastör pipeti yardımıyla toplanarak analizlere kadar –20°C'de muhafaza edilmiştir (Thaipong ve ark, 2006). Farklı sıcaklıklarda depolanan meyve suyu konsantrelerinin (68°Briks) analizleri ise, konsantre edilmeden önceki meyve suyu doğal briks değerlerine (Viking 21°Briks ve Nero 20°Briks) getirilerek analizlerde kullanılmıştır. Bunun için konsantre kavanozlarının her birinden 3'er gram örnek falkon tüplerine tartılmış ve üzerlerine 7 mL saf su eklenmiştir. Daha sonra örnekler 8–10 saniye vorteks ile homojen hale getirilmiş ve uygun oranlarda metanol ile seyreltilerek herhangi bir ekstraksiyon işlemi uygulanmadan direkt olarak analizler edilmiştir.

Toplam fenolik madde içeriğini belirlemek için Folin–Ciocalteu ayracı ile spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Deney tüplerine daha önce hazırlanan ve –20°C'de muhafaza edilen ekstraksiyon örneklerinden 150 µL ekstrakt alınmış ve sırasıyla üzerlerine önce 2400 µL saf su sonra 150 µL 0,25 N Folin Ciocalteu çözeltilisi ilave edilmiştir. Deney tüpü içindekilerin iyice karışması için vortekslendikten sonra reaksiyona girmeleri için 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 300 µL 1 N sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ilave edilerek oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 2 saat muhafaza edilmiştir. Çözeltilerin absorbans değerleri 725 nm dalga boyunda Hitachi marka U–2900 UV–VIS (Tokyo, Japonya) model spektrofotometre ile şahite karşı

okunmuştur. Standart eğri için gallik asit fenolik bileşiminin 0–0,204 mg/mL arasındaki 9 farklı konsantrasyonu hazırlanmış ve örneklerdeki prosedür izlenerek absorbans değerleri elde edilmiştir. Sonuçlar Ekler bölümünde Şekil A.1’de verilen standart eğriden elde edilen matematiksel eşitlik ( $y=3,8755x +0,016$ ) yardımıyla hesaplanmış olup mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri) /100 g birimine göre verilmiştir (Thaipong ve ark, 2006).

#### **3.2.6.4. Antioksidan aktivite analizleri**

- **DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite analizi:**

DPPH (2,2–difenil–1– pikrilhidrazil) ile antioksidan aktivite tayininde Thaipong ve ark. (2006) tarafından uygulanan spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Stok çözeltisi; 24 mg DPPH tartılarak 100 mL’lik balon jode metanolde çözdürülerek hazırlanmış ve analiz zamanına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ ’de muhafaza edilmiştir. Çalışma solüsyonu için 10 mL stok çözeltiye 45 mL metanol ilave edilmiş ve spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda  $1,1\pm 0,02$  absorbans değeri elde edilmiştir. Daha önce hazırlanan örnek ekstraksiyonlarından 150  $\mu\text{L}$  alınmış ve üzerlerine 2850  $\mu\text{L}$  DPPH çalışma solüsyonu ilave edilerek 24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Hitachi marka spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda okuma yapılmış, 250 ve 800  $\mu\text{mol}$  Trolox standardı ile hazırlanan grafikten (Şekil A.2.) elde edilen formül yardımıyla örneklerin antioksidan aktiviteleri  $\mu\text{mol TE}$  (Trolox Eşdeğeri)/g olarak hesaplanmıştır (Thaipong ve ark, 2006). Örnek absorbansları standart eğri absorbanslarının dışında olduğu için ek seyreltme yapılmıştır.

- **ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite analizi:**

ABTS analizi için, stok çözeltiler 7,4 mM ABTS (2,2’–azino–bis(3–etilbenzotiazolin–6–sülfonik asit) ve 2,6 mM potasyum persülfat hazırlanmış ve daha sonra çalışma solüsyonu bu iki çözeltinin eşit oranda karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Bu karışım 12 saat boyunca reaksiyona girmeleri için oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra 1 mL ABTS çalışma solüsyonu 60 mL metanol ile seyreltilerek spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda  $1,1\pm 0,02$  absorbans değerine göre ayarlanmıştır. Her deney için yeni ABTS çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. Örnek analizlerinde ise 150  $\mu\text{L}$  numune alınmış ve üzerlerine 2850  $\mu\text{L}$  ABTS çalışma solüsyonu ilave edilerek 2 saat karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede 734 nm absorbans değerleri okunmuştur (Thaipong ve ark, 2006). Standart eğri 25 ve 600

$\mu\text{mol Trolox}^{\text{®}}$  konsantrasyonlarında hazırlanmış olup sonuçlar  $\mu\text{mol TE/g}$  olarak verilmiştir (Şekil A.3.) Örnek absorbansları standart eğri çizgisinin dışında olduğu için ek seyreltme yapılmıştır.

- **CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite analizi:**

CUPRAC (Copper Reducing Antioxidant Capacity) analizi için Apak ve ark. (2004) yöntemi kullanılmıştır. Bir deney tüpüne 100  $\mu\text{L}$  örnek ekstraktı 1'er mL, 10 mM  $\text{CuCl}_2$ , 7,5 mM neokuproin ve 1 M  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (pH: 7) eklenmiştir. Karışıma 1 mL saf su eklenmiş ve oda sıcaklığında 60 dakika bekletildikten sonra, 450 nm'de boş bir reaktife karşı spektrometrede absorbans okumaları gerçekleştirilmiştir. 0,1 ile 4 mg/mL Trolox<sup>®</sup> standardı ile hazırlanan standart eğriden elde edilen formül yardımıyla örneklerin antioksidan aktiviteleri  $\mu\text{mol/g TE}$  olarak hesaplanmıştır (Şekil A.4).

### **3.2.6.5. Toplam monomerik antosiyanin tayini**

Monomerik antosiyanin ekstraksiyonu amacıyla; taze meyveler Retsch Grindomix GM 200 (Haan, Almanya) öğütücü ile 6000 rpm devirde 30 saniye püre haline getirilmiştir. Püre örneklerinden falkon tüplerine 0,5'er gram tartılmış ve üzerlerine 50 mL (% 0,1 HCl'li metanol) ekstraksiyon solventi eklenmiştir. Sonra 400 rpm devirde orbital çalkayıcıda oda sıcaklığında 1 saat çalkalanmış ve 15 dak. 5900 rpm devirde santrifüj edilmiş ve supernatantlar amber şişelere toplanmıştır. Analizde kullanmadan önce hazırlanan ekstraktlar 0,45  $\mu\text{m}$  selüloz membran filtre (Isolab, Eschau, Almanya) yardımıyla vakum altında süzölmüştür (Wada ve Ou, 2002).

Toplam monomerik antosiyanin analizinde pH diferansiyel yöntemi kullanılmıştır. 2 ayrı cam tüpe daha önce hazırlanan meyve ekstraksiyonlarından 1'er mL alınmış ve üzerlerine ayrı ayrı 4 mL pH 1,00 (0,025 M potasyum klorür) ve pH 4,5 (0,4 M sodyum asetat) tampon çözeltilerinden eklenerek (1:5 oranında) seyreltme yapılmıştır. Meyve suyu analizleri 1 mL meyve suyuna 9 mL damıtık su (1:10) eklenmiş ve vorteksenerek homojen hale getirilmiştir. Konsantre örnekleri ise meyve suyu briks değerine getirilerek yine meyve suyu örneklerinde kullanılan seyreltme oranları uygulanarak analiz edilmiştir. Seyreltilmiş bu örnekler tampon çözeltilerle 1:5 oranında seyreltilmiş, hazırlanan örnekler yarım saat, oda sıcaklığında, karanlıkta bekletilmiş ve absorbans okumaları damıtık suya karşı (şahit) tek kullanımlık spektrofotometri kuvvetleri (1 cm) ile yapılmıştır. Absorbans okumaları daha önce belirlenen aronya antosiyaninlerinin maksimum absorbans verdiği 520 nm ve düşük düzeyde bulunan

bulanıklığın belirlendiği 700 nm dalga boylarında gerçekleştirilmiştir. Toplam monomerik antosiyanin miktarları siyanidin-3-glukozit cinsinden aşağıdaki eşitliklere göre (3.3 ve (3.4) göre hesaplanmıştır (Giusti ve Wrolstad, 2001).

$$\text{Absorbans farkı} = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \quad (3.3)$$

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı} = \frac{(A)(\text{MW})(\text{Sf})1000}{(\epsilon)(L)} \quad (3.4)$$

Burada;

A: Absorbans farkı (pH 1,0 ve pH 4,5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı),

Sf: Seyreltme faktörü

MW: Baz alınan antosiyanin molekül ağırlığı (Siyanidin 3-glukozitin MW: 449,2)

$\epsilon$  : Absorpsiyon katsayısı, (Siyanidin 3-glukozit:26 900)

L: Spektrofotometre küvetinin tabaka kalınlığı (cm)

### 3.2.6.6. Durultma testleri

Çalışmamızda durultma aşamasında pektin parçalanmasının izlenmesi için “alkol testi”, meyve suyunda hala jelatin ile uzaklaştırılabilecek nitelikte fenolik madde olup olmadığını belirlemek için “jelatin testi” gerçekleştirilmiştir. Ayrıca durultulmuş berrak meyve sularında jelatin kalıntısı bulunup bulunmadığını tespit etmek için ise “kizelsol testi”, ekstrem sıcaklıklarda ve sıcaklık dalgalanmalarında meyve suyunun stabil kalabileceğini yani bulanma-çökelme olup olmayacağını belirlemek için ise “sıcak-soğuk (stabilite) testi” uygulanmıştır.

*Alkol testi:* Bu test için 95 mL %96’lık etilalkole 5 mL hidroklorik asit (HCl) eklenerek asitlendirilmiş etilalkol hazırlanmıştır. Bir tüpe 5 mL meyve suyu alınmış ve üzerine 10 mL asitlendirilmiş etilalkol eklenmiştir. Tüpün ağzı başparmakla kapatılıp tüp dikkatle iki kere alt üst edilmiş (kuvvetli bir çalkalamadan kaçınmalı) tüp içerisinde hava kabarcıkları bulunan bir jel katmanı oluşup oluşmadığı kontrol edilmiş ve pektin parçalanması kontrol edilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

*Jelatin testi:* Bir cam tüpe durultulmuş aronya berrak meyve suyundan 5 mL alınmış ve üzerine % 0,5’lik jelatin çözeltisinden 3 damla eklenerek 20 dakika bekletilmiştir.

Tüp içerisinde bir bulanma ve floklaşma olup olmadığına göre berraklaşma işleminin tamamlan(ma)mış ve bir miktar daha jelatin eklenmesi veya eklenmemesi gerektiğine karar verilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

*Kizelsol testi:* Filtre edilmiş berrak aronya suyundan bir cam tüpe 5 mL konmuş ve üzerine %5'lik kizelsol (1 mL kizelsol + 20 mL su) çözeltisinden 3 damla eklenerek karıştırılmıştır. 20 dakika bekleddikten sonra bulanma ve tortu oluşumu gözlenmişse meyve suyunda jelatin kalıntısı var olarak kabul edilmiş ve hesaplanan miktarda kizelsol ekleyerek kalıntının giderilmesi sağlanmıştır (Cemeroğlu, 2010).

*Sıcak–Soğuk (stabilite) testi:* Bu testte meyve suyu önce ısıtılır, sonra hızla soğutulur ve tekrar çevre sıcaklığına getirilir. Meyve suyunun uzun süre stabil kalabileceğini söyleyebilmek için ısıtma ve soğutma sıcaklıkları ekstrem değerler olarak seçilir, bu sebeple testin diğer adı “stabilite testi” dir. Isıya dayanıklı 100 mL'lik bir erlen mayere berrak aronya meyve suyundan 50 mL koyulmuş 90°C üzerine kadar ısıtılmıştır. Daha sonra 5 dakika bu sıcakta tutulduktan sonra bir soğuk su banyosuna daldırılarak –3 ile –5 °C'ye soğutulmuş ve tekrar oda sıcaklığına (20°C) gelinceye kadar ısıtılmış ve bekletilmiştir. Yapılan bu işlem basamaklarında sırasında bir bulanma görülmemelidir; aksi takdirde meyve suyu dolundan sonra belli bir süre sonra bulanabilecek demektir. Bundan dolayı bu test sonucunda durultma yardımcı maddelerinin yeterliliğine, berraklaştırma işleminin tamamlandığına karar verilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

### **3.2.6.7. Antosiyaninlerin parçalanma ölçütleri**

Meyve sularındaki ve konsantrelerdeki antosiyanin pigmentlerinin temel parçalanma kriterleri olan “renk yoğunluğu”, “polimerik renk” ve “polimerik renk oranı” spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2015). Aronya meyve suyu örnekleri “toplam monomerik antosiyanin miktarı” analizinde olduğu gibi 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1,0) kullanılarak uygun bir seyreltme oranı belirlenmiştir. Analiz sırasında aronya suyunun (materyalin) doğal pH derecesinde kalması için örnekler belirlenen seyreltme oranına göre damıtık suyla seyreltilmiştir. Aronya konsantrelerinde analiz yapılmadan önce örnekler doğal aronya suyu briks değerine getirilmiş (3 g konsantre + 7 mL saf su) ve sonra aşağıda anlatılan işlem basamakları gerçekleştirilmiştir. İki ayrı spektrofotometre küvetinin (1 cm genişliğinde) her birine seyreltilmiş örneklerden 2,8 mL aktarılmış ve küvetlerden birine 0,2 mL damıtık saf su ilave edilmiştir. Diğer küvete ise 0,2 mL %20'lik

potasyum metabisülfid ( $K_2S_2O_5$ ) çözeltisinden (günlük olarak hazırlanmış) eklenerek her iki küvette 15 dak. karanlıkta dengelenmeye bırakılmıştır. Dengelenme süresi sonunda her iki küvetteki örnekler 420 nm, aronya antosiyaninlerinin maksimum absorbans verdiği ( $\lambda_{vis-maks}$ ) 520 nm ve 700 nm dalga boylarında damıtık saf su şahidine karşı spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Analizde bisülfid çözeltisi ekleyerek örneklerdeki monomerik antosiyaninlerin renksiz kompleksleri meydana gelmektedir. Fakat “polimerik antosiyanin–tanen” kompleksleri ve “melanoidi” pigmentleri, bisülfid çözeltisinin reaksiyonuna karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Ortamdaki esmer renkli pigmentlerin konsantrasyonu arttıkça, 420 nm dalga boyunda okunan absorbans değerleri artmaktadır.

**Renk yoğunluğu:** Renk yoğunluğu “bisülfid uygulanmamış (damıtık su eklenmiş) küvette bulunan örneğin,  $\lambda_{vis-maks}$  ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı” olarak tanımlanmaktadır. Renk yoğunluğu Eşitlik 3.5’e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Renk yoğunluğu} = [(A_{\lambda_{vis-maks}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.5)$$

**Polimerik renk:** Polimerik renk, “bisülfid uygulanmış küvette bulunan örneğin,  $\lambda_{vis-maks}$  ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı” olarak tanımlanmaktadır. Polimerik renk değerleri Eşitlik 3.6 göre hesaplanmıştır.

$$\text{Polimerik renk} = [(A_{\lambda_{vis-maks}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.6)$$

(3.5) ve (3.6) eşitliklerinde yer alan;

$\lambda_{vis-maks}$  : Aronya antosiyaninleri için 520 nm

$S_f$  : Seyreltme faktörü

**Polimerik renk oranı:** Polimerik renk oranı, polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı olarak tanımlanmakta olup, aşağıda verilen (3.7) eşitliğe göre hesaplanmıştır. Antosiyaninlerde parçalanmanın bir göstergesi olan polimerik renk ve polimerik renk oranı değerlerinin artması, parçalanmanın da arttığını yani esmer renkli pigmentlerin miktarlarının yükseldiğini (rengin bozulduğunu) ifade eder.

$$\text{Polimerik renk oranı (\%)} = \frac{\text{Polimerik renk}}{\text{Renk yoğunluğu}} \times 100 \quad (3.7)$$

### 3.2.6.8. Aronya fenolik bileşiklerinin tanımlanması

Çalışmanın bu kısmı Hohenheim Üniversitesi (Stuttgart, Almanya), “Institute of Food Science and Biotechnology, Plant Foodstuff Technology and Analysis” bölümünde gerçekleştirilmiştir. Bu başlık altında, aronya fenolik bileşiklerinin hızlı ve kapsamlı bir şekilde tanımlanması için ultrases destekli ekstraksiyon metodu optimizasyonu ve HPLC/ UHPLC cihazlarıyla iki ayrı metot validasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın materyali ‘Viking’ ve ‘Nero’ çeşitlerinden dondurulmuş olarak 2’şer kg olmak üzere donmuş ürünler için özel ambalajlarda (Koroplast Cooler Bag, İstanbul, Türkiye) Hohenheim Üniversitesi’ne (Almanya) götürülmüştür. Daha sonra her iki çeşitten 1’er kg örnek laboratuvar tipi blendır (Conair Waring Blender, Stamford, CT, ABD) kullanılarak parçalanmış ve analiz anına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ ’de muhafaza edilmiştir. Geri kalan örnekler ise VaCo-10-II-E (Zirbus Technology, Almanya) marka liyofilizatörde (dondurarak kurutma) 72 saat boyunca kurutulmuş ve A11 laboratuvar tipi değirmen (IKA, Staufen, Almanya) ile öğütülerek yine analizler için  $-20^{\circ}\text{C}$ ’de muhafaza edilmiştir. Çeşitlerin miktar belirleme, metot geliştirme ve tekrarlanabilirlik (4 hafta boyunca her hafta) analizlerinde hem taze (6 örnek) hem de kurutulmuş (6 örnek) aronya örnekleri ekstrakte edilerek analiz edilmiştir.

- **Ultrases destekli ekstraksiyon işleminin optimizasyonu**

Çalışmamızda; ekstraksiyon süresinin kısa, kullanılan solvent miktarının az olması ve en önemlisi ekstraksiyon veriminin yüksek olmasından dolayı ‘ultrases destekli ekstraksiyon (ultrasound assisted extraction) yöntemi’ uygulanmıştır (Chen ve ark, 2007; Gras ve ark, 2015). Gras ve ark. (2015)’nın Hohenheim Üniversitesi’nde daha önce yürütmüş olduğu “Ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle kara havuçtan elde edilen antosiyaninlerin belirlenmesi” adlı çalışmanın ekstraksiyon işlemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Taze veya dondurarak kurutulmuş, öğütülmüş aronya örnekleri, sırasıyla  $200,0 \pm 1,0$  mg veya  $50,0 \pm 0,5$  mg olarak cam test tüplerine tartılmıştır. Daha sonra üzerlerine 4 mL ekstraksiyon solventi eklenmiş ve 20 saniye boyunca Sonopuls marka UW 3100 model (Bandelin Electronics, Berlin, Almanya) ultrases cihazıyla MS 72 mikro uç kullanılarak %75 genlikte sonikasyona tabi tutulmuştur. Ultrases destekli ekstraksiyon esnasında örnekleri meydana gelebilecek ısıdan korumak için işlem buzla dolu bir beher içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). Daha sonra numuneler  $3.112 \times g$ ’de 4 dakika santrifüj (Heraeus Labofuge 400R; Hanau, Almanya) edilmiş ve süpernatantlar (sıvı faz) pastör pipetleri yardımıyla

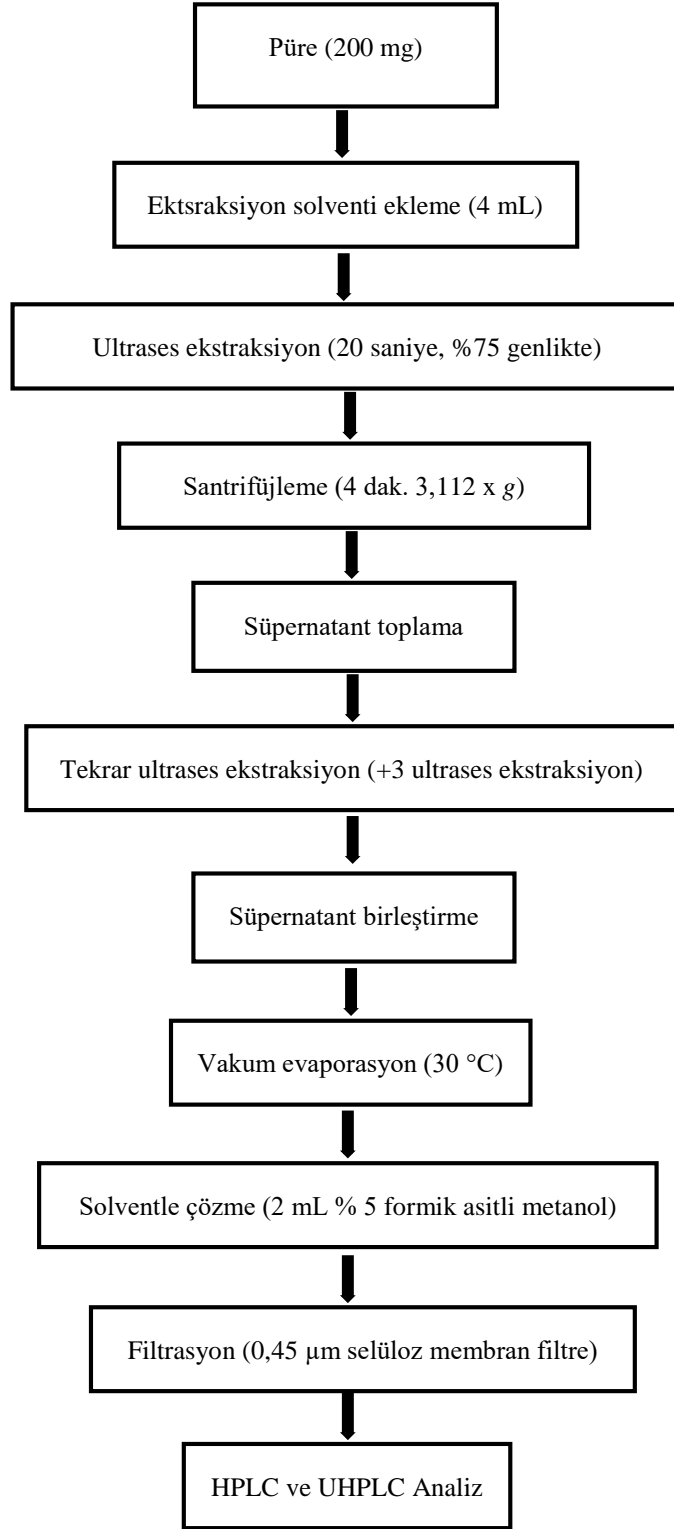
toplanmıştır. Katı faz renksiz (3 kez daha) hale gelinceye kadar ultrases ve santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Elde edilen toplamda yaklaşık 16 mL olan ekstraktların 30 °C’de vakum altında solventleri uçurulmuştur. Sonra tekrar 2 mL % 5 formik asit içeren metonalde çözdürülerek analiz etmek üzere HPLC viallerine filtre (0,45µm, Macherey–Nagel, Düren, Almanya) edilmiştir (Şekil 3.7).



**Şekil 3.6.** Ultrases destekli ekstraksiyon işlemi.

Aronya fenolik bileşiklerinin geri kazanımında en yüksek ekstraksiyon verimini sağlamak amacıyla ekstraksiyon işleminin optimizasyonuna gidilmiştir. Ekstraksiyon verimini etkileyen faktörler olarak, ekstraksiyonda kullanılan materyal (taze, dondurarak kurutulmuş), farklı solvent/asit/su karışımları ve ultrases ekstraksiyon tekrar (döngü) sayısı parametreleri optimize edilmiştir.





Şekil 3.7. Ultrases destekli ekstraksiyon prosedürü.

**Ekstraksiyon materyalinin seçimi:** Taze ve dondurarak kurutulmuş örnekler ultrases destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiş ve ekstraksiyon verimleri karşılaştırılmıştır. Taze analizler için dondurulmuş ve püre haline getirilmiş aronya örneklerinden yaklaşık 200 mg, dondurarak kurutulmuş ve öğütülmüş toz halindeki aronya örneklerinden ise yaklaşık 50 mg tartılmıştır.

**Ekstraksiyon solvent seçimi:** Fenolik bileşikler ekstraksiyonu ile ilgili yapılan literatür çalışmalarında, ekstraksiyon işleminde kullanılan solventin ekstraksiyon verimini ve dolayısıyla analiz sonuçlarını doğrudan etkilediği görülmüştür (Gras ve ark, 2015; Erşan ve ark, 2017). Bu sebeple aronya meyvesi fenolik bileşikleri analizlerinde kullanılmak üzere en yüksek ekstraksiyon verimini sağlayan solventi belirlemek için 5 farklı solvent su ve asit karışımı kullanılmıştır. Etanol/su/formik asit (70/25/5), aseton/su/formik asit (70/25/5), metanol/su/formik asit (70/25/5), metanol/formik asit (95/5) ile metanol/su/formik asit (50/45/5) (hacimsel olarak) karışımları hazırlanmış ve her bir solvent karışımı kullanılarak 3 tekerrürlü ultrases destekli ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarının karşılaştırılması ilk olarak tüm fenolik bileşiklerin pik alanlarına göre değerlendirilmiş olup, kalibrasyon eğrilerinin çizilmesiyle miktarları belirlenmiştir.

**Ekstraksiyon tekrar (döngü) sayısı:** Aronya fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunda en uygun solvent seçiminden sonra ekstraksiyon prosedüründeki diğer bir parametre olan ultrases işlemi tekrar sayısı ele alınmıştır. Ultrases tekrar sayısı; her bir döngü için 3'er tekerrür örnek tartılmış ve yine her bir örneğe ultrases öncesi 4 mL ekstraksiyon solventi eklenmiş ve 1 (4 mL), 2 (8 mL), 3 (12mL) ve 4 (16 mL) kez ultrases işlemi uygulanmıştır. Farklı miktardaki solventler vakum altında evaporatörde uçurulmuş daha sonra 2 mL % 5 formik asitli metanolde çözüldükten sonra filtrelenip HPLC'de analiz edilmiştir. Yine bu analiz sonuçları ilk olarak pik alanları üzerinden karşılaştırılmış daha sonra kalibrasyon eğrilerinin çizilmesi ve formüllerinin hesaplanmasıyla analiz sonuçlarının konsantrasyonları (miktarları) hesaplanmıştır.

- **HPLC–DAD–ESI–MS<sup>n</sup> analizi**

HPLC analizleri, Agilent 1100 serisi HPLC cihazı (Hewlett–Packard, Waldbronn, Almanya) ve G1315 diode array detektör (DAD) ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Kinetex C 18 core–shell kolon (5 µm, 250 × 4.6 mm, 100 Å) ve C 18 guard kolon (4.0 mm × 2.0 mm) (Phenomenex, Torrance, CA, ABD) kullanılmış olup analizlerde kolon

sıcaklığı 35°C'ye ayarlanmıştır. Fenolik bileşiklerin ayrıştırılmasında mobil faz olarak A: su/formik asit (95/5, mL/mL), B: metanol/ formik asit (95/5, mL/mL) çözeltileri kullanılmıştır. Bir örnek analizi için HPLC metodu toplam çalışma süresi 68 dak. olup akış hızı 1 mL/dak., enjeksiyon hacmi 5 µL ve gradient programı Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Aronya fenolik bileşiklerinin tanımlanmasında kullanılan UHPLC ve HPLC metotlarına ait gradient programları.

UHPLC			HPLC		
Süre (dak)	% A	% B	Süre (dak)	% A	% B
0	94	6	0	94	6
1	94	6	15	94	6
6,7	85	15	20	85	15
12	75	25	45	75	25
18	0	100	55	60	40
21	0	100	58	0	100
22	94	6	62	0	100
30	94	6	63	94	6
			68	94	6

LC-MS analizlerinde aynı Agilent 1100 serisi HPLC cihazı ve aynı kolon kullanılmış olup cihaza bir elektrosprey kaynağı (ESI) ile donatılmış Esquire 3000 +iyon tutucu kütle spektrometresi (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) bağlanmıştır. Gras ve ark. (2015)'nin daha önce belirlemiş olduğu metot küçük değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Kütle tarama hızı 13,000Th/s ve m/z 50-1500 aralığında antosiyaninler için pozitif (ESI+), diğer bileşikler için negatif (ESI-) kütle spektrumları kaydedilmiştir. Hem kurutma gazı hem de püskürtme (sıvıyı spreyci yapma, nebulizing) gazı olarak (akış hızı 10 L/dak.) 60 psi basınçta azot gazı kullanılmıştır. Püskürtme sıcaklığı 365 °C, kapiler üzerindeki güç (potential on the capillary) -2287 V olarak uygulanmıştır. Çarpışma kaynaklı ayrışma (CID) sırasında çarpışma gazı olarak Helyum kullanılmış ve CID spektrumları 0,8 V parçalanma genliğinde elde edilmiştir.

- **UHPLC–DAD analizi**

UHPLC kısa süreli analiz sisteminde ise Waters marka Acquity UPLC H–class system (Waters, Milford, ABD) cihaz ile diode array dedektör ve Kinetex C18 kolonu (1.7  $\mu\text{m}$ , 100 mm x 2.1 mm, 100 Å, Phenomenex) kullanılmıştır. HPLC metodunda kullanılan aynı mobil fazlar ve aynı kolon sıcaklığının (35 °C) kullanıldığı UHPLC metodunda bir örnek analizi için toplam çalışma süresi 30 dak. olarak belirlenmiştir. Ayrıca akış hızı 0,4 mL/dak., enjeksiyon hacmi 0,4  $\mu\text{L}$  olup gradient programı ise Tablo 3.1’ de verilmiştir.

Hem UHPLC hem de HPLC her iki kromatografik sistemde de UV/VIS 210–700 nm aralığında spektrumları kaydedilmiştir. Antosiyaninler (siyanidin 3–galaktozit, siyanidin 3–glukozit, siyanidin 3–arabinozit ve siyanidin 3–ksilozit) için 520 nm, hidroksisinnamik asitler (neoklorojenik asit, klorojenik asit) için 320 nm ve flavonollar (kuersetin 3–visinozit, kuersetin 3–galaktozit, kuersetin 3–glukozit, kuersetin 3–robinozit ve kuersetin 3–rutinozit) için 360 nm kromatogramlarında alan hesaplamaları yapılmıştır.

**Bileşiklerin tanımlanması ve miktar tayini:** Aronya meyvesi fenolik bileşiklerin tanımlanması, standart bileşikler, alıkonma süreleri ( $t_R$ : retention time), UV/Vis absorpsiyonları ve kütle spektro ( $\text{MS}^n$ ) verilerinin karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Standartları olmayan diğer bileşiklerin tanımlanması ise yine aynı veriler (kütle spektro verileri, alıkonma süreleri, UV/Vis absorpsiyon davranışları) doğrultusunda, daha önceki çalışmalardan (Slimestad ve ark, 2005; Esatbeyoglu ve ark, 2010; Jakobek ve ark, 2012; Wilkes ve ark, 2014) yararlanılarak yapılmıştır.

Miktar hesaplamaları için, siyanidin 3–galaktozit, klorojenik asit ve kuersetin 3–galaktozit ve kuersetin 3–rutinozit (Extrassynthese, Genay, Fransa) bileşiklerinin gerçek standartları ile oluşturulan doğrusal kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır. Siyanidin 3–galaktozit stok çözeltisi (2 mg/mL) % 0,1 hidroklorik asitli (HCl) metanol ile klorojenik asit (2 mg/mL), kuersetin 3–galaktozit (0,5 mg/mL) ve kuersetin 3–rutinozit (0,5 mg/mL) stok çözeltileri ise saf metanol ile hazırlanmıştır. Daha sonra stok çözeltiler metanol/formik asit (95/5, mL/mL) çözeltisi ile seyreltilerek her bir standart için 10 farklı konsantrasyonda örnekler elde edilmiştir. Örnekler hem HPLC hem de UHPLC cihazlarında analiz edilmiş ve kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Stok çözelti, aynı konsantrasyonlarda örnek hazırlama ve analizler 2’şer kez daha

tekrarlanmış olup her iki cihazda birbirinden bağımsız 3'er doğrusal kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bileşiklerin miktar hesaplamaları bu eğrilerden elde edilen formüller yardımıyla gerçekleştirilmiş olup standartları bulunmayan diğer bileşiklerin miktar analizlerinde ise her bileşiğin kendi grubundaki standart kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Daha sonra bu bileşikler molekül ağırlıkları esasına dayanarak her bileşik için 'moleküler ağırlık düzeltme faktörü (molecular weight correction factor)' hesaplanmış olup miktar belirlemede kullanılmıştır. Moleküler ağırlık düzeltme faktörü, ilgili bileşiğin molekül ağırlığının gerçek standartın molekül ağırlığına bölünmesiyle hesaplanmıştır (Chandra ve ark, 2001). Antosiyaninler için siyanidin 3-galaktozit'e göre; siyanidin 3-glukozit'in moleküler ağırlık düzeltme faktörü 1, siyanidin 3-arabinozit ve ksilozitin ise 0,93 olarak, flavonol grubunda ise kuersetin 3-galaktozite göre kuersetin 3-glukozitin 1, kuersetin 3-rutinozite göre kuersetin 3-visinozitin 0,98 ve kuersetin 3-robinobizitin ise 1'dir. Çeşitlerin (Viking ve Nero) fenolik bileşiklerinin miktar analizleri dondurarak kurutulmuş örneklerden 6'şar tekerrür yapılarak gerçekleştirilmiştir.

- **Metot validasyon**

HPLC ve UHPLC metotlarının validasyonu (doğrulanması) ICH (2005) kılavuzuna göre kalibrasyon doğrusallığı, en düşük tespit limiti (LOD, Limit of Detection), en düşük miktar limiti (LOQ, Limit of Quantification), geri kazanım, gün içi (intra-day) ve günler arası (inter-day) tekrarlanabilirlik analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon kurvelerinin doğrusallığı doğrusal regresyon analizi yapıldıktan sonra determinasyon katsayısı ( $R^2$ ) olarak ifade edilmiştir. Önceden hazırlanmış 3 bağımsız kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak,  $\sigma$  (y- kesme noktalarının standart sapması) ve S (regresyon doğrusunun eğimi) değerleri belirlenmiş olup, bu veriler kullanılarak tespit ( $LOD=3.3\sigma/S$ ) ve miktar ( $LOQ=10\sigma/S$ ) limitleri hesaplanmıştır.

Ekstraksiyon geri kazanımları, örneklerin ekstraksiyonundan önce yüksek ve düşük konsantrasyonlarda gerçek standartlar eklenerek belirlenmiştir. Kısaca hesaplanan standart bileşik miktarını içeren metanolik bir çözelti, bir ekstraksiyon cam tüpüne aktarılmış ve çözelti nitrojen gazı altında uçurulmuştur. Bu tüp üzerine dondurarak kurutulmuş aronya örnekleri tartılmış ve yukarıda açıklanan (Şekil 3.7) prosedüre göre ekstrakte edilmiştir. Yine geri kazanım çalışmaları 3'er tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Gün içi tekrarlanabilirlik için, bir gün içinde altı bağımsız ekstraksiyon ve analiz günler arası tekrarlanabilirlik için ise bir ay içinde dört farklı

günde altı bağımsız ekstraksiyon ve analiz yapılmıştır. Sonuçlar, varyasyon katsayısı (coefficient of variation) olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.6.9. Aronya fenolik bileşiklerinin meyve suyu prosesi sırasındaki değişimi**

Çalışmanın bu kısmında, her iki aronya çeşidinin meyve suyu prosesi boyunca fenolik bileşiklerinin her birinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bu amaçla meyve suyu prosesinin (Şekil 3.8) aşağıda numaralandırılmış olarak verilen 5 ayrı basamağından örnek alınarak analiz edilinceye kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

1– Mayşe (M)

2– Isıl işlem uygulanmış mayşe (IUM)

3– Enzim uygulanmış mayşe (EUM)

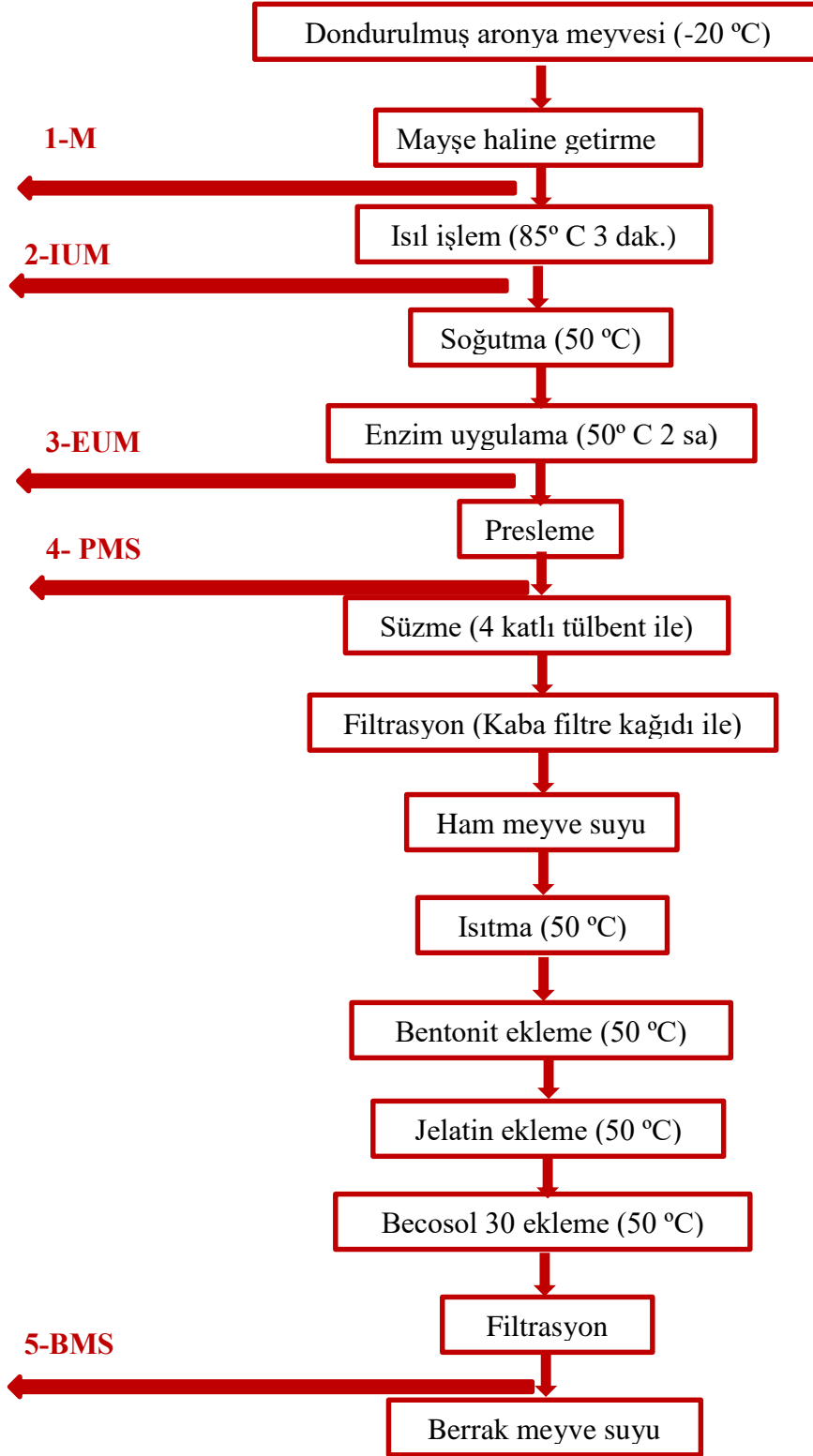
4– Ham meyve suyu (HMS); (preslenmiş meyve suyu) (PMS)

5– Berrak meyve suyu (durultulmuş meyve suyu) (BMS)

#### **• Proses basamakları örneklerinin ekstraksiyonu**

Berrak aronya suyu üretim basamaklarında alınan mayşe ve meyve suyu halindeki örnekler için ayrı ayrı ekstraksiyon prosedürü uygulanmıştır.

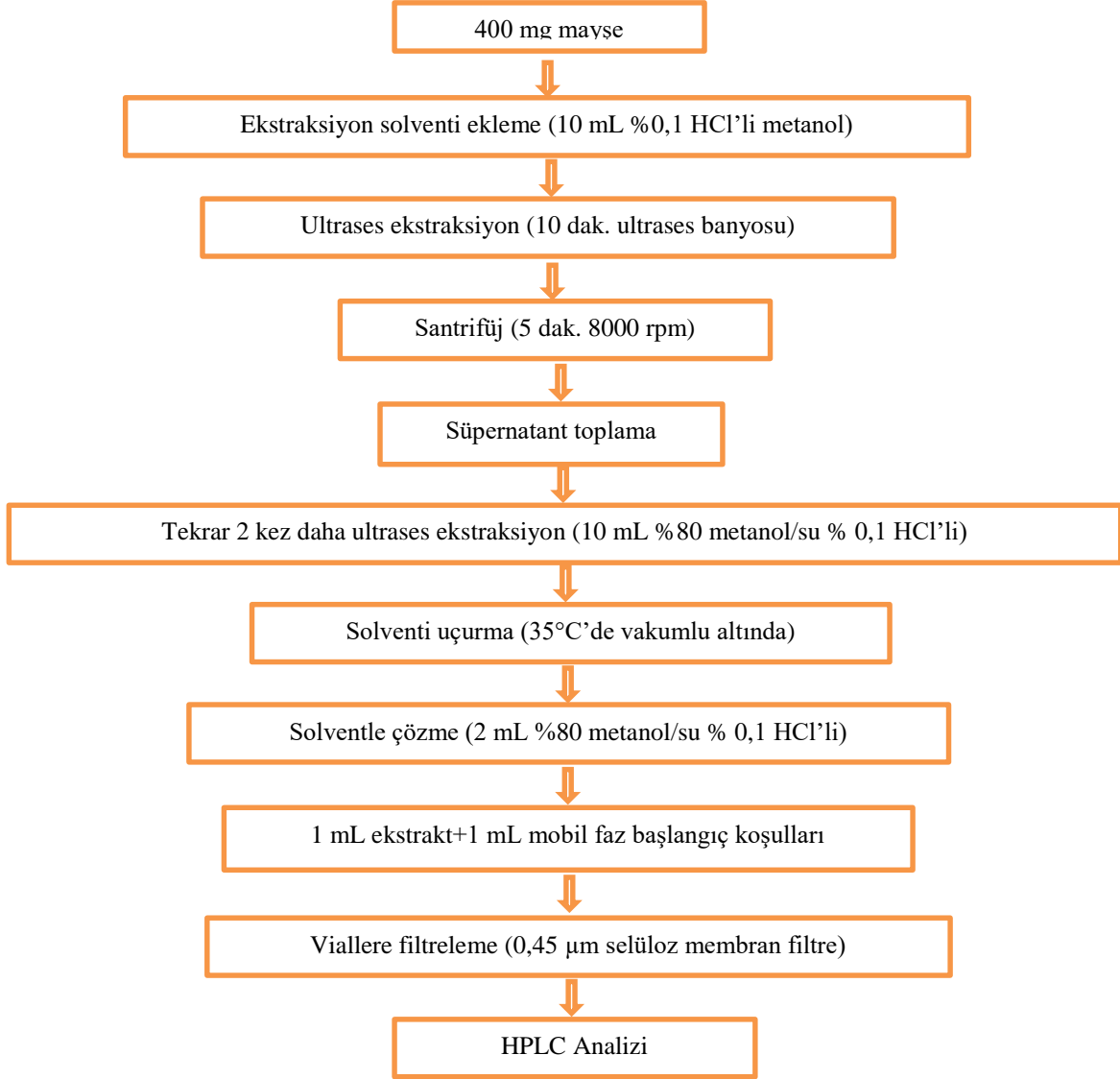
**Mayşe Ekstraksiyonu:** Mayşe halindeki örnekler önce sıvı azot ile öğütülerek homojen hale getirilmiş ve 50 mL'lik falkon tüplere yaklaşık 400 mg tartılmıştır. Daha sonra üzerlerine 10 mL ekstraksiyon solventi (%0,1 HCl'li metanol) eklenerek 10 dakika ultrasonik su banyosunda (Sonorex RK 156, Bandelin, Berlin, Almanya) ultrases uygulanmıştır. Örnekler 5 dakika 8000 rpm devirde santrifüj edilmiş (Centrifuge 5804, Eppendorf AG, Hamburg, Almanya) ve süpernatant (sıvı kısım) pastör pipetiyle toplanmıştır. Ultrases ekstraksiyonu 2 kez daha tekrarlanmış olup, toplam süpernatanttan ekstraksiyon solventi vakum altında ( $35^{\circ}\text{C}$ ) uçurulmuştur. Daha sonra örnekler 2 mL %0,1 HCl'li metanol:su (80:20, mL/mL) çözeltisi ile tekrar çözdürülmüştür. Elde edilen bu ekstraksiyon numunesinden 1 mL alınarak üzerine 1 mL mobilfaz başlangıç koşulları (94 mL 50 mM  $\text{H}_3\text{PO}_4$  + 6 mL %100 asetonitril) çözeltisi eklenmiş ve filtre edilerek HPLC'de analiz edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.8. Berrak aronya suyu üretim sırasında örnek alma basamakları.

**Meyve suyu ekstraksiyonu:** Bir falkon deney tüpü içerisine 2 mL meyve suyu örneği aktarılmış ve üzerine 8 mL % 0,1 HCl'li metanol (%100) eklenmiştir. Numuneye ultrasonik su banyosunda 10 dakika ultrases uygulandıktan sonra 8000 rpm devirde 5

dakika santrifüj edilmiş ve berrak üst faz amber bir şişeye toplanmıştır. Daha sonra yine 1 mL ekstrakt +1 mL mobilfaz başlangıç koşulları çözeltisi ile karıştırılarak analiz edilmek üzere HPLC viallerine filtre edilmiştir.



**Şekil 3.9.** Mayşe (katı) örnekleri için ekstraksiyon prosedürü.

- **Fenolik bileşiklerin HPLC ile analizi**

Araştırmanın ikinci HPLC analiz çalışması olan bu kısım Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Gıda Teknolojileri Bölümü Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşiklerin konsantrasyon miktarlarını belirlemek için siyanidin 3-O-galaktozit, siyanidin 3-O-glukozit, siyanidin 3-O-arabinozit, siyanidin 3-O-ksilozit, kuersetin galaktozit, kuersetin rutinozit ve klorojenik aside ait gerçek standartlar kullanılmıştır. Antosiyanin grubuna ait standartların stok çözeltileri



% 0,1 HCl'li metanol ile klorojenik asit, kuersetin 3-O-glukozit ve kuersetin 3-O-rutinozit stok çözeltileri ise saf metanol ile hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar örneklerle aynı HPLC metodu (aşağıda verilen) kullanılarak analiz edildikten sonra kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Elde edilen bu eğrilerin matematiksel denklemlerinden örneklere ait fenolik bileşiklerin konsantrasyonları hesaplanmış olup gerçek standartları bulunmayan bileşiklerin hesaplanmasında ise yine 'moleküler ağırlık düzeltme faktörü (molecular weight correction factor)' kullanılmıştır. Meyve suyu proses basamaklarının aronya fenolik bileşiklerindeki değişimlerini belirlemek için Agilent 1100 serisi HPLC (Hewlett-Packard, Almanya) kullanılmış olup kullanılan kolon, diğer parametreler ve gradient akış programı (Tablo 3.2) aşağıda verilmiştir.

**Tablo 3.2.** Meyve suyu prosesi fenolik bileşenlerine ait HPLC metodu gradient programı.

Süre (dak.)	A: 50 mM Fosforik asit	B: %100 Asetonitril
0	94	6
3	94	6
35	80	20
45	50	50
50	100	100
55	100	100
60	94	6
70	94	6

Kolon: Kinetex Core –Shell Tech. PFP (2,6µm 100Å 150x4,6mm) (Phenomenex, ABD), Kolon sıcaklığı: 35°C

Akış hızı: 0,6 mL/dak.

Enjeksiyon hacmi: 25 µL

Dedektör: G1315A DAD (280, 320, 360, 520 nm )

### 3.2.7. Kinetik katsayıların hesaplanması

Çalışmamızda, aronya suyu antosiyaninlerinin farklı sıcaklıklarda ısıtma ve depolama sırasındaki parçalanma (degradasyon) kinetikleri incelenmiştir. Örneklerde hem ısıtma hem de depolama sırasında gerçekleşen antosiyanin parçalanmasının birinci dereceden reaksiyon kinetik modeline uygun olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple birinci dereceden

kinetik modele uygun reaksiyonu tanımlayan ve (3.8) no'lu differansiyel eşitliğin integrali alınarak elde edilen (3.9) no' lu eşitlik kullanılmıştır.

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A] \quad (\text{kayıp, azalma}) \quad (3.8)$$

$$\ln [A]_t = -k t + [A]_0 \quad (\text{kayıp, azalma}) \quad (3.9)$$

Burada;

$[A]_t$  : A reaktanının herhangi bir (t) zamandaki konsantrasyonu

$[A]_0$  : A reaktanının başlangıçtaki (t=0) zamandaki konsantrasyonu

k : Reaksiyon hız sabiti

t : Süre

### 3.2.7.1. Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması

Meyve suyu ısıtma ve konsantrelerin depolanmasında uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin kaybına ilişkin analiz sonuçları “y” eksenine logaritmik ölçekli olarak, süreler ise doğrudan “x” eksenine yerleştirilmiş ve yarı logaritmik ölçekli bir grafikte doğrusal bir eğriler elde edilmiştir. Elde edilen eğrilere linear regresyon analizi uygulanarak eğrilerin denklemleri hesaplanmış ve denklemlerin eğim değerlerinden yararlanılarak Eşitlik 3.10'a göre reaksiyon hız sabiti (k) hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2015).

$$k = (\text{eğim}) \times 2,303 \quad (3.10)$$

### 3.2.7.2. Yarı ömür süresinin hesaplanması

Bu değer, aronya antosiyaninlerinin başlangıcındaki konsantrasyonunun yarıya düşmesi (%50) için geçen süre olup birinci derece kinetik modele uygun reaksiyonlar için (3.11 ve 3.12) eşitliğine göre hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2015).

$$t_{1/2} = -\ln (0,5) \times k^{-1} \quad (3.11)$$

$$t_{1/2} = 0,693 \times k^{-1} \quad (3.12)$$

### 3.2.7.3. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklığa bağımlılığı, Arrhenius Eşitliği (3.13) yardımıyla aktivasyon enerjisinin ( $E_a$ ) hesaplanmasıyla belirlenmiştir.

$$k = k_o \exp^{-E_a / RT} \quad (3.13)$$

Hesaplamalarda bu eşitliğin Eşitlik 3.14'te verilen formu kullanılmıştır:

$$\ln k = \frac{-E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln k_o \quad (3.14)$$

Burada;

k: Hız sabiti ( $\text{süre}^{-1}$ )

$k_o$ : Frekans Faktörü ( $\text{süre}^{-1}$ )

$E_a$ : Aktivasyon enerjisi ( $\text{cal mol}^{-1}$  veya  $\text{J mol}^{-1}$ )

R: Üniversal gaz sabiti ( $1,987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$  veya  $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )

T: Sıcaklık (Kelvin)

Reaksiyonun aktivasyon enerjisini hesaplamak için, antosiyaninlerin parçalanma reaksiyonuna neden olan farklı sıcaklıklardaki hız sabitlerinin (k) doğal logaritmaları ( $\ln k$ ) elde edilmiştir. Daha sonra bu değerler aritmetik ölçekli bir grafiğin “y” eksenine ve sıcaklık değerlerinin K (Kelvin) resiprokali ( $1/T$ ) grafiğin “x” eksenine işlenmiş ve doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Bu grafik Arrhenius grafiği olarak adlandırılmakta ve bu grafiğin eğrisinden elde edilen eşitliğin eğimi ile gaz sabiti çarpılarak, reaksiyonun aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2015).

### 3.2.7.4. $Q_{10}$ değerlerinin hesaplanması

$Q_{10}$  değeri (Quotient indicator), reaksiyonun hızının sıcaklığına bağımlılığını tanımlamada kullanılan bir katsayıdır.  $Q_{10}$  değeri bir reaksiyonda sıcaklığın  $10^\circ\text{C}$  artması halinde reaksiyon hızının kaç kat artacağını ifade etmektedir.  $Q_{10}$  değeri aşağıdaki eşitlik (3.15) kullanılarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2015).

$$Q_{10} = (k_2 / k_1)^{10 / (T_2 - T_1)} \quad (3.15)$$

### 3.2.8. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasının ‘4.1.Viking ve Nero eşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal zellikleri’ başlığı altında yapılan analizler sonuçları JMP 11 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir ( $p < 0,01$ ).

Daha sonra ‘4.2. Aronya Fenolik Bileşiklerinin Tanımlanması’ bölümünde ise veri analizleri Minitab<sup>®</sup>18.1 (State College, PA, ABD) programı kullanılmış ve  $p < 0,05$  anlamlı kabul edilmiştir Ortalamalar arasındaki farklar, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Aronya eşitler arasındaki farklılık iki rneklı  $t$ -testi uygulanarak karşılaştırılmıştır.

Meyve suyu ve konsantrelerine ait CIE L\*, a\*, ve b\*değerlerinin istatistikleri ‘Tesadüf Parselleri Deneme Desenine’ göre 3 tekerrürlü olarak JMP 11 istatistik paket programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre uygulamalar arasında anlamlı bir fark bulunduğunda LSD oklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$  olarak alınmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Viking ve Nero Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Ülkemizin ilk aronya bahçesinin meyveleri ile yürütülen bu tez çalışmasında ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmiş olup Tablo 4.1’de verilmiştir. Elde edilen bu bulgular hem bu çalışmanın daha sonraki bölümleri hem de aronya ile ilgili yürütülecek diğer çalışmalar için yol gösterici niteliktedir.

Viking ve Nero aronya çeşitlerinin pH değerlerinde 2018 yılında (sırasıyla 3,43 ve 3,38) 2017 yılına göre (sırasıyla 3,87 ve 3,97) bir düşüş görülmüş ve bu düşmenin istatistiki olarak ( $p<0,05$ ) önemli olduğu belirlenmiştir. Yine pH değerlerindeki bu düşmeye bağlı olarak çeşitlerin titre edilebilir toplam asitlik (TTA) oranları sırasıyla 2017 yılında % 0,74 ve % 0,76 iken 2018 yılında % 0,96 ve % 1,02’ye (malik asit cinsinden) yükseldiği tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Aronya ile farklı çeşit ve lokasyonlarda yapılan başka çalışmalarda meyveye hakim ana asidin malik asit olduğu, pH değerlerinin ise 3,3–3,9 ve TTA’nın malik asit eşdeğerinden %0,67–1,19 arasında değiştiği bildirilmiştir (Kulling ve Rawel, 2008; Sidor ve Gramza–Michałowska, 2019). Jeppsson (2000) ise yaptığı bir çalışmada Viking çeşidinin 1995, 1996 ve 1997 yıllarında TTA oranları sırasıyla % 0,72; 0,67 ve 0,70 (malik asit cinsinden) olarak rapor etmiştir. Bu çalışmasında aynı çeşide ait yıllar arasındaki farklılık yıllık yağış miktarı, sıcaklık gibi iklim koşullarının değişkenliği ile açıklanmıştır.

Çalışmamızda Viking ve Nero çeşitlerinin kuru madde (KM) oranları 2017 ve 2018 yıllarında sırasıyla %25,12; %28,64 ve %22,87; %23,31 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). Farklı araştırmacılar aronyanın KM oranlarının; % 17,9–26 (Mayer–Miebach ve ark, 2012), %26,67–30,76 (Skupien ve Oszmianski, 2007), Taheri ve ark. (2013) ise %24–36,4 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Bununla birlikte Tablo 4.1 incelendiğinde çeşitlerin her ikisinde de ikinci yıl KM oranlarındaki gibi suda çözünür kuru madde (SÇKM) oranlarında da bir azalma olduğu, çeşitler ve yıllar arasındaki bu farklılıkların istatistiksel değerlendirme sonucu önemli olduğu bulunmuştur.

Aronyanın SÇKM oranları ile ilgili literatür incelemelerinde Ochmian ve ark. (2012) farklı çeşitlerde SÇKM değerlerini; 14,20–16,60 °Briks, Jeppsson (2000) aynı çeşitte için farklı yıllarda 16,3–17,8 °Briks arasında bildirmişlerdir. Skupien ve Oszmianski (2007) farklı gübre dozajları uyguladıkları aronya bitkilerinden 2005 yılında topladıkları aronya meyvelerinde SÇKM oranlarını 21,7–24,1 °Briks olarak bildirmişlerdir. Aynı bahçe ve uygulamaların yapıldığı 2006 yılında ise meyvelerde SÇKM oranları 14,4–15,6 °Briks olarak belirlenmiş olup, istatistiki olarak SÇKM bakımından her iki yılda uygulamaların önemli olmadığı fakat yine yıllar arasındaki farklılığın önemli olduğu ifade edilmiştir. Bu durum çalışmada 2005 yılında hava sıcaklığının 2006 yılına göre daha yüksek ve yaz mevsiminin daha uzun olduğu dolayısıyla farklı hava koşullarının meyvenin içeriğini etkilediği şeklinde açıklanmıştır (Skupien ve ark, 2008). Her iki çalışmada sıcaklık artışının aronya meyvesindeki SÇKM oranı ile doğru orantılı olduğu görülmüştür.

Aronya çeşitlerinin toplam fenolik madde miktarları (TFM) Ekler (Şekil A.1) bölümünde verilen gallik asit kalibrasyon eğrisi ve bu eğriden elde edilen formülden hesaplanmış olup istatistiki olarak çeşitler arasında bir fark olmadığı fakat yıllar arasındaki farkın önemli olduğu ( $p<0,05$ ) belirlenmiştir (Tablo 4.1). Najda ve Łabuda (2013), Nero çeşidinde TFM'nı 1540 mg GAE/100 g, Denev ve ark. (2018) ise yine Nero çeşidine ait yerel üreticilerden topladıkları 23 örnekte TFM'lerini 1022–1723 mg GAE/100 g arasında belirlemiş olup sonuçların bizim çalışmamızla benzerlik gösterdiği görülmektedir (Tablo 4.1). Ancak Jakobek ve ark. (2012)'nin yaptıkları 2 yıllık bir çalışmada sonuçların bizim bulgularımızdan daha düşük olduğu görülmüştür. Araştırmalarında Viking ve Nero çeşitlerinde TFM'nı sırasıyla 1.yıl 1080–901 ve 2.yıl 1205– 936 mg GAE/100 g (taze ağırlık) olarak tespit ettiklerini, çeşitler ve yıllar arasındaki farklılıkların ise anlamlı ( $p<0,05$ ) olduğunu ifade etmişlerdir. Buna karşın Ochmain ve ark. (2012)'nin çalışmalarında Viking ve Nero aronya çeşitlerinde TFM'nı (sırasıyla 1845 ve 1950 mg GAE/100 g taze ağırlık) bizim sonuçlarımızdan daha yüksek olarak belirlemişlerdir.

**Tablo 4.1.** Viking ve Nero aronya meyvelerinin 2017–2018 yıllarına ait bazı fiziksel ve kimyasal içerikleri.

Analizler	Viking		Nero	
	2017	2018	2017	2018
pH	3,87±0,11 <sup>a</sup>	3,43±0,03 <sup>b</sup>	3,97±0,10 <sup>a</sup>	3,38±0,02 <sup>b</sup>
TTA (% MA)	0,74±0,01 <sup>c</sup>	0,96±0,01 <sup>b</sup>	0,76±0,02 <sup>c</sup>	1,02±0,03 <sup>a</sup>
SÇKM	19,58±0,22 <sup>b</sup>	17,58±0,54 <sup>c</sup>	21,30±0,16 <sup>a</sup>	17,35±0,20 <sup>c</sup>
KM (%)	25,12±0,24 <sup>b</sup>	22,87±0,46 <sup>c</sup>	28,64±0,40 <sup>a</sup>	23,31±0,42 <sup>c</sup>
TFM (mg GAE/ 100 g )	1738,86±41,71 <sup>a</sup>	1584,89±59,57 <sup>b</sup>	1693,50±43,27 <sup>a</sup>	1563,57±64,37 <sup>b</sup>
TAM (püre, mg CGE/100 g )	682,71±28,45 <sup>a</sup>	547,72±32,22 <sup>b</sup>	654,60±34,51 <sup>a</sup>	535,48±35,68 <sup>b</sup>
Antioksidan Aktivite DPPH (µmol TE/g)	146,93±6,85 <sup>a</sup>	125,57±3,19 <sup>b</sup>	141,34±6,46 <sup>a</sup>	122,13±5,51 <sup>b</sup>
Antioksidan Aktivite ABTS (µmol TE/g)	127,50±2,99 <sup>a</sup>	109,21±4,41 <sup>b</sup>	122,84±5,65 <sup>a</sup>	105,92±4,84 <sup>b</sup>
Askorbik asit (mg/100g)	47,67±1,21	45,38±2,74	45,85±3,21	44,34±3,92

TTA: Titredilebilir Toplam Asitlik, MA: Malik Asit Cinsinden, KM: Kuru Madde, TFM: Toplam Fenolik Madde, GAE: Gallik Asit Eşdeğeri, TAM: Toplam Antosiyanin Miktarı, CGE: Siyanidin Glukozit Eşdeğeri, TE: Troloks Eşdeğeri  
Tüm analiz sonuçları yaş ağırlık üzerinden verilmiştir.

<sup>a-c</sup>: Aynı satırlarda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $p < 0,01$ ).

Tablo 4.1' incelendiğinde toplam antosiyanin miktarları (TAM) bakımından çeşitler arasında farklılığın önemsiz, ancak aynı çeşit için yıllar arasındaki farklılığın önemli olduğu görülmektedir. Toplam fenolik madde miktarında olduğu gibi ilk yıl (2017) toplam antosiyanin miktarları 2. yıla (2018) göre daha yüksek olup bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Aynı lokasyon ve yetiştirme şartlarına rağmen bu farklılıkların yıllar arasındaki yağış, güneş vb. iklimsel koşullar olduğu düşünülmektedir. Zheng ve Wang (2003) farklı üzümü meyvelerde yaptıkları bir çalışmada, en yüksek TAM'nı (428 mg/100 g) aronyada tespit etmişlerdir. Yine benzer bir çalışmada Nero aronya çeşidi, böğürtlen, ahududu, siyah ve kırmızı kuşüzümü meyveleri arasında en yüksek TAM 1480 mg/100 g ile Nero çeşidi örneklerinde olduğu rapor edilmiştir (Wu ve ark, 2004). Viskelis ve ark. (2012) Viking çeşidinde TAM'nı 868,9 mg/100 g, Vagiri ve Jensen (2017) 488,8 mg/100 g, Benvenuti ve ark. (2004) ise Nero çeşidinde 460,5 mg/100 g olarak bildirmişlerdir.

Viking ve Nero çeşitlerinin DPPH yöntemi kullanılarak belirlenen antioksidan aktiviteleri 2017 yılında sırasıyla  $146,93\pm 6,85$  ve  $141,34\pm 6,46$   $\mu\text{mol TE/g}$ , 2018 yılında ise  $125,57\pm 3,19$  ve  $122,13\pm 5,51$   $\mu\text{mol TE/g}$  olarak belirlenmiştir. ABTS yöntemiyle gerçekleştirilen analizlerin sonuçları ise DPPH yöntem sonuçlarına göre daha düşük olmakla birlikte çeşit, yıl farkı ve gruplandırma ( $p<0,01$ ) olarak benzerlik göstermiştir (Tablo 4.1). Hırvatistan'da 10 farklı kırmızı meyvenin antioksidan aktiviteleri DPPH ve ABTS yöntemleri kullanarak belirlenmiş ve her iki yöntemde de en yüksek antioksidan aktivite sonuçlarının aronya meyvesinde olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte analiz sonuçları bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermiş olup DPPH ( $181,07$   $\mu\text{mol TE/g}$ ) antioksidan aktivite sonuçlarının ABTS ( $78,9$   $\mu\text{mol TE/g}$ ) sonuçlarından daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca çalışmada hem DPPH hem de ABTS antioksidan aktivite sonuçları ile toplam fenolik bileşikler ( $r=0,98$  ve  $r=0,98$ ) ve toplam antosiyanin ( $r=0,93$  ve  $r=0,90$ ) sonuçları arasında yüksek korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Jakobek ve ark, 2007a). Bulgaristan'da yapılan bir araştırmada ise, marketlerden alınan 23 Nero çeşidi aronya örneğinde ORAC antioksidan aktivite değerleri  $109,1-191,1$   $\mu\text{mol TE/g}$  arasında belirlenmiştir. En yüksek ve en düşük değer arasında yaklaşık 1,8 kat fark tespit edilmiş olup, bu durum araştırmacılar tarafından farklı lokasyon ve yetiştirme koşullarının etkisi olarak açıklanmıştır (Denev ve ark, 2018). Yapılan literatür çalışmasında da, aronya meyvesinin polifenollerce oldukça zengin ve bu polifenollerin bileşimleri ile aronyanın antioksidan aktivitesi arasında



kuvvetli bir korelasyonun olduğu literatürde belirtilmiştir (Zheng ve Wang, 2003; Kulling ve Rawel, 2008; Jakobek ve ark, 2007, 2012).

Nero ve Viking aronya çeşitlerinde askorbik asit (C vitamini) içerikleri istatistiki olarak karşılaştırılmış ve hem yıllar hem de çeşitler arasındaki farklılık önemsiz düzeyde bulunmuştur ( $p>0,01$ ). Çalışmamızda çeşitlerin askorbik asit miktarları 44,34–47,67 mg/100g olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1). Yapılan farklı çalışmalarda aronya meyvesinin askorbik asit miktarları 13,1 mg/100 g (Benvenuti ve ark, 2004), 1,3–27,0 mg/100g (Kulling ve Rawel, 2008) ve 37,3–91,8 mg/100g (Denev ve ark, 2018) olarak bildirilmiştir. Literatür bulguları kıyaslandığında; sonuçlarımızın ilk 2 çalışmadaki sonuçlardan daha yüksek olduğu diğer çalışmada verilen sonuçların bir kısmı ile benzerlik gösterdiği veya daha düşük olduğu görülmüştür.

Tablo 4.1 genel olarak incelendiğinde fiziksel ve kimyasal içerikler bakımından aronya çeşitleri arasında farklılığın önemli olmadığı, farklılıkların daha çok yıllar arasında olduğu görülmüş olup bunun sebebinin ise çevresel koşullara (yıllık yağış, güneş vb.) bağlı olduğu düşünülmektedir.

## **4.2. Aronya Fenolik Bileşiklerinin Tanımlanması**

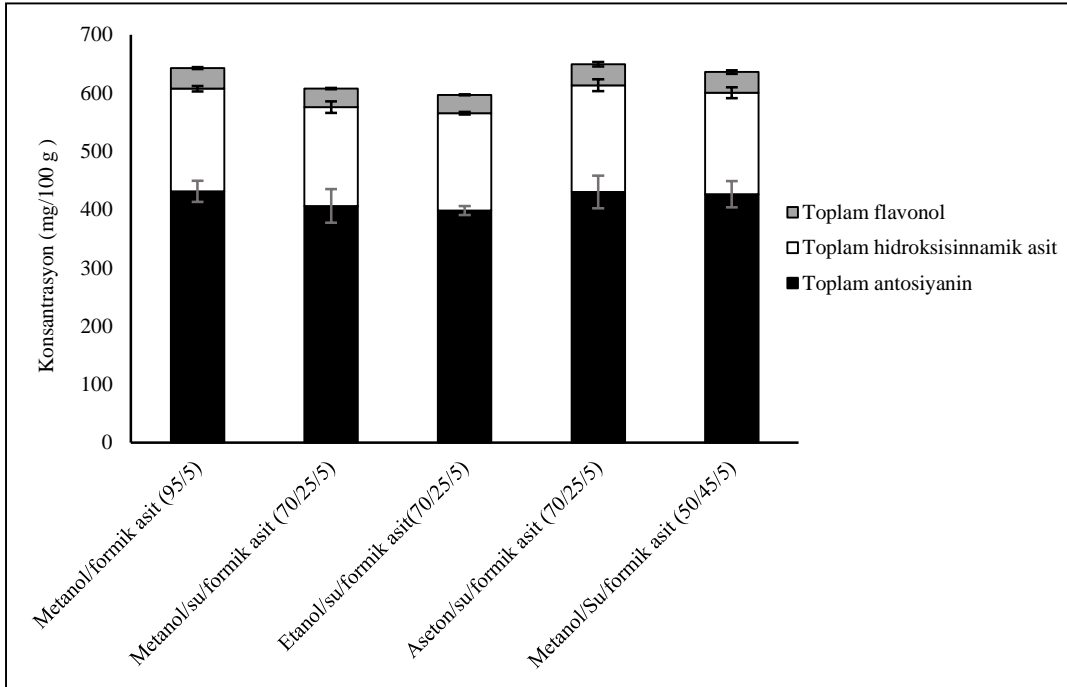
### **4.2.1. Fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu**

Tez çalışmasının bu başlığı altında aronya fenolik bileşiklerinin ultrases destekli ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ‘Ekstraksiyon solventinin seçimi’, ‘Ekstraksiyon döngü sayısı’ ve ‘Örneklere ön işlemin etkisi’ ile ekstraksiyon basamakları optimize edilmiştir.

#### **4.2.1.1. Ekstraksiyon solventinin seçimi**

Metanol, etanol ve aseton gibi polar organik solventler ile bunların sulu ve asitli karışımları fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda en çok kullanılan ekstraksiyon solventleridir (Naczki ve Shahidi, 2004; Tsao, 2010). Bu sebeple çalışmamızda ilk önce dondurarak kurutulmuş ve toz haline getirilmiş aronya örneklerinin fenolik bileşikleri, farklı solvent (çözücü) sistemleri kullanılarak eşzamanlı bir şekilde ekstrakte edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiki değerlendirmede antosiyaninler, hidroksisinnamik asitler ve flavonolların ekstraksiyon verimleri bakımından Şekil 4.1’de verilen metanol/formik asit (95:5, v/v), metanol/su/formik asit (70:25:5, v/v/v), etanol/su/formik asit (70:25:5, v/v/v), aseton/su/formik asit (70:25:5, v/v/v) ve

metanol/su/formik asit (50:45:5, v/v/v) solventleri arasında önemli düzeyde bir fark ortaya çıkmamıştır ( $p>0,05$ ). Ekstraksiyon verimi bakımından istatistiksel bir anlamlılığı olmamasına rağmen, aseton/su/formik asit (70:25:5, v/v/v) solventi analiz sonuçlarında örnekler arasındaki standart sapma değerlerinin fazla olması ve evaporasyon basamağının uzun sürmesi ekstraksiyon solvent seçiminde dikkate alınmıştır. HPLC analizinden önce diğer solventlere göre daha hızlı buharlaştığı ve ekstraksiyon verimi yüksek (aseton/su/formik asit solventinden sonra) olduğu için aronya fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunda metanol/formik asit (95:5, v/v) karışımı seçilmiş olup sonraki tüm çalışmalarda bu solvent kullanılmıştır.



**Şekil 4.1.** Farklı solventlerle ekstrakte edilen aronya fenolik bileşenleri.

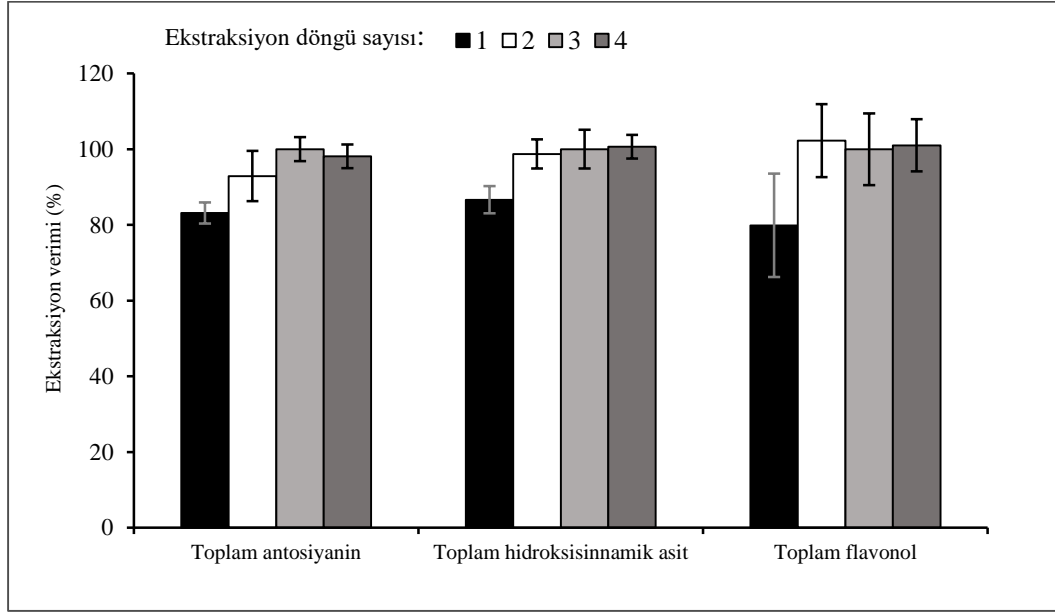
Etanol/su/formik asit (70:25:5, v/v/v) solventi çalışmada kullanılan tüm solvent sistemleri arasında yeşil ve toksik olmayan bir çözücüdür. Aynı zamanda toplam ekstraksiyon verimi açısından diğerleriyle benzer aralıkta olması sebebiyle farklı çalışmalarda (özellikle biyoyararlılık ve biyoerişebilirlik) alternatif olarak kullanılabilir. Ancak etanol/su/formik asit solventinin kuersetin 3-*O*-galaktozid, kuersetin 3-*O*-rutinozid ve kuersetin 3-*O*-robinobiozid bileşiklerinin ekstraksiyonunda en düşük verimi sağladığı ve diğer solventlere göre bu farklılıkların

istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Su, kolayca bulunabilen yeşil bir ekstraksiyon solventi olmasına rağmen, sulu ortamlarda meyve enzimlerinin (polifenol oksidaz ve peroksidaz enzimleri) aktivitelerinin artması ve bundan dolayı fenolik bileşiklerin olumsuz etkilenmesi nedeniyle çözücü karşılaştırmamıza dahil edilmemiştir (Antolovich ve ark, 2000). Buna karşılık metanol ve etanol gibi organik solventler enzimleri denature ederek aktivitelerini bastırırlar ve böylece hedef bileşiklerin kimyasal modifikasyonu ve bozunması önlenir (Gras ve ark, 2015). Bunun yanı sıra çalışmamızda fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için alkollü solventlere suyun eklenmesi diğer çalışmalardan farklı olarak ekstraksiyon verimini önemli ölçüde etkilememiştir. Ancak Erşan ve ark. (2017) fıstık kabuğunda yaptıkları çalışmada metanol/su (80/20, v/v) solventi ile ekstraksiyonlarından etanol/su (80:20, v/v), metanol/su (50:50, v/v) ve saf metanole göre daha yüksek kuersetin 3-*O*-galaktozit verimi sağladıklarını bildirmişlerdir. Gras ve ark. (2015) ise siyanidin 3-*O*-glukozit ve asillenmiş siyah havuç antosiyaninlerinin en kapsamlı ekstraksiyonunu, metanol/formik asit (95:5, v/v) ve su/metanol/formik asit (45:50:5, v/v/v) solventlerine kıyasla su/metanol/formik asit (75:20:5, v/v/v) solventi kullanarak elde ettiklerini belirtmişlerdir. Söz konusu literatürler ile çalışmamız arasındaki bu farklılıkların ekstraksiyon matrisine bağlı olarak değiştii varsayılmaktadır. Zira fıstığın dış kabuklarında ve aronyada farklı fenolik bileşiklerin bulunması, siyah havuçta ise aronyada bulunan antosiyaninlerden farklı olarak asillenmiş antosiyaninlerin olması ekstraksiyon solventlerinin verimliliklerini farklı olarak etkilediği düşünölmektedir.

#### **4.2.1.2. Ekstraksiyon döngü (tekrar) sayısı**

Çalışmamızın bu bölümünde aronya fenolik bileşiklerinin kapsamlı bir şekilde ekstraksiyonu için önceden seçmiş olduğumuz metanol/formik asit (95/5, v/v) solventi kullanılarak ultrases destekli ekstraksiyon işleminin dört kez tekrarlanmış ve ekstraksiyon verimleri incelenmiştir. Dört döngüden sonra katı kalıntının renksizleştiği, böylece aronya meyvesi baskın fenolik bileşiklerinin, yani antosiyaninlerin kapsamlı bir şekilde ekstrakte edildiği gözlemlenmiştir. Şekil 4.2'ye göre birinci ekstraksiyon döngüsünden sonra toplam antosiyaninler, hidroksisinnamik asitler ve flavonollerin geri kazanımlarının %76 ile 86 arasında değiştii, ikinci ve üçüncü ekstraksiyon döngüsünden sonra ise sırasıyla %95-102 ve %98-101'e yükseldiği bu farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Dördüncü ekstraksiyon döngü işleminin ekstraksiyon verimini daha fazla artırmadığı ve istatistiki olarak bir

fark tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, daha sonraki deneylerde kapsamlı bir ekstraksiyon işlemi için üç tekrarlı ultrases destekli ekstraksiyon döngüsünün yeterli olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.2.** Ultrases destekli ekstraksiyon döngü sayısının aronya fenolik bileşikleri üzerine etkisi.

#### 4.2.1.3. Örneklere ön işlemin etkisi

Tez çalışmamızın bu kısmında fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonundan önce aronya örneklerinin taze ve dondurarak kurutulmasının ekstraksiyon verimine etkisi incelemiştir. Daha önceki çalışmalarda örneklere uygulanan dondurarak kurutma ön işleminin antioksidanların (Shofian ve ark, 2011) ve fenolik bileşiklerin (De Torres ve ark, 2010) içeriğini olumsuz etkilediği, işlem sırasında ayrışma veya kimyasal modifikasyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Abascal ve ark, 2005). Çalışmamızda ise dondurarak kurutulmuş ve taze aronya örneklerinden fenolik bileşiklerin geri kazanım oranları karşılaştırıldığında, fenolik bileşiklerin benzer kalitatif ve kantitatif bileşimleri gözlenmiştir. Viking çeşidinde yapılan HPLC analizlerinde dondurarak kurutulmuş örneklere ait toplam fenolik bileşiklerin standart sapması 28,39 ve CV değeri %3,59 iken taze örneklerin standart sapması 71,64 ve CV değeri %15,03 olarak tespit edilmiştir. Yani taze meyve ekstraktlarının fenolik içerikleri analizlerinin, dondurarak kurutulmuş numunelerin ekstraksiyon analiz sonuçlarına göre yaklaşık 2,5 kat daha yüksek standart sapma ve CV değerlerine sahip olduğu dikkat çekmiştir. Taze meyve ekstraktlarının bu yüksek değerleri, taze, püre vb. numunelerin dondurarak kurutulmuş ve öğütülmüş toz numunelere göre daha az homojen olmasına bağlanabilir.

Bunun yanı sıra, “Ekstraksiyon solventinin seçimi” başlığı altında bahsedilen meyve enzimlerinin aktiviteleri, taze örneklerde numune hazırlama (püre haline getirilmesi ve tartılması) sırasında hedef bileşiklerin bozulmasına sebep olabilir, ancak bu spekülatif (varsayım) olarak kalmaktadır. Sonuç olarak, dondurarak kurutulmuş ve öğütülmüş örnekler taze veya dondurulmuş meyve pürelerine kıyasla daha homojen olması nedeniyle çalışmamızın bu bölümü için materyal olarak seçilmiştir.

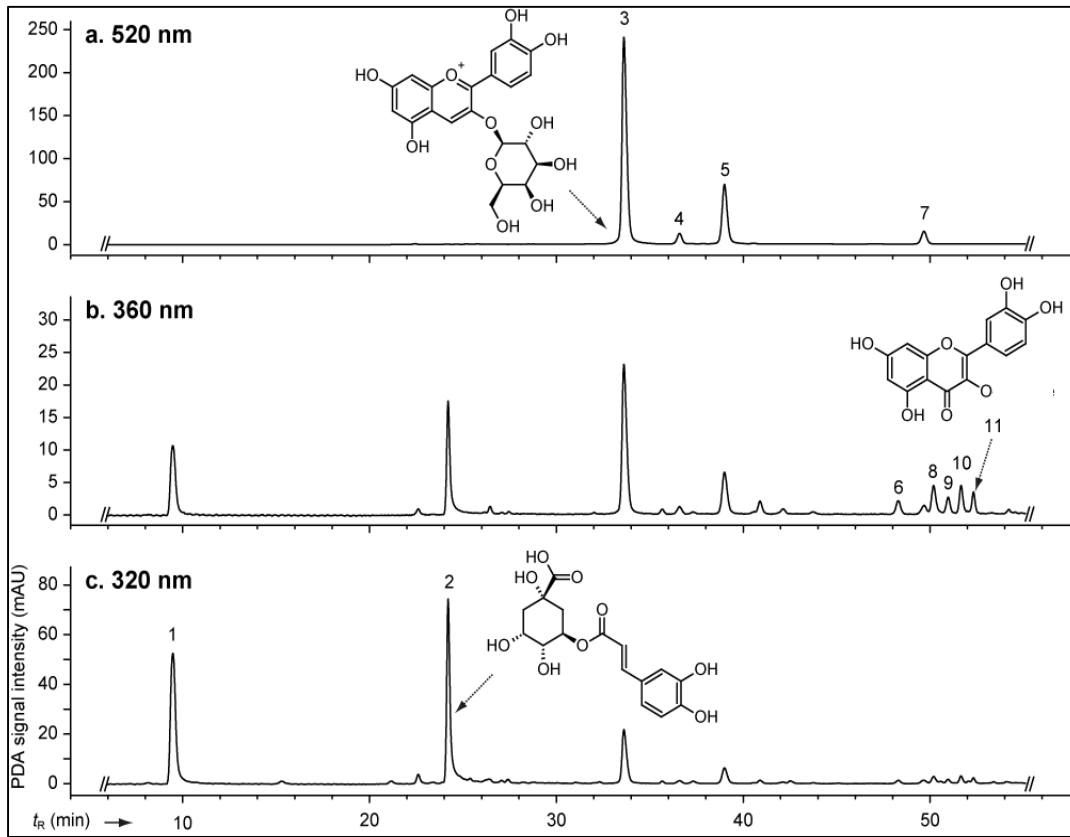
#### **4.2.1.4. Son ekstraksiyon prosedürü**

Optimize etmiş olduğumuz metot, üç tekrarlı ekstraksiyon döngüsünde metanol/formik asit (95:5, v/v) kullanılarak, dondurarak kurutulmuş ve toz haline getirilmiş aronya tozunun ultrases destekli bir ekstraksiyon yöntemidir. Bu prosedür, dondurarak kurutulmuş aronyadan fenolik bileşiklerin kapsamlı bir şekilde ekstraksiyonunu sağlamıştır. Daha önce geliştirilen 60 dakikalık maserasyon (Ćurić ve ark, 2016) ve aronyanın tek adımlı 10 dakikalık prob sonikasyonu (Vázquez-Espinosa, 2019) ile karşılaştırıldığında, optimize edilen yöntemimiz aronya fenoliklerinin hızlı ve verimli bir şekilde ekstraksiyonunu gerçekleştirmiştir. Bununla birlikte, pipetleme, santrifüjleme ve süpernatant toplama için eklenen süreler nedeniyle tüm ekstraksiyon prosedürünün yukarıda belirtilen tek adımlı 10 dakikalık yöntemden daha hızlı olmadığı belirtilmelidir. Daha önce de verildiği gibi (bkz. “Ultrases destekli ekstraksiyon”) ultrases destekli ekstraksiyon, ekstraksiyon sırasında sıvı bir ortamda mikro kabarcıkların oluşması, genişlemesi ve çökmesi sağlayarak yoğun matris bozulmasına ve difüzyon oranlarının artmasına yani akustik kavitasyonun bir sonucu olarak kısa sürede hedef analitin ekstraksiyonunu gerçekleştirmektedir (Tiwari, 2015).

#### **4.2.2. HPLC ve UHPLC ayrımlarının karşılaştırılması**

HPLC ve UHPLC cihazlarının her ikisinde de core-shell C<sub>18</sub> kolonları ( $d_p = 5$  and  $1,7$   $\mu\text{m}$ , sırasıyla) kullanılarak aronya fenolik bileşiklerinin kromatografik ayrımları karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda elde edilen bir HPLC kromatogramı Şekil 4.3’te verilmiş olup, bileşiklerin elüsyon sırası UHPLC kromatogramında da aynı şekilde gerçekleşmiştir. UHPLC yöntemimiz (30 dak.), HPLC yöntemimizden (68 dak.) 2,3 kat daha hızlı ve %82 daha az solvent tüketmiştir. Hem HPLC hem de UHPLC, her iki sistemde toplam çalışma sürelerinin daha da kısaltılmasını 7–11 arasındaki piklerin pik ayrımlarında ( $R_s$ : komşu iki pik arasındaki uzaklık) meydana gelen çok küçük farklılıklar ve benzer ayırma verimlilikleri sınırlamıştır. Yani, 7–11 arasındaki piklerin

$R_s$ , her iki kromatografik sistemde 0,6 ile 0,9 arasında değişirken, diğer tüm pikler için 1,5'ten fazladır. Tablo 4.2'de verildiği gibi aronya fenolik bileşiklerin ayrımı HPLC metodumuzda 52,3 dak. ve UHPLC metodumuzda ise 13,5 dak. içinde tamamlanmış olup geri kalan süreler kolonun temizlenmesi ve başlangıç koşullarına geri dönme süresi olarak toplam analiz süresine eklenmiştir. Özetle, hem HPLC hem de UHPLC yöntemleri, aronya fenolik bileşiklerinin antosiyaninler, hidroksisinnamik asitler ve flavonoller olmak üzere üç farklı sınıftan 11 fenolik bileşiğin eş zamanlı olarak tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için uygun bulunmuştur.



**Şekil 4.3.** Aronya meyvesine ait fenolik bileşiklerin 520, 360 ve 320 nm kromatogramları (pik-2: Klorojenik asit, pik-11: Kuersetin 3-O-rutinozit ve pik-3: siyanidin 3-O-galaktozit bileşiğine ait kimyasal yapılar).

#### 4.2.3. Aronya fenolik bileşiklerinin HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> analizleri

Aronya ekstraktlarında iki hidroksisinnamik asit (pik 1 ve 2), dört antosiyanin (pik 3, 4, 5 ve 7) ve beş flavonol (pik 6, 8, 9, 10 ve 11) olmak üzere toplam 11 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır (Tablo 4.2). HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> verilerine karşılık gelen gerçek standart bileşiklere ait olan piklerle karşılaştırarak, neoklorojenik asit, klorojenik asit (her ikisi de  $[M-H]^-$   $m/z$  353'te), siyanidin 3-O-galaktozit ( $[M]^+$   $m/z$  449'te), siyanidin 3-O-glukozit ( $[M]^+$   $m/z$  449'te) ve siyanidin 3-O-arabinosit ( $[M]^+$

$m/z$  419'da), siyanidin 3-*O*-ksilosit ( $[M]^+m/z$  419'da), kuersetin 3-*O*-galaktozit ( $[M-H]^-m/z$  463'te), kuersetin 3-*O*-glukozit ( $[M-H]^-m/z$  463'te) ve kuersetin 3-*O*-rutinosit ( $[M-H]^-m/z$  609'da) saptanmıştır. Kuersetin 3-*O*-visinozit (kuersetin 3-*O*-(6''-*O*- $\beta$ -arabinosyl- $\beta$ -glukozit,  $[M-H]^-m/z$  595'te) ve kuersetin 3-*O*-robinobiozit (kuersetin 3-*O*-(6''-*O*- $\beta$ -rhamnosil- $\beta$ -galaktozit,  $[M-H]^-m/z$  609'da) 354 nm'de, flavonollere özgü bir aralıkta UVmax değerlerine ve bir CID (Collision induced dissociation; çarpışma kaynaklı ayrışma)'ye göre tanımlanmıştır. Kuersetin 3-*O*-visinozit ve kuersetin 3-*O*-robinobiozit bileşikleri daha önce aronya ile ilgili bir çalışmada nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi ile tanımlandığı bildirilmiştir (Slimestad ve ark, 2005). Bu tez çalışmasında tanımlanan fenolik bileşikler, farklı araştırmacıların (Slimestad ve ark, 2005; Wilkes ve ark, 2014; Tian ve ark, 2017; Rodríguez-Werner ve ark, 2019) rapor etmiş oldukları çalışmalarla uyumluluk göstermiştir. Bunun yanı sıra çeşitli çalışmalarda pelargonidin 3-*O*-arabinozit (Wu ve ark, 2004; Veberic ve ark, 2015) gibi minor bileşikler, az miktarlarda kafeik, *p*-kumarik, *p*-hidroksibenzoik, salisilik, sirinjik ve vanilik asit (Szopa ve ark, 2013), kaempferol, isorhamnetin ve mirisetin türevleri (Mikulic-Petkovsek ve ark, 2012) aronyanın fenolik bileşikleri olarak bildirilmiştir. Literatürde verilen bu minor bileşikler bizim çalışmamızda diode array dedektör (DAD) tarafından tespit edilmemiştir.

**Tablo 4.2.** Aronya fenolik bileşiklerinin alıkonma süreleri ve HPLC–DAD–ESI–MS<sup>n</sup> verileri.

Pik no.	Fenolik bileşikler	Alıkonma zamanı (dakika)		UV/Vis absorbands Max. (nm)		HPLC–ESI–MS <sup>n</sup> analizleri		
		HPLC	UHPLC	HPLC	UHPLC	[M] <sup>+</sup>	[M–H] <sup>–</sup>	MS <sup>n</sup> <i>m/z</i> (% base peak)
1	Neoklorojenik asit <sup>a</sup>	9,5	1,8	326	325		353	[353]: 191 (100), 179 (78), 173 (6), 135 (16)
2	Klorojenik asit <sup>a</sup>	24,2	4,5	326	325		353	[353→191]: 153 (40), 127 (17), 99 (14), 85 (100) [353]: 191 (100)
3	Siyanidin 3- <i>O</i> -galaktozit <sup>a</sup>	33,4	7,9	516	515	449		[449]: 287 (100)
4	Siyanidin 3- <i>O</i> -glukozit <sup>a</sup>	36,6	9,0	514	515	449		[449]: 287 (100)
5	Siyanidin 3- <i>O</i> -arabinozit <sup>a</sup>	39,0	9,5	516	515	419		[419]: 287 (100)
6	Kuersetin 3- <i>O</i> -visinozit <sup>b</sup>	48,3	12,3	354	353		595	[595]: 301 (100)
7	Siyanidin 3- <i>O</i> -ksilozit <sup>b</sup>	49,7	12,4	516	515	419		[419]: 287 (100)
8	Kuersetin 3- <i>O</i> -galaktozit <sup>a</sup>	50,1	12,6	354	352		463	[463]: 301 (100)
9	Kuersetin 3- <i>O</i> -robinobiozit <sup>b</sup>	51,0	12,9	354	352		609	[609]: 301 (100)
10	Kuersetin 3- <i>O</i> -glukozit <sup>a</sup>	51,6	13,2	354	352		463	[463]: 301 (100)
11	Kuersetin 3- <i>O</i> -rutinozit <sup>a</sup>	52,3	13,5	354	352		609	[609]: 301 (100)

<sup>a</sup> Gerçek standart bileşiklerle tanımlanan bileşikler

<sup>b</sup> Literatürde bildirilen alıkonma süreleri, pik boyutları ve UV/Vis ve kütle spektral verilerinin karşılaştırılması ile tanımlanan bileşikler



#### 4.2.4. Metot validasyon

Tüm kalibrasyon eğrileri, incelenen konsantrasyon aralıklarında (Tablo 4.3) mükemmel doğrusal determinasyon katsayıları ( $R^2 > 0,99$ ) göstermiştir. HPLC yönteminin LOD (tespit limiti) ve LOQ (miktar limiti) değerleri, sırasıyla klorojenik asit için kolonda 54,5 ve 165,1 ng ve siyanidin 3-*O*-galaktozit için kolonda 48,4 ve 146,8 ng arasında değişmektedir. Kuersetin 3-*O*-galaktozit (kolonda sırasıyla 6,9 ve 20,9 ng) ve kuersetin 3-*O*-rutinozit (kolonda sırasıyla 6,48 ve 19,65) için diğer bileşiklerden daha küçük tespit ve miktar limitleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, Tablo 4.3 incelendiğinde UHPLC metodumuz kullanılarak belirlenen limitlerin daha küçük olduğu ve bu sebeple HPLC metodumuza göre daha yüksek hassasiyete sahip bir yöntem geliştirildiği görülmektedir. Siyanidin 3-*O*-galaktozit için LOD ve LOQ değerleri Erşan ve ark. (2017) ve Gras ve ark. (2015) tarafından bildirilen değerlerden daha yüksek olmasına karşın, kuersetin 3-*O*-galaktozit için UHPLC metodumuzdan elde edilen değerler Erşan ve ark. (2017)'nin değerlerinden daha düşük bulunmuştur.

Yüksek ve düşük konsantrasyon miktarlarında eklenen tüm bireysel fenolik bileşikler geri kazanım oranlarının (%95,5 ile %99,7 arasında) oldukça iyi olduğu belirlenmiştir. HPLC-DAD analizlerinin tekrarlanabilirlik varyasyon katsayıları gün içi %2,5-4,7 ve günler arası %0,67-3,52 arasında hesaplanmıştır (Tablo 4.4).

**Tablo 4.3.** HPLC ve UHPLC yöntemlerin doğrulanması için kullanılan referans standartların doğrusal konsantrasyon aralıkları, saptama parametreleri, alıkonma zamanları, kalibrasyon eğrilerinin eğimleri, tespit limitleri (LOD) ve miktar limitleri (LOQ).

Pik no.	Fenolik bileşik	Konsantrasyon aralığı (mg/L) <sup>b</sup>	Eğim <sup>a</sup>		LOD (ng kolonda)		LOQ (ng kolonda)	
			HPLC (mAU * dak * L * mg <sup>-1</sup> )	UHPLC (mV * s * L * mg <sup>-1</sup> )	HPLC	UHPLC	HPLC	UHPLC
2	Klorojenik asit	2,0–140,0	13,85	3341,4	54,5	0,31	165,1	0,94
3	Siyanidin 3- <i>O</i> - galaktozit	6,5–454,6	20,44	4042,5	48,4	4,1	146,8	12,5
8	Kuersetin 3- <i>O</i> - galaktozit	1,1–26,3	9,87	2188,7	6,9	0,51	20,9	1,5
11	Kuersetin 3- <i>O</i> - rutinozit	1,1–26,3	8,98	1890,5	6,5	0,62	19,7	1,9

<sup>a</sup> Üç bağımsız standart eğrinin ortalaması, <sup>b</sup> Enjeksiyon hacimleri 5 µL (HPLC) ve 0,4 µL (UHPLC)

**Tablo 4.4** Dondurarak kurutulmuş aronyalardan fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonlarına ait HPLC-DAD analizlerinin geri kazanımları ve tekrarlanabilirliği.

Pik no.	Fenolik bileşik	Örnekteki miktar (µg)	Eklenen miktar (µg)	Ölçülen miktar (µg)	Geri kazanım (%)	Tekrarlanabilirlik CV (%)	
						Gün içi (n = 6) <sup>a</sup>	Günler arası (n = 4) <sup>b</sup>
2	Klorojenik asit	163,4 ± 7,9	139,8	297,1 ± 21,9	97,9 ± 4,7	< 3,23	0,67
		169,9 ± 7,4	69,1	229,4 ± 9,0	97,2 ± 1,6		
3	Siyanidin 3- <i>O</i> - galaktozit	595,5 ± 28,8	323,7	916,6 ± 55,2	99,7 ± 2,9	< 2,50	2,87
		608,1 ± 27,0	152,9	758,7 ± 60,9	99,6 ± 5,0		
8	Kuersetin 3- <i>O</i> - galaktozit	18,3 ± 0,9	17,5	33,4 ± 1,7	93,3 ± 2,6	< 3,53	2,93
		18,7 ± 0,8	7,6	25,9 ± 1,7	98,3 ± 3,8		
11	Kuersetin 3- <i>O</i> - rutinozit	10,0 ± 0,5	16,3	25,1 ± 2,0	95,5 ± 5,9	< 4,70	3,52

CV: varyasyon katsayıları, <sup>a</sup> günde altı tekrür, <sup>b</sup> bir ay içinde her hafta altı tekrür (n = 6), <sup>c</sup> Ölçülen miktarlar, yüksek ve düşük seviyelerde (her biri n = 3) yaklaşık 50 mg dondurarak kurutulmuş aronya örneğine eklenmiştir.

#### 4.2.5. Viking ve Nero çeşitlerine ait fenolik bileşiklerin HPLC-DAD analizi

Geliştirilen ultrases destekli ekstraksiyon ve HPLC yöntemi kullanılarak Yalova lokasyonunda yetiştirilen ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinin fenolik bileşiklerinin miktar analizleri gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 4.5.** Viking ve Nero aronya çeşitlerine ait fenolik bileşiklerin HPLC-DAD metodu analiz sonuçları.

Pik No	Fenolik Bileşik	Konsantrasyon (mg/100 g taze ağırlık)	
		Viking	Nero
1	Neoklorojenik Asit	89,0 ± 1,5	91,3 ± 3,2
2	Klorojenik Asit	84,2 ± 3,3	87,8 ± 3,5
3	Siyanidin 3- <i>O</i> - galaktozit	305,1 ± 15,1	292,3 ± 18,0
4	Siyanidin 3- <i>O</i> - glikozit	18,1 ± 0,9	18,2 ± 1,1
5	Siyanidin 3- <i>O</i> - arabinozit	91,8 ± 4,4	90,7 ± 5,8
6	Kuersetin 3- <i>O</i> - visinozit	5,5 ± 0,5	5,4 ± 0,6
7	Siyanidin 3- <i>O</i> - ksilozit	22,5 ± 1,2	24,0 ± 1,6
8	Kuersetin 3- <i>O</i> - galaktozit	11,1 ± 1,0 <sup>b</sup>	14,2 ± 0,8 <sup>a</sup>
9	Kuersetin 3- <i>O</i> - robinobiozit	5,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,3 <sup>b</sup>
10	Kuersetin 3- <i>O</i> - glikozit	8,5 ± 0,9	8,0 ± 0,4
11	Kuersetin 3- <i>O</i> - rutinozit	6,1 ± 0,9	5,4 ± 0,3
Toplam antosiyanin		437,6 ± 21,5 (%67,6)*	425,3 ± 26,3 (%66,3)*
Toplam hidroksisinnamik asit		173,2 ± 4,3 (%26,8)*	179,1 ± 6,3 (%27,9)*
Toplam flavonol		36,7 ± 3,7 (%5,7)*	37,4 ± 2,3 (%5,8)*
Toplam fenolikler		647,5 ± 27,89	641,7 ± 34,48

<sup>a,b</sup> İki çeşit arasındaki istatistiksel açıdan önemli bulunan farklılıklar ( $p < 0,05$ )

\*Fenolik gruplarının toplam fenolik bileşikler arasındaki oranı

Çeşitlerin toplam fenolik bileşik içerikleri taze ağırlık üzerinden sırasıyla; 641,7 ve 647,5 mg/100 g aralığında belirlenmiş olup, her iki çeşitte de toplam fenolik bileşiklerin yaklaşık %67'sini antosiyaninler, %27'sini hidrokisinsamik asitler ve %6'sını flavonollerin oluşturduğu saptanmıştır. Yine her iki çeşitte de antosiyaninler grubunda yeralan siyanidin 3-*O*-galaktozit fenolünün baskın fenolik bileşik olduğu tespit edilmiştir. Çeşitlerin fenolik bileşiklerinin konsantrasyonları ayrı ayrı değerlendirildiğinde, kuersetin 3-*O*-galaktozit ve kuersetin 3-*O*-rabinobiozit içerikleri arasındaki farklılıklar önemli bulunurken ( $p < 0,05$ ) geri kalan dokuz bileşiğin içerikleri arasındaki farklılıklar önemsiz bulunmuştur ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.5).

Bulgularımız ile daha önce bildirilen veriler (Jakobek ve ark, 2012; Taheri ve ark, 2013; Wilkes ve ark, 2014; Rodríguez-Werner ve ark, 2019) karşılaştırıldığında; benzer sonuçların yanı sıra farklı sonuçlar da görülmüştür. Jakobek ve ark. (2012) Hırvatistan'ta iki yıl üst üste gerçekleştirdikleri analizlerde Viking ve Nero aronya çeşitlerinin arasında önemli farklılıkların olduğunu özellikle antosiyanin içeriklerinin bu farklılıkları önemli bir şekilde etkilediğini bildirmişlerdir. Çeşitler arasında olduğu gibi yıllar arasındaki farklılıklarında önemli olduğunu, fenolik bileşik konsantrasyonu ilk yıl Viking çeşidine (556,38 mg/100g) göre Nero (693,05 mg/100g) çeşidinde daha yüksek iken ikinci yıl Nero çeşidine (416,79 mg/100g) göre Viking çeşidinde (647,0 mg/100g) daha yüksek tespit etmişler. Çalışmalarında özellikle çeşitlerdeki antosiyaninlerin birikiminin çevresel koşullardan etkilenebileceğini rapor etmişlerdir. Ochman ve ark. (2012) ise yaptıkları çalışmada Viking (819,2 mg/100g) ve Nero (870,3 mg/100g) aronya çeşitlerinin fenolik bileşiklerinin konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak bir fark belirlemediklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da hem spektrofotometrik hem de kromatografik analizlerde fenolik bileşik konsantrasyonları bakımından çeşitler arasında önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Söz konusu çalışmada, Viking ve Nero çeşitlerinin antosiyanin miktarları sırasıyla 582,1 ve 611,2 mg/100g fenolik asit içerikleri ise sırasıyla 213,8 ve 237 mg/100 g olarak bildirilmiş olup bizim bulgularımızdan daha yüksek olduğu görülmüştür.

Ochman ve ark. (2009)'nın başka bir çalışmalarında küçük siyah meyveler arasında en yüksek fenolik bileşik miktarının aronya (672,4 mg/100g) meyvesinde olduğu daha sonra yaban mersini (639,7 mg/100g) ve mürver meyvelerinin (513,6 mg/100g) onu izlediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada en düşük fenolik bileşik içeriğinin haskap (204,9

mg/100g) ve böğürtlen (137,8 mg/100g) meyvelerinde bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca çalışmada, aronya meyvesinin (529,3 mg/100g) antosiyanin içeriğinin mavi yemiş çeşitleri (162,2–271,6 mg/100g), mürver (465,1 mg/100g), haskap (162,2 mg/100g) ve böğürtlenden (129,4 mg/100g) çok daha yüksek; yaban mersininden (619,6 mg/100g) düşük olduğu bildirilmiştir. Neveu ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, aronya meyvesinin antosiyanin içeriğini böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) (172,59 mg/100 g) ve kırmızı ahududu (*Rubus idaeus* L.) (72,5 mg/100 g) gibi meyvelerden daha yüksek, kara mürverden (*Sambucus nigra* L.) (1316 mg/100 g) ise daha düşük bildirmişlerdir. Ancak Jakobek ve ark. (2007) aronyadaki antosiyanin içeriğinin (357,2 mg/100 g) kara mürverden (317,5 mg/100 g) daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Wu ve ark. (2004) çalışmalarında aronyada antosiyanin içeriğini 1480,0 mg/100 g kara mürverde ise daha düşük 1374,4 mg/100 g olarak bildirmiş olup aronya antosiyanin içeriğinin bizim çalışma bulgularımızdan yaklaşık 3,5 kat daha yüksek olduğu dikkat çekmiştir.

Ochmian ve ark. (2009)'nın çalışma sonuçları fenolik asit içerikleri bakımından incelendiğinde aronya meyvesinin (121, 9 mg/100g), mavi yemiş çeşitleri (25,1–76,7 mg/100g), yaban mersini (9,5 mg/100g), mürver (20,0 mg/100g) ve böğürtlenden (3,3 mg/100g) daha zengin bir kaynak olduğu görülmüştür. Flavonol içerikleri karşılaştırıldığında ise aronya meyvesinin (21,2 mg/100g) Putte ve Duke mavi yemiş çeşitleri (26,6–35,2 mg/100g) ve mürvere göre (28,5 mg/100g) daha az, yaban mersini (10,6 mg/100g) ve böğürtlene göre ise daha zengin olduğu belirlenmiştir. Çalışmadaki aronya meyvesinin hem fenolik asit hem de flavonol bileşikleri sonuçları bulgularımız ile karşılaştırıldığında sonuçlarımızdan daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmanın bu bölümünde (4.2 başlığında) Viking ve Nero aronya çeşitlerinin metanol/formik asit (95:5, v/v) solventi kullanılarak ultrases destekli ekstraksiyonu optimize edilmiştir. Daha sonra, aronyanın 11 fenolik bileşiğinin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için HPLC ve UHPLC cihazları kullanılarak metotlar geliştirilmiş ve bu metotlar valide edilmiştir. Aronya meyvesinde siyanidin glikozitleri en bol bulunan fenolik bileşenler olarak belirlenmiş, onları klorojenik asit ve kuersetin glikozitleri izlemiştir. Türkiye'de Yalova lokasyonunda yetiştirilen her iki çeşitte de literatürde daha önce bildirilen fenolik profiline benzer sonuçlar göstermiştir. Besinsel olarak diğer üzüksü meyvelerle karşılaştırıldığında aronya fenolik bileşikler (özellikle antosiyaninler) bakımından oldukça zengin bir kaynak olarak kabul edilebilir. Sonuç

olarak, geliştirilen ve doğrulanan ekstraksiyon ve (U)HPLC metotları gıda endüstrisinde, örneğin aronya ürünlerinin kalite kontrolü ve kimlik doğrulaması için uygulanabilir.

### **4.3. Berrak Aronya Suyu Üretimi**

Çalışmanın bu bölümünde aynı zamanda tezimizin ana hedeflerinden biri olan aronya meyvesinden bulanıklık düzeyi 5 NTU'nun altında berrak aronya suyu elde etmek için mayşe enzimasyon, durultma ve filtrasyon basamaklarının en uygun koşulları sağlanmıştır. Pek çok meyvede (aronya, siyah frenk üzümü, yaban mersini vb.), antosiyaninler dahil fenolik bileşiklerin çoğu meyvenin kabuğunda bulunur. Bu bileşiklerin işleme sırasında meyve suyuna geçmeleri büyük ölçüde meyve parçalanması (mayşe), ısıtma, enzim preparatları maserasyon ve meyve suyu presleme gibi proses parametrelerine bağlıdır (Borowska ve ark, 2009). Ayrıca aronya dahil tüm üzüksü meyvelerde fonksiyonel bir gıda üretimi için proses sırasında meyvenin biyoaktif bileşenlerinin korunması da oldukça önemlidir. Bunun yanı sıra gıda endüstrisi için meyve suyu randımanı (verimi) en önemli faktörlerden biri iken tüketiciler için satın alınan meyve suyunun en önemli kalite göstergeleri içeriğinin sağlığa uygunluğu ve duyuşal (renk, koku tat vb.) özellikleridir. Bu nedenle, üretim sürecinin teknolojik koşulları, bu iki koşulu aynı anda karşılayacak şekilde seçilmelidir (Kobus ve ark, 2019).

#### **4.3.1. Isıl işlem ve mayşe enzimasyonu**

Berrak aronya suyu üretimi için hasattan hemen sonra yıkanmış, ayıklanmış ve dondurulmuş aronya meyveleri çözdürülerek kullanılmış olup bazı çalışmalarda meyve suyu prosesinden önce ön işlem olarak kullanılan dondurma-çözme işleminin meyve suyu randımanını artırdığı belirlenmiştir (Kobus ve ark, 2019). Çözdürülmüş aronya meyveleri parçalanarak mayşe haline getirilmiş daha sonra mayşeye literatürde verilen (Borowska ve ark, 2009; Cemeroğlu, 2011) sıcaklık ve süre olan 85°C'de 3 dakika ısıl işlem uygulanmıştır. Meyve suyu prosesinde mayşeye ısıl işlem uygulaması aronya meyvesinde bulunan enzimleri inaktif hale getirmek, meyvede bulunan mikroorganizma yükünü azaltmak, meyve kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin (özellikle antosiyaninlerin) meyve suyuna geçişi sağlamak ve meyve suyu randımanını artırmak gibi amaçlarla gerçekleştirilmiştir.

Daha önce Kobus ve ark. (2019) tarafından bildirilmiş olan aronya meyvesinde az da olsa bulunan pektin ve pektin fraksiyonlarını (%0,63–0,75) parçalamak amacıyla mayşeye enzim uygulanmıştır. Ayrıca, yine mayşenin presleme yeteneğini kolaylaştırmak, meyve suyu randımanı yükseltmek ve renkli pigmentlerin meyve suyuna geçişini artırmak için mayşe enzimasyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla mayşe süratle 50°C'ye kadar soğutulmuş ve enzimasyon işlemi için 'Pectinex Ultra Color' enzimi 2 saat süre ile uygulanmıştır. Belirlenen enzim dozajlarının ve ısı işlem uygulamasının meyve suyu randımanı, bulanıklık ve pektin varlığına olan etkilerine ait sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir.

**Tablo 4.6.** Isıl işlem ve enzim uygulamalarının aronya suyu randımanı, bulanıklık ve pektin varlığı analiz sonuçları.

Uygulama	Randıman (%)	Bulanıklık (NTU)	Pektin Varlığı (Alkol testi)
Mayşe +pres	63,3±0,6 <sup>c</sup>	9,15±1,98	+
Mayşe+ ısı işlem+pres	71,3±1,8 <sup>b</sup>	855,30±53,46	+
Mayşe+ısı işlem+enzim (172*)+pres	75,6±0,9 <sup>a</sup>	54,78±7,65	-
Mayşe+ısı işlem+enzim (86*)+pres	75,4±0,6 <sup>a</sup>	57,12±11,48	-
Mayşe+ısı işlem+enzim (130*)+pres	75,2±1,1 <sup>a</sup>	65,12±9,36	-

Mayşeye hiçbir işlem uygulamadan preslenmiş meyve suyunun randımanı %63,3 olarak tespit edilmiş olup, mayşeye ısı işlem uygulanmasından sonra %11,3 oranında artan meyve suyu randımanı istatistiksel olarak önemli bir artış sağlamıştır. Bu durum literatürde mayşenin ısıtılmasıyla meyve suyu randımanının yaklaşık %10 oranında arttığı ve siyah üzüm, vişne, çilek gibi koyu renkli meyvelerde daha yoğun renkli ürün elde edildiği şeklinde ifade edilmiştir (Cemeroğlu, 2011). Mayşeye 86, 130 ve 172 µL/kg miktarlarında enzim uygulamalarından sonra ise meyve suyu randımanı ısı işlem uygulamasına göre sırasıyla %5,39; 5,14 ve 5,60 oranlarında arttığı belirlenmiştir. Meyve suyu randımanı bakımından ısı işlem ve enzim uygulamaları arasındaki farklılığın önemli olduğu ( $p<0,01$ ) fakat mayşeye uygulanan enzim dozajları arasında önemli bir farklılık ortaya çıkmamıştır (Tablo 4.6). Borowska ve ark. (2009) aronya suyu prosesinde mayşeye uygulanan ısı işlem (85°C'de 5 dak.) ve farklı enzimlerin (Pectinex BE Colour, Pectinex BE XXL ve Gammapect LC Color) aronya suyu randımanlarını %63,3–73,9 olarak bildirmişlerdir. En yüksek meyve suyu

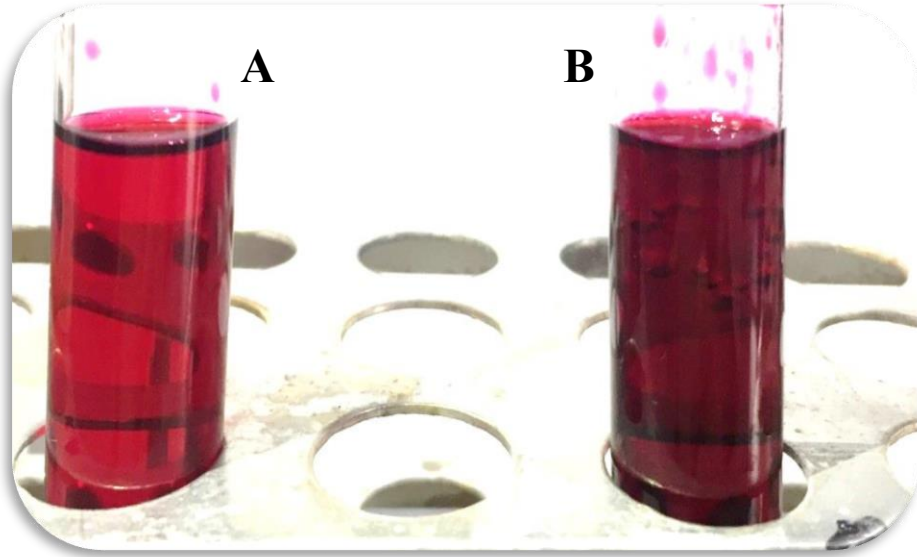
randımanlarının ısıtma işlem ve enzim kombinasyonlarına ait olduğunu bunun yanı sıra farklı enzimlerin kullanılmasının meyve suyu randımanına etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmanın sonuçlarımız ile oldukça benzer olduğu ısıtma işlem ve enzim uygulamalarının benzer etkiler meydana getirdiği görülmüştür. Yine aronya suyu prosesinde ısıtma işlem ve enzim uygulamalarının incelendiği bir araştırmada en yüksek meyve suyu randımanlarının (%79,1–81,3) her iki işlemin beraber uygulandığı örneklerde, en düşük ise ısıtma işlem uygulanmayan örneklerde belirlendiği rapor edilmiştir. Ayrıca çalışmada ön işlem olarak dondurma ve çözme işleminin meyve suyu randımanında artış sağladığı belirtilmiştir (Vagiri ve Jensen, 2017). Kobus ve ark. (2019) aronya suyu prosesinde çift cidarlı pres kullanımının piston pres kullanılarak elde edilen meyve suyu miktarından %80 daha fazla olduğu bildirilmiştir. Piston pres kullanılan örneklerde, enzim uygulamaları için meyvelerin mayşe haline getirilmesi bütün meyvelere göre meyve suyu randımanını 1,3 kat artırmış olduğu, dondurma-çözme ön işleminin ön işlemsiz örneklere göre %34,1 oranında önemli ( $p<0,05$ ) bir artış sağlarken çift cidarlı presteki artışın önemsiz olduğu belirtilmiştir. Bizim ve daha önceki araştırmacıların bulgularına göre meyve suyu randımanı açısından ısıtma işlem ve enzim uygulamasının oldukça önemli artışlar sağladığı görülmüştür. Wang ve ark. (2009) böğürtlen suyu prosesinde enzimatik maserasyon için 8 farklı pektolitik enzim preparatı kullandıkları bir çalışmada, tüm enzimlerin kontrol (enzim uygulanmayan) örneklere göre meyve suyu randımanını önemli ( $p<0,05$ ) ölçüde artırdığını ancak farklı enzimler arasında önemli farklılığın bulunmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda mayşeye hiçbir işlem uygulamadan preslendiğinde bulanıklık 9,15 NTU düzeyindeyken ısıtma işlem uygulandığında 855,3 NTU düzeylerine kadar yükseldiği belirlenmiştir (Tablo 4.6). Mayşeye uygulanan ısıtma işleminin aronya meyvesinde kabuk ve doku yapısının bozulmasına neden olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, Siebert ve ark. (1996) yaptıkları bir çalışmada, sıcaklık ile bulanıklığın artmasını, protein yapısının kırılması ve böylece protein-polifenol bulanıklığında rol oynayan ve protein iç kısmında yer alan hidrofobik bağların açığa çıkması ve polifenollerin bağlanabileceği bölgelerin meydana gelmesi ile açıklamışlardır (Yemiş ve Arslantürk, 2016). Daha sonraki ısıtma işleminden sonra enzim uygulanan örneklerde bulanıklık düzeylerinin 54,78–65,12 NTU'lara kadar düştüğü belirlenmiştir. Bu azalmanın ise ısıtma işlem sonucu meyve suyunda yüksek viskoziteye



sebepler olan pektin ve fraksiyonlarının enzim yoluyla parçalanması (Kobus ve ark, 2019) ve pulpsu (jelimsi) yapının sıvılaşması olarak düşünülmektedir. Mayşeye uygun dozaj ve sıcaklıkta uygulanan enzim sayesinde meyvenin yapısında bulunan suyun tutulmasına sebep olan pektin parçalanmakta ve meyve suyu mayşeden kolayca kurtulmaktadır (Cemeroğlu 2011).

Tablo 4.6'ya göre tüm enzim uygulamalarından sonra elde edilen meyve sularında yapılan alkol testlerinde pektin varlığı tespit edilmemiştir. Meyve suyu endüstrisinde enzim kullanım miktarı meyve suyu üretim maliyetini direkt olarak etkilemektedir. En düşük doz enzim uygulaması kendisinden 2 kat fazla olan yüksek doz enzim uygulaması ile aynı sonucu vermiş olup, yüksek doz enzim kullanımı enzim maliyetini 2 kat artıracaktır. Bu sebeple pektin varlığı negatif olan Mayşe+ısıtılmış işlem+enzim (86  $\mu\text{L}/\text{kg}=0,086 \text{ mL}/\text{kg}$  )+pres uygulaması bundan sonraki meyve suyu üretimlerimizde kullanılmak üzere seçilmiştir. Daha önce bahsedildiği gibi aronya meyvesinde pektinin oldukça düşük olduğu bildirmiş (Kobus ve ark, 2019), bu sebeple en düşük doz enzim uygulaması bile meyvedeki az miktarda bulunan pektini parçalamaya yeterli olmuştur. Şekil 4.4'te alkol testi analizine ait bir görsel olup B numunesinde gözlemlenen koloidal şekilde oluşan baloncuk, kabarcıklar ve jelimsi yapı pektin varlığını göstermektedir.



**Şekil 4.4.** Alkol testi sonuçları (A; enzim uygulanmış, B; enzim uygulanmamış meyve suyu örnekleri).

Wilkes ve ark. (2014) dondurulmuş Viking çeşidi aronya meyvelerini meyve suyuna işlerken mayşeye 95°C’de 3 dakika ısı işlem uygulanmış ve daha sonra 40°C’de 1 saat 0,0827 mL/kg dozajında Pectinex Smash XXL (Novozyme, Bagsvared, Danimarka) uygulanmıştır. Depektinizasyon işleminin kontrolü hiçbir pektin topaklaşmasının gözlemlenmediği negatif alkol çökeltme testi ile doğrulanmıştır. Çalışmada kullanılan enzim miktarının bizim çalışma sonuçlarımızda belirlediğimiz dozaja çok yakın olduğu görülmüştür.

#### **4.3.2. Ham aronya sularının durultulması**

Aronyanın meyve suyu prosesinde presten diğer meyve sularında da olduğu gibi bulanık bir ürün elde edilmektedir. Berrak bir meyve suyu elde etmek için bulanıklığa sebep olan bileşiklerin meyve suyu ortamından uzaklaştırılması işlemine “durultma” adı verilmektedir. Bu işlem meyve suyu prosesinde “depektinizasyon + berraklaştırma + filtrasyon” olarak tanımlanan üç aşamalı bir seri işlem ile gerçekleştirilmektedir (Koç, 2013). Mayşe enzimasyon bölümünde depektinizasyon basamağı gerçekleştirilmiş olup elde edilen meyve sularında pektin varlığı negatif olduğu için meyve suyunda depektinizasyon uygulamasına gerek görülmemiştir. Berraklaştırma basamağının optimizasyonu ise sadece jelatinle gerçekleştirilen ‘soğuk durultma’ ve endüstride en çok kullanılan bentonit, jelatin ve kizelsol yardımcı maddelerinin kombinasyonlarıyla gerçekleştirilen ‘sıcak durultma’ olarak 2 kısımda ele alınmıştır.

Soğuk durultma denemelerinde; % 0,5’lik jelatin kullanarak 100 mL aronya sularına farklı dozajlarda (5, 10, 15, 20, 25 mg) eklenmiş ve +4 °C’de 1 gece (16 saat) bekletildikten sonra meyve suları kaba filtre kağıdından geçirilerek türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyleri belirlenmiştir. Jelatin konsantrasyonları 0,2 g/L olan örneğinde istenilen bulanıklık (< 5 NTU) düzeyine ulaşılmış fakat jelatin testinden sonra bulanıklık düzeyinin yüksek çıkması hala uzaklaştırılabilecek fenolik madde olduğu göstermiştir. Bu sebeple aronya artan oranda jelatin konsantrasyonu eklenmiş fakat jelatin testi sonucu bulanıklık unsurlarının hala varlığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra meyve suyuna eklenen jelatinin varlığı belirlediğimiz kizelsol test sonuçları ve sıcaklık dalgalanmalarına karşı uygulanan sıcak-soğuk test sonuçlarında bulanıklık düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7.** Jelatin uygulanmış aronya suları (100 mL) deneme ve durultma test sonuçları.

Uygulama No	Jelatin Konsantrasyonu (g/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)			
		1 gece sonra	Jelatin testi sonrası	Kizelsol testi sonrası	Sıcak soğuk testi sonrası
1	0,05	11,8	35,5	2,9	42,6
2	0,10	9,2	26,4	1,2	37,1
3	0,15	6,6	26,7	1,2	24,2
4	0,20	3,4	35,3	1,4	29,5
5	0,25	2,7	29,5	2,1	27,8

Bu bulgular ışığında soğuk durultmanın fenolik bileşikler bakımından zengin olan aronya sularının berraklık stabilitesi için yeterli (uygun) olmadığı belirlenmiştir. Turfan (2008), Güzel (2010), Koç (2013) ve Yalmancı (2019) tarafından yapılan çalışmalarda soğuk durultmanın nar suları için yeterli olduğu bildirilmiştir. Koç (2013) nar sularında farklı durultma yardımcı maddeleri (jelatin kitosan, kazein, albümin ve ksantan gam) ekleyerek durultma işlemi uygulamış ve soğuk durultma (4°C’de 16 saat) uygulamalarında en düşük bulanıklık düzeyini (6,04 NTU) jelatinle (0,375 g/L) durultulan örneklerde elde ettiğini bildirmiştir.

Çalışmamızda ise gerçekleştirilen soğuk durultma ile istenilen berraklığa ulaşılmakta fakat daha sonra meyve sularının stabilizasyonun sağlanamadığı özellikle pastörizasyon basamağında bulanıklığın tekrarlayacağı sıcak-soğuk testi ile belirlenmiştir. Daha önce de ifade edildiği gibi meyve suyu sektöründe soğuk durultma işlemi artık yerini durultma yardımcı maddelerinin birlikte kullanıldığı ‘sıcak durultma’ işlemine bırakmıştır. Sıcak durultmada meyve sularına 45–50°C’lerde depektinizasyon işlemi uygulandıktan hemen sonra bentonit, jelatin ve kizelsol çözeltileri eklenmektedir. Jelatin başka bir durultma yardımcı maddesi olmaksızın 40°C’nin üzerinde meyve suyu kolloidleriyle floklaşamamakta, bu yüzden sıcak durultmada jelatin ilavesinden sonra mutlaka kizelsol eklenmelidir. Her iki çözelti arka arkaya eklenebilir, önemli nokta her bir çözelti eklendikten sonra meyve suyu iyice karıştırılmalı ve çözeltiler her tarafa homojen dağılmalıdır. Uygulanacak kizelsol miktarı jelatin dozajına bağlı olup, ön denemelerle belirlendiği gibi kabaca jelatinin 5–

10 katı (% 15'likten) veya 3–5 katı (% 30'luktan) olarak kullanılabilir (Cemeroğlu, 2011).

Sıcak durultma (50°C'de) için üretici firma tarafından tavsiye edilen miktarlarda belirlenen ve Tablo 4.8'de verilen durultma yardımcı maddelerinin kombinasyon uygulamaları ve dozajlarına ait bulanıklık düzeyleri 59,4–7,65 NTU arasında ölçülmüştür. Uygulamaların hiçbirinde istenilen berraklığa (< 5 NTU) ulaşılamamış ve bu sebeple kombinasyon örneklerine jelatin, kizelsol ve sıcak-soğuk testleri yapılmamıştır. Çalışmamızda durultma uygulanan ve bir süre bekleyen örneklerde tekrar çökelmelerin olduğu gözlemlenmiştir. Bu sebeple durultma yardımcı maddelerinin miktarlarının daha fazla artırılmasına gerek olmadığı bunun yerine filtrasyon basamağının optimize edilmesi gerektiği öngörülmüştür. Lachowicz ve ark. (2018) aronya suyunu farklı durultma yardımcı maddeleri (kitosan, ksantan zamkı, karboksimetilselüloz, agar agar, keçiyoynuzu zamkı, β-siklodekstrin ve guar zamkı), farklı dozaj konsantrasyonları (0,1; 0,2; 0,5 ve 1g/L) ve farklı reaksiyon süreleri (1, 5 ve 16 saat) kullanarak 25°C'de durulttuklarını bildirmişlerdir. Çalışmada en düşük bulanıklık düzeyleri, durultma maddeleri arasında agar agar (6,1 NTU) ve karboksimetilselüloz (6,9 NTU), dozajlar arasında 0,2 g/L (11,1 NTU) ve 0,1 g/L (11,6 NTU) ve süreler arasında ise 16 saat (10,2 NTU) durultulmuş örneklerde belirlenmiştir. Ayrıca 1, 5 ve 16 saat doğal sedimentasyona bırakılan örneklerde bulanıklık düzeyleri 37,1; 30,8 ve 28,8 NTU olarak rapor edilmiştir.

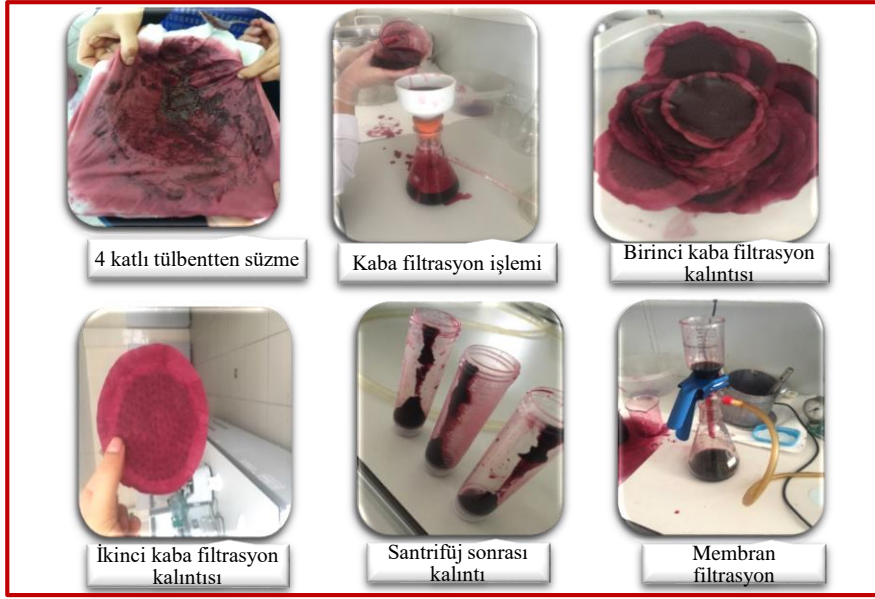
**Tablo 4.8.** Aronya sularına (100 mL) durultma yardımcı maddelerinin kombinasyon uygulamalarına ait bulanıklık test sonuçları.

Uygulama No	Bentonit (g/L)	Jelatin (g/L)	Becosol 30 (g/L)	Bulanıklık (NTU)
1	0,5	0,10	0,50	59,4
2	0,5	0,15	0,75	36,8
3	0,5	0,20	1,00	37,5
4	1,0	0,10	0,50	32,1
5	1,0	0,15	0,75	30,5
6	1,0	0,20	1,00	32,2
7	2,0	0,10	0,50	11,7
8	2,0	0,15	0,75	17,5
9	2,0	0,20	1,00	7,65

Gülcü (2008) siyah üzüm suyu üretim prosesinde farklı durultma yardımcı maddelerin etkisini incelemiş ve en yüksek berraklık düzeyine betonit+jelatin+kizelsol üçlü kombinasyonu ile ulaşıldığını bildirmiştir. Araştırma sonunda siyah üzüm sularında bu kombinasyonun doğal rengin korunması, fenolik bileşiklerin uzaklaştırılması ve duyusal özelliklerin kalitesi bakımından ön plana çıkan uygulama olduğu ifade edilmiştir. Erbay (2011) ise karadut suyu prosesinde sıcak durultma yöntemini kullandığı ve farklı doz denemeleriyle durultma işlemini gerçekleştirdiğini bildirmiştir. Karadut suyuna önce pektolitik (6,0 mL/L) ve amilolitik (2,4 mL/L) enzimlerle 50°C'de 2 saat depektinizasyon uygulaması yapıldığı belirtilmiştir. Daha sonra aynı sıcaklıkta bentonit (0,6 g/L), jelatin (0,02g/L) ve kizelsol (0,39g/L) yardımcı maddeleri eklemiş, filtre edilmiş ve 4,9 NTU berraklığa ulaşıldığı rapor edilmiştir.

#### **4.3.3. Aronya sularının filtrasyonu**

Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı aronya sularında kaba filtrasyonun yeterli olmadığı, özellikle meyve suyu endüstrisinde ileri teknoloji filtrasyon (membran filtrasyon) yöntemlerinin kullanıldığı bilinmektedir. Proje hedeflerimizden biri olan meyve suyu endüstrisine meyve suyu basamaklarına ait en uygun parametreleri belirleyerek veri sağlamaktır. Bunun için koşullarımız endüstride kullanılan ekipman ve materyallere göre uyarlanmıştır. Bu nedenle Tablo 4.8'de 7,65 NTU olarak en düşük bulanıklık düzeyinin belirlendiği 9 numaralı uygulama (2,0 g/L bentonit, 0,2 g/L ve 1,0 g/L Becosol 30) örneği 2 kez Büchner hunisi yardımıyla kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Daha sonra santrifüj (10000 rpm'de 6 dak.) edilerek 0,45 µm membran filtreden geçirilen aronya sularının bulanıklık düzeyi 1,09 NTU olarak ölçülmüştür. Aronya suyunun filtrasyon basamaklarına ait görseller Şekil 4.5'te verilmiştir. Her 3 basamakta da optimizasyon işlemleri gerçekleştirildikten sonra Viking ve Nero çeşidine ait meyveler istenilen berraklıkta aronya sularına işlenmiş ve Tablo 4.9'da üretilen aronya sularına ait bazı özellikler verilmiştir.



**Şekil 4.5.** Aronya suyu filtrasyon basamakları.

Tolić ve ark. (2015) 11 çeşit aronya suyunun pH değerlerini 3,54–3,92 arasında, °Briks düzeylerinin ise 13,30–20,99 arasında belirlediklerini rapor etmişlerdir. Aynı çalışma grubu farklı yıllarda yetiştirilen meyvelerden elde edilen meyve sularının pH değerlerini 3,77–3,96 arasında ve °Briks düzeylerini 18,15–25,61 arasında olarak bildirmişlerdir (Tolić ve ark, 2017). Elde ettiğimiz aronya sularının bulgularımız literatür verilerinin arasında yer aldığı görülmüştür (Tablo 4.9).

**Tablo 4.9.** Viking ve Nero aronya sularına ait bazı analitik özellikler.

	Viking	Nero
°Briks	20,8	20,0
pH	3,83	3,70
Bulanıklık	1,52	1,95

#### 4.4. Aronya Fenolik Bileşiklerinin Meyve Suyu Prosesi Sırasındaki Değişimi

Çalışmamızda, Viking aronya suyu prosesinin ilk basamağı olan mayşe (M) örneğinde siyanidin 3–galaktozit antosiyanin fenolik bileşiği 309,45 mg/100g olarak belirlenmiştir. Daha sonra ısıtılmış işlem uygulanmış mayşe (IUM) örneğinde aynı bileşiğin %15,17; enzim uygulanmış mayşe (EUM) örneğinde %23,39; prenslenmiş meyve suyu (PMS) örneğinde %59,70 ve berrak meyve suyu (BMS) örneğinde ise başlangıç miktarına göre %73,20 oranında azaldığı bulunmuştur. Meyve suyu prosesi sonunda siyanidin 3–glukozit, siyanidin 3–arabinozit ve siyanidin 3–ksilozit antosiyanin

bileşiklerinde ise sırasıyla %73,59; 80,87 ve 72,07 oranlarında azalma olduğu hesaplanmıştır (Tablo 4.10). Siyanidin grubu antosiyanin fenolik bileşiklerinin Nero aronya suyu örneklerinde ise proses sonunda azalma oranları sırasıyla %72,53; %71,88; %81,95 ve %72,95 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.11). Her iki meyve suyu örneklerinde en yüksek azalma oranlarının presleme işleminden sonra olduğu görülmüştür. Presten sonraki azalmanın antosiyaninler dahil tüm aronya fenolik bileşiklerinin bir kısmının posada (preskek) kalmasından kaynaklandığı ile açıklanabilir (Hager ve ark, 2008a ve b; Wilkes ve ark, 2014). Wilkes ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmamıza benzer bir araştırmada; donmuş aronya örneğinde siyanidin 3-galaktozid bileşiğinin miktarı 424,7 mg/100g olarak belirlenmiştir. Isıl işlem uygulanan örnekte 205,5 mg/100g (%51,2 azalma), enzim uygulanmış örnekte 190,7 mg/100g (%55,1 azalma), pastörize edilmemiş meyve suyunda 77,1 mg/100g (81,85 azalma) ve pastörize edilmiş meyve suyu örneklerinde ise 32,4 mg/100g (%92,4 azalma) olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada donmuş aronya örneğinin toplam antosiyanin miktarı 619,2 iken pastörize edilmiş meyve suyu örneklerinde 42,0 mg/100g olarak tespit edilmiş ve proses sonunda toplam antosiyanin miktarının %93 oranında azaldığı belirtilmiştir. Çalışmada toplam antosiyaninlerin % 22'si presmekte kalmış olup geri kalan antosiyaninlerin meyve suyu prosesinin ısıtma, enzim, presleme ve pastörize aşamalarında parçalandığı ifade edilmiştir. Böğürtlen suyu prosesinde dondurulmuş örneklerin toplam monomerik antosiyanin miktarı 248 mg/100g iken ısıtma işlem uygulanan örneklerde 163 mg/100g (%34 azalma) ve ham meyve suyunda 129 mg/100g olarak belirlenmiştir. Proses sonunda durultulmuş meyve suyunda ise 106 mg/100g olarak bulunan antosiyaninlerin başlangıca göre %57'lik bir kayba uğradığı bildirilmiştir (Hager ve ark, 2008a). Aynı çalışma grubu siyah ahududu suyu prosesinde ise taze meyvelerde 1113,1 mg/100g olarak tespit ettikleri antosiyaninlerin ham meyve suyunda başlangıca göre %38,2 oranında bulunduğunu, %16,4'ünün posada kaldığını diğer %45,4'lük kaybın ise maserasyon, ısıtma işlem, depektinizasyon ve durultma (%7,4) uygulamalarında degradasyona uğradığı bildirilmiştir (Hager ve ark, 2008b). Toplam antosiyaninlerin farklı meyve suyu prosesleri sonunda azalma oranları; Lee ve ark. (2002) tarafından yaban mersini (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Rubel) suyunda %77,2 ve Brownmiller ve ark. (2008) tarafından %58,9 ve Gülcü ve Dağlıoğlu (2018) tarafından ise üzüm suyunda %50 olarak bildirilmiştir.

**Tablo 4.10.** Viking aronya meyvesindeki fenolik bileşik miktarlarının (mg/100 g) aronya suyu prosesi sırasındaki değişimi.

Fenolik bileşik	M	IUM	EUM	PMS(HMS)	BMS	Toplam azalma (%)
Siyanidin 3- <i>O</i> -galaktozit	309,45±9,38	262,52±5,07	237,07±7,32	124,68±4,15	82,92±7,3	73,20
Siyanidin 3- <i>O</i> -glukozit	23,44±2,10	16,18±1,13	14,55±1,98	10,37±0,20	6,19±1,32	73,59
Siyanidin 3- <i>O</i> -arabinozit	114,16±3,74	95,57±4,81	93,35±3,77	43,18±1,78	21,84±2,2	80,87
Siyanidin 3- <i>O</i> -ksilozit	24,06±1,39	18,89±1,10	16,07±1,18	11,04±1,13	6,72±0,74	72,07
Neoklorojenik Asit	57,86±2,54	58,64±4,34*	57,31±3,67	38,36±3,36	29,44±3,25	49,12
Klorojenik Asit	92,17±7,43	92,49±3,47*	91,47±4,88	60,93±5,08	31,69±3,67	65,62
Kuersetin 3- <i>O</i> -visinozit	4,03±0,24	4,17±0,14*	3,61±0,23	2,81±0,26	2,64±0,24	34,49
Kuersetin 3- <i>O</i> -galaktozit	11,97±0,75	11,05±1,81	9,84±1,14	5,90±0,48	4,14±0,56	65,41
Kuersetin 3- <i>O</i> -rutinozit	4,09±0,28	4,25±0,23*	3,73±0,20	3,46±0,67	2,96±0,33	27,63
Kuersetin 3- <i>O</i> -robinonizit	7,57±0,59	6,88±0,48	6,72±0,86	4,24±0,33	2,61±0,87	65,52
Kuersetin 3- <i>O</i> -glukozit	6,12±0,33	5,75±0,55	5,09±0,73	2,53±0,18	2,73±0,52	55,39
Toplam Antosiyanin	471,11±11,06	393,16±14,95 (%16,54)	361,04±13,25 (%23,36)	189,28±14,3 (%59,82)	117,68±9,09	75,02
Toplam Hidroksisinnamik Asit	150,03±6,23	151,13±7,15 +(%0,73)	148,78±9,11 (%0,83)	95,77±7,64 (%36,16)	61,13±3,35	59,25
Toplam Flavonol	33,77±1,11	32,11±4,39 (%4,92)	28,99±1,06 (%14,15)	19,94±1,95 (%40,95)	15,08±2,75	55,34
Toplam Fenolikler	654,91±19,38	576,4±15,87 (%11,03)	538,87±26,63 (%17,58)	304,98±22,74 (%52,66)	193,89±11,68	69,90

M: Mayşe, IUM: Isıl işlem uygulanmış mayşe, EUM: Enzim uygulanmış mayşe, PMS: Prenslenmiş meyve suyu, BMS: Berrak meyve suyu



**Tablo 4.11.** Nero aronya meyvesindeki fenolik bileşik miktarlarının (mg/100 g) aronya suyu prosesi sırasındaki değişimi.

Fenolik bileşik	M	IUM	EUM	PMS(HMS)	BMS	Toplam azalma (%)
Siyanidin 3-O- galaktozit	295,74±16,23	260,15±12,47	226,25±11,63	118,26±7,35	81,25±2,79	72,53
Siyanidin 3-O-glikozit	22,05±2,15	18,49±1,13	17,54±2,15	9,84±1,41	6,20±1,55	71,88
Siyanidin 3-O-arabinozit	108,97±4,36	90,53±4,27	88,86±5,43	38,32±4,87	19,67±1,83	81,95
Siyanidin 3-O-ksilozit	24,32±3,23	17,91±1,22	16,16±2,10	10,66±1,35	6,58±0,57	72,94
Neoklorojenik Asit	56,45±5,87	55,91±3,37	53,21±2,62	37,82±4,44	25,01±1,88	55,70
Klorojenik Asit	83,45±6,22	84,58±7,46*	82,81±7,67	57,94±3,86	32,47±1,06	61,09
Kuersetin 3-O- visinozit	4,29±0,24	4,00±0,87	3,45±0,45	2,52±0,24	2,32±0,20	45,92
Kuersetin 3-O- galaktozit	12,23±1,14	11,09±1,20	10,33±1,13	5,49±0,68	4,06±0,23	66,80
Kuersetin 3-O-rutinozit	4,22±0,18	4,03±0,64	4,46±0,22	4,22±0,56	3,82±0,57	9,48
Kuersetin 3-O- robinonizit	7,91±0,23	6,62±0,18	6,50±0,34	4,13±0,18	2,81±0,19	64,48
Kuersetin 3-O-glucoside	5,76±0,21	5,37±0,57	4,76±0,31	2,45±0,27	2,82±0,23	51,04
Toplam Antosiyanin	451,09±14,06	387,08±13,58	348,82±23,77	177,08±12,48	113,70±5,23	74,79
		%14,19	%22,67	%60,74		
Toplam Hidroksisinnamik Asit	139,90±12,39	140,99±14,47*	136,02±13,16	95,77±8,05	57,49±4,87	58,77
		+(%0,78)*	(%2,77)	%31,32		
Toplam Flavonol	34,39±4,29	31,11±3,12	29,51±3,28	18,82±3,34	15,83±2,22	53,94
		%9,54	%14,19	%45,28		
Toplam Fenolikler	624,93±33,45	559,18±15,38	514,36±19,47	291,67±15,23	187,02±12,36	70,07
		%10,52	%17,69	%53,33		

M: Mayşe, IUM: Isıl işlem uygulanmış mayşe, EUM: Enzim uygulanmış mayşe, PMS: Prenslenmiş meyve suyu, BMS: Berrak meyve suyu

Farklı durultma yardımcı maddeleri kullanılarak durultma işlemi uygulamalarında en yüksek antosiyanin içeriği (4,81g/L) agar agar kullanılarak elde edilen aronya sularında belirlenmiştir. En düşük antosiyanin içeriği (1,87 g/L) ise guar gum kullanılan örneklerde tespit edilmiş ve bu örneklerdeki antosiyanin kaybının %75,6 olduğu ifade edilmiştir (Lachowicz ve ark, 2018). Karadut suyunda yapılan bir çalışmada; durultma işleminin siyanidin 3–glukozit içeriğinde yaklaşık %18, siyanidin 3–rutinozit içeriğinde %25 ve pelargonidin–3–glukozit içeriğinde ise %27 oranlarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada; durultma işleminin toplam antosiyanin miktarında %14 oranında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Erbay, 2011).

Tablo 4.10 ve 4.11 incelendiğinde klorojenik ve neoklorojenik asit bileşiklerinin ısı işlem ve enzim uygulamalarından negatif olarak etkilenmediği görülmektedir. Çalışmamızda Viking çeşidi prosesinde ısı işlem uygulanmış mayşe (IUM) örneklerinde hem neoklorojenik hem de klorojenik asit miktarlarında, Nero çeşidinde ise sadece klorojenik asit bileşiğinde bir miktar artış olduğu görülmüştür. Benzer bir durum Wilkes ve ark. (2014) tarafından aronya suyu prosesinde yapılan bir çalışmada da bildirilmiş olup, donmuş örneklerde 46,2 ve 70,2 mg/100 g olarak belirlenen neoklorojenik ve klorojenik asitler ısı işlem uygulamasından sonra sırasıyla 46,8 ve 80,2 mg/100 g olarak rapor edilmiştir. Çalışmada bunun sebebi donmuş örneklerden bu bileşiklerin tamamen ekstrakte edilemediği şeklinde açıklanmıştır. Bizim çalışmamızda aynı nedenden dolayı sonuçların benzer çıktığı donmuş ve çözünmüş mayşe örneklerinden özellikle kabuk kısımlarından her iki bileşiğin tamamen ekstrakte edilemediği, ancak ısı işlemle kabuktaki hücre yapılarının bozulması ile bileşiklerin ekstraktının daha kolay gerçekleştiği düşünülmektedir. Aronya suyu prosesinde toplam hidroksisinnamik asitler hem presleme (PMS) hem de durultma işlemleri sırasında (BMS) Viking aronya suyunda sırasıyla %36,16 ve %59,25; Nero aronya suyunda ise %31,32 ve %58,77 kayıba uğradığı tespit edilmiştir (Tablo 4.10 ve 4.11). Preslenmiş meyve suyundaki azalmanın nedeni yukarıda da bahsedildiği gibi bu bileşiklerin bir kısmının posada kalması olarak görülmektedir (Wilkes ve ark, 2014). Berrak meyve sularında ise kayıpların sebebi en önemli bulanıklık unsurlarından biri olan fenolik bileşiklerin durultma yardımcı maddelerinin yardımıyla çöktürme ve filtre edilmeleridir (Cemeroğlu, 2011). Wilkes ve ark. (2014) çalışmalarında toplam fenolik

asitlerin preslemeden sonra meyve suyunda %43 oranında pastörize işleminden sonra ise %47 oranında azaldığı bildirilmişlerdir.

Lee ve ark. (2002) tarafından yaban mersininde dominant sinnamik asitin klorojenik asit olduğu ve sinnamik asitlerin meyve suyu proses başlangıcındaki miktara göre prosesin son ürünü olan pastörize edilmiş yaban mersini suyunda %65,71 oranında azaldığı rapor edilmiştir. Lachowicz ve ark. (2018) farklı durultma ajanlarının aronya suyunun durultulması sırasında fenolik asitlerin miktarı bakımından en yüksek (%59,2) azalmayı antosiyanin grubundaki gibi guar gum ile durultulmuş aronya suyu örneklerinde belirlendiği bildirilmiştir.

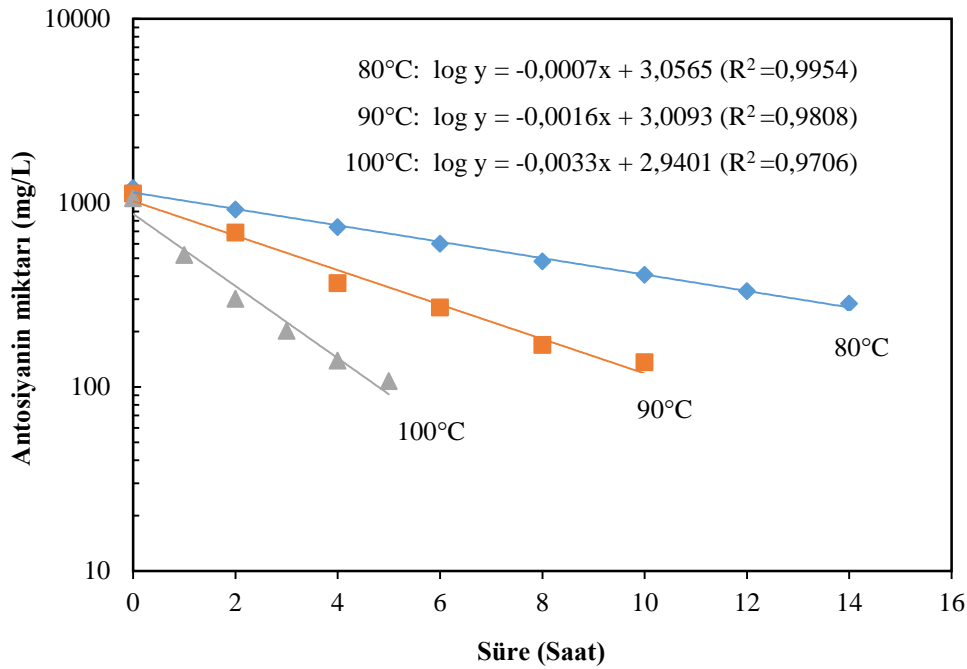
Çalışmamızda aronyanın diğer önemli bileşiklerinden olan kuersetin grubu toplam flavonollerin ise hidroksisinnamik asitlerde olduğu gibi ısı işleminden olumsuz etkilenmediği görülmüştür. Yine benzer şekilde toplam flavonoller içeriği bakımından meyve suyu prosesinde en yüksek kayıplar PMS ve BMS örneklerinden elde edilmiş ve proses sonunda Viking aronya suyunda %55,34 ve Nero aronya suyunda %53,94 oranlarında azalmalar saptanmıştır (Tablo 4.10 ve 4.11). Wilkes ve ark. (2014) aronya suyu proses basamaklarında ısı işlem ve enzim uygulamalarının flavonol içeriğini etkilemediğini ancak presleme işleminin %39 ve pastörize işleminin ise %7 oranında flavonol içeriğini azalttığı proses sonunda flavonol kaybının %48 olduğunu bildirmişlerdir. Yaban mersini suyu prosesinde ise presleme işleminden sonra flavonol-glikozitlerinin %52,4 azaldığı pastörizasyon işleminden sonra bu oranın %53,7'ye yükseldiği belirlenmiştir (Lee ve ark, 2002).

Nar suyu prosesinde durultma işleminden sonra bütün meyvelerden elde edilen nar sularında %38 ve danelerden elde edilen nar sularında %23 oranlarında azalma olduğu belirtilmiştir (Güzel, 2010). Karadut suyu prosesinde, karadut ham suyunda toplam polifenol miktarının durultma işleminden sonra %5,4 azaldığı, pastörizasyon işleminden sonra ise bu azalmanın %8,1'e yükseldiği bildirilmiştir (Erbay, 2011). Farklı vişne çeşitlerinin meyve suyu prosesinde ise ham vişne suyu ile evaporasyon sonrası son ürün örneklerinin toplam antosiyanin içeriğinde %20,01–50,1; toplam fenolik madde içeriğinde ise %2,84–11,27 arasında kayıpların olduğu rapor edilmiştir (Erceyes, 2014).

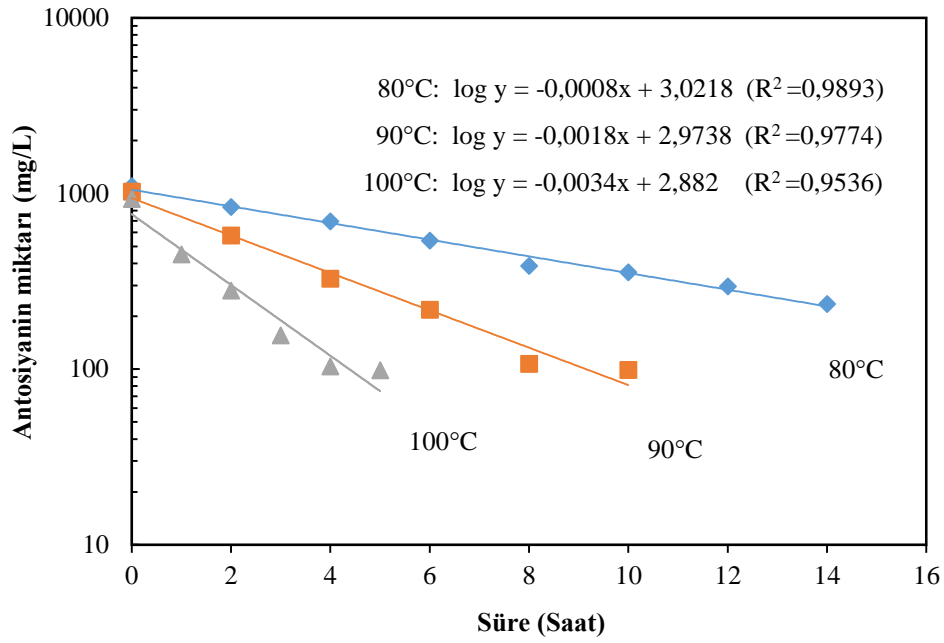
## 4.5. Aronya Sularının Isıl ve Depolama Stabiliteleri

### 4.5.1. Viking ve Nero aronya suları antosiyaninlerinin ısıl stabilitesi

Çalışmamızda Viking ve Nero aronya sularına 80, 90 ve 100°C’lerde uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin kaybına ilişkin değerler “y” eksenine, süreler “x” eksenine yerleştirilmiş ve yarı logaritmik ölçekli bir grafikte doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Böylece her iki çeşit aronya suyu antosiyaninlerinin ısıl degradasyonlarının birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7). Daha önce yapılan çalışmalarda antosiyaninlerin degradasyonunun birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya koyulmuştur (Dyrby ve ark, 2001; Kırca, 2004; Koç, 2013; Cemeroğlu, 2015; Sui ve ark, 2016, Turturică ve ark, 2018).



Şekil 4.6. Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Viking aronya suyunda antosiyanin kayıp düzeyleri.



**Şekil 4.7.** Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Nero aronya suyunda antosiyanin kayıp düzeyleri.

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’verilen grafiklerden elde edilen veriler doğrultusunda meyve sularına ait antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik katsayılar hesaplanmış ve Tablo 4.12 ve Tablo 4.13’te verilmiştir. Antosiyaninlerin ısıl degradasyonuna ilişkin birinci derece reaksiyon hız sabitleri ( $-k$ ) 80, 90 ve 100°C’lerde sırasıyla Viking aronya suyunda 1,7, 3,6 ve 7,5 x 10<sup>-3</sup> dak<sup>-1</sup> ve Nero aronya suyunda 1,8, 4,1 ve 7,7 x 10<sup>-3</sup> dak<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Siyah havuç suyu ve farklı konsantrelerinde (pH 4,3) yapılan bir incelemede, Kırca (2004) farklı sıcaklıklarda (70, 80 ve 90°C) ısıtılan antosiyaninlerin degradasyonuna ait hız sabitlerinin 0,68–4,98 x 10<sup>-3</sup> dak<sup>-1</sup> arasında değiştiğini bildirmiştir. Araştırmacılar hız sabitlerini; böğürtlen suyunda 60–90°C’lerde 0,69–3,94 10<sup>-3</sup> dak<sup>-1</sup>(Wang ve Xu, 2007), mavi yemiş suyunda 40–80°C’lerde 0,064–2,254 x10<sup>-3</sup> dak<sup>-1</sup> (Kechinski ve ark, 2010), mürver ekstraktlarında 100–150°C’lerde 11,9–67,0 x10<sup>-3</sup> dak<sup>-1</sup> arasında (Oancea ve ark, 2018) rapor etmiştir. Literatür bulguları ile bizim çalışma bulgularımız benzerlik göstermiş olup sıcaklık artışı ile reaksiyon hız sabitinin arasında doğrusal bir orantı olduğu gözlemlenmiştir.

**Tablo 4.12.** Farklı sıcaklıklarda ısıtım uygulanan Viking ve Nero aronya sularına ait antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin kinetik parametreler.

Çeşit	Sıcaklık (°C)	-k x10 <sup>3</sup> (dak <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (sa)	E <sub>a</sub> (kJ mol <sup>-1</sup> )
Viking	80	1,7 (0,9954)	6,8	81,23 (0,9999)
	90	3,6 (0,9808)	3,2	
	100	7,5 (0,9706)	1,5	
Nero	80	1,8 (0,9893)	6,4	79,63 (0,9963)
	90	4,1 (0,9774)	2,8	
	100	7,7 (0,9536)	1,5	

Çalışmamızda aronya sularına ait kinetik değerler incelendiğinde sıcaklık yükseldikçe antosiyaninlerin parçalanma hızlarının arttığı görülmektedir. Viking ve Nero aronya suları antosiyaninlerinin 80°C’de yarılanma süreleri sırasıyla 6,8 ve 6,4 sa. iken sıcaklığın 10°C artırılmasıyla (90°C’de) yarılanma süreleri 3,2 ve 2,8 sa.’e düşmüştür. Sıcaklık 100°C olduğunda ise yarılanma süreleri her iki meyve suyunda 1,5 sa olarak belirlenmiştir (Tablo 4.12). Literatürde aronya suyu antosiyaninlerinin degradasyonuna ilişkin herhangi bir kinetik veriye rastlanılmamış ve bir karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak farklı matrislerde antosiyaninlerin ısıl stabiliteleri ile ilgili yapılan çalışmalar incelenmiştir. Asillenmiş antosiyanin bileşikleri içerdiği iyi bilinen siyah havuç suyunda yapılan bir çalışmada antosiyaninlerin yarılanma süreleri (11 °Briks ve pH 4,3) 70, 80 ve 90°C’ lerede sırasıyla 16,7; 10,0 ve 5 sa olarak bildirilmiştir (Kırca ve ark, 2007). Yine yarılanma süreleri farklı çalışmalarda, böğürtlen suyunda 80 ve 90°C’ lerede sırasıyla 4,7 ve 2,9 sa. (Wang ve Xu, 2007), mavi yemiş suyunda 80°C’de 5,1sa. (Kechinski ve ark, 2010), çilek suyunda 90°C’de 2,8 sa. (Bingöl, 2019) olarak rapor edilmiştir. Kara (2012) kırmızı meyvelerde yaptığı bir çalışmada, çilek, böğürtlen, kızılılık, Urmu dut, nar ve vişne suları konsantrelerinin (45 °Briks) 80°C’de yarılanma sürelerini sırasıyla; 1,3; 2,0; 2,1; 3,2; 3,6 ve 10,5 sa. olarak belirlemiştir. Oancea ve ark. (2018) 100–150°C ısıtılan mürver ekstraktlarında yarılanma sürelerini 0,97–0,20 saat olarak bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımız ile kıyaslandığında, asillenmiş bir antosiyanine sahip vişne suyu konsantresi hariç diğer tüm meyve suyu konsantrelerinin t<sub>1/2</sub> değerlerinin aynı sıcaklıktaki aronya sularının t<sub>1/2</sub> değerlerine göre daha düşük olduğu görülmüştür.

Tablo 4.12’de verilmiş olan Viking ve Nero aronya suları antosiyaninlerinin 80–100°C’lerde ısıl degradasyonuna ait reaksiyon aktivasyon enerjileri ( $E_a$ ) sırasıyla 81,23 ve 79, 63 kJ mol<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Kırca (2004) farklı brikslerdeki siyah havuç suyu ve konsantrelerinin 70–90°C’lerde ısıl degradasyonuna ait  $E_a$  değerlerini 62,5–95,1 kJ mol<sup>-1</sup> arasında bildirmiş ve briks değerleri yükseldikçe  $E_a$  değerlerinde arttığı rapor edilmiştir. Antosiyanin degradasyonunun incelendiği benzer çalışmalarda, Kara (2012) çilek, böğürtlen, kızılıçık, Urmu dut, nar ve vişne suları konsantrelerinin 60–80°C sıcaklıklar arasında ısıl degradasyon  $E_a$  değerlerini sırasıyla 34,02; 33,07; 48,38; 46,32; 52,27 ve 49,51 kJ mol<sup>-1</sup>, Oancea ve ark. (2018) mürver ekstraktlarında 100–150°C sıcaklıklar arasında 49,97 kJ mol<sup>-1</sup>, Wang ve Xu (2007) böğürtlen suyunda 60–90°C sıcaklıklarda 58,95 kJ mol<sup>-1</sup> ve Kechinski ve ark. (2010) maviyemiş suyunda 40–80°C’lerde 80,42 kJ mol<sup>-1</sup> olarak hesapladıklarını bildirmişlerdir. Aktivasyon enerjisinin yüksek olması reaksiyon hızının yavaş olduğunun veya bu reaksiyonun sıcaklık değişimine çok duyarlı olduğunun bir kanıtıdır (Cemeroğlu 2015). Ancak aynı veya farklı matrikslerin reaksiyonlarına ait aktivasyon enerjilerinin doğru bir şekilde kıyaslanması için reaksiyon koşullarının (sıcaklık, briks, pH) aynı olması gereklidir. Çalışmamızın aktivasyon enerjilerinin yüksek olması aronya suları antosiyaninlerinin degradasyonunun sıcaklığa oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir.

Viking ve Nero aronya sularında sıcaklığın 80°C’den 90°C’ye yükselmesiyle antosiyaninlerin ısıl degradasyon reaksiyon hızlarının artışı ( $Q_{10}$ ) sırasıyla 2,1 ve 2,3 kat daha sonra tekrar 10°C’lik bir artışta ise reaksiyonların 2,1 ve 1,9 kat hızlandığı belirlenmiştir (Tablo 4.13). Bu değerler  $Q_{10}$ ; kara havuç suyunda (11°Briks) 70–80°C arasında 1,7 ve 80–90°C arasında 2,0 (Kırca ve ark, 2007); maviyemiş (yaban mersini) suyunda 40–50°C arasında 4,27; 50–60°C arasında 1,67; 60–70°C arasında 2,95 ve 70–80°C arasında 1,67 (Kechinski ve ark, 2010), karadut suyunda 70–90°C arasında 1,94 (Erbay, 2011) olarak bildirilmiştir.

**Tablo 4.13.** Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanan Viking ve Nero aronya sularına ait antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin  $Q_{10}$  değerleri.

Sıcaklıklar	$Q_{10}$ Değerleri	
	Viking	Nero
80-90°C	2,12	2,28
90-100°C	2,08	1,88

Tüm bu veriler doğrultusunda asillenmiş bir antosiyanin bileşiği içermemesine rağmen aronya antosiyaninlerinin ısılabilitelerinin asillenmiş antosiyaninlere sahip olanlar hariç diğerk kırmızı meyve antosiyaninlerinin stabilitesine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun sebeplerinden biri olarak antosiyaninlerin stabilitesini artırmak için kopigmentasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılan klorojenik asitin (Bakowska ve ark, 2002; Gras ve ark, 2016) aronyanın önemli bir fenolik bileşiği olduğu ve antosiyanin stabilitesini (moleküller arası kopigmentasyon yoluyla) pozitif yönde etkilediği yönündedir. Wilska-Jeszka ve Korzuchowska (1996) aronya ve çilek meyve sularında antosiyaninlerin stabilitesini artırmak için belli oranlarda klorojenik asit ilave ederek bu bileşiğin kopigmentasyon etkisini incelemiştirlerdir. Çalışma sonunda, aynı koşullar altında meyve sularında meyvelerin saflaştırılmış pigment (antosiyanin) çözeltilerine göre kopigmentasyon etkilerinin daha yüksek olduğu gözlenmiş, bu da meyvelerde bulunan doğal kopigmentlerin kopigmentasyon sürecine pozitif yönde katılımını ortaya koymuştur. Ayrıca Malien-Aubert ve ark. (2001) asillenmiş antosiyaninler içermeyen ancak flavonol bakımından zengin içeriğe sahip aronya, mürver ve siyah frenk üzümü gibi renklendiricilerin moleküller arası kopigmentasyon nedeniyle dikkate değer bir stabilite gösterdiklerini ifade etmişlerdir.

#### **4.5.2. Farklı sıcaklıklarda ısıtılan Viking ve Nero sularının antosiyanin parçalanma ölçütleri**

Çalışmamızda 80, 90 ve 100°C’de ısıtılan Viking ve Nero aronya suyu antosiyaninlerinin parçalanma ölçütleri olan renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranı (PRO) değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 4.14 ve 4.15’te verilmiştir. Tablolarda verilen bulgulara göre 80°C ısıtılan Viking aronya suyunda RY, PR ve PRO sırasıyla 36,51; 6,37 ve %17,43 iken 14 saatlik ısıtma sonunda 25,33; 13,98 ve %55,28, Nero aronya suyunda ise 34,93, 4,98 ve % 14,42 iken 25,57; 13,73 ve %53,68 olduğu görülmektedir. Bu değerler incelendiğinde ısıtma süresi arttıkça renk yoğunluğu azalırken, polimerik renk ve polimerik renk oranlarının da arttığı ve diğerk ısıtma (90 ve 100°C) sıcaklıklarında da benzer değişimler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ısıtma sıcaklıkları arttıkça bu azalma ve artış oranlarındaki değişimlerin hızlandığı görülmüştür. Örneğin Nero aronya suyu örneğinde başlangıçta RY değeri 34,93 iken 80°C’de 14 saat ısıtıldıktan sonra 25,57’ye düşmüş 90°C’de 23,43 ve 100°C’de 20,72’ye kadar düşmüştür. Aynı şekilde başlangıçta 4,98 olan PR



değeri 80°C'de 14 saat ısıtıldıktan sonra 13,73'ye 90°C'de ısıtıldıktan sonra 16,22'ye yükselmiş ve 100°C'den sonra ise 17,30'ye kadar artmıştır. PRO değeri ise %14,42 iken söz konusu sıcaklıklarda sırasıyla %53,68; %69,27 ve %83,51'lere kadar artış göstermiştir (Tablo 4.15).

Ünal (2019) nar sularında yaptığı bir çalışmada kontrol grubunda başlangıçta 2,33; 0,96 ve %41,2 olarak belirlediği RY, PR ve PRO değerlerini 90°C'de 3 saat ısıtılan örneklerde sırasıyla 2,02; 1,36 ve %67,3 olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada başlangıçta yine aynı değerlere sahip kontrol grubunda 105°C'de 2 saat ısıtılan örneklerde sırasıyla 1,88; 1,36 ve %72,3 150°C'de 1 saat ısıtılan örneklerde ise 2,17; 1,66 ve %76,5 olarak bildirilmiştir. Çalışma sonunda çalışmamızla benzer sonuçlar elde edilmiş olup RY değerlerinin sıcaklık ve süreye bağlı olarak azaldığı PR ve PRO değerlerinin ise farklı sıcaklık ve sürelerde uygulanan ısıtma süresince genel olarak arttığı ifade edilmiştir. Benzer bir çalışmada çilek sularının 90 °C'de 4,5 sa; 105°C'de 3 sa ve 150°C'de 1 saat ısıtılan kontrol örneklerinde RY değerleri başlangıçta 3,1 iken sırasıyla; 2,5; 2,0 ve 1,7'ye düşmüş; başlangıçta 0,6 olan PR değerleri sırayla; 1,2; 0,9 ve 1,1 yükselmiş ve başlangıçta %19,6 olan PRO değerlerinin ise %48,5; %44,3 ve %61,8 yükselmiş olduğu bildirilmiştir. Çalışmada yapılan istatistiksel analizler sonucunda tüm değerlerde farklı sıcaklık ve sürelerde meydana gelen bu değişimlerin ( $p<0,05$ ) önemli olduğunu belirlenmiştir (Bingöl, 2019). Çilek suyu antosiyanin parçalanma ölçütlerine ait değerlerin farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtılan nar suyu ve aronya suyu örneklerinde olduğu gibi benzer tepkiler vererek artış ve azalış gösterdiği görülmüştür.

**Tablo 4.14.** Farklı sıcaklıklarda (80, 90 ve 100 °C) ısıl işlem uygulanmış Viking aronya sularına ait renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.

Süre (sa)	80 °C			90 °C			100 °C		
	RY	PR	PRO (%)	RY	PR	PRO (%)	RY	PR	PRO (%)
MS	36,51±0,46	6,37±0,25	17,43±0,52	36,51±0,46	6,37±0,25	17,43±0,52	36,52±0,46	6,37±0,25	17,43±0,52
0	36,43±2,23	6,57±0,36	18,11±2,01	34,65±0,15	8,13±0,42	23,47±1,18	33,38±0,56	9,18±1,28	27,47±3,36
2	35,78±2,43	7,73±0,46	21,74±2,81	31,82±1,45	11,40±0,51	35,89±2,58	29,82±1,28	11,38±0,35	38,20±1,34
4	34,26±1,11	8,45±0,26	24,66±0,36	30,58±0,73	14,60±0,75	47,80±3,59	29,78±1,0	14,95±0,74	50,28±4,08
6	33,43±2,66	11,95±1,64	35,83±4,84	29,92±0,94	14,23±0,18	47,60±1,36	27,13±0,68	15,32±0,78	56,46±2,83
8	33,70±2,10	12,72±1,15	37,82±4,05	29,70±1,65	15,45±0,41	52,08±1,68	25,32±0,94	16,25±0,55	64,20±1,51
10	29,70±1,28	12,8±0,70	43,08±0,51	30,02±0,98	15,10±0,49	50,33±1,76	24,97±1,68	16,37±0,52	65,78±5,36
12	26,67±3,21	12,75±0,66	48,24±6,01	25,98±1,08	16,25±0,69	62,54±0,68	21,98±0,88	17,03±0,82	77,56±4,79
14	25,33±0,65	13,98±0,81	55,28±4,65	23,45±0,52	17,13±0,73	73,13±4,59	20,88±0,68	18,03±0,33	86,45±4,35

MS: Isıtma işlemi öncesi meyve suyu örneği, RY: Renk yoğunluğu, PR: Polimerik renk, PRO: Polimerik renk oranı

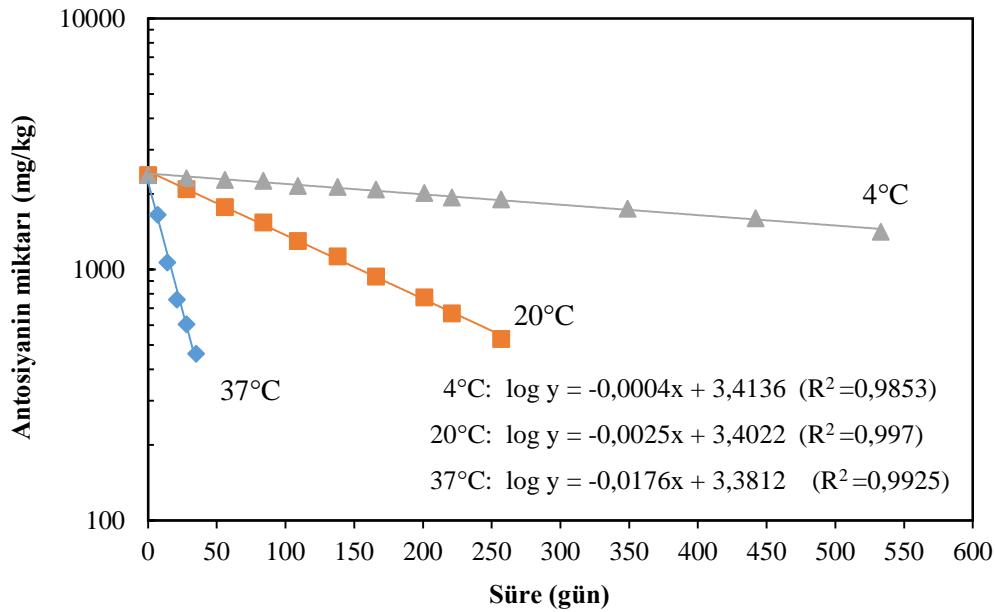
**Tablo 4.15.** Farklı sıcaklıklarda (80, 90 ve 100 °C) ısıl işlem uygulanmış Nero aronya sularına ait renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.

Süre (sa)	80 °C			90 °C			100 °C		
	RY	PR	PRO (%)	RY	PR	PRO (%)	RY	PR	PRO (%)
<b>MS</b>	34,93±3,88	4,98±0,15	14,42±2,10	34,93±3,88	4,98±0,15	14,42±2,10	34,93±3,88	4,98±0,15	14,42±2,10
<b>0</b>	33,43±3,37	6,30±0,74	18,92±2,45	32,27±0,87	6,20±0,23	19,21±0,38	31,03±1,75	8,02±0,77	25,83±2,03
<b>2</b>	33,15±3,81	8,10±0,18	24,64±2,65	30,77±0,34	9,18±0,10	29,85±0,58	28,15±0,39	10,55±0,56	37,46±1,47
<b>4</b>	30,68±0,62	9,17±0,38	29,90±1,80	29,23±0,75	11,10±0,30	37,99±1,58	27,67±0,85	11,27±0,89	40,69±2,23
<b>6</b>	28,43±0,72	9,98±0,58	35,09±1,26	28,70±1,23	12,38±0,40	43,21±2,73	25,37±0,59	13,88±0,29	54,76±1,99
<b>8</b>	27,82±1,15	11,33±1,36	40,75±4,58	27,50±0,77	13,20±0,58	47,99±0,92	23,78±0,97	14,17±0,60	59,57±0,89
<b>10</b>	27,48±1,33	12,98±1,22	47,21±3,22	26,47±0,38	14,15±0,60	53,48±2,72	22,03±1,00	15,02±0,67	68,32±5,71
<b>12</b>	26,58±2,27	12,42±0,44	46,84±4,04	24,84±1,18	15,08±0,36	60,78±2,00	21,70±0,41	16,47±1,15	75,84±4,07
<b>14</b>	25,57±0,72	13,73±1,08	53,68±2,99	23,43±0,49	16,22±0,81	69,27±4,77	20,72±0,41	17,30±0,22	83,51±2,22

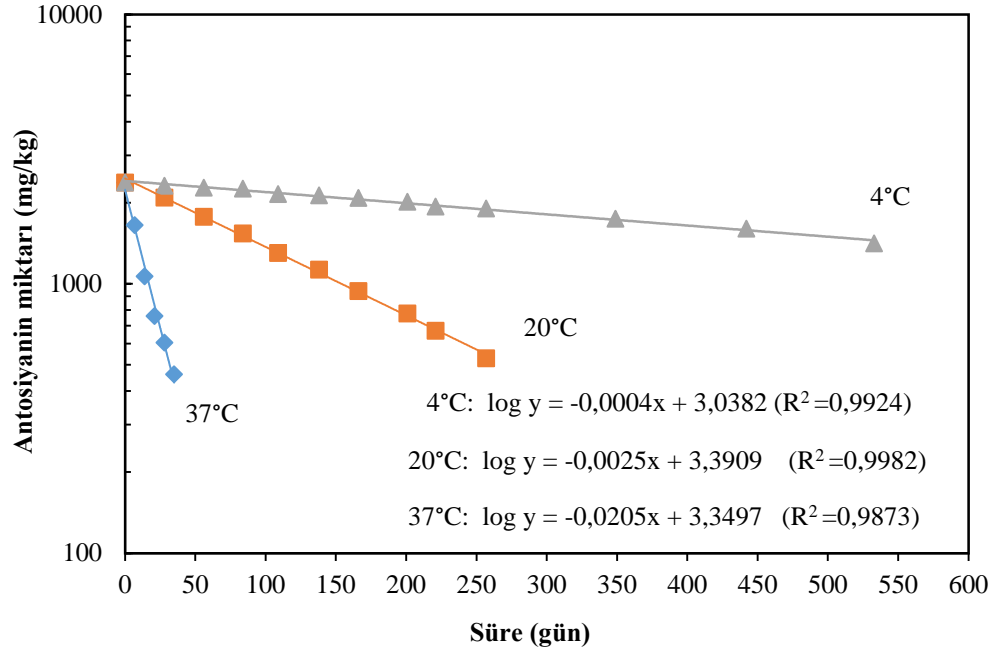
MS: Isıtma işlemi öncesi meyve suyu örneği, RY: Renk yoğunluğu, PR: Polimerik renk, PRO: Polimerik renk oranı

#### 4.5.3. Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyaninlerdeki değişimler

Her iki çeşide ait aronya sularından elde edilmiş konsantrelerin farklı sıcaklıklarda (4, 20 ve 37°C) depolanarak toplam antosiyanin değişim miktarları belirlenmiştir. Meyve sularının ısıl stabilite sonuçlarında olduğu gibi her bir depolama sıcaklığı için antosiyanin kaybına ilişkin değerleri “y” eksenine, süreler ise “x” eksenine yerleştirilmiş ve yarı logaritmik ölçekli bir grafikte doğrusal bir eğri elde edilmiştir (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Bu eğrilere ait determinasyon katsayıları da ( $R^2$ ) göstermiştir ki aronya suyu konsantrelerinin 4, 20 ve 37°C sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyaninlerinin degradasyonları birinci derece reaksiyon kinetik modeline uygun olarak gelişmiştir. Yine antosiyanin içeren farklı ürünlerde depolama süresince antosiyaninlerin degradasyon kinetikleri birinci modele uygun olarak belirlenmiştir (Kırca, 2004; Wang ve Xu, 2007; Turfan, 2008; Boranbayeva, 2011; Erbay, 2011).



Şekil 4.8. Viking aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolama süresince antosiyanin kaybı düzeyleri.



**Şekil 4.9.** Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanma süresince antosiyanin kayıp düzeyleri.

Her iki çeşit aronya suyu konsantrelerine ait antosiyaninlerin degradasyonuna ilişkin kinetik veriler elde edilen grafiklerin eğimleri ve formülleri yardımıyla hesaplanmış olup Tablo 4.16 ve Tablo 4.17’de verilmiştir. Viking ve Nero aronya konsantrelerinde (68 °Briks) antosiyaninlerin, farklı sıcaklıklarda depolama degradasyonlarına ait hız sabitleri sırasıyla 4°C’de 0,8 ve 1,0 x10<sup>-3</sup> gün<sup>-1</sup>, 20°C’de 5,7 ve 5,8 x10<sup>-3</sup> gün<sup>-1</sup> ve ve 37°C’de 40,5 ve 47,2 x10<sup>-3</sup> gün<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir (Tablo 4.16). Çalışmamızın aronya sularının ısıl degradasyon kinetik sonuçlarında olduğu gibi konsantrelerinde depolama sıcaklıkları arttıkça hız sabitleri artmıştır. Yine literatürde aronya suyu konsantrelerine ait kinetik bir veri bulunamamış fakat farklı ürün konsantrelerinin depolama stabiliteyi ile kıyaslama yapılmıştır. Buna göre siyah havuç suyu konsantrelerinde 64 °Briks değerinde 4, 20 ve 37°C’lerde yani bizimle aynı sıcaklıklarda depolama yapılmış ve hız sabitleri sırasıyla (-k) 0,46; 2,77 ve 24,87 x 10<sup>-3</sup> gün<sup>-1</sup> olarak bildirilmiştir (Kırca, 2004). Hız sabitlerine göre karşılaştırma yapıldığında aynı derecelerde siyah havuç suyu konsantreleri antosiyaninlerinin aronya suyu konsantreleri antosiyaninlerine göre daha yavaş parçalandığı anlaşılmaktadır. Bu durum çalışmamızda Tablo 4.16’da ve söz konusu çalışmada verilen depolama sıcaklıklarına ait yarılanma sürelerinde de açıkça görülmektedir. Çalışmamızda 4, 20 ve 37°C depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinin

yarılanma süreleri sırasıyla 866,3 gün (yaklaşık 124 hafta veya 29 ay); 121,6 gün (yaklaşık 17 hafta veya 4 ay) ve 17,11 gün (yaklaşık 2,4 hafta), Nero çeşidine ait yarılanma süreleri ise sırasıyla 693 gün (yaklaşık 99 hafta veya 23 ay) 119,5 gün (yaklaşık 17 hafta veya 4 ay) ve 14,7 gün (yaklaşık 2,1 hafta) olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.16). Sidor ve ark. (2020) 20°C’de 3 ay süreyle depolanan aronya sularında polifenollerin, özellikle antosiyaninlerin azaldığını belirlemişlerdir. Çalışmada antosiyaninlerin bozunma reaksiyonlarının birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uygunluk gösterdiği, bulanık meyve sularında karanfil ekstraktının yarı ömürlerini ( $t_{1/2}$ ) uzattığı bunun aksine askorbik asidin ise antosiyaninlerin bozunmasını hızlandırdığı tespit edilmiştir. En uzun yarılanma ömrünün (131 gün) karanfil ekstraktlı bulanık aronya suyu örneğine ait siyanidin 3-O-galaktozit antosiyanin bileşiğinde, en kısa yarılanma ömrünün (49 gün) ise askorbik asitli bulanık aronya suyu örneğine ait siyanidin 3-O-glukozit bileşiğinde olduğu bildirilmiştir. Siyanidin 3-O-galaktozit bileşiğinin bulanık ve durultulmuş kontrol (hiç birşey eklenmemiş) örnekleri ve karanfilli bulanık meyve suyu örneğinin yarılanma ömürleri (3 örnek) 120 günün üzerinde diğer tüm uygulama örneklerine ait bileşiklerde bu sürenin (en yakın değer 108 gün) altında olduğu rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda aronya suyunun stabilitesi (yarılanma ömürleri ve diğer kinetik parametreler) toplam antosiyanin miktarları üzerinden belirlenmiştir. Aynı sıcaklıkta bulgularımız ile söz konusu çalışma sonuçları kıyaslandığında yukarıda verilen 3 örnek hariç diğer uygulamalardaki yarılanma ömürlerinin bizim örneklerimizden daha az olduğu görülmüştür.

Kırca (2004) çalışmasında 64 °Briks değerindeki siyah havuç suyu konsantrelerinin 4, 20 ve 37°C’lerde depolanma yarı ömürlerini 214,8; 35,8 ve 4 hafta olarak vermiş olup çalışmamızda olduğu gibi hız sabitleri arttıkça yarılanma ömürleri azalmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde asillenmiş antosiyanin bileşikleri olan siyah havuç suyu konsantreleri antosiyaninlerinin aronya suyu konsantreleri antosiyaninlerine göre daha stabil olduğu görülmüştür. Turfan (2008) ise durultulmuş nar suyu konsantrelerinde, (68°Briks) değerinde 20°C’de hız sabitini  $25,56 \times 10^{-3} \text{ gün}^{-1}$  ve yarılanma süresini 27 gün (~4 hafta) olarak rapor etmiştir. Wang ve Xu (2007) 65°Briks derecesinde olan böğürtlen suyu konsantrelerinde 5, 25 ve 37°C’de hız sabitlerini 5,2; 36,4 ve  $89,9 \times 10^{-3} \text{ gün}^{-1}$  ve yarılanma süreleri 133,3; 19,0 ve 7,7 gün olarak verilmiştir. Her iki çalışma sonuçları bulgularımız ile karşılaştırıldığında aronya konsantreleri antosiyaninlerinin

nar suyu konsantreleri ve böğürtlen suyu konsantreleri antosiyaninlerine göre daha stabil olduğu ortaya çıkmıştır.

**Tablo 4.16.** Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sürecince antosiyanin degradasyonuna ilişkin kinetik parametreler.

Çeşit	Sıcaklık (°C)	-k x10 <sup>3</sup> (gün <sup>-1</sup> )	t ½ (gün)	E <sub>a</sub> (kJ mol <sup>-1</sup> )
Viking	37	40,5 (0,9925)	17,11	84,89 (0,9999)
	20	5,7 (0,997)	121,6 (4ay)	
	4	0,8 (0,9853)	866,3 (29ay)	
Nero	37	47,2 (0,9873)	14,7	83,31 (0,9957)
	20	5,8 (0,9982)	119,5 (4ay)	
	4	1,0 (0,9924)	693,0 (23ay)	

Boranbayeva (2011) çalışmasında; 20°C depolama sıcaklığında karadut suyu konsantresinin (65,7°Briks) yarılanma süresini 5,5 ay olarak bildirilmiştir. Ancak yaklaşık aynı briks derecelerinde (66°Briks) farklı bir karadut suyu çalışmasında 20°C’de depolanan konsantrelerin antosiyanin degradasyonuna ait yarılanma süresi 1,7 ay olarak hesaplanmıştır. Bu iki literatür dikkatli bir şekilde incelendiğinde bu farklılığın hem meyve suyuna işleme proses basamaklarında hem de meyve suyunun evaporasyon (suyunu uçurma) sıcaklıklarında farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yüksek sıcaklıkta (90°C) konsantre edilen karadut suyu konsantrelerinin (Erbay, 2011) daha düşük sıcaklıklarda (50–70°C) konsantre edilen örneklere (Boranbayeva, 2011) göre antosiyanin degradasyonlarının daha hızlı olduğu dikkat çekmektedir. Yine karadut suyunda farklı durultma ve konsantre yöntemlerinin kullanıldığı bir çalışmada, 60°Briks düzeyinde olan karadut suyu konsantrelerinin yarılanma süreleri oda sıcaklığında depolanan örnekler için 1,84–2,0 ay, 4°C örnekleri için 4,18 ay olarak bildirilmiştir. Bu durum bize antosiyanin degradasyonunu meyve veya sebze çeşidi, içerdiği antosiyanin türü ve yapısı, depolama sıcaklık ve süresi gibi faktörlerin yanında son ürüne kadar (konsantre) olan tüm proses basamaklarına ait parametrelerinde oldukça etkili olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda 4–37°C’lerde sıcaklıklarda depolanan Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin degradasyonuna ait aktivasyon enerjileri (E<sub>a</sub>)

sırasıyla 84,89 ve 83,31 kJ mol<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir (Tablo 4.16). Daha önce farklı kinetik değerleri verilen çalışmalarda reaksiyon aktivasyon enerjileri; 4–37°C depolanan siyah havuç suyu konsantresinde (64°Briks) 86,2 kJ mol<sup>-1</sup> (Kırca, 2004), 5–20°C depolanan durultulmuş nar suyu konsantresinde (68°Briks) 82 kJ mol<sup>-1</sup> (Turfan, 2008), 5–37°C depolanan böğürtlen suyu konsantrelerinde 65,06 kJ mol<sup>-1</sup> (Wang ve Xu, 2007), karadutu suyu konsantresinde 5–40°C’de depolanan örneklerde 49,75 kJ mol<sup>-1</sup>(Boranbayeva, 2011) ve (–20)–20°C’ler arasında depolanan örneklerde ise 89 kJ mol<sup>-1</sup> (Erbay, 2011) olarak bildirilmiştir. Tüm bulgular incelendiğinde bazı literatür sonuçları ile bizim çalışma sonuçlarımızın benzerlik gösterdiği bazılarının da daha düşük olduğu belirlenmiştir. Aronya sularında olduğu gibi aronya konsantreleri antosiyaninlerinin parçalanma reaksiyon aktivasyon enerjileri de yüksek olup sıcaklığa oldukça duyarlı oldukları saptanmıştır.

Çalışmamızda Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanmasıyla meydana gelen antosiyanin parçalanmalarına ilişkin reaksiyonların 4–20°C’ler arasında 4,45 ve 3,63 kat 20–37°C’ler arasında 4,18 ve 4,79 kat hızlandığı hesaplanmıştır (Tablo 4.17). Farklı çalışmalarda konsantrelerin depolama sıcaklıklarına bağlı antosiyanin degradasyon reaksiyon hızlarının artışları (Q<sub>10</sub>); 5–20°C depolanan nar suyu konsantrelerinde 3,12–3,79 (Turfan, 2008), (–20)–20°C depolanan karadut suyu konsantrelerinde 3,79 (Erbay, 2011) ve 20–30°C, 30–40°C ve 20–40°C’lerde depolanan karadut suyu konsantrelerinde ise sırasıyla 2,01; 1,84 ve 1,92 (Boranbayeva, 2011) kat olarak rapor edilmiştir.

**Tablo 4.17.** Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sürecince antosiyanin degradasyonuna ilişkin Q<sub>10</sub> Değerleri.

Sıcaklıklar	Q <sub>10</sub> Değerleri	
	Viking	Nero
4–20°C	4,45	3,63
20–37°C	4,18	4,79

#### 4.5.4. Farklı sıcaklıklarda depolanan aronya suyu konsantrelerinin antosiyanin parçalanma ölçütleri

Farklı sıcaklıklarda depolanan aronya suyu konsantreleri antosiyaninlerinin parçalanmalarına ait kinetik hesaplamalardan sonra diğer ölçütler olan renk yoğunluğu



(RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranı (PRO) değerleri hesaplanmış ve Tablo 4.18, 4.19 ve 4.20’te verilmiştir.

**Tablo 4.18.** 37°C depolanan aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.

Süre (Hafta)	Viking			Nero		
	RY	PR	PRO (%)	RY	PR	PRO (%)
0	81,86	19,29	19,91±0,76	91,04	16,72	18,35±0,91
1	80,07	20,14	25,17±1,82	87,40	20,93	23,95±1,51
2	79,53	23,88	30,07±2,36	84,93	21,82	25,69±0,91
3	79,14	25,78	32,60±2,25	83,53	22,88	27,41±1,61
4	74,74	29,48	39,45±2,30	77,58	28,54	36,87±4,01
5	73,73	31,62	42,93±1,65	78,64	31,15	39,65±4,49
6	69,92	35,04	50,29±4,32	74,82	34,14	45,65±1,47
7	67,16	36,75	54,84±2,70	69,14	35,23	50,94±0,58
8	66,23	39,51	59,68±1,86	67,94	39,24	57,95±5,12
9	66,38	40,95	61,78±6,84	66,29	38,24	57,70±1,28
10	64,45	41,03	63,68±2,22	64,91	41,21	63,77±5,43
11	65,53	42,82	65,42±2,34	63,31	43,91	69,41±3,17
12	64,01	45,27	70,79±3,63	62,12	44,68	72,01±6,86

Farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtılan aronya sularında olduğu gibi farklı sıcaklıklarda depolanan konsantrelerinde de depolama sıcaklığı ve süresi arttıkça renk yoğunluğu azalırken polimerik renk ve polimerik renk oranı artmıştır. Ancak bu azalış ve artışların depolama sıcaklığı azaldıkça daha yavaş gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Örneğin Viking çeşidinde başlangıçta (depolamadan önce) 81,86 olan RY değeri 3 ayın sonunda 37°C’de %21,8 oranında (64,01 değerine) azalırken 20°C’de %2,5 oranında (79,83 değerine) ve 4°C’de %1,8 oranında (80,38 değerine) azalma göstermiştir. Aynı konsantre örneklerinde başlangıçta PR ve PRO değerleri sırasıyla 16,29 ve %19,91 olarak hesaplanmış ve 3 aylık depolama sonunda 37 °C örneklerinde 45,27 ve %70,79’a kadar yükselirken, 20 °C örneklerinde 23,06 ve %29,01’e kadar ve 4°C örneklerinde ise bu yükseliş daha yavaş olup 19,68 ve %24,47 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda depolama sıcaklıkları azaldıkça PR ve PRO her iki

parçalanma ölçütünün değerlerindeki artış oranının yavaşladığı belirlenmiştir. Nero aronya suyu konsantrelerinde de benzer sonuçlar elde edilmiş olup 37°C’de 3 ay depolanan konsantre örneklerinde PRO %72,01; 20°C’de 12 ay depolanan örneklerde %54,16 ve 4°C’de 18 depolanan örneklerde ise %48,36 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.18, Tablo 4.19, Tablo 4.20). Wilkes ve ark. (2014) aronya sularında %34,8 olarak belirlenen PRO değerlerinin 25 °C’de 6 ay süresince depolandıktan sonra %44,5’ e yükseldiğini bildirmişlerdir. Boranbayeva (2011) karadut suyu konsantrelerinin 5, 20, 30 ve 40°C depolama sıcaklıklarında 8 ay depolama sonucunda RY değerlerinin sırasıyla %3,1; 9,3; 13,4 ve 18,8 oranlarında azaldığını bildirmiştir. Çalışmada aynı sıcaklıklar ve sürede PR değerlerinin % 7,4; 10,3; 12,8 ve 20,7 oranlarında arttığı belirlenmiş olup depolama sıcaklığı arttıkça her iki değer azalış ve artışlarının hızlandığı belirtilmiştir. Başka bir karadut suyu konsantresi depolama çalışmasında PRO değerinin başlangıçta %8,87 iken, -20, 4 ve 10°C’lerde 303 gün süreyle depolanan konsantrelerde sırasıyla, %13,16’ya, %19,74’e ve %21,09’a kadar arttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada 20 °C sıcaklıkta sadece 138 gün depolanan konsantre örneklerinde ise PRO değerinin %30,41’e arttığı bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada depolama süresince sıcaklığın etkisiyle monomerik antosiyaninlerin parçalanmasından dolayı PRO’ndaki artışa bağlı olarak esmer pigment oluşumunun hızlandığı ve karadut suyu konsantresinin doğal renginin bozulduğu ifade edilmiştir (Erbay, 2011). Turfan (2008) farklı sıcaklıklarda depolanan (5, 12 ve 20°C) nar suyu konsantrelerinde depolama sıcaklığı arttıkça PRO değerlerinde arttığını ve bu artışın birinci derece kinetik modele uygun olduğunu bildirmiştir. Ayrıca 20°C’de depolanan durultulmamış nar suyu konsantresi örneklerinde PRO değerleri %38’den %61’e, durultulmuş örneklerde %39’dan %66’ya yükseldiği belirlenmiştir. Farklı durultma yardımcı maddeleri ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin 4, 10 ve 20°C’lerde depolanmaları süresince tüm örneklerde RY değerlerinin kısmen azaldığını, PR ve PRO değerlerinin ise arttığını rapor edilmiştir. Örneğin jelatin ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin RY, PR ve PRO değerleri sırasıyla başlangıçta 9,99; 3,19 ve %31, 9 olan değerleri 4°C’de 3 aylık depolama sonunda 7,83; 5,70 ve %72,8; 20°C’de aynı süre sonunda bu değerlerin 8,17; 6,41 ve 78,5 olduğu bildirilmiştir (Koç, 2013). Aynı zamanda her iki literatürde polimerik renk artışının en önemli kaynağının nar antosiyaninlerinin parçalanması olduğu ve farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin içeriklerinin kayıpları ile polimerik renk oluşumları arasında yüksek ve negatif korelasyonlar tespit edildiği ifade edilmiştir.

**Tablo 4.19.** 20°C depolanan aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.

Süre (ay)	Viking			Nero		
	RY	PR	PRO(%)	RY	PR	PRO(%)
0	81,86	16,29	19,91±0,76	91,04	16,72	18,35±0,91
1	80,95	20,88	25,84±1,12	88,47	17,54	19,88±1,15
2	78,21	21,04	26,93±3,62	84,16	19,64	23,34±0,72
3	79,53	23,06	29,01±0,89	82,56	20,22	24,51±1,31
4	77,16	24,50	31,76±1,42	79,37	21,04	26,52±0,94
5	76,07	25,01	32,87±0,14	78,56	22,71	28,91±0,30
6	71,79	25,98	36,21±3,00	75,33	24,42	32,46±1,81
7	70,08	28,27	40,38±2,07	72,68	27,77	38,24±2,80
8	69,18	30,12	43,77±5,88	71,91	28,70	39,95±1,00
9	68,38	31,65	46,32±2,94	70,51	30,84	43,75±2,25
12	62,74	35,74	56,92±3,69	64,87	35,12	54,16±1,88

Çalışmamızda Viking aronya suyunda 20,8°Briks derecesinde RY, PR ve PRO değerleri sırasıyla 36,51; 6,37 ve %17,43 (Tablo 4.15) iken 68°Briks konsantreye işlendikten sonra bu değerlerin arttığı ve 81,86; 16,29 ve %19,91 (Tablo 4.18) olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Nero aronya suyunun (20°Briks) konsantreye (68°Briks) işledikten sonra tüm parçalanma ölçütleri değerlerin arttığı belirlenmiştir (Tablo 4.15, Tablo 4.18). Farklı durultma yardımcı maddelerinin kullanıldığı yaklaşık 16°Briks düzeyinde olan nar suyu örneklerinde PRO değerleri %22–31 arasında iken 65°Briks düzeyine konsantreye işlendikten sonra bu değerlerin %25–43 arasına yükseldiği belirtilmiştir (Koç, 2013). Boranbayeva (2011) ise karadut sularında (15,5°Briks) RY değerinin 5,8 iken konsantreye (65,7°Briks) işlendikten sonra 64,2'ye ve PR değerinin 4,84'ken 52,3'e yükseldiğini, Garzon ve Wrolstad (2002) ise çilek suyunda (8°Briks) %13,4 olan PRO'nun konsantreye işlendikten sonra (65°Briks) %30,8'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Tüm bu verilerin ışığında çalışmamızın sonuçları ile diğer araştırmacıların sonuçlarının uyumlu olduğu görülmüştür.

**Tablo 4.20.** 4°C depolanan aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu (RY), polimerik renk (PR) ve polimerik renk oranlarındaki (PRO) değişimler.

Süre (ay)	Viking			Nero		
	RY	PR	PRO(%)	RY	PR	PRO(%)
0	81,86	16,29	19,91±0,76	91,04	16,72	18,35±0,91
1	80,81	17,81	22,05±1,21	90,96	17,15	18,86±0,62
2	79,64	18,74	23,57±1,73	89,32	17,42	19,52±1,43
3	80,38	19,68	24,47±1,00	90,70	18,86	20,79±1,58
4	79,02	19,29	24,42±0,79	88,78	20,22	22,79±4,35
5	78,13	20,26	25,96±1,24	87,50	20,86	23,84±2,69
6	78,98	20,61	26,10±1,23	86,42	22,21	25,71±2,05
7	77,19	21,58	27,97±1,13	85,01	23,55	27,70±1,16
8	76,61	22,13	28,90±0,55	83,46	24,38	29,20±0,99
9	76,38	23,22	30,39±2,22	82,91	24,93	30,06±0,20
12	72,93	25,45	34,93±0,95	79,36	28,13	35,50±2,39
15	70,42	28,43	40,43±3,32	76,01	31,42	41,40±3,78
18	67,43	31,03	46,05±3,50	72,57	35,08	48,36±2,10

#### 4.5.5. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler

Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin 4, 20 ve 37°C sıcaklıklarda depolanması süresince toplam fenolik madde (TFM) miktarlarındaki değişimler Tablo 4.21 ve Tablo 4.22’de gösterilmiştir. Viking aronya suyu konsantrelerinin depolama başlangıcındaki TFM miktarı 2322,90 mg GAE/100 g iken 4°C’de 18 ay depolama sonrasında 1787,43 mg GAE/100 g (%23 azalma), 20°C’de 12 ay depolama sonrasında 1121,29 GAE/100 g (%52 azalma) ve 37°C’de 12 hafta (3 ay) boyunca depolama sonrasında 1206,97 mg GAE/100 g (%48 azalma) olarak belirlenmiştir. Tüm depolama sıcaklıklarında depolama süresi uzadıkça her iki aronya suyu konsantresinde de TFM miktarlarının azaldığı görülmüştür. Ayrıca depolama sıcaklığına bağlı olarak sıcaklık arttıkça bu azalma oranlarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Örneğin; Nero aronya suyu konsantre örneklerinde 3 ay depolamadan sonra başlangıca göre 4°C’de

%2,1'lik bir azalma tespit edilirken bu oran aynı sürede 20°C'de %15,8'e ve 37°C'de %44,5 azalmaya kadar yükselmiştir.

**Tablo 4.21.** Farklı sıcaklıklarda depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler (mg GAE/100 g).

Süre (ay)	4°C	20°C	Süre (hafta)	37°C
0	2322,90 ±44,98	2322,90 ±44,98	0	2322,90 ±44,98
1	2305,77±16,17	2235,09±28,98	1	2123,71± 32,13
2	2290,78 ±12,85	2149,41± 44,98	2	1993,05± 41,81
3	2269,36± 9,82	2042,31±41,31	3	1926,65±55,40
4	2247,94±16,17	1930,93±46,34	4	1855,97±46,48
5	2226,52± 19,18	1819,55±48,65	5	1751,01± 23,17
6	2187,96 ±17,00	1701,75±9,82	6	1652,49 ±43,74
7	2153,69± 26,75	1622,50±17,00	7	1596,80± 46,34
8	2138,70 ±25,97	1493,98±25,70	8	1485,42± 30,37
9	2087,29± 36,54	1384,75±23,17	9	1416,87 ± 29,45
12	2014,47± 23,17	1121,29±35,78	10	1348,33± 57,95
15	1900,95 ±19,63		11	1281,93 ±29,45
18	1787,43±58,31		12	1206,97 ±18,55
<b>Azalma (%)</b>	23,05	51,73		48,04

Bermúdez-Soto ve Tomás-Barberán (2004) kırmızı meyve suyu konsantrelerinin içerikleri belirledikleri bir çalışmada en yüksek TFM miktarını aronya suyu konsantresinde belirlediklerini (4608 mg GAE/100 mL) ve fonksiyonel meyve sularının hazırlanması için en uygun bileşen olarak önermişlerdir. Kapçı (2013) yaptığı bir araştırmada aronya suyu konsantresinin (66,7°Briks) TFM miktarını 2963 mg GAE/100 g olarak bildirmiştir. Çalışma sonuçlarımız ile TFM içerikleri bakımından bir karşılaştırma yapıldığında her iki literatür sonucunun bizimkilerden daha yüksek olduğu, bu durumun sebebinin ise ham madde içeriği ve meyve suyu konsantresi prosesindeki parametrelerin farklılıkları olarak düşünülmektedir.

Wilkes ve ark. (2014) Viking aronya suyunun fenolik bileşiklerindeki değişimi 25°C'de 6 ay depolama süresince HPLC analizleri ile takip etmişlerdir. Çalışmada depolama süresine bağlı olarak tüm fenolik bileşiklerde belirli oranlarda kayıpların olduğu, ancak en fazla kaybın (%64–75) aronyanın rengini veren fenolik

bileşiklerinden antosiyanin grubunda meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Aronyanın diğer fenolik bileşikleri olan hidrosinnamik asitler (%30) ve kuersetin grubu (%17–29) fenoliklerinde ise bu kayıpların sırasıyla depolamanın 3. ve 4. aylarından itibaren başladığını ifade etmişlerdir.

**Tablo 4.22.** Farklı sıcaklıklarda depolanan Nero aronya suyu konsantrelerinin depolama süresince toplam fenolik madde miktarlarındaki değişimler (mg GAE/100 g).

Süre (ay)	4°C	20°C	Süre (hafta)	37°C
0	1970,56±73,48	1970,56±73,48	0	1970,56±73,48
1	1957,38±15,82	1878,29 ±36,24	1	1867,75 ± 56,11
2	1941,56 ±23,73	1776,72± 84,27	2	1751,01± 23,17
3	1928,38 ±9,13	1658,91 ±25,97	3	1673,90± 17,00
4	1920,47± 25,42	1583,94± 56,02	4	1581,80± 22,57
5	1907,47 ±43,56	1496,13 ±41,31	5	1508,98± 49,08
6	1886,20 ±23,73	1444,72± 24,33	6	1466,14 ±31,70
7	1849,29 ±27,77	1376,18± 78,52	7	1371,89± 19,28
8	1817,66 ±23,73	1322,63 ±48,23	8	1290,50 ±47,36
9	1793,93 ±37,37	1256,23± 82,04	9	1230,53 ±44,98
12	1720,12 ±34,47	1065,6± 26,75	10	1166,27± 34,00
15	1641,03 ±28,51		11	1127,72± 50,19
18	1525,04± 32,93		12	1093,45 ±25,97
<b>AZALMA(%)</b>	22,61	45,92		44,51

Boranbayeva (2011) karadut suyu ve konsantrelerini farklı sıcaklıklarda 8 ay süresince depoladıktan sonra TFM miktarlarında en fazla azalmanın 40°C depolama sıcaklığında meydana geldiğini bildirmiştir. Bunun yanı sıra çalışmada 8 aylık depolama sonrasında (40°C) karadut suyunda TFM kaybının (%10,7) konsantrelerden (%6,6) daha fazla olduğu belirlenmiştir. Çalışmamız ile kıyaslandığında 20 °C’de karadut suyu konsantrelerinin 8 ay depolandıktan sonra TFM kaybının %1,7 olduğu, aynı sıcaklıkta ve sürede Viking (%35,7) ve Nero (%32,9) aronya suyu konsantrelerinin kayıplarından daha düşük olduğu görülmüştür. Karadut suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolandığı bir başka çalışmada ise, fenolik bileşiklerin bir grubu olan antosiyaninlerin önemli düzeyde kayıplarına rağmen depolama süresince TFM miktarlarında önemli bir değişiklik saptanmadığı bildirilmiştir. Çalışmada bu durum

karadut suyu konsantrelerinin şeker oranının oldukça fazla olması ve bu tür şekerli ürünlerde Folin yönteminin (interferans) hatalı sonuçlar verdiği referanslar ile açıklanmıştır (Erbay, 2011). Yine karadut suyu konsantrelerinin oda sıcaklığı ve buzdolabı (4°C) koşullarında depolanması sırasında ilk 3 ayda önemli (%15–10) kayıpların gerçekleştiği, 6 aylık depolamanın sonunda ise buzdolabı koşullarında depolanan örneklerde %15 oda sıcaklığında depolanan örneklerde ise %27–28 fenolik madde kaybı olduğu bildirilmiştir (Karagöz, 2019). Çalışma bulguları incelendiğinde özellikle 4°C’de depolanan örneklerde toplam fenolik madde kaybının aronya suları konsantrelerinden daha fazla olduğu görülmüştür.

Koç (2013) nar suyu konsantrelerinde 4°C depolama sıcaklığında 4 ay (120 gün) depolama sonunda durultulmadan konsantre edilen örneklerde TFM miktarının %7,3 oranında, doğal sedimentasyon uygulanan ve konsantre edilen örneklerde ise %8,9 oranında azalma olduğunu bildirmiştir. Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinde ise Tablo 4.21 ve Tablo 4.22’e göre aynı sıcaklık ve sürede TFM miktarlarında sırasıyla %3,2 ve %2,5 oranlarında azalma olduğu hesaplanmıştır. Bu verilere göre nar suyu konsantrelerinde fenolik madde kaybı aronya konsantrelerine göre daha hızlı gerçekleşmiştir.

#### **4.5.6. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antioksidan aktivitelerindeki değişimler**

Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin 4°C’de 18 ay, 20°C’de 12 ay ve 37°C’de 3 ay depolanmıştır. Daha sonra depolama sıcaklık ve sürelerinin antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla, ABTS, DPPH ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.23 ve Tablo 4.24’de gösterilen analiz sonuçlarını hesaplamak için DPPH, ABTS ve CUPRAC yöntemlerine ait standart eğri ve formüller Ekler (Şekil A.2, Şekil A.3, Şekil A.4) bölümünde verilmiştir.

Antioksidan aktivitesini (kapasite) belirlemek için, üretilen radikal, reaksiyon süresi, oksidasyon kapsamı ve oranı (son nokta) gibi çeşitli ilkelere dayalı farklı yöntemler bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar ürünlerin antioksidan aktivitelerini belirlemek için tek bir yöntemin yeterli olmadığını, net bir değerlendirme yapmak için farklı ilkelere dayalı birkaç yöntemin kullanılmasını önermişlerdir. ABTS ve DPPH gibi aynı prensibe dayalı yöntemler bile farklı solvent sistemlerinde değişen çözünürlük veya radikallerin oluşma koşullarından dolayı farklı sonuçlar verebilmektedir (Antolovich

ve ark, 2001; Çapanoğlu ve ark, 2010). Bu nedenle çalışmamızda aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antioksidan aktivite değişimleri 3 farklı yöntemle takip edilmiştir. Tablo 4.23 ve Tablo 4.24 incelendiğinde çeşitlerin aronya suyu konsantrelerinde en yüksek antioksidan aktivitelerin CUPRAC yöntemi sonuçlarına ait olduğu görülmektedir. Kapçı (2013) aronya konsantresinin antioksidan aktivitesini ABTS, DPPH ve CUPRAC yöntemleriyle belirlemiş ve sonuçları sırasıyla; 21,9; 10,8 ve 74,5 g TE/kg olarak rapor etmiştir. Söz konusu literatürde çalışmamızda olduğu gibi en yüksek antioksidan aktivite sonuçlarının CUPRAC yöntemiyle elde edildiği bildirilmiştir. Bermúdez-Soto ve Tomas-Barberan (2004) ise aronya konsantresinin antioksidan aktivitesinin diğer kırmızı meyve suyu konsantrelerinden daha yüksek olduğunu ve ABTS yöntemi ile 103,2 mg TE/mL ve DPPH yöntemi ile 60,0 mg TE/mL bulduklarını rapor etmişlerdir. Pozderović ve ark. (2016) Nero aronya suyu konsantrelerinin antioksidan aktivitelerinin DPPH yöntemi kullanılarak belirlendiği sonuçların 0,71–0,79 mmol TE/100 mL arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Tablo 4.23 ve Tablo 4.24'te her 3 yöntem analiz sonuçlarına göre depolama sıcaklığı ve süresi arttıkça antioksidan aktivitelerin azaldığı belirlenmiştir. Viking aronya suyu konsantrelerinin 4 °C'de 18 ay depolama sonunda örneklerin ABTS, DPPH ve CUPRAC yöntemleriyle belirlenen antioksidan aktiviteleri farklı olmasına rağmen azalma oranlarının (sırasıyla % 23,40; 25,61 ve 23,46) benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu azalma oranlarındaki benzerlik her iki çeşitte ve diğer depolama sıcaklıklarında da tespit edilmiş olup ilgili tabloların son satırlarında konsantrelerin başlangıca göre depolama sonlarında azalma oranları verilmiştir. Bunun yanı sıra depolama sıcaklığı arttıkça antioksidan aktivitenin daha hızlı azaldığı yine ilgili tablolarda görülmektedir. Örneğin 3 ay depolanan Nero aronya suyu konsantrelerinin antioksidan aktiviteleri (ABTS sonuçları) 4°C'de depolanan örneklerde %3,96 oranında azalırken 20°C'de %11,52 oranında ve 37 °C'de %41,08 oranında azaldığı belirlenmiştir. Aronya suyunun konsantrelerinin farklı pH, oksijenli ve oksijensiz şartlarda 10, 20 ve 30 °C depolama sıcaklıklarında 10 ve 20 gün süresinde depoladıkları bir çalışmada örneklerin antioksidan aktivitelerinin (ABTS yöntemi ile) belli oranlarda azaldığı tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitelerinin oksijensiz koşullarda 20 gün süreyle depolanan örneklerde 10°C'de %7–12, 20°C'de %12–15 ve 30°C'de %16–35 azaldığı, oksijenli koşullarda ise bu azalmanın %63–80 arasına kadar



yükseldiği bildirilmiştir. Çalışmada oksijen varlığının en yüksek azalmanın sebebi olarak belirlenmekle beraber pastörizasyon ve depolama sıcaklık ve süre parametrelerinin artışından kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Walkowiak–Tomczak, 2007). Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin aynı sıcaklıkta ABTS analiz sonuçlarımız ile kıyaslandığında (20°C’de 1 ay depolama sonunda sırasıyla %6,9 ve %5,6 azalma) literatür konsantrelerine ait antioksidan aktivitelerinde daha fazla azalma olduğu görülmüştür.

Boranbayeva (2011) karadut suyu konsantrelerinin antioksidan aktivitelerinin (ABTS yöntemi) 5, 20, 30 ve 40°C’lerde 8 ay depolama sonrası azalma oranlarını sırasıyla %3,98; 15,74; 23,73 ve 30,41 olarak bildirmiştir. Farklı bir araştırmacı karadut suyu konsantrelerinin –20, 4, 10 ve 20 °C’de yaklaşık 10 ay (303 gün) depolanmasından sonra antioksidan aktivitelerinin sıcaklık ve süreye bağlı olarak artan oranlarda azaldığını ve bu oranların %8–19 arasında olduğunu ortaya koymuştur (Erbay, 2011).

Karaca (2011) nar suyu konsantrelerinin –35°C’ de 6 ay süreyle depolandıktan sonra antioksidan aktivite değerlerinin %3,5 oranında azaldığını bildirmiştir. Ayrıca çalışmada bu azalışın yüksek antioksidan aktivitesi ile bilinen fenolik bileşiklerin parçalanmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Yine nar suyu konsantrelerinin depolandığı bir çalışmada, durultulmamış nar suyu konsantrelerinin antioksidan aktiviteleri 4°C’de 4 ay sonunda %4,2 oranında, kazeinle durultulan konsantre örneklerinde ise 20°C’de 2 ay sonunda %3,6 oranında azalma olduğu rapor edilmiştir (Koç, 2013).

**Tablo 4.23.** Farklı sıcaklıklarda depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince antioksidan aktivite miktarlarındaki değişimler ( $\mu\text{mol TE/g}$ ).

Süre	4°C			20°C			Süre	37°C		
	Ay	ABTS	DPPH	CUPRAC	ABTS	DPPH		CUPRAC	Hafta	ABTS
0	257,15±16,40	304,77±5,78	580,91±15,28	257,15±16,4	304,77±5,78	580,91±15,28	0	257,15±16,40	304,77±5,78	580,91±15,28
1	250,21±16,84	287,88±12,78	570,33±3,89	239,46±4,8	283,26±1,26	542,95±4,70	1	241,50±5,40	281,48±5,96	533,00±9,21
2	248,52±15,79	286,46±3,85	555,4±15,20	231,37±1,56	265,57±1,16	507,48±14,97	2	223,72±0,56	270,55±3,48	503,75±18,42
3	247,64±21,88	275,71±5,68	550,42±15,88	224,26±2,00	257,31±1,67	473,26±11,41	3	214,30±11,17	256,51±6,03	488,82±15,20
4	243,64±24,50	274,91±16,03	542,33±7,54	211,19±2,95	250,46±4,93	447,13±7,54	4	206,57±6,45	247,44±3,85	460,82±7,54
5	239,90±5,70	272,15±8,97	535,48±4,70	203,99±3,23	241,31±24,00	428,46±14,50	5	195,10±1,52	234,2±4,27	442,15±8,82
6	239,01±7,86	268,24±6,47	530,51±14,82	196,26±4,13	230,37±8,67	406,68±5,70	6	187,19±3,33	227,80±1,08	416,02±14,01
7	237,86±8,88	265,31±3,73	519,31±12,24	186,66±3,55	214,28±1,69	382,42±14,50	7	183,37±11,61	222,55±10,32	396,73±17,74
8	238,12±10,37	262,37±12,92	508,11±6,73	174,21±3,08	205,75±5,49	367,48±7,07	8	176,17±2,85	211,62±3,81	389,26±17,74
9	232,17±3,09	258,28±0,86	491,31±8,55	163,19±0,86	196,33±8,12	353,17±14,58	9	170,84±7,56	199,17±9,61	371,22±8,42
12	219,90±6,54	248,42±11,59	486,95±2,85	138,39±2,63	169,31±1,48	313,35±15,88	10	163,19±12,24	190,73±11,6	358,77±6,73
15	208,79±2,27	236,06±1,78	469,53±6,56				11	154,66±4,59	181,13±4,40	334,51±8,55
18	296,97±2,30	226,73±1,34	444,64±16,59				12	147,64±2,04	173,93±2,07	325,17±4,94
<b>% Azalma</b>	23,40	25,61	23,46	46,18	44,45	46,06		42,59	42,93	44,02

**Tablo 4.24.** Farklı sıcaklıklarda depolanan Viking aronya suyu konsantrelerinde depolama süresince antioksidan aktivite miktarlarındaki değişimler ( $\mu\text{mol TE/g}$ ).

Süre	4°C			20°C			Süre	37°C		
	Ay	ABTS	DPPH	CUPRAC	ABTS	DPPH		CUPRAC	Hafta	ABTS
0	237,59±9,82	285,40±1,08	474,51±6,73	237,59±9,82	285,40±1,08	474,51±6,73	0	237,59±9,82	285,40±1,08	474,51±6,73
1	231,81±6,67	284,95±1,78	468,28±6,56	224,26±9,82	273,66±5,53	452,73±12,15	1	222,30±2,83	267,35±3,07	447,75±10,94
2	230,84±10,83	281,13±2,16	462,68±2,85	216,97±3,89	264,42±3,36	427,22±14,26	2	214,04±3,44	254,02±4,85	425,97±21,53
3	228,17±2,42	280,86±2,70	454,60±10,28	210,21±12,01	257,93±1,97	406,68±12,43	3	202,75±5,09	245,93±2,22	412,28±4,70
4	223,72±7,55	278,91±5,55	450,24±5,60	200,17±10,52	247,35±6,41	384,91±6,73	4	191,99±4,74	236,68±2,85	395,48±9,21
5	221,59±1,23	278,73±3,83	448,37±6,73	192,79±6,44	235,71±4,74	374,95±13,11	5	184,88±3,47	224,77±3,20	386,15±5,70
6	219,55±10,27	275,08±1,78	445,88±8,42	186,48±4,17	224,77±3,47	358,15±9,21	6	180,26±24,29	218,82±5,70	373,71±14,93
7	218,84±1,47	274,46±4,34	453,97±4,94	177,95±7,47	214,37±13,13	340,73±8,62	7	174,04±3,74	210,46±5,81	357,53±2,85
8	217,50±1,20	267,62±3,75	449,62±2,16	172,08±1,07	205,84±8,81	328,91±6,73	8	165,59±1,56	202,73±5,18	335,75±44,54
9	212,52±2,42	264,33±2,94	442,15±3,89	163,64±9,98	198,46±3,55	307,13±9,40	9	158,04±2,27	195,26±37,18	325,17±25,25
12	204,79±3,36	252,77±3,23	428,46±5,39	138,84±3,70	171,08±4,71	276,02±13,11	10	152,61±4,27	187,62±8,72	308,37±11,35
15	195,64±2,48	242,37±4,17	408,55±10,61				11	146,39±2,22	178,11±1,92	292,82±10,28
18	185,77±0,81	227,26±2,78	380,55±12,15				12	139,99±1,78	168,68±20	277,88±69,20
<b>% Azalma</b>	21,81	20,37	19,80	41,57	40,05	41,83		41,08	40,89	41,44

#### 4.5.7. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince reflektans değerlerindeki değişimler

CIE ( $L^*a^*b^*$ ) uluslararası renk tanımlama sisteminde  $L^*$  değeri parlaklık derecesini (lightness) ifade etmekte olup bu değer 0 (koyu) ile 100 (açık, parlak) arasında değişmektedir.  $L^*$  değerlerinin aronya suyu konsantrelerinde 0'a yakın olması bu örneklerin koyu bir renge sahip olduğunu göstermektedir. CIE sisteminde  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri ise 0 ile 60 arasında değişmekte olup pozitif  $a$  değeri kırmızı rengi, negatif  $a$  değeri ise yeşil rengi, pozitif  $b^*$  değeri sarı negatif  $b^*$  değeri ise mavi rengi ifade etmektedir. Aronya konsantrelerinin reflektans renk parametrelerinin değişimi için yapılan varyans analizi sonucunda depolama süresince tüm sıcaklıklarda  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerindeki değişimler istatistiksel açıdan önemli ( $p < 0,05$ ) bulunmuştur. Çalışmamızda her iki çeşide ait konsantre örneklerinde depolama sıcaklıklarının hepsinde  $L^*$  değerlerinin arttığı belirlenmiş olup başlangıçta Viking aronya suyu konsantrelerinde 0,28 iken 4 ve 20 °C'de muhafaza edilen örneklerde 12. ayın sonunda 0,54 ve 0,66; 37 °C örneklerinde ise 3 aylık bir depolama sonrası 0,64 olarak ölçülmüştür. Nero konsantre örneklerinde ise başlangıçta 0,26 olan  $L^*$  değeri aynı sıcaklık ve sürelerde 0,68; 0,81 ve 1,43 değerlerine yükselmiş olup Viking çeşidi örneklerine göre bu artışın daha hızlı olduğu görülmüştür (Tablo 4.25, Tablo 4.26 ve Tablo 4.27). Ochmian ve ark. (2012) farklı aronya çeşitlerinden elde edilen meyve sularında  $L^*$  değerlerini 6,96–15,1 arasında, Tolić ve ark. (2015) ise başka bir çalışmada 11 farklı aronya sularında  $L^*$  değerlerini 0,52–15,00 arasında olarak bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımız ile karşılaştırıldığında genellikle literatür bulgularının daha yüksek olduğu belirlenmiş olup bu da bizim örneklerimizin daha koyu renkte olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca bu farklılıkların hammaddeden kaynaklabileceği gibi aronya suyu proses koşulları (maserasyon, sıcaklık, durultma vb) ve farklı analitik özelliklere (pH, briks, bulanıklılık vb.) bağlı olduğu düşünülmektedir.

Nar suyu konsantrelerinde yapılan bir çalışmada, başlangıçta 2,13 olarak ölçülen  $L^*$  değerinin -35 °C'de 6 ay depolamadan sonra 3,02'ye yükseldiği ve istatistiksel olarak önemli olan ( $p < 0,05$ ) bu artışın nedeninin ise depolama sürecinde meydana gelen bulanıklıktan kaynaklandığı düşünülmüştür (Karaca, 2011). Başka bir nar suyu konsantresi çalışmasında depolama sıcaklığı ve süresi arttıkça  $L^*$  değerlerinin arttığı, örneğin jelatinle durultulan konsantre örneklerinde depolama öncesinde 24,73 olan bu

değerin 4 °C’de 4. ayın sonunda 33,56 ve 10 °C’de 35,09 olarak ölçüldüğü bildirilmiştir (Koç, 2013). Mürver suyu konsantrelerinde yapılan bir çalışmada; depolama sıcaklığı (0, 10 ve 30 °C) ve süresi (10 ve 20 gün) faktörlerinin artışı L\* değerinde artışına sebep olduğu bildirilmiştir (Walkowiak-Tomczak ve ark, 2016).

Çalışmamızda Viking ve Nero aronya suyu konsantre örneklerinde a\* değerinin tüm depolama sıcaklıklarında azaldığı ve bu azalış miktarlarının istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Nero çeşidi örneklerinde depolama başlangıcında a\* değeri 1,20 iken 4, 20 ve 37 °C’lerde depolanan örneklerde 3.ayın sonunda sırasıyla 1,09; 0,93 ve 0,57 değerlerine düştüğü ve depolama sıcaklığının artmasıyla düşüşün hızlandığı görülmektedir (Tablo 4.25, 4.26 ve 4.27). Farklı aronya sularında a\* değeri 3,68–11,83 (Ochmian ve ark, 2012); 3,74–46,42 (Tolić ve ark, 2015) aralıklarında belirlenmiş ve çalışmamıza ait a\* değerlerinden daha yüksek oldukları görülmüştür.

Karaca (2011) bir depolama çalışmasında nar suyu konsantresinde başlangıçta 1,55 olan a\* değerinin 6. ayın sonunda 3,45’e yükseldiğini ifade etmiştir. Bu bulguların aksine Koç (2013) nar suyu konsantrelerinde depolamadan önce 42,07 olarak belirlediği a\* değerinin –20, 4, 10 ve 20 °C sıcaklıklarda farklı depolama sürelerinden sonra sırasıyla 41,67; 21,55; 17,86 ve 16,81’e düştüğünü bildirmiştir. Erceyes (2014) farklı çeşitlerde vişne konsantrelerinin a\* değerlerini başlangıçta 0,63–0,73 aralığında bulduklarını  $1\pm 1$  °C’de 10 ay depolandıktan sonra ise bu değerleri 0,46–0,65 olarak belirlediklerini ve örneklerin hepsinde belli oranlarda azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Walkowiak-Tomczak ve ark. (2016) mürver suyu konsantrelerinin depolama süresince sıcaklık ve süre faktörlerinin artışının a değerinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Yavaş (2020) karadut suyu konsantrelerini 2 ay oda (20°C) ve buzdolabı sıcaklığı (4°C) şartlarında depolamış ve çalışmasının sonunda her iki sıcaklıkta a\* değerlerinin 0,46’dan sırasıyla 0,24 ve 0,33’e düştüğünü belirlemiştir. Farklı araştırmacı ve ürünlerin depolama çalışma bulguları ile bizim çalışma bulgularımızın uyumlu olduğu görülmüştür.

**Tablo 4.25.** Viking aronya suyu konsantrelerinde 4 ve 20 °C depolama süresince reflektans renk değerleri.

Süre (Ay)	4°C			20°C		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	0,28±0,03 <sup>ef</sup>	0,88±0,03 <sup>a</sup>	0,16±0,03 <sup>a</sup>	0,28±0,03 <sup>f</sup>	0,88±0,03 <sup>a</sup>	0,16±0,03 <sup>a</sup>
1	0,28±0,01 <sup>ef</sup>	0,86±0,04 <sup>a</sup>	0,15±0,02 <sup>abc</sup>	0,32±0,01 <sup>ef</sup>	0,83±0,07 <sup>ab</sup>	0,11±0,02 <sup>ab</sup>
2	0,27±0,02 <sup>f</sup>	0,84±0,02 <sup>ab</sup>	0,15±0,02 <sup>ab</sup>	0,35±0,01 <sup>de</sup>	0,80±0,02 <sup>ab</sup>	0,08±0,01 <sup>bc</sup>
3	0,28±0,01 <sup>ef</sup>	0,83±0,02 <sup>abc</sup>	0,16±0,03 <sup>a</sup>	0,36±0,01 <sup>de</sup>	0,75±0,03 <sup>b</sup>	0,10±0,02 <sup>ab</sup>
4	0,30±0,01 <sup>e</sup>	0,80±0,01 <sup>bcd</sup>	0,13±0,02 <sup>abcd</sup>	0,40±0,03 <sup>d</sup>	0,63±0,04 <sup>c</sup>	0,13±0,07 <sup>ab</sup>
5	0,29±0,01 <sup>ef</sup>	0,79±0,02 <sup>bcd</sup>	0,10±0,01 <sup>d</sup>	0,41±0,04 <sup>d</sup>	0,66±0,10 <sup>c</sup>	0,08±0,04 <sup>bc</sup>
6	0,31±0,01 <sup>e</sup>	0,79±0,02 <sup>bcd</sup>	0,11±0,02 <sup>cd</sup>	0,40±0,02 <sup>d</sup>	0,44±0,03 <sup>d</sup>	0,13±0,02 <sup>ab</sup>
7	0,34±0,02 <sup>d</sup>	0,78±0,01 <sup>cde</sup>	0,12±0,01 <sup>bcd</sup>	0,49±0,06 <sup>c</sup>	0,44±0,04 <sup>d</sup>	0,07±0,06 <sup>bc</sup>
8	0,38±0,03 <sup>c</sup>	0,77±0,06 <sup>de</sup>	0,12±0,03 <sup>cd</sup>	0,513±0,09 <sup>c</sup>	0,47±0,03 <sup>d</sup>	0,04±0,09 <sup>c</sup>
9	0,42±0,02 <sup>b</sup>	0,74±0,02 <sup>e</sup>	0,10±0,01 <sup>d</sup>	0,58±0,04 <sup>b</sup>	0,42±0,04 <sup>d</sup>	-0,02±0,04 <sup>d</sup>
12	0,54±0,02 <sup>a</sup>	0,68±0,03 <sup>f</sup>	0,11±0,02 <sup>d</sup>	0,66±0,04 <sup>a</sup>	0,43±0,04 <sup>d</sup>	-0,14±0,06 <sup>c</sup>
CV	9,3	7,31	5,62	5,35	3,48	0,86

**Tablo 4.26.** Nero aronya suyu konsantrelerinde 4 ve 20°C depolama süresince reflektans renk değerleri.

Süre (Ay)	4°C			20°C		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	0,25±0,01 <sup>c</sup>	1,20±0,11 <sup>a</sup>	0,12±0,02 <sup>a</sup>	0,26±0,01 <sup>h</sup>	1,20±0,11 <sup>a</sup>	0,12±0,02 <sup>a</sup>
1	0,26±0,01 <sup>c</sup>	1,11±0,04 <sup>b</sup>	0,11±0,01 <sup>ab</sup>	0,34±0,01 <sup>g</sup>	1,01±0,02 <sup>b</sup>	0,09±0,01 <sup>abc</sup>
2	0,26±0,01 <sup>c</sup>	1,09±0,02 <sup>bc</sup>	0,11±0,01 <sup>ab</sup>	0,38±0,04 <sup>fg</sup>	0,97±0,01 <sup>bc</sup>	0,10±0,01 <sup>ab</sup>
3	0,27±0,01 <sup>c</sup>	1,09±0,02 <sup>bc</sup>	0,09±0,01 <sup>cde</sup>	0,43±0,03 <sup>f</sup>	0,93±0,03 <sup>cd</sup>	0,07±0,03 <sup>bcd</sup>
4	0,30±0,02 <sup>c</sup>	1,10±0,04 <sup>bc</sup>	0,10±0,01 <sup>bcd</sup>	0,48±0,02 <sup>e</sup>	0,89±0,02 <sup>de</sup>	0,05±0,01 <sup>d</sup>
5	0,35±0,05 <sup>d</sup>	1,03±0,02 <sup>cd</sup>	0,10±0,02 <sup>bcd</sup>	0,53±0,03 <sup>de</sup>	0,85±0,02 <sup>e</sup>	0,06±0,02 <sup>bcd</sup>
6	0,39±0,03 <sup>cd</sup>	1,00±0,05 <sup>d</sup>	0,10±0,01 <sup>bcd</sup>	0,57±0,07 <sup>d</sup>	0,79±0,01 <sup>f</sup>	0,05±0,02 <sup>d</sup>
7	0,42±0,05 <sup>c</sup>	1,00±0,02 <sup>d</sup>	0,10±0,01 <sup>bcd</sup>	0,62±0,02 <sup>c</sup>	0,75±0,03 <sup>f</sup>	0,06±0,04 <sup>cd</sup>
8	0,49±0,02 <sup>b</sup>	1,01±0,05 <sup>d</sup>	0,10±0,02 <sup>abcd</sup>	0,64±0,02 <sup>c</sup>	0,67±0,03 <sup>g</sup>	0,03±0,08 <sup>bcd</sup>
9	0,53±0,02 <sup>b</sup>	0,99±0,04 <sup>d</sup>	0,09±0,01 <sup>de</sup>	0,70±0,02 <sup>b</sup>	0,63±0,06 <sup>g</sup>	-0,04±0,02 <sup>e</sup>
12	0,68±0,04 <sup>a</sup>	0,98±0,01 <sup>d</sup>	0,08±0,01 <sup>e</sup>	0,81±0,03 <sup>a</sup>	0,52±0,03 <sup>h</sup>	-0,08±0,01 <sup>f</sup>
CV	7,07	4,27	12,12	5,96	3,49	4,48

**Tablo 4.27.** Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin 37 °C’de depolama süresince reflektans renk değerleri.

Süre (Hafta)	Nero			Viking		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	0,26±0,01 <sup>i</sup>	1,20±0,11 <sup>a</sup>	0,12±0,02 <sup>a</sup>	0,28±0,03 <sup>c</sup>	0,88±0,03 <sup>a</sup>	0,16±0,03 <sup>a</sup>
1	0,29±0,01 <sup>hi</sup>	1,13±0,03 <sup>a</sup>	0,10±0,01 <sup>ab</sup>	0,34±0,03 <sup>d</sup>	0,78±0,03 <sup>b</sup>	0,09±0,05 <sup>b</sup>
2	0,37±0,04 <sup>gh</sup>	1,02±0,04 <sup>c</sup>	0,10±0,02 <sup>ab</sup>	0,37±0,02 <sup>d</sup>	0,75±0,02 <sup>bc</sup>	0,09±0,02 <sup>b</sup>
3	0,44±0,05 <sup>fg</sup>	1,04±0,02 <sup>bc</sup>	0,10±0,01 <sup>ab</sup>	0,46±0,03 <sup>c</sup>	0,72±0,03 <sup>bc</sup>	0,11±0,01 <sup>b</sup>
4	0,51±0,02 <sup>f</sup>	1,01±0,03 <sup>c</sup>	0,09±0,02 <sup>abc</sup>	0,51±0,01 <sup>bc</sup>	0,70±0,06 <sup>bc</sup>	0,10±0,01 <sup>b</sup>
5	0,64±0,02 <sup>e</sup>	0,95±0,04 <sup>c</sup>	0,09±0,01 <sup>bcd</sup>	0,50±0,02 <sup>bc</sup>	0,68±0,03 <sup>cd</sup>	0,10±0,02 <sup>b</sup>
6	0,72±0,06 <sup>e</sup>	0,84±0,06 <sup>d</sup>	0,07±0,01 <sup>cd</sup>	0,52±0,06 <sup>b</sup>	0,60±0,13 <sup>de</sup>	0,09±0,02 <sup>b</sup>
7	0,99±0,03 <sup>d</sup>	0,78±0,02 <sup>de</sup>	0,06±0,02 <sup>d</sup>	0,50±0,05 <sup>bc</sup>	0,53±0,04 <sup>ef</sup>	0,07±0,02 <sup>b</sup>
8	1,06±0,05 <sup>d</sup>	0,70±0,05 <sup>ef</sup>	-0,02±0,04 <sup>c</sup>	0,53±0,02 <sup>b</sup>	0,51±0,08 <sup>fg</sup>	0,07±0,02 <sup>b</sup>
9	1,20±0,06 <sup>c</sup>	0,68±0,09 <sup>f</sup>	-0,07±0,02 <sup>f</sup>	0,63±0,02 <sup>a</sup>	0,47±0,04 <sup>fg</sup>	0,07±0,02 <sup>b</sup>
10	1,28±0,06 <sup>b</sup>	0,66±0,01 <sup>fg</sup>	-0,10±0,02 <sup>f</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	0,49±0,02 <sup>fg</sup>	-0,05±0,03 <sup>c</sup>
11	1,35±0,02 <sup>b</sup>	0,61±0,07 <sup>fg</sup>	-0,07±0,02 <sup>f</sup>	0,63±0,03 <sup>a</sup>	0,45±0,03 <sup>fg</sup>	-0,12±0,03 <sup>d</sup>
12	1,43±0,10 <sup>a</sup>	0,57±0,03 <sup>g</sup>	-0,14±0,02 <sup>g</sup>	0,64±0,05 <sup>a</sup>	0,43±0,02 <sup>g</sup>	-0,15±0,05 <sup>d</sup>
Cv	5,80	6,05	1,68	5,99	8,47	3,48



Çalışmamızda  $b^*$  değerinin aynı sıcaklık aralığında kısa süreli zaman dilimlerinde artış ve azalış gösterdiği ancak tüm depolama sıcaklıklarının sonunda başlangıca göre azalış gösterdiği ve bu azalmanın istatistiksel olarak ( $p < 0,05$ ) önemli olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.25, Tablo 4.26, Tablo 4.27) Viking aronya suyu konsantresinde başlangıçta 0,16 olan  $b^*$  değeri 12 aylık depolama sonunda 4 °C’de 0,11’e 20 °C de depolanan örneklerde ise -0,14 ve 37 °C’de 3 aylık bir depolama sonrasında ise -0,15’e kadar düştüğü tespit edilmiştir. Farklı çalışmalarda aronya sularının  $b^*$  değerleri Ochmian ve ark. (2012) tarafından -11,66 ile -24,04 arasında, Tolić ve ark. (2015) tarafından ise bu değerlerin pozitif olduğu; 0,88 ile 25,84 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Turfan (2008) çalışmasında durultulmuş nar suyu konsantrelerinin  $a^*$  renk değerini 48,43 olarak -23, 5, 12 ve 20°C’lerde farklı sürelerde depoladıktan sonra ise bu değerler sırasıyla; 47,49 (334 gün); 46,63(167 gün); 46,25(101 gün) ve 46,51(73 gün) değerlerine düştüğünü rapor etmiştir. Farklı bir çalışmada; nar suyu konsantreleri meyve suyu briksine (13,7) getirildikten sonra 4, 20 ve 37°C sıcaklıklarda 7 ay süresince depolanmış ve renk değerlerinin değişimleri incelenmiştir. Çalışma sonunda  $b^*$  değerlerinde 4°C’de depolanan örneklerin 2.ve 5. aylarında azalma meydana gelmesine rağmen depolamanın sonunda başlangıca göre az bir artış gözlemlenmiştir. Fakat 20 ve 37°C örneklerinin  $b^*$  değerlerinde az ve önemli azalmaların olduğu bildirilmiştir (Alighourchi ve Barzegar, 2009). Karadut suyu konsantrelerinin  $b^*$  değerlerinde aronya suyu konsantrelerinde olduğu gibi depolama sürecinde zaman zaman artışlar olduğu belirlenmiş fakat depolama sonunda azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada;  $b^*$  değerlerinin 2 ay depolanan örneklerde 4 °C de 1,62’den 0,91 ve 20 °C de ise 1,62’den 1,09’a kadar düştüğü belirtilmiştir. Çalışmada depolama süresince belirlenen azalmanın ısı işlem uygulanan gıdalarda gerçekleşen Maillard reaksiyonu (indirgen şekerler ve aminoasitlerin reaksiyonu) ürünleri nedeniyle olabileceği rapor edilmiştir (Yavaş, 2020). Farklı ürünlerde yapılan çalışma sonuçları ile bizim çalışma bulgularımızın uyumlu olduğu tespit edilmiştir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında elde edilen önemli bulgular ve sunulan öneriler maddeler halinde aşağıda sunulmuştur.

1. Yalova Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde kurulan ve ùlkemizin ilk aronya bahçesi olan Viking ve Nero aronya çeşitlerine ait 2017–2018 hasat yılları meyvelerinin fiziksel ve kimyasal içerikleri çeşit ve yıllar bakımından istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; pH, toplam fenolik madde, toplam antosiyanin miktarları ve antioksidan aktiviteleri miktarlarının çeşitler arasında farklılık olmadığı ancak aynı çeşit için yıllar arasında farklılıkların önemli ( $p<0,01$ ) olduğu tespit edilmiştir. Yıllar arasında belirlenen bu farklılıkların nedeninin iklim koşullarından (yıllık yağış, güneş vb.) kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan çeşitlerin toplam titre edilebilir asitlik, suda çözüner kuru madde ve kuru madde oranları arasındaki farklılıklar ise hem çeşitler hem de yıllar arasında önemli olarak belirlenmiştir ( $p<0,01$ ). Bu bulgular ışığında aronya meyvesinin içeriğinin çeşidin yanı sıra yetiştirme koşullarından da etkilendiği gör÷lmüştür.
2. Aronya meyvesinin fenolik bileşiklerinin ekstraksiyonunda, beş farklı solvent karışımı (metanol/formik asit, 95/5 (v/v), metanol/su/formik asit, 70/25/5 (v/v), etanol/su/formik asit, 70/25/5 (v/v), aseton/su/formik asit, 70/25/5 (v/v) ve metanol/su/formik asit, 50/45/5 (v/v) test edilmiştir. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda göz önünde bulundurulan bu beş farklı solvent karışımının istatistiksel olarak farklılık arz etmediği saptanmıştır. Bu bulgular ışığında, bu solvent karışımından metanol/formik asit (95:5, v/v) solvent karışımının, diğer karışımlara kıyasla hızlı evapore edilmesi nedeniyle en uygun ekstraksiyon solventi olabileceği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında incelenen antosiyanin, hidroksisnamik asit ve flavonol fenolik grubu bileşiklerin tamamı her biri 20 saniye olan ultrases uygulamasından 3 tekrar yapılarak toplam 60 saniyede ekstrakte edilebileceği saptanmıştır.

3. Aronya meyvesinin fenolik bileşiklerinin tanımlanması ve konsantrasyonlarının belirlenmesi için HPLC (68 dak.) ve UHPLC (30 dak.) cihazları kullanılarak 2 ayrı metot geliştirilmiş ve bu metotlar valide edilmiştir. UHPLC metodunun, HPLC metoduna göre fenolik bileşikleri 2,3 kat daha hızlı ayırdığı ve daha az solvent tükettiği belirlenmiştir.
4. Metotların validasyonları (doğrulanması) için incelenen konsantrasyon aralıklarında elde edilen kalibrasyon eğrilerinin belirleme (determinasyon) katsayıları ( $R^2 > 0,99$ ) mükemmel doğrusallığa yani 1'e oldukça yakın olduğu belirlenmiştir. Bu eğrilerden edilen formüller yardımıyla yine metotların doğruluğunun göstergesi olan LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. Her iki metodunda limit değerlerinin oldukça iyi olmasına karşın UHPLC metodundaki limitlerin daha küçük olması bu metodun daha hassas olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca yine validasyon parametrelerinden fenolik bileşiklerin geri kazanım oranlarının %95,5 ile %99,7 arasında oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu fenolik bileşiklerin aronya meyvesinden ekstraksiyonu sırasında önemli kayıplara uğramadan ekstraksiyon solventine transfer edildiği sonucuna ulaşılmıştır. Bunun yanı sıra HPLC-DAD analizlerinin tekrarlanabilirlik varyasyon katsayıları gün içi %2,5-4,7 ve günler arası %0,67-3,52 arasında olması metotların oldukça güvenilir olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, geliştirilen ve doğrulanan bu yöntem gıda endüstrisinde aronya ürünlerinin kalite kontrolü ve kimlik doğrulaması için kullanılabilir nitelikte olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.
5. Her iki çeşitte de 11 adet fenolik bileşik HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> tekniği ile tanımlanmıştır. Bu bileşiklerden 4 tanesinin siyanidin grubu (siyanidin 3-O-galaktozit, siyanidin 3-O-glukozit, siyanidin 3-O-arabinozit ve siyanidin 3-O-kilosit) antosiyanin bileşikleri olduğu ve toplam fenolik bileşik miktarının % 67-68'sini oluşturduğu saptanmıştır. Bu bileşikleri % 27-28'lik bir oranla 2 adet hidroksisinnamik asit (neoklorojenik asit ve klorojenik asit) ve % 5-6'lık oranla 5 adet flavonol (kuersetin 3-O-galaktozit, kuersetin 3-O-glukozit, kuersetin 3-O-rutinozit, kuersetin 3-O-visinozit ve kuersetin 3-O-robinobiozit) takip etmiştir.
6. Viking ve Nero çeşitlerinde HPLC analiz sonuçlarına göre aronya fenolik bileşiklerinin en yüksek grubu olan antosiyaninlerin, toplam miktarları

sırasıyla 437,6 ve 425,3 mg/100 g (ta) olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda toplam hidrokisisinnamik asit miktarları 173,2 ve 179,1 mg/100 g (ta), toplam flavonoller 36,7 ve 37,4 mg/100 g (ta) olmak üzere toplam fenolik bileşik miktarı ise yine sırasıyla 648,1 ve çeşidinde 639,3 mg/100 g (ta) olarak hesaplanmıştır.

7. Daha önceki çalışmalarda aronyanın anavatanı Kuzey Amerika ve Kanada olup, daha sonra göç ve farklı yollarla Rusya ve Kuzey Avrupa'ya yayıldığı, özellikle bu bölgelerde yaygın olarak yetiştirildiği bir nevi soğuk iklim bitkisi ve meyvesi olarak bilinmektedir. Ancak aronyanın Akdeniz iklim kuşağında yer alan ülkemiz koşullarına oldukça iyi adapte olduğu, yapılan analizler sonuçlarına göre bahsi geçen soğuk iklim koşullarında yetiştirilen meyve içerikleriyle benzerlik gösterdiği çalışmamız tarafından ortaya koyulmuştur.
8. Meyve suyu üretiminin temel basamakları olan mayşe enzimasyon, durultma ve filtrasyon basamaklarında tek tek en uygun miktar ve parametreler belirlenmiştir. Enzimasyon işlemi analizleri sonucunda mayşeye 50°C'de 2 saat süreyle ticari ismi Pectinex Ultra Color enzim uygulamasında en uygun dozaj 0,086 mL/kg olarak tespit edilmiştir.
9. Aronya sularına uygulanan 'soğuk durultma' işleminin berrak aronya suyu prosesi için yetersiz kaldığı; daha sonra uygulanan ısıl işlemlerde bulanıklık düzeyinin tekrar arttığı görülmüştür.
10. 'Sıcak durultma' uygulaması sırasında durultma yardımcı maddeleri 50°C'de 5'er dakika ara ile eklenmiş, etkin bir şekilde karıştırıldıktan sonra 1 saat bekletilerek filtre edilmiştir. Durultma yardımcı maddelerinin farklı kombinasyon uygulamaları sonunda en uygun dozajlar sırasıyla bentonit için 2 g/L, jelatin için 0,2 g/L ve Becosol 30 için 1,0 g/L olarak belirlenmiştir.
11. Filtrasyon basamağında kaba filtrasyon işleminin aronya suları için yetersiz kaldığı özellikle berrak meyve suyu elde etmek için membran filtrasyon yöntemlerinin kullanılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.
12. Yine ülkemizde ilk defa yetiştirilen aronya meyvesinin çeşitleri, berrak meyve suyuna işlenmiştir. Gerçekleştirilen meyve suyu optimizasyonu ile meyve suyu endüstrisi için önemli olan temel üretim parametreleri belirlenmiştir. Tez çalışmamızın bu bölümü ülkemiz gıda sanayisinin önemli kollarından biri olan

meyve suyu endüstrisi için de yeni bir ürün kazanımı olarak görülmektedir. Ülkemiz meyve suyu endüstrisinin ürün yelpazesine katacağı bu yeni ürün, uluslararası pazarda ülkemizin rekabet gücünü artıracak ve ekonomik bir girdi sağlayacağı öngörülmektedir.

13. Çalışmamızda Viking ve Nero fenolik bileşiklerinin aronya suyu prosesi sırasında değişimleri incelenmiştir. Mayşe, ısıl işlem uygulanmış mayşe, enzim uygulanmış mayşe, prenslenmiş meyve suyu ve berrak meyve suyu basamaklarında alınan örneklerde fenolik bileşikler HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. Her iki çeşit aronya suyu örneklerinde de en yüksek azalma oranları PMS basamağında belirlenmiş olup, bu azalmanın antosiyaninler dahil tüm aronya fenolik bileşiklerinin bir kısmının posada (preskek) kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bağlamda, meyve suyuna işleme ile açığa çıkacak olan aronya posasının, önemli oranda fenolik maddeyi yapısında barındırmaya devam eden değerli bir gıda işleme yan ürünü olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Söz konusu bu yan ürünün katma değerli ürünlere dönüştürülme potansiyeli üzerine çalışmalar yürütülebilir.
14. Viking ve Nero aronya suyu prosesleri sonunda en yüksek azalma oranları antosiyanin grubunda meydana gelmiş olup aronya fenolik bileşiklerinin başat antosiyanin olan siyanidin 3–galaktozit bileşiğinin sırasıyla %73,20–72,53 oranlarında azaldığı belirlenmiştir. Buna ilaveten siyanidin 3–glukozit, siyanidin 3–arabinozit ve siyanidin 3–ksilozit antosiyanin bileşiklerinde ise Viking çeşidinde sırasıyla %73,59; 80,87 ve 72,07 ve Nero çeşidinde sırasıyla %71,88; 81,95 ve 72,94 oranlarında azalma olduğu hesaplanmıştır.
15. Aronya suyu ve konsantrelerine ait antosiyaninlerin degradasyonunun incelenen tüm ortamlarda birinci derece reaksiyon kinetiğe uygun olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir. Isıtma ve depolama sıcaklıkları arttıkça, aronya antosiyaninlerinin degradasyon hızlarının arttığı görülmüştür.
16. Çalışmamızda, farklı sıcaklıklarda depolanan Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin (68 °Briks) 20°C’de yani oda koşullarına yakın sıcaklıkta renk maddelerinin (antosiyaninler) %50’sinin parçalanma süreleri (yarılanma ömürleri) yaklaşık 4 ay olarak tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra 4°C’de yani soğuk depolama koşullarında ise bu süreler Viking ve Nero çeşitlerinin

sırasıyla yaklaşık 29 ve 23 ay yani 2 yıl olarak belirlenmiştir. Bu bulgular yukarıda bahsedildiği gibi ülkemizde yeni bir ürün olan aronya suyu ve konsantrelerinin depolanma koşullarına ait veriler meyve suyu endüstrisi yönünden oldukça değerli bilgiler olarak düşünülmektedir.

17. Aynı zamanda aronya suyu antosiyaninlerinin ısıl ve depolama stabilitelerinin belirlendiği bu bilimsel çalışmanın literatürdeki konu ile ilgili bir boşluğu doldurduğu düşünülmektedir.
18. Kinetik çalışmalar sonunda asillenmiş antosiyanin içermemesine rağmen aronya antosiyaninlerinin ısıl ve depolama stabilitelerinin kara havuç antosiyaninleri hariç diğer renkli meyve sularına göre oldukça stabil olduğu sonucuna varılmıştır.
19. Çalışmamızda çeşitlerin aronya suyu ve konsantrelerinin antosiyanin parçalanma ölçütleri de belirlenmiş olup sıcaklık ve süre arttıkça renk yoğunluğu azalırken, polimerik renk ve polimerik renk oranının arttığı saptanmıştır. Viking çeşidinde depolamadan önce %19,91 olan PRO değeri 3 ay depolama sonunda 37°C'de %70,79'a 20°C'de %29,01'e ve 4°C'de %24,47'ye kadar yükselmiştir. Yine aynı örneklerin 20°C'de 1yıl depolanma sonrası PRO değerleri %57 ve 4°C'de ise %35 olduğu tespit edilmiştir. Polimerik renk oranının artışı antosiyaninlerin parçalanması ve esmer pigment oluşumun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple bu değerler bakımından özellikle 4°C'de depolanan örneklerin doğal renk özelliklerinin kaybolmasının oldukça yavaş olduğu görülmüştür.
20. Viking ve Nero aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında 20°C'de 1 yıl (12 ay) depolanan örneklerde toplam fenolik madde miktarlarının yaklaşık olarak %50'sinin azaldığı görülmüştür.
21. Aronya suyu konsantrelerinin depolama süresince antioksidan aktivitelerindeki değişimleri de toplam fenolik madde miktarlarında olduğu gibi benzer oranlarda azalma göstermiş olup en hızlı azalma oranı beklenildiği gibi 37°C'de muhafaza edilen örneklerde tespit edilmiştir.
22. Aronya suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda (4, 20 ve 37°C) depolanma süresince, reflektans renk değerlerinden L\* parlaklık değerinin arttığı, a\*

kırmızılık ve b\* sarılık renk değerinin ise azaldığı ve bu azalma miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Tez çalışmasından elde edilen çıktı ve deneyimler doğrultusunda;

- Tez çalışması sırasında aronya meyvesi ve ürünleri yapılan hasat şenlikleri dahil olmak üzere her türlü ulusal ve uluslararası fuar, sempozyum ve kongrede yer alarak oldukça fazla fonksiyonel özellikleri olan bu meyve ülkemiz halkına ve bilim insanlarına tanıtılmıştır.
- Ülkemizde aronya üretiminin hızla arttığı bilinmekle birlikte oldukça zengin bileşikleri olan aronya meyvesinin buruk tadından dolayı meyve olarak tüketilme tercihleri sınırlıdır. Bu sebeple gıda olarak tüketimi daha tercih edilen ürünlere işlemek oldukça önemlidir. Bu tez çalışması sırasında özellikle meyve suyu optimizasyon basamağından sonra pek çok kere aronya suyu üretilmiş ve oldukça iyi geri dönüşler alınmış aronya meyve suyu tüketiciler tarafından beğenilmiştir. Buna ilaveten tez çalışması süresince yeni fikirler üretilmiş meyve suyu prosesinin bir çıktısı olan aronya posası kurutularak meyve çayı veya öğütülerek toz halinde pastacılık ve fırıncılık ürünlerine katkı maddesi olarak deneme ve tanıtım amaçlı kullanılmıştır.
- Yine görülmüştür ki, aronyanın katma değeri yüksek aronya çayı, unu, sirkesi, marmeladı, reçeli vb. farklı ürünlere işleme yöntemlerinin ve koşullarının optimize edildiği yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu tez çalışmasının sonuçlarından biri olarak aronyanın renginden sorumlu olan antosiyaninlerin oldukça stabil olduğu ve farklı gıda ürünlerinde fonksiyonel ve doğal gıda boyası olarak kullanılabilieceği önerilmektedir



## KAYNAKLAR

- Abascal, K. Ganora, L., Yarnell, E., (2005). The effect of freeze-drying and its implications for botanical medicine: A review. *Phyther. Res.*, 19: 655-660.
- Alara O. R. Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4: 200-214.
- Alighourchi, H. Barzegar, M. (2009). Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90: 179–185.
- Ali, M. Lee, E. B., Lee, S. J., Lee, S. P., Boby, N., Suk, K., ... & Park, S. C. (2021). *Aronia melanocarpa* extract fermented by *Lactobacillus plantarum* EJ2014 Modulates Immune Response in Mice. *Antioxidants*, 10(8): 1276.
- Andrzejewska, J. Sadowska, K., Rogowski, L. (2015). The effect of plant age and harvest time on the content of chosen components and antioxidative potential of black chokeberry fruit. *Acta Sci. Pol. Hort. Cult.*, 14 (4): 105-114.
- Antolovich, M. Prenzler, P., Robards, K., Ryan, D., (2000). Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *Analyst* .,125, 989-1009.
- Anton, D. Koskar, J., Raudsepp, P., Meremäe, K., Kaart, T., Püssa, T., Roasto, M. (2019). Antimicrobial and antioxidative effects of plant powders in raw and cooked minced pork. *Foods*, 8, 1–18.
- Appel, K., Meiser, P., Millán, E., Collado, J. A., Rose, T., Gras, C. C., Carle, R., Muñoz, E. (2015). Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) concentrate inhibits NF-κB and synergizes with selenium to inhibit the release of pro-inflammatory mediators in macrophages. *Fitoterapia*, 105: 73-82.
- Apak, R. Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins c and e, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52:7970-7981.
- Bąkowska, A., Kucharska, A. Z., Oszmiański, J. (2002). The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin–polyphenol copigment complex. *Food Chemistry*, 81: 349–355.
- Bakuradze, T., Meiser, P., Galan, J., & Richling, E. (2021). DNA Protection by an aronia juice-based food supplement. *Antioxidants*, 10(6): 857.
- Banjari, I., Misir, A., Šavikin, K., Jokić, S., Molnar, M., De Zoysa, H. K. S., Waisundara, V. Y. (2017). Antidiabetic effects of *Aronia melanocarpa* and its other therapeutic properties. *Frontiers in Nutrition*, 4:53.
- Benvenuti, S. Pellati, F., Melegari, M., Bertelli, D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of *Rubus*, *Ribes*, and *Aronia*. *J Food Sci; Food Chemistry and toxicology*, 69 (3):64–169.

- Bermúdez-Soto, M. J., Tomás-Barberán, F. A. (2004). Evaluation of commercial red fruit juice concentrates as ingredients for antioxidant functional juices. *European Food Research and Technology*, 219: 133–141.
- Bermúdez-Soto, M. Tomás-Barberán, F. A., Garciaconesa, M. (2007). Stability of Polyphenols in Chokeberry (*Aronia Melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102(3):865–74.
- Bingöl, A. (2019). *Çilek antosiyaninlerinin ısıl stabilitesi üzerine farklı amino asitlerin etkisi* [Yüksek Lisans Tezi] Ankara Üniversitesi.
- Bhaswant, M. Shafie, S. R., Mathai, M. L., Mouatt, P., Brown, L. (2017). Anthocyanins in chokeberry and purple maize attenuate diet-induced metabolic syndrome in rats. *Nutrition*, 41:24–31.
- Bolling, B.W. Taheri, R., Pei, R., Kranz, S., Yu, M., Durocher, S.N., and Brand, M.H. (2015). Harvest date affects aronia juice polyphenols, sugars, and antioxidant activity, but not anthocyanin stability. *Food Chem.* 187: 189–196.
- Boranbeyava, T. (2011). *Karadut suyunda bileşikler ve aktivitenin depolamada değişimi* [Yüksek Lisans Tezi] Ankara Üniversitesi,
- Borowska, E.J. Szajdek, A., Czaplücki, S. (2009). Effect of heat and enzyme treatment on yield, phenolic content and antioxidant capacity of juices from chokeberry mash. *Ital. J. Food Sci.*, 2, vol. 21.
- Bownmiller, C., Howard, L.R., Prior, R. L. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *Journal of food science*, Vol. 73, Nr. 5.
- Boz, Y., Poyraz Engin, S., Öztürk, A., Çetin, G., Bıyıklı, M. (2021). Yeni üzümü meyve aronya (*Aronia melanocarpa* (michx) elliot). T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Enstitü Yayın No: 113.
- Brand, M.H. (2010). Aronia: Native shrubs with untapped potential. *Arnoldia*, 67: 14–25.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, Ma. de L., Paez-Hernandez, Ma. E., Rodriguez, J. A. and Galan-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem.*, 113, 859–871.
- Cemeroğlu, B. (2010). *Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler*. Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34.
- Cemeroğlu, B. (2011). *Meyve ve Sebze Teknolojisi* (1.Cilt). Nobel Akademik Yayıncılık, 1.Basım, Yenimahalle, Ankara.
- Cemeroğlu, B. (2015). *Reaksiyon Kinetiği (Gıdaların Bozulma Kinetiği)*. Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Chandra, A. Rana, J., 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.
- Chen, F. Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., Wang, Z. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochem.*, 14: 767-778.

- Chrubasik, C. Li, G., Chrubasik, S. (2010). The clinical effectiveness of chokeberry: A systematic review. *Phytotherapy Research*, 24: 1107–1114.
- Choi, H. S. Kim, J. H., Kim, S. L., Deng, H. Y., Lee, D., Kim, C. S., Yun, B. S., Lee, D. S. (2018). Catechol derived from aronia juice through lactic acid bacteria fermentation inhibits breast cancer stem cell formation via modulation Stat3/IL-6 signaling pathway. *Molecular Carcinogenesis*, 57: 1467–1479.
- Cindrić, J. I. Zeiner, M., Mihajlov-Konanov, D., and Stingeder, G. (2017). Inorganic macro- and micronutrients in “superberries” black chokeberries. *Int J Environ Res Public Health*. 14(5): 539. doi: 10.3390/ijerph14050539
- Crozier, A. Jaganath, I.B., Clifford, M.N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), pp. 1001-1043.
- Ćujić, N. Kardum, N., Šavikin, K., Zdunić, G., Janković, T., Menković, N. (2018). Potential of chokeberry (*Aronia Melanocarpa* L.) as a therapeutic food. *Therapeutic Foods*, 209–237.
- Çapanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., De Vos, R.C.H., Hall, R.D. (2010). The effect of industrial food processing on potentially health beneficial tomato antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50: 919-930.
- Del Bó, C. Riso, P., Campolo, J., Møller, P., Loft, S., Klimis-Zacas, D., Brambilla, A., Rizzolo, A., Porrini, M. (2013). A single portion of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) improves protection against DNA damage but not vascular function in healthy male volunteers. *Nutr. Res.*, 33: 220–227.
- Demircan, H. (2019). *Farklı fenolik bileşiklerin enkapsülasyonunda bazı gamların etkilerinin belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi] Bursa Teknik Üniversitesi.
- Denev, P. Ciz, M., Ambrozova, G., Lojek, A., Yanakieva, I., Kratchanova, M. (2010). Solid-phase extraction of berries’ anthocyanins and evaluation of their antioxidative properties. *Food Chem.*, 123(4):1055–61.
- Denev, P. Kratchanova, M., Petrova, I., Klisurova, D., Georgiev, Y., Ognyanov, M., Yanakieva, I. (2018). Black chokeberry (*Aronia Melanocarpa* (Michx.) Elliot) fruits and functional drinks differ significantly in their chemical composition and antioxidant activity. *J. Chem.*, 1–11.
- De Torres, C., Díaz-Maroto, M.C., Hermosín-Gutiérrez, I., Pérez Coello, M.S., (2010) Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin. *Anal. Chim. Acta*, 660: 177-182.
- Djuric, M., Brkovic, D.U.Š.K.O., Milosevic, D., Pavlovic, M., and Curcic, S. (2015). Chemical characterization of the fruit of black chokeberry grown on different types of soil. *REV CHIM* (Bucharest). 66: 178–781.
- Drożdż, W., Boruckowska, H., Boruckowski, T., Tomaszewska-Ciosk, E., Zdybel, E. (2019). Use of blackcurrant and chokeberry press residue in snack products. *Polish Journal of Chemical Technology*, 21(1): 13–19.
- Dyrby, M., Westergaard, N., Stapelfeldt, H. (2001). Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chemistry*, 72: 431–437.
- Engels, G. Brinckmann, J. (2014). Black Chokeberry *Aronia melanocarpa*. *HerbalGram, The Journal of American Botanical Council*, (101): 1-5.

- Erbay, B. (2011). *Karadut antosiyaninlerinin ısı ve depolama stabilitesi* [Doktora tezi] Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Erceyes, E. (2014). *Vişne suyu konsantresinin üretim ve depolama süresince kalite değişimleri* [Yüksek Lisans Tezi] Gaziosmanpaşa Üniversitesi.
- Esatbeyoglu, T. Hillebrand, S., Winterhalter, P. (2010). Analysis of phenolic constituents in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) juices. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau: Zeitschrift für Lebensmittelkunde und Lebensmittelrecht* 106(7):374–382.
- Espín, J. C. Soler-Rivas, C., Wichers, H. J., García-Viguera, C. (2000). Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1588–1592.
- Fidancı, A. (2015). Türkiye İçin Yeni Bir Minör Meyve: Aronia Bitkisi ve Yetiştirme Teknikleri, VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 25-29 Ağustos Çanakkale, 1177-1180.
- Gajic, D. Saksida, T., Koprivica, I., Vujicic, M., Despotovic, S., Savikin, K., Stojanovic, I. (2020). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) fruit extract modulates immune response in vivo and in vitro. *Journal of Functional Foods*, 66: 103836.
- Garzon, G.A. and Wrolstad, R.E. (2002). Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 67: 1288–1299.
- Gill, N. K., Rios, D., Osorio-Camacena, E., Mojica, B. E., Kaur, B., Soderstrom, M. A., Gonzales, M., Plaat, B., Poblete, C., Kaur, N., Singh, H., Forester, S. C. (2021). Anticancer effects of extracts from three different chokeberry species. *Nutrition and Cancer*, 73(7):1168-1174.
- Giusti, M. M. Wrolstad, R. E. (2001). Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wrolstad, R.E. and Schwartz, S.J. (eds.), John Wiley & Sons, pp. 1–13, New York, NY.
- Gralec, I.W.M. (2019). *Aronia melanocarpa* berries: Phenolics composition and antioxidant properties changes during fruit development and ripening. *Emir. J. Food Agric.*, 31:214–221.
- Gras, C. Carle, R., Schweiggert, R. M. (2015). Determination of anthocyanins from black carrots by UHPLC-PDA after ultrasound-assisted extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44: 170–177.
- Gras, C. Bogner, H., Carle, R., Schweiggert, R. M. (2016). Effect of genuine non-anthocyanin phenolics and chlorogenic acid on color and stability of black carrot (*Daucus carota ssp. sativus var. atrorubens* Alef.) anthocyanins. *Food Research International*, 85: 291–300.
- Gülcü, M. (2008). *Durultma yardımcı maddelerinin üzüm suyu kalitesi üzerine etkiler* [Yüksek Lisans Tezi] Namık Kemal Üniversitesi.
- Gülcü, M. Dağlıoğlu, F. (2018). Kırmızı üzüm suyu üretim sürecinde resveratrol miktarı ve biyoaktif özelliklerde meydana gelen değişimler. *Gıda*, 43 (2): 321-332.

- Güzel, N. (2010). *Nar suyu konsantresi üretim aşamalarında prosiyanidinlerdeki değişimler* [Yüksek Lisans Tezi] Ankara Üniversitesi.
- Hager, T. J. Howard, L. R., Prior, R. L. (2008a). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. *J. Agric. Food Chem.*, 56: 689–695.
- Hager, A. Howard, L. R., Prior, R. L., Brownmiller, C. (2008b). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymer color, and antioxidant capacity of processed black raspberry products. *J. Food Sci.*, 73: H134–H140.
- Hellströma, J. K. Shikovic, A. N., Makarovac, M. N., Pihlantoa, A. M., Pozharitskayac, O. N., Ryhänenä, E. L., Kivijärviä, P., Makarovic, V. G., Mattilaa, P. H. (2010). Blood pressure-lowering properties of chokeberry (*Aronia mitchurinii*, var. Viking). *Journal of functional foods*, 2: 163 – 169.
- Horbowicz, M. Kosson, R., Grzesiuk, A., Debski, H. (2008). Anthocyanins of fruits and vegetables - their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Vegetable crops research bulletin* 68: 5-22.
- Hofsommer, H. J. Koswig, S. (2005). Zum Nachweis von Aronia in schwarzer Johannisbeere. *Flüssiges Obst*, 72: 289 – 93.
- Huang, Y.N. Zhao, Y.L., Gao, X.L. (2010). Intestinal  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity and toxicological evaluation of *Nymphaea stellata* flowers extract. *J. Ethnopharmacol.*, 131:306-312.
- ICH, (2005). Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1) m:ICH Guidelines. [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q2\\_R1/Step4/Q2\\_R1\\_\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf).
- Imai, M. Yamane, T., Kozuka, M. (2020). Caffeoylquinic acids from aronya juice inhibit both dipeptidyl peptidase IV and  $\alpha$ -glucosidase activities. *LWT-Food Sci. Technol.*, 129:109544
- Iwashima, T. Kudome, Y., Kishimoto, Y., Saita, E., Tanaka, M., Taguchi, C., ... Iida, K. (2019). Aronia berry extract inhibits TNF- $\alpha$ -induced vascular endothelial inflammation through the regulation of STAT3. *Food and Nutrition Research*, 63: 1–8.
- Jakobek, L. Seruga, M., Medvidovic –Kosanovic, M., Nova, I. (2007). Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* r 103. Jahrgang, Heft 2:58-64.
- Jakobek, L. Drenjancevi, M., Jukic, V., Seruga, M. (2012). Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. *Scientia Horticulturae*, 147: 56–63.
- Jeon, Y. D., Kang, S. H., Moon, K. H., Lee, J. H., Kim, D. G., Kim, W., Kim, J. S., Ahn, B. Y., Jin, J. S. (2018). The effect of aronia berry on type 1 diabetes In Vivo and In Vitro. *Journal of Medicinal Food*, 21: 244–253.
- Jeppsson, N. (2000). The effect of cultivar and cracking on fruit quality in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and hybrids between chokeberry and rowan (*Sorbus*). *Gartenbauwissenschaft*, 65: 93–8.

- Jung, H. Lee, H. J., Cho, H., Lee, K., Kwak, H. K., Hwang, K. T. (2015). Anthocyanins in Rubusfruits and antioxidant and anti-inflammatory activities in RAW 264.7 cells. *Food Sci Biotechnol.*, 24:1879–1886.
- Jurendić, T. Ščetar, M. (2021). *Aronia melanocarpa* Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review. *Antioxidants*, 10: 1052.
- Kapçı, B. (2013). Characteristic components and antioxidant potential of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. Istanbul Technical University, Graduate School of Science Engineering and Technology, Department of Food Engineering.
- Kara, Ş. (2012). *Physicochemical and rheological properties of red colored fruit juice concentrates and their sauces* [Yüksek Lisans Tezi] Gaziantep Üniversitesi.
- Karabulut, G., Yemiş, O. (2019). Fenolik bileşiklerin bağlı formları ve biyoyararlılığı. *Akademik Gıda* 17(4), 526-537.
- Karaca, E. (2011). *Nar suyu konsantresi üretiminde uygulanan bazı işlemlerin fenolik bileşenler üzerine etkisi* [Yüksek Lisans Tezi] Çukurova Üniversitesi.
- Karagöz, I. (2019). *Karadut suyu ve konsantresi üretiminde membran proses uygulamalarının ürün kalitesine etkileri* [Yüksek Lisans Tezi] Hitit Üniversitesi.
- Kaličanin, B. Velimirović, D., Nešić, I. (2022). A study on mineral composition of *Aronia melanocarpa* as a functional food with potential therapeutic properties. *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 61, No. 1: 53–60.
- Kechinski, C. P. Guimaraes, P. V. R., Norena, C. P. Z., Tessaro, I. C., Marczak, L. D. F. (2010). Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *J. Food Sci.*, 75:C173–C176.
- Kędzierska, M. Głowacki, R., Czernek, U., Szydłowska-Pazera, K., Potemski, P., Piekarski, J., et al. (2013a). Changes in plasma thiol levels induced by different phases of treatment in breast cancer; the role of commercial extract from black chokeberry. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 372: 47–55.
- Kędzierska, M. Malinowska, J., Kontek, B., Kołodziejczyk-Czepas, J., Czernek, U., Potemski, P., Piekarski, J., Jeziorski, A., Olas, B. (2013b). Chemotherapy modulates the biological activity of breast cancer patients plasma: the protective properties of black chokeberry extract. *Food Chem Toxicol.*, 53: 126-32.
- King, E. S. Bolling, B. W. (2020). Composition, polyphenol bioavailability, and health benefits of aronia berry: A review. *Journal of Food Bioactives*, 11:13-30.
- Kırca, A. (2004). *Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi* [Doktora tezi] Ankara Üniversitesi.
- Kırca, A. Ozkan, M., Cemeroglu, B. (2007). Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chem.* 101:212–218.
- Kim, B. Ku, C. S., Pham, T. X., Park, Y., Martin, D. A., Xie, L., Taheri, R., Lee, J., Bolling B. W. (2013). *Aronia melanocarpa* (chokeberry) polyphenol-rich extract improves antioxidant function and reduces total plasma cholesterol in apolipoprotein E knockout mice. *Nutrition Research*, 33: 406–413.

- Kobus, Z., Nadulski, R., Wilczyński, K., Kozak, M., Guz, T., Rydzak, L. (2019). Effect of the black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) juice acquisition method on the content of polyphenols and antioxidant activity. *PLoS one*, 14, e0219585.
- Koç, E. K. (2013). *Nar sularının çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve konsantrelerin depolanması sürecinde bileşimindeki değişimler* [Doktora tezi], Ankara Üniversitesi.
- Kokotkiewicz, A., Jaremicz, Z., Luczkiewicz, M. (2010). Aronia Plants: A Review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *J. Med. Food*, 13:255–269.
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., Brouillard R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923–933.
- Kulling, S., Rawel, H. (2008). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica*, 74(13):1625–1634.
- Kumar, V., Prakash, O., Kumar, S. (2011).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from plants: a natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn. Rev.*, 5:19- 29.
- Lachowicz, S., Oszmiański, J., Kalisz, S. (2018). Effects of various polysaccharide clarification agents and reaction time on content of polyphenolic compound, antioxidant activity, turbidity and colour of chokeberry juice. *LWT - Food Science and Technology*, 92: 347–60.
- Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2002). Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, Vol. 67, Nr. 5: 1660-1667.
- Lee, J. E., Kim, G. S., Park, S., Kim, Y. H., Kim, M. B., Lee, W. S., Jeong, S. W., Lee, S. J., Jin, J. S., Shin S. C. (2014). Determination of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenol components using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: overall Contribution to antioxidant activity. *Food Chemistry*, 146:1–5.
- Liu, X., Martin, D. A., Valdez, J. C., Sudakaran, S., Rey, F., Bolling, B. W. (2021). Aronia berry polyphenols have matrix-dependent effects on the gut microbiota. *Food Chemistry*, 359, 129831.
- Lupascu, N., Candar, E., Cherim, M., Erimina, C. L., Sirbu, R. (2019). Research concerning the efficiency of *Aronia melanocarpa* for pharmaceutical purpose. *European Journal of Medicine and Natural Sciences*, 2(2): 1-7.
- Malien-Aubert, C., Dangles, O., Amiot, M. J. (2001). Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra- and intermolecular copigmentation. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 170–176.
- Mahoney, J.D., Hau, T.M., Connolly, B.A., and Brand, M.H. (2019). Sexual and apomictic seed reproduction in aronia species with different ploidy levels. *HortSci.*, 54(4): 642–646.
- Mayer-Miebach, E., Adamiuk, M., Behnlian, D. (2012). Stability of chokeberry bioactive polyphenols during juice processing and stabilization of a polyphenol-rich material from the by-product. *Agriculture*, 2:244–258.

- Mckay, S. A. (2001). Demand increasing for aronia and elderberry in North America. *New York Fruit Quarterly*, 9(3): 2-3.
- Milutinović, M. Radovanović, R.V., Šavikin, K., Radenković, S., Arvandi, M., Pešić, M., Kostić, M., Miladinović, B., Branković, S., Kitić, D. (2019). Chokeberry juice supplementation in type 2 diabetic patients – Impact on health status. *J. Appl. Biomed.*, 17: 218-224.
- Mikulic-Petkovsek, M. Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R. (2012). HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. *Food Chem.*, 135: 2138-2146.
- Naczka, M. Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A.*, 1054, 95–111.
- Najda, A., Łabuda, H. (2013). Content of phenolic compounds and antioxidant properties of fruits of selected orchard shrub species. *Modern Phytomorphology* 3: 105–109.
- Nayak, B., Liu, R. H., Juming Tang, J. (2015). Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55:7, 887-919.
- Neveu, V. Perez-Jimenez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., Knox, C., Eisner, R., Cruz, J., Wishart, D., Scalbert, A. (2010). Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. Database, bap024–bap024.
- Norat, T. Scoccianti, C., Boutron-Ruault, M. C., Anderson, A., Berrino, F., Cecchini, M., Espina, C., Key, T., Leitzmann, M., Powers, H., Wiseman, M., Romieu, I. (2015). European Code against Cancer 4<sup>th</sup> Edition: Diet and cancer. *Cancer Epidemiol.*, 39: S56–S66.
- Oancea, A. M. Onofrei, C., Turturică, M., Bahrim, G., Râpeanu, G., Nicoleta Stănciuc, N. (2018). The kinetics of thermal degradation of polyphenolic compounds from elderberry (*Sambucus nigra* L.) extract. *Food Science and Technology International*, 1–9.
- Ochmian, I. Grajkowski, J., Smolik, M. (2012). Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of choke berry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40: 253–260.
- Oniszczyk, T. Widelska, G., Oniszczyk, A., Kasprzak, K., Wójtowicz, A., Olech, M., Nowak, R., Wojtunik-Kulesza, K., Józwiak, G., Hajnos, M. W. (2019). Influence of production parameters on the content of polyphenolic compounds in extruded porridge enriched with chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott). *Open Chemistry*, 17: 166–176.
- Orikasa T. S. Koide, Okamoto S., Imaizumi T., Muramatsu Y., Takeda J., Shiina T., Tagawa A. (2014). Impacts Of hot air and vacuum drying on the quality attributes of kiwifruit slices. *Journal of Food Engineering*, 125: 51–58.
- Oszmianski, J. Wojdyło, A. (2005). *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol.*, 221: 809–13.



- Pavlović, A.N. Brčanović, J.M., Veljković, J.N.; Mitić, S.S., Tošić, S.B., Kaličanin, B.M., Kostić, D.A., Dorđević, M.S., Velimirović, D.S. (2015). Characterization of commercially available products of aronia according to their metal content. *Fruits*, 70: 385–393.
- Picó, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 43, 84-99.
- Pokimica, B. García-Conesa, M.T., Zec, M., Debeljak-Martačić, J., Ranković, S., Vidović, N., Petrović-Oggiano, G., Konić-Ristić, A., Glibetić, M., (2019) Chokeberry juice containing polyphenols does not affect cholesterol or blood pressure but modifies the composition of plasma phospholipids fatty acids in individuals at cardiovascular risk. *Nutrients*, 11: 1-20.
- Popović, K. Pozderović, A., Jakobek, L., Rukavina, J., Pichler, A. (2016). Concentration of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) juice by nanofiltration. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55, 2, 159-170.
- Poyraz Engin, S., Boz, Y. (2019). Türkiye ve dünyada aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) yetiştiriciliği. *Bahçe* 48 (Özel Sayı 1): 247–252.
- Poyraz Engin, S. (2020). ‘Nero’ ve ‘Viking’ aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) çeşitlerinin agromorfolojik özellikleri ve farklı olgunluk seviyelerindeki meyve kalite parametrelerinin belirlenmesi [Doktora tezi] Uludağ Üniversitesi.
- Poyraz Engin, S., Mert, C. (2020). The effects of harvesting time on the physicochemical components of aronia berry. *Turk J Agric For.*, (44): doi:10.3906/tar-1903-130.
- Rahmani, J., Clark, C., Kord Varkaneh, H., Lakiang, T., Vasanthan, L.T., Onyeche, V., Zhang, Y. (2019). The effect of Aronia consumption on lipid profile, blood pressure, and biomarkers of inflammation: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytother Res.*, 33(8): 1981–1990.
- Romani, A. Vignolini, P., Ieri, F., Heimler, D. (2016). Polyphenols and volatile compounds in commercial chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Nat. Prod. Commun.*, 11, 99–102.
- Rein, M. J. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (dissertation). EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, pp. 88 + 34.
- Rodríguez-Werner, M. Winterhalter, P., Esatbeyoglu, T. (2019). Phenolic composition, radical scavenging activity and an approach for authentication of *Aronia melanocarpa* berries, juice, and pomace. *J. Food Sci.*, 84:1791-1798.
- Rop, O. Mlcek, J., Jurikova, T., Valsikova, M., Sochor, J., Reznicek, V., Kramarova, D. (2010). Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation Inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) Cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(22):2431–37.
- Sadilova, E. Carle, R., Stintzing, F. C. (2007). Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(12): 1461–1471.

- Sharif, T., Alhosin, M., Auger, C., Minker, C., Kim, J. H., Etienne-Selloum, N., Bories, P., Grronemeyer, H., Lobstein, A., Bronner, C., Fuhrmann, G., Schini-Kerth, V. B. (2012). *Aronia melanocarpa* juice induces a redox-sensitive p73-related caspase 3-dependent apoptosis in human leukemia cells. *PloS one*, 7(3), e32526.
- Shofian, N. M., Hamid, A. A., Osman, A., Saari, N., Anwar, F., Dek, M. S. P., Hairuddin, M. R. (2011). Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 4678–4692.
- Sidor, A. Gramza-Michałowska, A. (2019). Black chokeberry *Aronia melanocarpa* L. –a qualitative composition, phenolic profile and antioxidant potential. *Molecules*, 24(20): 3710.
- Sidor, A., Drożdżyńska, A., Gramza-Michałowska, A. (2019). Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and its products as potential health-promoting factors- An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 89: 45-60.
- Sidor, A. Drożdżyńska, A., Brzozowska, A., Artur Szwengiel, A., Gramza-Michałowska, A. (2020). The Effect of plant additives on the stability of polyphenols in cloudy and clarified juices from black chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Antioxidants*, 9: 801.
- Skoczyńska, A. Jędrychowska, I., Poręba, R., Affelska-Jercha, A., Turczyn, B., Wojakowska, A., Andrzejak, R. (2007). Influence of chokeberry juice on arterial blood pressure and lipid parameters in men with mild hypercholesterolemia. *Pharmacol. Rep.*, 59: 177–182.
- Skupień, K. Oszmiański, J. (2007). The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. *Agricultural and Food Science*, 16: 46–55.
- Skupień, K. Ochmian, I., Grajkowski J. (2008). Influence of mineral fertilization on selected physical features and chemical composition of aronia fruit. *Acta Agrophysica*, 11(1): 213-226
- Slimestad, R. Torskangerpoll, K., Nateland, H. S., Johannessen, T., Giske, N. H. (2005). Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 61–68.
- Smith, J. D. (2013). Midwest aronia association presentation. <https://doczz.net/doc/1642467/aronia---midwest-aronia-association>.
- Šnebergrová, J. Čížková, H., Neradová, E., Kapcí, B., Rajchl, A., Voldrich, M. (2014). Variability of characteristic components of aronia. *Czech Journal of Food Science*, 32(1): 25–30.
- Staroszczyk, H. Kusznierewicz, B., Malinowska-Pańczyk, E., Sinkiewicz, I., Gottfried, K., Kołodziejska, I. (2020). Fish gelatin films containing aqueous extracts from phenolic-rich fruit pomace. *LWT-Food Sci. Technol.*, 117: 108613.
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.*, 30: 3268 – 3295.

- Strigl, A. W., Leitner, E., Pfannhauser, W. (1995). Qualitative und quantitative analyse der anthocyane in schwarzen apfelbeeren (*Aronia melanocarpa* Michx. Ell.) mittels TLC, HPLC. *Z Lebensm Unters Forsch* 201:266–268.
- Szopa, A., Ekiert, H., Muszyńska, B. (2013). Accumulation of hydroxybenzoic acids and other biologically active phenolic acids in shoot and callus cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (black chokeberry). *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 113, 323-329.
- Sójka, M., Krzysztof Kołodziejczyk, K., Milala, J. (2013). Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by-products. *Industrial Crops and Products* 51:77–86.
- Švarc-Gajić, J., Cerdà, V., Clavijo, S., Suárez, R., Zengin, G., Cvetanović, A. (2019). Chemical and bioactivity screening of subcritical water extracts of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) stems. *J Pharm Biomed Anal.*, 164: 353-359.
- Taheri, R. (2011). Polyphenol composition of underutilized aronia berries and changes in aronia berry polyphenol content through ripening. University of Connecticut, *Master of Science Thesis*.
- Taheri, R., Connolly, B. A., Brand, M. H., Bolling, B. W. (2013). Underutilized Chokeberry (*Aronia melanocarpa*, *Aronia arbutifolia*, *Aronia prunifolia*) accessions are rich sources of anthocyanins, flavonoids, hydroxycinnamic acids, and proanthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.*, 61: 8581–858
- Tanaka T., Tanaka A. (2001). Chemical components and characteristics of black chokeberry. *J Jpn Soc Food Sci Technol*; 48: 606–10.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669–675.
- Thilavech, T., Adisakwattana, S. (2019). Cyanidin-3-rutinoside acts as a natural inhibitor of intestinal lipid digestion and absorption. *BMC Complement. Altern. Med.*, 19: 1–10.
- Tian, Y., Liimatainen, J., Alanne, A. L., Lindstedt, A., Liu, P., Sinkkonen, J., Heikki Kallio, H. (2017). Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. *Food Chemistry*, 220: 266–281.
- Tiwari, B.K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC – Trends Anal. Chem.*, 71: 100-109.
- Tolić, M.T. Jurcevic, I. L., Krbavcic, I.P., Markovic, K., Vahcic, N. (2015). Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Food Tech. Biotech.*, 53(2): 171-179.
- Tolić, M.T., Krbavčić, I.P., Vujević, P., Milinović, B., Jurčević, I.L., Vahčić, N. (2017). Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 67 (1): 67-74.
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2:1231-1246.

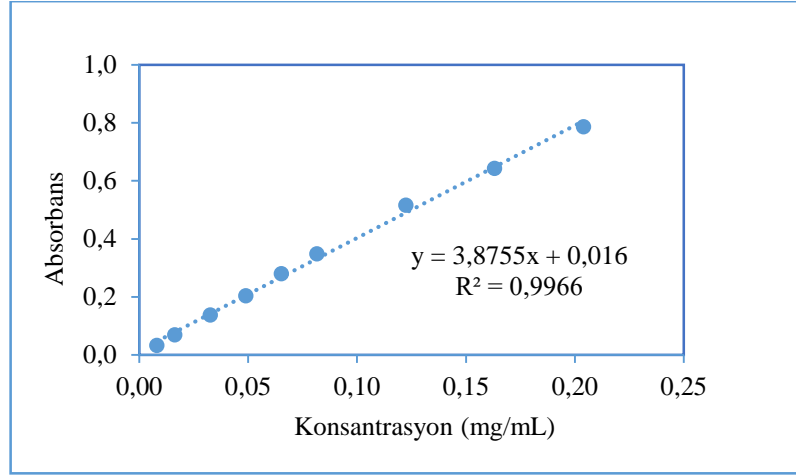
- Turfan, Ö. (2008). *Nar suyu konsantresi üretimi ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler* [Yüksek Lisans Tezi] Ankara Üniversitesi.
- Turroni, F. Milani, C., Duranti, S., Ferrario, C., Ventura, M. (2017). Bifidobacteria and the infant gut: an example of co-evolution and natural selection. *Cell Mol Life Sci.*, 75:1–16.
- Turturică, M. Stănciuc, N., Mureşan, C., Râpeanu, G., Constantin Croitoru, C. (2018). Journal of food quality thermal degradation of plum anthocyanins: Comparison of kinetics from simple to natural systems. *Journal of Food Quality*, Volume 2018, Article ID 1598756, 10 pages.
- Ünal, H. (2019). *Nar ve portakaldan oluşan karışık meyve suyuna eklenen amino asitlerin antosiyaninlerin ısıl stabilitesi üzerine etkisi* [Yüksek Lisans Tezi] Ankara Üniversitesi.
- Vagiri, M. Jensen, M. (2017). Influence of juice processing factors on quality of black chokeberry pomace as a future resource for colour extraction. *Food Chemistry* 217:409–17.
- Valcheva-Kuzmanova, S., Kuzmanov, K., Tancheva, S., Belcheva, A. (2007). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Aronia melanocarpa* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 29: 101–105
- Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, V.A., Espada-Bellido, E., Ferreira-González, M., Toledo-Domínguez, J.J., Carrera, C., Barbero, G. (2019). Ultrasound-Assisted Extraction of Two Types of Antioxidant Compounds (TPC and TA) from Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.): Optimization of the Individual and Simultaneous Extraction Methods. *Agronomy*, 9(8): 456.
- Veberic, R. Slatnar, A., Bizjak, J., Stampar, F., Mikulic-Petkovsek, M. (2015). Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species. *LWT - Food Science and Technology*, 60: 509–517.
- Viskeliš, P., Bobinaite, R., Rubinskiene, M., Sasnauskas, A., Lanauskas, J. (2012). chemical composition and antioxidant activity of small fruits. *Horticulture*, 5: 75–102.
- Wada, L. Ou, B. (2002). Antioxidant activity and phenolic content of oregon caneberries. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 3495–3500.
- Wang, W. D., Xu, S. Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82: 271–275.
- Wang, W. D. Xu, S. Y., Jin, M. K. (2009). Effects of different maceration enzymes on yield, clarity and anthocyanin and other polyphenol contents in blackberry juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 2342–2349.
- Walkowiak-Tomczak, D. (2007). Changes in antioxidant activity of black chokeberry juice concentrate solutions during storage. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 6(2): 49-55.
- Walkowiak-Tomczak, D., Czapski, J., Młynarczyk, K. (2016). Assessment of colour changes during storage of elderberry juice concentrate solutions using the optimization method. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 15(3):299–309.

- Wilkes, K., Howard, L. R., Brownmiller, C., Prior, R. L. (2014). Changes in chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) polyphenols during juice processing and storage. *J. Agric. Food Chem.*, 62: 4018–4025. doi.org/10.1021/jf404281n
- Wilska-Jeszka, J. and Korzuchowska, A. (1996). Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation. Influence on the color of strawberry and chokeberry juices. *Food Research and Technology*, 203, 38–42.
- World Health Organization Cancer (2022). www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer (Erişim tarihi: 28.05.2022).
- Wrolstad, R. E. Durst, R. W., Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology* 16(9):423–28.
- Wu, X. Gu, L., Prior, R. L., Mckay, S. (2004). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7846–7856.
- Xiaonan Sui, X., Bary, S., Zhou, W. (2016). Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. *Food Chemistry*, 192; 516-524.
- Yalmançı, D. (2019). *Berrak nar suyu konsantrelerinde işleme sonrası oluşan tortunun kimyasal karakterizasyonu* [Yüksek Lisans Tezi] Sakarya Üniversitesi.
- Yavaş, O. (2020). *Karadut Konsantresinin üretimi ve depolanması sırasında bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerde meydana gelen değişmeler* [Yüksek Lisans Tezi] Atatürk Üniversitesi.
- Yemiş, O., Arslantürk, H. G. (2016). Berrak nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık oluşumu. *Akademik Gıda*, 14(3): 275-283.
- Zheng, W., Wang, S. Y. (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 502–509.

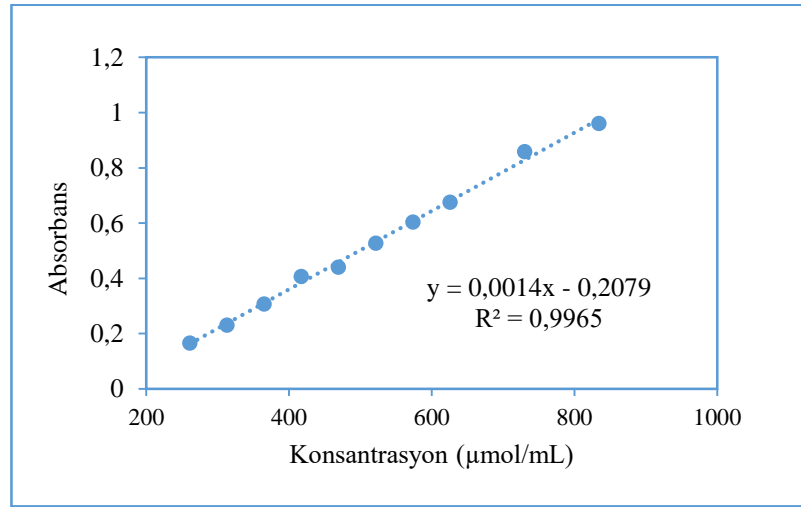


## EKLER

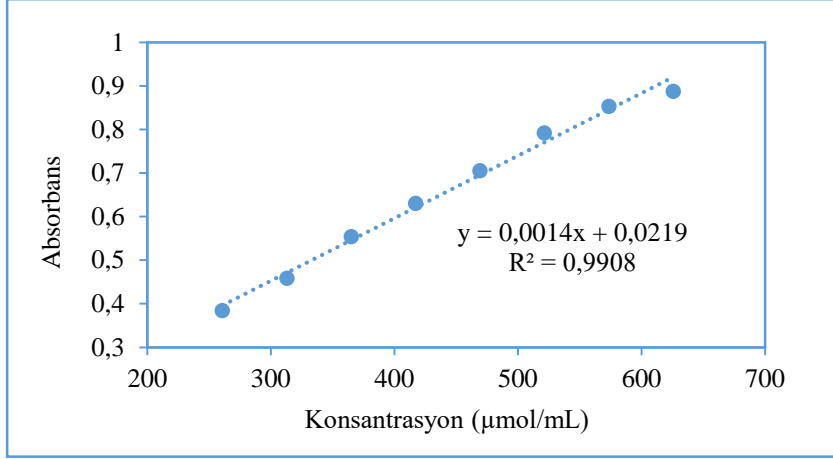
### EK A. Şekiller



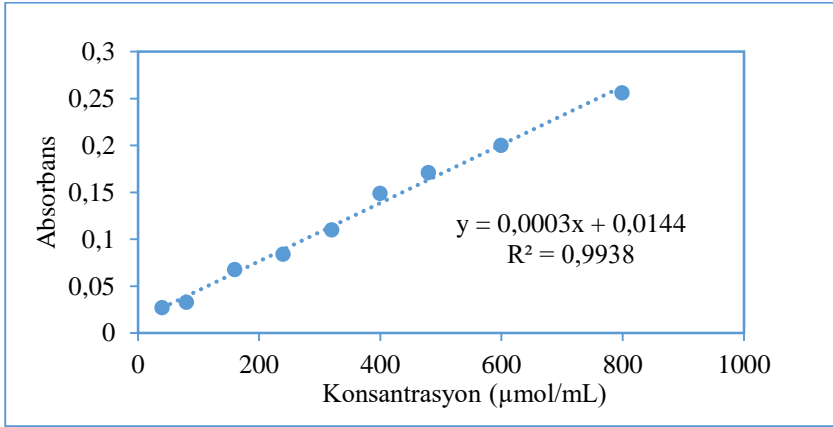
Şekil A.1. Gallik asit standart eğrisi.



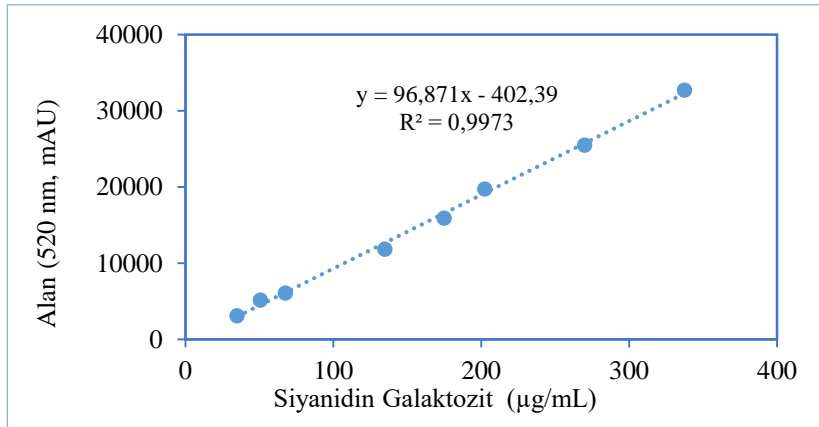
Şekil A.2. DPPH antioksidan aktivite Troloks standart eğrisi.



Şekil A.3. ABTS antioksidan aktivite Troloks standart eğrisi.

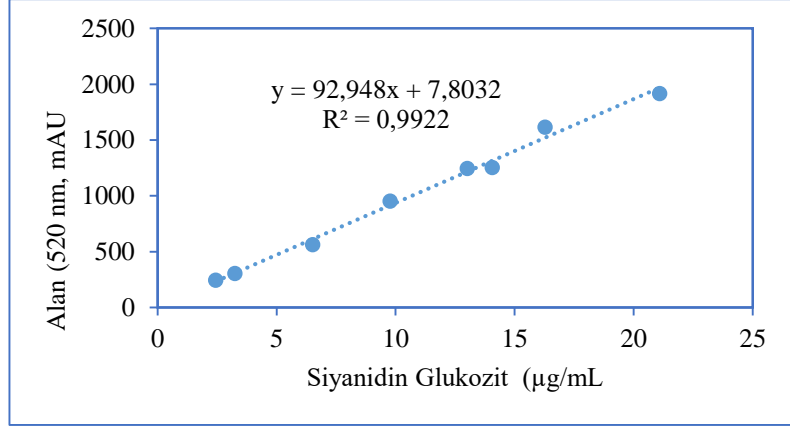


Şekil A.4. CUPRAC antioksidan aktivite Troloks standart eğrisi.

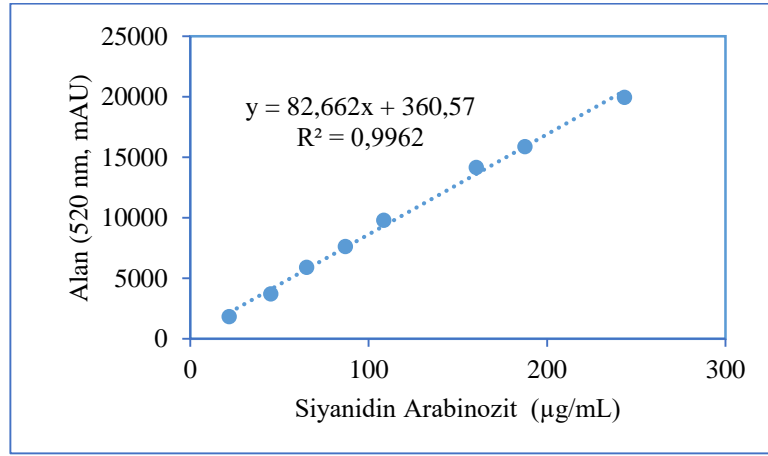


Şekil A.5. Siyanidin galaktozit standart eğrisi.

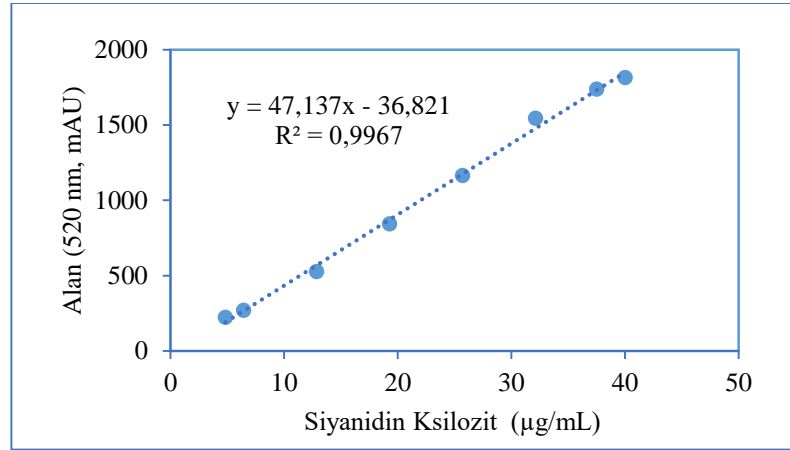




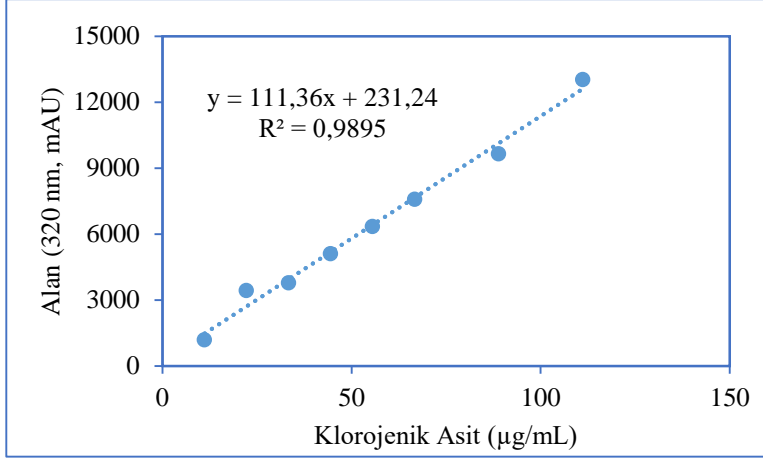
**Şekil A.6.** Siyanidin glukozit standart eğrisi.



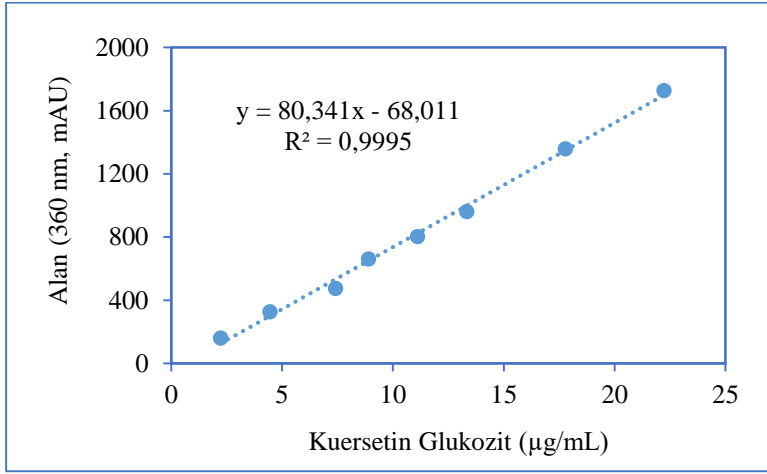
**Şekil A.7.** Siyanidin arabinozit standart eğrisi.



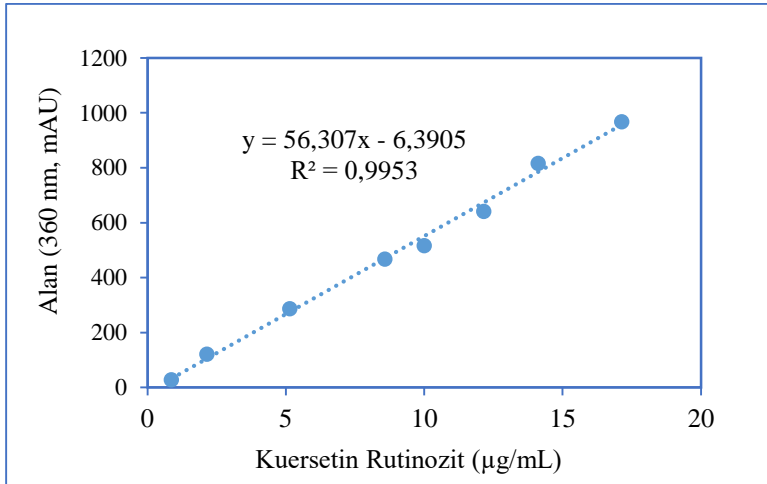
**Şekil A.8.** Siyanidin ksilozit standart eğrisi.



Şekil A.9. Klorojenik asit standart eğrisi.



Şekil A.10. Kuersetin glukozit standart eğrisi.



Şekil A.11. Kuersetin rutinozit standart eğrisi.

## ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Aysun ÖZTÜRK

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 1999-2004, Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği
- **Yüksek lisans** : 2007-2010, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği
- **Doktora** : 2015-Halen, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği

### MESLEKİ DENEYİM :

- Mühendis (Araştırmacı); 2006- Halen Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü -YALOVA
- Laborant (Teknisyen); 2000-2006 Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü -YALOVA

### TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

Öztürk, A., Steingass, C. B., Schweiggert, R., Carle, R., Yemiş, O., Erşan, S. (2023).  
Ultrasound-assisted extraction and (U)HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> analysis of phenolic compounds from black chokeberries cultivated in Turkey. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 96, 21–29, DOI:10.5073/JABFQ.2023.096.003