

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

**KIRMIZI PANCAR VE ÜZÜM KABUĞUNDAN FARKLI
EKSTRAKSİYON KOŞULLARINDA BOYAR MADDE
ÜRETİMİ**

DOKTORA TEZİ

HATİCE BETÜL YELER

DENİZLİ, MART - 2021

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



**KIRMIZI PANCAR VE ÜZÜM KABUĞUNDAN FARKLI
EKSTRAKSİYON KOŞULLARINDA BOYAR MADDE
ÜRETİMİ**

DOKTORA TEZİ

HATİCE BETÜL YELER

DENİZLİ, MART - 2021

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 2016 FEBE 042 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

H. Betül YELER

ÖZET

**KIRMIZI PANCAR VE ÜZÜM KABUĞUNDAN FARKLI
EKSTRAKSİYON KOŞULLARINDA BOYAR MADDE ÜRETİMİ
DOKTORA TEZİ
H. BETÜL YELER
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SEBAHATTİN NAS)

DENİZLİ, MART - 2021

Bu çalışmada, farklı parametreler kullanılarak üzüm kabuğu ve kırmızı pancardan ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların genel kimyasal analizleri, renk, toplam monomerik antosiyanin, toplam betalain, DPPH antioksidan temizleme aktivitesi, toplam fenol içeriği, antosiyanin profili ve betalain profili analizleri yapılarak optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Şarap üretim atığı üzüm posası olarak Öküzgözü çeşidi seçilmiştir. Kurutulmuş üzüm kabuğu 3 farklı sıcaklık (30, 40 ve 50 °C), 4 farklı süre (30, 90, 150 ve 180 dakika) ve 11 farklı çözücü oranında (0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 100:0 etil alkol: saf su (%0,1'lik sitrik asitli)) ekstrakte edilmiştir. Kırmızı pancarın ekstraksiyonunda ise 30 dakikalık süre ile 3 farklı sıcaklık (30, 40 ve 50 °C) ve 3 farklı çözücü (30:70, 45:55, 60:40 etil alkol: saf su (%0,1'lik sitrik asitli)) kullanılmıştır. Kurutulmuş üzüm kabuğundan elde edilen ekstraktlarda uygulanan sıcaklık ve sürenin artışının toplam monomerik antosiyanin, DPPH antioksidan aktivite ve toplam fenol içeriğini arttırdığı görülmüştür. Antosiyanin profili sıcaklık ve süre ile artış göstermiştir. Çözücü oranlarına bağlı değişim incelendiğinde hem kurutulmuş üzüm kabuğu hem de kırmızı pancar ekstraktlarında çözücüdeki alkol veya su oranının artışı analiz değerlerinde azalmaya sebep olmuştur. Kurutulmuş üzüm kabuğu ekstraktları için optimum koşullar 50 °C sıcaklık ve 50:50 çözücü oranında tespit edilmiştir. Kırmızı pancar ekstraktlarında uygulanan sıcaklık artışının toplam betalain, DPPH antioksidan aktivite, toplam fenol içeriği ve betalain profili miktarlarını arttırdığı görülmüştür. Alkol: su oranının eşit veya birbirine yakın olduğu çözücü en yüksek değerleri vermiştir. Kırmızı pancar ekstraktları için optimum koşulların 50 °C sıcaklık ve 45:55 çözücü oranında olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Üzüm kabuğu, öküzgözü, kırmızı pancar, antosiyanin, betalain, boyar madde

ABSTRACT

PRODUCTION OF COLORANTS AT DIFFERENT EXTRACTION CONDITIONS FROM RED BEET AND GRAPE POMACE

Ph.D THESIS

H. BETÜL YELER

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
FOOD ENGINEERING**

(SUPERVISOR: PROF. DR. SEBAHATTİN NAS)

DENİZLİ, MARCH 2021

In this study, the extract of grape pomace and red beet, was obtained by using different parameters. The optimum extraction conditions were determined by conducting general chemical analysis, color, total monomeric anthocyanin, total betalain, DPPH antioxidant scavenging activity, total phenol content, anthocyanin profile and betalain profile analysis of the extracts obtained. The Öküzgözü variety was chosen as the grape pomace for wine production waste. Dried grape skin 3 different temperatures (30, 40 and 50 °C), 4 different times (30, 90, 150 and 180 minutes) and 11 different solvent ratios (0: 100, 10:90, 20:80, 30:70) , 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 100: 0 ethyl alcohol: purified water (with 0.1% citric acid)) was extracted. In the extraction of red beet, 3 different temperatures (30, 40 and 50 °C) and 3 different solvents (30:70, 45:55, 60:40 ethyl alcohol: distilled water (with 0.1% citric acid) for 30 minutes) used. It was observed that the increase in temperature and time applied in extracts obtained from dried grape skin increased the total monomeric anthocyanin, DPPH antioxidant activity and total phenol content. The anthocyanin profile increased with temperature and time. When the change in solvent ratios were examined, the increase in the alcohol or water ratio in the solvent caused a decrease in the analysis values in both dried grape skin and red beet extracts. Optimum conditions for dried grape peel extracts were determined at 50 °C temperature and 50:50 solvent ratio. It was observed that the increase in temperature applied in red beet extracts increased the amounts of total betalain, DPPH antioxidant activity, total phenol content and betalain profile. The solvent in which the alcohol: water ratio is equal or close to each other gave the highest values. Optimum conditions for red beet extracts were determined to be 50 °C temperature and 45:55 solvent ratio.

KEYWORDS: Grape pomace, öküzgözü, red beet, anthocyanin, betalain, colorant

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1 Antosiyaninler	4
2.1.1 Antosiyaninlerin kimyasal yapısı.....	4
2.1.2 Antosiyanin sağlık ilişkisi.....	7
2.1.3 Antosiyaninlerin rengi ve rengi etkileyen faktörler	8
2.1.4 Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler.....	10
2.1.5 Antosiyanin kaynakları	14
2.2 Üzüm (<i>Vitis vinifera</i>) ve Üzüm Posası	16
2.3 Betalainler	24
2.3.1 Betalainlerin kimyasal yapısı.....	24
2.3.2 Betalainler ve sağlık ilişkisi.....	27
2.3.3 Betalainlerin stabilitesini etkileyen faktörler	27
2.3.4 Betalain kaynakları	29
2.4 Kırmızı Pancar (<i>Beta vulgaris</i>).....	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
3.1 Materyal.....	37
3.1.1 Üzüm kabuğunun eldesi ve kurutulması.....	37
3.1.2 Kurutulmuş üzüm kabuğu ekstraksiyonu	38
3.1.3 Kırmızı pancar ekstraksiyonu	39
3.2 Yöntem	41
3.2.1 KÜK ekstraktı analizleri	41
3.2.1.1 Kimyasal analizler.....	41
3.2.1.2 Toplam monomerik antosiyanin (TMA) tayini.....	41
3.2.1.3 DPPH antioksidan aktivite tayini	42
3.2.1.4 Toplam fenolik madde miktarı tayini.....	43
3.2.1.5 Antosiyanin profili	43
3.2.2 Kırmızı pancar ekstraktı analizleri.....	45
3.2.2.1 Kimyasal analizler.....	45
3.2.2.2 Renk değerleri	46
3.2.2.3 Toplam betalain tayini.....	46
3.2.2.4 DPPH antioksidan aktivite tayini	47
3.2.2.5 Toplam fenolik madde miktarı tayini.....	47
3.2.2.6 Betalain profili	48
3.3 Deney tasarımı ve istatistiksel analiz	49
4. BULGULAR	51
4.1 KÜK Ekstraktlarında Yapılan Analizler	51
4.1.1 Yaş ve kurutulmuş üzüm kabuğu genel kimyasal analizleri.....	51

4.1.2	KÜK ekstraktları toplam monomerik antosiyanin değerleri.....	52
4.1.3	KÜK ekstraktları DPPH değerleri	55
4.1.4	KÜK ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı	57
4.1.5	KÜK ekstraktlarının antosiyanin profili	60
4.2	KP Ekstraktlarında Yapılan Analizler	66
4.2.1	KP genel kimyasal analizleri	66
4.2.2	KP ekstraktı renk ve pH değerleri.....	67
4.2.3	KP ekstraktlarının toplam betalain miktarı	70
4.2.4	KP ekstraktlarının DPPH antioksidan aktivite tayini.....	72
4.2.5	KP ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı.....	74
4.2.6	KP ekstraktlarının betalain profili.....	76
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	84
6.	KAYNAKLAR.....	90

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Flavilyum katyonu.....	5
Şekil 2.2: Bitkilerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin kimyasal yapısı6	
Şekil 2.3: Siyanidin-3- <i>O</i> -glukozidin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2.4: Antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak gerçekleşen yapısal değişimleri9	
Şekil 2.5: Üzüm kabuğunun farklı katmanları.....	20
Şekil 2.6: Betalamik asit, betasiyanin ve betaksantin genel kimyasal yapısı	25
Şekil 2.7: Betalainlerin stabilitesini arttıran ve azaltan faktörler	28
Şekil 2.8: Bazı önemli betalain kaynakları	31
Şekil 2.9: Kırmızı pancarın enine kesiti	33
Şekil 3.1: Kurutulmuş üzüm kabukları.....	39
Şekil 3.2: Kırmızı pancar ekstraksiyonu ön denemeler, (a): çözücü oranı denemeleri, (b): süre denemeleri	40
Şekil 3.3: HPLC cihazı	45
Şekil 4.1: Ekstraktların toplam monomerik antosiyanin sonuçları, (a): 30 °C, (b): 40 °C, (c): 50 °C	53
Şekil 4.2: Ekstraktların DPPH antioksidan aktivitesi sonuçları, (a): 30 °C, (b): 40 °C, (c): 50 °C	56
Şekil 4.3: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı sonuçları, (a): 30 °C, (b): 40 °C, (c): 50 °C	59
Şekil 4.4: Kırmızı pancar ekstraktlarının betasiyanin, betaksantin ve toplam betalain miktarı.....	71
Şekil 4.5: Kırmızı pancar ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi değerleri	74
Şekil 4.6: Kırmızı pancar ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları.....	75
Şekil 4.7: 30 °C'de 45:55 Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su) ile ekstrakte edilen örneklerin HPLC kromatogram görüntüleri (a): 538 nm, (b): 480 nm, 1: betanin, 2: izobetanin, 3: betanidin, 4: izobetanidin, 5: vulgaksantin I ve II).....	80
Şekil 4.8: 40 °C'de 45:55 Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su) ile ekstrakte edilen örneklerin HPLC kromatogram görüntüleri (a): 538 nm, (b): 480 nm, 1: betanin, 2: izobetanin, 3: betanidin, 4: izobetanidin, 5: vulgaksantin I ve II).....	81
Şekil 4.9: 50 °C'de 45:55 Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su) ile ekstrakte edilen örneklerin HPLC kromatogram görüntüleri (a): 538 nm, (b): 480 nm, 1: betanin, 2: izobetanin, 3: betanidin, 4: izobetanidin, 5: vulgaksantin I ve II).....	82

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Bazı meyve ve sebzelerdeki toplam antosiyanin miktarları	15
Tablo 2.2: 2019 yılı üzüm üretimi sıralaması, ilk on ülke ve üretim oranları..	17
Tablo 2.3: Ülkemizde yıllara göre üzüm üretim miktarları	17
Tablo 2.4: Çeşitli kırmızı ve beyaz üzüm posalarının genel kimyasal kompozisyonu	19
Tablo 2.5: Üzüm kabuğunda bulunan fenolik bileşenlerin genel içeriği	22
Tablo 2.6: Bazı betalainler ve kimyasal yapıları.....	26
Tablo 2.7: Bazı önemli betalain kaynağı bitkiler ve içerdikleri betalainler	30
Tablo 2.8: Ülkemizde yıllara göre kırmızı pancar üretim miktarları	32
Tablo 2.9: Kırmızı pancarın genel kimyasal kompozisyonu.....	34
Tablo 3.1: Üzüm kabuklarının kurutulması esnasındaki hava değerleri.....	38
Tablo 3.2: Antosiyanin profili HPLC sistemi ve kromatografi koşulları.....	44
Tablo 3.3: Antosiyanin profili elüsyon koşulları	44
Tablo 3.4: Betalain profili HPLC sistemi ve kromatografi koşulları.....	48
Tablo 3.5: Betalain profili elüsyon koşulları.....	49
Tablo 3.6: Üzüm kabuğu ekstraksiyonu deney tasarımı	49
Tablo 3.7: Kırmızı pancar ekstraksiyonu deney tasarımı.....	50
Tablo 4.1: Yaş üzüm kabuğu ve kurutulmuş üzüm kabuğunun toplam asitlik, pH, nem ve briks değerleri	51
Tablo 4.2: 30 °C’de farklı çözücü oranlarında ekstrakte edilmiş antosiyanin değerleri.....	62
Tablo 4.3: 40 °C’de farklı çözücü oranlarında ekstrakte edilmiş antosiyanin değerleri.....	63
Tablo 4.4: 50 °C’de farklı çözücü oranlarında ekstrakte edilmiş antosiyanin değerleri.....	64
Tablo 4.5: Pancarların toplam kurumadde, pH, toplam asitlik ve briks değerleri.....	67
Tablo 4.6: Kırmızı pancar ekstraktlarının pH ve L*, a*, b*, kroma değeri ve hue açısı değerleri.....	68
Tablo 4.7: Kırmızı pancar ekstraktlarının betasiyanin, betaksantin ve toplam betalain miktarı.....	70
Tablo 4.8: Kırmızı pancar ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi değerleri	73
Tablo 4.9: Kırmızı pancar ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları ...	75
Tablo 4.10: Kırmızı pancar ekstraktlarının betalain profili.....	78

KISALTMALAR LİSTESİ

µg	:	Mikrogram
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre
ac	:	Asetil
caf	:	Kafeil
cm	:	Kumaril
cy	:	Siyanidin
df	:	Delfinidin
DOPA	:	3,4-dihidroksi fenilalanin
DPPH	:	2,2-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	:	Etilendiamin tetraasetik asit
EFSA	:	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FAO	:	Gıda ve Tarım Örgütü
g	:	Gram
GAE	:	Gallik asit eşdeğeri
glc	:	Glukozid
glcU	:	β-D-Glukoronik asit
HMF	:	5-hidroksimetilfurfural
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IU	:	Uluslararası ünite (international unit)
kg	:	Kilogram
km	:	Kilometre
KP	:	Kırmızı pancar
KÜK	:	Kurutulmuş üzüm kabuğu
L	:	Litre
M	:	Molar
mg	:	miligram
MgCl₂	:	Magnezyum klorür
min	:	Dakika
ml	:	Mililitre
mv	:	Malvidin
NaCl	:	Sodyum klorür
Na₂CO₃	:	Sodyum karbonat
nm	:	Nanometre
OİV	:	Uluslararası Üzüm ve Şarap Örgütü
pn	:	Peonidin
pt	:	Petunidin
RCF	:	Relatif santrifüj kuvveti (Relative Centrifugal Force)
s	:	Saniye
SO₂	:	Kükürt dioksit
TMA	:	Toplam monomerik antosiyanin
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	:	Ultraviyole
YÜK	:	Yaş üzüm kabuğu

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlarının yorumlanmasında bana yol gösteren değerli hocam sayın Prof. Dr. Sebahattin NAS'a içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmanın tüm aşamalarında desteğini ve katkısını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi'nde üye olan değerli hocalarım Prof. Dr. Yahya TÜLEK ve Prof. Dr. Çetin KADAKAL'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmanın yürütüldüğü Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde görev alan başta Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yahya TÜLEK olmak üzere tüm bölüm hocalarım, Dr. Öğr. Ü. Ezgi ÖZGÖREN ile Araştırma Görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışmada kullanılan cihazlar ve kimyasalların maddi desteğini sağlayarak çalışmanın gerçekleşmesini mümkün kılan Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve üzüm kabuklarının temininde her türlü desteği sağlayan EZEL Şarapçılık sahibi Mehmet ATILSIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, maddi ve manevi destekleriyle hep yanımda olan annem-babam Asiye ve Mehmet KAPLAN'a, sevgili eşim Arş. Grv. Dr. Osman YELER'e ve biricik abim Mustafa KAPLAN'a gösterdikleri sevgi, sabır ve anlayış için teşekkür ediyorum. Doktora sürecinde dünyaya gelen kızım Ece'nin tez çalışmalarım nedeniyle oyun zamanından çaldığım anların telafisini sağlamak ümidiyle bu tezi başta kızım olmak üzere, değerli aileme atfediyorum.

H. Betül YELER
Yüksek Gıda Mühendisi

1. GİRİŞ

Renk, gıdaların tüketici tarafından kabul edilebilirliğini belirleyen en önemli duyuşal kalite kriterlerinden biridir. Doğal gıda ürünleri kendilerine özgü renklere sahiptirler ancak tüketiciye ulaşmadan önce işleme ve depolama koşulları ile ürünün son renginde değişimler olmaktadır. İşleme sırasındaki ısı, oksijen vb. sebeplerle renkte değişimler ve kayıplar olmaktadır. İşleme esnasındaki bu kayıpları gidermek, renksiz olan bazı şekerleme ve meşrubat gibi ürünleri daha çekici hale getirmek ve ürünlerdeki standardizasyonu sağlamak gibi amaçlarla renklendirme işlemi uygulanmaktadır (Newsome ve diğ. 2014, Carochó ve diğ. 2014).

Gıda boyaları, gıda ürünlerini renklendirmek amacıyla gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan maddelerdir ve doğal ve sentetik gıda boyaları olarak ikiye ayrılmaktadır. Gıda endüstrisinde, stabilitesinin daha yüksek ve ekonomik olması nedeniyle sentetik gıda boyaları daha çok tercih edilmektedir. Ancak son yıllarda bazı sentetik gıda boyalarının sağlık üzerine olumsuz etkilerinin açığa çıkması ve tüketicilerin de daha bilinçlenmesi ile doğal kaynaklara olan eğilim artmış ve bu kaynaklardan elde edilen boyalar üzerine yapılan çalışmalar giderek önem kazanmıştır (Odabaş 2019, Galanakis 2012).

Çoğu sentetik gıda boyası karsinojen, toksik ve alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir. Sentetik gıda boyaları bağırsakta mikroorganizmalar tarafından ve karaciğerde azoredüktazlar tarafından dönüşüme uğratılırlar. Bu dönüşüm sonucu oluşan metabolitler vücutta toksik, mutajen ve karsinojen etkilere yol açabilmektedir (Osman ve diğ. 2004). Özellikle çocuklar gıda boyası içeren ürünleri daha fazla tüketebilmeleri nedeniyle bu olumsuz etkilere daha çok maruz kalabilmektedir. Yapılan çalışmalarda sentetik gıda boyaları içeren gıdaları daha fazla tüketen çocuklarda hiperaktivite bozukluklarına daha sık rastlandığı belirtilmiştir (McCann ve diğ. 2007, Feketea ve Tsabouri, 2017).

Sentetik gıda boyalarının olumsuz etkileri dolayısıyla doğal gıda boyalarına yönelim artmıştır. Doğal gıda boyaları bitkilerde, hayvanlarda ya da mikroorganizmaların yapısında doğal olarak bulunan veya sentezlenen bileşiklerdir.

5 ana grupta toplanan bu renk pigmentlerinden hayvansal kaynaklarda kırmızı renkli myoglobin, bitkisel kaynaklarda ise kırmızı-mavi renkleri oluşturan antosiyaninler, sarı-turuncu renkleri oluşturan karotenoidler, yeşil rengi oluşturan klorofiller ve sarı-kırmızı renkleri oluşturan betalainler bulunmaktadır. Ancak bu bileşenlerin gıda boyası olarak kullanımlarında, stabilitelerinin düşük olması, maliyetlerinin yüksek olması, renk tonlarının sınırlı olması, renklendirme verimlerinin düşüklüğü ve diğer gıda bileşenleri ile etkileşimleri gibi zorluklarla karşı karşıya kalınmaktadır (Bayram 2019, Rodriguez-Amaya 2019, He ve Giusti 2010).

Bitkisel kaynaklı doğal gıda boyaları bitki dokularından konvansiyonel olarak su, alkol, aseton gibi organik çözümlerle ekstrakte edildiği gibi, sulu ikili faz sistemlerinin kullanıldığı mikrodalga veya ultrason destekli ekstraksiyonlar da yapılabilmektedir (Hari ve diğ. 1994, Odabaş 2019). Doğal gıda boyalarının yukarıda bahsedilen nedenlerle gıda endüstrisinde kullanımı sınırlı olduğundan bilimsel çalışmalar doğal kaynaklardan daha stabil ve ekonomik gıda boyaları üretmeye yoğunlaşmıştır.

Öküzgözü (*Vitis vinifera* L.), ülkemizde Elazığ, Malatya ve Diyarbakır yörelerinde yetişen şaraplık bir üzüm çeşididir (Cabaroğlu ve diğ. 2002). Son yıllarda Denizli'nin Çal ve Güney ilçelerinde de yetiştirilmeye başlanmıştır. Şarap üretim atığı olan posası iyi bir antosiyanin kaynağıdır.

Kırmızı pancar (*Beta vulgaris*), ülkemizde Marmara ve Ege bölgelerinde yetiştirilen bir bitkidir. Kırmızı parlak rengi betalainlerden kaynaklanmaktadır. İyi bir betalain kaynağı olan kırmızı pancar, doğal gıda boyaları denildiğinde akla gelen ilk bitkilerdendir.

Bu tez çalışmasında, temel olarak şarap üretimi sırasında posa olarak ayrılan Öküzgözü cinsi üzüm kabuklarından (*Vitis vinifera*) antosiyanin bazlı ve kırmızı pancardan (*Beta vulgaris*) betalain bazlı renk maddesi üretiminde kullanılan farklı parametrelerin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Bu temel esasında çalışmanın amaçları;

1. Klasik konvansiyonel katı-sıvı ekstraksiyonunda farklı parametreler (sıcaklık, süre ve çözücü) kullanarak antosiyanin ve betalainlerin ekstrakte edilmesi,

2. Elde edilen ekstraktların antosiyanin ve betalain profillerinin belirlenerek karşılaştırılması,

3. Bu karşılaştırmaların sonucunda optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesidir.

4. Böylece sentetik gıda boyalarının kullanımı yerine ucuz, doğal ve sağlığa zararı olmayan gıda boyalarının kullanımını sağlamak ve şarap üretim atıklarının kullanılarak üretime geri kazandırılması ve sürdürülebilir atık yönetiminin sağlanmasına katkıda bulunmak da hedeflenen amaçlar arasında bulunmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

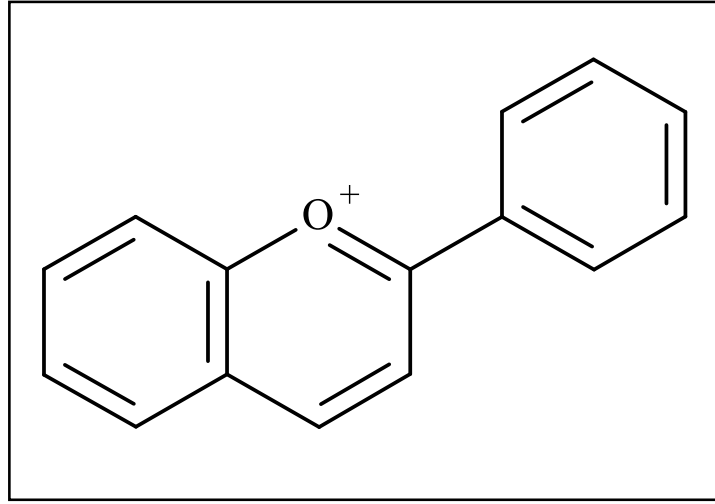
2.1 Antosiyaninler

Antosiyanin kelimesi, Yunanca'da çiçek anlamına gelen "anthos" ile mavi anlamındaki "kyanos" kelimelerinden türetilmiştir (Kong ve diğ. 2003, Jordheim 2007). Flavonoidlerin alt gruplarından biri olan antosiyaninler, çiçek ve meyvelerin kırmızıdan maviye kadar değişen renklerini oluşturan sekonder metabolitlerdir (Longo ve Vasapollo 2006, Sancho ve Pastore 2012). Antosiyaninler, çarpıcı renkleriyle polen ve çekirdeklerin yayılmasına önemli katkılarda bulunmaktadır (Kong ve diğ. 2003). Ayrıca, bunların bitki dokularını ışığın inhibitif etkisinden ve fotosentez sonucu ortaya çıkan oksidasyondan da koruduğu bildirilmektedir (Einbond ve diğ. 2004). Antosiyaninler bitki dokusunda antibakteriyel ajan olarak da etkili olmaktadır (Kong ve diğ. 2003, Özen 2008).

2.1.1 Antosiyaninlerin kimyasal yapısı

Antosiyaninlerin temel yapıtaşı flavilyum katyonudur. Flavilyum katyonunun $C_6C_3C_6$ karbon iskeleti ile karakterize edilen yapısının, fenolik bileşiklerin bir alt grubu olan flavonoidlerle aynıdır. Bu nedenle temel yapı taşı flavilyum katyonu olan antosiyaninler de flavonoid grubunda yer alan fenolik bileşiklerdendir (Cemeroğlu ve diğ. 2001). Flavilyum katyonunun kimyasal yapısı Şekil 2.1'de gösterilmektedir.

Antosiyaninleri şekerler ve şeker olmayan bazı bileşenler oluşturmaktadır. Antosiyaninlerin şeker olmayan bileşiklerden oluşan aglikon kısmını fenolik bileşikler olan antosiyanidinler oluşturmakta ve antosiyanidinlere glikozidik olarak bağlanan sakkaritlerin türüne göre de çeşitli antosiyaninler oluşmaktadır (Giusti ve Wrolstad 2003, Zha ve Koffas 2017, Tangüler 2010).

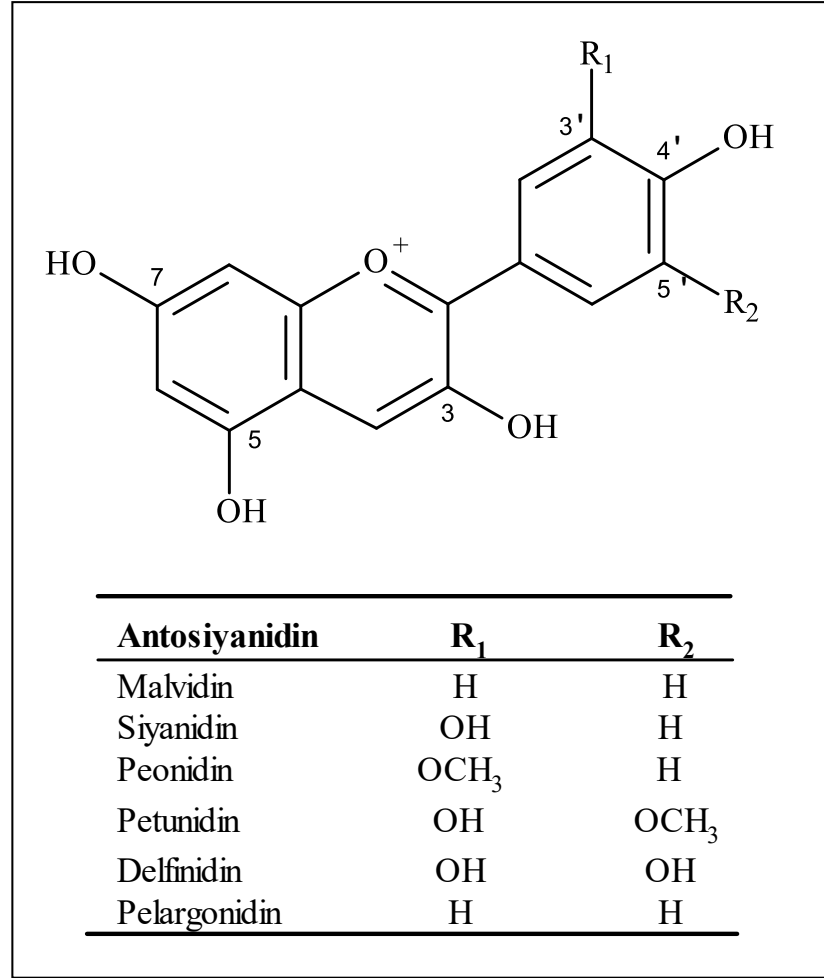


Şekil 2.1: Flavilyum katyonu

Antosiyanidinler doğada serbest halde bulunmazlar, bir veya birkaç şeker molekülüyle esterleşmiş halde yani antosiyaninler halinde bulunurlar. Antosiyaninler arasındaki ayırım, esas olarak hidroksil gruplarının sayısına ve Beta halkasının metoksilasyon derecesine bağlı olarak antosiyanidin ile ilişkilidir (Andersen ve Jordheim 2010). Antosiyanin molekülüne çoğunlukla bir şeker molekülü bağlıdır ve bazı istisnalar dışında 3. karbon atomunda yer almaktadır. İlave şeker kısımları 5 ve 7 konumlarında ve daha nadiren 3' ve 5' konumlarında bağlanabilir. Doğada en yaygın glikozit türevleri 3-monosidler, 3-biosidler, 3,5 ve 3,7-diglikozitlerdir (Kong ve diğ. 2003, Castaneda-Ovando ve diğ. 2009). Molekülde en yaygın olarak bulunan şekerler; glukoz, galaktoz, ramnoz, ksiloz ve arabinozdur (Utuş 2008, Kong ve diğ. 2003, Goulas ve diğ. 2012). Antosiyaninlerin yüzde doksanında eşlik eden tek şeker olarak glikoz bulunur (Andersen ve Jordheim 2006). Bazen antosiyanidinlere bu monosakkaritlerden oluşan di- veya tri- sakkaritler de glikozit bağı ile bağlanmaktadır (Kırca 2004, Cemeroğlu ve diğ. 2001).

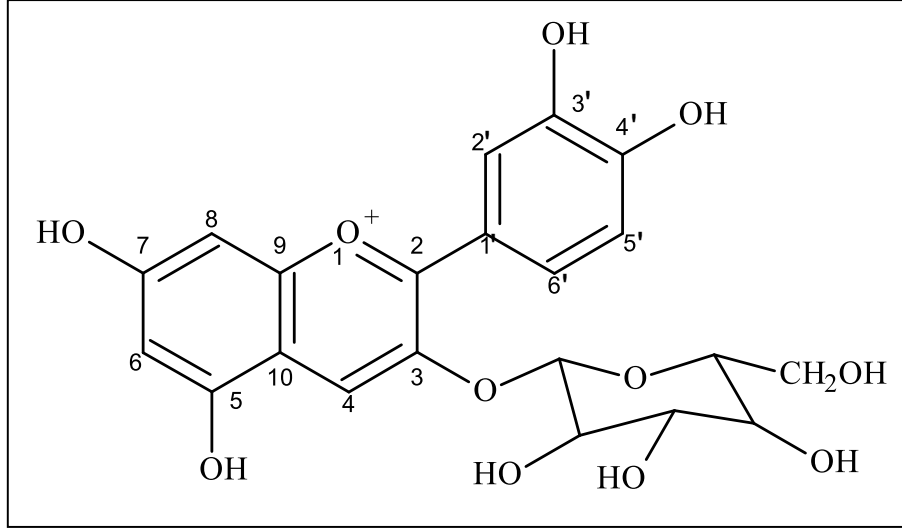
Doğada bulunan antosiyaninlerin büyük çeşitliliği onları çok karmaşık ve ilginç bir grup haline getirir. Çeşitli yapı taşlarına sahip 600'den fazla farklı antosiyanin rapor edilmiştir (He ve Giusti 2010). Bitkilerde yaygın olarak altı antosiyanidin bulunmaktadır. Bunlar; pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), siyanidin (Cy), malvidin (Mv), petunidin (Pt) ve delfinidin (Dp)'dir (Wu ve diğ. 2002, Estevez ve Mosquera 2009). Meyvelerdeki dağılımları genellikle; Cy %30, Dp %22, Pg %18, Pn %7,5, Mv %7,5 ve Pt %5 şeklindedir (Andersen ve Jordheim 2006). Bitkilerde

yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin kimyasal yapısı Şekil 2.2’de gösterilmektedir.



Şekil 2.2: Bitkilerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin kimyasal yapısı
(Goulas ve diğ. 2012)

Antosiyanidin molekülüne şekerlerin bağlanmasıyla oluşan antosiyaninler, bağlanan şekerin ismi ve bağlandığı karbonun numarasının belirtilmesiyle adlandırılmaktadır. Örneğin siyanidinin 3. Karbon atomuna bir glukoz molekülünün bağlanmasıyla oluşan ve doğada en yaygın olarak bulunan antosiyanin, “Siyanidin-3-*O*-glukozid”dir ve kısaca “Cy-3-glc” olarak gösterilmektedir (Cemeroğlu ve diğ. 2001, Kong ve diğ. 2003, Turfan 2008). Siyanidin-3-*O*-glukozidin kimyasal yapısı Şekil 2.3’te görülmektedir.



Şekil 2.3: Siyanidin-3-*O*-glukozidin kimyasal yapısı

Antosiyaninlerin yapısında şekerler dışında; organik asitler (malik, malonik, okzalik, asetik veya süksinik asit gibi) fenolik asitler ve (kafeik, ferulik, p-kumarik, gallik, hidroksibenzoik veya sinapik asit gibi) de yer alabilmektedir. Bu asitler 3. karbon atomundaki şeker molekülünün çoğunlukla 6-OH ya da bazen 4-OH grubuna açillenerek bağlanmaktadır (Giusti ve Wrolstad 2003).

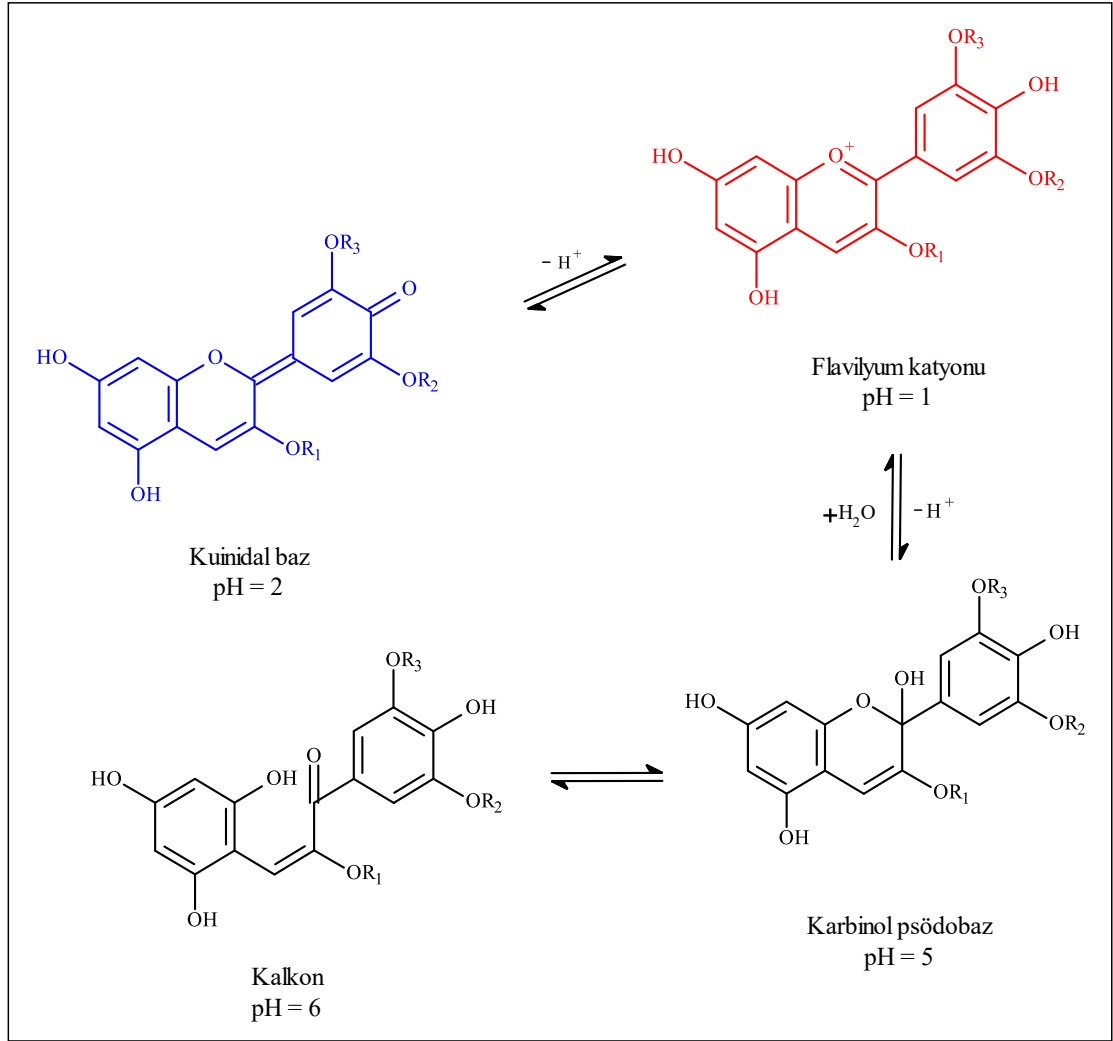
2.1.2 Antosiyanin sağlık ilişkisi

Antosiyaninlerin gıdalara renk üzerine olumlu etkileriyle çekicilik kazandırmanın yanı sıra sağlık üzerine olumlu etkileri de olduğu bilinmektedir. Bitkiyi antimikrobiyal ve antiviral aktiviteye sahip olmasıyla zararlı mikroorganizmalara karşı ve zararlı UV ışınlarından korumaktadır (Hepsağ 2015, Wrolstad 2004). Yapılan çalışmalarda, antosiyaninlerin antioksidatif etkilerinin bulunduğu da belirlenmiştir (Tsuda ve diğ. 1994, Kalt ve diğ. 2000). Antioksidan aktiviteye sahip olan antosiyaninler, birçok kronik hastalığı önleyici etki göstermektedir (Gil ve diğ. 2000). Araştırmalara göre meyve ve sebzelerin antioksidan kapasitesi ile antosiyanin ve fenolik miktarları arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (Stintzing ve diğ. 2002^a, Alagöz Kabakçı 2019, Rockenbach ve diğ. 2011^a).

Ayrıca, son yıllarda yapılan çalışmalar antosiyaninlerin kalp damar rahatsızlıkları risklerini azalttığı, bazı göz hastalıklarında ve çeşitli kan dolaşımı bozukluklarında tedavi edici özelliği olduğunu ortaya koymuştur (Kong ve diğ. 2003). Özellikle siyanidin glukozidlerinin, antioksidatif, antimitojenik, antikanserojenik aktivite gösterdikleri ve gastrite karşı koruyucu etki gösterdikleri belirtilmektedir (Galvano ve diğ. 2004, Özen 2008, Gerogiev ve diğ. 2014). Bu sebeple antosiyanin içeren birçok farmasötik ürün çalışmaları yapılmakta ve tüketiciler tarafından da bu ürünlere olan ilgi giderek artmaktadır.

2.1.3 Antosiyaninlerin rengi ve rengi etkileyen faktörler

Antosiyaninler, en fazla renk maddelerinin olduğu gruptur. Meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renklerini veren doğal maddelerdir (Cemeroğlu ve diğ. 2001, Türker ve diğ. 2004). Antosiyanin bileşikleri ortamın pH değerine bağlı olarak değişim göstermektedir. Bir indikatör gibi davranan antosiyaninler farklı pH'larda farklı renkler vermektedir (Brouillard ve diğ. 1991, Dimitric-Markovic ve diğ. 2000, Liao ve diğ. 1992). Ortamın pH'sı 2'nin altındayken antosiyanin flavilyum katyonu halinde ortamda bulunur ve kırmızı renk verir. pH 2-4 arasında, mavi renkli kuinidal anhidrobaz ortama hakimdir. pH 5'in üzerine çıktığıdaysa renksiz karbinol psödobaz veya kalkon formu oluşur. (Lee ve diğ. 2005, Goulas ve diğ. 2012). Antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak gerçekleşen yapısal değişimleri Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4: Antosiyaninlerin pH'ya bağlı olarak gerçekleşen yapısal değişimleri

Antosiyaninlerin renkleri yalnızca ortam pH'sına bağlı değildir. Beta halkasındaki metoksil ($-OCH_3$) ve hidroksil ($-OH$) gruplarının sayısı ve çeşidine göre asilasyon ve glikozilasyon yoluyla 600'den fazla antosiyanin yapısı oluştuğu belirtilmektedir (Gupta ve diğ. 2012). Oluşan bu yapı değişikliklerinin, antosiyaninlerin renk yoğunluğu ve stabilitesi üzerine önemli ölçüde etkisi bulunmaktadır. Moleküldeki hidroksil grubu sayısı da renk yoğunluğu üzerine etkilidir. Hidroksil grubu sayısı arttıkça renk pembeden maviye doğru dönmektedir. Metoksil grubu sayısındaki artış da kırmızı tonun güçlenmesini sağlamaktadır (Saldamlı ve Sağlam 1998, Malien-Aubert ve diğ. 2001). Antosiyaninlerin renginde gözlenen bu değişim, stabiliteyi de etkilemektedir. Moleküldeki metoksil ve özellikle de açıl gruplarının artması antosiyaninlerin stabilitesini arttırmaktadır (Mazza ve Miniati 1993).

2.1.4 Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler

Antosiyaninler, bilinen en iyi doğal gıda boyalarından biridir. Düşük toksisiteye sahip olması sebebiyle gıda boyası olarak kullanımında büyük bir potansiyele sahiptir (Narayan ve Venkataraman 2000). Alkollü ve alkolsüz içecekler, süt ürünleri, şekerlemeler, meyve süsleri, turşular, toz ürünler, konserve ve donmuş gıdalar gibi pek çok gıda ürünüde kullanılmaktadır (Canbaş ve Fenercioğlu 1984). Ancak, saflaştırılmalarının zor olması ve kimyasal olarak stabil olmamaları nedeniyle gıda endüstrisinde renklendirici olarak kullanımları zordur.

Antosiyaninlerin stabilitesi, gerek üretim esnasında gerekse depolama esnasında sıcaklık, pH, ışık, oksijen, antosiyaninin kimyasal yapısı ve konsantrasyonu, enzimler, flavonoidler, şekerler ile şekerlerin parçalanma ürünleri, proteinler, kükürt ve metal iyonları gibi fiziksel ve kimyasal faktörlerden etkilenmektedir (Das ve diğ. 2019, Cavalcanti ve diğ. 2011, Ananga ve diğ. 2013).

Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen en önemli faktör antosiyaninin kimyasal yapısındaki asilasyon ve glikozilasyondur. Asilasyon reaksiyonlarında açıl asit gruplar glikozillenmiş aglikonlara ester bağları ile bağlanarak antosiyaninin stabilitesini artırırken glikozilasyon reaksiyonlarında antosiyanidin yapıdaki hidroksil gruplar da glukoz, galaktoz, fruktoz ve ramnoz gibi şekerlere glikozidik bağlarla bağlanarak antosiyaninin stabilitesini arttırmış olurlar (Farahmandazad 2015).

Antosiyaninlerin B halkasında bulunan metoksil (-OCH₃) ve hidroksil (-OH) gruplarının da antosiyaninlerin stabilitesi üzerinde etkili olduğu, metoksilasyonun stabiliteyi artırırken hidroksilasyonun azalttığı bildirilmiştir (Uyan Ersus 2004). Moleküldeki metoksil grubu sayısındaki artış rengin kırmızıya dönmesini sağlarken hidroksil grubu sayısı arttıkça renk pembeden maviye dönmektedir (Kelebek 2009, Kırca 2004). Örneğin yüksek metoksilasyona sahip malvidin en kararlı antosiyanin iken delfinidin yüksek hidroksilasyon özelliğinden dolayı en kararsız antosiyanin olarak bilinmektedir (Uyan Ersus 2004).

Antosiyanin molekülüne eklenen şekerin sayısı ve eklendiği karbon atomunun pozisyonu da antosiyanin stabilitesinde önemlidir. Örneğin şeker

molekölünün pelargonidinin 3. karbon atomuna bağlanmasıyla oluşan glukozid, -4, -5 ve -7. karbon atomuna bağlanmasıyla oluşan glukozidlerden daha stabildir (Rein 2005).

Antosiyaninlerin stabilitesine etki eden faktörlerden bir diğeri, sıcaklıktır. Ürünün işlenmesi veya depolanması sırasında uygulanan yüksek sıcaklık, antosiyaninlerde parçalanmaya neden olmaktadır. Antosiyaninlerin termal parçalanması, birinci dereceden reaksiyon kinetiğine göre gerçekleşmektedir. Sıcaklığın arttırılmasıyla aglikon ve şeker arasındaki bağlar hidrolize olmaktadır (Gizir ve diğ. 2008, Assous ve diğ. 2014). Meyve suyu üretiminde uygulanan pastörizasyon işlemi de antosiyaninlerin parçalanmasına sebep olan önemli aşamalardan biridir. Maccarone ve diğ. (1985), pastörizasyonda mikrodalga uygulamasının antosiyaninleri daha iyi koruduğunu saptamışlardır. Yapılan araştırmalar, sıcaklık artışı ile parçalanma hızı arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermektedir. Sadilova ve diğ. (2006), mürver antosiyaninlerinde yaptıkları bir çalışmada 95 °C'de 3 saat ısıtılma uygulanan örneklerin antosiyanin miktarlarının %50'lik kısmının parçalandığını bildirmişlerdir. Mena ve diğ. (2014), iki farklı ısıtılma işlemi uygulanan (65 °C'de 30 s ve 90 °C'de 5 s) nar sularında, antosiyanin miktarlarında azalma olmadığı, ancak bir süre sonra nar sularının renginin hafifçe etkilendiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, çeşitli çalışmalarda antosiyanin parçalanmasını en aza indirmek için kısa süre yüksek sıcaklık işleminin önerilmektedir (Hrazdina ve diğ. 1971, Albuquerque ve diğ. 2018).

Antosiyaninlerin stabilitesine ortamdaki oksijen varlığı da etki etmektedir. Oksijen, antosiyaninleri doğrudan reaksiyona girerek parçalayabileceği gibi dolaylı olarak antosiyanin dışındaki maddeleri okside ederek oluşturduğu oksitlenmiş ürünlerin, antosiyaninlerle reaksiyonu sonucu onların parçalanmasına da neden olabilmektedir. Oksijen varlığında termal parçalanma ile esmer renkli bileşikler oluşmaktadır (Kader ve diğ. 1999, Markakis 1982, Jackman ve diğ. 1987). Oksijenin ortamdaki uzaklaştırılması stabiliteyi arttırmaktadır. Ambalajlamada oksijen ortamdaki uzaklaştırılarak yerine azot gazı kullanıldığında kuru içecek tozu karışımında bulunan antosiyaninlerin stabilitesinin arttığı belirtilmektedir (Clydesdale ve diğ. 1978).

Antosiyaninlerin rengi ortamın pH değerine göre değişim göstermektedir (Toprak 2011). Antosiyaninler sulu asidik çözeltilerde, 4 farklı formda denge halinde bulunmaktadır (Bondre ve diğ. 2012). Düşük pH derecesinde kırmızı, yüksek pH derecesinde mavi-mor renkte, ikisinin arasında ise renksiz formda bulunmaktadır. Ortamın pH derecesi 2'nin altına düştüğünde kırmızı renkli flavilyum katyonu ortama hakim olur. Ortamın pH'sı arttıkça kırmızı renkli flavilyum katyonu konsantrasyonu azalır ve mavi renkli kuinidal formu ortaya çıkar (Algarra ve diğ. 2014). Antosiyaninlerin ortam pH'sına bağlı olarak değişen bu davranışları, ekstraksiyon koşullarını da şekillendirmektedir. Nötral ya da alkali koşullarda stabil olmaması nedeniyle ekstraksiyonda genellikle HCl veya asetik asit, sitrik asit gibi zayıf organik asitlerle asitlendirilmiş organik çözücüler tercih edilir (Bosiljkov ve diğ. 2017). Kırca ve diğ. (2007) tarafından yapılan çalışmada, siyah havuç suyu ve konsantresinin ısıl stabilitesine farklı pH değerlerinin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla siyah havuç suyuna 70, 80 ve 90 °C sıcaklık, 4,3 ve 6,0 pH değeri uygulanmıştır. Farklı pH'larda antosiyanin stabilitesine ait yarılanma sürelerinin aynı olduğu bildirilmiştir. Antosiyanin molekülünde bir veya daha fazla açıl grubunun varlığı, antosiyaninlerin pH değişimlerine karşı stabilitesini artırmaktadır. Ayrıca antosiyanin konsantrasyonu yükseldikçe renk stabilitesi de artmaktadır. (Skrede ve diğ. 1992, Bridle ve Timberlake 1997).

Antosiyaninlerin oluşumunda ışık gereklidir. Ancak aynı zamanda ışık antosiyaninlerin parçalanmasına da yol açar. Yapılan bir çalışmada Acem düğün çiçeği (*Ranunculus asiaticus*) ekstraktının stabilitesi üzerinde ışığın olumsuz bir etkisinin olduğu ayrıca şekerlerin varlığında bu etkinin daha da arttığı bildirilmiştir (Amr ve Al-Tamimi 2007). Cavalcanti ve diğ. (2011), oda sıcaklığında ve karanlıkta depolanan antosiyaninlerin aynı koşullarda aydınlık ortamda depolanan antosiyaninlere göre daha stabil olduklarını belirtmişlerdir.

Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen diğer bir etken ortamda bulunan enzimlerdir. Bitki dokusunun parçalanmasıyla birlikte doku içerisindeki enzimler aktif hale geçerek antosiyaninlerde bulunan glikozidik bağları hidrolize ederek, stabilitesi çok daha düşük olan antosiyanidin ve şekerlere parçalar. Bu reaksiyonlar sonucunda renkte açılma meydana gelir (Seeram ve diğ. 2001). Bu reaksiyonlarda başta glikosidazlar olmak üzere ortamda bulunan polifenol oksidaz ve peroksidazlar

etkilidir (Chandra ve diğ. 1993). Enzimlerin antosiyaninler üzerinde etkisini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada yaban mersini suyu ve konsantresi üretimi esnasında parçalama ve depektinizaston işlemlerinin %20 civarında antosiyanin kaybına neden olduğu bu kayıpların da polifenol oksidazlar tarafından gerçekleştirildiği belirtilmiştir. Ayrıca en yüksek stabiliteye sahip olan antosiyaninin malvidin-3-glukozid, en düşük stabiliteye sahip olan antosiyaninin ise delfinidin-3-glukozid olduğu belirtilmiştir (Skrede ve diğ. 2000).

Ortamdaki diğer fenolik bileşenlerin miktarı ve içeriğinin de antosiyaninlerin stabilitesi üzerinde etkisi bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin antosiyaninlerin parçalanmasını geciktirdiği ve ortama fenolik bileşik eklenmesi ile antosiyanin stabilitesinin az ya da çok arttırıldığı belirlenmiştir. Bu artışın nedeninin fenolik bileşik eklenmesi ile pigment-kopigment kompleksinin oluşumuna bağlı olarak daha az parçalanma olduğu tespit edilmiştir (Malien-Aubert ve diğ. 2001). Kopjar ve Pilizota (2009) yedi farklı antosiyanin kaynağının (üzüm posası, siyah frenk üzümü, kuş kirazı, kırmızı turp, kırmızı lahana, mürver, mor havuç) renklendirici olarak kullanıldığı bir araştırmada açillenmiş antosiyaninlerin daha fazla olduğu renklendiricilerde kroma değerlerinin daha yüksek, hue açısının daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca fenolik bileşen içeriği bakımından büyük farklılıkların yer aldığı örneklerde açillenmiş antosiyaninlerin fazla olduğu tüm örneklerin pH arttıkça renk tonunun azaldığı ve renk tonunda mavileşme meydana geldiği belirtilmiştir.

Şekerlerin ve şekerlerin parçalanma ürünleri, antosiyaninlerle esmer renkli bileşikler oluştururlar. Şekerlerin Maillard reaksiyonu sonucu pentozlardan furfural ve heksozlardan 5-hidroksimetilfurfural (HMF) oluşmaktadır. Ayrıca bunlar askorbik asitin parçalanması sonucu da oluşabilmektedir. Bu parçalanma ürünlerinin antosiyaninlerin stabilitesini azalttığı bilinmektedir (Cavalcanti ve diğ. 2011). Antosiyanin pigmentinin parçalanması şekerlerin parçalanma oranı ile doğrudan ilişkilidir (Francis ve Markakis 1989).

Üretim aşamasında kullanılan SO₂ antosiyaninlerde geri dönüşümlü reaksiyonlara sebep olarak renkte değişime neden olmaktadır. Koyu renkli üzümün kullanıldığı şarap vb. ürünlerin üretiminde önemli bir basamak olan SO₂ ilavesi durumunda ortama askorbik asit gibi bileşikler eklenerek daha stabil bir yapı

oluşmasını sağlanmaktadır. Böylece renkte kayıplar en aza indirilmesi hedeflenmektedir (Saldamlı 1998).

Ortamdaki metal iyonları da antosiyaninlerin stabilitesinde değişik şekilde rol almaktadır. Bazı antosiyaninler; demir, bakır ve diğer birçok metal iyonları ile kompleks oluşturmakta; böylece stabil olmayan kırmızı renk stabil bir mavi veya viyole rengine dönüşerek antosiyaninlerin yeni bir yapı kazanmasına sebep olmaktadır (Cemeroğlu ve diğ. 2001). Antosiyanin-metal kompleksinde yer alan bazı metallerin uygun dozlarda kullanıldığında sağlık açısından yararlı olduğu belirtilmektedir (Castañeda-Ovando ve diğ. 2009). Yapılan çeşitli araştırmalar, antosiyanin-alüminyum kompleksinin kuinidal baz oksidasyona karşı korunduğu için mavi rengin stabil kaldığı, ortama molibden eklenmesi ile oluşan antosiyanin-molibden kompleksinin mavi rengin stabilizasyonunu arttırdığı belirtilmiştir (Moncada ve diğ. 2003, Castañeda-Ovando ve diğ. 2009). Bununla birlikte, antosiyanin stabilitesi NaCl çözeltisinde antosiyaninlerin kendiliğinden birleşmesi nedeniyle renk stabilizasyonu artarken, MgCl₂ çözeltisinde magnezyum iyonlarının hidrasyonu ve serbest suyun azalması nedeniyle azalmaktadır (Mazza ve Miniati 1993). Tüm bunlara ek olarak antosiyaninlerin stabilitesi, antosiyaninin çeşidine, pH'ya ve metal iyonlarının, polisakkaritlerin ve tampon moleküllerin türlerine bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir (Tachibana ve diğ. 2014).

2.1.5 Antosiyanin kaynakları

Fenolik bileşenlerin en büyük grubu olan antosiyaninler, bitkilerin çoğu türünde bulunan suda çözünür bileşiklerdir (Harborne 1998). Çoğu meyve, çiçek ve yaprakların kırmızı, mavi ve mor renkleri antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır (Martin ve diğ. 2017). Antosiyaninler bitkilerin her yerinde bulunabilir. Çoğunlukla çiçek ve meyvelerde birikmesine rağmen aynı zamanda yapraklar, saplar ve depolama organlarında da bulunurlar (Brouillard 1982, Delgado-Vargas ve Paredes-López 2003). Toplam antosiyanin içeriği, aynı bitkilerin farklı türleri arasında bile, genler, coğrafi ve iklim koşulları, yetiştirildiği yer ve tarımsal uygulamalardan etkilenecek önemli ölçüde değişir. Antosiyaninler; böğürtlen, kırmızı ve siyah ahududu, yaban mersini, kiraz, kuş üzümü, kan portakalı, mürver, üzüm gibi

meyvelerde ve kırmızı soğan, turp, kırmızı lahana, rezene, kırmızı marul, patlıcan, kırmızı ve mor tatlı patates gibi sebzelerde bulunur. Genel olarak, meyvelerdeki antosiyanin miktarı sebzelerden daha yüksektir. Bazı meyve ve sebzelerdeki toplam antosiyanin miktarları Tablo 2.1’de verilmiştir (Horbowicz ve diğ. 2008).

Tablo 2.1: Bazı meyve ve sebzelerdeki toplam antosiyanin miktarları (Horbowicz ve diğ. 2008)

Bitkinin Adı	Toplam Antosiyanin Miktarı (mg/100 g taze ağırlık)
Ahududu (kırmızı)	10 - 60
Ahududu (siyah)	76,3 - 427,7
Böğürtlen	82 - 180
Çay üzümü	460
Çilek	12,7 - 36
Elma	10 - 216
Erik	1,9 - 25
Kan portakalı	200
Kızılcık	46 - 200
Kiraz	350 - 450
Kuş kirazı	506 - 1000
Kuş üzümü (kırmızı)	11,9 - 18,6
Kuş üzümü (siyah)	130 - 400
Lahana (kırmızı)	25
Mürver	200 - 1560
Patlıcan	750
Ravent (Işkın otu)	0 - 200
Soğan (kırmızı)	0 - 25
Turp (kırmızı)	11 - 60
Üzüm (kırmızı)	30 - 750
Üzüm (konkord)	8 - 388
Yaban mersini	82,5 - 530

Çoğu meyvedeki ana antosiyanin formu, yaygın meyvelerdeki toplam antosiyanin içeriğinin %70-100’ünü oluşturan monoglukozidlerdir. Diglukozid antosiyaninleri daha düşüktür ve oldukça değişkendir. Kiraz ve siyah kuş üzümü, daha yüksek oranda diglukozid antosiyaninlere (sırasıyla %94 ve %76) sahip istisnalardır. Triglukozid antosiyaninlerin içeriği meyvelerde önemli ölçüde sınırlıdır ve varlığı sadece kırmızı kuş üzümü, ahududu ve mürverde (%6) belirtilmiştir (Wu ve diğ. 2002). Açılınmış antosiyaninler çoğu meyvede genellikle az miktarlarda

bulunur. Toplam açillenmiş antosiyanin içeriği, toplam içeriğin %15'i olabileceği böğürtlen ve yaban mersini hariç %0-6 arasındadır (Wu ve diğ. 2002, Goulas ve diğ. 2012).

Ekonomik açıdan bakıldığında potansiyel antosiyanin kaynakları arasında üzüm ve üzüksü meyveler dikkat çekmektedir (Pazmino-Duran ve diğ. 2001). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2019 verilerine göre dünyada yaklaşık 77,1 milyon ton üzüm üretimi gerçekleştirilmektedir (FAO 2021). Üretilen üzümlerin şaraba işlenmesi sonucunda ortaya çıkan atıklar, antosiyanin açısından oldukça zengindir ve son derece bol ve ucuz antosiyanin kaynağı olarak değerlendirilebilme potansiyeline sahiptir. Antosiyaninlerden üretilen doğal gıda boyaları, ticari ismiyle “enosiyenin” olarak uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (Malien-Aubert ve diğ. 2001). Gıda sektöründe E163 olarak bilinen “enosiyenin”, şarap üretim atığındaki üzüm kabuklarında bulunan antosiyaninlerden üretilen doğal bir pigmenttir. Günümüzde EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) antosiyaninlerin içecekler, marmelatlar, şekerler, dondurmalar ve farmasötik ürünlerde gıda boyaları olarak kullanılmasına izin vermektedir (Kalli ve diğ. 2018).

2.2 Üzüm (*Vitis vinifera*) ve Üzüm Posası

Çok sayıda antosiyanin kaynağı bulunmakla birlikte bunlar arasında en önemlileri üzüm ve özellikle de şarap endüstrisi atığı olan üzüm posasıdır (Bleve ve diğ. 2008, Vatai ve diğ. 2009). Üzüm; çeşitli değerlendirme yöntemlerinin olması, iklim ve toprak istekleri yönünden çok seçici olmaması, çok yıllık olması ve çoğaltılma yöntemlerinin kolay olması gibi avantajlara sahip olması nedeniyle dünyada en fazla üretilen meyvelerden biridir (Ekici 2005). Ülkemiz, üzüm üretimi ve çeşit zenginliği açısından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. FAO verilerine göre 2019 yılında üretilen 77,1 milyon ton üzümün 4,1 milyon tonu Türkiye tarafından üretilmekte ve Türkiye bu üretim miktarıyla dünyada üzüm üretimi sıralamasında 6. sırada yer almaktadır (Tablo 2.2, FAO 2021).

Tablo 2.2: 2019 yılı üzüm üretimi sıralaması, ilk on ülke ve üretim oranları (FAO 2021)

Sıralama	Ülkeler	Üzüm Üretim Miktarı (Ton)	Oran (%)
1	Çin	14.283.532	18,5
2	İtalya	7.900.120	10,2
3	ABD	6.233.270	8,1
4	İspanya	5.745.450	7,4
5	Fransa	5.489.650	7,1
6	Türkiye	4.100.000	5,3
7	Hindistan	3.041.000	3,9
8	Şili	2.701.588	3,5
9	Arjantin	2.519.886	3,3
10	Güney Afrika	1.993.048	2,6
	Dünya	77.137.016	100

Türkiye İstatistik Kurumunun yıllara göre üzüm üretim miktarları Tablo 2.3'te verilmiştir. Türkiye'de üretilen üzümün yaklaşık %36'sı kurutmalık, %53'ü sofralık ve %11'i de şaraplık olarak değerlendirilmektedir (TÜİK 2021).

Tablo 2.3: Ülkemizde yıllara göre üzüm üretim miktarları (TÜİK 2021)

Yıl	Toplam Üretim Miktarı (Ton)
2011	4.296.351
2012	4.234.305
2013	4.011.409
2014	4.175.356
2015	3.650.000
2016	4.000.000
2017	4.200.000
2018	3.933.000
2019	4.100.000
2020	4.208.908

Üzüm, Vitaceae (asmagiller) familyasının *Vitis* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir. Tarihi binlerce yıl öncesine dayanan üzüm, yeryüzünde kültürü yapılan en eski meyvelerden biridir. Avrupa’da kullanılan çoğu üzüm çeşidi, Akdeniz ve Orta Asya’ya özgü *Vitis vinifera* türüne aittir (This ve diğ. 2006). Üzüm meyvelerinin renkleri koyu kırmızı, siyah, koyu mavi, sarı, yeşil, turuncu ve pembe olabilir ve sofralık üzüm olarak taze olarak tüketilebildiği gibi kuru üzüm, şarap, reçel, pekmez, sirke, üzüm suyu (şıra), jöle, üzüm çekirdeği ekstresi ve üzüm çekirdeği yağı yapımında kullanılabilir (Weaver 1976).

Öküzgözü, Denizli ve Elazığ bölgesinde yaygın olarak yetiştirilen ve Türkiye'nin en kaliteli kırmızı şaraplarından birinin üretiminde kullanılan, *Vitis vinifera*'nın yerli üzüm çeşididir (Kelebek ve diğ. 2010). Yuvarlak, nispeten sert kabuklu, iri taneli, siyah-mor meyveleri ile tanınan bir şarap üzümü olan Öküzgözü genellikle yüksek antioksidan aktivite, resveratrol ve fenolik kapasiteye sahiptir. Türkiye'de en çok üretilen çeşitlerden biridir ve aroma açısından zengin çilek, kiraz ve böğürtlen kokusu gibi meyvemsi notalara sahip, yüksek kaliteli ve dengeli şarapların üretimini sağlamaktadır (Cabaroğlu ve diğ. 2002, Kelebek ve diğ. 2010, Tetik ve diğ. 2018).

Üzüm posası; şarap, sirke ve pekmez yapımı sırasında ortaya çıkan ve üzüm kabuğu, üzüm çekirdeği ve üzüm sapından oluşan atıktır. Üzüm posasının yaklaşık %50'si kabuk, %25'i çekirdek ve %25'i ise saptan oluşmaktadır (Aktan ve Kalkan 2000). Genel olarak üzümün cinsine ve işleme şekline göre presten sonra, %75-85 oranında şıra, %15-25 oranında ise posa çıkmaktadır (García-Lomillo ve González-SanJosé 2017). Presten atık olarak çıkan bu posa, gübre üretiminde veya hayvan yemi olarak kullanılabilir (Ferrer ve diğ. 2001, Sanchez ve diğ. 2002, Doymaz ve Akgün 2009). Bunların dışında pres atıkları çok sayıda sağlığa yararlı bileşikleri içermesi sebebiyle sitrik asit üretimi, üzüm kabuklarından gıda boyası üretimi, üzüm çekirdeği kullanılarak lakkaz üretimi, üzüm çekirdeği yağı üretimi ve bu yağın kozmetik ve eczacılıkta kullanımı, bu atık üründen yararlanmanın diğer yollarıdır (Rodríguez Couto ve diğ. 2006, Soccol ve diğ. 2006, Hanganu ve diğ. 2012).

Dünya genelinde milyonlarca ton şarap pres atığı (posa) oluşmaktadır. Fenolik bileşiklerin çoğu, kabuk ve çekirdekte bulunur. Böylece, üzüm artıkları son

yıllarda bir besin takviyesi olarak popüler hale gelmiştir (Xu ve diğ. 2010, Paradelo ve diğ. 2012, Giusti ve Wrolstad 2003).

Metabolik faaliyetler sonucu ortaya çıkan serbest radikaller, deri, damar, mide rahatsızlıkları, tümör oluşumu ve kanser gibi birçok hastalığın kaynağı olan hücre denatürasyonlarına sebep olmaktadır (Bagchi ve diğ. 1999). Antioksidan etkiye sahip olan üzüm posası, serbest radikalleri bağlayarak hücrelerin yaşlanmasını geciktirir ve tümör oluşumunu engeller (Guandez ve diğ. 2005, Ahn ve diğ. 2002). Özellikle üzümün kabuğunda bulunan antioksidan özellikli bu polifenoller sayesinde kötü kolesterol olarak da bilinen düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL kolesterol) seviyesini düşürdüğü ve koroner kalp-damar hastalıklarını önlemede etkili olduğu belirtilmiştir (Ruberto ve diğ. 2007). Bu sebeple, antiviral, antioksidan, enzim inhibe edici ve antitümör aktiviteye sahip üzüm posasının insan sağlığı üzerine olumlu birçok etkisi bulunmaktadır (Spranger ve diğ. 2008).

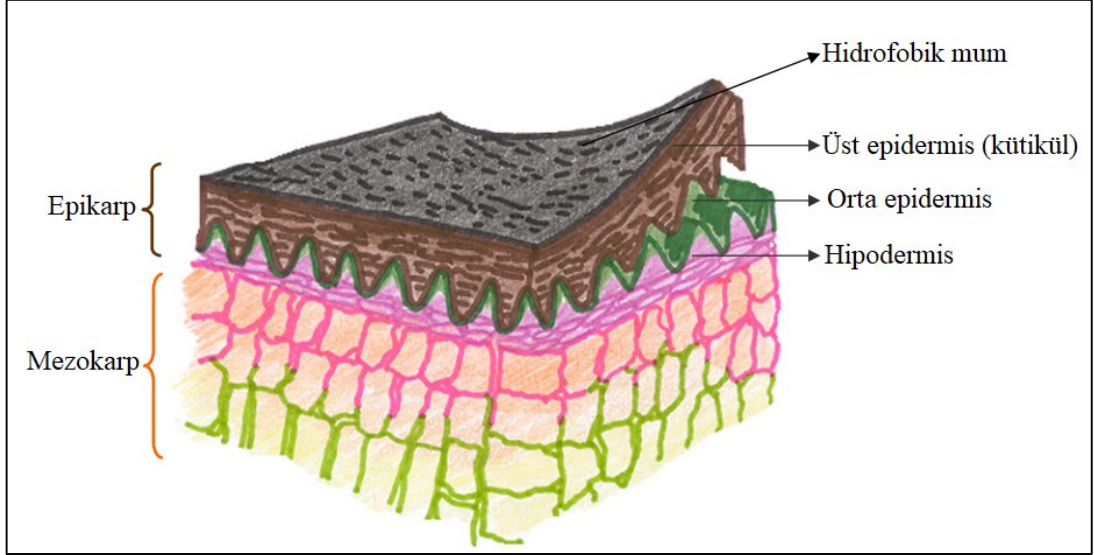
Üzüm posasının kimyasal bileşen kompozisyonu birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu faktörler; üzüm çeşidindeki farklılıklar, olgunlaşma durumu, yetiştirmedeki mevsimsel ve bölgesel koşullar, şarap, sirke, pekmez ürünlerinin üretimleri esnasındaki koşullar olarak sıralanabilmektedir (Ruberto ve diğ. 2007). Çeşitli kırmızı ve beyaz üzüm posalarının genel kimyasal kompozisyonu Tablo 2.4'te verilmiştir (González-Centeno ve diğ. 2010).

Tablo 2.4: Çeşitli kırmızı ve beyaz üzüm posalarının genel kimyasal kompozisyonu (g/100 g taze ağırlık)

Nem	50,2 - 72,2
Diyet Lif	19,9 - 40,8
Lipid	0,3 - 1,0
Toplam Şeker	15,6 - 32,5
Protein	2,7 - 3,8
Kül	1,8 - 3,0

Üzüm posasının yaklaşık %50'sini oluşturan kabuk, üzüm meyvesini fiziksel, mekanik ve iklimsel birçok zararlanmalardan korumaktadır. Ayrıca dehidrasyon, mantar enfeksiyonları ve UV (ultraviyole) ışıklardan da koruyan hidrofobik bir bariyer görevi görmektedir (Pinelo ve diğ. 2006).

Üzüm kabuğu üst üste binen üç katmandan oluşmaktadır (Şekil 2.5). En dışta bulunan katman olan üst epidermis (kütikül), hidroksillenmiş yağ asitlerinden oluşmaktadır ve hidrofobik mumlar ile kaplıdır. Ortada orta epidermis, meyve etine en yakın katman ise hipodermis olarak adlandırılmaktadır. En içteki katman olan hipodermis, kabuktaki fenolik bileşenlerin büyük çoğunluğunu içermektedir (Lecas ve Brillouet 1994, Pinelo ve diğ. 2006).



Şekil 2.5: Üzüm kabuğunun farklı katmanları (Pinelo ve diğ. 2006)

Üzüm kabuğu, meyvenin en yüksek miktarda tanen içeren kısmıdır ve daha yüksek polimerizasyon derecesine ve daha az miktarda gallata sahip olamasıyla diğer üzüm kısımlarından ayrılmaktadır. Genel olarak kabuktaki fenolik kompozisyon, üzüm çeşidine ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişse de, kabuktaki tanenlerin çoğu kateşin, epikateşin ve epikateşin gallattır (Souquet ve diğ. 1996). Bununla birlikte az miktarda gallokateşin ve epigallokateşin de bulunmaktadır. Siyanidin, malvidin, delfinidin, petunidin ve peonidin 3-glukozidler, 3-(6-asetil)-glukozidler ve 3-(6-p-kumaril)-glukozidler, malvidin ve peonidin 3-(6-kafeil)-glukozidler ve bazı pirüvatlar üzüme ve şaraba rengini veren antosiyaninlerdir (Monagas ve diğ. 2006). Bunların dışında, kuersetin ve kaempferol glukozidleri ve glukuronitleri, gallik asit ve glukozidleri, katarik asit ve klorik asitler de üzüm kabuklarının fenolik bileşimini oluşturur. Kırmızı üzüm kabuklarının antosiyaninlerinin ve beyaz üzüm kabuklarındaki bazı fenolik bileşenler dışında kırmızı ve beyaz üzüm kabuklarının fenolik bileşimi büyük ölçüde farklı değildir (Borbalan ve diğ. 2003, Pinelo ve diğ.

2006). Üzüm kabuğunda bulunan fenolik bileşenlerin genel içeriği Tablo 2.5'te görülmektedir (Pinelo ve diğ. 2006).

Üzüm çekirdeği ve saplarında da tanenler bulunmaktadır. Üzüm çekirdeğindeki tanenler polimerize olmak yerine monomerik formda bulunmaktadır. Çekirdekdeki gallat miktarı kabuk ve saplardan daha fazladır. Çekirdek tanenleri esas olarak epikateşin birimlerinin yanı sıra daha az miktarda kateşin, epikateşin gallat ve epigallokateşinden oluşur. Kuersetin 3-glukuronid, kateşin, katarik asit ve astilbin de üzüm çekirdeğinde bulunan diğer bileşenlerdir. Saplarda ise kabuk ve çekirdeğe oranla daha az tanen bulunmaktadır (Souquet ve diğ. 2000).

Yetiştirme koşullarının üzümlerin fenolik bileşimi ve rengi üzerinde oldukça etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca oksidasyona ve bozunmaya en yatkın olan antosiyaninlerin siyanidin, petunidin ve delfinidin olduğu belirtilmiştir (Gonzalez-Neves ve diğ. 2004).

Tablo 2.5: Üzüm kabuğunda bulunan fenolik bileşenlerin genel içeriği (Pinelo ve diğ. 2006)

Bileşen	Üzüm kabuğu (mg/g)
Gallik asit	0,03
Koutarik asit	0,03 - 1,23
Kaftarik asit	0,11 - 6,97
Fenolik asitler	0,17 - 8,23
Kateşin	0 - 0,16
Epikateşin	0 - 0,13
Epigallokateşin	İz miktarda
Epigallokateşin-3-gallat	-
Epikateşin-3-gallat	0,04
B1	0,11 - 06
B2	0,11 - 0,84
Tanen	1,61
Total flavan-3-ols	0,12 - 3,38
Delfinidin-3-glc	0,44 - 1,11
Siyanidin-3-glc	1,51 - 3,81
Petunidin-3-glc	0,53 - 1,34
Peonidin-3-glc	0,99 - 2,49
Malvidin-3-glc	4,12 - 10,19
Delfinidin-3-acglc	0,08 - 0,19
Petunidin-3-acglc	0,11 - 0,28
Peonidin-3-acglc	0,27 - 0,30
Malvidin-3-acglc	0,62 - 1,74
Siyanidin-3-glc	0,07 - 0,22
Petunidin-3-glc	0,19 - 0,49
Peonidin-3-acglc	0,43 - 1,37
Malvidin-3-acglc	2,11 - 6,29
Toplam antosiyanin miktarı	11,47 - 29,82
Kuersetin-3-glc	0,15 - 0,2
Mirisetin-3-glc	-
Kuersetin-3-glukoronid	0,22 - 0,29
Kaempferol-3-glc	0,11 - 0,14
Mirisetin-3-glukoronid	-
Total flavonoller	0,48 - 0,63
- Tespit edilemedi	
glc: glukozid	
ac: asetil	

Denizli ve Elazığ illerinde yetişen Öküzgözü cinsi üzümlerde 14 adet antosiyaninin belirlendiği bir çalışmada, en fazla bulunan antosiyaninin malvidin-3-glukozid olduğu belirlenmiştir. Toplam antosiyanin miktarının yaklaşık %50'sini oluşturan malvidin-3-glukozidi, petunidin, delfinidin, peonidin ve siyanidin-3-glukozid izlemektedir. Ayrıca Öküzgözü üzümlerinin toplam antosiyanin miktarlarına bakıldığında, farklı yıllarda ve farklı bölgelerde hasat edilmiş üzümlerin farklı miktarlarda antosiyanin içerdiği bildirilmiştir. Buna göre, üzümlerin yetiştirildiği bölge ve yıla göre antosiyanin miktarlarında değişim göstermektedir (Kelebek 2009).

Orak (2007), aralarında Öküzgözü, Kalecik karası, Boğazkere, Adakarası gibi Anadolu kökenli üzümlerin de bulunduğu 16 çeşit üzümde yaptığı çalışmada toplam antosiyanin miktarını 40,3-990,8 mg/kg (malvidin-3-glukozid) olarak bulmuştur. En yüksek antosiyanin miktarı Cabernet Sauvignon üzümünde bulunurken, onu 938,5 mg/kg (malvidin-3-glukozid) ile Öküzgözü üzümü takip etmektedir. En düşük antosiyanin miktarı ise Md. Jean Mattihas üzümüne aittir. Ayrıca çalışmada toplam antioksidan aktivite, toplam fenol içeriği ve toplam antosiyanin miktarı arasında pozitif bir korelasyon olduğu da belirtilmektedir.

Xu ve diğ. (2010)'da yaptıkları bir çalışmada, 18 farklı *Vitis* melez çeşidi ve *Vitis vinifera* türünde antosiyanin profili incelenmiştir. Çalışma sonucunda meyvede toplam fenolik bileşen içeriği benzerken, kabuk ve çekirdekte farklılıklar görülmüştür. Ayrıca, melez türlerin fenolik bileşenleri ve antioksidan özelliklerinin, ebeveynleri arasında bir değerde olduğu belirtilmiştir.

Farhadi ve diğ. (2016), altı üzüm çeşidinin kabuk, posa, çekirdek, sap ve yaprak kısımlarının toplam antosiyanin miktarlarını incelemiştir. En yüksek antosiyanin miktarının 7-6310 mg/100 g (siyanidin-3-glukozid) aralığında kabukta bulunduğunu bulmuşlardır. Tüm çeşitlerde fenolik bileşen ve antioksidan aktivite bakımından en yüksek değerlerin kabukta olduğunu ve çalışmalarında kullandıkları yerli çeşitlerin uluslararası türden daha yüksek değerde fenolik bileşene sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Benmeziyan ve diğ. (2016), Cezayir'de yetişen farklı şaraplık üzüm türlerinin kabuklarında antosiyanin tayini yapmış ve 17,4-214,1 mg/kg aralığında bulmuşlardır.

Kabukta malvidin ve petunidin-3-glukozid en fazla bulunan antosiyaninler iken, kuersetin-3-glukozid ise en fazla bulunan flavonol olduğunu belirtmişlerdir.

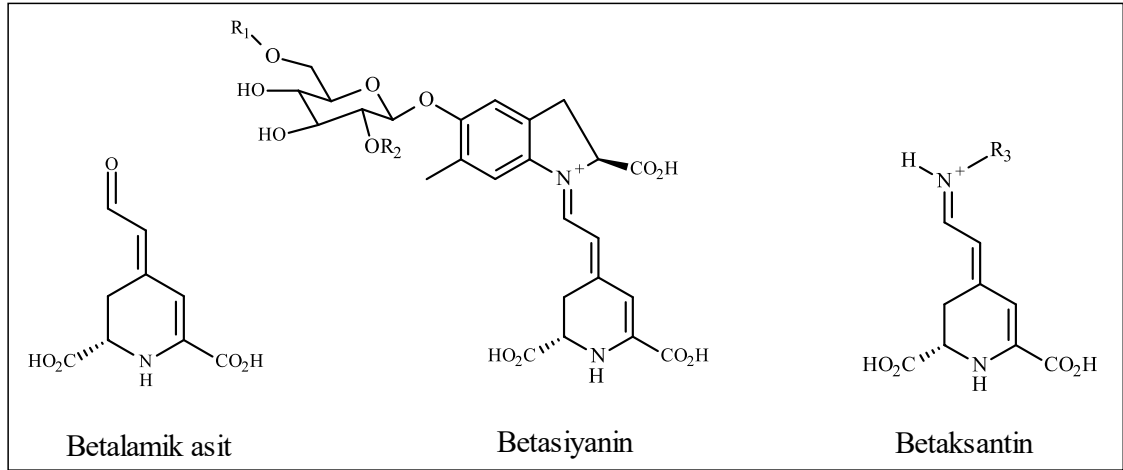
2.3 Betalainler

Betalainler, tirozin amino asidinden sentezlenen suda çözünür azot içeren pigmentlerdir ve kırmızı-mor renkteki betasiyaninler (Yunancadaki “kyanos” (mavi)) ile sarı-turuncu renkteki betaksantinler (Latincedeki “beta” (kırmızı pancar) ve Yunancadaki “xanthos” (sarı)) olmak üzere iki yapısal gruba ayrılmaktadır (Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Azeredo 2009). Karanfilgiller (Caryophyllaceae) ve Halıotugiller (Molluginaceae) familyası hariç olmak üzere Caryophyllales takımının çiçeklerinin veya meyvelerinin ve bazı mantar türlerinin parlak renklerinden sorumludur (Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Tanaka ve diğ. 2008).

Antosiyaninler iyi bilinen suda çözünür renklendiriciler olmasına rağmen betalainler bu kadar kapsamlı bir şekilde araştırılmamıştır. Bu, bitki dokularında betalainlere kıyasla antosiyaninlerin daha yaygın bir şekilde dağılmasından kaynaklanıyor olabilir (Slatnar ve diğ. 2015). Betalainler, zayıf asidik özellikteki ortamlarda (pH 3-7 arası) antosiyaninlere oranla daha stabil olması sebebiyle zayıf asidik ve nötr gıdalarda doğal renklendirici olarak antosiyaninler yerine tercih edilmektedir (Özcan ve Ersus Bilek 2018).

2.3.1 Betalainlerin kimyasal yapısı

Betalamik asit, tüm betalain pigmentlerinin ortak bileşenidir ve betalamik asit molekülüne eklenen kökler pigment sınıflandırmasını betasiyanin veya betaksantin olarak belirler. Betasiyanin yapısındaki R₁ ve R₂ hidrojen iken, betaksantin yapısındaki R₃ ise amin ya da amino asit grubudur (Şekil 2.6). Yapılan araştırmalarda farklı yapıya sahip yaklaşık 50-70 kadar betalain tespit edilmiştir (Kannan 2011). Bunların %50 kadarını betasiyaninler; %20'sini ise betaksantinler oluşturmaktadır (Cai ve diğ. 2005).



Şekil 2.6: Betalamik asit, betasiyanin ve betaksantin genel kimyasal yapısı (Azeredo 2009)

Betasiyaninler ve betaksantinler kimyasal yapılarına göre sınıflandırılırlar. Betasiyanin yapıları şekerlerinde ve açıl gruplarında varyasyonlar gösterirken, betaksantinler yapılarına bağlanan geniş amin çeşitliliği ve amino asitlerle varyasyon gösterir (Delgado-Vargas ve diğ. 2000).

Betanidin, çoğu betasiyaninin aglikonudur. Betanidin 5. veya 6. pozisyonunda yer alan bir veya iki hidroksil grubunun glikozilasyon ve asilasyonu ile çeşitli betasiyaninlerin oluşumu sağlanır. Bunların çoğu 5-O-glukozidler olmakla birlikte 6-O-glukozidler de bulunmaktadır. 5-O-glukozidin glikozilasyonu daha yaygındır. Hidroksisinnamik asitlerle esterleşme de yaygın olarak görülmektedir (Azeredo 2009).

En yaygın betasiyanin kırmızı pancardaki ana pigment olan betanidin-5-O- β -glukoziddir ve “betanin” olarak isimlendirilmektedir. Betasiyaninler, bir siklo-3,4-dihidroksi fenilalanin (siklo-DOPA) yapısı içerirler (Strack ve diğ. 2003). Bu yapı sayesinde betasiyaninler UV bölgede 270-280 nm’de, UV-görünür bölgede ise 535-540 nm’de (çözücüye bağlı olarak) maksimum absorbans gösterir (Stintzing ve diğ. 2004). Kırmızı ve mor renkler, betasiyaninlerin farklı bağlanma modellerinden kaynaklanmaktadır (Azeredo 2009).

Tablo 2.6: Bazı betalainler ve kimyasal yapıları (Delgado-Vargas ve diğ. 2000)

Betalain	Bağlı Olduğu Uzantısı
Aglikon	
Betanidin	-
Betanin grubu	
Betanin	5- <i>O</i> -Glc
Phyllocactin	5- <i>O</i> -Glc
Lampranthin-I	5- <i>O</i> -Glc
Amarantin grubu	
Amaranthin	5- <i>O</i> -Glc-2- <i>O</i> -GlcU
Celosianin II	5- <i>O</i> -Glc-2- <i>O</i> -GlcU
Bougainvillein	
Bougainvillein	5- <i>O</i> -Glc-2- <i>O</i> -GlcU
Gomphrenin grubu	
Gomphrenin-I	6- <i>O</i> -Glc
Betaksantinler	
DOPAksantin	DOPA
İndikaksantin	Prolin
Portulaksantin-II	Glisin
Vulgaksantin-I	Glutamik asit
Glc: β -D-Glukoz; GlcU: β -D-Glukoronik asit; DOPA: 3,4-dihidroksi fenilalanin	

Betaksantinler, farklı protein yapıda ve protein olmayan yapıda amino asitlerin yanı sıra betalamik asitlerin aminle konjuge edilmiş parçalarından oluşur. Farklı amino asit veya amin yan zincirleri içermektedir. Amin çiftleri, amino asitlerden daha düşük bir absorpsiyon gösterir (Stintzing ve diğ. 2002^b). Bitkilerde bulunan 200'den fazla amino asit potansiyel betaksantin yapılarını oluşturabilir. Doğal olarak oluşan 15 kadar betaksantin bulunmaktadır. Bunların sekizi protein olmayan yapıda amino asit içermektedir. İlk olarak kristalize edilen betaksantin bileşiği, Hint inciri (*Opuntia ficus-indica*) meyvesinden izole edilen indikaksantindir. Doğal olarak oluşan bazı betalainlerin kimyasal yapıları Tablo 2.6'da verilmiştir (Delgado-Vargas ve diğ. 2000).

2.3.2 Betalainler ve sağlık ilişkisi

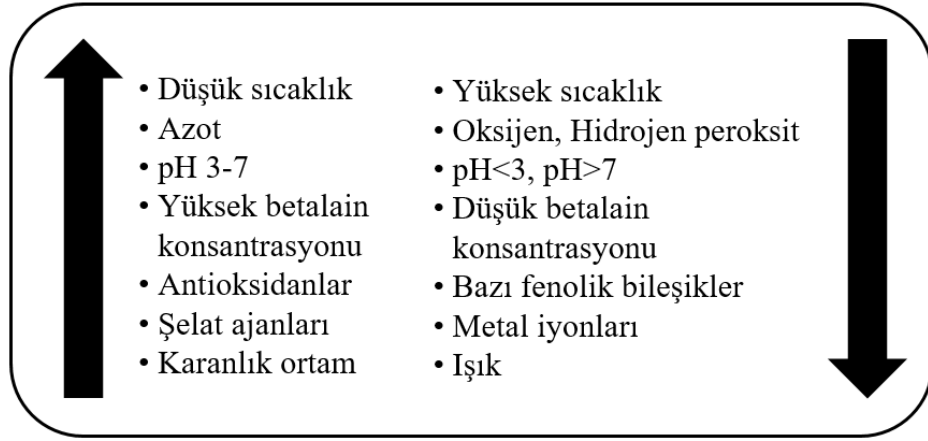
Betalainlerin antioksidan, antiviral ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bililmektedir. Bunun yanı sıra, hidrojen peroksit kaynaklı DNA hasarını azalttığı ve serbest radikalleri tutma özelliği sayesinde kanser ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda betalainlerin, kolesterol dűřürücü etkisi sayesinde herhangi bir yan etki ve toksisitesi olmayan betalain içeren bitki ekstraktlarının kullanımı ile sentetik ilaçlara bir alternatif olduğu belirtilmiştir. Betalainlerin, antimikrobiyal aktivitesiyle, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* O157:H7 suşunun gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Özyurt ve diđ. 2019).

Bir başka ilginç çalışma alanı da sarı betaksantinlerin iyi bir doğal renklendirici olmasının yanı sıra esansiyel amino asitleri gıdalara katmanın bir yolu olarak kullanılabilceği yönünde yapılan çalışmalardır (Delgado-Vargas ve diğ. 2000).

2.3.3 Betalainlerin stabilitesini etkileyen faktörler

Betalainler de diğer pek çok renk maddesi gibi çeşitli faktörlerden etkilenmekte ve stabilitesini kaybedebilmektedir. pH 3-7 arasında stabil olan betalainler ısı, ışık, oksijen, pH değer, su aktivitesi, metal iyonları ve bazı enzimlerden etkilenmektedir. şekil 2.7’de betalainlerin stabilitesini arttıran ve azaltan faktörler gösterilmektedir (Özcan ve Ersus Bilek 2018).

Betalain stabilitesini etkileyen en önemli faktörlerden biri sıcaklıktır. 80 °C ve üzeri sıcaklıklar betalain bileşiklerinde bozunmaya sebep olurken 4 °C gibi dűřük sıcaklıklar bozunma hızını azaltmaktadır. Ayrıca mikrodalga uygulamasında 60 °C üzerindeki sıcaklıklarda betalain bileşiklerinde bozulma olduğu bildirilmiştir (Slavov ve diđ. 2013, Cejudo-Bastante ve diđ. 2015).



Şekil 2.7: Betalainlerin stabilitesini arttıran ve azaltan faktörler

Işık yoğunluğu betalainlerin stabilitesi üzerinde etkili bir diğer faktördür. Ortamdaki ışık miktarının artmasıyla birlikte betalain bileşiklerinin bozulduğu böylece renk değerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir (Paciulli ve diğ. 2016, Özcan ve Ersus Bilek 2018).

Ortamdaki oksijen konsantrasyonu ile betalain stabilitesi arasında ters bir korelasyon bulunmaktadır. Oksijen miktarı arttıkça betalainin bozulma hızı artmaktadır. Bununla birlikte hidrojen peroksitin de betalainin bozulma hızını arttırdığı, azotun ise bozulma hızını azalttığı belirtilmiştir. Azot içeren modifiye atmosferlerde betalain stabilitesi olumlu yönde etkilenmektedir (Esatbeyoğlu ve diğ. 2015, Martins ve diğ. 2017).

Betalainler pH 3-7 arasında stabilitesi yüksek bileşiklerdir. Bu aralığın dışına çıkıldığında stabilitede azalmalar meydana gelmektedir. Bunun yanı sıra ortamdaki betalain konsantrasyonu arttıkça stabilite de artmaktadır. Ortamda bulunan diğer bileşikler de betalainin stabilitesini etkileyen parametrelerdendir. Örneğin askorbik asit gibi antioksidan özellikteki bileşikler oksijenin uzaklaştırılmasını sağlayarak betalain stabilitesini arttırırken gallik asit ve kateşin gibi bazı fenolik bileşikler ve flavanoller stabiliteyi azaltıcı etki göstermektedir. Bunların dışında demir (Fe^{+3}), bakır (Cu^{+2}), alüminyum (Al^{+3}) ve civa (Hg^{+2}) gibi metal iyonları da betalain stabilitesini azaltmaktadır. Bu sebeple sitrik asit ve EDTA gibi metal şelatlama ajanları betalain stabilitesinin arttırılmasında önemli rol oynamaktadır (Khan ve Giridhar 2014, Khan 2016, Özyurt ve diğ. 2019).

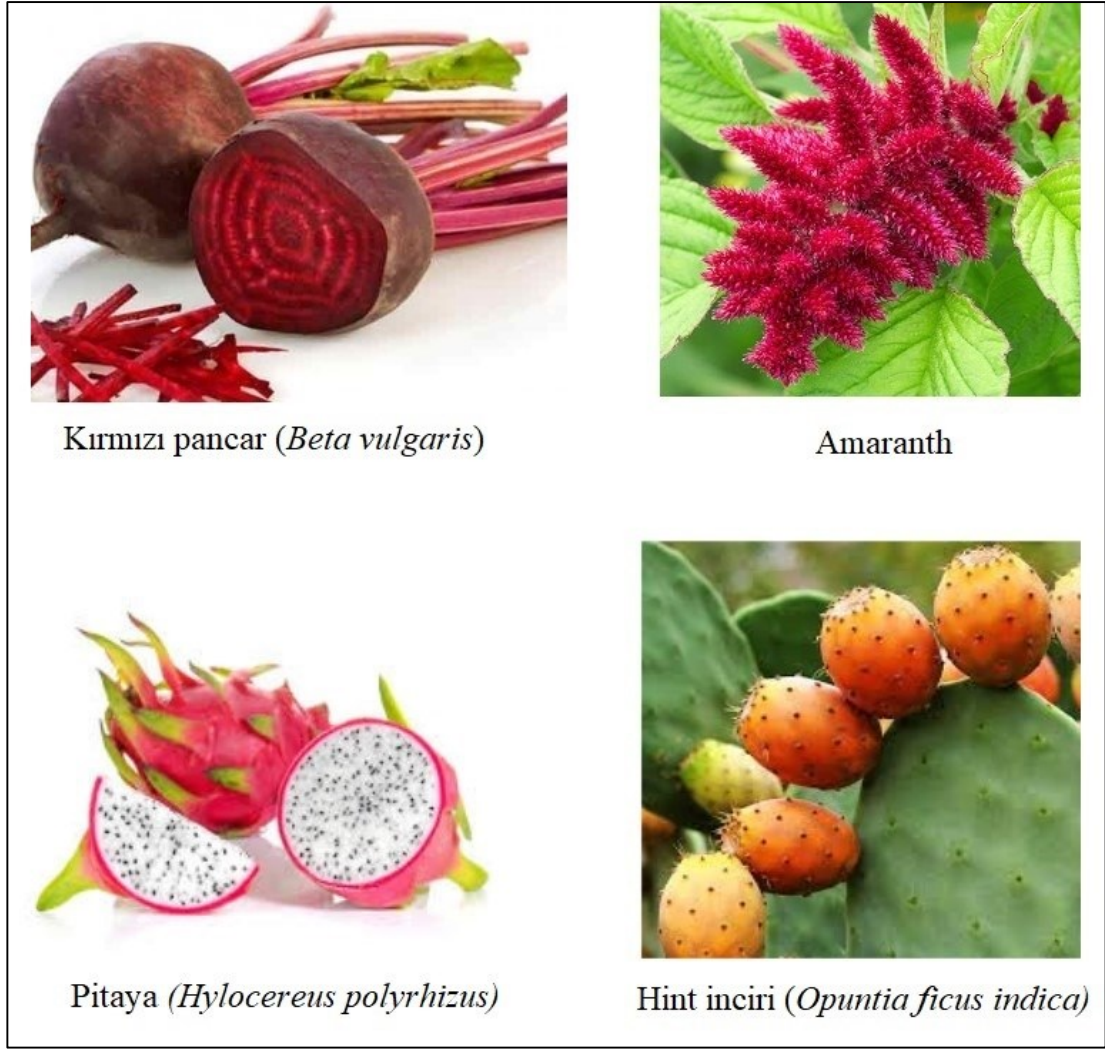
2.3.4 Betalain kaynakları

Betalainler, Karanfilgiller (Caryophyllaceae) ve Halıotugiller (Molluginaceae) familyası hariç olmak üzere Caryophyllales takımının çiçekleri veya meyveleri ile Amanita, Hygrocybe ve Hygrosporus gibi mantar türlerinin parlak renklerinden sorumludur (Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Tanaka ve diğ. 2008). Buzçiçeğigiller (Aizoaceae) ve semizotugiller (Portulacaceae) familyalarının çiçeklerinde kırmızı, sarı, pembe ve turuncu renkli, kaktüs-giller (Cactaceae) familyası meyvelerinde ve kırmızı pancar kökünde (Ispanakgiller (Amaranthaceae) familyasına bağlı Kazayağigiller alt familyasında (Chenopodiaceae)) mor renkli pigmentleri üretirler. Betalainler çiçek yapraklarında bulunur. Örneğin Begonvilde (Gecese-fasıgiller (Nyctagynaceae)) geniş bir renk yelpazesine sahiptir ((Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Nemzer ve diğ. 2011). Tablo 2.7’de bazı önemli betalain kaynağı bitkiler ve içerdikleri betalainler belirtilmiştir (Pavokovic ve Krsnik-Rasol 2011).

Tablo 2.7: Bazı önemli betalain kaynağı bitkiler ve içerdikleri betalainler (Pavokovic ve Krsnik-Rasol 2011)

Familya	Tür	Bilinen isim	Bulunan Betalainler
Kazayağıgiller (Chenopodiaceae)	<i>Beta vulgaris</i>	Kırmızı pancar kökü	Vulgaksantin (I, II), İndikaksanthin, Betanin, Prebetanin, İsobetanin, Neobetanin
	<i>B. vulgaris</i> L. ssp. <i>cicla</i> [L.] Alef.	Pazı	Betaksantin (20 farklı çeşit) Betasiyanin (9 farklı çeşit)
	<i>Chenopodium rubrum</i>	Kırmızı kazayağı	Vulgaksantin (I, II), Amarantin, Celosianin, Betanin
Kaktüsçiller (Cactaceae)	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	Ejder meyvesi (pitaya)	Betanin, İsobetanin, Phyllocactin, İsohylocactin, Hylocerenin, Bougainvillein-r-I
	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Hint inciri	Hylocerenin, İsohylocerenin, Minör apiofuranozil betasiyaninler
Ispanakçiller (Amaranthaceae)	<i>Amaranthus</i> sp.	Amarant	Amaranthine, İsoamaranthin
Semizotugiller (Portulacaceae)	<i>Portulaca grandiflora</i>	İpek çiçeği	Dopaksantin, Vulgaksantin I, Portulacaksantin II, Miraksantin V, İndikaksantin
Buzçiçeğiçiller (Aizoaceae)	<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	Buz çiçeği	Betasiyaninler, Mesembryanthin
Gecese fasıçiller (Nyctaginaceae)	<i>Bougainvillea</i> sp.	Begonvil	Gomphrenin I, Bougainvillein V türevleri, çeşitli Betaksantinler

Ayrıca, *Amaranth* tohumlarında, *Teloxis* yapraklarında ve saplarında, *Amaranthus* (*Amaranth* bitkisi), *Hylocereus polyrhizus* (Pitaya) ve *Opuntia ficus indica* (Hint inciri) bulunurlar (Şekil 2.8, Delgado-Vargas ve diğ. 2000, Nemzer ve diğ. 2011).



Şekil 2.8: Bazı önemli betalain kaynakları

Betalainler gıda sektöründe 20. yüzyıldan itibaren renklendirici olarak kullanılmakla birlikte, çok daha eskiden betanin içeren şekeriboyası (pokeberry) sularının, kırmızı şarabın rengini çekici hale getirmek için kullanıldığı aktarılmaktadır. Özellikle kırmızı pancarın suyla ekstrakte edilmesi ile elde edilen ekstrakt %60-65 kuru madde içeriğine kadar konsantre edilip kullanılabildiği gibi maltodekstrinle püskürtmeli kurutucularda toz haline getirilerek de kullanılabilmektedir (Delgado-Vargas ve Paredes-Lopez 2003).

2.4 Kırmızı Pancar (*Beta vulgaris*)

Ispanakgiller (Amaranthaceae) familyasına ait çiçekli kök bir sebze olan kırmızı pancar (*B. vulgaris* var.), insanoğlunun bildiği en eski sebzelerden biridir.

Akdeniz kıyı şeridi pancarın ana vatanı olarak kabul edilmektedir. 15. Yüzyılda Romalılar tarafından yaprakları için yetiştirilmiş, 15. Yüzyılın sonlarına doğru ise kökleri de tüketilmeye başlanmıştır. 18. Yüzyıldan sonra pancar türleri çeşitlenmiş ve şeker pancarı, sarı pancar gibi türler yetiştirilmeye başlanmıştır. Geleneksel olarak pancar yiyecek olarak tüketilmekteyken günümüzde yiyecek olarak tüketilmenin yanı sıra tıbbi, kozmetik ve renklendirici olarak da kullanılmaktadır (Chawla ve diğ. 2016). Kırmızı pancar günümüzde Akdeniz bölgesi, Batı ve Doğu Avrupa gibi ılıman iklimlerin yaşandığı yerlerde yetiştirilmektedir.

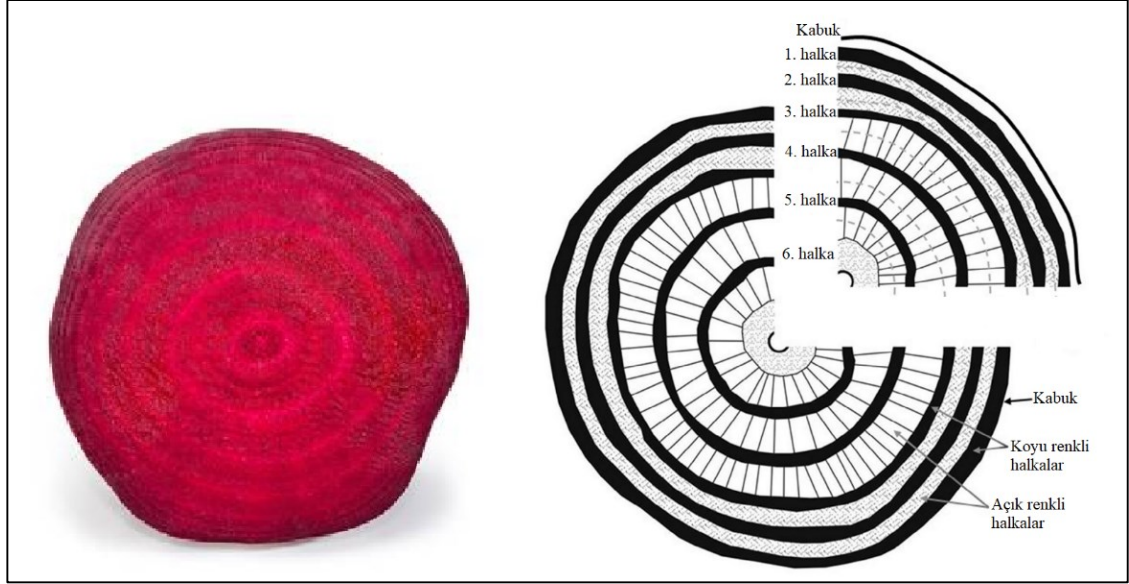
TÜİK verilerine göre ülkemizde 2020 yılında 7,9 bin ton kırmızı pancar üretimi gerçekleşmiştir. Yıllara göre üretilen kırmızı pancar miktarı Tablo 2.8'de görülmektedir (TÜİK 2021). Ülkemizde en çok Marmara ve Ege bölgesinde üretimi yapılmaktadır. Bu bölgeleri Akdeniz bölgesi takip etmektedir. Endüstriyel olarak turşu ve şalgam suyu üretiminde ve ayrıca renklendirici olarak kullanılmaktadır.

Tablo 2.8: Ülkemizde yıllara göre kırmızı pancar üretim miktarları (TÜİK 2021)

Yıl	Toplam Üretim Miktarı (Ton)
2011	7.815
2012	7.540
2013	7.286
2014	7.161
2015	7.028
2016	7.774
2017	7.553
2018	8.119
2019	9.917
2020	7.881

Kırmızı pancar, sağlık üzerine yararı bulunan betalain yönünden oldukça zengindir (Pavlov ve diğ. 2002). Bu renk pigmenti toz haline getirilerek, gıdalarda renklendirici (E162) olarak kullanılmaktadır (Georgiev ve diğ. 2010). Kırmızı pancar enine kesildiğinde odun ve soymuk dokulardan oluşan koyu renkli ve açık renkli halkalar görülmektedir (Şekil 2.9, Sawicki ve diğ. 2016). Bu halkalarda betalainler

bulunmaktadır. Pancarda renk önemli bir faktördür. Beyazdan koyu kırmızı renge kadar değişik varyasyona sahip çeşitleri görmek mümkündür (Eşiyok ve Bozokalfa 2007).



Şekil 2.9: Kırmızı pancarın enine kesiti (Sawicki ve diğ. 2016)

Kırmızı pancarın sahip olduğu kendine has renk betalainlerden kaynaklanmaktadır. Kırmızı pancardan elde edilen betalainler, gıda, kozmetik, tekstil ve sanatsal çalışmalarda doğal bir renklendirici olarak kullanılmaktadır (Tomar ve Yıldırım 2019). Gıda sektöründe ise bazı işlenmiş et ürünleri, toz içecekler, çorbalar, tatlılar, jöleler, reçeller, domates sosları, kahvaltılık gevrekler, sakız, şekerleme ve süt ve süt ürünlerini renklendirmek ve rengi iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır (Özcan ve Ersus Bilek 2018, Özyurt ve diğ. 2019, Tomar ve Yıldırım 2019). Tablo 2.9'da kırmızı pancarın genel kimyasal kompozisyonu görülmektedir (Chawla ve diğ. 2016).

Kırmızı pancar iyi bir antioksidan kaynağıdır. Bu sebeple kalp ve damar hastalıklarını önlemede etkili olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Ayrıca yapısında yer alan betalainler, karotenoidler, askorbik asit, nitrat ve diğer fenolik bileşenler kırmızı pancarı sağlık açısından önemli bir yere koymaktadır. Wootton-Beard ve diğ. (2011)'de yaptığı çalışmada çeşitli sebze sularının antioksidan aktivite ve fenolik bileşiklerini karşılaştırmıştır. Domates, havuç, kırmızı pancar ve karışık sebze suyunun karşılaştırıldığı çalışmada kırmızı pancar suyunun diğer sebze sularına oranla daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ve daha fazla fenolik

bileşik içerdiği belirtilmiştir. Kırmızı pancarın antioksidan etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada kırmızı pancar betalainlerinin 28 gün boyunca 4 °C'de muhafaza edilen mayonezde lipid oksidasyonunu önleyici etkisinin olduğu belirlenmiştir (Raikos ve diğ. 2016).

Tablo 2.9: Kırmızı pancarın genel kimyasal kompozisyonu (Chawla ve diğ. 2016)

Bileşen	Miktar (100 g'da)
Makro Bileşenler	
Karbonhidrat	9,56 g
Yağ	0,17 g
Protein	1,61 g
Lif	2,80 g
Mineraller	
Kalsiyum	16 mg
Demir	0,80 mg
Magnezyum	23 mg
Potasyum	325 mg
Sodyum	78 mg
Manganez	0,329 mg
Çinko	0,35 mg
Vitaminler	
A vitamini	33 IU
Tiamin (B1)	0,031 mg
Riboflavin (B2)	0,057 mg
Niasin (B3)	0,334 mg
Folat	109 µg
C Vitamini	4,9 mg
E Vitamini	0,04 µg
K vitamini	0,02 µg
Pantotenik Asit	0,155 mg

Nitratların indirgenmesiyle oluşan nitrozaminler hücre mutasyonlarını azaltmaktadır. Buna ek olarak yapılan çalışmalarda kırmızı pancarda önemli miktarlarda bulunan hem betanin hem de betanidin düşük konsantrasyonlarda dahi lipid peroksidasyonunu engellediğinden bahsedilmiştir. Betalainler düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyona karşı direncini arttırmaktadır (Gengatharan ve diğ. 2015, Sawicki ve diğ. 2016). Betalainlerin kırmızı kan hücrelerine eklendiğine ve bu sayede oksidatif hemolize karşı koruyabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Ek

olarak, betalainlerin kinin redüktazı kanseri önleme ile ilişkili güçlü bir detoksifikasyon enzimi indüklemeye yeteneği olduğu gösterilmiştir (Tesoriere ve diğ. 2005, Lee ve diğ. 2005). Kırmızı pancar mineraller bakımından da zengin bir bitkidir. Bu da onu beslenmedeki önemini bir kat daha arttırmaktadır (Janiszewska 2014, Gengatharan ve diğ. 2015).

Kırmızı pancarın antibakteriyel etkisi bulunmaktadır. Gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel etkilerin araştırıldığı bir çalışmada kırmızı pancar suyunun *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve gram negatif bakteriler üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Velićanski ve diğ. 2011).

Farklı ekstraksiyon tekniklerinin uygulandığı bir çalışmada Kırmızı pancar örneklerine yüksek sıcaklıkta uzun süreli klasik konvensiyonel ekstraksiyon ve düşük sıcaklıkta kısa süreli klasik konvensiyonel+mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulanmıştır. Ekstraksiyon süresini düşürmesi nedeniyle mikrodalga ile kombine edilmiş ekstraksiyonun daha verimli olduğu belirtilmiştir (Nistor ve diğ. 2017).

Kırmızı pancar süt ve süt ürünlerini renklendirme amacıyla kullanılmaktadır. Kavitkar ve diğ. (2017), kırmızı pancar ekstraktını süt içerisine eklemiş ve renk ve duyuşal özelliklerini incelemiştir. Kırmızı pancar ekstraktı eklenen sütün duyuşal özelliklerinin geliştiğı, viskozitesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kırmızı pancar ekstraktının sütün yapı ve tekstüründe olumsuz bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Sentetik renklendirici ile doğal renklendiricinin karşılaştırıldığı bir çalışmada hamburger ekmeğı, domates salçası ve çilek reçeline “new coccine” (E124) ve kırmızı pancar tozu ilave edilmiştir. Duyusal özelliklerin incelendiğı çalışmada kırmızı pancar tozu ilave edilen ürünlerin sentetik renklendirici ve kontrol grubuna göre daha çok tercih edildiğı belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca kırmızı pancar tozu ilaveli hamburger ekmeğinin diğer ürünle göre daha fazla betalain içerdiği belirlenmiştir (İbraheem ve diğ. 2015).

Kırmızı pancardan ekstrakte edilen betalainlerin şekerleme ürünlerinde kullanılabilirliğinin araştırıldığı çalışmada Roy ve diğ. (2004), betalainle

renklendirilen şekerlemelerin renklerini 1 hafta süresince koruduğunu belirlemişlerdir.

Güneşer (2016), betalain stabilitesini incelediği çalışmasında 70, 80 ve 90 °C'ye ısıtılan kırmızı pancar ekstraktı ilaveli inek sütündeki betalainlerin degradasyonunu sıcaklık arttıkça arttığı ve betalainlerin orta stabiliteye sahip olduğunu belirtmiştir. Çalışmada ayrıca L* değerinin kroma değeri ve hue açısına göre daha stabil olduğu görülmüştür.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Üzüm kabuğunun eldesi ve kurutulması

Bu çalışmada antosiyanin kaynağı olarak kullanılan Öküzgözü çeşidi üzüm kabuğu, Denizli'nin Çal ilçesine bağlı Selcen mahallesinde bulunan Ezel Şarapçılık'tan temin edilmiştir. Şaraphaneye gelen üzümler Selcen mahallesi civarındaki bağlardan hasat edilmiştir.

Çal, Denizli'nin kuzeydoğusunda yer almakta ve il merkezine 64 km uzaklıkta bulunmaktadır. 850 – 1050 m rakımda Akdeniz ve karasal iklime sahiptir. Yaz döneminde bile gece sıcaklıkları 15 °C olup oldukça serindir ve bu koşullar üzümün olgunlaşma aşamasında aroma, tanen ve rengini önemli ölçüde etkilemektedir. Bölgedeki toprak kalker yapıdadır ve asma kökleri serin ortamda kalmaktadır (Ezelwines 2021).

Kırmızı şarap üretiminde kullanılan Öküzgözü üzüm çeşidi şarap üretimi sırasında posa halinde presten (Enoveneta PPC100, İtalya) alınmıştır. Presten alınan posa, elekten geçirilerek çekirdeklerinden ayrılmış ve kartonların üzerinde ince bir tabaka halinde yayılarak 13-15 Ekim 2016 tarihleri arasında 3 gün süre ile açık havada gölgede kurutulmuştur (Şekil 3.1). Kurutma sırasındaki sıcaklık, bağıl nem ve rüzgar hızı değerleri gün bazında Tablo 3.1'de görülmektedir (Rasat Portalı 2021). Üzüm kabukları, kurutulmasının ardından 20 kg'lık çuvallara doldurularak Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarına getirilmiştir.

Tablo 3.1: Üzüm kabuklarının kurutulması esnasındaki hava değerleri

Tarih	Sıcaklık (°C)	Bağıl nem (%)	Rüzgar hızı (km/h)
13.10.2016	21,1	62,8	16,6
14.10.2016	20,0	53,9	11,3
15.10.2016	17,0	48,0	14,4

3.1.2 Kurutulmuş üzüm kabuğu ekstraksiyonu

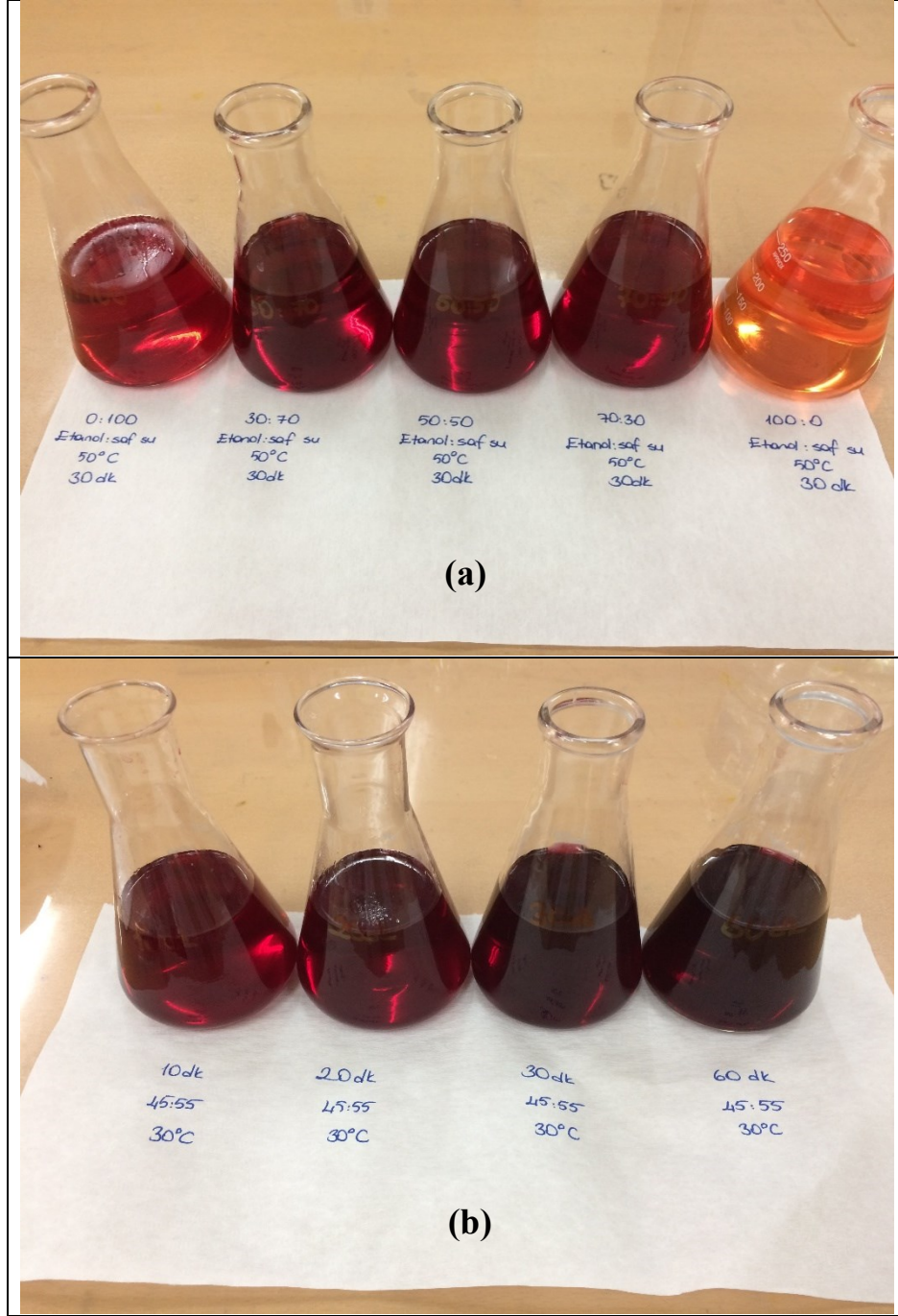
Kurutulmuş üzüm kabukları (KÜK), 0,5 cm boyutundaki elekten elenerek tekdüze boyuta indirgenmiştir. Kullanılan elek Denizli piyasasından temin edilmiştir. Elenmiş üzüm kabuklarının verim deneme çalışmalarında en uygun örnek: çözücü oranının 1:12 olduğu belirlenmiştir. KÜK, 20 g olacak şekilde tartılarak, 240 ml toplam hacimde 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 100:0 etil alkol: saf su (%0,1'lik sitrik asitli) oranlarındaki çözücüde, 30 °C, 40 °C, 50 °C sıcaklıkta 30, 90, 150 ve 180 dakika sürelerde 60 rpm hızındaki çalkalamalı su banyosunda (Blulab BCS30, Türkiye) bekletilerek ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar, önce kaba filtre kağıdından süzülmüş, preslenerek tüm çözücünün alınması sağlanmıştır. Daha sonra ekstraktlar Whatman No:1 filtre kağıdından vakum filtrasyon düzeneğinde süzülmüştür. Döner evaporatörde (Büchi Rotavapor R-114) 50 °C'de vakum altında çözücü tamamen uzaklaştırılmıştır. Tamamen kuruyan ekstrakt, 10 ml metanolde tekrar çözülmüş, tüplere alınarak analizi yapılincaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1: Kurutulan üzüm kabukları

3.1.3 Kırmızı pancar ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan kırmızı pancarlar (KP), Uşak'taki bir yerel toptancıdan temin edilmiştir. Yaprak ve kökleriyle bütün haldeki kırmızı pancarlar 50 kg'lık çuvallarla Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarına getirilmiştir. Daha sonra yapraklarından ayrılan kırmızı pancarlar bütün kök şeklinde analiz için kullanılabilmek üzere -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Ekstraksiyon için pancarların öncelikle kabukları soyulmuştur ve ardından küçük parçalara bölünerek parçalayıcıdan (Waring 8011S, ABD) geçirilmiştir. Örnek çözücü oranı 1:12 olarak belirlenmiştir. KP ekstraksiyonunda sıcaklık, süre ve çözücü oranı parametrelerini belirlemek amacıyla ön denemeler yapılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Kırmızı pancar ekstraksiyonu ön denemeler, **(a):** çözücü oranı denemeleri, **(b):** süre denemeleri

Yapılan ön denemeler sonucunda en uygun parametreler 30 dakika sürede, 30 °C, 40 °C, 50 °C sıcaklıkta, 30:70, 45:55, 60:40 etil alkol: saf su (%0,1'lik sitrik asitli) oranlarındaki çözücü konsantrasyonları olarak belirlenmiştir. Ekstraktları hazırlamak için 20 g parçalanmış KP 240 ml çözücüye eklenerek karıştırılmıştır. 30 dakika süre ile 60 rpm hızındaki çalkalamalı su banyosunda (Blulab BCS30, Türkiye) bekletilerek ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar, Whatman No:1 filtre

kağıdından vakum filtrasyon düzeneğinde süzölmüş, döner evaporatörde (Büchi Rotavapor R-114) 50 °C'de vakum altında çözücü tamamen uzaklaştırılmıştır. Tamamen kurutulan ekstrakt, 10 ml formik asit: metanol: saf suda (0,05:15:84,95) yeniden çözümlü tüplere alınarak -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 KÜK ekstraktı analizleri

3.2.1.1 Kimyasal analizler

KÜK ekstraktları, saf su ile su ile seyreltilmiş (ağırlık / hacim olarak 1:10) ve bir gün boyunca buzdolabında rehidre edilmiştir. Daha sonra Whatman No: 4 filtre kağıdından filtre edilerek toplam asitlik (g tartarik asit/100 ml), pH, nem ve suda çözümlü kurumadde (%briks) analizi yapılmıştır. pH analizi için pH 4 ve pH 7 tampon standartları kullanılarak kalibre edilen pH metre (Hanna Instruments, HI 83141, Michigan, ABD) kullanılmıştır (AOAC 2000).

Yaş üzüm kabuğu ve KÜK'ün nem içeriği, etüvde 4 saat boyunca 105 ± 1 °C'de ölçülmüştür (Mommert UN 160, Schwabach, Almanya). Briks değerleri Abbe Refraktometresi kullanılarak ölçülmüştür (AOAC 2000).

3.2.1.2 Toplam monomerik antosiyanin (TMA) tayini

Toplam monomerik antosiyanin (TMA) tayini için Fuleki ve Francis (1968) tarafından tanımlanan pH diferansiyel yöntemi uygulanmıştır. KÜK ekstraktları öncelikle 0,4 ila 0,6 arasında bir maksimum absorpsiyon verecek şekilde tampon çözeltisi (pH 1,0) ile seyreltilmiştir. Sonrasında ekstraktlar, pH 4,5 (0,4 M sodyum asetat tamponu) ve pH 1,0 (0,025 M potasyum klorür tamponu) ile daha önce belirlenen seyreltme faktörü ile seyreltilmiş ve 520 ve 700 nm'de spektrofotometrik

olarak (Uv-vis model T80, PG Instrument-UK) absarbans ölçümü yapılmıştır. Ekstraktların absorbansları Denklem (3.1) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4,5} \quad (3.1)$$

KÜK ekstraktlarının TMA değerleri (malvidin-3-O-glukozid (mv-3-glc) eşdeğeri olarak mg/kg (kuru ağırlık)) Denklem (3.2) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$TA = (A \times MW \times SF \times 1000) / (\epsilon \times l) \quad (3.2)$$

Denklemde;

TA: Toplam antosiyanin miktarı (mg/kg)

A: Seyreltilmiş KÜK ekstraktlarının absorbans değeri

MW: Malvidin-3-O-glukozidin moleküler ağırlığı (493,5 g/mol)

ϵ : Molar Absorbans (28000 kg/mol.cm)

l: Yol uzunluğu (1 cm)

SF: Seyreltme faktörü

3.2.1.3 DPPH antioksidan aktivite tayini

DPPH antioksidan aktivite tayini Brand-Williams ve diğ. (1995) ve Spranger ve diğ. (2008)'nin yöntemleri modifiye edilerek uygulanmıştır. Metanol ile yeterince seyreltilmiş 0,1 ml örnek bir tüpe alınarak üzerine taze hazırlanmış 3,9 ml DPPH metanol çözeltisi (2,2-difenil-2-pikrilhidrazil) konulmuştur. Tüp karıştırılarak 45 dakika boyunca oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilmiştir. Absorbans, spektrofotometrede (Uv-vis model, T80, PG Instrument-UK) metanole karşı 515 nm'de ölçülmüştür. DPPH antioksidan aktivitesi Denklem (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\%DPPH = [(A_{Kontrol} - A_{Örnek})/A_{Kontrol}] \times 100 \quad (3.3)$$

Denklemdede;

$A_{Kontrol}$: DPPH (3.9 ml) metanol çözeltisinin absorbanası

$A_{Örnek}$: Örneğin absorbanası

DPPH antioksidan aktivitesi, IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$ (kuru ağırlık)) olarak gösterilmiştir. Burada, örneğin %50 inhibisyonunu sağlamak için gereken zaman, ekstraktların konsantrasyon yüzdesine karşılık grafik yüzdesinden hesaplanmıştır.

3.2.1.4 Toplam fenolik madde miktarı tayini

Ekstraktların Toplam Fenolik madde miktarı tayini Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak yapılmıştır. İlk olarak, test tüpüne 8,4 ml distile su, 0,1 ml örnek ve 0,5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (1: 9 seyreltilmiş) ilave edilmiştir. Tüp karıştırıldıktan sonra, oda sıcaklığında 3 dakika bekletilmiş ve 1 ml %7,5'lik Na_2CO_3 çözeltisi eklenmiş ve yeniden karıştırılmıştır. Karışım, karanlık bir yerde bir saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda örnekler spektrofotometre (Uv-vis model, T80, PG Instrument-UK) kullanılarak 720 nm'de ölçülmüştür. 0,995 korelasyon katsayısı ile 0-200 mg/L aralığını kapsayan altı noktalık kalibrasyon eğrisi gallik asit çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır. Toplam fenolik madde miktarı, Singleton ve Rossi (1965) yöntemi kullanılarak mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g (kuru ağırlık) olarak belirlenmiştir.

3.2.1.5 Antosiyanin profili

Ekstraktların antosiyanin profili analizi HPLC'de yapılmıştır (Oh ve diğ. 2008). KÜK ekstraktları filtre edilmiş (Millipore, 0,45 μm) ve 20 μl örnek enjeksiyon şırıngası (Hamilton Co., Reno, NV, ABD) ile HPLC'ye (Model CTO-10ASVP, Shimadzu, Kyoto, Japonya) enjekte edilmiştir (Şekil 3.3). HPLC sistemi ve

kromatografi koşulları Tablo 3.2’de, elüsyon koşulları Tablo 3.3’te verilmiştir. 530 nm’ye ayarlı HPLC’de 30 dakika süre ile yürütülen analizin sonunda piklerin tanımlanması, tutma zaman değerleri ve UV spektrumları bir veri bankasında depolanan standart referans bileşiklerle karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırılan antosiyanin konsantrasyonlarının hesaplanmasında numunenin bütünleşik alanları ve ilgili standartlar kullanılmıştır. Örneklerin ekstraksiyonu ve analiz ikişer paralelli yapılmış, toplamda her örnek için 4 paralelin ortalaması alınarak sonuç bulunmuştur (mg/kg kuru ağırlık).

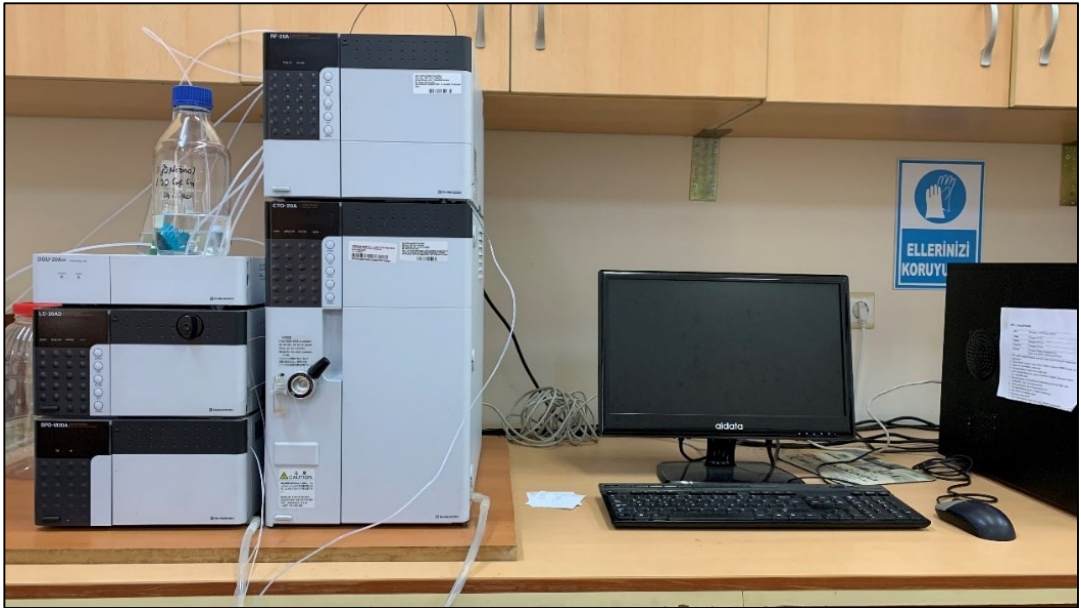
Tablo 3.2: Antosiyanin profili HPLC sistemi ve kromatografi koşulları

Kolon	Ters faz C ₁₈ kolon (SUPELCO, Bellefonte, PA, ABD, 15 cm x 4,6 mm, 5 µm)
Dedektör	UV-VIS DAD dedektöründen (Model SPD-M10 AVP, Shimadzu)
Gaz giderici	Model DGU 14A, Shimadzu
Akış hızı	1 ml/min
Fırın sıcaklığı	35 °C
Elüsyon süresi	60 dakika
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Dalga boyu	530 nm
Mobil faz	Gradient sistem Solvent A: formik asit/Ultra saf su (5:95, v:v), Solvent B: formik asit/asetonitril (5:95, v:v)

Tablo 3.3: Antosiyanin profili elüsyon koşulları

Süre (dakika)	%A	%B
0-5	95	5
5-15	92	8
15-32	85	15
32-55	85	15
55-60	95	5

Analizde 12 antosiyanin belirlenmiştir. Bunlar; Siyanidin-3-O- β -glukozid (Cy-3-glc), delfinidin-3-O- β -glukozid (Dp-3-glc), malvidin-3-O- β -glukozid (Mv-3-glc), peonidin-3-O- β -glukozid (Pn-3-glc), petunidin-3-O- β -glukozid (Pt-3-glc), malvidin-3-O-asetil-glukozid (Mv-3-acglc), malvidin 3-O-kafeil-glukozid (Mv-3-cafglc), petunidin-3-O-kumaril-glukozid (Pt-3-cmglc), malvidin-3-O-cis-p-kumaril-glukozid (Mv-3-cis-cmglc), delfinidin-3-O-p-kumaril-glukozid (Dp-3-cmglc), peonidin-3-O-p-kumaril-glukozid (Pn-3-cmglc) ve malvidin-3-O-trans-p-kumaril-glukozid (Mv-3-trans-cmglc)'dir.



Şekil 3.3: HPLC cihazı

3.2.2 Kırmızı pancar ekstraktı analizleri

3.2.2.1 Kimyasal analizler

Ekstraksiyonda kullanılan pancarların toplam kurumadde, pH, toplam asitlik ve briks değerleri AOAC (2000) metoduna göre belirlenmiştir. Bunun için öncelikle pancarların kabuğu soyulmuş ardından büyükçe parçalara bölünerek parçalayıcıdan (Waring 8011S, ABD) geçirilmiştir. Parçalayıcıdan geçirilen örneklerle toplam asitlik (g sitrik asit/100 ml), pH, toplam kurumadde (%) ve suda çözünür kurumadde (%briks) analizi yapılmıştır. pH analizi için pH 4 ve pH 7 tampon standartları

kullanılarak kalibre edilen pH metre (Hanna Instruments, HI 83141, Michigan, ABD) kullanılmıştır.

KP'nin toplam kurumadde miktarı örneklerin etüvde 4 saat boyunca 105 ± 1 °C'de ölçülmesiyle belirlenmiştir (Memmert UN 160, Schwabach, Almanya). Briks değerleri Abbe Refraktometresi kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.2.2 Renk değerleri

Ekstraktların renk değerleri (L^* , a^* , b^* , Kroma değeri, hue açısı) Ekici (2011) metoduna göre ölçülmüştür. Ekstraktlar doğrudan bir cam beher içerisine alınarak beyaz zemin üzerinde önceden kalibre edilmiş HunterLab renk kolorimetresi ile L^* , a^* , b^* değerleri ölçülmüştür. Bu değerler kullanılarak kroma değeri ve C^* (ve hue açısı (h°) belirlenmiştir. Kroma değeri ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) renksel parlaklığın, hue açısı ($h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$) ise renk tonunun belirlenmesinde kullanılmıştır. Burada hue açısı 0° kırmızı-mor, 90° sarı, 180° mavimsi-yeşil, 270° mavi, $360^\circ = 0^\circ$ kırmızı-mor rengi göstermektedir.

3.2.2.3 Toplam betalain tayini

Toplam betalain tayini için Latorre ve diğ. (2010) ve Maran (2013) yöntemleri modifiye edilmiştir. Öncelikle örneklerin seyreltme oranını bulmak için ekstraktlardan alınan örnek 4371 RCF'te 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatantlar bir tüpe alınarak Whatman No:1 filtre kağıdından süzölmüş ve absorbansı 1,00'i geçmeyecek şekilde sitrat-fosfat tamponu (pH 6,5) ile seyreltilmiştir. Uygun seyreltme oranı bulduktan sonra örnekler belirlenen seyreltme oranı ile seyreltilip direkt olarak spektrofotometrede (Uv-vis model T80, PG Instrument-UK) 536 ve 476 nm'de saf suya karşı absorbans okuması yapılmıştır. Betasiyanin (536 nm) ve betaksantin (476 nm) miktarları Denklem (3.4) kullanılarak ayrı ayrı hesaplanmıştır. Toplam betalain miktarı betaksantin ve betasiyanin miktarlarının toplanmasıyla elde edilmiş ve mg/g kuru ağırlık cinsine çevrilmiştir.

$$TB = (A \times MW \times SF \times 1000) / (\epsilon \times l) \quad (3.4)$$

Denklemdede;

TB: Toplam betalain miktarı (mg/L)

A: Seyreltilmiş KP ekstraktlarının absorbans değeri

MW: Molekül ağırlığı (Betasiyanin için 550 g/mol, Betaksantin için 339 g/mol)

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (Betasiyanin için 60000 L/mol.cm, Betaksantin için 48000 L/mol.cm)

l: Yol uzunluğu (1 cm)

SF: Seyreltme faktörü

3.2.2.4 DPPH antioksidan aktivite tayini

Ekstraktların DPPH antioksidan aktivite tayini “3.2.1.3 DPPH antioksidan aktivite tayini” başlığında verildiği şekilde belirlenmiştir. Sonuçlar IC₅₀ (µg/ml (kuru ağırlık)) olarak gösterilmiştir. Burada, örneğin %50 inhibisyonunu sağlamak için gereken zaman, ekstraktların konsantrasyon yüzdesine karşılık grafik yüzdesinden hesaplanmıştır.

3.2.2.5 Toplam fenolik madde miktarı tayini

Ekstraktların Toplam Fenolik madde miktarı tayini “3.2.1.4 Toplam fenolik madde miktarı tayini” başlığında verildiği şekilde belirlenmiştir. Sonuçlar mg GAE/g kuru ağırlık olarak verilmiştir.

3.2.2.6 Betalain profili

Kırmızı pancar ekstraktlarının betalain profili analizi HPLC cihazında Slatnar ve diğ. (2015) yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Ekstraktlar ultra saf su ile 10 kat seyreltikten sonra 10 dakika süreyle 6000 RCF'te santrifüjlenmiştir (Nüve NF 1200R, Türkiye). Toplanan süpernantant filtreden (Millipore, 0,45 µm) geçirilmiştir. Örnekler enjeksiyon şırıngası (Hamilton Co., Reno, NV, ABD) ile HPLC'ye (Model CTO-20A, Shimadzu, Kyoto, Japonya) enjekte edilmiştir. Betalain profili analizi için HPLC sistemi ve kromatografi koşulları Tablo 3.4'te, elüsyon koşulları Tablo 3.5'te verilmiştir. 538 ve 480 nm'ye ayarlı HPLC'de 50 dakika süre ile yürütülen analizin sonunda piklerin tanımlanması, alıkonma zamanı değerleri ve UV spektrumları bir veri bankasında depolanan standart referans bileşiklerle karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırılan betalain konsantrasyonlarının hesaplanmasında numunenin bütünlük alanları ve ilgili standartlar kullanılmıştır. Örneklerin analizi üçer paralelli yapılmış, her örnek için 3 paralelin ortalaması alınarak sonuç bulunmuştur. Sonuçlar kurumadde üzerinden hesaplanmıştır (mg/g kuru ağırlık).

Analizde 5 adet betalain tespit edilmiştir. Bunlar; Betanin, izobetanın, betanidin, izobetanidin ve vulgaksantin I ve II'dir.

Tablo 3.4: Betalain profili HPLC sistemi ve kromatografi koşulları

Kolon	Ters faz C ₁₈ kolon (Thermo Fisher Scientific, ODS Hypersil ABD, 15 cm x 4,6 mm, 3 µm)
Dedektör	UV-VIS DAD dedektörü (Model SPD-M20A, Shimadzu)
Gaz giderici	Model DGU 20A, Shimadzu
Akış hızı	0,25 ml/min
Fırın sıcaklığı	35 °C
Elüsyon süresi	50 dakika
Enjeksiyon hacmi	20 µl
Dalga boyu	538 nm (Betasiyaninler için) 480 nm (Betaksantinler için)
Mobil faz	Gradient sistem Solvent A: Asetonitril, Solvent B: Formik asit/Ultra saf su (1:99, v:v)

Tablo 3.5: Betalain profili elüsyon koşulları

Süre (dakika)	%A	%B
0-17	3-16	97-84
17-30	16-50	84-50
30-50	50-3	50-97

3.3 Deney tasarımı ve istatistiksel analiz

Çalışmada kullanılan KÜK, 20 g olacak şekilde tartılarak, 240 ml toplam hacimde 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 100:0 etil alkol: saf su (%0,1'lik sitrik asitli) oranlarındaki çözücüde, 30 °C, 40 °C, 50 °C sıcaklıkta 30, 90, 150 ve 180 dakika sürelerde ekstrakte edilmiştir (Tablo 3.6).

Tablo 3.6: Üzüm kabuğu ekstraksiyonu deney tasarımı

Sıcaklık (°C)	Süre (min)	Çözücü oranı (Etanol:%0,1 sitrik asitli saf su)
30	30	0:100
40	90	10:90
50	150	20:80
	180	30:70
		40:60
		50:50
		60:40
		70:30
		80:20
		90:10
		100:0

Çalışmada kullanılan KP 20 g olacak şekilde tartılarak 240 ml toplam hacimde 30 dakika sürede, 30 °C, 40 °C, 50 °C sıcaklıkta, 30:70, 45:55, 60:40 etil alkol: saf su (%0,1'lik sitrik asitli) oranlarındaki çözücüde ekstrakte edilmiştir (Tablo 3.7).

Tablo 3.7: Kırmızı pancar ekstraksiyonu deney tasarımı

Sıcaklık (°C)	Süre (min)	Çözücü oranı (Etanol:%0,1 sitrik asitli saf su)
30	30	30:70
40		45:55
50		60:40

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SD) olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz, SPSS 22.0 istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklar varyans analizi ile belirlenmiş ve F testi ile belirlenen anlamlı farklar Tukey testi ile karşılaştırılmıştır ($p<0,05$). Analizler üç paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 KÜK Ekstraktlarında Yapılan Analizler

4.1.1 Yaş ve kurutulmuş üzüm kabuğu genel kimyasal analizleri

Denizli'nin Çal bölgesinde üretimi yapılan ve şarap yapımında en çok kullanılan üzüm çeşidi olan Öküzgözü cinsi üzümler antosiyanin ekstraktı için seçilmiştir. Çalışmada kullanılan şarap pres atığı posanın hem yaş hem de kurutulmuş kabuklarının kimyasal özellikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Yaş üzüm kabuğunun (YÜK) nemi %10'dan az olana kadar kurutulmuştur. YÜK ve KÜK'nun sırasıyla toplam asitliği 4,38 ile 2,40 (g tartarik asit/100 g), pH'sı 3,33 ile 3,54, nem miktarı %62,62 ile %7,80 ve briksi %4,10 ile %9,00'dır. KÜK'ün toplam asitliğinin briksin artmasıyla azaldığı görülmektedir. Bunun nedeni kurutma sırasındaki nem içeriğinin azalmasıdır.

Tablo 4.1: Yaş üzüm kabuğu ve kurutulmuş üzüm kabuğunun toplam asitlik, pH, nem ve briks değerleri

	Yaş üzüm kabuğu (YÜK)	Kurutulmuş üzüm kabuğu (KÜK)
Toplam asitlik (g tartarik asit/100 ml)	4,38	2,40
pH	3,33	3,54
Nem miktarı (%)	62,62	7,80
Briks (%)	4,10	9,00

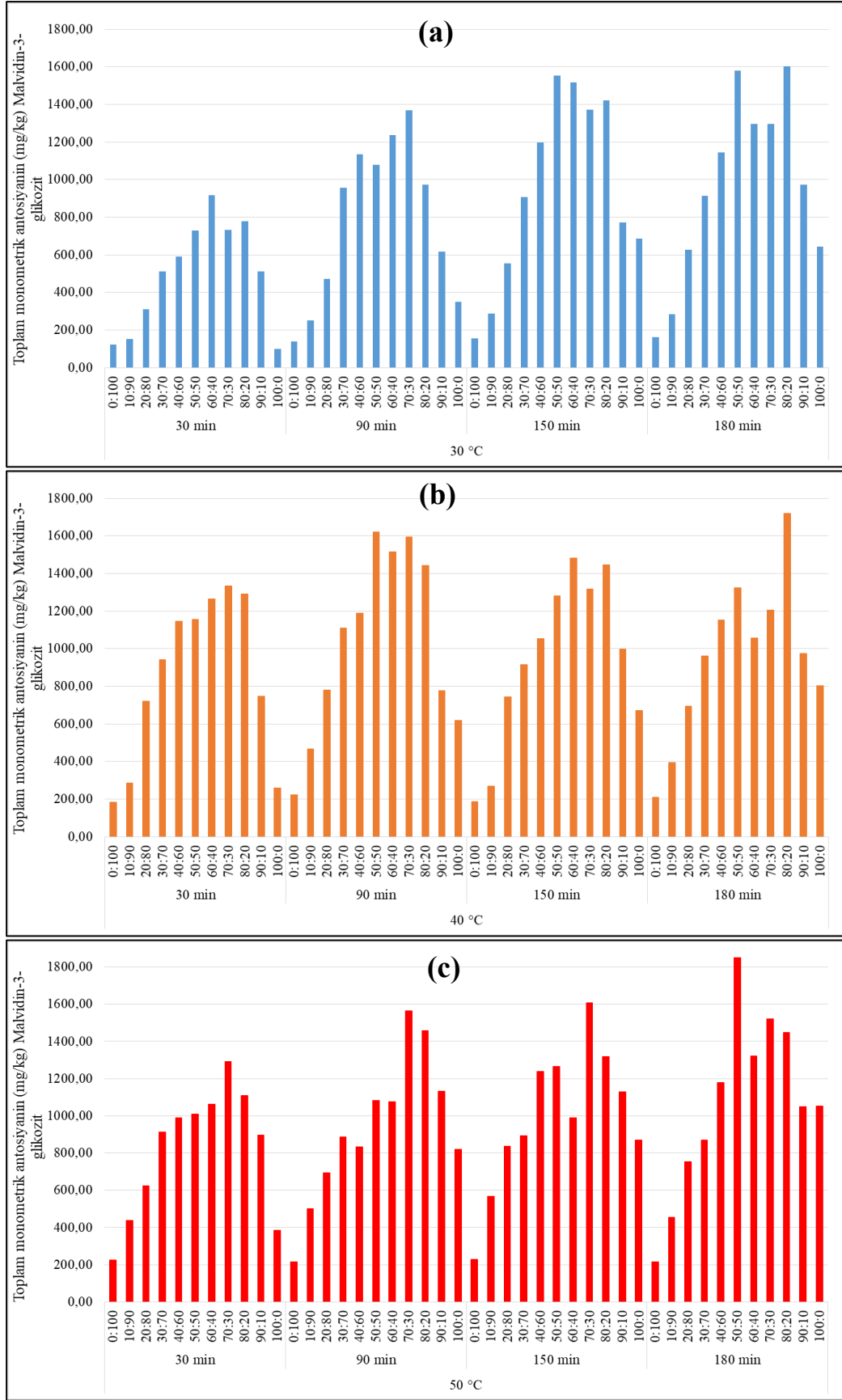
González-Centeno ve diğ. (2010)'da 10 farklı üzüm çeşidinin posasında nem değerlerini %50,2-72,2 aralığında bulmuşlardır. Santos ve diğ. (2011), *Vitis labrusca* ve *Vitis vinifera* türlerinin farklı kısımlarının genel kimyasal pozisyonunu incelemişlerdir. İnceledikleri 4 farklı çeşidin kabuklarında buldukları nem değerleri %83,89 ile %86,33 aralığında değişmektedir. Literatür çalışmalarında nem değerleri

üzümün çeşidine ve hangi kısmının incelendiğine göre değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmada yer alan nem değerleri literatür çalışmalarıyla kıyaslandığında diğer çalışmalarla uygunluk gösterdiği görülmektedir (Santos ve diğ. 2011).

Tetik ve diğ. (2018), Özküzgözü çeşidi üzümlerin şarap ve posalarında yaptıkları analizlerde posanın pH ve toplam asitlik değerlerini sırasıyla 3,57 ve %6,0 (tartarik asit eşdeğeri) olarak bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada farklı yıllarda hasat edilmiş 3 üzüm çeşidinde pH ve toplam asitlik değerleri sırasıyla 3,73-4,14 ve %3,16-4,33 (tartarik asit) aralığında bulunmuştur (Ünal ve Şener 2016).

4.1.2 KÜK ekstraktları toplam monomerik antosiyanin değerleri

KÜK ekstraktının toplam monomerik antosiyanin tayini sonuçları Şekil 4.1'de verildiği gibidir. TMA değeri sonuçları mg/kg mv-3-glc (kuru ağırlık) olarak verilmiştir. KÜK ekstraktlarının TMA değerleri 97,80 ile 1850,25 mg/kg (mv-3-glc (kuru ağırlık)) arasında değişmektedir. En yüksek TMA değerine mv-3-glc cinsinden 1850,25 mg/kg (kuru ağırlık) ile 50 °C sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda ulaşılmıştır. En düşük TMA değeri ise 30 °C sıcaklıktaki 30 dakika süreli 100:0 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraktında bulunmaktadır. TMA değerleri genel olarak incelendiğinde ekstraksiyonda uygulanan sıcaklık ve süre arttıkça antosiyanin miktarı artmaktadır. Ekstraksiyonlarda sıcaklıklar ve süreler kendi içinde değerlendirildiğinde TMA değerlerinin önce artış daha sonra azalış gösterdiği görülmektedir. Saf su veya etanol oranının artması antosiyaninlerin ekstrakte edilmesini azaltmaktadır. Çözücü oranının 50:50 (etanol: asitlendirilmiş saf su) olduğu ekstraksiyon koşulları optimum olarak değerlendirilebilir. TMA değerlerinin istatistiksel değerlendirmesine göre ekstraktlar arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1: Ekstraktların toplam monomerik antosiyanin sonuçları, (a): 30 °C, (b): 40 °C, (c): 50 °C

Orak (2007), 16 farklı üzüm çeşidinin ekstraktlarını incelemiş ve TMA değerlerini 403-9908 mg/kg (mv-3-glc) olarak bulmuştur. Aynı çalışmada Öküzgözü çeşidi üzümleri TMA değerini 9385 mg/kg olarak bildirmiştir. Öküzgözü ve diğer üzüm çeşitlerinin farklı dokularının incelendiği bir diğer çalışmada Öküzgözü üzümlerinin kabuklarının TMA değerinin 91,84 mg/kg (kuru ağırlık) olduğu belirlenmiştir (Tahmaz ve Söylemezoğlu 2019).

Yapılan literatür çalışmalarında Lambri ve diğ. (2015), 2 farklı üzüm çeşidine uyguladıkları ekstraksiyonların 909 mg/kg ve 553 mg/kg (mv-3-glc) antosiyanin değerlerine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Pasqualone ve diğ. (2014) üzüm posası ekstraktında TMA miktarının 707 mg/L (mv-3-glc) olduğunu belirtmişlerdir. Xu ve diğ. (2010) 18 farklı üzüm çeşidinde üzüm kabuklarına uyguladıkları TMA analizinde en yüksek değer 2305 mg/kg (mv-3-glc) olduğunu ifade etmişlerdir. Bir başka çalışmada Farhadi ve diğ. (2016), farklı üzüm çeşitlerinin antosiyanin değerlerini belirledikleri çalışmalarında TMA değerlerini cy-3-glc eşdeğeri olarak 70-63100 mg/kg arasında bulmuşlardır. Rockenbach ve diğ. (2011^b) 6 farklı üzüm çeşidinin kabuğunda TMA değerlerinin 289,46-934,67 mg/100g (cy-3-glc) aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Üzüm posasının ekstraksiyonunda kullanılan farklı sıcaklık ve çözücü oranlarının antosiyanin miktarına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada en yüksek TMA değerlerine etanol: asitlendirilmiş saf suda (50:50, pH 2,0) ulaşılmıştır. Çalışmada ayrıca TMA değerinin sıcaklık arttıkça düştüğü gözlenmiştir (Pereira ve diğ. 2019).

KÜK ekstraktlarının TMA sonuçları literatür çalışmalarıyla kıyaslandığında benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. Ek olarak, literatürdeki benzer çalışmalarda TMA değerlerinin geniş bir aralıkta dağılım gösterdiği görülmektedir (Horbowicz ve diğ. 2008). Üzümlerdeki antosiyanin miktarları üzümlerin cinsi, yetiştiği toprak özellikleri, iklim koşulları ve hatta hasat yılına bağlı olarak değişmektedir. Üzüm posası içerdiği antosiyaninlerin büyük bir miktarı, şarap üretimi sırasında şaraba geçmektedir. Bu sebeple posadaki antosiyanin miktarları şarapta veya üzümde bulunan antosiyanin kadar fazla değildir. Bununla birlikte posanın ekstrakte edildiği koşullar da antosiyanin miktarı üzerinde etkili olmaktadır.

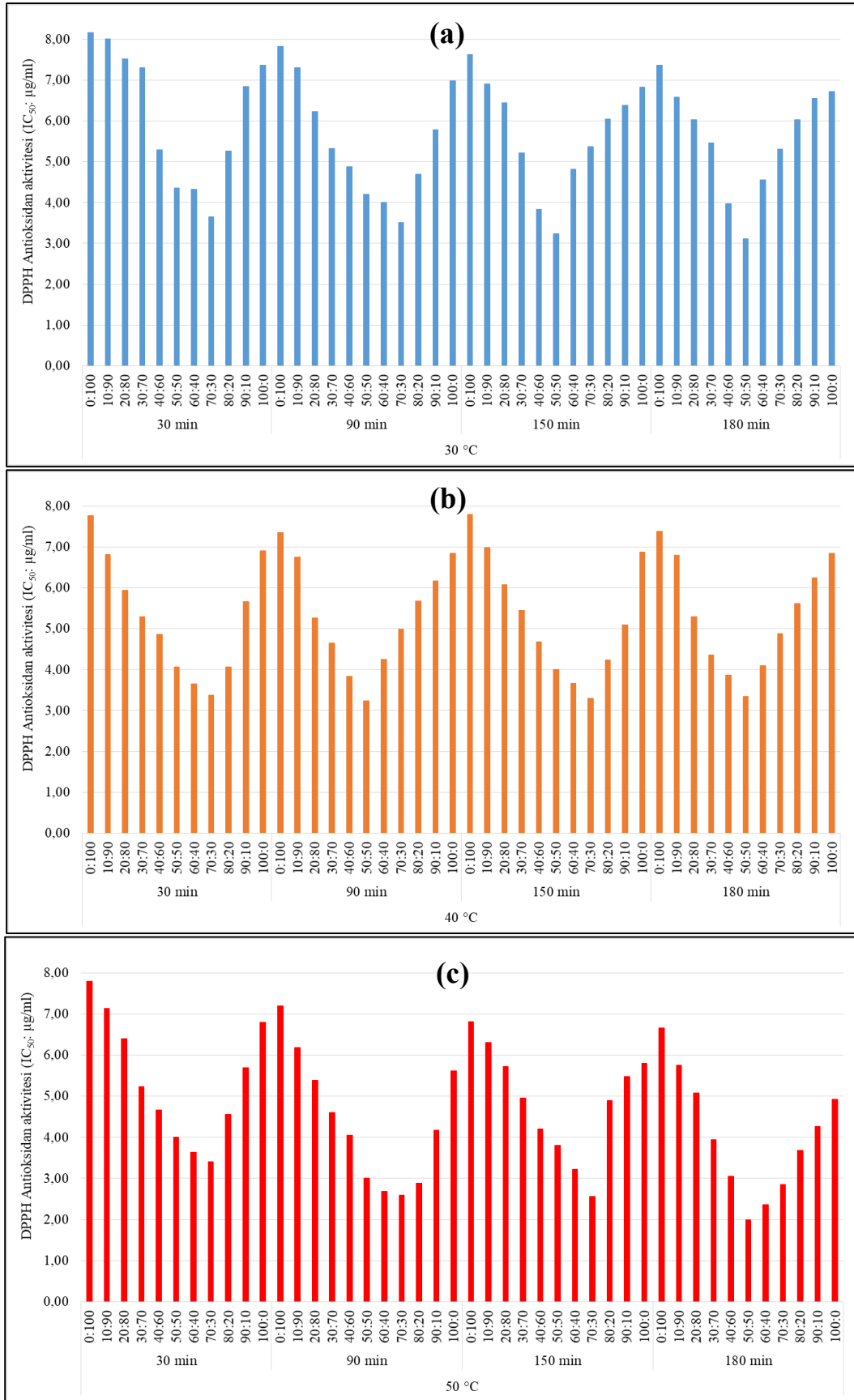
Literatürdeki antosiyanin ekstraksiyonunda en uygun parametrelerin belirlendiği benzer çalışmalara bakıldığında bu çalışmada belirlenen optimum

parametrelerle benzerlik gösterdiği görülmektedir (Benmeziante ve diğ. 2016, Caldas ve diğ. 2018, MohdMaidin ve diğ. 2019).

4.1.3 KÜK ekstraktları DPPH değerleri

KÜK ekstraktının DPPH antioksidan aktivitesi sonuçları Şekil 4.2'de verildiği gibidir.

KÜK ekstraktlarının DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi, IC₅₀ (µg/ml (kuru ağırlık)) değeri olarak hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri, inhibisyon yüzdesine karşı ekstraktların konsantrasyonlarının grafiğini çizerek elde edilmiştir. IC₅₀ değeri DPPH radikallerinin %50'sini temizlemek için gereken konsantrasyon olduğundan, düşük IC₅₀ değeri daha yüksek antioksidan aktiviteyi ifade etmektedir. KÜK ekstraktlarının IC₅₀ değerleri 1,99 ila 8,17 µg/ml (kuru ağırlık) arasında değişmektedir. Buna göre; Şekil 4.2'de görüldüğü üzere en yüksek antioksidan aktivitesi değerine 1,99 µg/ml (kuru ağırlık) ile 50 °C sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda ulaşılmıştır. En düşük antioksidan aktivite ise 8,17 µg/ml (kuru ağırlık) ile 30 °C sıcaklıktaki 30 dakika süreli 0:100 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda gözlenmiştir. Genel olarak antioksidan aktivitesi değerlerinin sıcaklığa ve süreye bağlı olduğu, süre arttıkça antioksidan aktivitenin de arttığı görülmüştür. İstatistiksel olarak p<0,05 düzeyinde anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2: Ekstraktların DPPH antioksidan aktivitesi sonuçları, **(a):** 30 °C, **(b):** 40 °C, **(c):** 50 °C

Yapılan literatür çalışmalarında Farhadi ve diğ. (2016), 6 farklı üzüm çeşidinin farklı kısımlarında antioksidan aktiviteyi incelemişlerdir. IC₅₀ değerlerinin 0,35-9,41 µg/ml aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada ayrıca DPPH radikal süpürme aktivitesi değerlerinin %72,28-95,62 aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Ruberto ve diğ. (2007), 5 farklı üzüm çeşidinde IC₅₀ değerlerini 14,45-38,93 µg/ml aralığında, Bozan ve diğ. (2008), 11 farklı üzüm çekirdeğinde IC₅₀ değerlerini 2,71-4,62 µg/ml aralığında bulmuşlardır. Aynı çalışmada Bozan ve diğ. (2008), Öküzgözü çeşidinde IC₅₀ değerini 2,89 µg/ml olarak bulmuştur.

Pasqualone ve diğ. (2014) üzüm posası ekstraktında DPPH antioksidan aktivitesinin %83,4 olduğunu belirtmişlerdir. Xu ve diğ. (2010) 18 farklı üzüm çeşidinde üzüm kabuklarına uyguladıkları DPPH antioksidan aktivitesi tayininde üzüm kabuklarının %9,4-27,5 antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Rockenbach ve diğ. (2011^b), 6 farklı şaraplık üzümün kabuğunda toplam fenol, TMA ve antioksidan aktiviteyi incelemiş ve en düşük DPPH antioksidan aktivitesinin 1113 µmol Trolox/100g ile Pinot Noir çeşidinde, en yüksek antioksidan aktivitenin ise 3640 µmol Trolox/100g ile Isabel çeşidinde olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada toplam fenolik içeriklerinin en düşük ve en yüksek değerleri de aynı çeşitlere ait olduğu belirlenmiştir. Santos ve diğ. (2011), üzümün farklı kısımlarında çözücü olarak etil asetat, butanol, metanol ve hekzan kullanarak ekstraktlar hazırlamış ve en yüksek antioksidan aktiviteyi etil asetat ekstraktında, en düşük antioksidan aktiviteyi ise metanol ekstraktında bulmuşlardır.

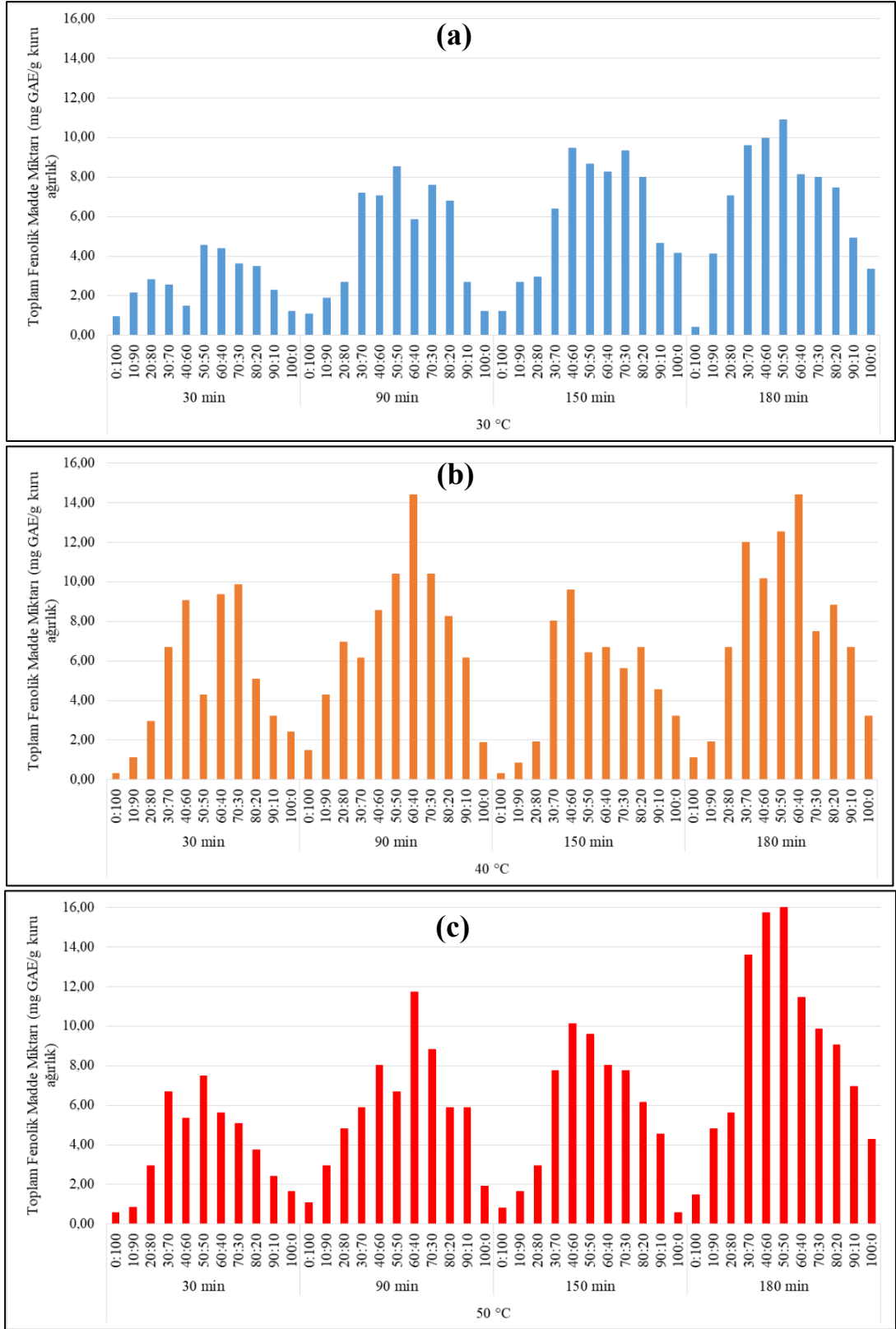
Antioksidan aktivite ile toplam fenolik madde miktarı arasında rasyonel bir ilişki bulunmamakla beraber fenolik madde miktarı arttıkça antioksidan aktivite de artmaktadır. Bununla birlikte antioksidan aktivite fenolik bileşen profiline bağlı olduğu ifade edilmektedir (Baiano ve Terracone 2011, Lutz ve diğ. 2011, Karasu ve diğ. 2016).

4.1.4 KÜK ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı

KÜK ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı Şekil 4.3'te verildiği gibidir. KÜK ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı 0,31-15,99 mg GAE/g (kuru ağırlık) aralığında değişmektedir. Ekstraktlarda en yüksek toplam fenolik

madde miktarı değerine 50 °C sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda ulaşılmıştır. En düşük toplam fenolik madde miktarı ise 40 °C sıcaklıktaki 150 dakika süreli 0:100 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımında belirlenmiştir. Genel olarak sıcaklık ve süre arttıkça toplam fenolik madde miktarı artmaktadır. Sıcaklık ve süreler kendi içinde değerlendirildiğinde toplam fenol içeriğinin önce artış daha sonra azalış gösterdiği görülmektedir. Diğer sonuçlarda olduğu gibi toplam fenolik madde miktarında da saf su veya etanol oranının artması fenolik bileşenlerin ekstrakte edilmesini azaltmaktadır. Çözücü oranının 50:50 (etanol: asitlendirilmiş saf su) olduğu ekstraksiyon koşulları optimum olarak değerlendirilebilir. Örnekler arasında istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan literatür çalışmalarında Pasqualone ve diğ. (2014), üzüm posası ekstraktında toplam fenolik madde miktarının 2,13 mg GAE/ml olduğunu belirtmişlerdir. Xu ve diğ. (2010), 18 farklı üzüm çeşidinde üzüm kabuklarındaki toplam fenolik madde miktarları 12,11-41,21 mg GAE/g aralığında olduğunu ifade etmişlerdir. Kalli ve diğ. (2018), beyaz ve kırmızı üzüm posalarının toplam fenolik madde miktarını sırasıyla 40,5 ve 60,1 mg GAE/g olarak bulmuşlardır. Rockenbach ve diğ. (2011^b), 6 farklı şaraplık üzümün kabuğunda toplam fenol, TMA ve antioksidan aktiviteyi incelemiş ve en düşük toplam fenolik maddenin 6,6 mg kateşin/g ile Pinot Noir çeşidinde, en yüksek toplam fenolik madde miktarınınsa 18,39 mg kateşin/g ile Isabel çeşidinde olduğunu belirtmişlerdir. Özdemir ve diğ. (2017), üzümlerin pulp, kabuk ve çekirdeklerinde farklı yıllara bağlı olarak toplam fenolik madde miktarlarını inceledikleri çalışmasında Öküzgözü üzümlerinin 81,25-803,00 mg GAE/g aralığında değişen fenolik madde miktarına sahip olduğunu belirlemişlerdir. Öküzgözü üzümlerinin kabuklarında ortalama değeri 89,58 mg GAE/g olarak bulmuşlardır.



Şekil 4.3: Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı sonuçları, (a): 30 °C, (b): 40 °C, (c): 50 °C

Brazinha ve diğ. (2014), şarap üretim atığı üzüm posalarının ekstraksiyonunda farklı çözücüleri kullanarak posaların toplam fenolik madde

miktarlarını belirledikleri bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada, posaları Saf su, etanol, %60 etanol: saf su ve %60 etanol: 3 g/L sitrik asit olacak şekilde ekstrakte etmişlerdir. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 1890, 2155, 3214 ve 3962 mg GAE/L olarak bulmuşlardır. Çalışmada toplam fenolik madde miktarı açısından en verimli ekstraksiyon parametresinin %60 etanol: 3 g/L sitrik asit ile yapılan ekstraksiyon olduğu görülmektedir.

Toplam fenol içeriğinin geniş bir aralığa yayıldığı görülmektedir. TMA ve antioksidan aktivitesinde olduğu gibi toplam fenolik madde miktarı da hammadde çeşidi, yetiştirme koşulları ve ekstraksiyon koşulları gibi pek çok faktöre göre değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmada yer alan sonuçlar literatür çalışmalarıyla paralellik göstermektedir (Ruberto ve diğ. 2007, Bozan ve diğ. 2008, Rockenbach ve diğ. 2011^a, Santos ve diğ. 2011, Farhadi ve diğ. 2016, Pereira ve diğ. 2019, Tkacz ve diğ. 2019).

Antosiyanin, antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarının birbiriyle ilişkili olduğu, 50 °C sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraktının en yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür.

4.1.5 KÜK ekstraktlarının antosiyanin profili

KÜK ekstraktlarının antosiyanin profili için 5 farklı çözücü oranı (90:10, 70:30, 50:50, 30:70 ve 10:90, etanol:%0,1 sitrik asit), 3 farklı sıcaklık (30, 40 ve 50 °C) ve 4 farklı süre (30, 90, 150, 180 dakika) kullanılarak hazırlanan ekstraktlar belirlenmiştir. Analizde 12 antosiyaninin miktarı belirlenmiştir. Bu antosiyaninler; siyanidin-3-*O*-β-glukozid (Cy-3-glc), delfinidin-3-*O*-β-glukozid (Dp-3-glc), malvidin-3-*O*-β-glukozid (Mv-3-glc), peonidin-3-*O*-β-glukozid (Pn-3-glc), petunidin-3-*O*-β-glukozid (Pt-3-glc), malvidin-3-*O*-asetil-glukozid (Mv-3-acglc), malvidin 3-*O*-kafeil-glukozid (Mv-3-cafglc), petunidin-3-*O*-kumaril-glukozid (Pt-3-cmglc), malvidin-3-*O*-cis-p-kumaril-glukozid (Mv-3-cis-cmglc), delfinidin-3-*O*-p-kumaril-glukozid (Dp-3-cmglc), peonidin-3-*O*-p-kumaril-glukozid (Pn-3-cmglc) ve malvidin-3-*O*-trans-p-kumaril-glukozid (Mv-3-trans-cmglc)'dir. mg/kg kuru ağırlık

olarak hesaplanan sonuçlar, Tablo 4.2’de 30 °C, Tablo 4.3’te 40 °C ve Tablo 4.4’te 50 °C’de elde edilen KÜK ekstraktlarının antosiyanin profili verilmiştir.

Tablo 4.2: 30 °C’de farklı çözücü oranlarında ekstrakte edilmiş antosiyanin değerleri (mg/kg kuru ağırlık)

Süre (min)	Çözücü (Etanol:% 0,1 sitrik asitli saf su)	Malvidin-3-O-Glucoside	Delphinidin-3-O-Glucoside	Peonidin-3-O-Glucoside	Petunidin-3-O-Glucoside	Cyanidin-3-O-Glucoside	Malvidin 3-O-(6''-acetyl-glucoside)	Malvidin 3-O-(6''-caffeoyl-glucoside)	Petunidin 3-O-(6''-p-coumaroyl-glucoside)	Malvidin 3-O-(6''-cis-p-coumaroyl-glucoside)	Delphinidin 3-O-(6''-O-p-coumaryl)-glucoside	Peonidin 3-O-(6''-O-p-coumaryl)-glucoside	Malvidin 3-O-(6''-trans-p-coumaroyl-glucoside)
30	90:10	179,8 ± 10, ^{6j}	4,5 ± 0,1 ^{ij}	18,3 ± 0,3 ⁱ	7,4 ± 0,1 ^{ij}	3,2 ± 0,3 ⁱ	131,1 ± 4,1 ⁱ	18,0 ± 0,3 ⁱ	7,4 ± 0,3 ⁱ	11,9 ± 0,6 ^h	15,1 ± 0,9 ⁱ	4,0 ± 0,3 ⁱ	46,9 ± 0,4 ⁱ
	70:30	271,3 ± 5,4 ^{gh}	6,0 ± 0,2 ^h	24,8 ± 0,7 ^g	10,0 ± 0,4 ^{hi}	5,2 ± 0,1 ^{gh}	187,3 ± 4,9 ^g	26,3 ± 0,4 ^g	9,3 ± 0,2 ^{gh}	18,4 ± 0,5 ^f	22,9 ± 0,6 ^g	6,5 ± 0,3 ^{fg}	65,9 ± 0,6 ^g
	50:50	258,9 ± 11,2 ^h	6,4 ± 0,2 ^{gh}	25,5 ± 0,6 ^g	9,9 ± 0,4 ⁱ	5,1 ± 0,3 ^{gh}	192,1 ± 3,5 ^g	24,9 ± 1,1 ^g	9,2 ± 0,5 ^{gh}	17,3 ± 0,3 ^f	22,4 ± 0,5 ^g	5,2 ± 0,3 ^h	65,8 ± 0,3 ^g
	30:70	184,7 ± 4,3 ^j	4,0 ± 0,2 ⁱ	16,9 ± 0,4 ⁱ	7,5 ± 0,2 ⁱ	3,2 ± 0,2 ⁱ	130,4 ± 4,4 ⁱ	18,0 ± 0,5 ⁱ	6,9 ± 0,3 ⁱ	12,3 ± 0,5 ^h	13,4 ± 0,3 ^j	3,9 ± 0,3 ⁱ	46,0 ± 0,5 ⁱ
	10:90	56,5 ± 1,4 ^l	1,0 ± 0,1 ^l	5,3 ± 0,1 ^k	2,0 ± 0,1 ^l	1,0 ± 0,1 ^k	40,1 ± 0,6 ^k	5,2 ± 0,4 ^k	2,2 ± 0,1 ^k	4,1 ± 0,2 ^j	4,4 ± 0,4 ^l	1,2 ± 0,2 ^k	14,3 ± 0,4 ^l
90	90:10	223,7 ± 3,0 ⁱ	5,0 ± 0,1 ⁱ	21,0 ± 0,5 ^h	8,0 ± 0,4 ⁱ	3,9 ± 0,2 ⁱ	156,2 ± 6,6 ^h	22,3 ± 0,4 ^h	8,5 ± 0,5 ^{hi}	15,0 ± 0,6 ^g	19,8 ± 0,9 ^h	4,9 ± 0,2 ^h	54,7 ± 1,1 ^h
	70:30	504,9 ± 4,2 ^b	11,3 ± 0,4 ^b	46,7 ± 0,6 ^b	19,6 ± 0,4 ^b	8,3 ± 0,2 ^{cd}	360,2 ± 4,6 ^b	47,3 ± 0,9 ^b	18,5 ± 0,2 ^b	33,5 ± 0,4 ^b	43,6 ± 0,9 ^b	11,8 ± 0,6 ^a	122,8 ± 1,2 ^b
	50:50	391,7 ± 4,2 ^d	9,3 ± 0,3 ^c	36,6 ± 0,9 ^d	15,1 ± 0,5 ^d	7,5 ± 0,3 ^e	276,0 ± 6,2 ^d	37,8 ± 0,4 ^d	14,8 ± 0,5 ^d	25,5 ± 0,9 ^d	33,6 ± 0,7 ^c	7,3 ± 0,2 ^{ef}	96,7 ± 1,0 ^d
	30:70	346,9 ± 4,5 ^{ef}	7,9 ± 0,3 ^{de}	33,7 ± 0,5 ^e	12,9 ± 0,4 ^e	6,2 ± 0,4 ^f	246,0 ± 5,1 ^{ef}	32,4 ± 1,1 ^f	12,1 ± 0,7 ^{ef}	22,7 ± 1,1 ^e	31,0 ± 0,5 ^{de}	6,1 ± 0,2 ^g	85,7 ± 1,0 ^e
	10:90	93,5 ± 1,1 ^k	2,0 ± 0,1 ^k	9,4 ± 0,4 ⁱ	3,6 ± 0,4 ^k	2,0 ± 0,1 ^j	64,6 ± 1,0 ^j	9,1 ± 0,4 ⁱ	3,2 ± 0,4 ^k	6,3 ± 0,3 ⁱ	8,0 ± 0,3 ^k	2,0 ± 0,1 ^j	22,8 ± 1,0 ^k
150	90:10	279,9 ± 4,8 ^g	6,0 ± 0,4 ^h	25,8 ± 0,8 ^g	11,0 ± 0,6 ^{gh}	4,9 ± 0,2 ^h	198,5 ± 3,8 ^g	26,7 ± 0,9 ^g	10,6 ± 0,1 ^{fg}	19,0 ± 0,4 ^f	24,7 ± 0,3 ^f	5,3 ± 0,2 ^h	68,0 ± 0,2 ^g
	70:30	500,0 ± 3,5 ^b	11,4 ± 0,4 ^b	46,7 ± 0,6 ^b	20,0 ± 0,1 ^b	8,9 ± 0,2 ^{bc}	353,4 ± 4,3 ^b	47,5 ± 1,7 ^b	17,5 ± 0,8 ^{bc}	33,0 ± 0,1 ^b	44,5 ± 0,8 ^b	7,4 ± 0,2 ^{de}	121,5 ± 2,5 ^b
	50:50	572,0 ± 3,1 ^a	11,9 ± 0,4 ^b	52,9 ± 0,8 ^a	20,7 ± 0,4 ^b	9,4 ± 0,4 ^{ab}	401,7 ± 4,5 ^a	54,9 ± 0,7 ^a	21,8 ± 1,3 ^a	36,7 ± 1,1 ^a	52,5 ± 0,9 ^a	9,0 ± 0,3 ^c	138,7 ± 2,6 ^a
	30:70	329,9 ± 3,5 ^f	7,0 ± 0,3 ^{fg}	30,7 ± 0,4 ^f	11,6 ± 0,6 ^{fg}	5,8 ± 0,3 ^{fg}	237,6 ± 1,2 ^f	31,4 ± 1,3 ^f	11,7 ± 0,8 ^{ef}	22,1 ± 0,3 ^e	30,5 ± 0,5 ^{de}	7,0 ± 0,2 ^{efg}	81,1 ± 1,8 ^f
	10:90	103,0 ± 2,4 ^k	2,1 ± 0,1 ^k	10,5 ± 0,6 ⁱ	3,9 ± 0,3 ^k	2,2 ± 0,3 ^j	73,9 ± 0,4 ^j	9,8 ± 0,3 ^j	4,2 ± 0,2 ^j	7,7 ± 0,4 ⁱ	8,3 ± 0,3 ^k	2,3 ± 0,1 ^j	26,6 ± 0,6 ^j
180	90:10	352,5 ± 5,1 ^e	8,4 ± 0,2 ^d	33,9 ± 0,4 ^e	13,3 ± 0,4 ^e	5,8 ± 0,2 ^{fg}	251,2 ± 3,3 ^e	35,0 ± 0,4 ^e	12,5 ± 0,3 ^e	22,5 ± 0,5 ^e	29,3 ± 0,2 ^e	5,1 ± 0,1 ^h	87,3 ± 0,4 ^e
	70:30	472,1 ± 3,4 ^c	9,9 ± 0,2 ^c	44,2 ± 0,6 ^c	17,9 ± 0,3 ^c	8,1 ± 0,1 ^{de}	338,8 ± 1,6 ^c	44,1 ± 0,8 ^c	16,8 ± 0,3 ^c	30,6 ± 0,2 ^c	44,2 ± 0,3 ^b	10,4 ± 0,1 ^b	116,5 ± 1,1 ^c
	50:50	569,2 ± 13,2 ^a	13,3 ± 0,2 ^a	54,0 ± 0,4 ^a	23,0 ± 0,1 ^a	10,0 ± 0,1 ^a	406,7 ± 2,4 ^a	54,7 ± 0,6 ^a	20,4 ± 0,4 ^a	37,9 ± 0,3 ^a	51,1 ± 0,4 ^a	12,3 ± 0,2 ^a	140,9 ± 0,9 ^a
	30:70	331,6 ± 4,3 ^f	7,4 ± 0,1 ^{ef}	31,1 ± 0,4 ^f	12,2 ± 0,1 ^{ef}	6,1 ± 0,1 ^f	235,9 ± 1,6 ^f	30,9 ± 0,6 ^f	12,2 ± 0,2 ^{ef}	22,4 ± 0,4 ^e	31,9 ± 0,2 ^d	8,2 ± 0,2 ^d	81,2 ± 0,3 ^f
	10:90	102,4 ± 3,0 ^k	2,1 ± 0,2 ^k	10,2 ± 0,4 ⁱ	4,3 ± 0,2 ^k	2,0 ± 0,1 ^j	73,2 ± 0,4 ^j	9,3 ± 0,4 ^j	4,3 ± 0,3 ^j	7,4 ± 0,1 ⁱ	8,2 ± 0,1 ^k	2,1 ± 0,1 ^j	25,9 ± 0,4 ^k

^{a-g}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

Tablo 4.3: 40 °C’de farklı çözücü oranlarında ekstrakte edilmiş antosiyanin değerleri (mg/kg kuru ağırlık)

Süre (min)	Çözücü (Etanol:%0 ,1 sitrik asitli saf su)	Malvidin-3-O-Glucoside	Delphinidin-3-O-Glucoside	Peonidin-3-O-Glucoside	Petunidin-3-O-Glucoside	Cyanidin-3-O-Glucoside	Malvidin 3-O-(6''-acetyl-glucoside)	Malvidin 3-O-(6''-caffeoyl-glucoside)	Petunidin 3-O-(6''-p-coumaroyl-glucoside)	Malvidin 3-O-(6''-cis-p-coumaroyl-glucoside)	Delphinidin 3-O-(6''-O-p-coumaryl)-glucoside	Peonidin 3-O-(6''-O-p-coumaryl)-glucoside	Malvidin 3-O-(6''-trans-p-coumaroyl-glucoside)
30	90:10	271,9 ± 1,7 ^l	5,3 ± 0,2 ⁱ	24,9 ± 0,4 ^j	10,5 ± 0,2 ^e	5,2 ± 0,2 ^f	193,7 ± 1,2 ^m	27,1 ± 0,9 ^g	10,7 ± 0,2 ^h	18,4 ± 0,3 ^g	22,9 ± 0,4 ^k	5,5 ± 0,3 ^e	66,0 ± 0,4 ^k
	70:30	487,1 ± 1,9 ^b	11,4 ± 0,4 ^{bc}	46,1 ± 0,4 ^b	18,1 ± 0,2 ^b	8,6 ± 0,3 ^b	346,6 ± 1,7 ^c	47,0 ± 0,3 ^b	16,0 ± 0,3 ^{cd}	32,0 ± 0,4 ^b	39,9 ± 0,4 ^d	9,3 ± 0,3 ^{bc}	119,6 ± 1,1 ^b
	50:50	423,6 ± 1,1 ^f	9,6 ± 0,3 ^e	40,2 ± 0,4 ^d	16,3 ± 0,2 ^c	7,3 ± 0,2 ^d	298,7 ± 2,5 ^f	40,5 ± 0,6 ^{de}	15,5 ± 0,3 ^d	28,2 ± 0,5 ^{cd}	36,1 ± 0,5 ^f	8,7 ± 0,2 ^{bc}	103,9 ± 0,4 ^e
	30:70	343,7 ± 2,0 ⁱ	8,4 ± 0,3 ^f	32,0 ± 0,4 ^g	13,6 ± 0,3 ^d	5,9 ± 0,4 ^e	244,5 ± 1,1 ^j	33,1 ± 0,4 ^f	12,5 ± 0,3 ^{fg}	23,1 ± 0,5 ^{ef}	29,2 ± 0,4 ^h	7,1 ± 0,2 ^d	84,5 ± 0,8 ^h
	10:90	105,6 ± 1,1 ^o	2,1 ± 0,1 ^l	10,0 ± 0,4 ^m	4,3 ± 0,3 ^h	2,4 ± 0,3 ^h	74,0 ± 0,5 ^p	10,3 ± 0,3 ⁱ	3,9 ± 0,3 ⁱ	7,3 ± 0,2 ^j	9,6 ± 0,1 ⁿ	2,0 ± 0,1 ^{gh}	24,9 ± 0,3 ⁿ
90	90:10	282,2 ± 1,8 ^k	6,2 ± 0,1 ^h	27,5 ± 0,3 ⁱ	11,4 ± 0,2 ^e	5,2 ± 0,0 ^f	201,0 ± 1,6 ^l	27,6 ± 0,2 ^g	10,7 ± 0,1 ^h	18,2 ± 0,3 ^g	17,3 ± 0,2 ^l	4,3 ± 0,1 ^f	69,6 ± 1,1 ^j
	70:30	579,5 ± 5,1 ^a	12,4 ± 0,3 ^a	53,0 ± 0,3 ^a	22,1 ± 0,1 ^a	10,0 ± 0,2 ^a	412,9 ± 2,5 ^b	55,3 ± 2,0 ^a	21,2 ± 0,6 ^a	37,8 ± 0,4 ^a	45,9 ± 0,2 ^b	9,1 ± 0,1 ^{bc}	142,6 ± 1,6 ^a
	50:50	586,8 ± 4,7 ^a	12,0 ± 0,4 ^{ab}	53,8 ± 0,3 ^a	21,7 ± 0,4 ^a	10,0 ± 0,3 ^a	419,6 ± 2,5 ^a	55,9 ± 0,5 ^a	21,1 ± 0,1 ^a	38,9 ± 0,4 ^a	51,8 ± 0,4 ^a	11,4 ± 0,3 ^a	145,5 ± 1,1 ^a
	30:70	403,8 ± 4,0 ^g	9,3 ± 0,2 ^e	37,1 ± 0,2 ^e	15,6 ± 0,2 ^c	7,2 ± 0,3 ^d	287,3 ± 2,0 ^g	39,1 ± 0,9 ^e	14,4 ± 0,2 ^e	27,0 ± 0,3 ^d	34,9 ± 0,9 ^f	9,2 ± 0,2 ^{bc}	99,4 ± 1,0 ^f
	10:90	170,0 ± 2,0 ^m	4,0 ± 0,3 ^j	16,0 ± 0,3 ^k	6,2 ± 0,2 ^f	3,4 ± 0,0 ^g	120,5 ± 1,2 ⁿ	16,6 ± 0,3 ^h	6,2 ± 0,1 ⁱ	10,9 ± 0,2 ^h	12,2 ± 0,1 ^m	3,0 ± 0,2 ^g	41,8 ± 0,4 ^l
150	90:10	361,3 ± 1,1 ^h	8,4 ± 0,4 ^f	35,0 ± 0,4 ^f	13,9 ± 0,2 ^d	6,0 ± 0,1 ^e	256,8 ± 2,8 ^h	34,4 ± 0,9 ^f	12,9 ± 0,2 ^{fg}	24,4 ± 0,4 ^e	30,4 ± 0,4 ^g	6,9 ± 1,1 ^d	89,6 ± 1,6 ^g
	70:30	476,5 ± 2,5 ^c	10,9 ± 0,3 ^c	44,1 ± 0,3 ^c	18,1 ± 0,8 ^b	7,9 ± 0,2 ^{cd}	341,5 ± 1,4 ^{cd}	44,8 ± 1,6 ^{bc}	16,9 ± 0,9 ^{bc}	32,1 ± 0,4 ^b	42,1 ± 0,6 ^c	9,9 ± 0,2 ^b	115,6 ± 2,0 ^c
	50:50	464,7 ± 5,9 ^d	9,9 ± 0,3 ^{de}	43,9 ± 0,4 ^c	18,2 ± 0,3 ^b	8,0 ± 0,1 ^{bc}	335,5 ± 2,7 ^d	43,0 ± 1,0 ^{cd}	17,2 ± 0,4 ^b	31,0 ± 0,1 ^b	38,1 ± 0,3 ^e	9,2 ± 0,3 ^{bc}	114,4 ± 1,1 ^c
	30:70	332,3 ± 2,4 ⁱ	7,1 ± 0,3 ^g	30,9 ± 0,3 ^h	13,1 ± 0,3 ^d	6,3 ± 0,1 ^e	236,5 ± 1,1 ^k	31,6 ± 1,0 ^f	11,9 ± 0,4 ^g	22,3 ± 0,8 ^f	25,5 ± 0,5 ^j	6,5 ± 0,3 ^{de}	81,4 ± 0,9 ⁱ
	10:90	97,5 ± 0,9 ^o	1,9 ± 0,3 ^l	9,2 ± 0,2 ^m	3,9 ± 0,2 ^h	2,0 ± 0,1 ^h	70,1 ± 0,5 ^p	8,8 ± 0,2 ⁱ	3,3 ± 0,2 ^j	6,1 ± 0,4 ⁱ	7,4 ± 0,4 ^o	1,7 ± 0,0 ^h	24,4 ± 0,3 ⁿ
180	90:10	355,3 ± 1,8 ^h	8,3 ± 0,1 ^f	33,0 ± 0,3 ^g	13,1 ± 0,1 ^d	6,3 ± 0,1 ^e	251,7 ± 1,9 ^{hi}	33,6 ± 0,9 ^f	13,2 ± 0,1 ^f	23,3 ± 0,2 ^{ef}	27,8 ± 0,2 ⁱ	6,5 ± 0,2 ^{de}	87,5 ± 0,6 ^{gh}
	70:30	439,5 ± 2,3 ^e	10,6 ± 0,4 ^{cd}	41,1 ± 0,4 ^d	16,0 ± 0,3 ^c	7,2 ± 0,2 ^d	312,5 ± 1,3 ^e	41,4 ± 1,8 ^{de}	16,0 ± 0,1 ^{cd}	28,8 ± 0,6 ^c	35,6 ± 0,2 ^f	8,6 ± 0,1 ^c	107,2 ± 1,1 ^d
	50:50	482,1 ± 3,3 ^{bc}	10,9 ± 0,4 ^c	45,2 ± 0,4 ^b	18,4 ± 0,1 ^b	7,9 ± 0,1 ^{cd}	342,3 ± 2,8 ^c	46,0 ± 0,4 ^b	17,1 ± 0,3 ^{bc}	31,5 ± 0,7 ^b	39,1 ± 0,1 ^{de}	9,2 ± 0,2 ^{bc}	118,9 ± 0,5 ^b
	30:70	346,3 ± 2,5 ⁱ	8,0 ± 0,1 ^f	32,9 ± 0,3 ^g	13,0 ± 0,2 ^d	6,4 ± 0,2 ^e	247,2 ± 3,7 ^{ij}	34,0 ± 0,3 ^f	12,4 ± 0,3 ^{fg}	31,5 ± 0,8 ^f	26,3 ± 0,2 ^j	6,3 ± 0,3 ^{de}	85,9 ± 0,3 ^h
	10:90	142,7 ± 1,2 ⁿ	3,1 ± 0,2 ^k	12,9 ± 0,3 ^l	5,3 ± 0,2 ^g	2,1 ± 0,1 ^h	101,2 ± 1,2 ^o	14,1 ± 0,2 ^h	5,3 ± 0,1 ⁱ	31,5 ± 0,9 ⁱ	8,4 ± 0,1 ^o	2,3 ± 0,1 ^{gh}	35,0 ± 0,4 ^m

^{a-q}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

Tablo 4.4: 50 °C’de farklı çözücü oranlarında ekstrakte edilmiş antosiyanin değerleri (mg/kg kuru ağırlık)

Süre (min)	Çözücü (Etanol:%0 ,1 sitrik asitli saf su)	Malvidin-3-O-Glucoside	Delphinidin-3-O-Glucoside	Peonidin-3-O-Glucoside	Petunidin-3-O-Glucoside	Cyanidin-3-O-Glucoside	Malvidin 3-O-(6''-acetyl-glucoside)	Malvidin 3-O-(6''-caffeoyl-glucoside)	Petunidin 3-O-(6''-p-coumaroyl-glucoside)	Malvidin 3-O-(6''-cis-p-coumaroyl-glucoside)	Delphinidin 3-O-(6''-O-p-coumaryl)-glucoside	Peonidin 3-O-(6''-O-p-coumaryl)-glucoside	Malvidin 3-O-(6''-trans-p-coumaroyl-glucoside)
30	90:10	326,4 ± 1,0 ^k	7,3 ± 0,1 ^g	31,0 ± 0,1 ^j	12,3 ± 0,1 ^j	6,2 ± 0,1 ^f	232,6 ± 0,8 ^{kl}	31,5 ± 0,2 ^{kl}	12,3 ± 0,1 ⁱ	21,6 ± 0,4 ⁱ	31,4 ± 0,4 ^l	8,5 ± 0,1 ^f	81,5 ± 0,4 ^j
	70:30	474,1 ± 0,8 ^e	10,8 ± 0,1 ^d	44,3 ± 0,4 ^d	18,7 ± 0,2 ^d	8,2 ± 0,1 ^d	335,4 ± 1,5 ^e	45,7 ± 0,5 ^e	17,6 ± 0,2 ^d	31,5 ± 0,6 ^d	43,4 ± 0,6 ^e	9,5 ± 0,1 ^e	115,4 ± 1,1 ^e
	50:50	368,1 ± 1,8 ^j	8,6 ± 0,2 ^f	35,3 ± 0,5 ^h	14,6 ± 0,2 ^{hi}	6,4 ± 0,1 ^f	263,5 ± 1,3 ^j	35,4 ± 0,4 ⁱ	13,6 ± 0,1 ^h	24,7 ± 0,3 ^h	38,2 ± 0,2 ^h	9,2 ± 0,1 ^e	91,3 ± 0,4 ⁱ
	30:70	333,8 ± 1,3 ^k	7,2 ± 0,1 ^g	31,5 ± 0,4 ⁱ	12,5 ± 0,3 ^j	5,4 ± 0,1 ^g	236,8 ± 1,6 ^k	32,8 ± 0,4 ^k	12,5 ± 0,1 ⁱ	22,6 ± 0,3 ⁱ	32,3 ± 0,3 ^k	7,8 ± 0,1 ^g	82,6 ± 0,6 ^j
	10:90	164,1 ± 5,2 ^o	3,3 ± 0,1 ^j	15,6 ± 0,1 ^m	6,4 ± 0,2 ^l	3,3 ± 0,1 ⁱ	113,6 ± 1,0 ^o	15,4 ± 0,2 ^o	6,5 ± 0,1 ^l	10,3 ± 0,1 ⁿ	15,3 ± 0,1 ^p	3,7 ± 0,1 ^j	39,4 ± 0,2 ⁿ
90	90:10	417,4 ± 2,5 ^g	9,2 ± 0,1 ^e	39,2 ± 0,5 ^e	16,4 ± 0,3 ^f	7,3 ± 0,1 ^e	296,4 ± 1,1 ^g	40,5 ± 0,5 ^g	15,4 ± 0,3 ^f	27,6 ± 0,4 ^f	39,3 ± 0,3 ^g	9,2 ± 0,2 ^e	101,6 ± 1,0 ^f
	70:30	571,1 ± 2,3 ^c	13,3 ± 0,2 ^b	53,2 ± 0,4 ^c	21,3 ± 0,2 ^c	10,5 ± 0,1 ^b	406,1 ± 1,7 ^c	55,2 ± 0,4 ^c	20,6 ± 0,3 ^c	37,9 ± 0,4 ^c	54,4 ± 0,4 ^c	13,4 ± 0,1 ^b	140,9 ± 1,2 ^c
	50:50	393,5 ± 4,2 ^h	9,5 ± 0,1 ^e	37,5 ± 0,3 ^f	15,3 ± 0,1 ^g	7,2 ± 0,1 ^e	279,4 ± 2,8 ^h	38,2 ± 0,4 ^{hi}	14,3 ± 0,1 ^g	26,2 ± 0,1 ^g	35,3 ± 0,2 ⁱ	8,6 ± 0,1 ^f	97,2 ± 0,4 ^g
	30:70	326,0 ± 2,1 ^k	7,2 ± 0,1 ^g	30,3 ± 0,1 ^j	12,2 ± 0,1 ^j	5,6 ± 0,1 ^g	229,5 ± 1,4 ^l	31,8 ± 0,4 ^{kl}	11,4 ± 0,1 ^j	21,3 ± 0,1 ^j	28,5 ± 0,1 ⁿ	6,7 ± 0,1 ^h	80,3 ± 0,3 ^k
	10:90	182,7 ± 1,6 ⁿ	4,2 ± 0,1 ⁱ	17,4 ± 0,1 ^l	7,5 ± 0,1 ^k	3,5 ± 0,1 ⁱ	129,6 ± 1,6 ⁿ	17,4 ± 0,1 ⁿ	6,2 ± 0,1 ^l	12,2 ± 0,4 ^l	19,2 ± 0,2 ^o	4,6 ± 0,1 ⁱ	45,5 ± 0,1 ^m
150	90:10	413,7 ± 1,6 ^g	9,2 ± 0,1 ^e	39,4 ± 0,3 ^e	15,2 ± 0,1 ^{gh}	7,2 ± 0,1 ^e	291,8 ± 1,9 ^g	39,3 ± 0,3 ^{gh}	15,4 ± 0,1 ^f	27,7 ± 0,1 ^f	39,3 ± 0,3 ^g	8,7 ± 0,1 ^f	100,7 ± 1,3 ^f
	70:30	586,7 ± 2,9 ^b	13,3 ± 0,1 ^b	55,5 ± 0,3 ^b	22,6 ± 0,1 ^b	10,3 ± 0,1 ^b	416,7 ± 2,4 ^b	56,7 ± 0,2 ^b	21,9 ± 0,1 ^b	39,4 ± 0,2 ^b	56,0 ± 0,2 ^b	12,1 ± 0,1 ^c	144,9 ± 1,3 ^b
	50:50	462,0 ± 1,8 ^f	10,8 ± 0,1 ^d	43,7 ± 0,2 ^d	17,6 ± 0,2 ^e	8,1 ± 0,1 ^d	328,2 ± 2,3 ^f	44,4 ± 0,2 ^f	16,2 ± 0,1 ^e	30,4 ± 0,1 ^e	42,3 ± 0,1 ^f	10,2 ± 0,1 ^d	114,9 ± 1,3 ^e
	30:70	328,9 ± 2,3 ^k	7,3 ± 0,1 ^g	31,6 ± 0,1 ⁱ	12,4 ± 0,1 ^j	6,4 ± 0,1 ^f	231,5 ± 1,5 ^{kl}	31,5 ± 0,1 ^{kl}	12,4 ± 0,1 ⁱ	21,4 ± 0,1 ^j	30,8 ± 0,1 ^l	6,6 ± 0,1 ^h	80,4 ± 0,4 ^k
	10:90	206,3 ± 1,8 ^m	5,4 ± 0,1 ^h	19,6 ± 0,2 ^k	8,1 ± 0,1 ^k	4,6 ± 0,1 ^h	148,1 ± 1,1 ^m	20,5 ± 0,2 ^m	7,5 ± 0,1 ^k	14,2 ± 0,1 ^k	19,3 ± 0,1 ^o	4,5 ± 0,1 ⁱ	51,6 ± 0,6 ^l
180	90:10	382,9 ± 2,3 ⁱ	8,2 ± 0,1 ^f	36,3 ± 0,1 ^g	14,5 ± 0,1 ⁱ	7,3 ± 0,1 ^e	272,2 ± 1,9 ⁱ	37,4 ± 0,1 ⁱ	14,0 ± 0,1 ^{gh}	25,2 ± 0,1 ^h	33,5 ± 0,1 ^j	6,9 ± 0,1 ^h	94,4 ± 0,2 ^h
	70:30	552,1 ± 2,1 ^d	12,8 ± 0,1 ^c	52,4 ± 0,1 ^c	21,5 ± 0,2 ^c	9,4 ± 0,1 ^c	394,8 ± 1,7 ^d	53,6 ± 0,5 ^d	20,6 ± 0,1 ^c	37,4 ± 0,1 ^c	47,5 ± 0,1 ^d	10,2 ± 0,1 ^d	136,7 ± 1,1 ^d
	50:50	676,1 ± 1,8 ^a	15,5 ± 0,2 ^a	63,3 ± 0,1 ^a	25,8 ± 0,1 ^a	11,4 ± 0,1 ^a	479,7 ± 3,1 ^a	65,2 ± 0,4 ^a	24,4 ± 0,2 ^a	44,4 ± 0,1 ^a	62,5 ± 0,1 ^a	14,7 ± 0,1 ^a	166,6 ± 1,3 ^a
	30:70	317,0 ± 2,1 ^l	7,2 ± 0,1 ^g	30,3 ± 0,1 ^j	12,3 ± 0,2 ^j	5,6 ± 0,1 ^g	228,1 ± 2,1 ^l	30,5 ± 0,1 ^l	11,3 ± 0,2 ^j	21,8 ± 0,1 ^{ij}	29,7 ± 0,1 ^m	6,7 ± 0,1 ^h	78,3 ± 0,4 ^k
	10:90	166,6 ± 1,6 ^o	4,6 ± 0,1 ⁱ	16,1 ± 0,2 ^m	6,2 ± 0,1 ^l	3,2 ± 0,1 ⁱ	118,2 ± 0,8 ^o	15,1 ± 1,3 ^o	6,2 ± 0,1 ^l	11,3 ± 0,2 ^m	14,1 ± 0,1 ^q	3,4 ± 0,1 ^j	41,8 ± 0,1 ⁿ

^{a-q}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

Tespit edilen antosiyaninlerde en yüksek miktarlı antosiyaninin tüm ekstraksiyon oranlarında ve sürelerinde mv-3-glc olduğu, en düşük miktardaki antosiyaninin ise cy-3-glc olduğu belirlenmiştir. Mv-3-glc miktarları 56,5-676,1 mg/kg kuru ağırlık arasında bulunurken, cy-3-glc miktarları ise 1,0-11,4 mg/kg kuru ağırlık arasında bulunmuştur. Tespit edilen antosiyaninler arasında mv-3-glc'ı sırasıyla mv-3-acglc (40,1-479,7 mg/kg kuru ağırlık), mv-3-trans-cmglc (14,3-166,6 mg/kg kuru ağırlık), mv-3-cafglc (5,2-65,2 mg/kg kuru ağırlık) ve mv-3-cis-cmglc (4,1-44,4 mg/kg kuru ağırlık) takip etmektedir. Tüm örneklerde en yüksek miktarlar malvidin grubu antosiyaninlerine aittir. Malvidin grubu antosiyaninleri sırasıyla peonidin, petunidin, delfinidin ve siyanidin grubu antosiyaninler takip etmektedir. Tüm antosiyaninlerin en yüksek ekstraksiyonuna tüm uygulama sürelerinde 50:50 çözücü ekstraksiyonuyla (etanol:%0,1 sitrik asit) ulaşılırken, en düşük ekstraksiyonun ise 10:90 çözücü ekstraksiyonu (etanol:%0,1 sitrik asit) olduğu saptanmıştır. Tüm uygulama süreleri ve çözücü ekstraksiyon uygulamalarında her bir antosiyanin sonucunun istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Çözücü oranı 50:50 (etanol:%0,1 sitrik asit) ile en yüksek antosiyanin içeriği tüm numunelerde aynı olmasına rağmen, süreler sıcaklığa bağlı olarak değişmiştir. Maksimum antosiyanin ekstraksiyonu için en yüksek değerler 50 °C'de bulunmuştur (Tablo 4.4). En yüksek antosiyanin konsantrasyonuna 30 °C'de ve 50 °C'de 180 dakikada ve 40 °C'de 90 dakikada ulaşılmıştır. Ancak, 40 °C'de 150 ve 180 dakikada benzer sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 4.3). 40 °C'de 150 ve 180 dakikalık ekstraksiyonlarda antosiyanin içeriğinde hafif bir azalma gözlenmiştir. Bunun nedeninin uygulama sırasında antosiyaninin bozunması ve yeni bileşiklerin oluşması olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu sonuçlar iyice incelendiğinde, 50:50 çözücü oranı (etanol:%0,1 sitrik asit) ile 180 dakika süreyle 50 °C'de ekstrakte edilen ekstraktların en yüksek antosiyanin içeriğine sahip olduğu söylenebilir.

Literatürde yer alan benzer çalışmalarda benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. Ruberto ve diğ. (2007)'de yaptıkları çalışmada 5 farklı üzüm çeşidinin metanol ekstraktında antosiyanin profilini incelemiştirlerdir. 11 farklı antosiyaninin incelendiği çalışmada en yüksek miktarların mv-3-cis-cmglc (290-

27140 mg/kg) ve mv-3-glc'e (2160-10380 mg/kg) ait olduğu belirtilmiştir. Benmeziante ve diğ. (2016), 3 farklı üzüm çeşidinin antosiyanin profilini incelemişlerdir. Üzümlerde en fazla bulunan antosiyaninlerin sırasıyla malvidin, peonidin, siyanidin, petunidin ve delphinidin grubu antosiyaninler olduğunu belirtmişlerdir. Corrales ve diğ. (2008)'deki çalışmasında optimum antosiyanin ekstraksiyonu için 50:50 etanol: saf su konsantrasyonunun seçildiği belirtilmiştir. Spigno ve diğ. (2007) ve Pinelo ve diğ. (2005), üzüm posasından antosiyanin ekstraksiyonu için etanol: saf su karışımı kullanımının tek başına saf sudan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Pereira ve diğ. (2019), 40 dakika boyunca 4 farklı sıcaklık (40, 60, 80, 100 °C), 4 farklı çözücü konsantrasyonu (etanol, etanol: su, etanol: asitlendirilmiş su ve asitlendirilmiş su) ile ekstrakte ettikleri Şiraz çeşidi üzüm posasında 15 adet antosiyanin incelemişlerdir. Uygulanan ekstraksiyon parametreleri arasında en verimli sonuç veren parametrenin 40 °C'de uygulanan etanol: asitlendirilmiş su karışımı olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışma için seçilen optimum parametrelerin diğer çalışmalara benzer olduğu belirlenmiştir (Çetin ve diğ. 2011, Karacabey ve diğ. 2013, Mikulic-Petkovsek ve diğ. 2017, Cebrian ve diğ. 2017, Riquelme ve diğ. 2019, Tkacz ve diğ. 2019). Üzüm posasının kimyasal bileşenleri ve antosiyanin değerleri üzümün cinsine, yetiştirme koşullarına, ekstraksiyon parametrelerine ve analiz yöntemine göre değişiklik göstermektedir (Ben Aziz ve diğ. 2019, Costa ve diğ. 2019). Aynı asmaya ait farklı salkımlarda farklı yetiştirme parametrelerinin (sıcaklık, güneş ışığı, ışığın geliş açısı, gölge, UV vb.) antosiyanin ve fenolik bileşen profilini etkilediği belirtilmektedir (Spayd ve diğ. 2002).

4.2 KP Ekstraktlarında Yapılan Analizler

4.2.1 KP genel kimyasal analizleri

Ekstraksiyonda hammadde olarak kullanılan KP'nin kimyasal bileşimi hammadde hakkında bilgi vermenin yanı sıra, ekstraktların kimyasal bileşimine de doğrudan etki etmektedir. KP'nin kimyasal bileşimi, pancar çeşidindeki farklılıklar,

olgunlaşma durumu, yetiştirildiği coğrafi koşullar gibi faktörlerden etkilenmektedir (Eşiyok ve Bozokalfa 2007).

Pancarların toplam kurumadde, pH, toplam asitlik ve briks değerleri Tablo 4.5'teki gibidir. KP'nin toplam kuru maddesi %14,16, toplam asitliği %0,77 (g sitrik asit/100 g), pH'sı 6,02 ve briksi %12,50 olarak tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, Er (2011)'de yaptığı çalışmada taze kırmızı pancarda toplam kurumadde ve toplam asitlik değerlerini sırasıyla %17,56 ve %0,49 (g sitrik asit/100g) olarak bulmuştur. Bir başka çalışmada farklı bölgelerden hasat edilmiş KP'larda toplam kuru madde miktarı ve toplam asitlik (g laktik asit/100 g) sırasıyla %15,68-18,24 ve %0,60-0,74 aralığında olduğu belirtilmiştir (Kazimierczak ve diğ. 2014). Slavov ve diğ. (2013), çalışmalarında kullandıkları kırmızı pancarların toplam kuru maddesinin ve toplam asitliğinin sırasıyla %10,9 ve %1,21 olduğunu belirtmişlerdir.

Tablo 4.5: Pancarların toplam kurumadde, pH, toplam asitlik ve briks değerleri

Pancara Uygulanan Analizler	Analiz Sonucu
Toplam Kurumadde (%)	14,16
Toplam Asitlik (g sitrik asit /100g)	0,77
pH	6,02
Briks (%)	12,50

Literatürde kırmızı pancarın kimyasal bileşimini inceleyen çalışmalarda bu çalışmada kullanılan kırmızı pancar analiz sonuçları ile benzerlik görülmektedir.

4.2.2 KP ekstraktı renk ve pH değerleri

Kırmızı pancar ekstraktlarının pH ve L*, a*, b*, kroma değeri ve hue açısı değerleri Tablo 4.6'daki gibidir. Ekstraktlarda L*, a*, b* değerleri sırasıyla 2,95-5,41, 7,02-13,89 ve 1,56-3,48 aralığında bulunmuştur. En düşük L*, a*, b* değeri 30 °C, 30:70 çözücü oranında bulunurken, en yüksek değerler ise 50 °C, 60:40 çözücü oranında bulunmuştur. L*, a*, b* değerlerinin sıcaklık ve etanol miktarının artışıyla doğru orantılı olarak arttığı görülmektedir. Genel olarak kroma değeri ve hue açısı da

L*, a*, b* değerlerine paralel olarak artış göstermiştir. Ancak 40 °C sıcaklık uygulanan ekstraktlarda kroma değeri ve hue açısı azalma göstermiştir.

Gıdanın renk ve parlaklığı tüketici kabuledilebilirliği açısından en önemli duyuşal özelliktir (Başoğlu 2004). Renk incelenirken L*, a*, b* değerlerinin yanısıra kroma değeri ve hue açısına da bakmak gerekmektedir. Kroma değeri rengin parlaklığını (doygunluğunu), hue açısı ise renk tonunu ifade etmektedir. Kroma değeri arttıkça renk parlaklaşır. Hue açısında ise 0° kırmızı-mor, 90° sarı, 180° mavimsi-yeşil, 270° mavi, 360°=0° kırmızı-mor rengi ifade etmektedir. Betalainler kırmızı renkleri bileşikler olduğundan ekstraktlarda en düşük (0°'ye en yakın) hue açısı değeri en kırmızı tonu göstermektedir. Kroma değeri açısından en parlak renk 50 °C, 60:40 çözücü oranı iken hue açısının en düşük olduğu örnek, 50 °C, 30:70 çözücü oranıdır.

Tablo 4.6: Kırmızı pancar ekstarktlarının pH ve L*, a*, b*, kroma değeri ve hue açısı değerleri

Süre (min)	Sıcaklık (°C)	Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su)	pH	Renk				
				L*	a*	b*	C*	h
30	30	30:70	6,31 ± 0,01 ^d	4,39 ± 0,00 ^f	10,34 ± 0,00 ^e	2,63 ± 0,00 ^f	10,67 ± 0,00 ^e	14,27 ± 0,00 ^f
		45:55	6,31 ± 0,00 ^d	4,76 ± 0,00 ^d	11,42 ± 0,03 ^d	2,92 ± 0,00 ^d	11,79 ± 0,01 ^d	14,34 ± 0,00 ^e
		60:40	6,42 ± 0,00 ^c	5,20 ± 0,01 ^c	12,50 ± 0,03 ^c	3,35 ± 0,02 ^c	12,94 ± 0,01 ^c	15,00 ± 0,01 ^a
	40	30:70	6,30 ± 0,00 ^d	3,83 ± 0,01 ^h	8,08 ± 0,00 ^h	2,12 ± 0,00 ^h	8,35 ± 0,00 ^h	14,70 ± 0,00 ^b
		45:55	6,30 ± 0,00 ^d	4,51 ± 0,01 ^e	10,23 ± 0,00 ^f	2,67 ± 0,00 ^e	10,57 ± 0,00 ^f	14,63 ± 0,01 ^c
		60:40	6,50 ± 0,01 ^b	5,33 ± 0,00 ^b	13,11 ± 0,01 ^b	3,40 ± 0,00 ^b	13,54 ± 0,01 ^b	14,54 ± 0,01 ^d
	50	30:70	6,28 ± 0,01 ^d	2,95 ± 0,00 ⁱ	7,02 ± 0,00 ⁱ	1,56 ± 0,01 ⁱ	7,19 ± 0,00 ⁱ	12,53 ± 0,00 ⁱ
		45:55	6,30 ± 0,00 ^d	3,87 ± 0,01 ^g	9,74 ± 0,01 ^g	2,44 ± 0,00 ^g	10,04 ± 0,03 ^g	14,06 ± 0,01 ^h
		60:40	6,59 ± 0,00 ^a	5,41 ± 0,00 ^a	13,89 ± 0,01 ^a	3,48 ± 0,01 ^a	14,32 ± 0,00 ^a	14,07 ± 0,00 ^g

^{a-i}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

Ekstraktların pH değerlerinin 6,28 ve 6,59 değerleri arasında olduğu görülmektedir. 30:70 ve 45:55 etanol: 0,1'lik sitrik asitli saf su oranlarında pH'da değişiklik gözlenmezken, 60:40 etanol: asitlendirilmiş saf su oranında pH'nın artış gösterdiği görülmektedir. Yine sıcaklık artışının da pH değerini arttırdığı görülmektedir. Çözücüde kullanılan etanol miktarı arttıkça pH yükselmektedir. pH artışı çözücüde kullanılan etanolden kaynaklanmaktadır.

Tüm renk değerlerinde istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu tespit edilmiştir. pH sonuçlarında ise 60:40 oranında etanol: asitlendirilmiş saf su kullanılan ekstraktlarda sıcaklık değişimine bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı farklar bulunurken, 30:70 ve 45:55 oranlarında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p < 0,05$).

Aksu ve diğ. (2015)'te yaptıkları çalışmada liyofilize edilmiş kırmızı pancar ekstraktlarının L^* , a^* , b^* değerlerine bakmışlar ve ortalama olarak sırasıyla 28,26, 22,88 ve 8,90 olarak bulmuşlardır. Yine Latorre ve diğ. (2010)'da yaptıkları çalışmada L^* , a^* , b^* değerlerini sırasıyla 8-10, 38-40, 15-17 aralığında bulmuşlardır. kroma değeri ve hue açıları ise sırasıyla 41-43, 21-23 aralığında bulmuşlardır. Koubaier ve diğ. (2013)'te yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae* ilavesi yapılmış kırmızı pancar ekstraktlarının L^* , a^* , b^* değerlerini sırasıyla 32,41-78,14, 9,84-42,67, 17,36-38,96 ve kroma değeri ve hue açısını ise 33,31-48,83, 23,22-74,69 aralığında bulmuşlardır. Kayın (2014)'te yapmış olduğu çalışmada kırmızı pancar suyu konsantresinin L^* , a^* , b^* , kroma değeri ve hue açısı sırasıyla 17,40, 0,11, 0,74, 0,74 ve 85,75 olarak bulmuştur. Er (2011)'de yaptığı çalışmada farklı parametrelerin uygulandığı kırmızı pancarlarda L^* , a^* , b^* , kroma değeri ve hue açısı sırasıyla 25,86-32,26, 8,96-22,64, -1,91-14,27, 10,19-22,70 ve -7,33-28,53 arasında bulmuştur.

Pancarın karakteristik kırmızı renginin Betalainlerden kaynaklandığı bilinmektedir (Delgado-Vargas, ve Paredes-Lopez, 2003). Uygulanan sıcaklığın artmasıyla Betalainlerdeki artış, L^* , a^* , b^* renk sonuçlarıyla da desteklenmektedir. Ancak, genel olarak yapılan çalışmaların buradaki sonuçlarla farklılık göstermesi, uygulanan parametrelerin ve hammadde olarak kullanılan kırmızı pancarın hasat edildiği coğrafi koşulların farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Goldman 1995).

4.2.3 KP ekstraktlarının toplam betalain miktarı

KP ekstraktlarının toplam betalain miktarı Tablo 4.7 ve Şekil 4.4'teki gibidir.

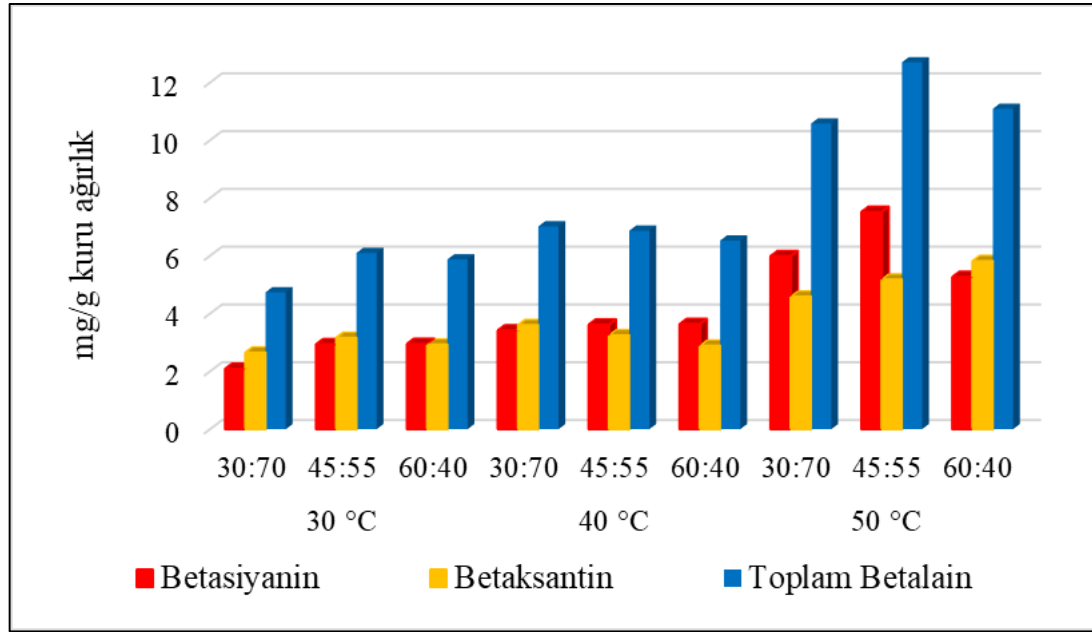
Tablo 4.7: Kırmızı pancar ekstraktlarının betasiyanin, betaksantin ve toplam betalain miktarı

Süre (min)	Sıcaklık (°C)	Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su)	Toplam Betasiyanin	Toplam Betaksantin	Toplam Betalain içeriği (mg/g kuru ağırlık)
30	30	30:70	2,09 ± 0,03 ^f	2,65 ± 0,01 ^g	4,74 ± 0,03 ^g
		45:55	2,94 ± 0,08 ^e	3,16 ± 0,08 ^e	6,10 ± 0,14 ^f
		60:40	2,95 ± 0,07 ^e	2,93 ± 0,04 ^f	5,88 ± 0,07 ^f
	40	30:70	3,42 ± 0,01 ^d	3,60 ± 0,00 ^d	7,02 ± 0,03 ^d
		45:55	3,62 ± 0,07 ^d	3,25 ± 0,07 ^e	6,87 ± 0,08 ^d
		60:40	3,64 ± 0,01 ^d	2,89 ± 0,01 ^f	6,53 ± 0,04 ^e
	50	30:70	5,99 ± 0,01 ^b	4,59 ± 0,01 ^c	10,58 ± 0,03 ^c
		45:55	7,52 ± 0,11 ^a	5,18 ± 0,01 ^b	12,70 ± 0,01 ^a
		60:40	5,27 ± 0,10 ^c	5,82 ± 0,03 ^a	11,09 ± 0,01 ^b

^{a-g}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

KP'dan elde edilen ekstraktların Toplam Betalain miktarı Betasiyanin ve Betaksantin miktarlarının ayrı ayrı hesaplanarak toplanmasıyla elde edilmiştir. Ekstraktlarda Toplam Betasiyanin miktarı 2,09 ile 7,52 mg/g (kuru ağırlık), Toplam Betaksantin miktarı 2,65 ile 5,82 mg/g (kuru ağırlık) arasında bulunmuştur. Toplam Betalain miktarı en düşük 30 °C, 30:70 çözücü oranındaki ekstraktta 4,74 mg/g (kuru ağırlık), en yüksek 50 °C, 45:55 çözücü oranında 12,70 mg/g (kuru ağırlık) olarak bulunmuştur. Ekstraksiyonda uygulanan sıcaklığın artmasıyla betalain miktarının arttığı ancak çözücüdeki etanol miktarının artışı ile betalain miktarlarında azalma olduğu görülmektedir. En yüksek betalain miktarına alkol: su oranının birbirine yakın olduğu çözücülerde ulaşılmıştır. Alkol veya su oranının artması betalain ekstraksiyonun azalmasına sebep olmaktadır. İstatistiksel anlamda betaksantinler arasında anlamlı fark bulunurken, betasiyaninler arasında sıcaklığa bağlı olarak anlamlı farklar bulunmakta ancak 40 °C uygulama sıcaklığındaki ekstraktlar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır (p<0,05). Betasiyanin ve betaksantin istatistiksel

sonuçlarına ek olarak toplam betalain miktarlarında ekstraktlar arasında $p<0,05$ düzeyinde anlamlı farklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.4: Kırmızı pancar ekstraktlarının betasiyanin, betaksantin ve toplam betalain miktarı

Latorre ve diğ. (2010)'da yaptıkları çalışmada dilimlenmiş KP örneklerine farklı dozlarda ışın göndermiş ve betalain miktarına bakmışlardır. Işın gönderilmemiş örneklerde Betasiyanin miktarı 750 mg/L bulunmuş iken Betaksantin miktarı ise 550 mg/L olarak bulunmuştur. Aksu ve diğ. (2015)'te liyofilize edilmiş kırmızı pancar örneklerinde Toplam Betalain miktarını ortalama 4935 mg/L olarak bulmuşlardır. Koubaier ve diğ. (2013)'te *S. cerevisiae* ilave ettikleri KP ekstraktı örneklerinde 15-115 mg/L aralığında Toplam Betalain miktarı bulmuş, uygulanan sıcaklığın artmasıyla Betalain miktarının arttığı, *S. cerevisiae* konstanrasyonunun artmasıyla ise Betalain miktarının önce artış sonra azalış gösterdiğini belirtmişlerdir. Kayın (2014)'te yapmış olduğu çalışmada KP suyu konsantresinin Betasiyanin miktarı 1179 mg/L iken Betaksantin miktarı 883 mg/L olarak bulunmuştur. Er (2011)'de yaptığı çalışmada farklı parametrelerin uygulandığı KP örneklerinde Toplam Betalain miktarını mg/kg kuru ağırlık bazında 529-1314,6 olarak bulmuştur. Ok Düker (2017)'de yaptığı çalışmada materyal olarak KP ve turşusunu kullanmış ve Betasiyanin miktarını 540-1560 mg/kg, Betaksantin miktarını 14-122 mg/kg ve Toplam Betalain miktarını 556-2020 mg/kg olarak bulmuştur. Czapski ve diğ. (2009)'daki çalışmasında farklı yıllarda ve farklı bölgelerden hasat ettikleri KP

çeşitlerinin Betalain miktarlarını incelemişlerdir. Betasiyanin miktarını 570-1370 mg/L aralığında, Betaksantin miktarını 400-610 mg/L aralığında ve Toplam Betalain miktarını ise 1030-1970 mg/L aralığında bulmuşlardır. Ravichandran ve diğ. (2013)'te yaptıkları bir çalışmada KP örneklerine mikrodalga ve vakum uygulaması yapılmış ve Toplam Betalain miktarına bakmışlardır. Örneklerin Betasiyanin miktarları 7-8,5 mg/L ve Betaksantin miktarları 5,2-5,8 mg/L olarak belirlenmiş, buna göre Toplam Betalain miktarı ise ortalama 12,2-14,3 mg/L olarak bulunmuştur. Slavov ve diğ. (2013), herhangi bir işlem yapılmamış KP ekstraktlarında toplam betalain miktarını 61 mg/g (taze ağırlık) olarak tespit etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda Betasiyanin ve Betaksantin miktarlarının farklılık gösterdiği görülmektedir. Betalain miktarının bu denli değişiklik göstermesi, çalışmalarda uygulanan ekstraksiyon parametrelerinin farklılık göstermesi ve kırmızı pancarın hasat edildiği bölgenin coğrafi koşulları, yetiştirme teknikleri, iklim koşulları vb. gibi birçok faktörün etkili olduğu düşünülmektedir (Goldman 1995).

4.2.4 KP ekstraktlarının DPPH antioksidan aktivite tayini

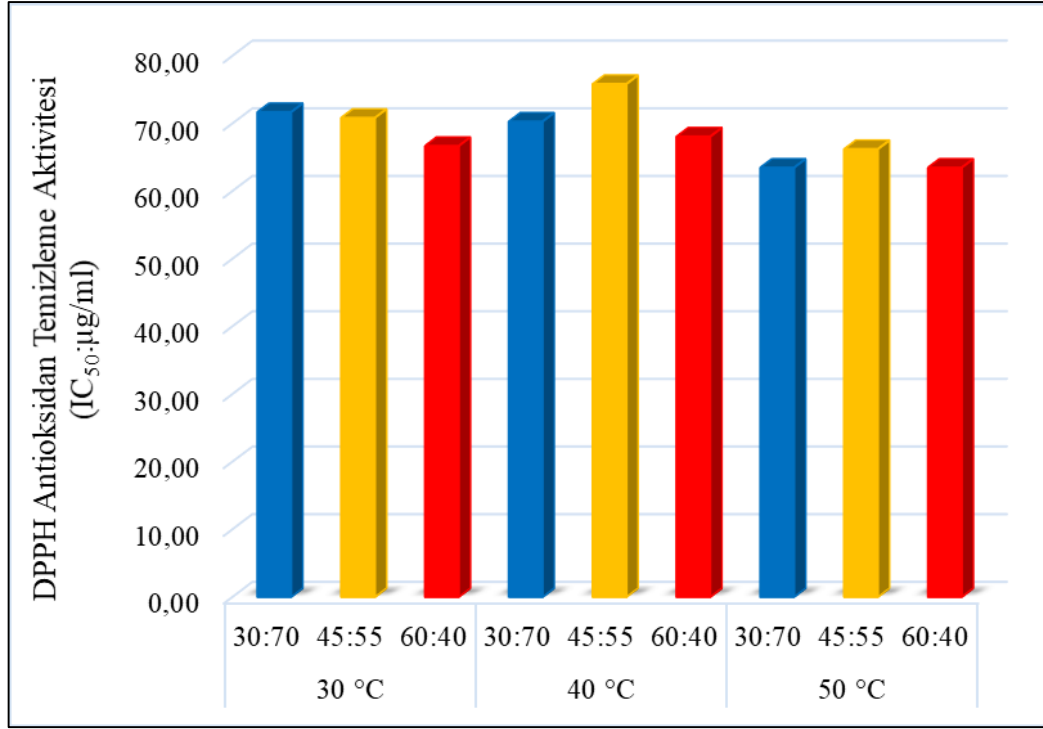
Kırmızı pancar ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi değerleri Tablo 4.8 ve Şekil 4.5'teki gibidir. Ekstraktların DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi, IC₅₀ (µg/ml (kuru ağırlık)) değeri olarak hesaplanmıştır. IC₅₀ değeri DPPH radikallerinin %50'sini temizlemek için gereken konsantrasyon olduğundan, düşük IC₅₀ değeri daha yüksek antioksidan aktiviteyi ifade etmektedir. KP ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi değerleri 13,46-25,83 (µg/ml (kuru ağırlık)) aralığında olduğu belirlenmiştir. Genel olarak DPPH aktivitesinin sıcaklık artışı ile azaldığı görülmekte buna karşın çözücüdeki etanol artışı ile DPPH aktivitesinin önce arttığı sonra ise azalma gösterdiği görülmektedir. Sonuçlar istatistiki olarak değerlendirildiğinde Tukey testine göre tüm sıcaklık ve çözücü uygulamalarında p<0,05 düzeyinde anlamlı farklar tespit edilmiştir.

Tablo 4.8: Kırmızı pancar ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi değerleri

Süre (min)	Sıcaklık (°C)	Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su)	DPPH Antioksidan aktivitesi IC ₅₀ (µg/ml (kuru ağırlık))
30	30	30:70	21,67 ± 0,04 ^g
		45:55	20,83 ± 0,04 ^f
		60:40	16,67 ± 0,01 ^c
	40	30:70	20,28 ± 0,10 ^e
		45:55	25,83 ± 0,11 ^h
		60:40	18,06 ± 0,08 ^d
	50	30:70	13,46 ± 0,08 ^a
		45:55	16,21 ± 0,01 ^b
		60:40	13,46 ± 0,04 ^a

^{a-h}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

Aksu ve diğ. (2015)'te liyofilize edilmiş kırmızı pancar ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi analizi yapmış ve ortalama olarak %18,33 bulmuştur. Ok Düker (2017)'de yaptığı çalışmada materyal olarak Kırmızı Pancar ve turşusunu kullanmış ve DPPH temizleme aktivitesini %1,64-70,72 aralığında bulmuştur. Ravichandran ve diğ. (2013)'te yaptıkları bir çalışmada kırmızı pancar mikrodalga ve vakum uygulaması yapılmış ve DPPH temizleme aktivitesine bakmışlardır. Buna göre, örneklerin DPPH aktivitesini %10 ile %41 aralığında bulmuşlardır. Sawicki ve diğ. (2016), 13 farklı pancar çeşidinde yaptıkları çalışmada DPPH antioksidan temizleme aktivitesini 24,06-32,87 µmol Trolox/g (kuru ağırlık) olarak bulmuşlardır.



Şekil 4.5: Kırmızı pancar ekstraktlarının DPPH antioksidan temizleme aktivitesi değerleri

Yapılan çalışmalarla sonuçlar kıyaslandığında DPPH temizleme aktivitesinin diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir. Çalışmaların sonuçlarının büyük bir aralıkta olduğu görülmektedir. Bu sonuçların uygulanan ekstraksiyon koşullarının farklı ve çok çeşitli olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

4.2.5 KP ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı

Kırmızı pancar ekstraktlarının Toplam fenolik madde miktarları Tablo 4.9 ve Şekil 4.6'daki gibidir.

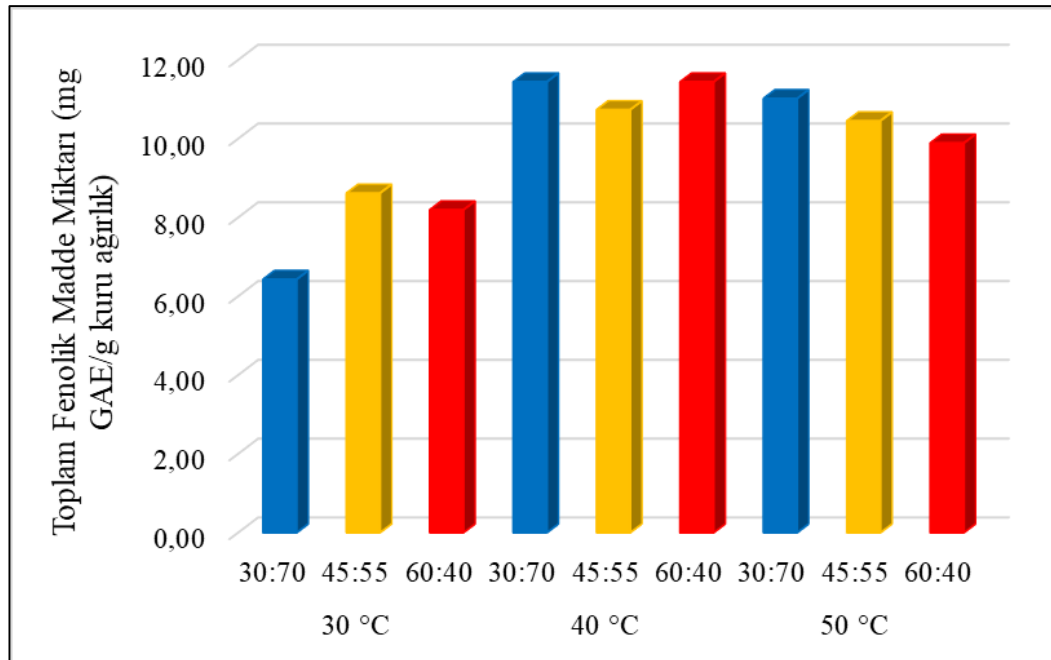
Betalain ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri 6,43 ile 11,44 mg GAE/g (kuru ağırlık) arasında değiştiği görülmektedir. Toplam fenolik madde içeriğinin sıcaklıkla arttığı görülmüştür. Ancak 50 °C'de ekstrakte edilen pancar örneklerinin fenolik madde miktarlarının düşük olduğu gözlenmiştir. Ekstraktlarda kullanılan çözücü oranlarında etanol miktarının artış göstermesiyle toplam fenolik madde miktarlarında düşüş olduğu gözlenmekle birlikte farklı sıcaklık uygulamalarının farklı sonuçlar gösterdiği görülmektedir. Sonuçlar istatistiksel

olarak incelendiğinde ekstraktların Tukey testine göre anlamlı fark gösterdiği görülmektedir ($p<0,05$).

Tablo 4.9: Kırmızı pancar ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

Süre (min)	Sıcaklık (°C)	Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g kuru ağırlık)
30	30	30:70	$6,43 \pm 0,04^h$
		45:55	$8,62 \pm 0,01^f$
		60:40	$8,19 \pm 0,04^g$
	40	30:70	$11,44 \pm 0,06^a$
		45:55	$10,73 \pm 0,01^c$
		60:40	$11,44 \pm 0,06^a$
	50	30:70	$11,02 \pm 0,03^b$
		45:55	$10,45 \pm 0,01^d$
		60:40	$9,89 \pm 0,08^e$

^{a-h}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre $p<0,05$ düzeyinde farklılık vardır.



Şekil 4.6: Kırmızı pancar ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları

Kujala ve diğ. (2001)'de farklı çözücüler kullanarak elde ettikleri KP ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarını 17,4 ile 24,1 mg GAE/g aralığında bulmuşlardır. Aksu ve diğ. (2015), liyofilize edilmiş KP ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğini ortalama 25,31 GAE/g olarak bulmuşlardır. Güldiken ve diğ. (2016), farklı proseslerle işlenmiş KP örneklerinde toplam fenolik madde miktarlarına bakmış ve örneklerin toplam fenolik madde miktarlarının 1,92 ile 3,47 mg GAE/g arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Kazimierczak ve diğ. (2014), farklı toprak koşullarında yetiştirilen KP örneklerinde toplam fenolik bileşen miktarını 0,25-0,36 mg/g (taze ağırlık) aralığında bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen KP ekstraktlarının benzer çalışmalardaki toplam fenolik madde miktarlarıyla kıyaslandığında diğer çalışmalarla benzer sonuç göstermekle birlikte bazı çalışma sonuçlarından daha düşük olduğu görülmektedir.

4.2.6 KP ekstraktlarının betalain profili

Betalain profili tayininde 4 adet betasiyanin (betanin, izobetanin, betanidin ve izobetanidin) ile 1 adet betaksantin (vulgaksantin I ve II) tespit edilmiştir. KP ekstraktlarının betalain profili Tablo 4.10'da görülmektedir. Sonuçlar mg/g kuru ağırlık üzerinden hesaplanmıştır. 45:55 çözücü oranında (etil alkol: %0,1'lik sitrik asitli saf su) 30, 40 ve 50 °C'de ekstrakte edilen örneklere ait HPLC kromatogram görüntüleri sırasıyla Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da görülmektedir.

KP ekstraktlarının betalain değerleri 0,0004 ile 12,99 mg/g (kuru ağırlık) aralığında bulunmuştur. Tespit edilen betalainler içerisinde en yüksek miktarın betaninlere ait olduğu görülmüştür. Betanin değerleri 0,29-12,99 mg/g (kuru ağırlık) aralığında tespit edilmiştir. Betanini vulgaksantin, betanidin, izobetanin ve izobetanidin takip etmektedir. En düşük miktar izobetaninde bulunmuştur. Betaninin izomeri olan izobetanin ve betanidinin izomeri olan izobetanidin daha düşük miktarda tespit edilmiştir. Betalain profili sonuçları incelendiğinde ekstraksiyon esnasında uygulanan sıcaklık arttıkça betalain miktarının arttığı görülmektedir. Bu sonuç tespit edilen tüm betalainler için geçerlidir. Ekstraktlarda en yüksek betalain miktarlarına 50 °C'de ekstrakte edilen pancar örneklerinde ulaşılmıştır. Ekstraktların çözücü oranları incelendiğinde genel olarak etil alkol veya asitlendirilmiş saf su

oranının artmasıyla ekstrakte edilen betalain miktarının azaldığı görülmüştür. Çözücü oranının (alkol: su karışımının) birbirine yakın olduğu ekstraktlarda betalain ekstraksiyonunun en fazla olduğu gözlemlenmektedir. Tüm betalain sonuçları istatistiksel olarak incelendiğinde betanin, betanidin ve vulgaksantin I ve II miktarlarında parametrelere bağlı olarak Tukey testine göre $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı fark gözlenirken, izomer yapıda olan izobetanin ve izobetanidin miktarlarında anlamlı fark gözlenmemiştir. Ancak izobetanidin maddesinde 50 °C sıcaklıkta 45:55 çözücü oranlı uygulama ile elde edilen ekstraktta diğer ekstraktlara göre anlamlı bir fark gözlenmektedir. Bununla birlikte tespit edilen betanidin miktarlarında 50 °C sıcaklık uygulaması istatistiksel açıdan fark yaratmamaktadır.

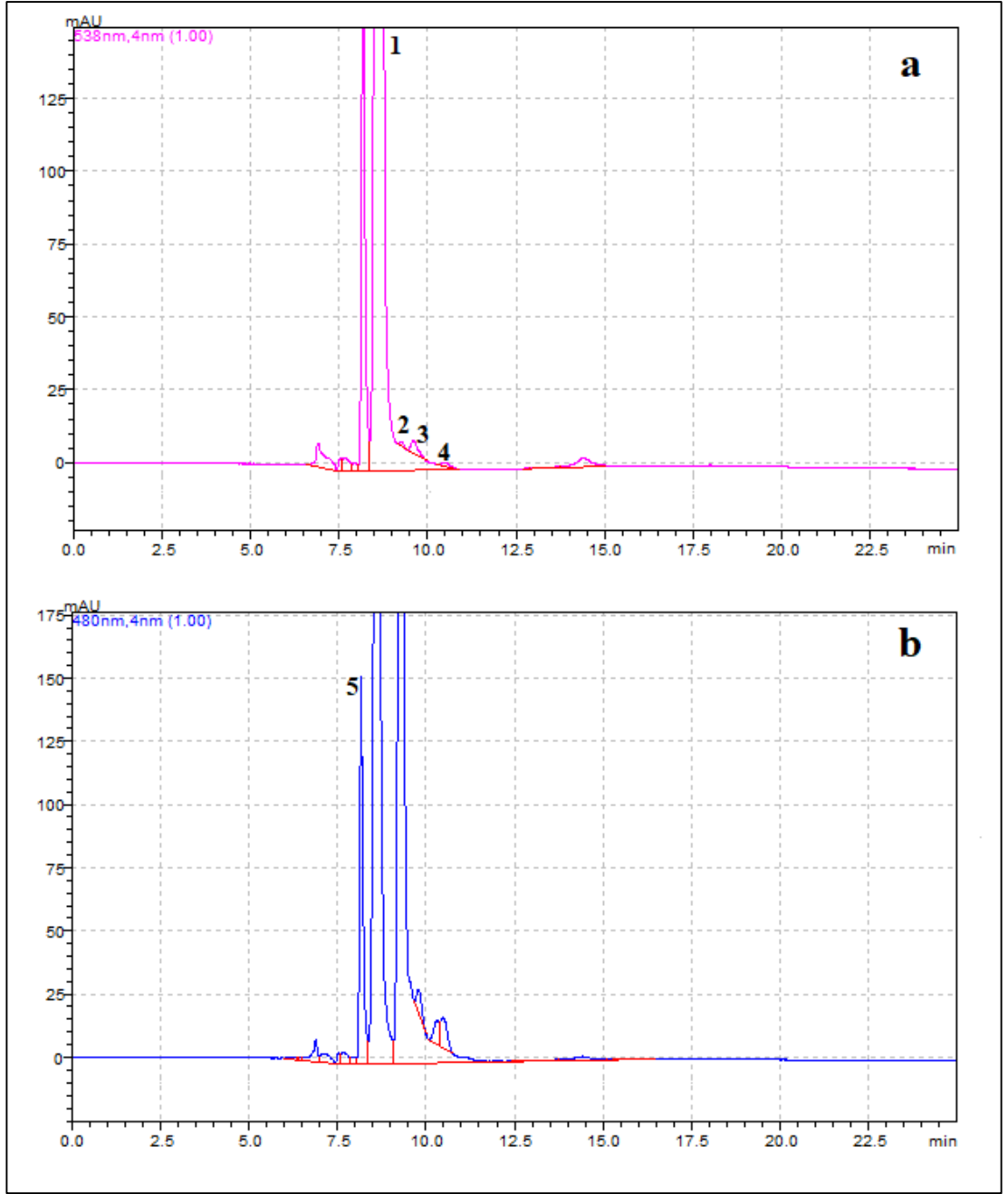
Tablo 4.10: Kırmızı pancar ekstraktlarının betalain profili (mg/kg kuru ağırlık)

Süre (min)	Sıcaklık (°C)	Çözücü (Etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su)	Betanin	İzobetanin	Betanidin	İzobetanidin	Vulgaksantin I ve II
30	30	30:70	0,29 ± 0,01 ⁱ	0,031 ± 0,00 ^a	0,031 ± 0,00 ^a	0,0005 ± 0,00 ^b	0,14 ± 0,01 ^f
		45:55	7,01 ± 0,03 ^c	0,005 ± 0,00 ^a	0,012 ± 0,00 ^{cd}	0,0010 ± 0,00 ^b	0,28 ± 0,03 ^{de}
		60:40	2,97 ± 0,03 ^h	0,005 ± 0,01 ^a	0,016 ± 0,00 ^{cd}	0,0004 ± 0,00 ^b	0,37 ± 0,03 ^{cd}
	40	30:70	5,79 ± 0,01 ^d	0,004 ± 0,03 ^a	0,021 ± 0,00 ^{bc}	0,0010 ± 0,00 ^b	0,35 ± 0,00 ^{cde}
		45:55	4,14 ± 0,06 ^f	0,006 ± 0,01 ^a	0,009 ± 0,00 ^d	0,0017 ± 0,00 ^b	0,40 ± 0,01 ^c
		60:40	3,30 ± 0,01 ^g	0,004 ± 0,01 ^a	0,014 ± 0,00 ^{cd}	0,0005 ± 0,00 ^b	0,26 ± 0,03 ^e
	50	30:70	9,36 ± 0,03 ^b	0,012 ± 0,00 ^a	0,028 ± 0,00 ^{ab}	0,0005 ± 0,00 ^b	0,42 ± 0,03 ^c
		45:55	12,99 ± 0,01 ^a	0,010 ± 0,00 ^a	0,033 ± 0,00 ^a	0,0033 ± 0,00 ^a	0,54 ± 0,01 ^b
		60:40	4,27 ± 0,04 ^e	0,010 ± 0,04 ^a	0,034 ± 0,00 ^a	0,0008 ± 0,00 ^b	1,07 ± 0,04 ^a

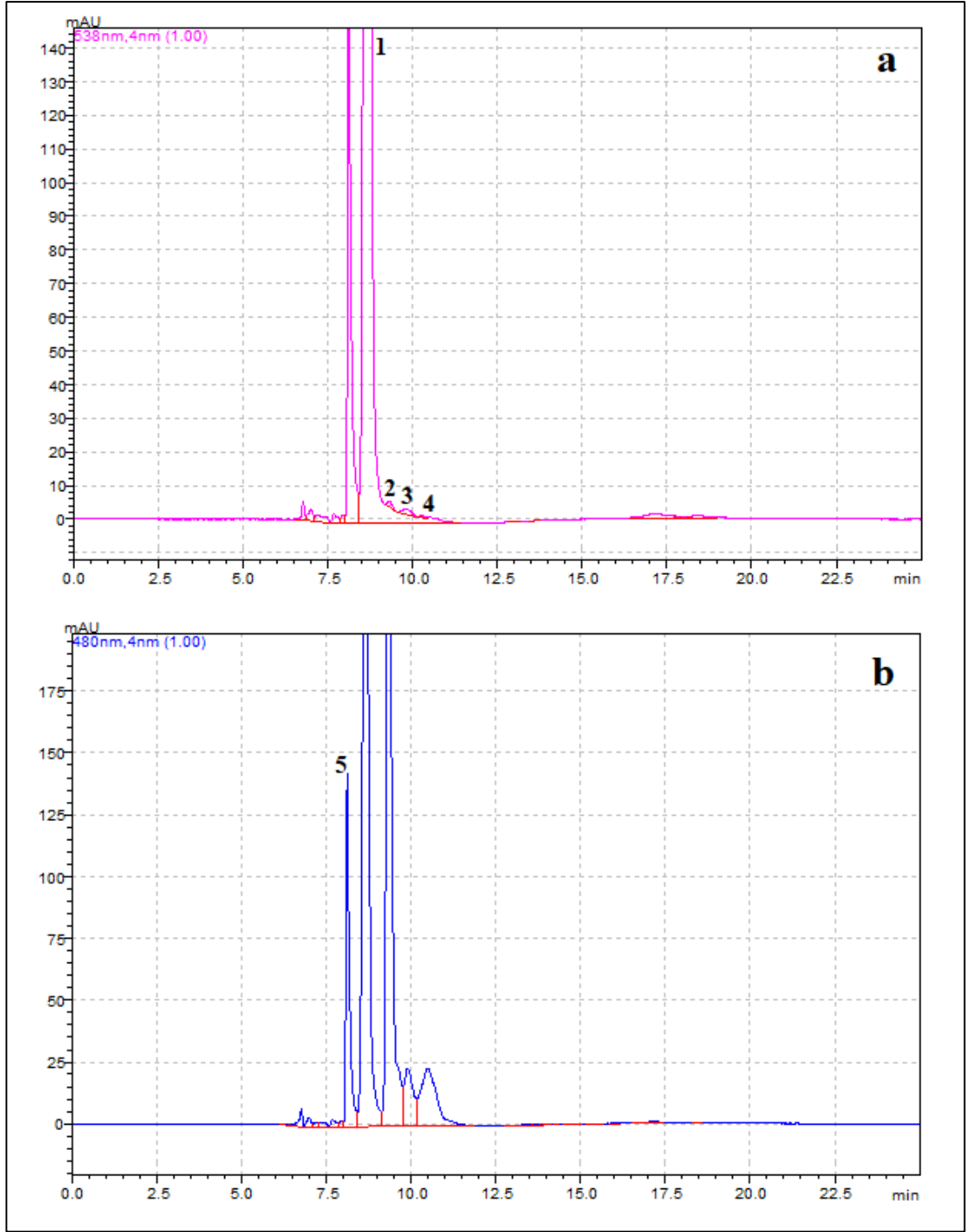
^{a-i}Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında Tukey çoklu araştırma testine göre p<0,05 düzeyinde farklılık vardır.

Literatürdeki benzer çalışmalar incelendiğinde, KP'da betasiyaninlerde betanin ve izobetanin, betaksantinlerde ise vulgaksantin en fazla bulunan betalainler olduğu belirtilmektedir (Sawicki ve diğ. 2016, Slatnar ve diğ. 2015). Bu tez çalışmasında da tespit edilen betalainler arasında literatürle benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sawicki ve diğ. (2016), çalışmasında 13 farklı KP çeşidinde 18 adet betasiyanin ve 12 adet betaksantin olmak üzere 30 farklı betalaini incelemiştir. Çalışmada pancarlarda Çalışmada 13 farklı çeşit KP'da betanin değerleri 42,7-52,1, izobetanin değerleri 15,0-20,4 ve vulgaksantin I değerleri 13,3-32,1 mg/g (kuru ağırlık) aralığında bulunmuştur. Kazimierczak ve diğ. (2014), farklı toprak koşullarında yetiştirilen KP örneklerinde betanin değerlerini 5,8-11,0 mg/g (taze ağırlık) olarak bulmuşlardır. Slavov ve diğ. (2013), KP suyunda betanin, izobetanin, betanidin, izobetanidin, vulgaksantin I ve vulgaksantin II miktarlarının sırasıyla 3,12, 0,71, 0,18, 0,05, 1,04 ve 0,57 mg/g (kuru ağırlık) olduğunu belirtmişlerdir. Slatnar ve diğ. (2015), KP'nin farklı kısımlarında betalain profilini incelemişler ve betanin, izobetanin, betanidin ve vulgaksantin I miktarlarını sırasıyla 0,0047-0,69, 0,19-0,74, 0,0002-0,0018 ve 0,04-0,64 mg/g olarak bulmuşlardır. Ravichandran ve diğ. (2013), mikrodalga, kavurma, kaynatma ve vakumlama işlemleri uygulanmış KP örneklerini %30, %50 ve %70 etanol ile ekstrakte etmişlerdir. Ekstraktların betalain değişimleri incelenmiş ve sonuç olarak en yüksek betalain değerlerine %50 etanol ile ekstrakte edilen örneklerde ulaşıldığını bildirmişlerdir. Kujala ve diğ. (2002), KP'nin farklı kısımlarından elde ettikleri ekstraktların betanin değerlerini 2,9-7,6, izobetanin değerlerini 0,02-3,1 ve vulgaksantin I ve II değerlerini 1,4-4,3 mg/g (kuru ağırlık) aralığında bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında yer alan en optimum çözücü parametresi olan 45:55 oranı literatür çalışmalarıyla desteklenmekte olduğu görülmektedir.

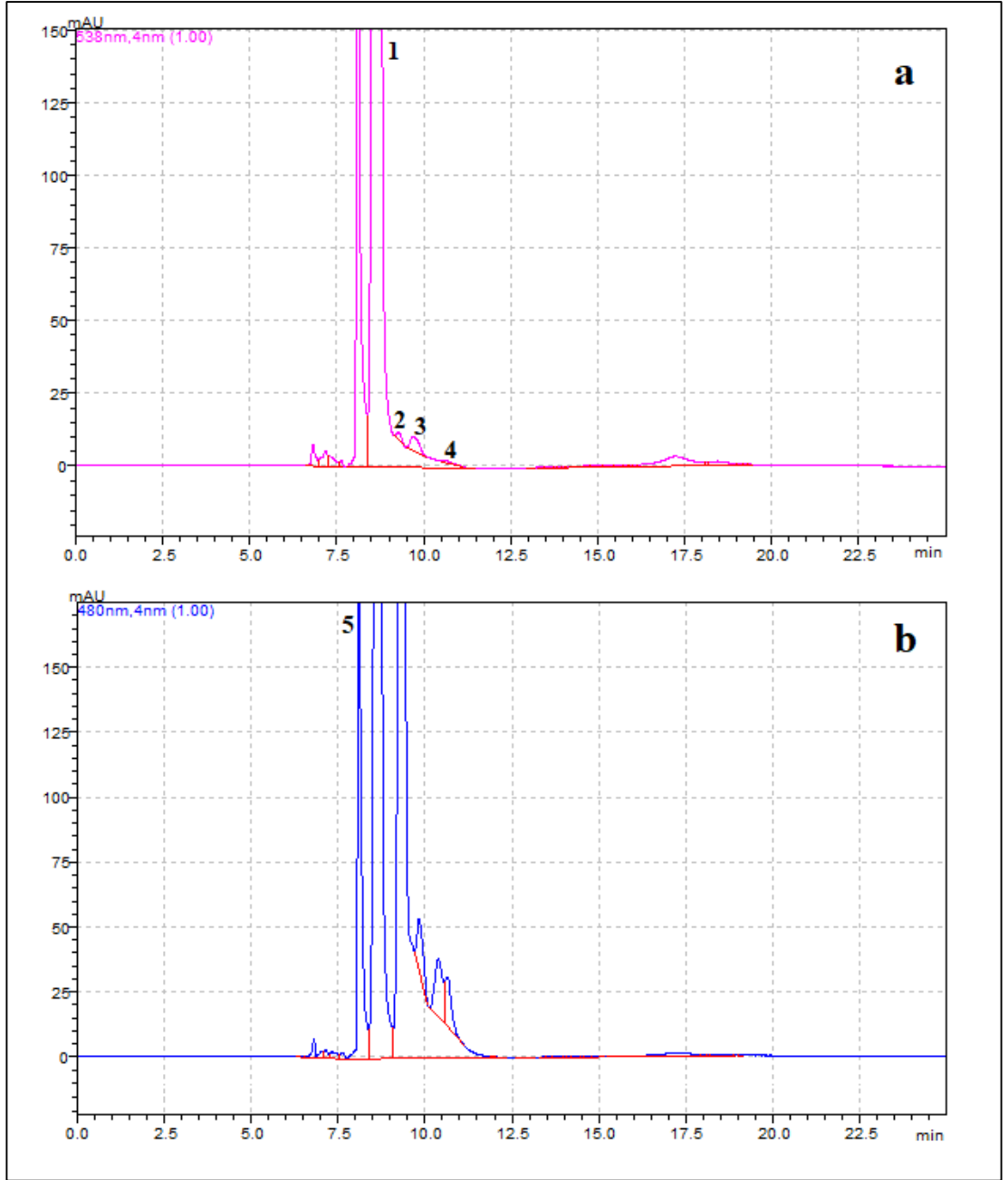
Literatür sonuçları değerlendirildiğinde betalain profili sonuçlarının geniş bir aralığa sahip olduğu görülmektedir. Çalışmalarda hammadde olarak kullanılan KP'nin gerek farklı türlerde olması gerekse yetiştirme ve coğrafi koşullarındaki farklılıklar sonuçları doğrudan etkilemektedir. Bununla birlikte, örneklerin hazırlanmasında kullanılan farklı teknikler, uygulanan sıcaklık, çözücü vb. parametrelerin çeşitliliği ve bunun yanı sıra betalain profilinin tespitinde farklı cihaz ve yöntemlerin kullanılması sonuçların geniş bir aralığa sahip olmasına sebep olmaktadır.



Şekil 4.7: 30 °C’de 45:55 Çözücü (Etanol:%0,1’lik sitrik asitli saf su) ile ekstrakte edilen örneklerin HPLC kromatogram görüntüleri ((**a**): 538 nm, (**b**): 480 nm, **1**: betanin, **2**: izobetanın, **3**: betanidin, **4**: izobetanidin, **5**: vulgaksantin I ve II)



Şekil 4.8: 40 °C’de 45:55 Çözücü (Etanol:%0,1’lik sitrik asitli saf su) ile ekstrakte edilen örneklerin HPLC kromatogram görüntüleri ((**a**): 538 nm, (**b**): 480 nm, **1**: betanin, **2**: izobetanın, **3**: betanidin, **4**: izobetanidin, **5**: vulgaksantin I ve II)



Şekil 4.9: 50 °C’de 45:55 Çözücü (Etanol:%0,1’lik sitrik asitli saf su) ile ekstrakte edilen örneklerin HPLC kromatogram görüntüleri ((a): 538 nm, (b): 480 nm, **1:** betanin, **2:** izobetanın, **3:** betanidin, **4:** izobetanidin, **5:** vulgaksantin I ve II)

Betaninin izomeri olan izobetanın ve betanidinin izomeri olan izobetanidin ilişkisi incelendiğinde sıcaklığa bağlı olarak izomerlerin artış gösterdiği görülmüştür. Bu artış 45:55 çözücü oranlarında anlamlı bir fark oluştururken diğer çözücü oranlarında anlamlı bulunmamıştır. Bu anlamlı artışın ısıl işlemle ilgisi olduğuna dair literatür çalışmalar bulunmaktadır. Ravichandran ve diğ. (2013), ısıl işlem ile betasiyaninlerin izomerlerine dönüştüğünü bildirmişlerdir. Tez çalışmasında yer alan betalain profiline dair sonuçlar literatürdeki çalışmalarla uyum göstermektedir.

Tüm bu bilgilerin ışığında betalain profiline ait sonuçlar ve toplam betalain analizi sonuçları incelendiğinde 50 °C sıcaklıkta uygulanan 45:55 etanol:%0,1'lik sitrik asitli saf su çözücüsünün betalain ekstraksiyonunda en uygun parametreler olduğu sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gıdalarda boyaları, gıda endüstrisinde oldukça fazla kullanım alanı olan, gıdanın rengini iyileştirmek ve tüketici tarafından kabul edilebilirliğini arttırmak amacıyla kullanılan maddelerdir. Sentetik gıda boyalarının olumsuz etkileri sebebiyle doğal gıda boyalarına yönelim artmıştır. Şarap üretimi sırasında açığa çıkan pres atığı olan ve iyi bir antosiyanin kaynağı olan üzüm kabukları ile betalain kaynağı olan kırmızı pancar doğal gıda boyası olmaya oldukça elverişlidir.

Bu çalışmada, Denizli Çal bölgesinde yetişen, şarap üretimi sırasında pres atığı olan Öküzgözü cinsi (*Vitis vinifera*) üzüm kabuğu ve Uşak'ta yetiştirilen kırmızı pancardan (*Beta vulgaris*) farklı ekstraksiyon koşullarında boyar madde elde edilmesi ve yapılan analizlerle en uygun ekstraksiyon parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda KÜK'nda 3 farklı sıcaklık, 4 farklı süre ve 11 farklı oranda çözücü, KP'da 3 farklı sıcaklık ve 3 farklı oranda çözücü ile ekstraktlar hazırlanarak elde edilen boyar maddelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda iki başlık altında özetlenmiştir.

KÜK ekstraktlarının analiz sonuçları:

- Şarap üretimi esnasında presten çıkan yaş üzüm posası ile kurutulmuş üzüm kabuğunun kimyasal özellikleri incelendiğinde toplam asitlik ve nem içeriği azalmış, pH ve briks değerlerinin arttığı görülmüştür. Bunun nedeni kurutma sırasındaki nem içeriğinin azalmasıdır.

- KÜK ekstraktlarında TMA değerleri sıcaklığa ve süreye bağlı olarak artış göstermiştir. KÜK ekstraktlarının en düşük TMA değeri 30 °C sıcaklıktaki 30 dakika süreli 100:0 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraktında 97,80 mg/kg (mv-3-glc) iken en yüksek değer 50 °C sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda 1850,25 mg/kg (mv-3-glc) olarak tespit edilmiştir. Çözücü olarak alkol:su oranının eşit uygulandığı (50:50)

ekstraktlarda antosiyanin miktarlarında en yüksek seviyeye ulaşılmıştır. Ekstraktlar arasında istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Benzer literatür çalışmaları incelendiğinde antosiyanin miktarlarının büyük bir aralıkta yer aldığı görülmekle birlikte bu çalışmadaki sonuçlar literatüre uygunluk göstermektedir.

- KÜK ekstraktlarının DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi, 1,99 ile 8,17 IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) arasında değişmektedir. TMA sonuçlarına benzer olarak en yüksek antioksidan aktivite $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda bulunmaktadır. Ekstraktlar kıyaslandığında antioksidan aktivitesi değerlerinin sıcaklığa ve süreye bağlı olduğu, süre arttıkça antioksidan aktivitenin de arttığı görülmektedir. İstatistiki açıdan sonuçlar arasında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar bulunmaktadır.

- Ekstraktların toplam fenol içeriği sonuçlarına göre en yüksek fenol içeriğine 15,99 mg GAE/g (kuru ağırlık) ile $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki 180 dakika süreli 50:50 etanol: asitlendirilmiş saf su karışımı ekstraksiyonunda ulaşılmıştır. TMA ve DPPH antioksidan aktivitesi sonuçlarının da desteklediği üzere ekstraksiyonda uygulanan sıcaklık ve süre arttıkça toplam fenol miktarı artmaktadır. Çözücüdeki alkol:su oranının artması fenolik bileşenlerin ekstrakte edilmesini azaltmaktadır. Ekstraksiyon için optimum değerler 50:50 (etanol: asitlendirilmiş saf su) olduğu ekstraksiyon koşulları olarak değerlendirilebilir. Örnekler arasında istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

- Üzümden boyar madde eldesinde ekstraksiyonda oluşan renk antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Bu sebeple ekstraktların antosiyanin profilinin tespiti önem arz etmektedir. Bu sebeple yapılan antosiyanin profili analizinde 12 adet antosiyanin tespit edilmiştir. Bu antosiyaninler; malvidin-3-O- β -glukozid (Mv-3-glc), siyanidin-3-O- β -glukozid (Cy-3-glc), peonidin-3-O- β -glukozid (Pn-3-glc), petunidin-3-O- β -glukozid (Pt-3-glc), delfinidin-3-O- β -glukozid (Dp-3-glc), malvidin-3-O-asetil-glukozid (Mv-3-acglc), malvidin 3-O-kafeil-glukozid (Mv-3-cafglc), petunidin-3-O-kumaril-glukozid (Pt-3-cmglc), malvidin-3-O-cis-p-kumaril-glukozid (Mv-3-cis-cmglc), delfinidin-3-O-p-kumaril-glukozid (Dp-3-cmglc), peonidin-3-O-p-kumaril-glukozid (Pn-3-cmglc) ve malvidin-3-O-trans-p-kumaril-glukozid (Mv-3-trans-cmglc)'dir. Tespit edilen antosiyaninlerden mv-3-glc tüm ekstraktlarda baskın antosiyanin olarak karşımıza çıkmaktadır. Mv-3-glc'i mv-3-acglc, mv-3-trans-cmglc, mv-3-cafglc ve mv-3-cis-cmglc takip etmektedir. Analiz

sonuçlarına göre ekstraktlarda en yüksek miktarlar malvidin grubu antosiyaninlerine aittir. Tüm antosiyaninler incelendiğinde en yüksek miktarlar tüm uygulama sürelerinde 180 dakikalık sürede 50 °C’de 50:50 çözücü ekstraksiyonunda olduğu saptanmıştır. Tüm sıcaklık ve çözücü uygulamalarında her bir antosiyanin sonucunun istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Analiz sonuçları daha önce yapılmış benzer çalışmalarla uyum göstermektedir. Bununla birlikte antosiyanin miktarları dolayısıyla boyar madde eldesi üzümün cinsi, yetiştirme koşulları, uygulanan ekstraksiyon yöntemlerine göre değişiklik gösterdiği gözardı edilmemelidir.

KP ekstraktlarının analiz sonuçları:

- Ekstraktların eldesinde hammadde olarak kullanılan KP’ların pH’sı 6,02, briksi %12,50, toplam kuru maddesi %14,16 ve toplam asitliği %0,77 (g sitrik asit/100 g) olarak tespit edilmiştir. Literatür çalışmalarına bakıldığında gerek ülkemizde gerekse yurtdışında yetiştirilen KP örneklerinde benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir.

- Pancarın karakteristik kırmızı rengi betalainlerden kaynaklanmaktadır bilinmektedir (Delgado-Vargas, ve Paredes-Lopez, 2003). Ekstraktların L^* , a^* , b^* değerleri ekstraksiyon esnasında uygulanan sıcaklık ve etanol miktarının artışıyla doğru orantılı olarak artmıştır. kroma ve hue açısı değerleri de L^* , a^* , b^* değerlerinin artışıyla birlikte artmaktadır. Ekstraktların L^* , a^* , b^* değerlerinin en yüksek olduğu ekstraktlar 50 °C, 60:40 çözücü oranında iken en düşük değerler 30 °C, 30:70 çözücü oranında bulunmuştur. kroma yani rengin parlaklığı en fazla 50 °C, 60:40 çözücü oranında bulunmaktadır. Aynı şekilde hue açısı yani renk tonunun en yüksek olduğu ekstraktlar 30 °C, 60:40 çözücü oranı olan ekstraktlardır. Ekstraktlarda, uygulanan sıcaklığın artmasıyla birlikte pH değeri artış göstermiştir. Bunun yanısıra 30:70 ve 45:55 etanol: asitlendirilmiş saf su oranlarında değişiklik gözlenmezken, 60:40 etanol: asitlendirilmiş saf su oranında pH’nın artış gösterdiği görülmektedir. Bu değişimler istatistiksel anlamda renk değerlerinde anlamlı farklara sebep olmuştur. pH sonuçlarında 60:40 oranı kullanılan ekstraktlarda $p < 0,05$ düzeyinde sıcaklığa bağlı olarak anlamlı farklar bulunmuşken 30:70 ve 45:55 oranlarında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

- Ekstraksiyonlarda uygulanan sıcaklığın hem betasiyanin hem de betaksantin miktarlarında artış sağladığı görülmüştür. Ancak uygulanan çözücülerde alkol oranının artışı betalain miktarlarının azalmasına sebep olmaktadır. İstatistiksel anlamda betasiyaninlerde 40 °C uygulaması hariç tüm betasiyanin ve betaksantin sonuçlarında $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklar tespit edilmiştir. Ekstraksiyon için en uygun parametrelerin alkol: su oranının birbirine yakın olduğu çözücülerin kullanıldığı parametreler olduğu görülmektedir. Bu anlamda analizlerde kullanılan parametreler arasında en uygun parametrelerin 30 dk süre, 50 °C sıcaklık ve 45:55 çözücü oranı olduğu söylenebilir.

- DPPH Antioksidan aktivitesi sonuçları IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) değeri olarak verilmiş ve 13,46-25,83 ($\mu\text{g/ml}$) aralığında olduğu görülmüştür. Sıcaklık artışı ekstraktların antioksidan aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak çözücünün etanol veya su oranı artışının ekstraktların antioksidan aktivitesi üzerinde ters etkiye sahip olduğu görülmektedir. En uygun ekstraksiyon parametresinin 45:55 çözücü oranı olduğu söylenebilmektedir. Bu sonuç istatistiki olarak da desteklenmektedir. Tukey testine göre tüm sıcaklık ve çözücü uygulamalarında anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0,05$).

- Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı sonuçları değerlendirildiğinde sıcaklık arttıkça fenolik madde miktarı artmıştır. Buna karşın, etanol oranının artışı fenolik madde miktarı üzerinde olumsuz etkiye sahiptir. Ancak sıcaklık uygulaması 50 °C olduğunda fenolik madde miktarında azalma gözlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak hem sıcaklık uygulamalarının kendi içinde hem de tüm sonuçlar karşılaştırılmalı olarak değerlendirildiğinde anlamlı olarak farklı bulunmuşlardır.

- 4 farklı betasiyanin ve 1 adet vulgaksantin tespit edildiği betalain profili analizinde en yüksek değerlerin betanine ait olduğu görülmüştür. İzomer yapıdaki betalainler olan izobetanin ve izobetanidin düşük miktarlarda tespit edilmiştir. Bu durum literatürdeki çalışmalarla uyum göstermektedir. Tüm ekstraktlar ele alınarak incelendiğinde en yüksek betalain miktarlarının 50 °C sıcaklık uygulaması ile elde edilmiş ekstraktlarda olduğu belirlenmiştir. Alkol: su oranının eşit veya birbirine yakın olduğu ekstraktlarda betalain miktarı daha yüksek olmaktadır. Bu çalışmada uygulanan 45:55 çözücü oranı en uygun oran olarak değerlendirilebilir. İstatistiki açıdan tespit edilebilen betalainlerden betanin, betanidin ve vulgaksantin I ve II miktarları $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı fark gözlenmiştir. Betaninin izomeri olan

izobetanin ile betanidinin izomeri olan izobetanidin miktarlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ek olarak, betanidin sonuçlarında 50 °C sıcaklık uygulamasının istatistiksel açıdan fark yaratmadığı görülmüştür. Betalain profili sonuçları toplam betalain analizi sonuçları ile karşılaştırıldığında her iki analiz sonuçlarında da benzer sonuçlar ortaya çıkmıştır. Her iki analiz sonucu da birbirini desteklemektedir.

Tez çalışmasındaki tüm sonuçlar değerlendirildiğinde boyar madde üretiminde KÜK ekstraktı için en uygun parametrelerin 50 °C sıcaklık, 180 dakika süre, 50:50 etanol:%0,1 sitrik asitli saf su karışımı olduğu söylenebilir. KP ekstraktı içinse çalışmada denenen parametreler arasında en uygun olan parametrelerin 50 °C sıcaklık, 30 dakika süre, 45:55 etanol:%0,1 sitrik asitli saf su karışımı olduğu söylenebilir. Ancak bu tez çalışmasında yer bulmayan stabilite testleri ve model gıda denemeleri ile sonuçların desteklenmesi gerekmektedir.

Tüm bu bilgilerin ışığında belirlenen parametreler, gıda sanayinde en kısa sürede en fazla verimin alındığı, en stabil ve doğal kaynaklı gıda boyası elde edilebilirliği bakımından önem arz etmektedir. Ayrıca çalışmanın ek bir sonucu olarak şarap üretimi pres atığı olan üzüm kabukları değerlendirilmiş böylece atık değerlendirme konusunda önemli bir adım atılmıştır.

Bu tez çalışmasına ek olarak kaynakların en uygun şekilde kullanıldığı, doğal, verimli ve stabil gıda boyalarının üretimine dair yapılabilecek çalışmalar için aşağıdaki öneriler sunulmuştur:

1. Bu tez çalışmasında klasik konvensiyonel katı-sıvı ekstraksiyonu uygulanmıştır. Daha farklı çözücü tipleri, sıcaklık, süre parametreleri ve ısılamayan yeni teknolojik yöntemlerin uygulandığı çalışmalar bulunmaktadır. Ancak daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2. Ekstraksiyon uygulamalarında modern teknikler olarak kullanılmaya başlanan basınçlı sıvı, ultrases ve süperkritik akışkan ile ekstraksiyon gibi tekniklerin uygulandığı ve optimum parametrelerin belirlendiği daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

3. Tez çalışmasında optimum koşullar belirlenirken laboratuvar koşullarında ekstraktlar üretilmiş ve analizleri yapılmıştır. Optimum değerler belirlenirken

optimizasyon programları kullanılarak analiz sonuçlarının desteklenebileceği çalışmalar yapılabilir.

4. Tez çalışmasında laboratuvar koşullarında üretilen ekstraktların stabilite testlerinin yapılması, model gıda denemeleri ve endüstriyel boyutta üretimlerinin denenerek değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

5. Tez çalışmasında atık değerlendirme adına hammadde olarak kullanılan üzüm kabuğu kullanılmıştır. Gıda endüstrisinde üretim aşamasında pekçok atık ortaya çıkmaktadır. Gıda endüstrisi atıklarının değerlendirilmesine olanak sağlayacak şekilde farklı atıkların hammadde olarak kullanılması ve boyar madde üretiminde değerlendirilmesi için çalışmalar yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

Ahn, H. S., Jeon, T. I., Lee, J. Y., Hwang, S. G., Lim, Y. and Park, D. K., "Antioxidative Activity of persimmon and grape seed extract: in vitro and in vivo", *Nutrition Research*, 22, 1265-1273, (2002).

Aksu, M. İ., Şat, İ. G., Erdemir, E. and Turan E., "Kırmızı pancar (*Beta vulgaris ssp. vulgaris var. conditiva*) liyofilize su ekstraktlarının bazı kalite özellikleri". *Pamukkale Gıda Sempozyumu III- "Kurutulmuş ve Yarı Kurutulmuş Gıdalar" Sempozyumu*, Denizli, (2015).

Aktan, N., ve Kalkan, H., *Şarap Teknolojisi*, Ankara, Kavaklıdere Eğitim Yayınları, (2000).

Alagöz Kabakcı, S., "Antosiyaninlerce zengin meyve ve sebze suyu eklenmiş kefirlerin kalite özelliklerinin belirlenmesi ve kefir kültürü ile siyah havuç suyundan fermente içecek üretimi", Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 227 s, (2019).

Albuquerque, T. G., Silva, M. A., Oliveira, M. B. P. P. and Costa, H. S., "Analysis, identification, and quantification of anthocyanins in fruit juices", (eds: G. Rajauria and B. K. Tiwari), *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, USA, Academic Press, 693-737, (2018).

Algarra, M., Fernandes, A., Mateus, N., de Freitas, V., da Silva, J. C. E. and Casado, J., "Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) from Cuevas Bajas, Spain", *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1): 71-76, (2014).

Amr, A. and Al-Tamimi, E., "Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants", *International Journal of Food Science & Technology*, 42(8): 985-991, (2007).

Ananga, A., Georgiev, V. Ochieng, J., Phills, B. and Tsoleva, V., "Production of anthocyanins in grape cell cultures: a potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries", (eds: B. Sladonja and D. Poljuha), *The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive*, Rijeka, Croatia: InTech, 247-287, (2013).

Andersen, Ø. M. and Jordheim M., "The anthocyanins", (eds: Ø. M. Andersen, K. R. Markham), *In Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, Boca Raton, FL, CRC Press, 471-552, (2006).

Andersen, Ø. M. and Jordheim, M., “Anthocyanins”, (ed: Wiley-Blackwell), *Encyclopedia of Life Sciences*, Vol. 32, London, Nature Publishing Group, 22244 p, (2010).

AOAC, *Official Methods of Analysis* (17th ed.) Association of Official Analytical Chemists, MD, (2000).

Assous, M., Abdel-Hady, M. and Medany, G., “Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants”, *Annals of Agricultural Science*, 59(1): 1-7, (2014).

Azeredo, H. M. C., “Betalains: properties, sources, applications, and stability-a review”, *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 2365-2376, (2009).

Bagchi, M., Balmoori, J., Bagchi, D., Ray, S. D., Kuszynski, C. and Stohs, S. J., “Smokeless tobacco, oxidative stress, apoptosis and antioxidants in human oral keratinocytes”, *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 992-1000, (1999).

Baiano, A. and Terracone, A., “Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant activities of seven table grape cultivars grown in the south of Italy based on chemometrics”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18): 9815-9826, (2011).

Başıoğlu, F., *Gıda Kalite Kontrol*, Bursa: Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, (2004).

Bayram, Y., “Safrandan gıda boyası üretimi ve mikroenkapsülasyonu”, Doktora Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 130 s, (2019).

Ben Aziz, M., Garcia, F., Mouls, L., Fulcrand, H. and Hajjaj, H., “Proanthocyanidins and anthocyanins contents, chromatic and antioxidant properties of red grape pomaces from Morocco”, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3): 2051-2061, (2019).

Benmezziane, F., Cadot, Y., Djamaï, R. and Djermoun, L., “Determination of major anthocyanin pigments and flavonols in red grape skin of some table grape varieties (*Vitis vinifera* sp.) by high-performance liquid chromatography-photodiode array detection (HPLC-DAD)”, *OENO One*, 50(3): 125-135, (2016).

Bleve, M., Ciurlia, L., Erroi, E., Lionetto, G., Longo, L., Rescio, L., Schettino, T. and Vasopollo, G., “an innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide”, *Separation and Purification Technology*, 64: 192-197, (2008).

- Bondre, S., Patil, P., Kulkarni, A. and Pillai, M., “Study on isolation and purification of anthocyanins and its application as pH indicator”, *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 3(3): 698-702, (2012).
- Borbalan, A. M. A., Zorro, L., Guillen, D. A. and Barroso, C. G., “Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power”, *Journal of Chromatography A*, 1012: 31-38, (2003).
- Bosiljkov, T., Dujmić, F., Cvjetko Bubalo, M., Hribar, J., Vidrih, R., Brnčić, M., Zlatic, E., Radojčić Redovniković, I. and Jokić, S. “Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins”, *Food and Bioproducts Processing*, 102: 195-203, (2017).
- Bozan, B., Tosun, G. and Özcan, D., “Study of polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera*L.)varieties cultivated in Turkey and their antiradical activity”, *Food Chemistry*, 109: 426–430, (2008).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C., “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28:25-30 (1995).
- Brazinha, C., Cadima, M. and Crespo, J. G., “Optimization of extraction of bioactive compounds from different types of grape pomace produced at wineries and distilleries”, *Journal of Food Science*, 79(6): E1142-E1149, (2014).
- Bridle, P. and Timberlake, C. F., “Anthocyanins as natural food colours-selected aspects”, *Food Chemistry*, 58:1: 103-109, (1997).
- Brouillard, R., “Chemical structure of anthocyanins”, (ed: P. Markakis) *Anthocyanins as Food Colors*, New York, Academic Press, 1-40, (1982).
- Brouillard, R., Wigand, M., Dangles, O. and Cheminat, A., “pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvidin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives”, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, 2: 1235-1241, (1991).
- Cabaroğlu, T., Canbaş, A., Lepoutre, J. P. and Gunata, Z., “Free and bound volatile composition of red wines of *Vitis vinifera* L. cv. Öküzgözü and Boğazkere grown in Turkey”, *American Journal of Enology and Viticulture*, 53: 64–68, (2002).

- Cai, Y. Z., Sun, M. and Carke, H., “HPLC characterization of betalains from plants in the Amaranthaceae”, *Journal of Chromatographic Science*, 43, 454-460, (2005).
- Caldas, T. W., Mazza, K. E. L., Teles, A. S. C., Mattos, G. N., Brigida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., Borguini, R. G., Godoy, R. L. O., Cabral, L. M. C. and Tonon, R. V., “Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods”, *Industrial Crops and Products*, 111: 86-91, (2018).
- Canbaş, A. ve Fenercioğlu, H., “Şalgam Suyu Üzerine Bir Araştırma”. *Gıda*, 9(5): 279-286, (1984).
- Carocho, M., Barreiro, M. F., Morales, P. Ferreira I. C. F. R., “Adding molecules to food, pros and cons: a review on synthetic and natural food additives”, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4): 377-399, (2014).
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, M. L., Paezhernandez, M. E., Rodriguez, J. A. and Galan-Vidal, C. A., “Chemical studies of anthocyanins: A review”, *Food Chemistry*, 113: 859–871, (2009).
- Cavalcanti, R. N., Santos, D. T. and Meireles, M. A. A., “Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems: an overview”. *Food Research International*, 44(2): 499-509, (2011).
- Cebrian, C., Sanchez-Gomez, R., Salinas, M. R., Alonso, G. L. and Zalacain, A., “Effect of post-pruning vine-shoots storage on the evolution of high-value compounds”, *Industrial Crops and Products*, 109: 730-736, (2017).
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M., *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, Başkent Klişe Matbaacılık, 328 s, (2001).
- Cejudo-Bastante, M. J., Hurtado, N. and Heredia, F. J., “Potential use of new Colombian sources of betalains. Colorimetric study of red prickly pear (*Opuntia dillenii*) extracts under different technological conditions”, *Food Research International*, 71: 91-99, (2015).
- Chandra, A., Nair, M. G. and Lezzoni, A. F., “Isolation and stabilization of anthocyanins from tart cherries (*Prunus cerasus* L.)”, *J. Agrlc. Food Chem.*, 47: 1062-1065, (1993).
- Chawla, H., Parle, M., Sharma, K. and Yadav, M., “Beetroot: a health promoting functional food”, *Inventi Rapid: Nutraceuticals*, 1: 1-5, (2016).

- Clydesdale, F., Main, J., Francis, F. and Damon Jr, R., “Concord grape pigments as colorants for beverages and gelatin desserts”, *Journal of Food Science*, 43(6): 1687-1692, (1978).
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D. and Tauscher, B., “Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison”, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1): 85-91, (2008).
- Costa, G. N. S., Tonon, R. V., Mellinger-Silva, C., Galdeano, M. C., Iacomini, M., Santiago, M. C. P. A., Almeida, E. L. and Freitas, S., “Grape seed pomace as a valuable source of antioxidant fibers”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10): 4593-4601, (2019).
- Czapski, J., Mikołajczyk, K., and Kaczmarek, M., “Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments”, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59(2): 119-122, (2009).
- Çetin, E. S., Altınöz, D., Tarçan, E., and Göktürk Baydar, N., “Chemical composition of grape canes”, *Industrial Crops and Products*, 34(1): 994-998, (2011).
- Das, A. B., Goud, V. V. and Das, C., “Microencapsulation of anthocyanin extract from purple rice bran using modified rice starch and its effect on rice dough rheology”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 124: 573-581, (2019).
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R. and Paredes-López, O., “Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40:3: 173-289, (2000).
- Delgado-Vargas, F. and Paredes-Lopez, O., “*Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*”, USA, CRC Pres, 327 pp, (2003).
- Dimitric-Markovic, J. M., Petranovic, N. A. and Baranac, J. M., “A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids”, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: 5530-5536, (2000).
- Doymaz, İ. and Akgün, N. A., “Study of thin-layer drying of grape wastes”, *Journal Chemical Engineering Communications*, 196(7): 890-900, (2009).
- Einbond, L. S., Reynertson, K. A., Luo, X. D., Basile, M. J. and Kennelly, E. J., “Anthocyanin antioxidants from edible fruits”, *Food Chemistry*, 84, 23-28, (2004).

Ekici, L., “Farklı polimer filmlerde ambalajlanan üzüm suyu konsantresinde HMF oluşumu”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 46 s, (2005).

Ekici, L., “Üzüm kabuğu, siyah havuç ve kırmızı lahanadan ekstrakte edilen antosiyanin bazlı renk maddelerinin biyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bazı gıda maddelerinde renklendirici olarak kullanımı”, Doktora Tezi, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kayseri, 270 s, (2011).

Er, T., “Kırmızı pancarın bazı fiziksel ve fitokimyasal özellikleri üzerine farklı kurutma sıcaklıklarının etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 73 s, (2011).

Esatbeyoğlu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B. and Rimbach, G., "Betanin-A food colorant with biological activity", *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(1): 36-47, (2015).

Estevez, L. and Mosquera R. A., “Conformational and substitution effects on the electron distribution in a series of anthocyanidins”, *Journal of Physical Chemistry A*, 113: 9908-9919, (2009).

Eşiyok, D. ve Bozokalfa, M. K., “Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) yetiştiriciliği ve besin İçeriği [online]”, *Dünya Gıda*, (26 Ekim 2020), <http://www.dunyagida.com.tr/haber/kirmizi-pancar-beta-vulgaris-l-yetistiriciligi-ve-besin-iceri/2283>, (2007).

Ezelwines, “Çal terroir [online]”, (4 Mart 2021), <http://ezelwines.com/terroir.asp>, (2021).

FAO, “FAOSTAT crops data statistics [online]”, (10 Şubat 2021), <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, (2021).

Farahmandazad, H., “Recovery and purification of anthocyanins from purple-blue potato”, Master’s Thesis, *Lappeenranta University of Technology*, Lappeenranta, Finland, 81 p, (2015).

Farhadi, K., Esmailzadeh, F., Hatami, M., Forough, M. and Molaie, R., “Determination of phenolic compounds content and antioxidant activity in skin, pulp, seed, cane and leaf of five native grape cultivars in West Azerbaijan province, Iran”, *Food Chemistry*, 199: 847–855, (2016).

Feketea, G. and Tsabouri, S., “Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality?”, *Food Chemistry*, 230: 578-588, (2017).

Ferrer, J., Páez, G., Mármol, Z., Ramones, E., Chandler, C., Marín, M. and Ferrer, A., “Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes”, *Bioresour. Technol.*, 76: 39-44, (2001).

- Francis, F. J. and Markakis, P. C., "Food colorants: Anthocyanins", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28:4: 273-314, (1989).
- Fuleki, T. and Francis, F. J., "Quantitative methods for anthocyanins 2. determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice", *Journal of Food Science*, 50: 754-756, (1968).
- Galanakis, C. M., "Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications", *Trends in Food Science & Technology*, 26(2): 68-87, (2012).
- Galvano, F., Fauci, L. L., Lazzarino, G., Fogliano, V., Ritieni, A., Ciappellano, S., Battistini, N. C., Tavazzi, B. and Galvano, G., "Cyanidins: metabolism and biological properties", *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15: 2-11, (2004).
- García-Lomillo, J., and González-SanJosé, M. L., "Applications of wine pomace in the food industry: approaches and functions", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16: 3-22, (2017).
- Gengatharan, A., Dykes, G. A., and Choo, W. S., "Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods", *LWT-Food Science and Technology*, 64(2): 645-649, (2015).
- Georgiev, V. Ananga, A. and Tsoleva, V., "Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals", *Nutrients*, 6: 391-415, (2014).
- Georgiev, V., Weber, J., Kneschke, E., Denev, P. N., Bley, T. and Pavlov, A. I., "Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red", *Plant Foods for Human Nutrition*, 65: 105-111, (2010).
- Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. and Kader, A. A., "Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4581-4589, (2000).
- Giusti, M. M., and Wrolstad, R. E., "Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems", *Biochemical Engineering Journal*, 14:217-225, (2003).
- Gizir, A. M., Turker, N. and Artuvan, E., "Pressurized acidified water extraction of black carrot [*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.] anthocyanins". *European Food Research and Technology*, 226(3): 363-370, (2008).

- Goldman, I. L., “Differential effect of population density on shape and size of cylindrical red beet (*Beta vulgaris* L.) genotypes”, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 120: 908–909, (1995).
- González-Centeno, M. R., Rosselló, C., Simal, S., Garau, M. C., López, F., and Femenia, A., “Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems”, *LWT-Food Science and Technology*, 43(10): 1580-1586, (2010).
- Gonzalez-Neves, G., Barreiro, L., Gil, G., Franco, J., Ferrer, M., Moutounet, M. and Carbonneau, A., “Anthocyanic composition of Tannat grapes from the south region of Uruguay”, *Analytica Chimica Acta*, 513: 197-202, (2004).
- Goulas, V., Vicente, A. R. and Manganaris, G. A., “Structural diversity of anthocyanins in fruits”, (ed: N. Motohashi), *Anthocyanins: Structure, Biosynthesis and Health Benefits*, New York, USA, Nova Science Publishers, 325 p, (2012).
- Guandez, R., Kallithraka, S., Makris, D. P. and Kefalas, P., “Determination of low molecular weight polymeric constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: correlation with antiradical activity”, *Food Chemistry*, 89: 1-9, (2005).
- Gupta, A., Naraniwal, M. and Kothari, V., “Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts”. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, 1(1): 8-26, (2012).
- Güldiken, B., Toydemir, G., Nur Memiş, K., Okur, S., Boyacıoğlu, D. and Çapanoğlu, E., “Home-processed red beetroot (*Beta vulgaris* L.) products: changes in antioxidant properties and bioaccessibility”, *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 858, (2016).
- Güneşer, O., “Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment”, *Food Chemistry*, 196: 220–227, (2016).
- Hanganu, A., Todasca, C., Chira, N., maria, M. and Rosca, S., “The compositional characterisation of Romanian grape seed oils using spectroscopic methods”, *Food Chemistry*, 134(4): 2453-2458, (2012).
- Harborne, J. B., *Phenolic Compounds in Phytochemical Methods - A Guide to Modern Techniques of Plant an Analysis*, Third edition, New York, Chapman & Hall, 66-74, (1998).
- Hari, R. K., Patel, T. R. and Martin, A. M., “An overview of pigment production in biological systems: functions, biosynthesis and applications in food industry”, *Food Reviews International*, 10(1): 49-70, (1994).

He, J. and Giusti, M. M., “Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties”, *Annual Review of Food Science and Technology*, 1: 163-187, (2010).

Hepsağ, F., “Siyah dut meyvesinden antosiyaninlerin elde edilmesi ve elde edilen doğal renk maddesinin gıda sanayinde kullanım olanakları”, Doktora Tezi, *Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa, 118 s, (2015).

Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A. and Debski, H., “Anthocyanins of fruits and vegetables-their occurrence, analysis and role in human nutrition”, *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68(1): 5-22, (2008).

Hrazdina, G., “Reactions of the anthocyanidin-3,5-diglucosides: formation of 3,5-di (O-β-D-glucosyl)-hydroxyl-7-hydroxy coumarin”, *Phytochemistry*, 10: 1125-1130, (1971).

Ibraheem, A. A., Makpoul, K. R. and Amira, MS., “Improving red color of some food products using red beet powder”, *International Journal of Science and Research*, 5(12): 2319-7064, (2015).

Jackman, R. L., Yada, R. Y., Tung, M. A. and Speers, R. A., “Anthocyanins as food colorants-a review”, *Journal of Food Biochemistry*, 11:3: 201-247, (1987).

Janiszewska, E., “Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain”, *Powder Technology*, 64: 190-196, (2014).

Jordheim, M. 2007. “Isolation, identification and properties of pyroanthocyanins and anthocyanin forms”, Dissertation for the Degree of Philosophiae Doctor (PhD), *Department of Chemistry University of Bergen*, Bergen, Norway, 98 p, (2007).

Kader, F., Irmouli, M., Zitouni, N., Nicolas, J. and Metche, M., “Degradation of cyanidin 3-glucoside by caffeic acid o-quinone. Determination of the stoichiometry and characterization of the degradation products”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4625–4630, (1999).

Kalli, E., Lappa, Í., Bouchagier, P., Tarantilis, P. A. and Skotti, E., “Novel application and industrial exploitation of winery by-products”, *Bioresources and Bioprocessing*, 5(46): 1-21, (2018).

Kalt, W., McDonalds, J. E. and Donner, H., “Anthocyanins after fresh storage of small fruits”, *T. Agric. Food. Chem.*, 47: 4638-4644, (2000).

Kannan, V., “Extraction of bioactive compounds from whole red cabbage and beetroot using pulsed electric fields and evaluation of their functionality”. Master of Science. *University of Nebraska-Lincoln*, 148 p, (2011).

Karacabey, E., Bayındırlı, L., Artık, N., and Mazza, G., “Modeling solid-liquid extraction kinetics of trans-resveratrol and trans- ϵ -viniferin from grape cane”, *Journal of Food Process Engineering*, 36(1): 103-112, (2013).

Karasu, S., Başlar, M., Karaman, S., Kılıçlı, M., Us, A. A., Yaman, H. and Sağdıç, O., “Characterization of some bioactive compounds and physicochemical properties of grape varieties grown in Turkey: thermal degradation kinetics of anthocyanin”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40: 177-185, (2016).

Kavitkar, R. S., Rao, K.J., Mishra, D., Chavhan, B., Deshmukh, G. P. and Prajapati, R., “Utilisation of beetroot extract as colouring agent in lassi”, *Int. J. Pure App. Biosci*, 5(6): 295 – 299, (2017).

Kayın, N., “Farklı sıcaklıklarda depolanan kırmızı pancar (*Beta vulgaris*) suyu konsantrasyonunun renk stabilitesinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bolu, 80 s, (2014).

Kazmierczak, R., Hallmann, E., Lipowski, J., Drela, N., Kowalik, A., Püssa, T., Matt, D., Luik, A., Gozdowski, D. and Rembialkowska, E., “Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and naturally fermented beetroot juices from organic and conventional production: metabolomics, antioxidant levels and anticancer activity”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 2618–2629, (2014).

Kelebek, H., “Değişik bölgelerde yetiştirilen öküzgözü, boğazkere ve kalecik karası üzümlerinin ve bu üzümlerden elde edilen şarapların fenol bileşikleri profili üzerinde araştırmalar”, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 278 s, (2009).

Kelebek, H., Canbaşı, A., Jourdes, M. and Teissedre, P. L., “Characterization of colored and colorless phenolic compounds in Öküzgözü wines from Denizli and Elazığ regions using HPLC-DAD–MS”, *Industrial Crops and Products*, 31: 499–508, (2010).

Khan, M. I., "Stabilization of betalains: A review", *Food Chemistry*, 197: 1280-1285, (2016).

Khan, M. I. and Giridhar, P., "Enhanced chemical stability, chromatic properties and regeneration of betalains in *Rivina humilis* L. berry juice", *LWT-Food Science and Technology*, 58(2): 649-657, (2014).

Kırca, A., “Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısı stabilitesi”, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 121 s, (2004).

- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B., “Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins”, *Food Chemistry*, 101: 212–218, (2007).
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F. and Brouillard, R., “Analysis and biological activities of anthocyanins”, *Phytochemistry*, 64: 923-933, (2003).
- Kopjar M. and Pilizota V., “Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage”, *Journal of Food Science and Technology*, 1(2): 16-20, (2009).
- Koubaier, H. B. H., Essaidi, I., Snoussi, A., Zgoulli, S., Chaabouni, M. M., Thonart, P. and Bouzouita N., “Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation on the colorants of heated red beetroot extracts”, *African Journal of Biotechnology*, 12(7): 728-734, (2013).
- Kujala, T., Loponen, J. and Pihlaja, K., “Betalains and phenolics in red beetroot (*Beta vulgaris*) peel extracts: extraction and characterisation”, *Z. Naturforsch*, 56c: 343-348, (2001).
- Kujala, T. S., Vienola, M. S., Klika, K. D., Loponen, J. M. and Pihlaja, K., “Betain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars”, *Eur Food Res Technol*, 214: 505–510, (2002).
- Lambri, M., Torchio, F., Colangelo, D., Río Segade, S., Giacosa, S., De Faveri, D. M., Gerbi, V. and Rolle, L., “Influence of different berry thermal treatment conditions, grape anthocyanin profile and skin hardness on the extraction of anthocyanin compounds in the colored grape juice production”. *Food Research International*, 77: 584–590, (2015).
- Latorre, M. E., Narvaiz, P., Rojas, A. M. and Gerschenson, L. N., “Effects of gamma irradiation on bio-chemical and physico-chemical parameters of fresh-cut red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) root”, *Journal of Food Engineering*, 98: 178-191, (2010).
- Lecas, M., and Brillouet, J. M., “Cell wall composition of grape berry skins”, *Phytochemistry*, 35: 1241-1243, (1994).
- Lee, C. H., Wettasinghe, M., Bolling, B. W., Ji, L. L. and Parkin, K. L., “Betalains, phase-II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts”, *Nutrition and Cancer*, 53: 91-103, (2005).
- Lee, J., Durst, R. W. and Wrolstad, R. E., “Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study”, *Journal of AOAC International*, 88(5): 1269-1278, (2005).

- Liao, H., Cai, Y. and Haslam, E., "Polyphenol interactions anthocyanins: copigmentation and colour changes in red wines", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59: 299–305, (1992).
- Longo, L. and Vasapollo, G., "Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries", *Food Chemistry*, 94: 226-231, (2006).
- Lutz, M., Jorquera, K., Cancino, B., Ruby, R. and Henriquez, C., "Phenolics and antioxidant capacity of table grape (*Vitis vinifera*) cultivars grown in Chile, *Journal of Food Science*, 76(7): C1088-C1093, (2011).
- Maccarone, M., "Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice", *Journal of Food Science*, 50: 901-904, (1985).
- Malien-Aubert, C., Dangles, O. and Amiot, M. J., "Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition protective effects by intra and intermolecular copigmentation", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 170-176, (2001).
- Maran, J. P., Manikandan, S. and Mekala, V., "Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box-Behnken design with desirability function", *Industrial Crops and Products*, 49: 304-311, (2013).
- Markakis, P., *Anthocyanins as food colors*, New York, Academic Press, 163-178, (1982).
- Martin, J., Kuskoski, E. M., Navas, M. J. and Asuero, A. G., "Antioxidant capacity of anthocyanin pigments", (ed: J. Justino), *Flavonoids: From Biosynthesis to Human Health*, London, InTechOpen, 205-256, (2017).
- Martins, N., Roriz C. L., Morales P., Barros L. and Ferreira I. C. F. R., "Coloring attributes of betalains: A key emphasis on stability and future applications", *Food and Function*, 8(4): 1357-1372, (2017).
- Mazza, G. and Miniati, E., *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*, USA, CRC Press, 362 p, (1993).
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L. and Prince, E., "Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial", *The Lancet*, 370(9598): 1560-1567, (2007).
- Mena, P., Marti, N., Garcia-Viguera, C., "The impact of processing and storage on the (poly) phenolic fraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) juices", (ed: V. R. Preedy), *Processing and Impact on Antioxidant in Beverages*, USA, Academic Press, 173-184, (2014).

Mikulic-Petkovsek, M., Jug, T., Rescic, J. and Rusjan, D., “Effects of partial dehydration techniques on the metabolite composition in “Refosk” grape berries and wine”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41: 10-22, (2017).

MohdMaidin, N., Oruna-Concha, M. J. and Jauregi, P., “Surfactant TWEEN20 provides stabilisation effect on anthocyanins extracted from red grape pomace”, *Food Chemistry*, 271: 224-231, (2019).

Monagas, M., Garrido, I., Bartolome, B. and Gomez-Cordoves, C., “Chemical characterization of commercial dietary ingredients from *Vitis vinifera* L.”, *Analytica Chimica Acta*, 463: 401-410, (2006).

Moncada, M. C., Moura, S. M. and Melo, J., “Complexation of aluminum(III) by anthocyanins and synthetic flavylum salts A source for blue and purple color”, *Inorganica Chimica Acta*, 356: 51-61, (2003).

Narayan, M. S. and Venkataraman, L. V., “Characterization of anthocyanins derived from carrot (*Daucus carota*) cell culture”, *Food Chemistry*, 70: 361-363, (2000).

Nemzer, B., Pietrzkowski, Z., Sporna, A., Stalica, P., Thresher, W., Michalowski, T. and Wybraniec, S., “Betainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts”, *Food Chemistry*, 127: 42-53, (2011).

Newsome, A. G., Culver, C. A. and Van Breemen, R. B., “Nature’s palette: the search for natural blue colorants”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(28): 6498-6511, (2014).

Nistor, O. V., Seremet (Ceclu), L., Andronoiu, D. G., Rudi, L. and Botez, E., “Influence of different drying methods on the physicochemical properties of red beetroot (*Beta vulgaris* L. var. *Cylindra*)”, *Food Chemistry*, 236: 59-67, (2017).

Odabaş, H. İ., “Siyah kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) meyvesinden sulu iki faz sistemiyle antosiyanin ekstraksiyonu ve mikroenkapsülasyonu”, Doktora Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 201 s, (2019).

Oh, Y. S., Lee, J. H., and Yoon, S. H., “Characterization and quantification of anthocyanins in grape juices obtained from the grapes cultivated in Korea by HPLC/DAD, HPLC/MS, and HPLC/MS/MS”, *Journal of Food Science*, 73: 378–389, (2008).

Ok Düker, G., “*Beta vulgaris* L. (kırmızı pancar) ve turşularında pH değişimleri, antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri ile fenolik bileşenlerinin

incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir, 71 s, (2017).

Orak, H. H., “Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations”, *Scientia Horticulturae*, 111: 235–241, (2007).

Osman, M. Y., Sharaf, I. A., Osman, H. M. Y., El-Khouly, Z. A. and Ahmed, E. I., “Synthetic organic food colouring agents and their degraded products: effects on human and rat cholinesterases”, *British Journal of Biomedical Science*, 61(3): 128-132, (2004).

Özcan, K., ve Ersus Bilek, S., “Kırmızı pancardan renk maddesi üretimi ve stabilitesinin sağlanması”, *Akademik Gıda*, 16(4): 439-449, (2018).

Özdemir, G., Pirinçcioğlu, M., Kızıllı, G. and Kızıllı, M., “Determination of total phenolic and flavonoid content of berry skin, pulp and seed fractions of öküzgözü and boğazkere grape cultivars”, *Horticulture*, LXI: 219-224, (2017).

Özen, G., “Siyah havuç suyu konsantresinin Türk lokumunda renklendirici olarak kullanılması ve depolama stabilitesinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 80 s, (2008).

Özyurt, V. H., Saralı, H., ve Ötleş, S., “Betalain ekstraktlarının gıdalarda kullanım olanakları”, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25(7): 864-870, (2019).

Paciulli, M., Medina-Meza, I. G., Chiavaro, E. and Barbosa-Cánovas, G. V., "Impact of thermal and high pressure processing on quality parameters of beetroot (*Beta vulgaris* L.)", *LWT-Food Science and Technology*, 68: 98-104, (2016).

Paradelo, R., Moldes, A. B., Gonzalez, D., and Barral, M. T., “Plant tests for determining the suitability of grape marc composts as components of plant growth media”, *Waste Management & Research*, 30(10): 1059-1065, (2012).

Pasqualone, A., Bianco, A. M., Paradiso, V. M., Summo, C., Gambacorta, G. and Capanio, F., “Physico-chemical, sensory and volatile profiles of biscuits enriched with grape marc extract”, *Food Res. Intern.*, 65: 385–393, (2014).

Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I. and Ilieva, M., “Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures”, *Z. Naturforsch*, 57: 640-644, (2002).

- Pavokovic, D. and Krsnik-Rasol, M., “Complex biochemistry and biotechnological production of betalains”, *Food Technol. Biotechnol.*, 49(2): 145-155, (2011).
- Pazmino-Duran, E. A., Giusti, M. M., Wrostand, R. E. and Gloria, B. A., “Anthocyanins from banana bracts (*Musa x paradisiaca*) as potential food colorants”, *Food Chemistry*, 73: 327-332, (2001).
- Pereira, D. T. V., Tarone, A. G., Cazarin, C. B. B., Barbero, G. F. and Martinez, J., “Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc”, *Journal of Food Engineering*, 240: 105-113, (2019).
- Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J. and Núñez, M. J., “Effect of solvent, temperature and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6): 2111-2117, (2005).
- Pinelo, M., Arnous, A. and Meyer, A. S., “Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release”, *Trends in Food Science & Technology*, 17: 579-590, (2006).
- Raikos, V., McDonagh, A., Ranawana, V. and Duthie, G., “Processed beetroot (*Beta vulgaris* L.) as a natural antioxidant in mayonnaise: effects on physical stability, texture and sensory attributes”, *Food Science and Human Wellness*, 5(4): 191-198, (2016).
- Rasat Portalı, “Denizli kentine ait hava durumu arşivi [online]”, (4 Mart 2021), https://rp5.ru/Denizli_kentine_ait_hava_durumu_ar%C5%9Fivi, (2021).
- Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A. A., Gabr, A. M. M., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z., Knorr, D. and Smetanska, I., “Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity”, *Food Research International*, 50: 670–675, (2013).
- Rein, M., “Copolymerization reactions and color stability of berry anthocyanins”, PhD Thesis, *University of Helsinki Department of Applied Chemistry and Microbiology*, Helsinki, 87 p, (2005).
- Riquelme, S., Saez, V., Escobar, D., Vergara, C., Fuentealba, C., Bustamante, L., Von Baer, D., Jara, P., Lamperti, L. and Mardones, C., “Bench-scale extraction of stilbenoids and other phenolics from stored grape canes (*Vitis vinifera*): Optimization process, chemical characterization, and potential protection against oxidative damage”, *Journal of the Chilean Chemical Society*, 64(2): 4414-4420, (2019).

Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliari, V., Genovese, M. I., de Souza Schmidt Gonçalves, A. E. and Fett, R., “Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil”, *Food Chemistry*, 127: 174–179, (2011^a).

Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Rizelio, V. M., de Souza Schmidt Gonçalves, A. E. Genovese, M. I. and Fett, R., “Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking”, *Food Research International*, 44: 897–901, (2011^b).

Rodriguez-Amaya, D. B., *Bioactive Molecules in Food*, Springer International Publishing, 867-901, (2019).

Rodríguez Couto, S., López, E. and Sanromán, M. Á., “Utilisation of grape seeds for laccase production in solid-state fermentors”, *Journal of Food Engineering*, 74(2): 263-267, (2006).

Roy, K., Gullapalli, S., Chaudhuri, U. R. and Chakraborty, R., “The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweat products in India”, *International Journal of Food Science and Technology*, 39: 1087-1091, (2004).

Ruberto, G., Renda, A., Daquino, C., Amico, V., Spatafora, C., Tringali, C. and De Tommasi, N., “Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grape cultivars”, *Food Chemistry*, 100: 203–210, (2007).

Sadilova, E., Stintzing, F. C., Carle, R. “Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins”, *Journal of Food Science*, 71(8): 504-512, (2006).

Saldamlı, İ. ve Sağlam, F., “Fenolik Bileşikler ve Renk Maddeleri”, (ed: İ. Saldamlı), *Gıda Kimyası*, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Basımevi, 434-449, (1998).

Sanchez, A., Ysunza, F., Beltran-Garcia, M. J. and Esqueda, M., “Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding”, *J. Agric. Food Chem.*, 50(9): 2537-2542, (2002).

Sancho, R. A. S. and Pastore, G. M., “Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes”, *Food Research International*, 46: 378-386, (2012).

Santos, L. P., Morais, D. R., Souza, N. E., Cottica, M., Boroski, M. and Visentainer, J. V., “Phenolic compounds and fatty acids in different parts of

- Vitis labrusca* and *V. vinifera* grapes”, *Food Research International*, 44(5): 1414-1418, (2011).
- Sawicki, T., Bączek, N. and Wiczowski W., “Betain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part”, *Journal of Functional Foods*, 27: 249–261, (2016).
- Seeram, N. P., Bourquin, L. D. and Nair, M. G., “Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities”, *J. Agric. Food Chem.*, 49: 4924-4929, (2001).
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A., “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents”, *Am J Enol Viticult*, 16: 144-158, (1965).
- Skrede, G., Wrolstad, R., Lea, P. and Enersen, G., “Color stability of strawberry and blackcurrant syrups”, *Journal of Food Science*, 57:1: 172-177, (1992).
- Skrede, G., Wrolstad, R. E. and Durst, R. W., “Changes in anthocyanins and phenolics during juice processing highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.)”, *Journal of Food Science*, 65(2): 357-364, (2000).
- Slatnar, A., Stampar, F., Veberic, R. and Jakopic, J., “HPLC-MSⁿ Identification of Betain Profile of Different Beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) Parts and Cultivars”, *Journal of Food Science*, 80(9): C1952-C1958, (2015).
- Slavov, A., Karagyozov, V., Denev, P., Kratchanova, M. and Kratchanov, C., “Antioxidant activity of red beet juices obtained after microwave and thermal pretreatments”, *Czech Journal of Food Sciences*, 31(2): 139-147, (2013).
- Socol, C., Vandenberghe, L., Rodrigues, C. and Pandey, A., “New perspectives for citric acid production and application”, *Food Technology and Biotechnology*, 44(2): 141-149, (2006).
- Souquet, J. M., Cheynier, V., Brossaud, F., and Moutounet, M., “Polymeric proanthocyanidins from grape skins”, *Phytochemistry*, 43: 509-512, (1996).
- Souquet, J. M., Labarbe, B., Le Guerneve, C., Cheynier, V., and Moutounet, M., “Phenolic composition of grape stems”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1076-1080, (2000).
- Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L. and Ferguson J. C., “Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv. merlot berries”, *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(3): 171-182, (2002).

- Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. M., “Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics”, *Journal of Food Engineering*, 81(1): 200-208, (2007).
- Spranger, I., Sun, B., Mateus, A. M., De Freitas, V. and Ricardo-da-Silva, J. M., “Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds”, *Food Chemistry*, 108: 519–532, (2008).
- Stintzing, C. F., Stintzing, A. S., Carle, R., Frei, B. and Wrolstad, R. E., “Colour and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6172–6181, (2002a).
- Stintzing, F. C., Schieber, A. and Carle, R., “Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica*(L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectroscopy”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2302-2307, (2002b).
- Stintzing, F. C., Conrad, J., Klaiber, I., Beifuss, U. and Carle, R., “Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy”, *Phytochemistry*, 65: 415-422, (2004).
- Strack, D., Vogt, T. and Schliemann, W., “Recent advances in betalain research”, *Phytochemistry*, 62: 247-269, (2003).
- Tachibana, N., Kimura, Y. and Ohno, T., “Examination of molecular mechanism for the enhanced thermal stability of anthocyanins by metal cations and polysaccharides”, *Food Chemistry*, 143: 452-458, (2014).
- Tahmaz, H. ve Söylemezoğlu, G., “Denizli-Çal yöresinde yetiştirilen şaraplık üzüm çeşitlerinin farklı dokularında fenolik bileşik içeriklerinin belirlenmesi”, *Bahçe*, 48(1): 39-48, (2019).
- Tanaka, Y., Sasaki, N. and Ohmiya, A.,” Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids”, *The Plant Journal*, 54: 733–749, (2008).
- Tangüler, H., “Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi”, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 367 s, (2010).
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M. and Livrea, M. A., “Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1266-1270, (2005).

Tetik, M. A., Sevindik, O., Kelebek, H. and Selli, S., “Screening of key odorants and anthocyanin compounds of cv. Öküzgözü (*Vitis vinifera* L.) red wines with a free run and pressed pomace using GC-MS-Olfactometry and LC-MS-MS”, *Journal of Mass Spectrometry*, 53: 444-454, (2018).

This, P., Lacombe, T. and Thomas, M. R., “Historical origins and genetic diversity of wine grapes”, *Trends in Genetics*, 22(9): 511-519, (2006).

Tkacz, K., Wojdyła, A., Nowicka, P., Turkiewicz, I. and Golis, T., “Characterization in vitro potency of biological active fractions of seeds, skins and flesh from selected *Vitis vinifera* L. cultivars and interspecific hybrids”, *Journal of Functional Foods*, 56: 353-363, (2019).

Tomar, O. and Yıldırım, G., “Antimicrobial effect of red beet (*Beta vulgaris* var. *Cruenta Alef.*) on some foodborne pathogens”, *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(sp1): 54-60, (2019).

Toprak, F., “Ankara ve Nevşehir illerinde yetiştirilen kalecik karası üzüm çeşidinin fitokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 73 s, (2011).

Tsuda, T., Watanabe, M., Katsunu, O., Marinobu, S., Choi, S. W., Kawakishi, S. and Osowa, T., “Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-*O*-B-glucoside and cyanidin”, *J. Agric. Food. Chem.*, 42: 2407-2410, (1994).

Turfan, Ö., “Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 140 s (2008).

TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu, “Bitkisel Üretim İstatistikleri [online]”, (24 Şubat 2021) <https://data.tuik.gov.tr/tr/main-category-sub-categories-sub-components2/#>, (2021).

Türker, N., Aksay, S. and Ekiz, H. İ., “Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) beverage: shalgam”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12): 3807-3813, (2004).

Utuş, D., “Şalgam suyu üretiminde kullanılan siyah havuç (*Daucus carota*) boyutunun şalgam suyu kalitesi üzerine etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 55 s, (2008).

Uyan Ersus, S., “Kara havuç (*Daucus carota* L.) antosiyanin ekstraktının püskürtmeli kurutucu kullanılarak mikroenkapsülasyonu”, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 188 s, (2004).

Ünal, M. Ü. ve Şener, A., “Correlation between browning degree and composition of important Turkish white wine grape varieties”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40: 62-67, (2016).

Vatai, T., Skerget, M. and Knez, Z., “Extraction of phenolic compounds from elderberry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide”, *Journal of Food Engineering*, 90: 246-254, (2009).

Velićanski, A. S., Cvetković, D. D., Markov, S. L., Vulić J. J. and Djilas, S. M. “Antibacterial activity of *Beta vulgaris* L. pomace extract”, *Acta Periodica Technologica*, 42: 263-269, (2011).

Weaver, R. J., *Grape Growing*, New York, John Wiley & Sons, (1976).

Wootton-Beard, P. C., Moran, A. and Ryan, L., “Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods”, *Food Research International*, 44(1): 217-224, (2011).

Wrolstad, R. E., “Anthocyanin pigments-bioactivity and coloring properties”, *Journal of Food Science*, 69: 419–421, (2004).

Wu, X., Cao, G. and Prior, R. L. “Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry”, *Journal of Nutrition* 132: 1865-1871, (2002).

Xu, C., Zhang, Y., Cao, L., and Lu, J., “Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China”, *Food Chemistry*, 119: 1557–1565, (2010).

Zha, J. and Koffas, M. A. G., “Production of anthocyanins in metabolically engineered microorganisms: Current status and perspectives”, *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2: 259-266, (2017).