

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARANFİL ÇİÇEĞİNDEN ANTOSİYANİN EKSTRAKTI ELDESİ VE DOĞAL
GIDA RENKLENDİRİCİSİ OLARAK STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ**

Ecem VURAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

2017

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARANFİL ÇİÇEĞİNDEN ANTOSİYANİN EKSTRAKTI ELDESİ VE DOĞAL
GIDA RENKLENDİRİCİSİ OLARAK STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ**

Ecem VURAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2016-1742 nolu proje ile desteklenmiştir.**

2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARANFİL ÇİÇEĞİNDEN ANTOSİYANİN EKSTRAKTI ELDESİ VE DOĞAL
GIDA RENKLENDİRİCİSİ OLARAK STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ

Ecem VURAL

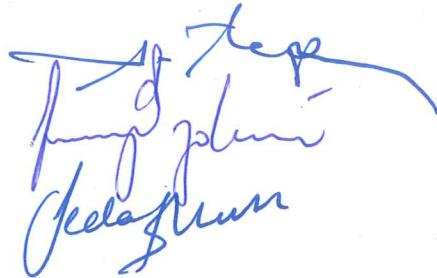
YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 07/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayhan TOPUZ

Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Doç. Dr. Seda BİLEK



ÖZET

KARANFİL ÇİÇEĞİNDEN ANTOSİYANİN EKSTRAKTI ELDESİ VE DOĞAL GIDA RENKLENDİRİCİSİ OLARAK STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ

Ecem VURAL

**Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
Temmuz 2017, 84 sayfa**

Bu çalışmada atık karanfil çiçeklerinden (*Dianthus caryophyllus* L.) antosiyanin ekstraktı elde edilmiş ve bu ekstraktın doğal gıda renklendiricisi olarak stabilitesi ve kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla “Osiris”, “Radiant”, “Euforia”, “Hot Pink” ve “Chateau” çeşitlerine ait atık karanfil çiçeklerinin antosiyanin miktarı belirlenmiştir. Diğer çeşitlerdeki karanfil çiçeklerine kıyasla çok yüksek (kuru maddede 143,21 mg/kg çiçek) toplam monomerik antosiyanin içeriğine sahip olduğu belirlenen mor renkli “Osiris” çeşidi karanfil çiçeğinin kullanılmasına karar verilmiştir.

Karanfil çiçeğinden antosiyanin bazlı renklendirici elde etmek için zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu üzerinde optimizasyon çalışması yapılmıştır. Atık karanfil çiçeklerinin taç yapraklarından 0,1 N HCl ile asitlendirilmiş etanol kullanılarak antosiyanin ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon optimizasyonu yanıt yüzey metodu kullanılarak Box-Behnken deneme desenine göre gerçekleştirilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları, maksimum toplam monomerik antosiyanin içeriği sağlanacak şekilde belirlenmiştir. Ekstraksiyon çalışması sonunda, seçilen değişkenlerin ve ekstraksiyon yönteminin ekstraksiyon verimine istatistiki olarak önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Yapılan ek çalışmalar ile, parçalama etkinliği ($p<0,001$), etanol oranı ($p<0,05$) ve ekstraksiyon süresinin ($p<0,001$) ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon yöntemi olarak zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu yöntemi seçilmiş, ekstraksiyon 30 °C sıcaklıkta ve 178 d/dk dairesel hızda çalışan çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları 1/20 katı-sıvı oranı, %80 etanol – 0,1 N HCl oranı, 3 kez 5 saniye mekanik parçalama işlemi ve 20 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir.

Optimum koşullarda elde edilen ekstrakt bir döner buharlaştırıcıda 10 °Brikse kadar konsantre edilmiştir. Bu ekstraktın toplam monomerik antosiyanin miktarının siyanidin-3-glikozit cinsinden kuru maddede 404,13 mg/kg ekstrakt olduğu belirlenmiştir. Ekstrakta, son konsantrasyon 20 °Briks olacak şekilde taşıyıcı (maltodekstrin-DE12) eklenmiştir. Taşıyıcı eklenen ekstrakt püskürtmeli kurutucuda ve donuk kurutucuda kurutularak toz gıda renklendiricisi elde edilmiştir.

Sıvı ve toz formda elde edilen doğal gıda renklendiricilerinin bazı fiziksel özellikleri belirlenmiştir. Püskürtmeli kurutulmuş örneğin; toz verimliliği % 61,30, su aktivitesi 0,41, nem değeri %6,33, çözünürlüğü %80,39, yığın yoğunluğu 244,19 kg/m³, bulanıklığı 14,85 NTU ve renk değerleri L* 55,38, a* 46,71, b* 6,28, h° 7,65, C* 47,12 olarak hesaplanmıştır. Donuk kurutulmuş örneğin ise; toz verimliliği %91,56, su aktivitesi 0,24, nem değeri %4,34, çözünürlüğü %81,01, yığın yoğunluğu 500,10 kg/m³,

bulanıklığı 14,95 NTU ve renk değerleri L* 47,07, a* 37,03, b* 5,66, h° 8,69, C* 37,46 olarak hesaplanmıştır.

Sıvı ve toz formda elde edilen doğal gıda renklendiricilerinin stabiliteyi ticari olarak piyasada bulunan antosiyanin bazlı sıvı gıda renklendiricisiyle model gıda denemeleri yapılarak karşılaştırılmıştır. Model gıda olarak, aynı miktarda toplam monomerik antosiyanin içerecek şekilde şeker hamuru, dondurma ve gazlı içecek hazırlanmıştır. Şeker hamuru örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin; tüm varyasyon kaynaklarından (renklendirici çeşidi, depolama koşulu, depolama süresi) ve bunların interaksiyonlarından istatistiki olarak $p < 0,001$ düzeyinde etkilendiği görülmektedir. Karanfil çiçeğinden elde edilen sıvı ve toz renklendirici ile hazırlanan şeker hamuru örneklerinin kendi arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmazken; antosiyanin bazlı ticari sıvı gıda renklendiricisi ile hazırlanan şeker hamuru örneği ile bu iki şeker hamuru örneği arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Dondurma örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin renklendirici çeşidi varyasyon kaynağından istatistiki olarak $p < 0,05$ düzeyinde etkilendiği belirlenmiştir. Karanfil çiçeğinden elde edilen sıvı renklendirici ve antosiyanin bazlı ticari sıvı gıda renklendiricisi ile hazırlanan dondurma örneklerinin kendi arasında, ticari sıvı gıda renklendiricisi, karanfil çiçeğinden elde edilen püskürtmeli kurutulmuş toz ve donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanan dondurma örneklerinin kendi arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmazken; antosiyanin bazlı ticari sıvı gıda renklendiricisi ve karanfil çiçeğinden elde edilen sıvı renklendirici ile hazırlanan dondurma örnekleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Gazlı içecek örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin; tüm varyasyon kaynaklarından (renklendirici çeşidi, depolama süresi) ve bunların interaksiyonlarından istatistiki olarak $p < 0,001$ düzeyinde etkilendiği görülmektedir. Karanfil çiçeğinden elde edilen sıvı renklendirici ve antosiyanin bazlı ticari sıvı gıda renklendiricisi ile hazırlanan gazlı içecek örnekleri arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Tüm model gıdalarda karanfilden elde edilen sıvı ve toz formda renklendiricilerin uygun miktarlarda eklendiğinde antosiyanin bazlı ticari sıvı renklendiriciye alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca karanfil çiçeği antosiyaninlerinin degradasyon kinetiği parametreleri hesaplanmıştır. Karanfil çiçeği antosiyaninlerinin sıcaklığa bağlı degradasyonunun birinci dereceden reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği belirlenmiştir. Reaksiyon hız sabitleri (k) ve yarılanma süreleri (sa) 70, 80, 90 ve 100 °C sıcaklıklarda sırasıyla $0,42 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$; $0,71 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$; $1,68 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$; $3,68 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ ve 27,57 sa; 16,31 sa; 6,90 sa; 3,14 sa olarak hesaplanmıştır. Tepkimeye ait aktivasyon enerjisinin (E_a) 78,37 kJ/mol olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: karanfil, *Dianthus caryophyllus*, antosiyanin, gıda renklendiricisi, stabilite

JÜRİ: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ (Danışman)

Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Doç. Dr. Seda BİLEK

ABSTRACT

EXTRACTION OF ANTHOCYANIN FROM CARNATION FLOWERS AND DETERMINATION OF ITS STABILITY AS A NATURAL FOOD COLORANT

Ecem VURAL

MSc Thesis in Food Engineering
Supervisor: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ
July 2017, 84 pages

The aim of this study was to investigate anthocyanin extraction from waste carnation flowers (*Dianthus caryophyllus* L.); stability and usage of obtained extract as a natural food colorant. On this aim, the anthocyanin contents of waste carnation cultivars named as "Osiris", "Radiant", "Euforia", "Hot Pink" and "Chateau", were determined. It was decided to use the purple-colored "Osiris" cultivar carnation flower which was found to have a very high content (143.21 mg/kg dry flower) of total monomeric anthocyanin compared to the carnation flowers of the other cultivars.

In order to obtain anthocyanin based colorant from carnation flower, an optimization study was carried out by forced convectional solid-liquid extraction and ultrasound assisted solid-liquid extraction methods. Anthocyanin was extracted from petals of waste carnation flowers by using ethanol, acidified with 0.1 N HCl. Optimization of extraction conditions were carried out by using response surface method according to Box-Behnken experimental design. Optimum conditions of extraction were determined by maximum total monomeric anthocyanin content. In this optimization study, none of the chosen variables and extraction methods showed any significant effect ($p>0,05$) on extraction yield. Thus, additional study was carried out and it was found that only variables showed significant effect on extraction efficiency were size reduction efficiency ($p<0.001$), ethanol ratio of solvent ($p<0.05$) and extraction time ($p<0.001$). Forced convectional solid-liquid extraction was selected as the extraction method and anthocyanins were extracted in a shaking water bath, set to 30 °C and 178 rpm. Optimum extraction conditions were determined as 1/20 solid-liquid ratio, 80% ethanol – 0.1 N HCl ratio, 3 times 5-second-Ultra-turrax treatment and 20 minutes extraction time.

The extract, obtained by using optimum extraction conditions, was condensed to 10 °Bx via a rotary evaporator. It was determined that the amount of total monomeric anthocyanin content of the obtained extract was 404.13 mg cyanidin-3-glucoside/kg dry extract. Following that, wall material (maltodextrin-DE12) was added to the condensed extract to provide the final concentration of 20 °Bx. The final extract was then fed to spray dryer and freeze dryer to obtain powder food colorant.

Some physical properties of the natural food colorants, obtained in liquid and powder form, were determined. For the spray-dried sample, powder yield was determined as 61.30% while water activity as 0.41, moisture content as 6.33%, solubility as 80.39%, bulk density as 244.19 kg/m³, turbidity as 14.85 NTU and colour values for L*, a*, b*, h° and C* as 55.38, 46.71, 6.28, 7.65 and 47.12, respectively. For the freeze-dried sample, powder yield was determined as 91.56% while water activity as 0.24, moisture content as

4.34%, solubility as 81.01%, bulk density as 500.10 kg/m³, turbidity as 14.95 NTU and colour values for L*, a*, b*, h° and C* as 47.07, 37.03, 5.66, 8.69 and 37.46, respectively.

The stability of the natural food colorants, obtained in liquid and powder form, were investigated by using them in model food samples and compared to commercial anthocyanin-based liquid food colorant as a replacement. Sugar paste, ice-cream and carbonated beverage was prepared as model food sample with equal total monomeric anthocyanin content. It was determined that the values of total colour change were affected statistically by all sources of variation (colorant type, storage condition, storage time) and their interactions at the level of $p < 0.001$. The sugar paste samples, prepared by liquid and powder colorant obtained from carnation flower, showed no significant difference among themselves while there was a significant difference between these two samples and the one prepared by anthocyanin based liquid food colorant. The values of total colour change of ice-cream samples showed significant difference at the level of $p < 0.05$ depending on colorant type. The sugar paste samples, prepared by liquid and powder colorant obtained from carnation flower, showed no significant difference among themselves while there was a significant difference between these two samples and the one prepared by anthocyanin based liquid food colorant. Ice-cream samples prepared with liquid colorant obtained from carnation flower and anthocyanin based commercial food colorant showed no significant difference. Similarly, samples prepared with spray dried and freeze-dried powder colorants obtained from carnation showed no significant difference. However there was a significant difference between ice-cream samples prepared with liquid commercial food colorant and liquid colorant obtained from carnation flower. The values of total colour change of carbonated beverage samples were affected statistically by all sources of variation (colorant type, storage time) and their interactions at the level of $p < 0.001$. The difference between carbonated beverage samples prepared with liquid colorant obtained from carnation flower and anthocyanin based commercial food colorant was significant. When added in suitable amounts, the liquid and powder colorants obtained from carnation flowers could be an alternative to anthocyanin based commercial liquid colorant for model foods.

In addition, the degradation kinetic parameters of carnation flower anthocyanins were calculated. It has been determined that the temperature-dependent degradation of carnation flower anthocyanins occurs according to the first order reaction kinetics. The reaction rate constants (k) and half times (h) were determined for 70, 80, 90 and 100 °C as $0.42 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$; $0.71 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$; $1.68 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$; $3.68 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ and 27.57 h; 16.31 h; 6.90 h; 3.14 h, respectively. The activation energy (E_a) of the reaction was determined as 78.37 kJ / mol.

KEYWORDS: carnation, *Dianthus caryophyllus*, anthocyanin, food colorant, stability

COMMITTEE: Prof. Dr. Ayhan TOPUZ (Supervisor)

Prof. Dr. Feramuz ÖZDEMİR

Assoc. Prof. Dr. Seda BİLEK

ÖNSÖZ

Bu tez kapsamında atık karanfil çiçeğinden doğal gıda renklendiricisi olarak antosiyanin bazlı ekstrakt elde edilebilirliği ve gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Araştırma sonuçları; karanfil çiçeğinin, ticari olarak renklendirici üretilen diğer kaynaklara alternatif bir antosiyanin kaynağı olduğunu ve gıdalarda doğal katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Tez sonuçlarının konu ile ilgili araştırmacılara ve sektöre faydalı olmasını dilerim.

Tez konumun belirlenmesinde beni yönlendiren çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Ayhan TOPUZ'a Yüksek lisans öğrenim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü destek, anlayış ve katkısından dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın çeşitli aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen Dr. İsmail TONTUL'a, Uzman Dr. İhsan Burak ÇAM'a, Gıda Yüksek Mühendisi Emrah EROĞLU'na, Gıda Yüksek Mühendisi Zehra KASIMOĞLU'na, Gıda Yüksek Mühendisi Handan BAŞÜNAL GÜLMEZ'e, Serenay AŞIK'a, Tuğçe ATBAKAN'a ve ayrıca çalışmalarım boyunca maddi ve manevi yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen dostlarım Arş. Gör. Atike Nur DURAK'a, Gıda Yüksek Mühendisi Negin AZARABADI'ye ve Sinem SALMAN'a teşekkür ederim. Ayrıca bölümümüzün tüm hocalarına ve bölümümüzde lisans üstü eğitim alan tüm arkadaşlarıma her ihtiyaç duyduğumda desteklerini esirgemedikleri için çok teşekkür ederim

Yaşamım boyunca yanımda olup maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, bu çalışmanın başından sonuna kadar her anlamda bana yardımcı olan sevgili annem Belgin VURAL'a, canım kardeşim Anıl VURAL'a, tatlı kuzenim Osman Tuna YETİM'e ve isimlerini teker teker sayamadığım tüm aile bireylerime yürekten teşekkür ederim. Varlığını her an ruhumda hissettiğim, tezimi yaparken ihtiyaç duyduğum tüm gücü damarlarımda akan kanından ve masamda duran fotoğrafımdan aldığım merhum babam Ahmet VURAL'a sonsuz sevgi, özlem ve dualarımı gönderiyorum.

Tezimle aynı adı taşıyan FYL-2016-1742 nolu projeye maddi destek sağlayan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	4
2.1. Yenilebilir Çiçekler ve Bazı Kullanım Alanları	4
2.1.1. Karanfil çiçeği	7
2.2. Gıdalarda Renk ve Renklendiriciler	8
2.2.1. Yapay renk maddeleri.....	10
2.2.2. Doğala özdeş renk maddeleri	11
2.2.3. Doğal renk maddeleri	12
2.2.3.1. Klorofiller.....	12
2.2.3.2. Karotenoidler.....	13
2.2.3.3. Turmerik.....	14
2.2.3.4. Marigold.....	14
2.2.3.5. Monascus.....	15
2.2.3.6. İridoidler.....	15
2.2.3.7. Karmin.....	15
2.2.3.8. Betalainler	16
2.2.3.9. Antosiyaninler	16
3. MATERYAL VE METOT.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.2. Metot.....	23
3.2.1. Karanfil çiçeklerinin temini.....	23
3.2.2. Ekstraktların elde edilmesi	24
3.2.2.1. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu	24
3.2.2.2. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu	25
3.2.2.3. Ekstraktların konsantre edilmesi	26
3.2.3. Püskürtmeli ve donuk kurutucu ile toz renklendirici üretimi	26
3.2.4. Model gıda denemeleri	28
3.2.4.4. Şeker hamuru.....	29
3.2.4.5. Dondurma.....	30
3.2.4.6. Gazlı içecek	31
3.2.1. Antosiyaninlerin ısıl stabiliteilerinin belirlenmesi	31
3.2.1.7. Kinetik katsayıların hesaplanması.....	31
3.2.1.8. Reaksiyon hız sabitinin hesaplanması	32
3.2.1.9. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması	32
3.2.1.10. Yarılanma süresinin hesaplanması.....	33
3.2.2. Analizler	33
3.2.2.1. Toplam kuru madde tayini	33
3.2.2.2. Suda çözünür kuru madde analizi	33
3.2.2.3. pH değeri tayini	34

3.2.2.4. Ekstraksiyon verimi.....	34
3.2.2.5. Toplam monomerik antosiyanin analizi.....	34
3.2.2.6. Renk analizi.....	35
3.2.2.7. Toz ürün verimi.....	35
3.2.2.8. Çözünürlük Testi.....	35
3.2.2.9. Yığın yoğunluğu.....	35
3.2.2.10. Bulanıklık.....	35
3.2.2.11. LC-MS-MS ile antosiyanin profili belirlenmesi.....	36
3.2.2.12. Pestisit analizi.....	36
3.2.2.13. İstatiksel analizler.....	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1. Karanfil Çiçeklerinin Temini ve Renk Seçimi.....	37
4.2. Ekstraksiyon Optimizasyonu.....	38
4.3. Ekstraktların Konsantrasyon Edilmesi ve Toz Renklendirici Üretimi.....	45
4.4. Model Gıda Denemeleri.....	47
4.4.1. Şeker hamuru.....	47
4.4.2. Dondurma.....	52
4.4.3. Gazlı içecek.....	55
4.5. Antosiyaninlerin Isıl Stabiliteilerinin Belirlenmesi.....	57
4.6. Karanfil Çiçeğinin Antosiyanin Profili.....	60
4.7. Pestisit Analizi.....	61
5. SONUÇ.....	62
6. KAYNAKLAR.....	64
7. EKLER.....	72
EK-1. Sadece belirli renklendiricilerin kullanımına izin verilen gıda maddeleri.....	72
EK-2. Sadece belirli kullanımlar için izin verilen renklendiriciler.....	76
EK-3. EK-1 ve EK-2’de belirtilenler dışındaki gıda maddelerinde kullanımına izin verilen renklendiriciler.....	77
EK-4. LC-MS-MS ile antosiyanin analizi sonuç raporu.....	80
EK-5. LC-MS-MS ile pestisit analizi sonuç raporu.....	81
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	santigrat derece
%	yüzde
d/dk	devir/dakika
dk	dakika
µm	mikrometre
nm	nanometre
g	gram
w/w	kütle/kütle
A	absorbans
A _{max}	en yüksek absorbans
A ₇₀₀	700 nm dalga boyundaki absorbans
λ _{vis-max}	absorbansın maksimum olduğu dalga boyu
N	normalite
mbar	milibar
L	litre
mL	mililitre
m ₁	sabit tartıma gelmiş boş kurutma kabı ve kapağının ağırlığı
m ₂	analiz örneği + kurutma kabı ve kapağının ağırlığı
m ₃	içinde analiz örneği bulunan kurutma kabı ve kapağının kurutma işleminden sonraki ağırlığı
m _a /L	kuru ekstrakttaki antosiyanin kütlesi
m _a /S	kuru karanfil çiçeği taç yapraklarındaki antosiyanin kütlesi
MW	baz alınan antosiyaninin molekül ağırlığı
S _f	seyreltme faktörü
ε	absorpsiyon katsayısı
L ₀ [*]	başlangıçtaki L* değeri
a ₀ [*]	başlangıçtaki a* değeri
b ₀ [*]	başlangıçtaki b* değeri
U+	ultra-turrax uygulaması yapılmış
U-	ultra-turrax uygulaması yapılmamış
exp	eksponansiyel
J	jul (joule)
K	kelvin

Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Bkz	Bakınız
CAC	Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (Codex Alimentarius Commission)
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi (The Food and Drug Administration)

GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle-Spektrometresi (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)
HMF	5- hidroksimetil furfural
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
LC-MS-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle-Kütle Spektrometresi (Liquid Chromatography tandem-Mass Spectrometry)
No	Numara
NTU	Nefelometrik Bulanıklık Ünitesi (Nephelometric Turbidity Unit)
SAS	İstatistik Analiz Sistemi (Statistical Analysis System)
THI	2-asetil-4(5)-tetrahidroksibütilimidazol
TMA	Toplam Monomerik Antosiyanin
UHPLC-MS/MS	Ultra Yüksek performanslı sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi (High Performance Liquid Chromatography tandem- Mass Spectrometry)
USD	Amerikan Doları
UV	Ultraviyole
QS	Belirlenmemiş miktar (Quantum Satis)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
4-Mel	4-(5) metilimidazol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dünya genelinde kullanılan gıda boyalarının dağılımı (Downham and Collins 2000).....	11
Şekil 2.2. Doğal klorofillerin moleküler yapısı (Bechtold and Mussak 2009)	13
Şekil 2.3. Bazı önemli karotenoidlerin kimyasal yapıları (Rao and Rao 2007).....	14
Şekil 2.4. Flavilyum katyonu ve bazı yaygın antosiyanidinlerin yapısal özellikleri (Kong vd 2003)	17
Şekil 3.1. Kesimden sonra serada kalan atık durumunda çiçekler (Solda), buketlenmiş çiçekler (ortada) ve buketleme sırasında atık olarak çıkan çiçekler (sağda)	23
Şekil 3.2. Sap, tabla ve çanak yapraklarından ayrılmış karanfil taç yaprakları. (soldan sağa; “Osiris” (mor), “Radiant” (yavruağzı), “Euforia” (açık pembe), “Hot Pink” (koyu pembe) ve “Chateau” (bordo))	24
Şekil 3.3. Buchner hunisi ile 4-7 µm çaplı filtre kâğıdından süzme işlemi	25
Şekil 3.4. Başlangıç ekstraktı (solda), evaporasyon işlemi (sağda)	26
Şekil 3.5. Ekstrakta taşıyıcı eklenmesi ve homojenizasyon işlemi.....	27
Şekil 3.6. Püskürtmeli kurutucu ile toz renklendirici eldesi, (Püskürterek kurutma (solda), toplama kabından alınan ürün (ortada), son ürün (sağda))	28
Şekil 3.7. Donuk kurutucu ile toz renklendirici eldesi, (Donuk kurutma (solda), kurumuş ürün (ortada), öğütülerek toz haline getirilmiş son ürün (sağda))..	28
Şekil 3.8. Şeker hamuru yapımı ((a) Marshmallow, (b) Marsmallowların benmari usulü eritilmesi, (c) Renklendirici eklenmesi, (d) Pudra şekeri eklenmesi, (e) Hamurun merdane yardımıyla açılması, (f) Hamurun kalıpla kesilmesi)	29
Şekil 3.9. Depolama için hazırlanmış şeker hamuru örnekleri	30
Şekil 3.10. Antosiyanin bazlı farklı renklendiriciler ile renklendirilmiş dondurmalar ...	31
Şekil 4.1. Farklı renklerdeki taç yaprakların TMA değerleri.....	38
Şekil 4.2. Verim hesabı için tartılan bütün haldeki (solda) ve taç yaprakları ayrılmış karanfil çiçekleri (sağda).....	38
Şekil 4.3. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ek denemelerin TMA içerikleri (Sıcaklık; Etanol oranı; Katı-sıvı oranı; Ultra-turrax uygulaması (“U+” : Ultra-turrax uygulaması yapıldığını, “U-” : Ultra-turrax uygulaması yapılmadığını göstermektedir))	40
Şekil 4.4. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu için ek denemelerin TMA içerikleri (Ultrason gücü (%) ; Etanol oranı; Katı-sıvı oranı; Ultra-turrax	

uygulaması (“U+” : Ultra-turrax uygulaması yapıldığını, “U-” : Ultra-turrax uygulaması yapılmadığını göstermektedir)).....	41
Şekil 4.5. Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmış ve uygulanmamış deneme örneği.....	42
Şekil 4.6. Ultra-turrax uygulanmış örneğin ekstraksiyon öncesi (a) ve sonrası (b) büyütülmüş mikroskop (Zeiss, CL 6000 LED) görüntüsü.....	42
Şekil 4.7. Püskürtmeli kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamurları	48
Şekil 4.8. Aydınlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı toplam renk değişimi değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru).....	48
Şekil 4.9. Aydınlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı hue açısı (h°) değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru).....	49
Şekil 4.10. Karanlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı toplam renk değişimi değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru).....	49
Şekil 4.11. Karanlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı hue açısı (h°) değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru).....	50
Şekil 4.12. 4 °C’de karanlıkta depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı toplam renk değişimi değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru).....	50
Şekil 4.13. 4 °C’de karanlıkta depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı hue açısı (h°) değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru).....	51
Şekil 4.14. -20 °C’de depolanan dondurma örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, P: Püskürtmeli kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma, D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma).....	53
Şekil 4.15. -20 °C’de depolanan dondurma örneklerinin hue açısı (h°) değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, P: Püskürtmeli	

kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma, D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma).....	53
Şekil 4.16. 4 °C’de depolanan gazlı içecek örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma)	55
Şekil 4.17. 4 °C’de depolanan gazlı içecek örneklerinin hue açısı (h°) değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma).....	56
Şekil 4.18. Farklı sıcaklıklardaki TMA değerlerinin zamana bağlı değişimi	58
Şekil 4.19. Antosiyaninlerin pH 3,0’te reaksiyon hız sabitinin zamana bağlı değişimi (Arrhenius grafiği)	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Yenilebilir çiçekler.....	5
Çizelge 2.2. FDA ve Avrupa Birliği tarafından kullanımına izin verilen renk maddeleri.....	10
Çizelge 2.3. Antosiyanin ve betalain pigmentleri arasındaki bazı farklılıklar (Delgado-Vargas and Paredes-López 2003)	16
Çizelge 3.1. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyonu deneme deseni.....	25
Çizelge 3.2. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyonu deneme deseni...	26
Çizelge 4.1. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyon deneme deseni ve analiz verileri.....	39
Çizelge 4.2. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyon deneme deseni ve analiz verileri.....	40
Çizelge 4.3. Farklı etanol oranlarına sahip çözümlerle elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) değişimine ait varyans analizi sonuçları	43
Çizelge 4.4. Farklı etanol oranlarına sahip çözümlerle elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	43
Çizelge 4.5. Ultra-turrax ile farklı sürelerde parçalama yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) değişimine ait varyans analizi sonuçları	44
Çizelge 4.6. Ultra-turrax ile farklı sürelerde parçalama yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	44
Çizelge 4.7. Farklı sürelerde ekstraksiyon işlemi yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) değişimine ait varyans analizi sonuçları	44
Çizelge 4.8. Farklı sürelerde ekstraksiyon işlemi yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	45
Çizelge 4.9. Toz örneklerle ait bazı fiziksel özellikler.....	46
Çizelge 4.10. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış ve farklı koşullarda depolanmış şeker hamurlarının toplam renk değişimi değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları	51

Çizelge 4.11. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış ve farklı koşullarda depolanmış şeker hamurlarının toplam renk değişimi değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	52
Çizelge 4.12. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış dondurmaların toplam renk değişimi değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları	54
Çizelge 4.13. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış dondurmaların toplam renk değişimi (TRD) değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	54
Çizelge 4.14. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış gazlı içeceklerin toplam renk değişimi değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları	56
Çizelge 4.15. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış gazlı içeceklerin toplam renk değişimi (TRD) değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	57
Çizelge 4.16. Sıfırıncı, birinci ve ikinci dereceden reaksiyonlara ait R^2 değerleri	57
Çizelge 4.17. Karanfil çiçeği antosiyaninlerinin kinetik parametreleri	59
Çizelge 4.18. Farklı kaynaklardan elde edilen antosiyaninlerin kinetik parametreleri.....	59
Çizelge 4.19. Karanfil çiçeğinden elde edilen doğal gıda renklendiricilerinin antosiyanin kompozisyonu sonuçları	60

1. GİRİŞ

Renk, ışığın spektral dağılımı sonucu oluşan görsel bir özelliktir. Pigment olarak adlandırılan, çok çeşitli kimyasal yapıda olan maddeler doğal gıdaların renk kaynağıdır. Meyve ve sebzelerin çekiciliği sahip oldukları bu pigmentlerle ilişkilidir. Gıdaların tüketici tarafından seçiminde ilk izlenimi renk oluşturur ve bu gıdanın tercih veya reddedilmesinde önemlidir. Ayrıca gıdaların karakteristik tadının algılanmasında renginin ciddi bir etkisinin olduğu birçok araştırma ile doğrulanmıştır. Gıdalar; aromalarına paralel olacak şekilde renklendirildiklerinde lezzetleri daha doğru ve yoğun algılanırken, zıt renklerle renklendirildiklerinde lezzetlerinin doğru algılanması güçleşmektedir (Anonim 2017; Kırca 2004).

Gıdalardaki pigmentler işlendiği ve muhafaza edildiği koşullara bağlı olarak kayba uğramaktadır. Bu kayıplar; üretim, depolama ve satış aşamalarında ısı, ışık, pH, su aktivitesi, oksidasyon ve metal varlığı gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır. Bu sebeple; renklendiriciler gıdanın orijinal rengine görünmesi, homojen bir renk sağlanması, renginin yoğunlaştırılması ve/veya formülasyonu gereği renksiz bir gıdanın renklendirilmesi için gıda üretiminde katkı maddesi olarak çok sık kullanılmaktadır (Anonim 2017).

Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC) renklendiricileri “gıdaların rengini düzelteren veya gıdalara renk vermek amacıyla ilave edilen madde” olarak tanımlamaktadır. Renklendiriciler elde ediliş şekillerine göre doğal ve yapay renklendiriciler olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir. Bunun dışında bazı doğal kaynaklı renklendiricilerin yapay olarak da elde edilmesi mümkündür. Bu maddelere de “doğala özdeş renklendirici” denir (Altuğ 2009).

Doğal renklendirici maddeler; bitkisel, hayvansal, mikrobiyal ve mineral kaynaklardan elde edilen renk aralıkları sınırlı pigmentlerdir. Genel olarak stabiliteleri düşük, renklendirme kapasiteleri zayıf olup ısı ve pH değişiminden etkilenirler. Bu kısıtlamalara karşın, sağlık üzerindeki olumlu etkilerini ispatlayan araştırma sonuçları ile bu maddelerin kullanımlarının son yıllarda arttığı gözlenmektedir. Doğal renk maddesi elde etmek için kullanılan kaynaklar ve elde edilme yöntemleri, bunlara olan ilginin artmasıyla çeşitlilik göstermeye başlamıştır. Ekstraksiyon ve saflaştırma tekniklerinin geliştirilmesi daha stabil ve standart renk tonuna sahip renklendiricilerin ticari olarak üretilebilmesine olanak sağlamıştır. Doğal renk maddelerinin renk tonları tüm bu parametrelerle ve pigment karışım oranıyla doğrudan ilişkilidir (Altuğ 2009).

Her geçen gün tüketici bilincinin artması, yaşam kalitesi beklentisi ve teknolojik ilerlemeler gıda renklendiricisi konusundaki alternatif arayışlarını tetiklemiştir. Artık tüketiciler gıdalara eklenen renklendiricilerin sadece renk vermesini değil, doğal ve fonksiyonel olmasını istemektedir. Ayrıca gıda katkı maddesi olarak renklendiricilerin yabancı tat-koku vermemesi ve tüketicilerin kültürel alışkanlıklarına uygun kaynaklardan elde edilmiş olması beklenmektedir (Ekici 2011).

Günümüzde dünyada 940 milyon dolar hacmindeki gıda boyası pazarının yaklaşık 2/3'ünün doğal gıda boyalarına ait olduğu tahmin edilmektedir. ABD, Avrupa ve Asya'nın eşit paylardaki pazarları, doğal gıda boyaları pazarının yaklaşık %73'lük kısmını oluşturmaktadır. Sentetik renklendiricilerin toksikolojik ve ekolojik nedenlerle

yasaklanması ve tüketici tercihinde yaşanan değişimlere bağlı olarak doğal renklendiricilerin pazardaki payı her yıl %4-6 oranında artmaktadır. Avrupa’da, Almanya, Fransa ve İngiltere, doğal renklendiricilerin en çok kullanıldığı ülkeler olarak karşımıza çıkmaktadır (Bechtold and Mussak 2009).

Doğal renklendiriciler, çeşitli bileşiklerden oluşan geniş bir gruptur. Bu bileşiklerin her biri farklı çözünürlük ve stabilite özelliklerine sahip olduğundan, gıdalara uygulama şekilleri ve özellikleri farklıdır. Gıda endüstrisinde kullanılan başlıca doğal renklendiriciler; antosiyaninler, betalainler, koşinal (karmin), annatto ve kurkumindir. Klorofiller, karotenidler, kırmızı biber ekstraktı (oleoresin paprika), safran (krosetin) ve karamel de renklendirici olarak kullanılmaktadır (Hendry and Houghton 1996; Kırca 2004).

Ticari doğal pigmentlerin en önemlisi, bitkilerdeki yaygın pigment gruplarından birisi olan antosiyaninlerdir. Kelime kökeni Yunanca olup ‘anthos-çiçek’ ve ‘kyanos-mavi’ anlamına gelen kelimelerin birleşimidir. Bitkilerde en çok bulunan pigmentlerden olması nedeniyle birçok yapay renklendiriciye alternatif olabilmektedir. Meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, eflatun (viole), mavi ve mor tonlarındaki renklerini veren doğal renk maddeleri olan antosiyaninler; suda çözünürler ve şekerlerle glikozit formda bulunurlar. Bazı tahıl ve baklagillerde, kök ve yumru sebzeler başta olmak üzere çeşitli sebzelerde de antosiyanin bulunmaktadır. Antosiyanin ekstraktlarının gıdalara yalnızca çekici renk özellikleri kazandırmağı, aynı zamanda yüksek radikal kapasiteleri nedeniyle, eklendikleri gıdaların oksidatif stabilitelerini de artırdığı belirlenmiştir. Antosiyaninlerin şeker olmayan aglikon kısmını fenolik bileşikler olan antosiyanidinler oluşturmaktadır. Başlıca antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin ve malvidindir. Antosiyanidinlere ramnoz, ksiloz, glukoz, galaktoz ve arabinoz gibi şekerlerden biri veya ikisi bağlanabilir. Doğada 16 farklı antosiyanidine bu şekerlerin bağlanması ile çok farklı renkte antosiyaninler oluşmaktadır. Antosiyaninler diğer bazı fenolik bileşiklerle açillenmiş halde de bulunabilmektedirler (Altuğ 2009; Bilek vd 2017; Bridle and Timberlake 1997; Cemeroğlu 2007a; Espin vd 2000; Giusti and Wrolstad 2003; Kong vd 2003).

Antosiyanin pigmentinin flavilyum çekirdeğinde bir elektron eksik olduğundan çok reaktiftir. Bu durum pigment renginin açılmasına sebep olmaktadır. Antosiyaninlerin rengi sadece kimyasal yapısına değil; bulunduğu ortamın pH derecesi, konsantrasyonu, kopigment varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Antosiyaninlerin renk tonu ve yoğunluğu üzerine en etkili faktör pH’dır. Çoğu antosiyaninin rengi ortamın pH değerine bağlı olarak bir indikatör gibi değişim gösterir. Antosiyaninler asit ortamda açık kırmızı, nötr ortamda mor, alkali ortamda mavi-yeşil-menekşe, yüksek alkali ortamda mavi rengi alır. Aynı antosiyanin çeşitli bitkisel dokularda farklı renkte olabilmektedir (Altuğ 2009).

Antosiyaninler çok çeşitli bitkisel kaynaklardan ekstraksiyon ile elde edilmektedir. Ekstraksiyon yöntemi; antosiyaninlerin yapısı ve stabilitesini etkileyecek faktörler göz önünde bulundurularak uygun bir ekstraksiyon yöntemi seçilir. Antosiyanin bazlı renklendirici elde etmek amacıyla yapılan ekstraksiyonlarda; maksimum pigment verimi, renk yoğunluğu ve stabilite hedeflenmektedir. Antosiyaninler nötre yakın ve alkali pH’larda stabil olmadığı için ekstraksiyon asidik çözeltilerle gerçekleştirilir. Antosiyanin ekstraksiyonunda yaygın olarak az miktarda mineral asit içeren düşük

kaynama noktalı bir alkol kullanılır. Gıdaya katılacak antosiyaninlerin eldesinde metanole göre ekstrakte etme gücü daha düşük ve kaynama noktası daha yüksek olmasına rağmen toksik olmadığı için etanol tercih edilmektedir. Kompleks yapıdaki pigmentin doğal formunu değiştirebildiğinden dolayı, asitlendirici olarak ya çok düşük konsantrasyonda HCl asit ya da zayıf organik asitler kullanılmaktadır. Ekstraksiyon sonrası çözgen düşük sıcaklıklarda buharlaştırılarak uzaklaştırılmakta ve gerekirse konsantrat kromatografik tekniklerle saflaştırılmaktadır (Anonim 2017).

Antosiyaninlerin çeşitli bitkisel materyallerden ekstraksiyonu üzerine günümüze kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Meyve, sebze gibi hammaddelerin kullanımının yanı sıra çiçeklerden de antosiyanin pigmentini ekstrakte etmek mümkündür. Toksikolojik olarak incelenmiş ve yenilebilir olduğu tanımlanmış çiçekler bunun için önemli kaynaklardır. Kabul edilebilir lezzette ve yenilebilir olan yaklaşık 100 çeşit çiçek vardır. Papatya, aynısefa, ebegümeci, melisa, karahindiba, gülhatmi, leylak, nane, menekşe, adaçayı, gül ve karanfil bunların en bilinenleridir (Gegner 2004).

Literatürde farklı kaynaklardan antosiyanin elde edilmesi ve doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Ancak antosiyanin kaynağı olarak karanfil çiçeğinin kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada kesme çiçek olarak üretilen ve üretim sırasında atık olarak ortaya çıkan karanfil çiçeğinden doğal gıda renklendiricisi üretilmiş ve model gıdalarda stabilitesi incelenmiştir. Bunun için karanfil çiçeğinden antosiyanin ekstaksiyonuna etki eden parametreler tespit edilmiş ve optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen ekstrakt sıvı ve toz formda model gıdalara eklenerek ticari olarak piyasada satılan antosiyanin bazlı doğal gıda renklendiricisine karşı stabilitesi incelenmiştir. Ayrıca karanfil çiçeği antosiyaninlerinin sıcaklığına bağlı degradasyon kinetiğinin parametreleri hesaplanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. Yenilebilir Çiçekler ve Bazı Kullanım Alanları

Mevsimin özelliklerine bağlı olarak doğanın sunduğu zenginliklerden bir tanesi de çiçeklerdir. Bu zenginliklerin uzun yıllardan beri sağlık ve güzellik amaçlı kullanıldığı pek çok yazılı kaynakta yer almaktadır. Çiçeklerin besin değeri ile ilgili elde edilen yeni veriler bunların tüketimine olan ilginin artmasının önemli bir nedenlerindedir. Gerek lezzeti gerekse sağlık faydaları sebebiyle bu çiçeklerin bir kısmı sofralarda da yer bulmuştur. Çiçekler genellikle bütün olarak tüketilirken bazen de belli kısımları tüketilir. Çiçekler besin değeri bakımından üç ana bileşene ayrılabilir. Bunların ilki, miktarı çok düşük olmakla birlikte; protein, aminoasit, karbohidrat, doymuş ve doymamış yağ, karotenoid flavanoid vb. içeriği bakımından en zengin kaynak olan polendir. Tadı genellikle çok çekici veya belirgin değildir. İkinci bileşen nektardır. Nektar; şekerlerin dengeli bir karışımını (fruktoz, glukoz ve sukroz), aminoasitleri (çoğunlukla prolin), proteinleri, inorganik iyonları, lipitleri, organik asitleri, fenolik maddeleri, alkaloidleri ve terpenoidleri içeren tatlı bir sıvıdır. Üçüncü grup çiçek yapraklarını ve çiçeğin diğer kısımlarını içerir. Bu bileşenler aynı zamanda vitamin, mineral ve antioksidan gibi farklı bileşiklerin önemli kaynağı olabilir. Örneğin sarı çiçekler A vitamininin çok iyi bir kaynağıdır (Mlcek and Rop 2011; Şahin and Kılıç 2009).

Yüzyıllar öncesinden beri çiçekler tat ve aromalarından dolayı bazen çiğ bazen de pişirilerek tüketilmiştir. 17. yüzyılda Avrupa'da Haçlı Seferleri sonrasında Avrupalılar Doğu kültürünün tarzını öğrenmişler ve yenilikler de katarak kullanmışlardır. Yaz aylarında bol bulunan taze çiçekler salata ve tatlılarda kullanılırken, bu çiçekleri kışın da kullanabilmek amacıyla konserve ve şekerleme teknikleri de gelişmiştir. İlerleyen yıllarda da daha modern üretim teknikleri ile yenilebilir çiçekler yetiştirilmiş, hasat edilmiş ve yiyecek içecek olarak kullanılmıştır (Şahin and Kılıç 2009). Antik Yunan ve Roma'da birçok yenilebilir çiçek çeşidi lezzet vermesi için tercih edilmiştir. Örneğin Antik Roma'da çeşitli püre ve omletlere farklı gül türlerinin çiçekleri katılmıştır. Ortaçağda Fransa'da calendula çiçeği (*Calendula officinalis* L.) salatalara eklenmiştir. Şeker, şurup ve çeşitli iksirlerin renklendirilmesi için menekşe (*Viola odorata* L.); içki ve salata hazırlamak için ise karahindiba (*Taraxacum officinale* L.) kullanılmıştır. Benzer şekilde safran (*Crocus sativus* L.) çiçeği de gıdalarda renklendirici olarak eski zamanlardan beri kullanılmaktadır (Mlcek and Rop 2011).

Çiçekler, insan sağlığı açısından yararlı ve beslenme açısından da oldukça önemli olsa da hangi çiçeklerin yenilebileceğinin, hangilerinin zehirli olduğunun tespiti kolay değildir. Açelya, belladonna, zambak, defne çiçeği, yüksükotu çiçeği, hezaran ve göl zambağı yüksek oranda zehir içerdiği bilenen çiçeklerdendir. Binlerce çiçek türü olduğu düşünülürse, yenilemeyenleri listelemek yerine yenilebileceğinden emin olunmayan çiçeklerin yiyecek içeceklerde kullanmaması gerekir. Yenilebilen çiçeklerle ilgili Amerika'da yapılan bir çalışmada hem yenilebilen hem de tadı hoş olan 100 civarında çiçek olduğu belirtilmektedir. Yenilebilir bazı çiçekler, bunların bilimsel adları ve tüketim şekilleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir. Bu çiçeklerin birçoğu Türkiye'de de yetiştirilmektedir. Türkiye'deki yiyecek içecek tariflerine bakıldığında safran, gül, lavanta, menekşe, narçiçeği, mine çiçeği ve gelinciğin yer aldığı görülmektedir. Kabak

çiçeği, soğan çiçeği, latin çiçeği, mor menekşe ve karanfil de piyasada yenilebilir çiçek olarak satılmaktadır (Şahin and Kılıç 2009).

Çizelge 2.1. Yenilebilir çiçekler

	Çiçek isimleri		Bilimsel isimleri	Tüketim şekli
	Türkçe	İngilizce		
1	Adaçayı	Sage	<i>Salvia officinalis</i>	Çay olarak tüketilir.
2	Aslanağzı	Snapdragon	<i>Antirrhinum majus</i>	Garnitür olarak kullanılır.
3	Ateş çiçeği	Pineapple sage	<i>Salvia elegans</i>	
4	Avize çiçeği	Yucca	<i>Yucca spp</i>	
5	Ayçiçeği, Gündöndü, Günebakan	Sunflower	<i>Helianthus annuus</i>	Taç yaprakları taze ve kuru olarak tüketilir.
6	Aynısafa	Calendula	<i>Calendula spp</i>	Taze ve kurutulmuş olarak tüketilir. Renk verir.
7	Bamya	Okra	<i>Abelmoschus esculentus</i>	
8	Bezelye	Sweet Pea		Çiçekleri yenir.
9	Biberiye	Rosemary	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Yaprakları taze ve kuru olarak kullanılır. Çiçekleri yenir.
10	Brokoli	Broccoli	<i>Brassica officinalis</i>	
11	Cam Güzeli	Impatiens	<i>Impatiens</i>	
12	Çalı fasülyesi	Scarlet runner bean	<i>Phaseolus vulgaris</i>	
13	Çiğdem, Orkide	Colchicum, Crocus	<i>Crocus spp.</i>	Çiçekleri yenir.
14	Çin Güllü	Hibiskus	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	Kurutulmuş olarak kullanımı yaygındır.
15	Çördük, Zufa Otu	Anise hyssop	<i>Agastache foeniculum</i>	
16	Dere Otu Çiçeği	Dill Flowers	<i>Anethum graveolens</i>	Çiçekleri taze olarak yenir.
17	Elma Çiçekleri	Apple Flowers	<i>Malus spp.</i>	
18	Frenk Maydanozu	Chervil	<i>Anthriscus cerefolium</i>	
19	Frenk Soğanı, Soğan çiçeği	Chives	<i>Allium schoeonoprasum</i>	Taç yaprakları ayrılarak yenir. Kültürü yapılmaktadır.
20	Gül	Rose	<i>Rosa spp.</i>	Kültürü yapılmaktadır.
21	Hanımeli	Honeysuckle	<i>Lonicera japonica</i>	
22	Hercai Menekşe	Pancy	<i>Viola x wittrockiana</i>	Çiçekleri taze olarak yenir.
23	Hindiba	Chicory	<i>Cichorium intybus</i>	
24	Hindiba, Karahindiba	Dandelion	<i>Taraxacum officinale</i>	Çiçekleri taze olarak yenir.

Çizelge 2.1'in devamı

25	Gülhatmi	Hollyhock	<i>Althea rosea</i>	Çay olarak tüketilir. Çiçekleri taze olarak yenir.
26	Ihlamur Çiçeği	Linden	<i>Tilia spp.</i>	Çay olarak tüketilir.
27	İngiliz Papatyası	English Daisy	<i>Bellis perennis</i>	Çiçekleri taze olarak yenir.
28	Kabak Çiçeği	Squash	<i>Curcubita pepo</i>	Kültürü yapılmaktadır.
29	Kadife Çiçeği	Marigold	<i>Tagetes patula</i>	
30	Kal dirik, Hodan, İspit	Borage	<i>Borago officinalis</i>	Karadeniz bölgesinde yaygın, kavurması yapılır.
31	Karanfil		<i>Dianthus spp.</i>	Kültürü yapılmaktadır.
32	Kasımpati, Krizantem	Chrysanthemum	<i>Chrysanthemum spp.</i>	Çok renkli, farklı aroma ve tatlıdadır.
33	Kekik	Thyme	<i>Thymus spp.</i>	Çok yıllık bitki
34	Kişniş Çiçeği	Cilantro, Coriander	<i>Coriandrum sativum</i>	Yaprak, kök ve çiçekleri baharatlı yemekler, çorbalar ve soslarda kullanılır.
35	Lale	Tulip	<i>Tulipa spp.</i>	Tatlımsı ya da acı.
36	Latin Çiçeği	Nasturtium	<i>Tropaeolum majus</i>	Kültürü yapılmaktadır.
37	Lavanta	Lavender	<i>Lavandula spp.</i>	Yiyecek ve içeceklerde kullanımı yaygındır.
38	Marul Çiçeği, Çuha Çiçeği	Cowslip	<i>Primula veris</i>	Çiçekleri ve yaprakları salatalarda kullanılır.
39	Menengiç, Çitlenbik	Terebinth tree	<i>Pistacia terebinthus</i>	Çiçekleri yenir.
40	Mor Viola	Borage	<i>Borago officinalis</i>	Kültürü yapılmaktadır.
41	Menekşe	Violet	<i>Viola odorata</i>	Taze çiçekleri yenir.
42	Mürver	Elderberry	<i>Sambucus canadensis</i>	Çiçeklerinden reçel yapılır.
43	Papatya	Daisy	<i>Chamaemelum noblis</i>	Kurutulmuş papatyalar çay olarak tüketilir.
44	Peygamber Çiçeği	Bachelor' button	<i>Centaurea cyanus</i>	Taç yaprakları yenir.
45	Portakal Çiçeği	Orange Blossom	<i>Citrus sinensis</i>	
46	Rezene	Fennel	<i>Foeniculum vulgare</i>	
47	Reyhan, Fesleğen	Basil	<i>Ocimum basilicum</i>	
48	Roka Çiçeği	Arugula	<i>Eruca vesicaria sativa</i>	
49	Sardunya	Scented geraniums	<i>Pelargonium spp.</i>	
50	Üç renkli Menekşe	Johnny-jump-up	<i>Viola tricolor</i>	
51	Zambak	Daylily	<i>Heemerocallis spp.</i>	

2.1.1. Karanfil çiçeği

Karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) anavatanı Akdeniz bölgesi olan Caryophyllaceae familyasının bir üyesidir. Bu bitkinin eski Yunan döneminden günümüze; şekil, kalite, koku, renk gibi değişik özellikleri üzerine yapılan ıslah çalışmaları sonucunda yüzlerce çeşidi geliştirilmiştir. Günümüzde karanfiller standart (büyük ve tek çiçekli) karanfiller ve sprej (küçük ve çok çiçekli karanfiller) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. 2014 yılında ülkemizde 1,5 milyar ton kesme çiçek üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu üretimin %58,5'lik kısmını karanfil, %12,6'sını gerbera ve %8,5'ini gül oluşturmuştur. 32 milyon 18 bin USD değerinde kesme çiçek ihracatıyla Türkiye, dünya kesme çiçek ihracatında %0,4'lük bir paya sahip olmuştur. Kesme çiçek üretim alanı bakımından 1. sırada Çin (183.000 hektar, %33,2) ve 2. sırada Hindistan (133767, %24,3)'ın yer aldığı dünya sıralamasında ülkemiz 1326 hektarlık alanla %0,2'lik bir üretim payı ile 26. sıradadır. TÜİK 2014 yılı verilerine göre kesme çiçek üretiminin en fazla yapıldığı iller sırasıyla İzmir, Antalya, Yalova ve Sakarya'dır. Marmara ve Ege Bölgesinde (İstanbul, Yalova, İzmir, Aydın) yapılan kesme çiçek üretimi genellikle iç pazara yöneliktir. Antalya bölgesinde ise çoğunluğu seralarda olmak üzere yüksek kaliteli ve ihracata yönelik üretim yapılmaktadır. Antalya ilinde ihracat amaçlı kesme çiçek üretimi 1985 yılında 70 dekarlık bir alanda sprej karanfil yetiştiriciliği ile başlamış olup 2005 üretim sezonunda bu alan 5018,59 dekara kadar ulaşmıştır. Üretimin büyük bir kısmı başta İngiltere, Almanya, Belçika, Hollanda, Japonya olmak üzere Rusya, Moldova ve Ukrayna gibi ülkelere ihraç edilmektedir. Ülkenin elverişli iklim ve işgücü sayesinde Antalya'da başlayan kesme çiçek üretim ve ihracatı diğer bölgelerde de yaygınlaşmış ve "Süs Bitkileri Sektörü" daha çok anılır olmuştur. Antalya İhracatçılar Birliği'nin aktif çabalarıyla dünya botanik fuarı olan Expo 2016 Çiçek ve Çocuk Organizasyonunun Antalya'ya kazandırılmış olması bu konudaki önemli gelişmelerden biridir (Akbaş and Sarvan 2016; Alagöz vd 2006; Demir 2015; Kocabaş and Kaplan 2007).

Bloor (1998) kırmızı/eflatun karanfil çeşitlerinden olan "Kortina Chanel" ve "Purple Torres" karanfilleri ile doğal antosiyanin yapısının aydınlatılması için yaptığı çalışmada, bu karanfillerin tek bir makrosiklik antosiyanin pigmenti içerdiğini bildirmektedir. Bu antosiyanin, malyal grubu her iki şekere de bağlı olan malyal cyanidin 3,5-diglucoside olarak belirlenmiştir. Doğal antosiyanin halkasının, cyanidin açığa çıkacak şekilde kolayca açıldığı görülmüş ve bu kararsızlığının malyal interglycosidic köprünün tabiatından kaynaklandığı bulunmuştur.

Onozaki vd (1999) beyaz karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) çeşitleri arasında çiçek rengi ve pigment kompozisyonları arasındaki farkları araştırmışlardır. Renk analizörü ile yapılan ölçümlerde 13 beyaz karanfil çeşidinin renkleri arasında önemli farklar olduğu görülmüştür. "White Mind", "Kaly" ve "White Barbara" çeşitleri diğer 10 çeşitle karşılaştırıldığında neredeyse saf beyaz olduğu tespit edilmiştir. "White Mind" çeşidinde hiç flavonoid bileşiği bulunmazken, diğer iki çeşitte büyük miktarda naringenin bileşikleri birikmiştir. Diğer normal beyaz çeşitler major flavonoid olarak kaempferol içermektedir. Bu 3 çeşidin kaempferol çeşitleri gibi flavonollerin yokluğundan dolayı saf beyaz renkte olduğu sonucuna varılmıştır.

Sasaki vd (2013) karanfil çiçeğindeki antosiyaninlerin modifikasyon adımlarını anlamadaki son gelişmeleri incelemişlerdir. Karanfiller; gül ve krizantem ile birlikte dünyanın en önemli ticari süs bitkileri arasındadır. Karanfil çiçek renklerindeki varyasyon selektif yetiştirme yoluyla oluşturulmuş ve bu renk varyasyonunun genetiği yarım yüzyıldan fazla çalışılmıştır. Karanfil çiçeğinin siyanik renklenmesi antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Yakın zamanlarda gerçekleştirilen moleküler biyoloji çalışmaları, antosiyanin aglikonlarından pelargonidin ve cyanidin biyosentezinde yer alan enzimleri kodlayan genleri tanımlamıştır. Aglikonlar ya 3- ya da 3,5- pozisyonunda bir glukosil grubunun eklenmesi ile antosiyanine dönüştürülür ve bir malyıl grubu daha sonra 3- pozisyonundaki glukosil grubuna birleştirilir. Anthocyanidin 3,5-diglucoside, 3,5- pozisyonundaki glucosyl gruplarına makrosiklik bir halka oluşturmak için bağlanan bir malyıl grubu tarafından modifiye edilebilir. Yakın zamana kadar, 5- pozisyonundaki malyilasyon ve glucosylasyon mekanizmaları belirsizdi. Şimdi bu mekanizmaya katılan yeni enzimler olduğu bulunmuştur. Çeşitli faktörlerin vakuollerdeki antosiyanin birikimini etkilediği ve böylece çiçeğin rengini de etkilediği artık bilinmektedir.

Terahara and Yamaguchi (1986) karanfil *Dianthus caryophyllus* çiçeğindeki malyillenmiş antosiyaninlerin yapısını incelediği bir çalışmada 400 MHz FT-NMR ile pelargonidin ve cyanidin 3-O-(6-O-malyıl- β -D-glucopyranosides) tespit etmiştir.

Terahara vd (1986) yaptıkları çalışmada *Dianthus caryophyllus* cinsi karanfilin pembe ve kırmızı formlarındaki major antosiyanin pelargonidin 3-malyılglucoside olarak tanımlamışlardır. Buna karşılık olarak *D. deltoides* cinsinin kırmızı çiçeklerinde cyanidin 3-malyılglucoside bulunmuştur. Bu malik asit ile ikame antosiyaninlerin bitkilerde ilk tam karakterizasyonudur.

2.2. Gıdalarda Renk ve Renklendiriciler

Renk, ışığın spektral dağılımı sonucu oluşan görsel bir özelliktir. Pigment olarak adlandırılan ve çeşitli kimyasal yapılarda olan maddeler doğal gıdaların renk kaynağıdır. Meyve, sebze ve çiçeklerin çekicilikleri sahip oldukları bu pigmentlerle ilişkilidir. Gıdaların tüketici tarafından seçiminde ilk izlenim görsel özelliklerle edinilir. Görsel özelliklerin en etkili olanı renktir ve gıdanın tercih edilmesi veya reddedilmesinde önemlidir. Ayrıca gıdaların karakteristik tadının algılanmasında renk ile lezzet arasında pozitif yönde bir ilişki olduğu birçok araştırma ile doğrulanmıştır. Bu sebeple renk ölçümleri gıda bilimcileri ve gıda endüstrisi için önemli ilgi alanlarından (Altuğ 2009; Arıcı vd 2016; Türkyılmaz and Özkan 2014).

Duyusal açıdan renk lezzet üzerinde bir beklenti oluşturmaktadır. Eğitilmiş panelistlere sunulan çikolata aromalı beyaz renkli ve vanilya aromalı kahverengi dondurmaların lezzetleri neredeyse tüm panelistler tarafından ters algılanmış, beyaz renkli dondurmalar vanilyalı, kahverengi dondurmalar çikolatalı olarak değerlendirilmiştir (Anonim 2017; Kırca 2004).

Stillman (1993) 310 eğitimsiz gönüllü panelistler ile yaptığı çalışmada farklı renklerle (kırmızı, turuncu ve sarı) boyadığı ahududu ve portakal aromalı içeceklerde, her iki meyve aromasının algılanmasında da rengin belirgin bir etkisinin olduğunu tespit etmiştir.

Yapılan bir başka araştırmada farklı gıda boyaları ile boyanmış şeftali, kivi, portakal ve üzümü meyve aromalı içeceklerde lezzet ve tatlılık düzeyi üzerine rengin etkisi incelenmiştir. İçecekleri renklendirmek için koşinal (kırmızı), tartrazin (sarı) ve klorofil (yeşil); tatlandırıcı olarak ise sakkaroz kullanılmıştır. İncelenen tüm içeceklerde rengin; tipik aromanın yoğunluğunun algılanmasını etkilediği, portakal aromalı içekte ise tatlı tadın algılanma düzeyini arttırdığı belirlenmiştir (Bayarri vd 2001).

Gıda üretimi ve yeni ürün geliştirme sırasında gıdaların kendine özgü pigmentleri; işleme, depolama ve satış gibi çeşitli aşamalarda ısı, ışık (UV-radyasyon), pH değişimi, oksidasyon, su aktivitesi değişimi ve metal varlığı gibi fiziksel veya kimyasal şartlara bağlı olarak kayba uğramaktadır . Bunun sonucunda renkte solma hatta tamamen renk kaybı görülebilmektedir. Gıda üreticilerinin renklendirici katkı maddelerini ürünlerinde kullanma amaçlarından bazıları aşağıda sıralanmıştır:

1. Isıl işlem uygulaması sırasında (örneğin meyvelerin konserveye işlenmesi) ya da daha sonraki depolama süreçlerinde gıdanın kaybolan doğal renginin geri kazandırılması,

2. Mevsimin değişik zamanlarında elde edilen meyvelerin renk yoğunluğundaki farklılıklar nedeniyle bunlardan elde edilen ürünlerde de ortaya çıkan renk farklılıklarının giderilerek renkte tekdüzeliğin sağlanması,

3. İçecek, sos ya da meyveli yoğurt gibi rengin, tüketiciye; ürünün tat ve aromasını çağrıştırdığı gıdalarda, özellikle ürün renginin beklenenden zayıf olduğu durumlarda rengin yoğunlaştırılması,

5. Gıdalara daha çekici bir görünüş kazandırılması,

6. Gıdanın tanınabilirliğinin sağlanması veya karakterinin muhafaza edilmesi (Anonim 2017; Thorngate 2002).

Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC) renklendiricileri “gıdaların rengini düzelten veya gıdalara renk vermek amacıyla ilave edilen madde” olarak tanımlamaktadır (Altuğ 2009). Gıdanın yanı sıra ilaç, kozmetik, kimya, tekstil gibi sektörlerin gereksiniminin karşılanması amacıyla da birçok renk maddesi kullanılmaktadır. Ancak bu renk maddeleri kimyasal yapıları, elde edildiği kaynaklar, kullanılma özellikleri gibi birçok kimyasal ve fiziksel faktör ile birbirlerinden ayrılmaktadır. Gıda sektörü açısından da bir renklendiricinin gıdalarda kullanımına Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından izin verilmiş olmasının yanı sıra, hangi ürün için kullanımının daha uygun olduğunun da belirlenmesi gerekmektedir. Ülkemizde kullanımına izin verilen renklendiriciler ve bunların kullanılabilir maksimum dozları Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği’nde bulunan Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği ile düzenlenmektedir (EK-1, EK-2 ve EK-3). Genel bir sınıflandırma yapıldığında renklendirici maddeler; elde edilmiş şekillerine göre yapay, doğala özdeş ve doğal renk maddeleri olmak üzere 3 grupta toplanmaktadır (Downham and Collins 2000).

2.2.1. Yapay renk maddeleri

Hemen hepsinin sentezinde başlama maddesi kömür katranı kullanıldığı için yapay renk maddeleri "kömür katranı boyaları-coaltar dyes" olarak da adlandırılmaktadır. Çoğunun yapısında -(N = N)- grubu bulunduğu için bu renklendiriciler azo boyalar olarak da tanınırlar. Yapay renk maddeleri; daha parlak, daha kararlı, daha ucuz olmaları ve istenilen tonları daha kolay sağlamaları gibi üstünlükleri ile doğal renk maddelerine rakip olmaktadır. Ayrıca gıdalarda kolayca homojen olarak dağılabilmekte ve istenmeyen tat-koku değişimlerine de neden olmamaktadırlar (Karaali and Özçelik 1993).

İlk yapay gıda renk maddesi olan “mauve” 1856 yılında Sir William Henry Perkin tarafından geliştirilmiştir. Daha sonra geliştirilen diğer yapay gıda maddeleri dünya çapında geniş bir kullanım alanı elde etmiştir. İlk kullanılan yapay renk maddelerinden bir diğeri olan fenolftaleinin şaraplara katılması ile laksatif etkisi ortaya çıkınca kullanımı yasaklanmış ve yapay renk maddelerinin toksisiteleri çok dikkatle incelenmeye başlanmıştır. Her ülke bu maddelerin kullanımıyla ilgili yönetmelik esaslarını kendileri belirlemektedir. ABD ve Birleşik Krallık’ın izin verdiği yapay renk maddeleri listeleri benzerlik gösterirken, Norveç ve İsveç gibi ülkeler yapay renk maddelerini tüzüklerinde tümüyle yasaklamıştır. Bazı ülkelerde kullanımına izin verilen yapay renk maddeleri, bunların E ve FDA numaraları Çizelge 2.2’de verilmiştir (Downham and Collins 2000; Erdoğan 2007; Miniotti vd 2007; Saldamlı 1998).

Çizelge 2.2. FDA ve Avrupa Birliği tarafından kullanımına izin verilen renk maddeleri

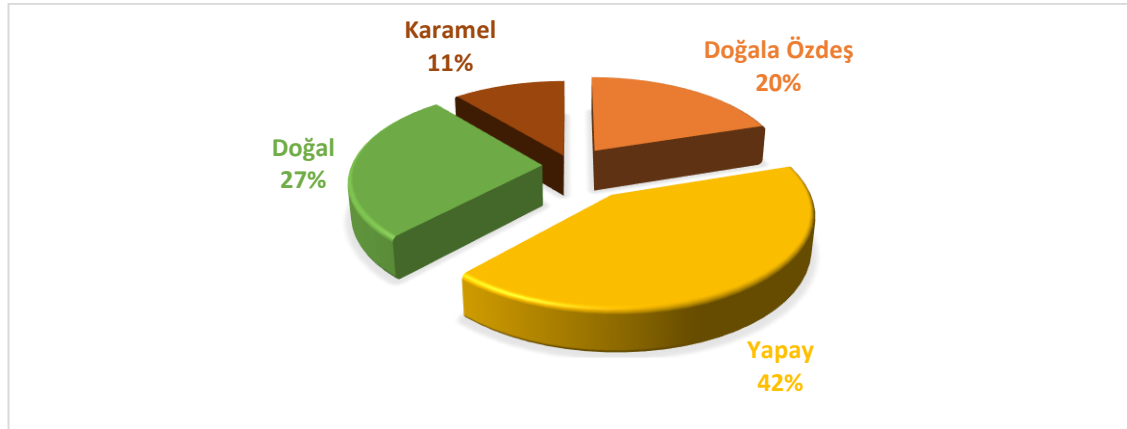
Renk maddesi	Renk	E kodu	FDA numarası	Yasal düzenlemeler				
				AB	ABD	Kanada	Japonya	Türkiye
Eritrosin	Parlak pembe/kırmızı	E127	FD&C Red No. 3	+	+	+	+	+
Brilliant Blue FCF	Turkuaz mavisi	E133	FD&C Blue No.1	+	+	+	+	+
Indigotin	Deniz mavisi	E132	FD&C Blue No. 2	+	+	+	+	+
Tartrazin	Limon sarısı	E102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

Çizelge 2.2'nin devamı

Chocolate brown HT	Çikolata kahvesi	E155	-	+	-	-	-	+
Black PN	Violet siyah	E151	-	+	-	-	-	+

Yapay gıda renklendiricileri yüksek miktarda tüketilmeleri halinde bazı sağlık riskleri oluşturmaktadır. Bu nedenle Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) toksikolojik analizleri sıklıkla tekrarlayarak yeniden düzenleme yapmakta ve belirlenen limitleri güncellemektedir. 1959'da yapay bir anilin boyası olan tartrazin (FD&C Yellow No:5) tüketiminin görme bozukluğu, kaşıntı, rinit, migren, üritker, astım ve aşırı duyarlılık gibi hastalıklara neden olduğunun anlaşılmasıyla bilim insanları gıda boyalarının sağlık üzerine etkilerini tartışmaya başlamışlardır. Yağda çözünen yapıdaki eritrosin (FD & C Red No: 3) ise erkek farelerde tümör oluşumuna, Amaranth'ın (FD & C Red No: 2) embriyo ölümlerine ve böbrekte taş oluşumuna neden olduğu tespit edilince gıdalara katkılanmaları yasaklanmıştır. FD & C Red No:4, Green No:1, Green No:2 ve Violet No:1 de hayvanlarda kanserojen etki gösterdikleri için kullanımı yasaklanan gıda boyalarındandır (Rangan and Barceloux 2009).

Tüketici istekleri ve teknolojinin gelişmesine bağlı olarak gerçekleşen sosyal ve kültürel değişimler, gıda sektöründe kullanılan renklendiricilerin doğal olması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. Dünya genelinde kullanılan gıda boyalarının 2000 yılındaki dağılımı Şekil 2.1.'de verilmiştir (Arıcı vd 2016; Downham and Collins 2000; Miniotti vd 2007).



Şekil 2.1. Dünya genelinde kullanılan gıda boyalarının dağılımı (Downham and Collins 2000)

2.2.2. Doğala özdeş renk maddeleri

Bunlar, doğal kaynaklardan elde edilen maddelerin çeşitli işlemlerden geçirilmesiyle üretilirler. Sentezlenen en yaygın pigmentler, konjüge hidrokarbonlardan oluşan karotenoidlerdir. Karotenoidler oksidasyona ve buna bağlı renk kaybına uğrarlar. Bu etkiyi azaltmak için renk formülasyonları antioksidan sistemler (örneğin tokoferol ve askorbil palmitat) ile geliştirilir. Klorofilin bakır kompleksi veya sodyum-potasyum

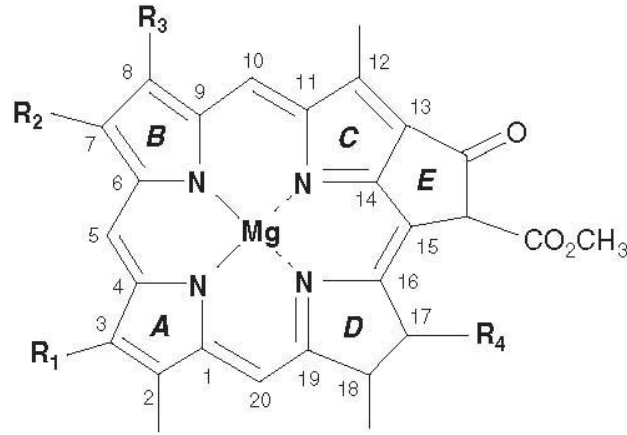
tuzlan da bu sınıfa girmektedir. Şekerin yaklaşık 150 °C'de NaOH, NH₄OH gibi katalistlerle yakılması ile elde edilen karamel bazı kaynaklarda doğala özdeş renk maddesi olarak sınıflandırılırken bazı kaynaklarda ayrı bir sınıf olarak değerlendirilmektedir. Çoğunlukla alkollü ve alkolsüz içeceklerin renklendirilmesinde kullanılan karamel, Türkiye'de endüstriyel ölçekte üretilmektedir. Karamelizasyon işlemi süresince karamellerde 4-(5) metilimidazol (4-Mel), 2-asetil-4(5)-tetrahidroksibütimidazol (THI) ve 5- hidroksimetil furfural (HMF) oluşmaktadır. Karamel markerları adı verilen bu bileşenlerden 4-Mel nörooksik etki gösterirken, bazı *in vitro* çalışmalarda insan karaciğerinde bazı karsinojen bileşikler okside edilmesinde rol oynayan sitokrom P450 enzimini inhibe ettiği belirlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise 4-Mel'ün erkek ve dişi farelerde akciğer kanserini tetiklediği saptanmıştır. THI'ün bağışıklık sistemini baskıladığı, HMF'in ise gözler, solunum sistemi, deri ve mukoz membranlarda iritasyona neden olduğu belirtilmektedir (Cunha vd 2011; Delgado-Vargas and Paredes-López 2003; Downham and Collins 2000; Karaali and Özçelik 1993).

2.2.3. Doğal renk maddeleri

Doğal renklendirici maddeler; bitkisel, hayvansal, mikrobiyal ve mineral kaynaklardan elde edilen renk aralıkları sınırlı pigmentlerdir (Karaali and Özçelik 1993). Annatto, antosiyaninler, bitkisel karbon, kantaksantin, karotenler ve klorofiller organik doğal renklendiricilere; alüminyum tozu, altın, demir oksitler, gümüş, titanyum dioksit ve kalsiyum karbonat da inorganik doğal renklendiricilere örnek olarak verilebilir. Doğal renk maddelerinin birçok fiziksel ve kimyasal etkilere karşı (ısı, ışık, pH) stabilitelelerinin düşük olması ve gıdalarda kullanımlarında çeşitli sorunlar yaşanmasına rağmen, son yıllarda yapılan araştırmalarda sağlık üzerinde olumlu etkileri nedeniyle bu maddelerin kullanımlarının arttığı gözlenmektedir (Anonim 2017).

2.2.3.1. Klorofiller

Klorofiller özellikle sebzeler ve bazı meyvelerde fotosentez sonucu meydana gelen yeşil renkli pigmentlerdir. Klorofiller, forbinlerin magnezyum kompleksi tuzlarıdır ve doğada fitol esterleri halinde bulunurlar. Asit, ısı ve bazı metal iyonlarının etkisiyle çeşitli türevlere dönüşerek, kendine özgü yeşil rengi kaybederler. Zayıf stabiliteleleri ve mat renk tonları nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Klorofil a, b, c1, c2, c3 ve d olmak üzere 6 farklı formu mevcut olup bunların kimyasal yapıları Şekil 2.2'de verilmiştir. Yeşil bitki ekstraktlarının yanı sıra klorofil türev pigmentlerinin çok farklı formları diyet veya medikal amaçlı kullanımlar için üretilmektedir. Özellikle son 50 yıl içerisinde yapılan araştırmalar, klorofillerin yaraların iyileşmesini hızlandırdığını ve immün modülatör özellikler taşıdığını ortaya koymaktadır. Ayrıca geriatri ve ilyostomi hastalarının kötü kokularının giderilmesinde de klorofillerin kullanılabileceği belirtilmektedir (Bechtold and Mussak 2009; Cemeroglu 2004; Delgado-Vargas and Paredes-López 2003; Downham and Collins 2000).



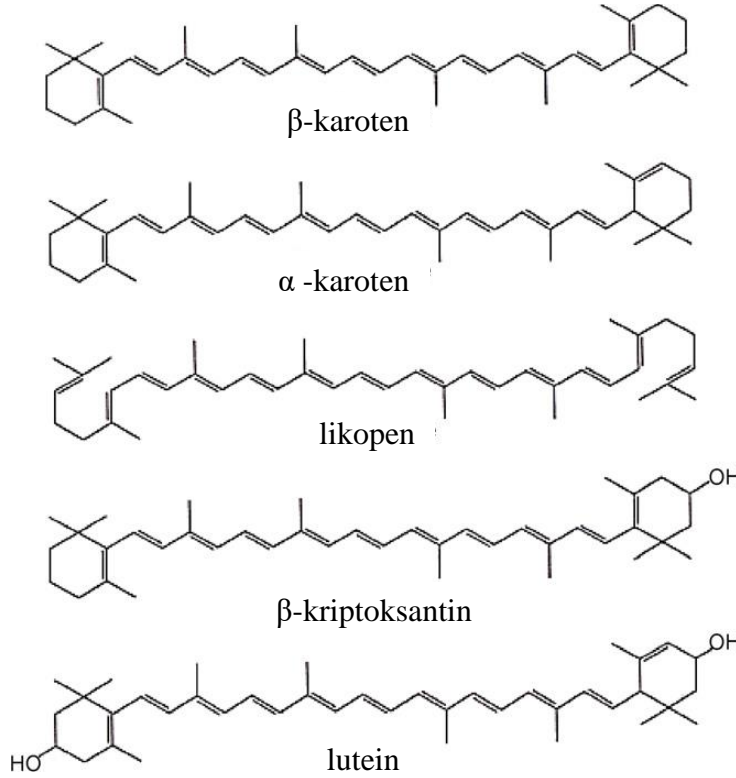
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Klorofil a	CH=CH ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ -COO-C ₂₀ H ₃₉
Klorofil b	CH=CH ₂	CHO	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ -COO-C ₂₀ H ₃₉
*Klorofil c ₁	CH=CH ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ =CH-COOH
*Klorofil c ₂	CH=CH ₂	CH ₃	CH=CH ₂	CH ₂ =CH-COOH
*Klorofil c ₃	CH=CH ₂	COOCH ₃	CH=CH ₂	CH ₂ =CH-COOH
Klorofil d	CH ₀	CH ₃	CH ₂ CH ₃	(CH ₂) ₂ -COO-C ₂₀ H ₃₉

*: Tüm klorofil c'lerde D halkasının 17. ve 18. karbonları arasında çift bağ vardır.

Şekil 2.2. Doğal klorofillerin moleküler yapısı (Bechtold and Mussak 2009)

2.2.3.2. Karotenoidler

Karotenoidler havuç, kabak, mısır, kırmızı biber gibi sebzelere ve kayısı, şeftali, portakal gibi meyvelere sarı, kırmızı, turuncu renklerini veren pigmentlerdir. Karotenoidler yağda çözünürler ve renk vermenin yanı sıra antioksidan özellikleri de vardır. Karotenoidler kimyasal yapılarına göre karotenler (α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin) ve ksantofiller (lutein, zeaksantin, violaksantin, neoksantin, fukoksantin) olarak iki grupta toplanmaktadır. Bazı önemli karotenoidlerin kimyasal yapıları Şekil 2.3'te verilmiştir. Gıdaların renklendirilmesinde en çok kullanılan karotenoid kaynakları; safran, kırmızı biber, bazı yapraklar ve kırmızı palm yağıdır. Karotenoidler gerek insanların ve gerekse de hayvanların beslenmesinde antioksidan özelliğe sahip olmaları nedeni ile son derece önemli gıda bileşenleri arasında yer almaktadır. Ancak, yağda çözünür olmaları, gıda endüstrisinde kullanımlarında yağlarda (margarinler ve tereyağları) veya sulu gıdalarda (içecek ve konserve çorbalar) proteinlerle kompleks oluşturmuş formda ya da koloidal preparatlar halinde kullanımlarını zorunlu hale getirmektedir (Bechtold and Mussak 2009; Cemeroglu 2004; Delgado-Vargas and Paredes-López 2003).



Şekil 2.3. Bazı önemli karotenoidlerin kimyasal yapıları (Rao and Rao 2007)

2.2.3.3. Turmerik

Turmerik Hindistan ve Güneydoğu Asya kökenli Zingiberaceae ailesine mensup olan *Curcuma longa* L. bitkisinden elde edilmekte ve bu renklendirici pigmentler kurkumunoid olarak bilinmektedir. Kurkumunoid bileşimi büyük ölçüde kurkuminden meydana gelmektedir ve bunun yanında az miktarlarda demetoksikurkumin ile bis-demetoksikurkumin bulunmaktadır. Turmerik kökleri kurutulup öğütülerek turmerik tozu elde edildikten sonra turmerik tozlarından çözgen ekstraksiyonu ile oleoresin ve kurkumin elde edilmektedir. Özellikle Avrupa ülkelerinde safranın ucuz bir ikamesi olarak kullanılan turmerik, Hint safranı olarak da bilinmektedir. Önemli bir baharat ve renklendirici olan turmeriğin kullanımının, Asur tabletlerinde M.Ö. 600'lere kadar dayandığı bildirilmektedir. Gıdalara sarı renk veren turmerik, antimikrobiyel özellik taşıması nedeniyle de önem taşımaktadır. Suda çözünmeyen ancak etanolde çözünen kurkuminin, gıdalarda kullanımını kısıtlayan en önemli etmen ışığa karşı hassas olmasıdır (Altuğ 2009; Bechtold and Mussak 2009; Downham and Collins 2000).

2.2.3.4. Marigold

Marigold (kadife çiçeği) terimi papatyagillerden altın sarısı çiçeği olan birçok bitki türünün ortak ismi olarak kullanılmaktadır. Meksika ve Orta Amerika'ya özgü Aztek kadife çiçeği olarak bilinen *Tagetes erecta* L., sıcak ve düşük nemli iklimlerde yetişen tek yıllık bir bitkidir. Marigoldun renklendirici bileşenlerinin büyük kısmını (%78-80) bir asimetrik karotenoid olan lutein oluşturmaktadır. Lutein her bir iyonon halkasında bir hidroksil grubu taşımaktadır. Bu hidroksil grubu bitki hücrelerinde yağ asitleri ile esterleşebilmektedir. Örneğin kadife portakal çiçeğinin serbest lutein içermediği ancak

birçok esterleşmiş lutein formu içerdiği bildirilmektedir. Lutein sarı renk vermekte ve suda çözünmeyip yağda çözünmektedir. Isı, ışık ve kükürt dioksidi karşı stabildir, oksidasyona karşı da diğer birçok karotenoidden daha stabil olduğu bildirilmiştir (Altuğ 2009; Bechtold and Mussak 2009).

2.2.3.5. Monascus

Monascus karbonhidratça zengin ortamlarda yetişen, taze, kurutulmuş veya diğer gıdaların içine ilave edilerek tüketilen bir mantar türüdür. Poliketid yapısındaki pigmentler sarı (monaskin ve ankaflavin), turuncu (monaskorubin ve rubropunktamin) ve kırmızı (monascorubramin ve rubropunktamin) renklindedir. Kırmızı rengin asıl kaynağı *M. purpureus*'tur (Bechtold and Mussak 2009).

2.2.3.6. İridoidler

İridoid içeren 70 kadar farklı bitki ailesi olduğu bilinmektedir. Bunlardan Safran (*Crocus sativus* L.) ve yasemin meyvesi (*Gardenia jasminoides* Ellis) iridoid içeren bitkilerden çok bilinenleridir. Ancak bu bitkilerin renkleri büyük ölçüde karotenoidlerden kaynaklanmaktadır. İridoidler; gıdalara kırmızı, sarı, mavi ve yeşil renkleri vermesi nedeniyle önemli bir gıda renklendirici grubudur. İridoidler şekerlemeler, tatlılar, dondurma, eriştelere, havyar, likör, fırınlanmış gıdalar gibi çok çeşitli gıdaların renklendirilmesinde kullanılmaktadır. Safran suda çözünebilmekte ve sarı renk vermektedir ancak yüksek maliyetinden dolayı kullanımı kısıtlıdır (Bechtold and Mussak 2009; Delgado-Vargas and Paredes-López 2003; Downham and Collins 2000).

2.2.3.7. Karmin

Karmin, koşinal (*Dactylopius coccus*) böceklerinden elde edilen bir renk maddesidir. Koşinal böcekleri Güney Amerika ve Meksika'da *Opuntia* cinsi kaktüslerin üzerinde parazit olarak yaşamaktadır. Diğer böceklerden korunmak amacı ile sentezledikleri karminik asit, kırmızı renkli boya üretiminde kullanılmaktadır. Boya eldesi için yaklaşık doksan günlük dişi böcekler sıcak su içerisine batırılıp, güneş ışığına maruz bırakılmakta veya fırın içerisinde kurutulmuş boya elde edilmektedir. Ortalama 1 kg karmin elde edebilmek için yaklaşık 155.000 adet böcek kullanıldığı aktarılmaktadır. Koşinal boyasının iki önemli formu bulunmaktadır. Bunlar; koşinal özü ve karmindir. Bunlardan karmin, yaklaşık %20'si karminik asit olan koşinal özütünün yoğunlaştırılması ile elde edilen konsantre bir boyadır. Kimyasal formülü $C_{22}H_{20}O_{13}$ olan karmin, 7-D-glukopiranozil- 3, 5, 6, 8-tetrahidroksi 1- etil-9-10- dioksoantrasen-2-karboksilik asit yapısında olup, antrakinin sınıfına dahil bir renklendiricidir. Karminik asit suda çözünebilmektedir ve renk tonu çözelti pH'sına bağlıdır. Bu madde asidik çözeltilerde turuncu alkali çözeltilerde menekşe rengindedir ve pH arttıkça renk kırmızıya dönmektedir. Karminik asit metaller ile kompleks oluşturabilmekte ve alüminyum ile kompleks oluşturması sonucunda daha dayanıklı olan karmin elde edilmektedir. Karmin asidik çözeltilerde çözünmezken alkali çözeltilerde çözünmektedir. Bu madde ısı, ışık ve oksidasyona karşı oldukça stabildir. pH 4'te kırmızı renk verirken pH 10'da mavi-kırmızıya renk vermektedir. Karmin, özellikle sosis, sucuk, pastırma, salam ve işlenmiş kümes hayvanı gibi et ürünleri ile çeşitli meyve preparatlarında, reçel ve marmelatlarda, jelatinli tatlılarda, pasta ve fırın ürünlerinde, dondurmalarda, şekerlemelerde ve çeşitli süt ürünlerinde renklendirici olarak kullanılabilir. Koşinal (*Dactylopius coccus*)

böceklerinden elde edilen karmin, gerek Müslümanların gerekse de Musevilerin dini inançları nedeni ile şüpheyle yaklaştıkları bir gıda katkı maddesidir. Bu maddenin, özellikle Musevilerden ‘Kosher Sertifikası’ alamadığı için ticari olarak önemli bir engelle karşı karşıyadır (Altuğ 2009; Anonim 2006, 2010; Downham and Collins 2000).

2.2.3.8. Betalainler

Betalamik asidin amonyum türevleri olan betalainler, betasiyaninler (kırmızı-mor) ve betaksantinler (sarı) olmak üzere başlıca iki gruba ayrılır. Bunlar gıda sektöründe 20. yüzyıldan beri kullanılmakla birlikte, çok daha eski dönemlerde de betanın içeren şekeriboyası (pokeberry) sularının, kırmızı şarabın rengini çekici hale getirmek için kullanıldığı ortaya çıkmıştır. Bitki hücrelerinin vakuollerinde bulunan betalainler, suda çözünen pigmentlerdir. Renkleri antosiyaninlere benzemekle birlikte, antosiyaninlerin aksine betalainlerin renkleri pH’ya bağlı olarak değişiklik göstermezler. Ancak ortamın pH değeri stabiliteleri üzerine etkilidir. Antosiyanin ve betalain pigmentleri arasındaki bazı farklılıklar Çizelge 2.3’te verilmiştir (Cemeroglu 2004; Delgado-Vargas and Paredes-López 2003).

Çizelge 2.3. Antosiyanin ve betalain pigmentleri arasındaki bazı farklılıklar (Delgado-Vargas and Paredes-López 2003)

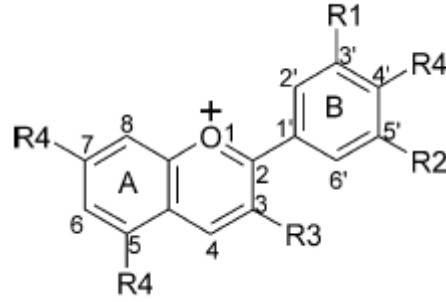
Test	Antosiyanin	Betalain
KOH ve NaOH ilavesi	Renk mavi yeşile döner	Renk sarıya döner
Elektroforez	Katota doğru yönelir	Anota doğru yönelir
Sıcak sulu HCl ilavesi	Renk stabil	Renk bozulur
Amil alkol ile ekstraksiyon	Evet, düşük pH’larda	Hayır
İnce tabaka kromatografisi: <i>n</i> -bütanol-asetik asit-su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

2.2.3.9. Antosiyaninler

Ticari olarak tüketilen doğal renk maddelerinin en önemlisi antosiyaninlerdir. Kelime kökeni Yunanca olup ‘anthos-çiçek’ ve ‘kyanos-mavi’ anlamına gelen kelimelerin birleşimidir. Bitkilerde en çok bulunan pigmentlerden olması nedeniyle birçok yapay renklendiriciye alternatif olabilmektedir. Meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, eflatun (viole), mavi ve mor tonlarındaki renklerini veren doğal renk maddeleri olan antosiyaninler; suda çözünürler ve şekerlerle glikozit formda bulunurlar. Antosiyaninlerin şeker olmayan aglikon kısmını fenolik bileşikler olan antosiyanidinler oluşturmaktadır. Aglikondaki –OH grubu sayısı arttıkça mavilik, -OCH₃ grubu sayısı ve glikosillenme arttıkça kırmızılık artmaktadır. Başlıca antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin ve malvidindir. Antosiyanidinlere ramnoz, ksiloz, glukoz, galaktoz ve arabinoz gibi şekerlerden biri veya ikisi bağlanabilir. Doğada 16 farklı antosiyanidine bu şekerlerin bağlanması ile çok farklı renkte antosiyaninler oluşmaktadır. Antosiyaninler diğer bazı fenolik bileşiklerle açillenmiş halde de bulunabilmektedirler. Doğada yaygın olarak bulunan antosiyanidinler

ve bazı yapısal özellikleri Şekil 4'te gösterilmiştir (Altuğ 2009; Cemeroglu vd 2001; Kong vd 2003).

Antosiyanin pigmentinin flavilyum çekirdeğinde bir elektron eksik olduğundan çok reaktiftir (Şekil 2.4). Bu durum pigment renginin açılmasına sebep olmaktadır. Antosiyaninlerin rengi sadece kimyasal yapısına bağlı olarak değil; bulunduğu ortamın pH derecesi, konsantrasyonu, kopigment varlığı gibi faktörlere bağlı olarak da değişebilmektedir. Antosiyaninlerin renk tonu ve yoğunluğu üzerine en etkili faktör pH'dır. Çoğu antosiyoninin rengi ortamın pH değerine bağlı olarak bir indikatör gibi değişim gösterir. Antosiyoninler asidik ortamda açık kırmızı, nötr ortamda mor, alkali ortamda mavi-yeşil-menekşe, yüksek alkali ortamda mavi rengi alır. Bu nedenle aynı antosiyanin çeşitli bitkisel dokularda farklı renkte olabilmektedir (Altuğ 2009; Hepsağ vd 2012).



Antosiyanidin	Bağlı grup ve pozisyonu							Renk
	3	5	6	7	3'	4'	5'	
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Somon
Siyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Koyu kırmızı
Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Morumsu kırmızı
Delfinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mor, leylak ya da mavi
Petunidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Mor
Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Mor

Şekil 2.4. Flavilyum katyonu ve bazı yaygın antosiyanidinlerin yapısal özellikleri (Kong vd 2003)

Uzun yıllardan beri, antosiyaninler gıdalara doğal renklendirici olarak eklenmektedir. Örneğin, şarabın rengini koyulaştırmak için eski zamanlarda Romalıların renkleri yoğun meyveleri tercih ettikleri bilinmektedir. Antosiyoninlerin renklendirici olarak kullanımının gün geçtikçe artışı; gıdaya ilgi çekici bir renk kazandırması, suda çözünebilir olması ve bunların yanı sıra sağlık açısından faydalarının bulunması ile ilişkilidir. Suda çözünebilmeleri, sulu gıda sistemlerinde kullanımlarını kolaylaştırmaktadır. Anti-iltihabik, anti-diyabetik, anti-tümör, anti-ülser özellikleriyle beraber; damar koruyucu ve UV radyasyona karşı koruyucu etkileri rapor edilmiştir. Antosiyaninler antioksidan özelliğe de sahip olup bu özellikleri C ve E vitaminlerinden daha fazladır. Bu bileşenler, yapılarındaki hidrojen atomunu vererek serbest radikalleri etkisiz hale getirdikleri için anti-kanserojen özellik göstermektedir. (Bechtold and Mussak 2009; Castaneda-Ovando vd 2009; Espin vd 2000; Giusti and Wrolstad 2003; Longo and Vasapallo 2006; Sass-Kiss vd 2005).

Antosiyaninler çok çeşitli bitkisel kaynaklardan ekstraksiyon ile elde edilmektedir. Ekstraksiyon yöntemi; antosiyaninlerin yapısı ve stabilitesini etkileyecek faktörler göz önünde bulundurularak uygun bir ekstraksiyon yöntemi seçilir. Antosiyanin bazlı renklendirici elde etmek amacıyla yapılan ekstraksiyonlarda; maksimum pigment verimi, renk yoğunluğu ve stabilite hedeflenmektedir. Antosiyaninler nötre yakın ve alkali pH'larda stabil olmadığı için ekstraksiyon asidik çözeltilerle gerçekleştirilir. Antosiyanin ekstraksiyonunda yaygın olarak az miktarda mineral asit içeren düşük kaynama noktalı bir alkol kullanılır. Gıdaya katılanacak antosiyaninlerin eldesinde metanole göre ekstrakte etme gücü daha düşük ve kaynama noktası daha yüksek olmasına rağmen toksik olmadığı için etanol tercih edilmektedir. Kompleks yapıdaki pigmentin doğal formunu değiştirebildiğinden dolayı, asitlendirici olarak ya çok düşük konsantrasyonda HCl asit ya da zayıf organik asitler kullanılmaktadır. Ekstraksiyon sonrası çözgen düşük sıcaklıklarda buharlaştırılarak uzaklaştırılmakta ve gerekirse konsantrat kromatografik tekniklerle saflaştırılmaktadır (Anonim 2015). Antosiyaninlerin ekstraksiyonu, stabilize edilmesi, saflaştırılması ve renklendirici olarak kullanılması ile ilgili alınmış birçok patent mevcuttur (Bhaskaran and Mehta 2007; Crosby vd 1984; Hilton vd 1982; Mane vd 2013; Wallin 1980).

Mojica vd (2017) siyah fasülye antosiyaninlerince zengin ekstraktların doğal gıda renklendiricisi olarak kullanımıyla ilgili bir araştırma gerçekleştirmiş ve siyah fasülyeden antosiyanin ekstraksiyonunu optimize etmeyi, fizikokimyasal kararlılıklarını ve antidiabet potansiyelini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Optimum ekstraksiyon koşulları %24 etanol, 1:40 katı-sıvı oranı ve 29 °C sıcaklık olarak belirlenmiştir. Delphinidin-3-0-glukosid, petunidin-3-0-glukosid ve malvidin-3-0-glukosid olmak üzere üç antosiyanin tanımlanmıştır. Siyah fasülye antosiyaninleri pH 2,5'ta ve 4 °C sıcaklıkta %89,6 stabilite göstermiş, yarılanma süresi 277 gün olarak hesaplanmıştır. Siyah fasülye antosiyaninlerince zengin ekstraktlar; α -glukosidaz, α -amilaz, dipeptidil peptidaz-IV, reaktif oksijen türlerini sırasıyla % 37,8, % 35,6, % 34,4, % 81,6 inhibe etmiş ve glikoz alımını azaltmıştır. Siyah fasulyenin, antidiyabet potansiyeli olan doğal kaynaklı gıda renklendirici olarak kullanılacak antosiyaninlerin ve diğer fenoliklerin iyi bir kaynağı olduğu değerlendirilmiştir.

Weber vd (2017) kopigmentasyonun, püskürtmeli kurutulmuş böğürtlen antosiyaninlerin stabilitesi üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada; rutin ve ferulik asidin, antosiyanin kaybını azalttığını ve yarılanma süresini uzattığını belirlemiştir.

Arıcı vd (2016) atık lalelerin taç yapraklarının alternatif bir gıda renklendiricisi olarak kullanım potansiyeli üzerine bir araştırma yapmıştır. Gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları sonucunda, %35 etanol- %65 su karışımı içeren solventte 54 °C'de 116 dakika süreyle ekstraksiyon yapılmasına karar verilmiştir. Farklı sıcaklıklarda (60-90 °C) ve pH değerlerinde (2; 4 ve 6) stabilizasyon çalışmaları yapılmış, sıcaklık ve pH değerindeki artışın antosiyaninlerin degradasyonunu da artırdığı tespit edilmiştir.

Mol (2016) kırmızı lahanaya antosiyaninlerinin demir ile şelatlanarak mavi doğal renklendirici elde edilmesi ve bu renklendiricinin püskürtmeli kurutulmada enkapsülasyon yöntemi ile stabilitesinin artırılması üzerine bir yüksek lisans tez çalışması gerçekleştirmiştir. Bu çalışma sonucunda, antosiyanin tozları için enkapsülasyon verimliliği %84,45; antosiyanin tutulma oranının %82,47 olarak hesaplanmıştır. Model

sistemlerde mavi renk 25 °C'de 17. günde, 35 °C'de 5. günde , ve 45 °C'de ise 3. günde kaybolmuştur. Mavi renk kaybının tüm model sistemlerde sıcaklık arttıkça ve pH düştükçe hızlandığı gözlemlenmiştir. Enkapsülasyon uygulamasının mavi renklendirici stabilitesini arttırdığı ve mavi renk kaybının birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği belirlenmiştir. Mavi rengi en çok koruyan örneğin 25 °C'de depolanan ve pH değeri 6,0 olan toz renklendirici ile hazırlanmış model sistem olduğu görülmüştür. Bu model sistemin depolama boyunca toplam renk değişimi (ΔE) 3,34; reaksiyon hız sabiti (k) 0,0289 ; aktivasyon enerjisi (E_a) 90,79 kJ mol⁻¹ ve yarılanma süresi ($t_{1/2}$) 23,9 gün olarak hesaplanmıştır.

Chung vd (2016) model içeceklerle gerçekleştirdikleri çalışmada, doğal quillaja saponinin ve polifenollerin antosiyaninlerin renk kaybı üzerine inhibe edici etkisini incelemişlerdir. Polifenol ilavesi renk kaybını geciktirirken, en dikkate değer gelişme yeşil çay ekstraktı ilave edilen model içekte tespit edilmiştir.

Karasu vd (2015) potansiyel doğal renklendirici kaynağı olarak lale ve gelincik çiçeklerinin taç yapraklarındaki antosiyaninlerin ve diğer fenolik bileşiklerin termal degradasyon ve kurutma kinetiklerini araştırmışlardır. Kurutma işlemi 45,55 ve 65 °C sıcaklıklarda hem fırında hem de vakum altında gerçekleştirilmiştir. Vakum kurutmanın fırında kurutma işlemine göre daha iyi kuruma oranı sağladığı, 55 °C'de gerçekleştirilen vakum kurutmanın antosiyanin içeriğini korumada en uygun kurutma koşulu olduğu belirlenmiştir. Toplam renk farkı kurutma sıcaklığına bağlı olarak belirgin şekilde değişmiş, en düşük fark 45 °C'de kurutulan lale taç yaprakları ve 65 °C'de kurutulan gelincik taç yapraklarında görülmüştür.

Tan vd (2014) *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn yapraklarının potansiyel bir doğal gıda renklendiricisi olarak kullanılmasıyla ilgili bir çalışma yapmıştır. Düşük asit veya nötr pH'da kararsız olan antosiyaninlerin, pH değişiminden daha az etkilendiği için birden fazla açillenmiş gruba sahip olanları gıda renklendiricisi olarak daha yaygın olarak tercih edilmektedir. Böyle bir kaynak olan *Rhoeo spathaceae*(Swartz) Stearn yaprakları, kaynatılarak özü alınıp oral yolla tüketilen geleneksel bir bitkidir. Bu çalışmada *R. Spathacea* ekstraktının mor-kırmızı renginin stabilitesi pH 1,0 – 11,5 aralığında oda koşullarında ve soğutulmuş koşullarda, ışıklı ve ışısız ortamda olmak üzere 60 gün süreyle test edilmiştir. Ayrıca katı gıda (jöle) ve sıvı gıda (arpa suyu) modellerinde 1 ay boyunca renk stabilitesi izlenmiştir. Rengin; asidik pH'da oldukça kararlı, gıda modellerinde ise tamamen stabil olduğu görülmüştür. *R. spathacea* yapraklarından primer antosiyanin olarak rhoeonin izole edilmiş ve NMR kullanılarak tanımlanmıştır.

Çimen (2013) yüksek lisans tezinde kırmızı gül yapraklarından farklı ekstraksiyon yöntemleri ile doğal boyarmadde eldesi ve tekstil alanında uygulanabilirliği üzerine bir çalışma yapmıştır. Pigment kaynağı olarak seçilen kırmızı gül çiçeğinden maksimum boyama verimi, boyama kuvveti ve stabilite sağlanması ve ayrıca ekstraksiyon veriminin artırılması, boyarmadde bozunmasının en aza indirilmesi, minimum sürede ve düşük maliyetli olarak boyanın elde edilmesi için kullanılacak ekstraksiyon yöntemi ve koşullarını bir çok çalışma yaparak belirlemişlerdir. Çalışmalarının temelini, elde edilen boyarmaddenin tekstil alanında kullanılması oluştursa da gıdalarda kullanılabilirliğinin incelenmesi adına ısıya, UV ışığa, pH'a, ingirgen ve yükseltgenlere karşı direncini ve hava oksijeninin etkisini de araştırmışlar ve ısıya, UV ışığa, hava oksijenine direçli;

ingirgen ve yükseltgenlere karşı dirençsiz olduğunu, çözücü karışımıyla hacmine tamamlandıktan sonra rengin eski haline geldiğini tespit etmişlerdir.

Sağdıç vd (2013) atık lale çiçeklerinden elde edilen antosiyanin bazı ekstraktların gıda ve ilaç renklendirici olarak kullanım potansiyelini araştırmışlardır. Bu amaçla atık lale çiçeklerinden elde edilen ekstraktların biyoaktif özellikleri ve sitotoksiteleri analiz edilmiştir. Bordo (126,55 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ekstrakt) ve turuncu-kırmızı (113,76 mg GAE/g kuru ekstrakt) lale ekstraktlarının toplam fenolik içeriği diğer lale çiçeklerinkinden daha yüksek bulunmuştur. Eflatun, turuncu-kırmızı, bordo ve pembe lale çiçeklerinden elde edilen ekstraktların toplam antosiyanin düzeyleri sırasıyla 265,04, 236,49, 839,08 ve 404,45 mg pelargonidin 3-glucoside/kg kuru ekstrakt olarak bulunmuş ve bu değerlerin de diğer çiçeklerden yüksek olduğu belirlenmiştir. Ekstraktların; *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* bakterilerinin inhibisyonunda diğer test edilen bakterilerinkinden daha etkili olduğu görülmüştür. Buna ek olarak beş farklı lale çiçeği ekstraktının, insan göğüs adenocarcinoma (MCF-7) hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiştir. Sonuçlar; turuncu-kırmızı, pembe ve eflatun ekstraktların MCF-7 hücre hatlarına karşı sitotoksik aktivitesi olmadığını ancak sarı ve bordo ekstraktların hücreler için toksik olduğunu göstermiştir. Genel olarak farklı renk lalelerden elde edilen ekstraktların dikkat çekici biyoaktif ve sitotoksik özelliklere sahip olduğu görülmüştür.

Buchweitz vd (2013) ferrik antosiyanin şelatlarının polisakkarit ve jelatin bazı jellerde doğal mavi gıda renklendiricisi olarak kullanım olanaklarını inceleyip, ferrik antosiyanin şelatlarının gıda matrislerine başarılı bir şekilde uygulandığını ve umut verici doğal mavi gıda renklendiricisi potansiyeli olduğunu belirtmişlerdir.

Bayram (2012) yüksek lisans tezinde yenilebilir bazı çiçeklerden biyoaktif ekstrakt ve doğal gıda boyası üretimi üzerine bir araştırma sunmuştur. Gelincik, kırmızı lale, gül ve roselle çiçeklerinden elde edilen antosiyanin bazı ekstraktların ısıl stabiliteilerinin ve bazı biyoaktif özelliklerinin belirlendiği bu çalışmada en yüksek fenolik madde içeriği kırmızı laleden elde edilen ekstraktan tespit edilmiştir. En yoğun antosiyanin miktarı ve en yüksek antiradikal kapasite gelincikten elde edilen ekstrakta görülmüştür. En yüksek antioksidan kapasiteye kırmızı laleden elde edilen ekstraktın, en yüksek antimikrobiyal aktiviteye ise roselle ekstraktının sahip olduğu belirlenmiştir. pH 3.5 değerindeki tampon çözeltilerdeki ısıl stabiliteileri incelendiğinde roselle ekstraktının en hassas, gelincik ekstraktının ise ısıya en karşı en stabil antosiyaninleri içerdiği anlaşılmıştır.

Ekici (2011) doktora tez çalışmasında siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuklarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen antosiyanin bazı ekstraktların stabiliteilerinin ve bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi ayrıca bazı gıdalarda renklendirici olarak kullanılabilme imkanlarının araştırılması üzerine bir çalışma gerçekleştirmiştir. Uygulanan ekstraksiyon yönteminin ve kullanılan çözümlerin ekstraktların toplam fenolik madde ve antosiyanin miktarları, antiradikal ve antioksidan aktiviteleri üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Ekstraktların antimikrobiyal etkisi ise toplam 15 farklı mikroorganizma üzerinde denenerek %0,1 HCl ile asitlendirilmiş etanol su karışımı ekstraktlarının, su ekstraktlarından daha yüksek bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ekstraktlar arasında da genel olarak üzüm kabuğu ekstraktlarının

en yüksek antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Antosiyanin bazlı ekstraktların ısıl stabiliteleri hem pH değeri 3 ve 4 olan tampon çözeltilerde hem de elma sularında incelenmiş, tampon çözeltilerde de elma sularında da ısıl stabilitesi en yüksek ve en düşük ekstraktların sırası ile kırmızı lahana ekstraktları ve üzüm kabuğu ekstraktları olduğu anlaşılmıştır. Araştırmada, ayrıca çözgen olarak %0,1 HCl ile asitlendirilmiş etanol su karışımının kullanıldığı, klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen antosiyanin bazlı ekstraktlar elma suyu, dondurma, şekerleme ve çemenin renklendirilmesinde kullanılmıştır. Antosiyanin bazlı ekstraktların, elma suları ile dondurmalara fonksiyonel özellik kattıkları saptanmış ve bu örneklerde, özellikle siyah havuç ekstraktları ve üzüm kabuğu ekstraktlarının duyusal anlamda beğenildiği tespit edilmiştir. Çemen örneklerinin renklendirilmesinde siyah havuç ekstraktı ve kırmızı lahana ekstraktı, şekerlemelerde ise siyah havuç ekstraktı ve üzüm kabuğu ekstraktının başarı ile kullanılabilceği belirlenmiştir.

Srivastava and Vankar (2010) 'ın yaptığı çalışmada *Canna indica L.* (Cannaceae)'nin kırmızı çiçekleri kullanılmıştır. Sonikatör kullanılarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiş ve antosiyaninler izole edilmiştir. Quercetin ve lycopene dışında dört antosiyanin pigmenti izole edilmiştir. Bunlar Cyanidin-3-O-(6''-O- α -rhamnopyranosyl)- β -glucopyranoside, Cyanidin-3-O-(6''-O- α -rhamnopyranosyl)- β -galactopyranoside, Cyanidin-3-O- β -glucopyranoside ve Cyanidin-3-O- β -galactopyranoside'dir. Bu bileşikler HPLC kullanılarak izole edilmiş ve sonrasında spektroskopik analizler (H NMR, C NMR, HMQC, HMBC, ESI-MS, FTIR, UV-Visible vb.) ile yapıları belirlenmiştir. İzole edilen bileşikler iyi bir antioksidan etki göstermiştir, dolayısıyla gıda renklendiricisi ve nutrasötik olarak kullanımı uygun bulunmuştur.

Kırca (2004) yüksek lisans tez çalışmasında 70-90 °C ve 4-37 °C sıcaklık aralıklarında, siyah havuç suyu ve konsantrelerinde antosiyaninlerin ısıl stabilitesi araştırmıştır. Ayrıca, siyah havuç antosiyaninlerinin çeşitli meyve suları ve nektarları ile çilek marmelatlarında ısıl stabilitesini de incelemiştir. Kinetik veriler, siyah havuç antosiyaninlerinin degradasyonunun incelenen tüm ortamlarda birinci derece reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiğini göstermiştir. Sıcaklık ve briks derecesi arttıkça, siyah havuç suyu ve konsantrelerinde antosiyaninlerin ısıl degradasyon hızlarının arttığı saptanmıştır. 70-90 °C sıcaklık aralığında, $t_{1/2}$ değerleri 10,8 °Briks için 16,7 ile 5,0 saat, 30 °Briks için 16,9 ile 4,5 saat, 45 °Briks için 14,8 ile 3,2 saat ve 64 °Briks için 14,4 ile 2,3 saat arasında sıralanmıştır. Depolama süresince briks derecesi azaldıkça, antosiyaninlerin degradasyon hızlarının arttığı saptanmıştır. 30, 45 and 64 °Briks derecesindeki örnekler için $t_{1/2}$ değerleri sırasıyla, 4 °C' de 71,7-4,1 hafta, 20 °C' de 85,9-4,5 hafta ve 37 °C' de 214,8-3,9 hafta arasında değişiklik göstermiştir. Aktivasyon enerji değerleri, 10,8-64 °Briks derecesindeki örnekler için, 70-90 °C aralığında 62,5 ile 95,1 kJ mol⁻¹, 4-37 °C aralığında ise 62,1 ile 86,2 kJ mol⁻¹ aralığında değişmiştir. Siyah havuç antosiyaninlerinin ısıl degradasyonunun portakal suyunda en yüksek düzeyde gerçekleştiği gözlenmiştir. Siyah havuç antosiyaninlerinin 20 °C' deki degradasyon hızları ise en düşüğe doğru sırasıyla üzüm suyu, mandarin suyu, elma suyu, şeftali nektarı, limon suyu, kayısı nektarı, ananas nektarı, greyfrut suyu, portakal suyu şeklinde sıralanmıştır. Kinetik veriler, antosiyanin içeren meyve suyu ve nektarlarına siyah havuç suyu konsantresi eklenmesinin, antosiyaninlerin stabilitesini arttırdığını göstermiştir.

Antosiyaninlerin çeşitli bitkisel materyallerden ekstraksiyonu üzerine günümüze kadar pek çok çalışma yapılmıştır. Meyve, sebze gibi hammaddelerin kullanımının yanı sıra çiçeklerden de antosiyanin pigmentini ekstrakte etmek mümkündür. Toksikolojik olarak incelenmiş ve yenilebilir olduğu tanımlanmış çiçekler bunun için önemli kaynaklardır. Kabul edilebilir lezzette ve yenilebilir olan yaklaşık 100 çeşit çiçek vardır. Papatya, aynısefa, ebegümece, melisa, karahindiba, gülhatmi, leylak, nane, menekşe, adaçayı, gül ve karanfil bunların en bilinenleridir (Gegner 2004).

Literatürde yer alan tüm bu çalışmalar incelendiğinde doğal renklendiricilere olan ilginin giderek arttığı görülmektedir. Dolayısıyla doğal gıda renklendiricisi elde etmek için kullanılmak üzere yeni hammadde arayışı da artmaktadır. Bu çalışmada atık karanfil çiçeklerinin yeni bir antosiyanin kaynağı olma potansiyeli araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışma materyalini, yaygın olarak üretimi yapılan kesme karanfil çiçeği (*Dianthus caryophyllus L*) taç yaprakları oluşturmuştur. Üretim sırasında ortaya çıkan ve ticari değeri olmayan atık niteliğindeki karanfil çiçekleri 2016 ve 2017 yılı kesme çiçek üretim sezonu içerisinde Antalya'nın Kepez ilçesindeki Altınova semtinde bulunan bir üreticiden taze olarak doğrudan temin edilmiştir. Karanfil çiçekleri doğal renklendirici üretiminde ve hammadde karakterizasyonunda kullanılmak üzere en fazla 1 hafta +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Analizlerde kullanılan hidroklorik asit (%37), fosforik asit (kromatografik saflıkta) VWR International firmasından; sodyum asetat trihidrat, asetik asit (kromatografik saflıkta), etanol (analitik saflıkta), asetonitril (kromatografik saflıkta), potasyum klorür Sigma-Aldrich firmasından, potasyum metabisülfid ve trifloroasetik asit Merck firmasından temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Karanfil çiçeklerinin temini

Karanfil çiçeği üretimi sırasında seradan çiçek kesimi yapılırken uygun boy ve tomurcuk açıklığındaki çiçekler seçilerek kesilmektedir. Kısa boylu, kırık saplı veya tomurcuğu fazla açılmış çiçekler serada kalmakta ve tüm kesim işlemleri tamamlandıktan sonra sökülüp atılmaktadır. Kesimi yapılan çiçeklerin buket haline getirilmesi aşamasında da yine atık çiçekler ortaya çıkmaktadır. Üretimin bu iki aşamasında atık olarak ayrılan çiçeklerin bu çalışma kapsamında kullanılmasına karar verilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kesimden sonra serada kalan atık durumunda çiçekler (Solda), buketlenmiş çiçekler (ortada) ve buketleme sırasında atık olarak çıkan çiçekler (sağda)

Hammadde seçimi yapılmak üzere “Osiris” (mor), “Radiant” (yavruağzı), “Euforia” (açık pembe), “Hot Pink” (koyu pembe) ve “Chateau” (bordo) çeşitlerine ait atık karanfil çiçekleri ayrı ayrı temin edilerek, antosiyanin içeriklerinin belirlenmesi için hasat günü içerisinde laboratuvara getirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Bu çiçeklerin yoğun olarak antosiyanin içeren taç yaprakları ayrılarak (Şekil 3.2) geri kalan kısımları atılmış ve her bir çeşidin antosiyanin içeriğinin belirlenmesinde bu taç yapraklar kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Sap, tabla ve çanak yapraklarından ayrılmış karanfil taç yaprakları. (soldan sağa; ‘Osiris’ (mor), ‘Radiant’ (yavruağzı), ‘Euforia’ (açık pembe), ‘Hot Pink’ (koyu pembe) ve ‘Chateau’ (bordo))

3.2.2. Ekstraktların elde edilmesi

Karanfil çiçeğinin taç yapraklarından antosiyanin ekstraksiyonu işlemi için zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu uygulanmıştır. Ekstraksiyonların optimizasyon işlemleri Design Expert 7.0 (Stat-Ease Co., Mineapolis, ABD) paket programı ile yanıt yüzey metodu kullanılarak Box Behnken deneme desenine göre gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon değişkenlerini; zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu için katı-sıvı oranı (1/20-1/60 w/V), çözgündeki (0,1 N HCl asit ile hazırlanan) etanol oranı (%50-90) ve sıcaklık (30-50 °C); ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu için ise çözgündeki (0,1 N HCl asit ile hazırlanan) etanol oranı (%50-90), katı-sıvı oranı (1/20-1/60) ve ultrason gücü seviyesi (%0-100) oluşturmuştur. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu 1 saat, ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu 10 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin sınır değerleri ve ekstraksiyon süreleri, literatürde benzer materyallerle gerçekleştirilen diğer çalışmalar göz önünde bulundurularak kararlaştırılmıştır. (Bayram 2012; Chen vd 2007; Dong and Bai 2008; Sağdıç vd 2013; Tiwari 2015; Xu vd 2017).

3.2.2.1. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu

Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu işlemine ait Box-Behnken deneme deseni Çizelge 3.1’de verilmiştir. Ekstraksiyon için 5 g taze çiçek taç yaprağı tartılmış, desende belirtilen orandaki etanol- HCl (0,1 N) çözeltisi eklendikten sonra 1 dakika boyunca Ultra-turrax yardımıyla petallerin parçalanması sağlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi; desende belirtilen sıcaklıkta ayarlı 178 d/dk dairesel hızda çalışan çalkalamalı su banyosunda, 1 saat süreyle, ağzı kapalı kavanozlarda gerçekleştirilmiştir. Bu süre sonunda ekstraktlar, 4-7 µm gözenek çapındaki filtre kâğıdından Buchner hunisi ve vakum pompası (BFC, BF-S2500 Diaphragm vacuum/pressure pump) kullanılarak süzülmüştür (Şekil 3.3). Ekstraktlar gün sonunda analiz edilene kadar amber renkli şişelerde +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Optimum koşulların belirlenmesi için tüm ekstraktların toplam monomerik antosiyanin (TMA) içeriği analiz edilmiştir.



Şekil 3.3. Buchner hunisi ile 4-7 µm çaplı filtre kâğıdından süzme işlemi

Çizelge 3.1. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyonu deneme deseni

Desen	Sıcaklık(°C)	Etanol oranı(%)	Katı/Sıvı oranı(w/w)
1	30	50	1/40
2	40	90	1/60
3	30	90	1/40
4	50	90	1/40
5	30	70	1/20
6	50	70	1/20
7	30	70	1/60
8	50	70	1/60
9	40	50	1/20
10	40	90	1/20
11	40	50	1/60
11	50	50	1/40
13	40	70	1/40
14	40	70	1/40
15	40	70	1/40

3.2.2.2. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu

Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu işlemine ait Box Behnken deneme deseni Çizelge 3.2’de verilmiştir. Ekstraksiyon için 5 g taze çiçek taç yaprağı tartılmış, desende belirtilen orandaki etanol- HCl (0,1 N) çözeltisi eklendikten sonra 1 dakika boyunca Ultra-turrax yardımıyla petallerin parçalanması sağlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi; desende belirtilen güce ayarlanmış ultrasonik su banyosunda, 10 dakika süreyle, ağzı kapalı kavanozlarda gerçekleştirilmiştir. Bu süre sonunda ekstraktlar, 4-7 µm gözenek çapındaki filtre kâğıdından Buchner hunisi ve vakum pompası (BFC, BF-S2500 Diaphragm vacuum/pressure pump) kullanılarak süzölmüştür (Bkz Şekil 3.3). Ekstraktlar gün sonunda analiz edilene kadar amber renkli şişelerde +4 °C’de muhafaza edilmiştir. Optimum koşulların belirlenmesi için tüm ekstraktların toplam monomerik antosiyanin (TMA) içeriği analiz edilmiştir.

Çizelge 3.2. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyonu deneme deseni

Desen	Ultrason gücü(%)	Etanol oranı(%)	Katı/Sıvı oranı
1	100	70	1/60
2	100	70	1/40
3	100	50	1/40
4	50	90	1/40
5	0	70	1/20
6	50	70	1/20
7	50	50	1/40
8	50	90	1/60
9	0	70	1/40
10	50	70	1/60
11	0	90	1/40
12	0	50	1/60
13	50	50	1/20
14	100	90	1/20
15	50	70	1/40

3.2.2.3. Ekstraktların konsantre edilmesi

Optimum koşullarda üretilen her bir ekstrakt döner buharlaştırıcıda (IKA RV 10 digital V Rotary Evaporatör) 53 d/dk dönme hızında, 50 °C'ye ayarlı su banyosuna yerleştirilerek, 153 mbar mutlak basıçta 10 °Brix'e kadar konsantre edilmiştir (Jafari vd 2016; Laokuldilok and Kanha 2015). Bu işlem yaklaşık 90 dakika sürmüştür. (Şekil 3.4). Elde edilen ekstraktlar kullanılabilecek kadar amber renkli şişelerde -18 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4. Başlangıç ekstraktı (solda), evaporasyon işlemi (sağda)

3.2.3. Püskürtmeli ve donuk kurutucu ile toz renklendirici üretimi

Ekstraktlardan püskürtmeli ve donuk kurutucu ile toz renklendirici üretimi Laokuldilok and Kanha (2015)'da belirtilen metoda göre yapılmıştır. Suda çözünür kuru

madde içeriği 10 °Briks olan konsantre ekstraktlar su ile seyreltilerek 5 °Brikse standardize edildikten sonra son durumdaki suda çözümlü kuru madde miktarı 20 °Briks olacak şekilde maltodekstrin (DE 12, Roquette Services Techniques et Laboratoires, F-62080, Lestrem, Fransa) eklenmiştir. Karışım önce manyetik karıştırıcıda 15 dakika, ardından da Ultra-turrax ile 10000 d/dk hızla 10 dakika homojenize edilmiştir (Şekil 3.5). Taşıyıcı eklenen 500 mL hacmindeki bu ekstraktın yarısı püskürtmeli, yarısı ise donuk kurutulmak üzere homojen bir şekilde iki eşit hacme ayrılmıştır.



Şekil 3.5. Ekstrakta taşıyıcı eklenmesi ve homojenizasyon işlemi

Taşıyıcı eklenen ve homojen iki eşit hacme bölünen ekstraktın ilki, püskürtmeli kurutma ünitesinde (Büchi Mini Spray Dryer B-290) kurularak toz gıda renklendirici elde edilmiştir. Püskürtmeli kurutma işlemi 180 °C giriş sıcaklığı, 90 °C çıkış sıcaklığı değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Kurutma performansını etkileyen hava hızı ise püskürtmeli kurutma cihazının %70 aspirasyon gücü ile sağlanmıştır. Taşıyıcı eklenmiş bu ekstrakt belirlenen hava çıkış sıcaklıklarını sağlayacak hızda (100-500 mL/sa) peristaltik pompa yardımı ile atomizere beslenmiştir. Homojen bir besleme yapabilmek amacıyla ekstrakt oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla sürekli karıştırılmıştır. Püskürtmeli kurutucuya beslenen bu ekstraktlar 5 barlık sabit hava basıncı (yaklaşık 500 L/sa hava hızı) ile döndürülen atomizer yardımıyla kurutma silindirine püskürtülerek kurutulmuş ve kuruyan renklendirici partiküller siklon seperatörde ayrıldıktan sonra ürün toplama kabında toplanmıştır (Şekil 3.6). Elde edilen ürün nem almayacak şekilde amber renkli örnek şişesine doldurulmuş ve analizler gerçekleştirilene kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir (Laokuldilok and Kanha 2015).



Şekil 3.6. Püskürtmeli kurutucu ile toz renklendirici eldesi, (Püskürterek kurutma (solda), toplama kabından alınan ürün (ortada), son ürün (sağda))

Taşıyıcı eklenen ve homojen iki eşit hacme bölünen ekstraktın ikincisi ise, laboratuvar tipi donuk kurutucunun (Operon FDU-7003, Güney Kore) tepsilerine dökülerek önce $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 2 saat dondurulmuş; daha sonra tepsiler donuk kurutucuya alınmış, $0,08-0,12\text{ mmHg}$ aralığındaki mutlak basınçta $-76\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de, donan suyun süblimasyonla uzaklaşması sağlanarak ürün kurutulmuştur. Bu işlem ortamdan doğal konveksiyonla ürüne aktarılan enerji sayesinde gerçekleşmiş ve yaklaşık 48 saat sürmüştür. Donuk kurutulmuş renklendirici öğütülüp toz forma (Şekil 3.7) getirildikten sonra nem almayacak şekilde amber renkli örnek şişesine doldurulmuş ve analizler gerçekleştirilene kadar $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir (Laokuldilok and Kanha 2015).



Şekil 3.7. Donuk kurutucu ile toz renklendirici eldesi, (Donuk kurutma (solda), kurumuş ürün (ortada), öğütülerek toz haline getirilmiş son ürün (sağda))

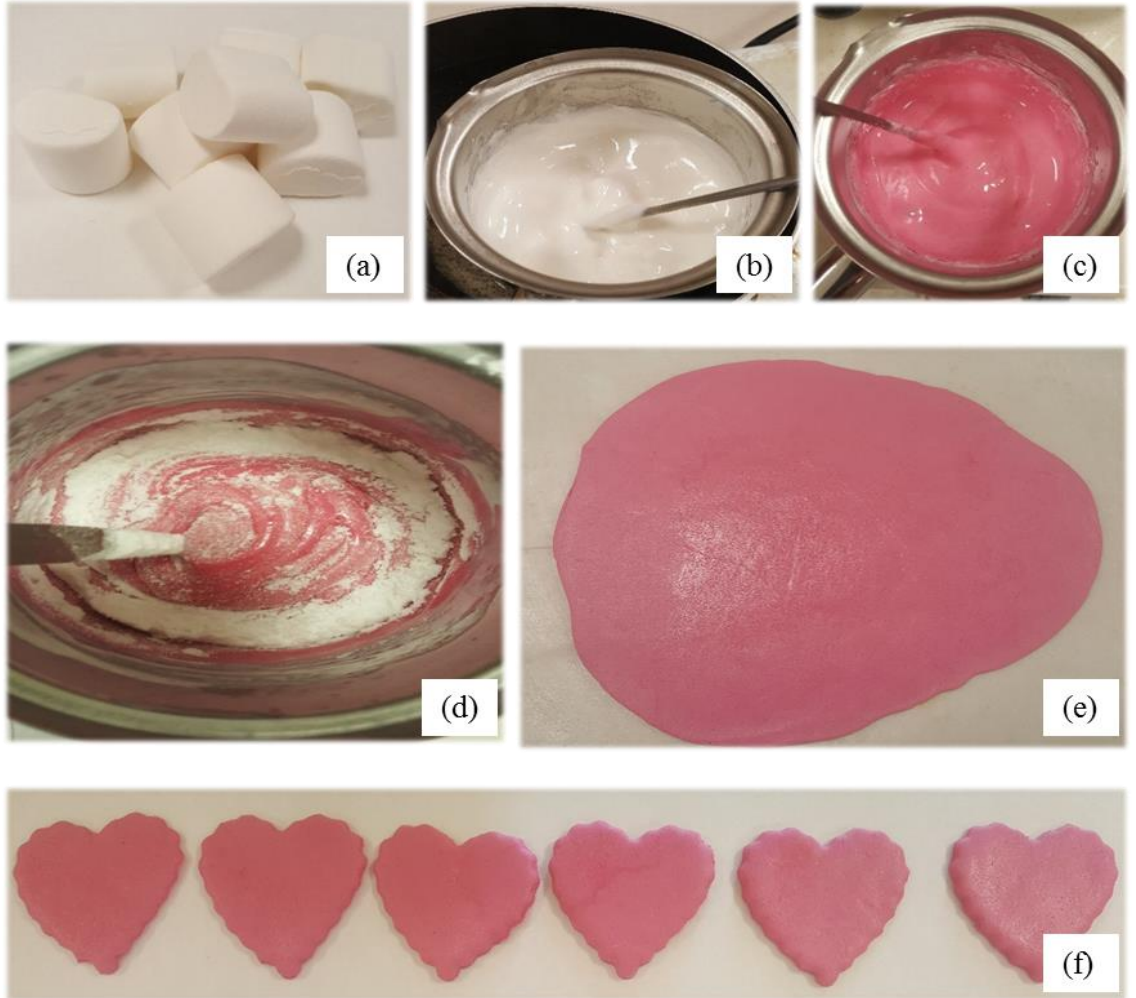
3.2.4. Model gıda denemeleri

Antosiyanin bazlı ticari gıda renklendiricisi (Gemma) ve karanfil çiçeğinden elde edilen antosiyanin bazlı ekstraktan eşdeğer TMA içecek şekilde model gıdalar hazırlanarak gıdaların renk değerleri zamana bağlı olarak ölçülmüştür. Bu çalışma

kapsamında elde edilen antosiyanin bazlı renklendiricinin, ticari olarak piyasada bulunan gıda renklendiricisine ikame olup olamayacağı araştırılmıştır. Bu kapsamda model gıda olarak şeker hamuru, dondurma ve gazlı içecek seçilmiştir.

3.2.4.4. Şeker hamuru

Şeker hamuru hazırlamak için marshmallow (Haribo Chamallows) kullanılmıştır. 50 gram (8 adet) marsmallow tartılmış ve benmari usulüyle erimesi sağlanmıştır. Erimiş marshmallowa antosiyanin bazlı doğal ticari renklendirici ve bu çalışma kapsamında elde edilen karanfil çiçeği kaynaklı doğal gıda renklendiricisi (ekstrakt, püskürtmeli kurutulmuş toz, donuk kurutulmuş toz) aynı miktarda TMA içerecek şekilde katılmıştır. Her bir karışıma 1 g sitrik asit eklenerek aynı miktarda toz pudra şekeriyle önce kaşık sonra el ile yoğurularak hamur elde edilmiştir. Hamur, yağlı kağıt üzerinde merdane yardımıyla açılmış ve hamur kalıbıyla kesilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Şeker hamuru yapımı ((a) Marshmallow, (b) Marsmallowların benmari usulü eritilmesi, (c) Renklendirici eklenmesi, (d) Pudra şekeri eklenmesi, (e) Hamurun merdane yardımıyla açılması, (f) Hamurun kalıpla kesilmesi)

Farklı renklendiriciler ile renklendirilmiş şeker hamurları kilitli polietilen torbalara konmuş ve farklı koşullarda (+4 °C ve karanlık; karanlık oda koşulu; aydınlık oda koşulu) depolanmıştır (Şekil 3.9). Depolama süresince şeker hamurlarının renk değerleri (L^* , a^* , b^*) ölçülmüştür.



Şekil 3.9. Depolama için hazırlanmış şeker hamuru örnekleri

3.2.4.5. Dondurma

Ergin vd (2016) tarafından yapılan çalışmada belirtilen formülasyona uygun olarak dondurma karışımı hazırlanmış, aynı miktarda TMA içerecek şekilde ticari sıvı renklendirici ve karanfil çiçeğinden elde edilen doğal gıda renklendiricisi (ekstrakt, püskürtmeli kurutulmuş toz, donuk kurutulmuş toz), %5 sitrik asit katkılanmıştır. Elde edilen dondurma karışımları cam petrilere dökülmüş ve -20 °C'de dondurulmuş ve bu sıcaklıkta depolanmıştır. Dondurmaların depolama süresince renk değerleri (L^* , a^* , b^*) ölçülmüştür. (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Antosiyanin bazlı farklı renklendiriciler ile renklendirilmiş dondurmalar

3.2.4.6. Gazlı içecek

Gazlı içeceğe renklendirici ilavesi sırasında kullanılacak tüm cam malzemeler $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilerek soğutulmuş ve böylece işlem sırasında gazlı içecekteki CO_2 'in uzaklaşması mümkün olduğunca engellenmiştir. Herhangi bir renklendirici içermeyen 1000 mL'lik gazlı içecek (Limon aromalı light gazoz, Çamlıca) 500 mL'lik 2 kısma ayrılmıştır. Bu kısımlardan birine ticari sıvı renklendirici, diğerine ise karanfil çiçeğinden elde edilen sıvı renklendirici aynı miktarda TMA içecek şekilde katılmıştır. Her bir kısımdan 80 mL alınarak amber renkli cam şişelere konmuş, kapağı sıkıca kapatıldıktan sonra parafilm sarılarak CO_2 'in uzaklaşması engellenmiştir. Her seferinde ayrı şişe açılarak pH ve renk değerleri belirli gün aralıklarla ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.1. Antosiyaninlerin ısıl stabilitelerinin belirlenmesi

Karanfil çiçeği antosiyaninlerinin ısıl stabilitelerinin belirlenmesi amacıyla tampon çözeltiye (sitrata-fosfat tampon, pH 3) 4 mg/100 mL TMA içecek miktarda ekstrakt eklenmiştir. 398 mL 0,1 M sitrik asit çözeltisi ile 102 mL 0,2 M dibazik sodyum fosfat çözeltisi karıştırılıp saf su ile 1000 mL'ye tamamlanarak pH değeri 3,0 olan tampon çözelti elde edilmiştir. Tampon çözelti renklendirilmeden önce pH değeri kontrol edilmiştir. Karanfil çiçeğinden elde edilen ekstrakt ile renklendirilmiş tampon çözeltiden 10 mL hacminde alınıp deney tüplerine konulmuş, ağzı sıkıca kapatılmış ve istenen dereceye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilmiştir. Tüp içerisindeki örnek sıcaklığı takip edilmiş ve istenilen sıcaklığa ulaştığı an sıfır süresi olarak kabul edilmiştir. Örnekler 70, 80, 90 ve 100 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 0. dakikadan itibaren 30'ar dakika aralıklarla 1 tüp alınarak sırasıyla 390, 360, 360 ve 180 dakika ısıl işleme maruz bırakılmıştır. Su banyosundan alınan tüpler buz banyosunda 5 dakika tutularak soğutulmuş ve analiz edilene kadar $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Örneklerin TMA miktarları "3.2.7.5. Toplam monomerik antosiyanin tayini" başlığı altında verilen pH-diferansiyel yöntemiyle belirlenmiştir (Hou vd 2013; Kırca and Cemeroğlu 2003).

3.2.1.7. Kinetik katsayıların hesaplanması

Antosiyaninlerin ısıl işlem ile bozulma reaksiyonunun derecesi ve kinetik katsayıları 0., 1. ve 2. derece reaksiyon kinetikleri denenerek en yüksek korelasyonu veren modele göre belirlenmiştir. Uygun model belirlendikten sonra TMA değerindeki

değişime ait kinetik katsayılar hesaplanmıştır. 0., 1. ve 2. derece reaksiyon kinetiği modelleri aşağıda verilen eşitliğe göre (3.1) modellenmiştir (Cemeroğlu 2015).

$$r = k[A]^n \quad (3.1)$$

r: Reaksiyon hızı

k: Reaksiyon hızı sabiti

[A]: Reaktan konsantrasyonu

n: Reaksiyon derecesi

3.2.1.8. Reaksiyon hız sabitinin hesaplanması

Uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin kayıplarının doğal logaritmaları (ln) “y” eksenine, süreler “x” eksenine yerleştirilerek doğrusal bir grafik elde edilmiştir. Aşağıda verilen eşitliğe göre bu eğrinin eğimi reaksiyon hız sabitini (k) vermektedir (Hou vd 2013; Kırca and Cemeroğlu 2003).

$$\ln(C_t/C_0) = -k * t \quad (3.2)$$

C₀ : Antosiyaninin başlangıç konsantrasyonu (mg/L)

C : Antosiyaninin t süre sonundaki konsantrasyonu (mg/L)

k : Reaksiyon hız sabiti (dakika⁻¹)

t : Süre (dakika)

3.2.1.9. Aktivasyon enerjisinin hesaplanması

Arrhenius modeli, antosiyanin degradasyonunun sıcaklığa bağımlılığını tanımlamak için kullanılmıştır. Aşağıda verilen 3.3 No’lu Arrhenius eşitliği kullanılarak reaksiyonun aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır (Hou vd 2013; Kırca and Cemeroğlu 2003).

$$k = k_0 * \exp^{-E_a/RT} \quad (3.3)$$

Hesaplamalarda 3.3 No’lu eşitliğin doğal logaritması alınarak elde edilen 3.4 No’lu eşitlik kullanılmıştır.

$$\ln k = \ln k_0 - E_a/RT \quad (3.4)$$

k : Reaksiyon hız sabiti (dakika⁻¹)

k₀ : Frekans faktörü (dakika⁻¹)

E_a : Aktivasyon enerjisi (kJ/mol)

R : Gaz sabiti (8,314 J/mol K)

T : Sıcaklık (Kelvin)

Reaksiyonun hız sabitlerinin (k) doğal logaritmaları (ln k) grafiğın “y” eksenine ve sıcaklık değerlerinin (Kelvin) çarpma işlemine göre tersi (1/T) aynı grafiğın “x” eksenine yerleştirilerek doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Arrhenius grafiğı adı verilen bu eğrinin eğimi ile gaz sabiti çarpılarak aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır (Hou vd 2013; Kırca and Cemeroğlu 2003).

3.2.1.10. Yarılanma süresinin hesaplanması

İncelenen bileşiğın %50’sinin parçalanması için geçen süreye yarılanma süresi denir. Birinci derece kinetik modele uyan reaksiyonlar için 3.5 No’lu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Hou vd 2013; Kırca and Cemeroğlu 2003).

$$t_{1/2} = -\ln 0,5 * k^{-1} \quad (3.5)$$

$t_{1/2}$: yarılanma süresi

k : Reaksiyon hız sabiti (dakika⁻¹)

3.2.2. Analizler

3.2.2.1. Toplam kuru madde tayini

Karanfil taç yapraklarının toplam kuru madde miktarı, nem miktarı üzerinden gravimetrik olarak kuru madde tayin cihazında (Kern DBS 60-3, Balingen, Almanya) belirlenmiştir.

Benzer şekilde ekstraktların toplam kuru madde miktarı, nem miktarları üzerinden gravimetrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla 10±0,001 g tartılan örnekler kurutma etüvünde 70°C’ de sabit tartıma gelinceye kadar tutulmuştur. İlk ve son tartımlar üzerinden % nem miktarı hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007b).

$$\%Nem = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 \quad (3.6)$$

m_1 : Sabit tartıma gelmiş boş kurutma kabı ve kapağının ağırlığı (g)

m_2 : Analiz örneğı + kurutma kabı ve kapağının ağırlığı (g)

m_3 : İçinde analiz örneğı bulunan kurutma kabı ve kapağının kurutma işleminden sonraki ağırlığı (g)

$$\text{Toplam kuru madde} \left(\frac{g}{100g} \right) = 100 - \%Nem \quad (3.7)$$

3.2.2.2. Suda çözüdür kuru madde analizi

Suda çözüdür kuru madde değerleri refraktometre (Hanna Digital H10, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler 25±1 °C’de gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.3. pH değeri tayini

pH değeri tayini, pH ölçüm cihazı (FE20 - Five easy, Mettler-Toledo, Ohio, ABD) kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Analizlerden önce pH metre standart tampon çözeltiler (pH: 4,01 ve pH: 7,00) ile kalibre edilmiştir.

3.2.2.4. Ekstraksiyon verimi

Karanfil çiçeği taç yapraklarında bulunan antosiyanin miktarı ve elde edilen ekstraktlardaki antosiyanin miktarı belirlenerek ekstraksiyon verimi hesaplanmıştır (Cissé vd 2012).

$$R_a = (m_a/L)/(m_a/S) \quad (3.8)$$

(m_a/L) : Ekstrakttaki antosiyanin kütlesi (kg)

(m_a/S) : Karanfil çiçeği taç yapraklarındaki antosiyanin kütlesi (kg)

3.2.2.5. Toplam monomerik antosiyanin analizi

TMA analizi, antosiyaninlerin ortamın pH değerine göre renk değiştirmesinden yararlanılarak pH diferansiyel metoduyla spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir (Fuleki and Francis). Analiz için örnekler potasyum klorür (pH 1,0) tampon çözeltisi ile farklı oranlarda seyreltilerek analiz sonucunda absorbans değerinin 0,4-0,6 arasında olmasını sağlayan seyreltme faktörü belirlenmiştir. Daha sonra örnekler potasyum klorür ve sodyum asetat (pH 4,5) tampon çözeltileri kullanılarak belirlenen oranda seyreltilmiş, seyrelte işleminden sonra örnekler karanlık ortamda 15 dk bekletilerek en yüksek absorbans (A_{max}) verdiği dalga boyu ve 700 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometre (Shimadzu UV 1800, Kyoto, Japan) yardımıyla belirlenmiştir. Örneklerin TMA içerikleri aşağıda verilen eşitlikler (3.9 ve 3.10) yardımı ile hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007a).

$$A = (A_{max} - A_{700})_{pH1} - (A_{max} - A_{700})_{pH4,5} \quad (3.9)$$

$$TMA(mg/L) = \frac{A * MW * S_f * 1000}{\epsilon * 1} \quad (3.10)$$

A : Düzeltilecek hesaplanmış absorbans farkı

MW : Baz alınacak antosiyanin molekül ağırlığı (g/mol)

S_f : Seyreltme faktörü

ϵ : Absorpsiyon katsayısı

L : Spektrofotometre küveti katman kalınlığı (1 cm)

3.2.2.6. Renk analizi

Ekstraktların ve model gıdaların renk değerleri renk ölçüm cihazı (UltraScan VIS HunterLab, ABD) ile ölçülmüştür. Ölçümler öncesinde cihaz önce siyah ve sonra beyaz kalibrasyon plakaları ile kalibre edilmiştir. Örneklerin rengi L^* (koyuluk-açıklık), a^* (yeşillik-kırmızılık), b^* (mavilik-sarıklık) olarak kaydedilmiştir (Topuz 2008). Toplam renk değişimi (TRD) değeri ve hue açısı sırasıyla 3.9 ve 3.10 No'lu eşitlikler ile hesaplanmıştır.

$$TRD = [(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2]^{1/2} \quad (3.9)$$

$$h = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) * \frac{180}{\pi} \quad (3.10)$$

L_0^* : Başlangıçtaki L^* değeri

a_0^* : Başlangıçtaki a^* değeri

b_0^* : Başlangıçtaki b^* değeri

3.2.2.7. Toz ürün verimi

Püskürtmeli kurutucudan ve donuk kurutucudan çıkan toz örnek miktarlarının başlangıçta kullanılan konsantre ekstraktın kuru maddesine bölünmesi ile belirlenmiştir (Eroğlu 2014).

3.2.2.8. Çözünürlük Testi

Toz renklendiricilerin çözünürlüğü Cano-Chauca vd (2005)'e göre belirlenmiştir. Bu amaçla 0,5 g toz örnek, oda sıcaklığındaki 50 mL saf su içerisine aktarılmış ve karışım manyetik karıştırıcıda (VWR Stirrer) 600 rpm hızda 5 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti santrifüj tüpüne kayıpsız aktarılarak 3000 x g hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında üstte kalan sıvı kısımdan alınan 10 mL örnek, darası alınmış cam petriye aktarılmış ve 70 °C'de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Ağırlık farkından hesaplanan % çözünme oranı, örneklerin kuru maddesi üzerinden verilmiştir.

3.2.2.9. Yığın yoğunluğu

Toz renklendiricilerin yığın yoğunluğu Beristain vd (2001)'e göre belirlenmiştir. Bu amaçla 0,5 g toz örnek, 10 mL'lik ölçü silindire tartıldıktan sonra bu silindir, yığın yoğunluğu ölçme cihazına yerleştirilmiştir. İçerisinde örnek bulunan silindir 30 mm mesafeden 10 kez serbest düşmeye bırakılmış ve örneğin son hacmi kaydedilmiştir. Yığın yoğunluğu, örnek miktarının hacme bölünmesiyle hesaplanmış ve sonuçlar kg/m^3 olarak verilmiştir.

3.2.2.10. Bulanıklık

Toz örneklerden 0,1 g alınarak 100 mL saf suda çözülerek hazırlanan çözeltilerin bulanıklığı turbidimetre (Hach 2100 N, Loveland, Co, USA) kullanılarak Tajchakavit vd (2001)'e göre ölçülmüştür. Hach turbidimetrenin örnekleme hücreğine sınır çizgisine

kadar örnek koyularak gerçekleştirilen analiz sonunda sonuçlar Nefelometrik Bulanıklık Ünitesi (Nephelometric Turbidity Unit, NTU) olarak ifade edilmiştir.

3.2.2.11. LC-MS-MS ile antosiyanin profili belirlenmesi

Ekstraktların antosiyanin kompozisyonlarının belirlenmesi için Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırma Merkezi'nden hizmet alımı yapılmıştır. Bu analiz LC-MS-MS ile gerçekleştirilmiştir. Analiz metodu aşağıda özetlenmiştir.

UPLC-MS-MS: Thermo TSQ Access Max LC-MS-MS
Kolon: Thermo Hypersil Gold 50mm x 2,1 mm ID, 1,9 µm particle size
Enjeksiyon hacmi: 10 µl
Kolon Sıcaklığı: 40 °C
Mobil faz A: %0,1 formik asit + 4 mM Amonyum Asetat içeren Su/MeOH, 95/5
Mobil faz B: MeOH
Analiz süresi: 8 min

3.2.2.12. Pestisit analizi

Ekstraktlardaki pestisit miktarı kromatografik olarak belirlenmiş ve bu analiz Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi'nden hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Bu analiz Lehotay vd (2007)'e göre gerçekleştirilmiştir. Analiz metodu aşağıda özetlenmiştir.

UHPLC-MS/MS (Ultra Yüksek performanslı sıvı kromatografi-tandem kütle spektrometresi): Thermo Quantum Access Max
Kolon : Hypersil Gold C18 1,9 Micron, 2,1x50 mm
Akış : 400 mikrolitre / dk, Gradient Akış Programı ile
Mobil Fazlar; Mobil Faz A : Metanol Mobil Faz B : Su
Analiz Süresi : 10 dakika

GC-MS Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi: Thermo ISQ GC-MSD
Analiz Süresi : 23 Dakika
Kullanılan Kolon : TRB-5 MS

3.2.2.13. İstatiksel analizler

Konveksiyonel katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu için optimum koşullar Design Expert 7.0 (Stat-Ease Co., Mineapolis, ABD) paket programı ile yanıt yüzey metodu kullanılarak Box-Behnken deneme desenine göre belirlenmiştir. Optimum verilerle elde edilen ürünlerde gerçekleştirilen analizlerin sonuçları SAS 9.0 (Statistical Analysis System) paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya koyulmuştur.

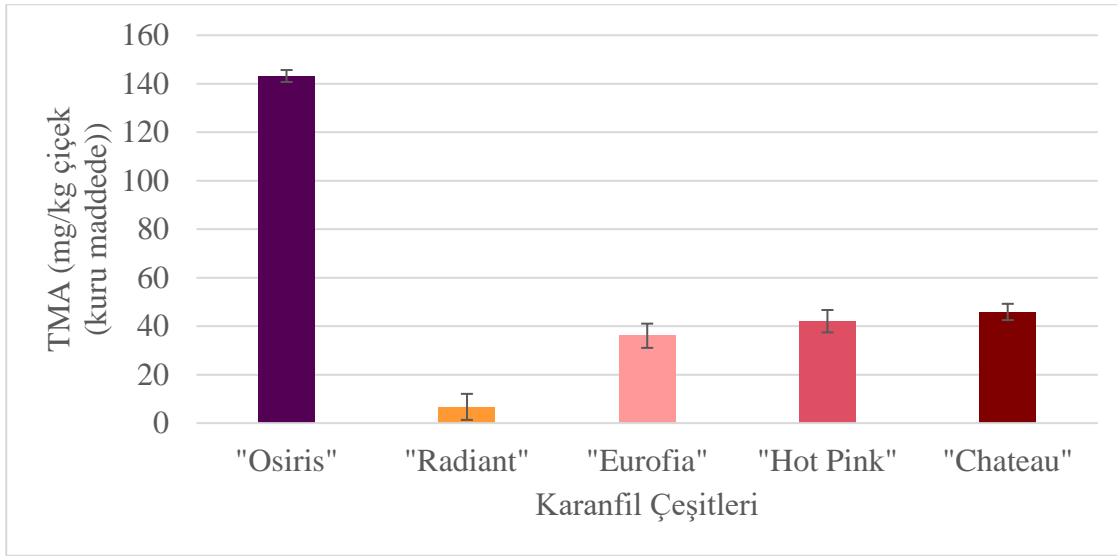
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Karanfil Çiçeklerinin Temini ve Renk Seçimi

İçerdikleri antosiyanin miktarlarının tespit edilebilmesi için “Osiris” (mor), “Radiant” (yavruağzı), “Euforia” (açık pembe), “Hot Pink” (koyu pembe) ve “Chateau” (bordo) çeşidi atık karanfil çiçeklerinin (Bkz. Şekil 3.2) taç yaprakları ayrılarak geri kalan kısımları atılmış ve ayrılan taç yapraklar antosiyanin kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu taç yaprakların nem değerlerinin %78-85 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Fernandes vd (2017) yenilebilir çiçeklerin nem değerlerinin %70-95 aralığında değiştiğini, karanfil çiçeğinin nem değerinin ise %88,5 olduğunu derlemiştir. Çalışmada kullanılan karanfil çiçeklerinin nem değerinin literatürde belirtilen değerlerin altında olmasının ve geniş bir aralıkta değişmesinin nedeninin atık karanfil çiçeklerinin sap ve yaprakların arasından seçilene kadar geçen sürede nem kaybetmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada hangi çeşit çiçeklerin kullanılacağını belirlemek amacıyla “Osiris” (mor), “Radiant” (yavruağzı), “Euforia” (açık pembe), “Hot Pink” (koyu pembe) ve “Chateau” (bordo) çeşitlerinin TMA içerikleri belirlenmiştir (Şekil 4.1). Farklı renklerdeki bu taç yaprakların TMA değerleri Şekil 4.1’de verilmiştir. “Osiris” çeşidinin TMA değeri kuru maddede 143,21 mg/kg çiçek olarak bulunmuştur. “Eurofia”(kuru maddede 36,05 mg/kg çiçek) , “Hot Pink” (kuru maddede 42,05 mg/kg çiçek) ve “Chateau” (kuru maddede 45,86 mg/kg çiçek) çeşitlerinin TMA içeriklerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür. “Radiant” çeşidinin TMA içeriği, incelenen çeşitler arasında en düşük değerde (kuru maddede 6,33 mg/kg çiçek) tespit edilmiştir. Bu durumun, “Radiant” çeşidi çiçeklerin sadece uç kısımlarında bulunan pembe renkli kısımların antosiyanin içermesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Karanfil taç yapraklarının TMA içerikleri kendi aralarında karşılaştırıldığında “Osiris” çeşidinin yüksek düzeydeki TMA içeriği ile antosiyanin kaynağı olarak kullanılmasının daha uygun olacağı değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1. Farklı renlerdeki taç yaprakların TMA değerleri

Mor renkli karanfil çiçeklerinde ("Osiris") hammadde olarak kullanılan taç yaprakların ağırlığının bütün haldeki çiçeğin ağırlığına oranı üzerinden verim hesabı yapılarak bir bütün çiçeğin %60,4'ünün değerlendirilebildiği görülmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Verim hesabı için tartılan bütün haldeki (solda) ve taç yaprakları ayrılmış karanfil çiçekleri (sağda)

4.2. Ekstraksiyon Optimizasyonu

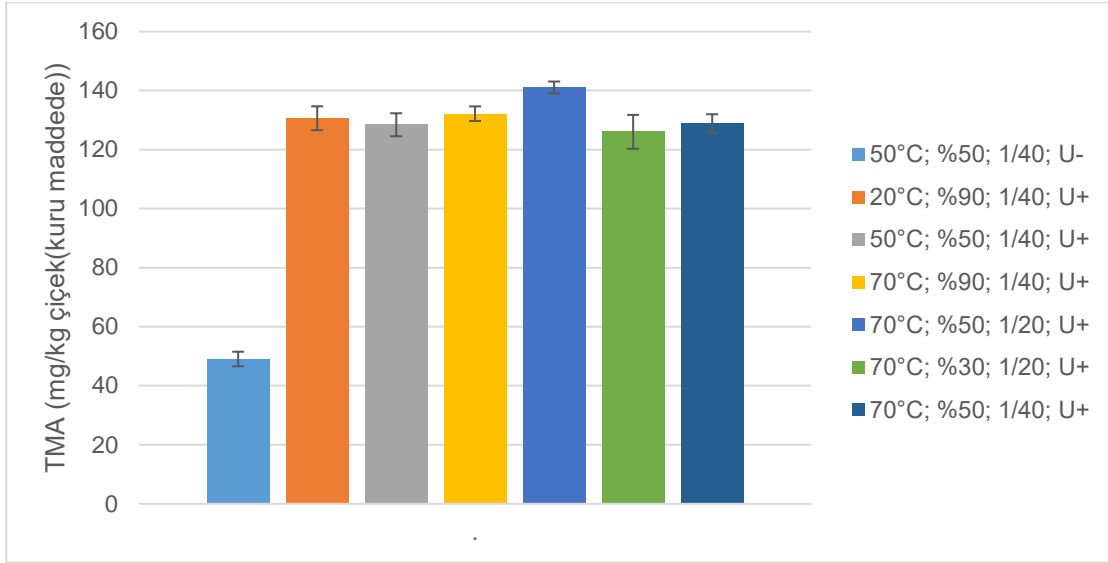
Karanfil çiçeğinin taç yapraklarından antosiyanin ekstraksiyonu işlemi için zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu için ayrı ayrı optimizasyon çalışması yapılmıştır.

Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu için en uygun sıcaklık, çözgendeki etanol oranı ve katı-sıvı oranını belirlemek için Box-Behnken deneme desenine göre yürütülen denemelerden elde edilen veriler yanıt yüzey metoduna göre en yüksek TMA içeriği sağlayacak şekilde optimize edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyon deneme deseni ve analiz verileri

Desen	Sıcaklık(°C)	Etanol oranı(%)	Katı/Sıvı oranı(w/w)	TMA(mg/kg çiçek (kuru maddede))
1	30	50	1/40	173,51 ± 4,88
2	50	50	1/40	173,43 ± 9,07
3	30	90	1/40	174,48 ± 9,07
4	50	90	1/40	151,30 ± 11,25
5	30	70	1/20	176,63 ± 6,94
6	50	70	1/20	176,22 ± 11,86
7	30	70	1/60	173,98 ± 3,54
8	50	70	1/60	168,85 ± 7,99
9	40	50	1/20	177,79 ± 1,70
10	40	90	1/20	181,99 ± 3,35
11	40	50	1/60	180,26 ± 4,03
12	40	90	1/60	171,51 ± 4,25
13	40	70	1/40	175,17 ± 3,31
14	40	70	1/40	177,72 ± 3,15
15	40	70	1/40	175,33 ± 8,82

Uygulanan deneme deseni ve ekstraktların TMA içerikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Bu veriler Design-Expert paket programına aktarılıp yanıt yüzey metoduna göre en yüksek TMA içeriği hedef alınarak değerlendirilmiştir. Optimizasyonda, programın verilere uygun olarak önerdiği Quadratic model kullanılmıştır. Değerlendirme sonucunda uyum eksikliği değeri (lack of fit) 0,0771 ($p>0,05$) ve p değeri 0,0595 ($p>0,05$) olarak bulunmuştur. Bu sonuç; uyum eksikliği olmamasına rağmen, denemeler arasındaki TMA içeriği farkının istatistiki olarak önemli olmadığını ifade etmektedir. Sıcaklık (20-70 °C) ve etanol oranının (%30-90) sınır değerleri genişletilerek ve Ultraturrax uygulamasının etkisi incelenerek ek denemeler gerçekleştirilmiş, TMA içeriğinin değişimi değerlendirilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ek denemelerin TMA içerikleri (Sıcaklık; Etanol oranı; Katı-sıvı oranı; Ultra-turrax uygulaması (“U+” : Ultra-turrax uygulaması yapıldığını, “U-” : Ultra-turrax uygulaması yapılmadığını göstermektedir))

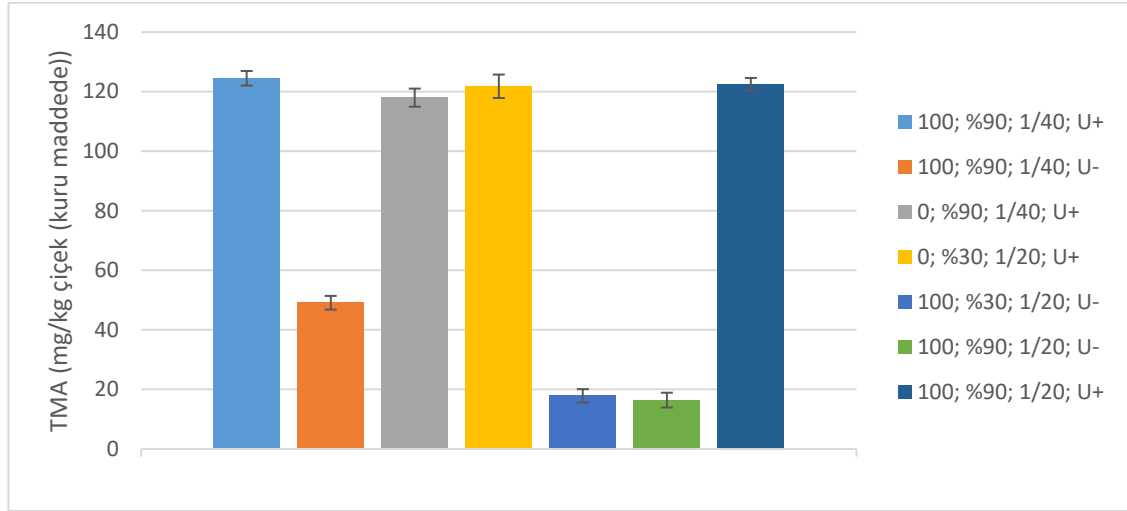
Aynı şekilde ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu için en uygun ultrason gücü, etanol oranı ve katı-sıvı oranını belirlemek için deneme desenine göre yürütülen denemelerden elde edilen veriler yanıt yüzey metoduna göre en yüksek TMA içeriği sağlayacak şekilde optimize edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu optimizasyon deneme deseni ve analiz verileri

Desen	Ultrason gücü(%)	Etanol oranı(%)	Katı/Sıvı oranı	TMA(mg/kg çiçek (kuru maddede))
1	0	70	1/60	160,50 ± 10,53
2	50	70	1/40	176,62 ± 0,64
3	100	50	1/40	172,52 ± 0,35
4	100	90	1/40	166,09 ± 4,53
5	0	70	1/20	171,68 ± 4,80
6	100	70	1/20	180,08 ± 5,36
7	0	50	1/40	170,66 ± 4,68
8	50	90	1/60	169,54 ± 0,73
9	50	70	1/40	169,89 ± 2,12
10	100	70	1/60	167,96 ± 5,70
11	0	90	1/40	163,32 ± 10,15
12	50	50	1/60	176,55 ± 0,44
13	50	50	1/20	171,25 ± 5,52
14	50	90	1/20	161,10 ± 5,63
15	50	70	1/40	169,23 ± 7,74

Uygulanan deneme deseni ve ekstraktların TMA içerikleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Bu veriler Design-Expert paket programına aktarılıp yanıt yüzey metoduna

göre en yüksek TMA içeriği hedef alınarak değerlendirilmiştir. Optimizasyonda, programın verilere uygun olarak önerdiği Linear model kullanılmıştır. Değerlendirme sonucunda uyum eksikliği değeri (lack of fit) 0,4763 ($p \geq 0,05$) ve p değeri 0,0976 ($p \geq 0,05$) olarak bulunmuştur. Bu sonuç; uyum eksikliği olmamasına rağmen, denemeler arasındaki TMA içeriği farkının istatistiki olarak önemli olmadığını ifade etmektedir. Etanol oranının sınır değerleri genişletilerek (%30-90) ve Ultra-turrax uygulamasının etkisi incelenerek ek denemeler gerçekleştirilmiş, TMA içeriğinin değişimi değerlendirilmiştir (Şekil 4.4).

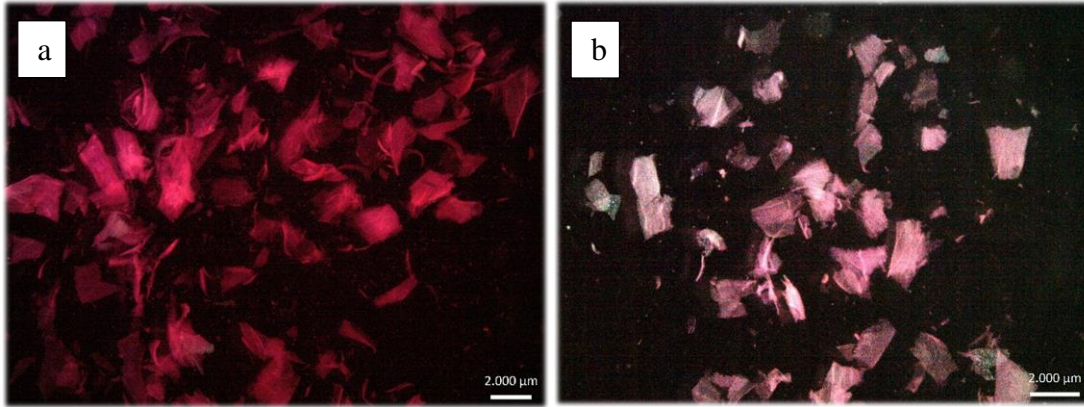


Şekil 4.4. Ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu için ek denemelerin TMA içerikleri (Ultrason gücü (%) ; Etanol oranı; Katı-sıvı oranı; Ultra-turrax uygulaması (“U+” : Ultra-turrax uygulaması yapıldığını, “U-” : Ultra-turrax uygulaması yapılmadığını göstermektedir))

Bu denemelerin sonucunda da Ultra-turrax ile parçalama işleminin, taç yapraklardaki antosiyaninin ekstrakte edilmesinde en etkili faktör olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple etanol oranındaki değişimler ve hatta ultrason uygulaması antosiyaninin ekstrakta geçme hızını ve miktarını belirgin bir şekilde artırmamıştır. Bu bulgular göz önünde bulundurularak hem zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu hem de ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonunda en etkili değişkenin parçalama etkinliği olduğu tespit edilmiştir. Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmayan örneklerde antosiyaninlerin büyük ölçüde ekstrakte edilemediği (Şekil 4.5); Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanan örneklerin ise partikül boyutunun 2000 μm 'nin altına indiği ve 10 dakikalık ekstraksiyon sonunda antosiyaninlerin yapraktan büyük ölçüde ekstrakte edildiği (Şekil 4.6) görülmüştür.



Şekil 4.5. Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmış ve uygulanmamış deneme örneği



Şekil 4.6. Ultra-turrax uygulanmış örneğin ekstraksiyon öncesi (a) ve sonrası (b) büyütülmüş mikroskop (Zeiss, CL 6000 LED) görüntüsü

Bu denemeler sonucunda, ekstraksiyon yöntemlerinin (zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrason destekli katı-sıvı ekstraksiyonu) ve seçilen ekstraksiyon parametrelerinin tek tek veya interaksiyonlu olarak ekstrakte edilen antosiyanin miktarı üzerinde etkisinin olmadığı, sadece parçalamanın ekstrakte edilen antosiyanin miktarı üzerine belirgin bir etkisinin olduğu görülmüştür. Parçalama süresi, etanol oranı ve ekstraksiyon süresi için diğer ekstraksiyon koşulları sabit tutularak zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu yöntemiyle ayrı ayrı faktöriyel denemeler yapılmış ve sonuçlar istatistiki olarak incelenmiştir.

30 °C'ye ve 178 d/dk dairesel çalkalama hızına ayarlı su banyosunda, 1 dakika Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmış 1/20 katı-sıvı oranına ve farklı etanol oranına sahip örneklere 1 saat süreyle ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraktların TMA değerleri, bu değerlerin değişimine ait varyans analizi ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.3 ve

Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Etanol oranının, ekstrakte edilen antosiyanin miktarı üzerine istatistiki olarak önemli ($p<0,05$) bir etkisinin olduğu görülmüştür. Çözgendeki etanol oranı, bir sonraki işlem basamağı olan evaporasyon işleminin süresi ve elde edilen ekstraktın konsantrasyonu üzerinde etkisi olan bir parametredir. Evaporasyon sonucunda elde edilen ekstrakt konsantrasyonunun 10° Briks olduğu ve bu ekstraktı elde etmek için gereken sürenin en kısa olduğu etanol oranı (%80) seçilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı etanol oranlarına sahip çözümlerle elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) değişimine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
EtOH oranı (%)	8	291,662331	3,96*
Hata	9	73,578	

* $p<0,05$

Çizelge 4.4. Farklı etanol oranlarına sahip çözümlerle elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Varyasyon kaynağı	TMA (mg/kg çiçek (kuru maddede))		
EtOH oranı (%)	90	160,56 ^d	± 5,12
	80	178,51 ^{abcd}	± 3,11
	70	183,8 ^{abc}	± 0,51
	60	193,02 ^a	± 2,03
	50	186,96 ^{ab}	± 8,37
	40	181,43 ^{abcd}	± 11,53
	30	171,23 ^{bcd}	± 11,86
	20	163,26 ^{dc}	± 16,49
	10	160,53 ^d	± 2,57

* Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler ortalamaların $p<0,05$ seviyesinde farklı olduğunu gösterir

Ultra-turrax ile farklı parçacık büyüklüğünde parçalama işlemi uygulanmış 1/20 katı-sıvı oranına ve %80 etanol oranına sahip örneklerle 1 saat süreyle 30°C 'ye ve 178 d/dk çalkalama hızına ayarlı su banyosunda ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraktların TMA değerleri, bu değerlerin değişimine ait varyans analizi ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Parçalama süresi istatistiki olarak önemli ($p<0,001$) bulunmuş ve her seferinde hiç parçalanmamış yaprak kalmayacak şekilde homojen bir parçalanma sağlanması için 3 kez 5'er saniye Ultra-turrax uygulaması yapılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 4.5. Ultra-turrax ile farklı sürelerde parçalama yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) değişimine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Parçalama Süresi (s)	7	8866,43756	35,12***
Hata	8	252,48678	

***p<0,001

Çizelge 4.6. Ultra-turrax ile farklı sürelerde parçalama yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Varyasyon kaynağı	TMA (mg/kg çiçek (kuru maddede))
0	6,47 ^b ± 1,49
5	183,70 ^a ± 34,24
10	190,47 ^a ± 1,16
15	191,05 ^a ± 8,43
20	188,39 ^a ± 9,62
25	188,62 ^a ± 24,92
30	214,24 ^a ± 7,72
60	194,45 ^a ± 0,86

* Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler ortalamaların p<0,05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

30 °C'ye ve 178 d/dk çalkalama hızına ayarlı su banyosunda, 3 kez 5'er saniye Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmış 1/20 katı-sıvı oranına ve %80 etanol oranına sahip örnekler farklı sürelerde ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraktların TMA değerleri, bu değerlerin değişimine ait varyans analizi ve bu değerlerin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Ekstraksiyon süresi istatistiki olarak anlamlı (p<0,001) bulunmuş ve 20 dakika ekstraksiyon yapılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı sürelerde ekstraksiyon işlemi yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) değişimine ait varyans analizi sonuçları

VK	SD	KO	F
Ekstraksiyon Süresi (s)	6	3017,76286	22,73***
Hata	7	132,75	

***p<0,001

Çizelge 4.8. Farklı sürelerde ekstraksiyon işlemi yapılarak elde edilen ekstraktların TMA değerlerinin (mg/kg çiçek (kuru maddede)) ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Varyasyon kaynağı	TMA (mg/kg çiçek (kuru maddede))
0	169,49 ^c ± 9,56
10	243,88 ^b ± 1,20
20	260,79 ^{ab} ± 0,70
Ekstraksiyon Süresi (dk)	30
	281,12 ^a ± 1,33
	40
	269,23 ^{ab} ± 15,83
	50
	277,27 ^a ± 18,73
	60
	270,12 ^{ab} ± 15,25

* Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler ortalamaların p<0,05 seviyesinde farklı olduğunu gösterir.

Yapılan tüm bu optimizasyon çalışmaları sonucunda ekstraksiyonun %80 etanol oranına (v:v; 80:20; etanol:0,1 N HCl) ve 1/20 katı-sıvı oranına sahip, 3 kez 5'er saniye Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmış örneğe, 30 °C'ye ve 178 d/dk çalkalama hızına ayarlı su banyosunda, 20 dakika süresince yapılmasına karar verilmiştir. Cissé vd (2012) tarafından kerkede (*Hibiscus sabdariffa* L.) bitkisinin çiçeğinin taç yapraklarından antosiyanin ekstraksiyonu üzerine yapılan bir çalışmada; katı-sıvı oranı ve partikül boyutunun antosiyanin ekstraksiyonu üzerinde en etkili parametreler olduğu, ekstraksiyon sıcaklığındaki artışın ekstraksiyon süresini kısalttığı ancak ekstraksiyon verimini etkilemediği belirtilmektedir. Benzer şekilde; Adjé vd (2010) tarafından ateş ağacının çiçeklerinden antosiyanin, flavanol ve fenolik asit ekstraksiyonu optizasyonu çalışmasında da; parçalama işleminin antosiyanin ekstraksiyon verimini artırdığı, ultrason desteğinin antosiyanin verimi üzerine etkisi olmadığı ancak ekstraksiyon süresini kısalttığı belirtilmektedir.

4.3. Ekstraktların Konsantre Edilmesi ve Toz Renklendirici Üretimi

Belirlenen optimum koşullarda üretilen ekstrakt, döner başlıklı buharlaştırıcıda etanolün tamamı uzaklaşana ve ekstraktın son konsantrasyonu 10 °Briks olana kadar çözgeni uzaklaştırılmıştır. Karanfil çiçeğinden elde edilen ekstraktın toplam monomerik antosiyanin miktarının kuru maddede 404,13 mg siyanidin-3-glikozit/ kg ekstrakt (622,40 mg siyanidin-3-glikozit/ 100 g taze çiçek; kuru maddede 281,12 mg siyanidin-3-glikozit/ kg çiçek) olduğu belirlenmiştir. Farklı renk lale çiçekleri ile yapılan bir çalışmada eflatun, turuncu-kırmızı, bordo ve pembe renkli lalelerin antosiyanin miktarı sırasıyla kuru maddede 265,04; 236,49; 839,08 ve 404,45 mg pelargonidin-3-glikozit/ kg ekstrakt olarak belirtilmiştir (Sağdıç vd 2013). Yenilebilir bazı çiçeklerden biyoaktif ekstrakt ve doğal gıda boyası üretimi konusunun incelendiği bir tez çalışmasında gelincik, gül, roselle ve kırmızı lale çiçeklerinin antosiyanin miktarı sırasıyla kuru maddede 405,22; 325,55; 175,17 mg siyanidin-3-glikozit/ kg ekstrakt ve 236,49 mg pelargonidin-3-glikozit/ kg ekstrakt olarak tespit edilmiştir (Bayram 2012). Çin'de yetişen Yunnan

gülünün antosiyanin miktarı 353,56 mg siyanidin-3,5-diglikozit/ 100 g taze çiçek olarak hesaplanmıştır (Ge and Ma 2013). Bir başka çalışmada ise siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğunun antosiyanin miktarları sırasıyla kuru maddede 3,33; 7,94 ve 10,81 mg siyanidin-3-glikozit/g ekstrakt olarak bulunmuştur (Ekici 2011). Bu çalışmalara bakılarak karanfil çiçeğindeki antosiyanin miktarının gelincik ve pembe lale ile yakın, eflatun ve turuncu-kırmızı renkli lale çiçekleri, gül, roselle ve Yunnan gülünden yüksek; bordo lale, siyah havuç, kırmızı lahana ve üzüm kabuğundan düşük olduğu tespit edilmiştir.

Karanfil çiçeğinden elde edilen ekstraktın saflık değeri pH'te 515 nm'de $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 77,56$ olarak hesaplanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Gıda maddelerinde kullanılan renklendiricilerin saflık kriterleri tebliği'nde antosiyaninlerin saflık değerinin pH 3'te 515-535 nm'de saf pigment için $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 900$ olması gerektiği bildirilmektedir. Bu tebliğe uygun bir gıda renklendiricisi elde edilmesine yönelik saflaştırma çalışmalarının yapılması gerektiği değerlendirilmiştir.

Elde edilen ekstrakt sıvı gıda renklendiricisi olarak model gıdalara katılanmıştır. Toz formda gıda renklendiricisi elde edilmesi amacıyla püskürtmeli ve donuk kurutma yöntemleriyle elde edilen toz gıda renklendiricilerine ait veriler Çizelge 4.9'da verilmiştir. Püskürtmeli kurutulmuş ve donuk kurutulmuş toz örneklerin çözünürlük ve bulanıklık değerleri birbirine yakın bulunmuştur. Donuk kurutulmuş toz örneğinin toz verimliliğinin ve yığın yoğunluğunun, püskürtmeli kurutulmuş toz örneğinkilerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca donuk kurutulmuş örneğin su aktivitesi ve nem değeri, püskürtmeli kurutulmuş toz örnekten daha düşük tespit edilmiştir. Genel olarak; donuk kurutulmuş toz örneğin fiziksel özelliklerinin, püskürtmeli kurutulmuş toz örneğin fiziksel özelliklerinden daha iyi olduğu belirlenmiştir. Donuk kurutma yönteminin, püskürtmeli kurutma yönteminden daha iyi kalitede ürün elde edilmesini sağladığı literatürde de yer almaktadır (Cheng vd 2017; Laokuldilok and Kanha 2015; Ramírez vd 2015).

Çizelge 4.9. Toz örneklere ait bazı fiziksel özellikler

Özellik		Püskürtmeli kurutulmuş toz renklendirici	Donuk kurutulmuş toz renklendirici
Toz verimliliği (%)		61,30 ± 0,18	91,56 ± 0,22
Su aktivitesi		0,41 ± 0,00	0,24 ± 0,02
Nem (%)		6,33 ± 0,03	4,34 ± 0,01
Renk	L*	55,38 ± 0,00	47,07 ± 0,04
	a*	46,71 ± 0,02	37,03 ± 0,20
	b*	6,28 ± 0,01	5,66 ± 0,03
	h°	7,65 ± 0,00	8,69 ± 0,00
	C*	47,12 ± 0,02	37,46 ± 0,20
Çözünürlük (%)		80,39 ± 0,06	81,01 ± 0,17
Yığın yoğunluğu (kg/m ³)		244,19 ± 5,91	500,10 ± 0,10
Bulanıklık (NTU)		14,85 ± 0,15	14,95 ± 0,25

Oryza sativa L. bitkisinin kepeğinden elde edilen antosiyanin ekstraktına taşıyıcı materyal eklenip püskürtmeli ve donuk kurutma yöntemleriyle toz elde edilmesine yönelik yapılan bir çalışmada; püskürtmeli kurutulmuş tozun nem içeriği %3,46, su aktivitesi 0,29, yığın yoğunluğu 0,23 g/mL, toz verimliliği yaklaşık %80, çözünürlüğü yaklaşık %90; donuk kurutulmuş tozun nem içeriği %7,60, su aktivitesi 0,52, yığın yoğunluğu 0,34 g/mL, toz verimliliği yaklaşık %85, çözünürlüğü yaklaşık %80 olarak belirlenmiştir (Laokuldilok and Kanha 2015). Kırmızı lahanadan ekstrakte edilen antosiyaninler ile doğal mavi renk maddesi üretimi ve enkapsülasyon tekniği ile stabilitesinin artırılması üzerine gerçekleştirilen bir tez çalışmasında püskürtmeli kurutulmuş tozun nem içeriği %3,4, su aktivitesi 0,29, yığın yoğunluğu 0,475 g/mL, toz verimliliği %84,45, çözünürlüğü %93,87, L* değeri 68,39, a* değeri -2,15, b* değeri -10,44, h° açısı 258,36 ve C* değeri 10,65 olarak tespit edilmiştir (Mol 2016). Gilaburu suyunun mikroenkapsülasyonu üzerine yapılan bir çalışmada püskürtmeli kurutulmuş tozun nem içeriği %0,47-0,92, toz verimliliği %93,61-97,50, çözünürlüğü %97,04-98,15, L* değeri 73,57-78,61, a* değeri 29,20-35,54, b* değeri 0,14-1,46 ve C* değeri 29,24-35,55 olarak bildirilmiştir (Uyan Ersus 2004). Karanfil çiçeğinden elde edilen toz renklendiricilere ait değerler ile literatürdeki değerler arasındaki farkların uygulama koşulları ve hammadde arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.4. Model Gıda Denemeleri

Son yıllarda bilim insanları, sağlıklı ve doğal gıdaları tercih eden tüketicilerin taleplerini karşılamak adına yapay gıda katkıları yerine doğal gıda katkıları üzerine çalışmaya başlamışlardır. Bu kapsamda, farklı gıdaların farklı hammaddelerden elde edilen antosiyaninlerle renklendirilmesini konu alan çok sayıda araştırma mevcuttur (Bridle and Timberlake 1997). Bu çalışmada da karanfil çiçeğinden elde edilen antosiyaninler farklı model sistemlerin renklendirilmesinde kullanılmıştır.

4.4.1. Şeker hamuru

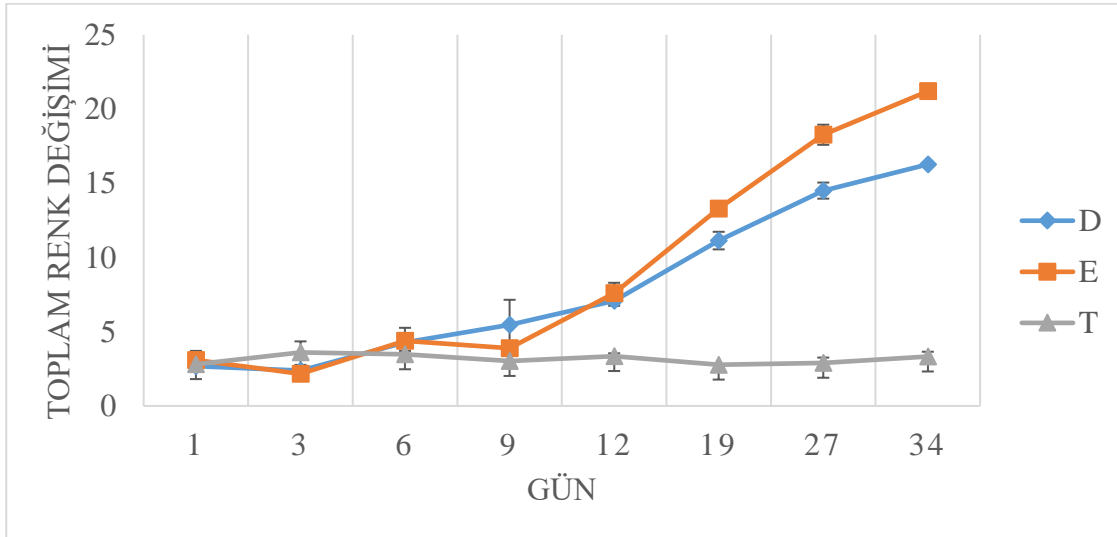
Tez kapsamında karşılaştırılan sıvı ve toz renklendiricilerle hazırlanan şeker hamurlarının renk değerleri farklı ortam koşullarında zamana bağlı olarak izlenmiştir.

Püskürtmeli kurutulmuş toz örnek, erimiş marsmallow içinde homojen çözünmemiştir (Şekil 4.7). Bu sebeple zamana bağlı renk değişimleri takip edilmemiştir.

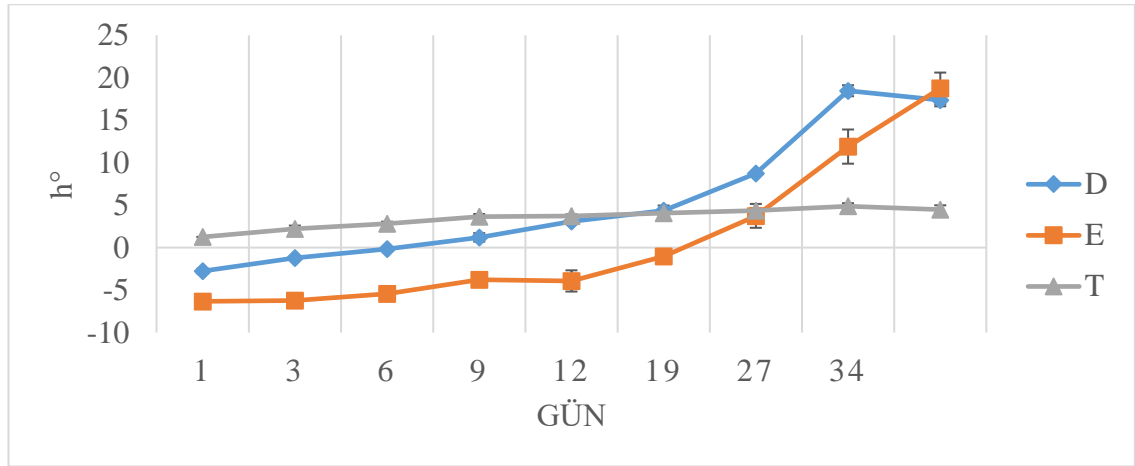


Şekil 4.7. Püskürtmeli kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamurları

Aydınlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarında 12. güne kadar her üç renklendirici ile renklendirilmiş örnekte de aynı miktarda renk değişimi gözlenmiş, 12. günden sonra donuk kurutulmuş toz renklendirici ve sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneklerde toplam renk değişimi miktarı artmıştır. En yüksek toplam renk değişimi 34. günün sonunda sıvı renklendirici ile hazırlanmış örnekte görülmüştür (Şekil 4.8). Ticari renklendirici ile renklendirilmiş örneğin h° değeri depolama süresince neredeyse sabit kalırken, donuk kurutulmuş toz renklendirici ve sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneklerin h° değerleri 12. günden sonra hızlı bir artış göstermiştir (Şekil 4.9).

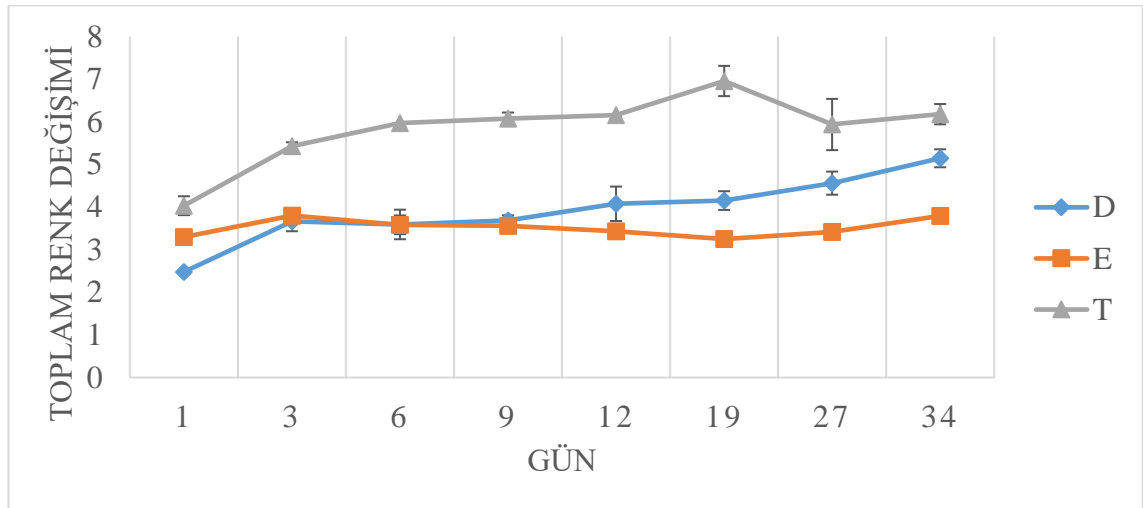


Şekil 4.8. Aydınlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı toplam renk değişimi değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru)

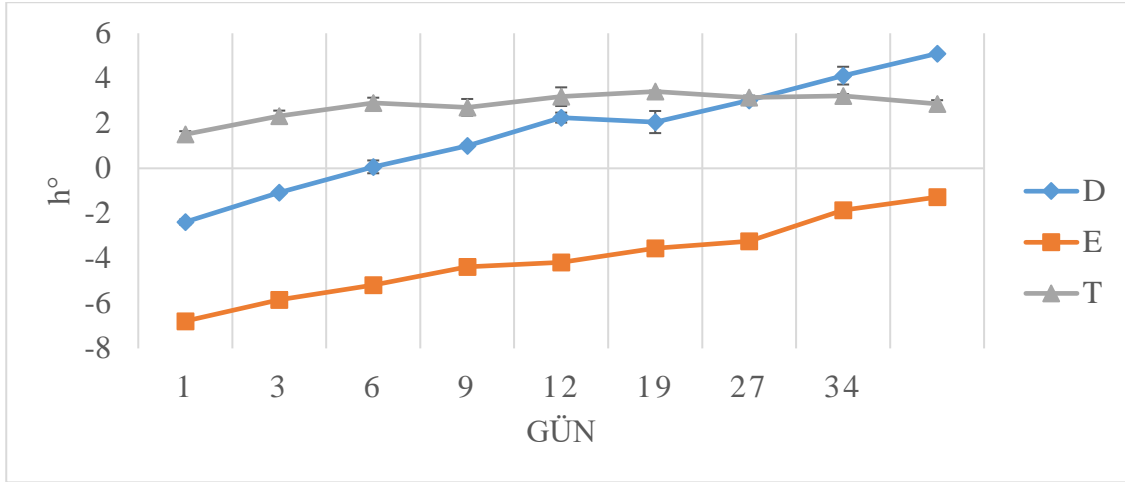


Şekil 4.9. Aydınlik oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı hue açısı (h°) değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru)

Karanlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarında depolamanın tüm günlerinde en yüksek toplam renk değişimi değeri ticari renklendirici ile hazırlanmış örnekte, en düşük toplam renk değişimi değeri ise donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış örnekte görülmüştür (Şekil 4.10). Ticari renklendirici ile renklendirilmiş örneğin h° değeri depolama süresince neredeyse sabit kalırken, donuk kurutulmuş toz renklendirici ve sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneklerin h° değerleri depolama boyunca artış göstermiştir (Şekil 4.11).

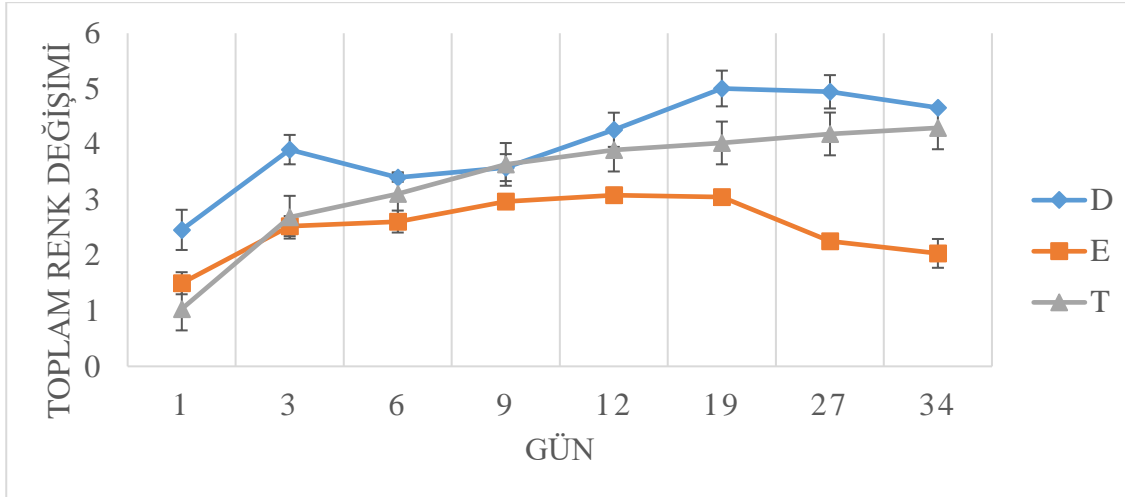


Şekil 4.10. Karanlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı toplam renk değişimi değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru)

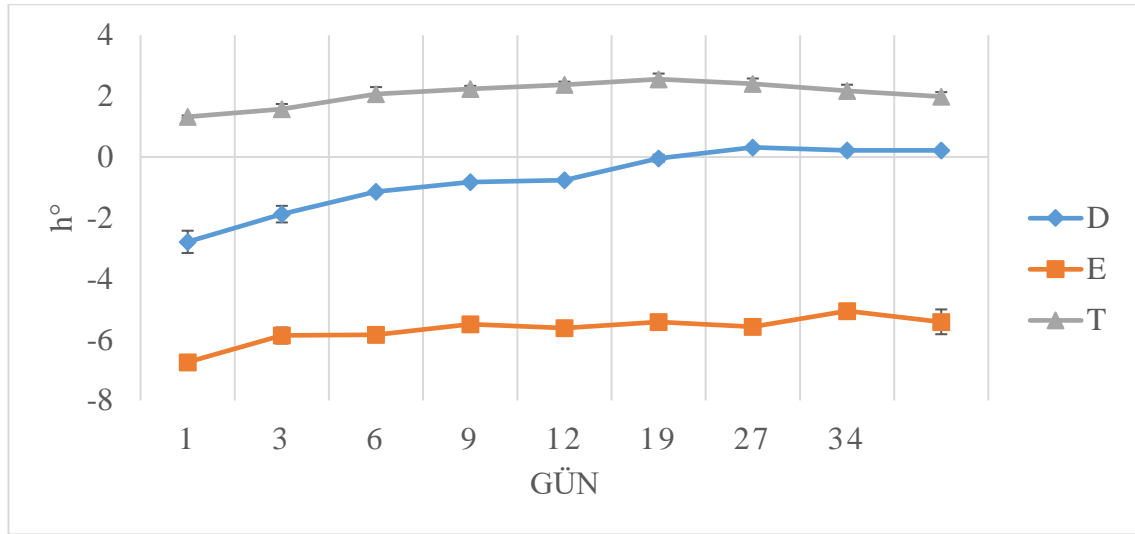


Şekil 4.11. Karanlık oda koşullarında depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı hue açısı (h°) değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru)

4 °C’de karanlıkta depolanan şeker hamurlarında en yüksek toplam renk değişimi değeri depolamanın ilk günlerinde görülmüştür. Depolamanın ilerleyen günlerinde her üç örnekte de büyük bir renk değişimi oluşmamıştır. En yüksek toplam renk değişimi değeri sıvı renklendirici ile hazırlanmış örnekte görülmüştür (Şekil 4.12). Ticari renklendirici ile renklendirilmiş örneğin h° değeri depolama süresince neredeyse sabit kalırken, donuk kurutulmuş toz renklendiricinin h° değerinde artmıştır. Sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneğin h° değerinde ise depolamanın ilk gününde büyük bir düşüş görülmüş, ilerleyen günlerde h° değeri neredeyse sabit kalmıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. 4 °C’de karanlıkta depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı toplam renk değişimi değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru)



Şekil 4.13. 4 °C’de karanlıkta depolanan şeker hamurlarına ait zamana bağlı hue açısı (h°) değerleri (D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru, T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamuru)

Varyans analiz sonuçlarına göre şeker hamuru örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin; tüm varyasyon kaynaklarından ve bunların interaksiyonlarından $p < 0,001$ düzeyinde etkilendiği görülmektedir (Çizelge 4.10).

En düşük toplam renk değişimi değeri ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış şeker hamurunda görülürken, donuk kurutulmuş toz renklendirici ile sıvı renklendirici arasında farklılık bulunmamıştır. Aydınlik oda koşullarında, karanlık oda koşullarında ve 4 °C’de karanlıkta depolama koşulları arasında fark bulunmuştur. Beklendiği üzere depolama süresindeki artış, toplam renk değişimi değerinde artışa sebep olmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.10. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış ve farklı koşullarda depolanmış şeker hamurlarının toplam renk değişimi değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Renklendirici	2	19,13	57,08***
Depolama koşulu	2	152,38	454,58***
Depolama süresi	7	53,31	159,04***
Renklendirici x depolama koşulu	4	89,77	267,80***
Depolama koşulu x depolama süresi	14	29,35	87,55***
Renklendirici x depolama süresi	14	8,10	24,17***
Renklendirici x depolama koşulu x depolama süresi	28	11,61	34,64***
Hata	72	0,34	

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, F: F değeri, *** $p < 0,001$

Çizelge 4.11. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış ve farklı koşullarda depolanmış şeker hamurlarının toplam renk değişimi değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

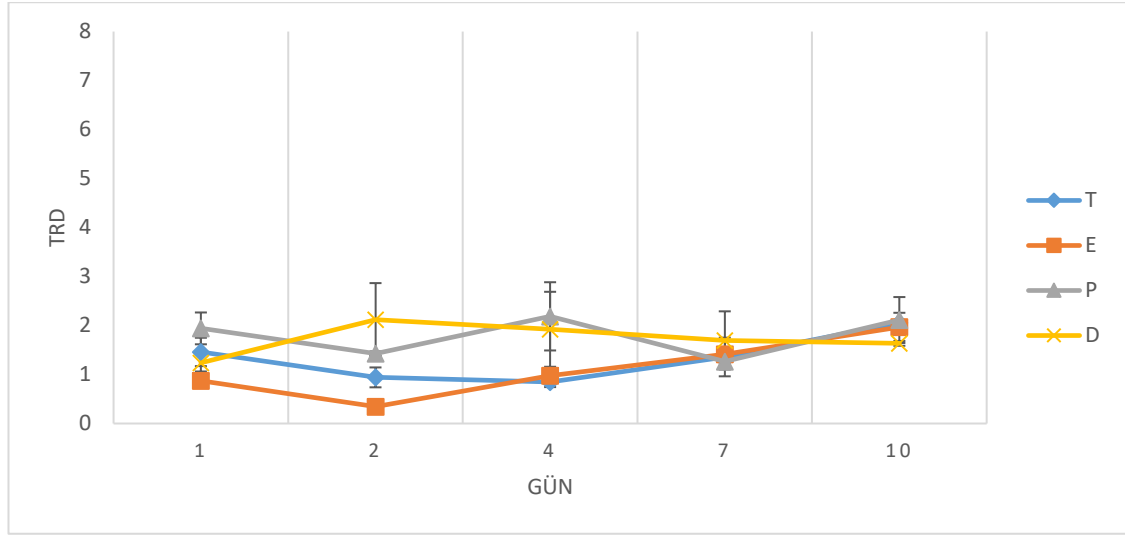
Varyasyon kaynakları		TRD	
Renklendirici	Ticari (siyah havuç)	4,12 ^b	± 1,52
	Karanfil çiçeği ekstraktı	5,08 ^a	± 5,05
	Donuk kurutulmuş toz	5,31 ^a	± 3,58
Depolama koşulu	Aydınlık oda koşulu	6,79 ^a	± 5,68
	Karanlık oda koşulu	4,42 ^b	± 1,23
	4 °C ve karanlık	3,30 ^c	± 1,09
Depolama süresi (gün)	1	2,60 ^g	± 0,95
	3	3,35 ^f	± 1,05
	6	3,82 ^e	± 1,00
	9	3,39 ^e	± 1,21
	12	4,77 ^d	± 1,69
	19	5,96 ^c	± 3,70
	27	6,77 ^b	± 5,49
	34	7,43 ^a	± 6,44

Her bir varyasyon kaynağı için aynı sütündeki farklı harfler ortalamalar arasında varyans analizi tablosunda belirtilen seviyede farklılık olduğunu gösterir.

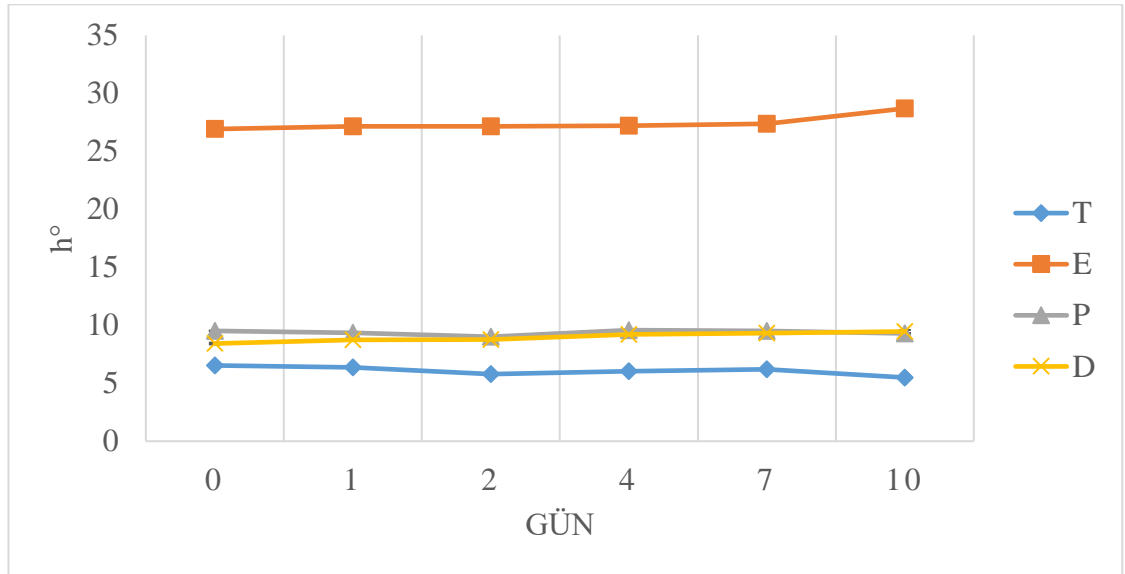
Bu tez kapsamında elde edilen renklendiricilerin uygun miktarlarda katkılanarak şeker hamurunda başarıyla kullanılabilmesi düşünülmektedir. Benzer model gıdalar üzerinde yapılan literatür çalışmalarında da renk değerleri ölçülerek sonuçlar yorumlanmıştır. Ülkemizde yapılan bir araştırmada 1 kg geleneksel Türk lokumunun renklendirilmesinde 6,6 g siyah havuç konsantresi kullanılmasının yeterli olduğu bildirilmektedir (Özen vd 2011). Benzer şekilde, bazı şekerlemelere ağırlıkça %0,4 oranında üzüm ekstraktı ilavesinin uygun olduğu belirtilmiştir (Bridle and Timberlake 1997).

4.4.2. Dondurma

Tez kapsamında karşılaştırılan sıvı ve toz renklendiricilerle hazırlanan dondurmaların renk değerleri -20 °C'de zamana bağlı olarak izlenmiştir. Depolama süresince tüm dondurma örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür. (Şekil 4.14). Depolama süresince tüm örneklerin hue açısı (h°) değerleri neredeyse sabit kalmıştır. Başlangıç hue açısı değerleri dikkate alınarak sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneğin hue açısı değerinin en yüksek, ticari renklendirici ile hazırlanmış örneğin hue açısı değerinin en düşük olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.14. -20 °C’de depolanan dondurma örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, P: Püskürtmeli kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma, D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma)



Şekil 4.15. -20 °C’de depolanan dondurma örneklerinin hue açısı (h°) değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, P: Püskürtmeli kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma, D: Donuk kurutulmuş toz renklendirici ile hazırlanmış dondurma)

Varyans analiz sonuçlarına göre dondurma örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin; renklendirici çeşidi varyasyon kaynağından $p < 0,05$ önemlilik düzeyinde etkilendiği görülmektedir (Çizelge 4.12).

Ticari renklendirici ile hazırlanmış, püskürtmeli kurutulmuş toz ile hazırlanmış ve donuk kurutulmuş toz ile hazırlanmış örneklerin kendi aralarında; sıvı ekstrakt ile hazırlanmış örneklerin ve ticari renklendirici ile hazırlanmış örneklerin kendi arasında toplam renk değişimi değerlerinde farklılık bulunmamıştır. (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.12. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış dondurmaların toplam renk değişimi değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Renklendirici	3	1,03	3,63*
Depolama süresi	4	0,60	2,22
Renklendirici x depolama süresi	12	0,39	1,45
Hata	20	0,27	

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, F: F değeri, * p<0,05

Çizelge 4.13. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış dondurmaların toplam renk değişimi (TRD) değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Varyasyon kaynakları		TRD
Renklendirici	Ticari (siyah havuç)	1,33 ^{ab} ± 0,53
	Karanfil çiçeği ekstraktı	1,11 ^b ± 0,58
	Püskürtürek kurutulmuş toz	1,79 ^a ± 0,58
	Donuk kurutulmuş toz	1,72 ^a ± 0,66
Depolama süresi (gün)	1	1,38 ^{ab} ± 0,49
	2	1,21 ^b ± 0,81
	4	1,48 ^{ab} ± 0,84
	7	1,43 ^{ab} ± 0,42
	10	1,94 ^a ± 0,34

Her bir varyasyon kaynağı için aynı sütündeki farklı harfler ortalamalar arasında varyans analizi tablosunda belirtilen seviyede farklılık olduğunu gösterir.

Bu tez kapsamında elde edilen renklendiricilerin uygun miktarlarda katkılanarak dondurmada başarıyla kullanılabileceği düşünülmektedir. Benzer model gıdalar üzerinde yapılan literatür çalışmalarında da renk değerleri ölçülerek sonuçlar yorumlanarak, süt ürünlerinde ağırlıkça %0,3-0,5 oranında, üzümde elde edilen antosiyanin bazlı ekstrakt ilavesinin etkileyici bir renk oluşturduğu belirtilmektedir (Bridle and Timberlake 1997). Dondurmanın rengi üzerine yapılan bir başka çalışmada kırmızı şarap tortusunun dondurmaya antioksidan özellik kazandırdığı belirlenmiştir (Hwang vd 2009). Benzer bir çalışmada dondurma karışımına 3 mg/100g oranında eklenen siyah havuç, kırmızı lahanaya ve üzüm kabuğu ekstraktları, dondurmaların fenolik madde içeriğini artırmış ve duyuşal olarak da beğenilmiştir Aynı çalışmada, çemenin renklendirilmesinde siyah havuç ekstraktı ve kara lahanaya ekstraktının uygun renklendirici ajanlar olduğu belirtilmiştir (Ekici 2011). Bir başka çalışmada ise yoğurt ve ekşi kremaya 5 mg/100 g oranında kırmızı turp, kırmızı lahanaya ve siyah havuç gibi farklı kaynaklardan elde edilen ekstraktlar ile hazırlanmış; kırmızı turp ve siyah havucun ürüne hoş bir kırmızılık verdiği, kırmızı lahananın ise çekici bir mor renk oluşturduğu bildirilmiştir. Hidrojellerin renk verme gücünün araştırıldığı bir çalışmada peyniraltı suyu hidrojelinde enkapsüle edilmiş antosiyanin konsantreleri farklı miktarlarda kullanılarak yoğurt örnekleri

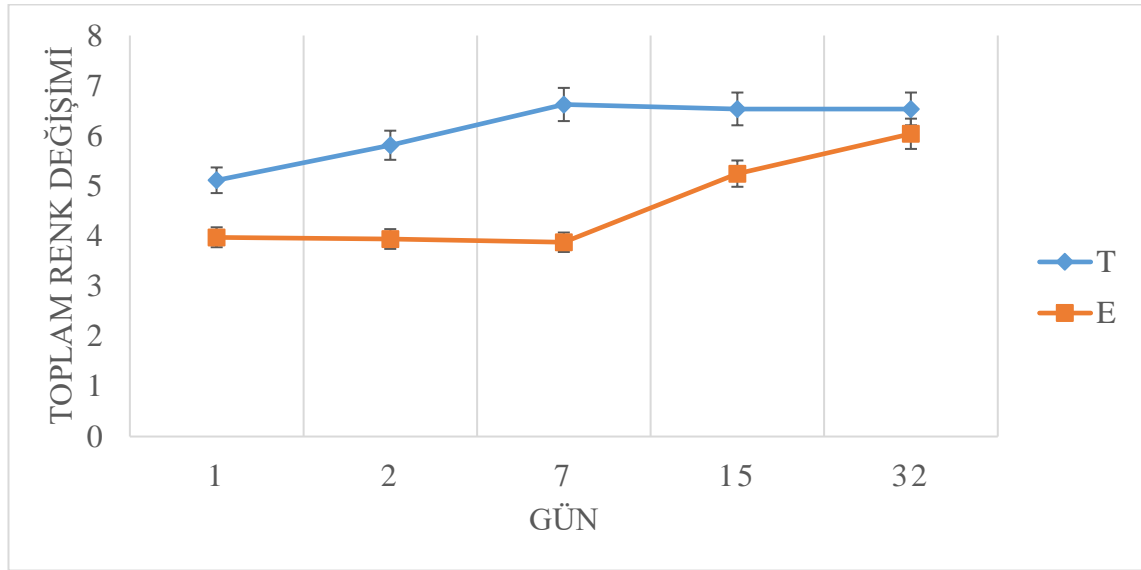
renklendirilmiştir. Enkapsüle edilmiş konsantrat, yüksek miktarlarda bile iyi çözülmüş ve homojen bir renk sağlamıştır. Yoğurt ürünlerine en az % 5 mikrokapsül eklenmesiyle istenilen renklerin elde edilebileceği belirtilmiştir (Bilek vd 2017).

Süt ürünlerinin raf ömrünün birkaç hafta olduğu dikkate alındığında doğal antosiyanin kaynaklarının bu ürünlerde başarıyla kullanılabileceği belirtilmektedir (Giusti and Wrolstad 2003).

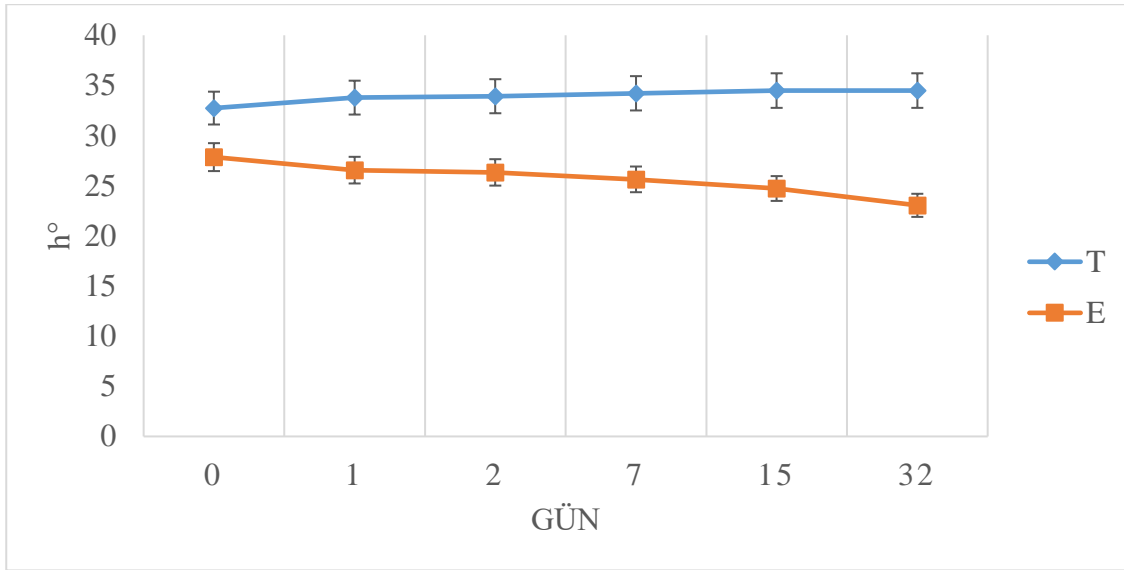
4.4.3. Gazlı içecek

Tez kapsamında karşılaştırılan sıvı renklendiricilerle hazırlanan gazlı içeceklerin renk değerleri zamana bağlı olarak izlenmiş, toplam renk değişimleri ve Hue açıları (h°) hesaplanmıştır.

Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneğin toplam renk değişimi değerinde ilk 7 gün artış gözlenirken, sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneğin toplam renk değişimi değerinde 7 günden sonra artış görülmüştür (Şekil 4.16). Depolama süresince; ticari renklendirici ile hazırlanmış örneğin h° değerinde bir miktar artış, sıvı renklendirici ile hazırlanmış örneğin h° değerinde bir miktar düşüş tespit edilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.16. 4 °C’de depolanan gazlı içecek örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma)



Şekil 4.17. 4 °C’de depolanan gazlı içecek örneklerinin hue açısı (h°) değerlerinin zamana bağlı değişimi (T: Ticari sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma, E: Sıvı renklendirici ile hazırlanmış dondurma)

Varyans analiz sonuçlarına göre gazlı içecek örneklerinin toplam renk değişimi değerlerinin; renklendirici çeşidi, depolama süresi ve renklendirici x depolama süresi varyasyon kaynaklarından $p < 0,001$ önemlilik düzeyinde etkilendiği görülmektedir (Çizelge 4.14).

Ticari renklendirici ile hazırlanmış ve sıvı ekstrakt ile hazırlanmış örneklerin toplam renk değişimi değerlerinde farklılık bulunmamıştır. Depolama süresi arttıkça toplam renk değişimi değerleri de artmıştır(Çizelge 4.15).

Çizelge 4.14. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış gazlı içeceklerin toplam renk değişimi değerlerinin değişimine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F
Renklendirici	1	10,61	260,70***
Depolama süresi	4	1,68	41,23***
Renklendirici x depolama süresi	4	1,19	29,18***
Hata	10	0,04	

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, F: F değeri, *** $p < 0,001$

Çizelge 4.15. Farklı renklendiriciler ile hazırlanmış gazlı içeceklerin toplam renk değişimi (TRD) değerlerinin ortalamalarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Varyasyon kaynakları		TRD
Renklendirici	Ticari (siyah havuç)	6,02 ^a ± 0,58
	Karanfil çiçeği ekstraktı	4,56 ^b ± 0,99
Depolama süresi (gün)	1	4,54 ^c ± 0,66
	2	4,88 ^b ± 1,09
	7	5,11 ^b ± 1,76
	15	5,84 ^a ± 0,73
	32	6,07 ^a ± 0,08

Her bir varyasyon kaynağı için aynı sütündeki farklı harfler ortalamalar arasında varyans analizi tablosunda belirtilen seviyede farklılık olduğunu gösterir.

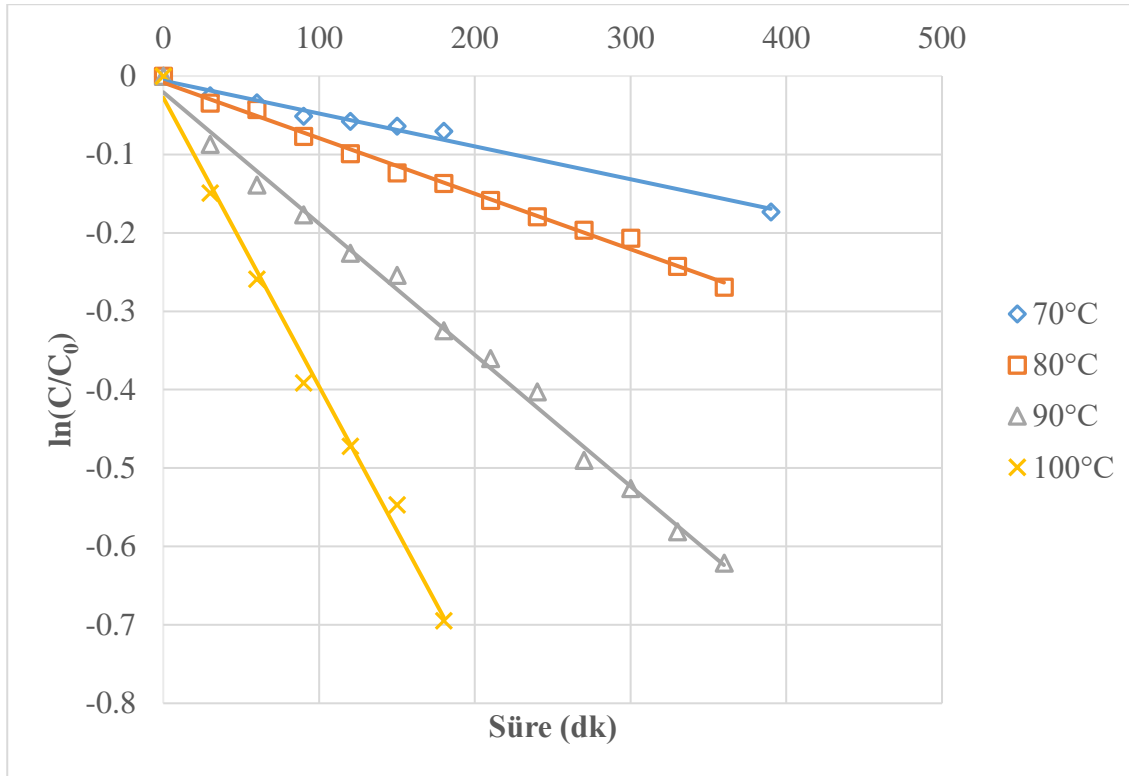
Farklı gıdaların farklı hammaddelerden elde edilen antosiyaninlerle renklendirilmesini konu alan birçok araştırma bulunmaktadır. Alkolsüz içeceklerin 100 mL'sine 3 mg monomerik antosiyanin içecek miktarda üzüm ekstraktı ilave edilmesinin örneklerin rengini koyu kırmızıya dönüştürdüğü belirtilmektedir (Bridle and Timberlake 1997). Benzer bir başka çalışmada pH değeri 3-4 arasında olan alkolsüz içeceklerin 3-4 mg monomerik antosiyanin ilavesiye koyu kırmızı renkte olmalarının sağlandığı aktarılmıştır (Hendry and Houghton 1996). Soda ve mineralli (gazlı) içeceklerin 0,5 mg/100mL siyah havuç antosiyanini ilavesiyle pembe bir renk aldığı, eklenen antosiyanin konsantrasyonunun artmasıyla rengin daha da koyulaştığı belirlenmiştir (Uyan Ersus 2004).

4.5. Antosiyaninlerin Isıl Stabilitelerinin Belirlenmesi

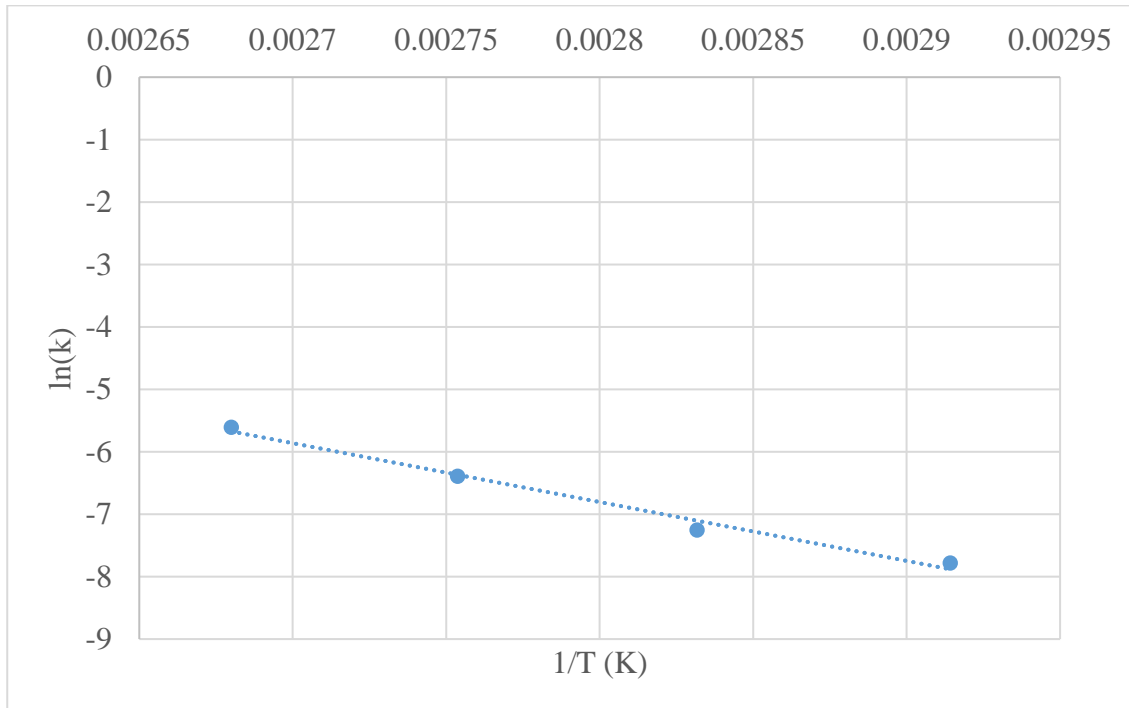
Karanfil antosiyaninlerinin ısıl işlem sırasında bozulmasının hem sıfır hem de birinci dereceden reaksiyona uyumlu olduğu görülmüş, ancak değerlerin birinci derece reaksiyon kinetiği ile çok daha uyumlu olduğu anlaşılmıştır (Çizelge 4.16). Birinci dereceden reaksiyon kinetiğine ait veriler Şekil 4.18 ve Şekil 4.19'da verilmiştir. Yapılan bir çok çalışmada antosiyaninlerin bozulmasının birinci dereceden reaksiyon kinetiğine göre gerçekleştiği bildirilmektedir (Calvi and Francis 1978; Cemeroglu vd 1994; Cissé vd 2012; Cisse vd 2009; Daravingas and Cain 1968).

Çizelge 4.16. Sıfırncı, birinci ve ikinci dereceden reaksiyonlara ait R² değerleri

R ²	0. derece	1. derece	2. derece
70 °C	0,9831	0,9834	0,9815
80 °C	0,9904	0,9935	0,9934
90 °C	0,9873	0,9950	0,9871
100 °C	0,9696	0,9909	0,9891



Şekil 4.18. Farklı sıcaklıklardaki TMA değerlerinin zamana bağlı değişimi



Şekil 4.19. Antosiyaninlerin pH 3,0'te reaksiyon hız sabitinin zamana bağlı değişimi (Arrhenius grafiği)

Antosiyaninler için kinetik parametreler hesaplanmış ve Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Karanfil çiçeği antosiyaninlerinin kinetik parametreleri

pH	Sıcaklık (°C)	$k \times 10^{-3}$ (dk ⁻¹)	t _{1/2} (saat)	E _a (kJ/mol)
3,0	70	0,42 (0,983)*	27,57	78,37 (0,986)
	80	0,71 (0,994)	16,31	
	90	1,68 (0,995)	6,90	
	100	3,68 (0,991)	3,14	

(*): Parantez içindeki değerler determinasyon katsayısıdır (R²).

Karanfil antosiyaninlerine ait kinetik parametrelere bakıldığında sıcaklıktaki artış; reaksiyon hız sabitini (k) artırırken, yarılanma süresini (t_{1/2}) kısaltmaktadır. pH 3,0 tampon çözeltide; 70, 80, 90 ve 100 °C’ler için reaksiyon hız sabitleri (k) ve yarılanma süreleri (t_{1/2}) sırasıyla 0,42 x 10⁻³ dk⁻¹; 0,71 x 10⁻³ dk⁻¹; 1,68 x 10⁻³ dk⁻¹; 3,68 x 10⁻³ dk⁻¹ ve 27,57 sa; 16,31 sa; 6,90 sa; 3,14 sa ve tepkimeye ait aktivasyon enerjisinin (E_a) 78,37 kJ/mol olarak hesaplanmıştır. Literatür yer alan, aynı pH ve sıcaklıklarda gerçekleştirilen çalışmalarına ait veriler Çizelge 4.18’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.18. Farklı kaynaklardan elde edilen antosiyaninlerin kinetik parametreleri

Antosiyanin kaynağı	pH	Sıcaklık (°C)	$k \times 10^{-3}$ (dk ⁻¹)	t _{1/2} (saat)	E _a (kJ/mol)	
Siyah fasulye	3,0	70	-	11,29	78,32	(Mojica vd 2017)
		80	-	3,86		
		90	-	2,5		
Siyah havuç	3,0	70	0,46	25,1	72,4	(Kırca vd 2007)
		80	1,15	10,0		
		90	1,84	6,3		
Siyah pirinç (siyanidin-3-glikozit)	3,0	80	1,8	6,42	-	
		90	2,6	4,44		
		100	6,2	1,86		
Siyah pirinç (peonidin-3-glikozit)	3,0	80	1,7	6,79	-	
		90	2,5	4,62		
		100	4,9	2,36		
Siyah pirinç (siyanidin-3,5-diglikozit)	3,0	80	1,7	6,79	-	(Hou vd 2013)
		90	2,6	4,44		
		100	5,7	2,03		
Siyah pirinç (siyanidin-3-rutinosit)	3,0	80	1,7	6,79	-	
		90	2,8	4,13		
		100	6,3	1,83		
Mor patates	3,0	80	-	15	73,49	(Reyes and Cisneros-Zevallos 2007)
Kırmızı patates	3,0	80	-	34	66,70	
Üzüm	3,0	80	-	15	75,03	
Mor havuç	3,0	80	-	33	81,34	

Tüm bu çalışmalarla kıyaslandığında karanfil çiçeği antosiyaninlerinin degradasyonunun, belirtilen pH ve sıcaklıklarda siyah fasülye, siyah pirinç, kırmızı patates ve mor havuç antosiyaninlerinin degradasyonundan daha yavaş; mor patates ve üzüm antosiyaninlerinin degradasyonundan daha hızlı gerçekleştiği tespit edilmiştir.

4.6. Karanfil Çiçeğinin Antosiyanin Profili

Sıvı ve toz örneklerin antosiyanin kompozisyonlarının belirlenmesi için Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırma Merkezi'nden yapılan hizmet alımına ait sonuç raporu EK-4'te sunulmuş ve sonuçlar Çizelge 4.17'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.19. Karanfil çiçeğinden elde edilen doğal gıda renklendiricilerinin antosiyanin kompozisyonu sonuçları

Numune adı	Standart	Bileşen	Sonuç
Karanfil çiçeğinden elde edilen sıvı gıda renklendiricisi (mg/L)	Pelargonin chloride	pelargonidin-3,5-di-O-glikozit	4,26
	Callistephin chloride	pelargonidin-3-O-glikozit	6,40
	Cyanin chloride	siyanidin-3,5-di-O-glikozit	349,45
	Kuromanin chloride	siyanidin-3-O-glikozit	328,27
	Myrtillin chloride	delfinidin-3-O-glikozit	108,56
	Delphin chloride	delfinidin-3,5-di-O-glikozit	37,73
Karanfil çiçeğinden elde edilen donuk kurutulmuş toz gıda renklendiricisi (mg/kg)	Pelargonin chloride	pelargonidin-3,5-di-O-glikozit	23,48
	Callistephin chloride	pelargonidin-3-O-glikozit	47,31
	Cyanin chloride	siyanidin-3,5-di-O-glikozit	1156,74
	Kuromanin chloride	siyanidin-3-O-glikozit	1723,40
	Myrtillin chloride	delfinidin-3-O-glikozit	431,59
	Delphin chloride	delfinidin-3,5-di-O-glikozit	143,82
Karanfil çiçeğinden elde edilen püskürtmeli kurutulmuş toz gıda renklendiricisi (mg/kg)	Pelargonin chloride	pelargonidin-3,5-di-O-glikozit	21,42
	Callistephin chloride	pelargonidin-3-O-glikozit	33,51
	Cyanin chloride	siyanidin-3,5-di-O-glikozit	921,38
	Kuromanin chloride	siyanidin-3-O-glikozit	1689,33
	Myrtillin chloride	delfinidin-3-O-glikozit	370,42
	Delphin chloride	delfinidin-3,5-di-O-glikozit	114,12

Tanımlamada kullanılan antosiyanin standartları arasından, tüm örneklerde siyanidin-3,5-di-O-glikozit ve siyanidin-3-O-glikozitin en yüksek miktarda bulunan antosiyanin olduğu tespit edilmiştir. Toz örnekler arasındaki farklılıkların, püskürtmeli kurutma ve donuk kurutma işlemleri sırasında meydana gelen kayıplardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Mavi-gri karanfil çiçeğinde yaptıkları HPLC analizinde ana bileşen olarak pelargonidin-3-glikozit belirlenmiş, ayrıca pelargonidin-3,5-glikozit tespit etmişlerdir (Markham vd 2000). Yapılan diğer çalışmalarda karanfilde pelargonidin 3-malilglikozit, siyanidin 3-malilglikozit, pelargonidin 3,5-siklikmalildiglikozit ve siyanidin 3,5-

siklikmalildiglikozit bulunduğu bildirilmiştir (Bloor 1998; Nakayama vd 2000). Yapılan başka bir çalışmada ise karanfil çiçeklerindeki metalik mavimsi mor ve kırmızımsı mor rengin pelargonidin 3,5-diglikozitten kaynaklanırken, metalik koyu kırmızı rengin ise pelargonidin 3-glikozitten kaynaklandığı bildirilmiştir (Okamura vd 2013).

4.7. Pestisit Analizi

Sıvı ve toz örneklerin pestisit içeriğinin belirlenmesi için Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırma Merkezi'nden yapılan hizmet alımına ait sonuç raporu EK-5'te sunulmuştur. Tüm örneklerde, analiz edilen 300 pestisitinin tamamı raporlama limitinin altında bulunmuştur. Bu sonuç, karanfil çiçeğinin antosiyanin kaynağı olarak tüm gıdalarda güvenle kullanılabilceğini göstermiştir.

5. SONUÇ

Yapay gıda renklendiricilerinin yüksek miktarda tüketilmeleri halinde bazı sağlık riskleri oluşturduğuna dair araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. Bu araştırma sonuçları, hem bilim insanlarını doğal gıda renklendiricileri alanında çalışmaya teşvik etmekte hem de tüketicileri doğal renklendiriciler içeren gıdaları tercih etmeleri konusunda bilinçlendirmektedir.

Yapılan bu çalışmada Antalya bölgesinde yoğun olarak üretilen ve bununla orantılı olarak da yüksek miktarlarda atık oluşan antosiyanince zengin karanfil çiçeklerinden doğal gıda renklendiricisi elde edilmesi amaçlanmıştır. Böylece hem karanfil çiçeği atıklarının değerlendirilmesi hem de yapay gıda renklendiricilerine alternatif olabilecek yeni bir doğal antosiyanin kaynağı elde edilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Tüm bu hedefler doğrultusunda yapılan çalışmalar ile elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

1. Çalışma kapsamında öncelikli olarak, kesme karanfil çiçeği üretimi sırasında ortaya çıkan farklı renklerdeki atık karanfiller toplanmış ve antosiyanin içeriklerine bakılarak en yüksek TMA (kuru maddede 143,21 mg/kg çiçek) içeriğinin mor renkli karanfil çiçeğinde ("Osiris") olduğu tespit edilmiş ve çalışmaya bu renkteki karanfil çiçeklerinin atıklarıyla devam edilmiştir.

2. Bir bütün karanfil çiçeğinin %60,4'ünün antosiyanin kaynağı olarak değerlendirilebildiği ve antosiyaninlerin kuru maddede 86,89 mg/100 kg ekstrakt verimle taç yapraklardan ekstrakte edilebildiği hesaplanmıştır.

3. Karanfil çiçeğinden antosiyaninlerin ekstraksiyonu için zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonu ve ultrason destekli katı- sıvı ekstraksiyonu yöntemleri için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Ekstraksiyon yönteminin, ekstrakte edilebilen antosiyanin miktarı üzerine istatistiki olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiş ve ekstraksiyon işleminin ticari olarak kullanılabilirliği göz önüne alınarak zorlamalı konveksiyonlu katı-sıvı ekstraksiyonuyla gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. İncelenen parametreler arasında etanol oranı ($p<0,05$), parçalama etkinliği ($p<0,001$) ve ekstraksiyon süresi ($p<0,001$) parametrelerinin, antosiyanin ekstraksiyonu üzerine etkisinin istatistiki olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Tüm bu optimizasyon çalışmaları sonucunda ekstraksiyonun %80 etanol oranına (v:v; 80:20; etanol:0,1 N HCl) ve 1/20 katı-sıvı oranına sahip, 3 kez 5'er saniye Ultra-turrax ile parçalama işlemi uygulanmış örneğe, 30 °C'ye ve 178 d/dk çalkalama hızına ayarlı su banyosunda, 20 dakika süresince yapılmasına karar verilmiştir.

4. Belirlenen optimum koşullarda üretilen ekstraktın çözgeni, döner buharlaştırıcıda son konsantrasyon 10 °Briks olana kadar uzaklaştırılmıştır. Konsantre edilen bu ekstraktın toplam monomerik antosiyanin miktarının kuru maddede siyanidin-3-glikozit cinsinden 404,13 mg/kg ekstrakt olduğu belirlenmiştir. Bu ekstrakt sıvı gıda renklendiricisi olarak kullanılmıştır.

5. Farklı gıda formülasyonlarına eklenebilmesi ve stabilitesinin artırılması amacıyla toz formda da renklendirici elde edilmiştir. Bu amaçla sıvı ekstrakt, taşıyıcı

materyal olarak maltodekstrin eklendikten sonra püskürtmeli kurutma ve donuk kurutma yöntemleriyle kurutulmuştur. Donuk kurutulmuş toz örneğin genel fiziksel özelliklerinin, püskürtmeli kurutulmuş örnekten daha iyi olduğu görülmüştür.

6. Elde edilen sıvı ve toz formlarındaki gıda renklendiricileri model gıdalar üzerinde denenerek ticari doğal gıda renklendiricisine karşı stabilitesi incelenmiştir. Model gıda olarak; şeker hamuru, dondurma ve gazlı içecek hazırlanmıştır. Tüm model gıdalarda karanfilden elde edilen renklendiricilerin uygun miktarlarda eklenerek ticari sıvı renklendiriciye alternatif olabileceği görülmüştür.

7. Karanfil çiçeği antosiyaninlerinin kinetik parametreleri belirlenmiştir. 70, 80, 90 ve 100 °C'ler için reaksiyon hız sabitleri (k) ve yarılanma süreleri (sa) sırasıyla $0,42 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$; $0,71 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$; $1,68 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$; $3,68 \times 10^{-3} \text{ dk}^{-1}$ ve 27,57 sa; 16,31 sa; 6,90 sa; 3,14 sa olarak hesaplanmıştır. Tepkimeye ait aktivasyon enerjisinin (E_a) 78,37 kJ/mol olduğu tespit edilmiştir. Literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında karanfil antosiyaninlerinin degradasyonunun, antosiyanin kaynağı olarak kullanılacak birçok materyaldekenden daha yavaş gerçekleştiği tespit edilmiştir.

8. Elde edilen renklendiricilerin antosiyanin profilleri belirlenmiş ve kullanılan antosiyanin standartları arasından, tüm örneklerde siyanidin-3,5-di-O-glikozit ve siyanidin-3-O-glikozitin en yüksek miktarda bulunan antosiyaninler olduğu tespit edilmiştir.

9. Örneklerde, analiz edilen 300 pestisitinin tümü raporlama limitinin altında bulunmuştur. Bu sonuç, karanfil çiçeğinin antosiyanin kaynağı olarak tüm gıdalarda güvenle kullanılabileceğini göstermiştir.

6. KAYNAKLAR

- ADJÉ, F., LOZANO, Y.F., LOZANO, P., ADIMA, A., CHEMAT, F.VE GAYDOU, E.M. 2010. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from *Delonix regia* tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. *Industrial Crops and Products*, 32 (3): 439-444.
- AKBAŞ, N.VE SARVAN, F. 2016. Antalya kesme çiçek ihracatçılarının küresel rekabet gücünün analizi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 18 (2): 343-369.
- ALAGÖZ, Z., ÖKTÜREN, F.VE YILMAZ, E. 2006. Antalya bölgesinde karanfil yetiştirilen sera topraklarının bazı verimlilik özelliklerinin belirlenmesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*.
- ALTUĞ, T. 2009. Gıda katkı maddeleri. Ege Üniversitesi, İzmir.169-173 s.
- ANONİM 2006. Karmin, http://www.gidaraporu.com/cocuk-gidalarinda-katki-maddeleri_g.htm. (Son erişim tarihi: Temmuz 2017)
- ANONİM 2010. Koşineal, Karmin, Karminik asit, <http://www.food-info.net/tr/colour/cochineal.htm>. (Son erişim tarihi: Temmuz 2017)
- ANONİM 2015. Meyve ve sebze atıklarından elde edilen doğal renk maddelerinin üretimi ve gıda sanayinde kullanım alanları, <http://eng.ege.edu.tr/~otles/foodwaste-fruit.tripod.com/id3.html>. (Son erişim tarihi: Temmuz 2015)
- ANONİM 2017. Gıdalarda kullanılan doğal ve yapay renk maddeleri, <http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF679A66406202CCB0B48A2ED314157011>. (Son erişim tarihi: Nisan 2017)
- ARICI, M., KARASU, S., BAŞLAR, M., TOKER, Ö.S., SAĞDIÇ, O.VE KARAAĞAÇLI, M. 2016. Tulip petal as a novel natural food colorant source: Extraction optimization and stability studies. *Industrial Crops and Products*, 91: 215-222.
- BAYARRI, S., CALVO, C., COSTELL, E.VE DURÁN, L. 2001. Influence of color on perception of sweetness and fruit flavor of fruit drinks. *Revista de Agarquímica y Tecnología de Alimentos*, 7 (5): 399-404.
- BAYRAM, O. 2012. Yenilebilir bazı çiçeklerden biyoaktif ekstrakt ve doğal gıda boyası üretimi.Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.51 s.
- BECHTOLD, T.VE MUSSAK, R. 2009. Handbook of natural colorants. John Wiley & Sons.135-147 s.
- BERISTAIN, C., GARCIA, H.VE VERNON-CARTER, E. 2001. Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *LWT-Food Science and Technology*, 34 (6): 398-401.

- BHASKARAN, S.VE MEHTA, S. 2007. Stabilized anthocyanin extract from *Garcinia indica* US7261769 B2
- BILEK, S.E., YILMAZ, F.M.VE ÖZKAN, G. 2017. The effects of industrial production on black carrot concentrate quality and encapsulation of anthocyanins in whey protein hydrogels. *Food and Bioproducts Processing*, 102: 72-80.
- BLOOR, S.J. 1998. A macrocyclic anthocyanin from red\mauve carnation flowers. *Phytochemistry*, 49 (1): 225-228.
- BRIDLE, P.VE TIMBERLAKE, C. 1997. Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. *Food Chemistry*, 58 (1): 103-109.
- BUCHWEITZ, M., BRAUCH, J., CARLE, R.VE KAMMERER, D. 2013. Application of ferric anthocyanin chelates as natural blue food colorants in polysaccharide and gelatin based gels. *Food research international*, 51 (1): 274-282.
- CALVI, J.VE FRANCIS, F. 1978. Stability of concord grape (*V. labrusca*) anthocyanins in model systems. *Journal of Food Science*, 43 (5): 1448-1456.
- CANO-CHAUCA, M., STRINGHETA, P., RAMOS, A.VE CAL-VIDAL, J. 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6 (4): 420-428.
- CASTANEDA-OVANDO, A., DE LOURDES PACHECO-HERNÁNDEZ, M., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M.E., RODRÍGUEZ, J.A.VE GALÁN-VIDAL, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113 (4): 859-871.
- CEMEROĞLU, B. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt 1. Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara.670 s.
- CEMEROĞLU, B., VELIOĞLU, S.VE ISIK, S. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59 (6): 1216-1218.
- CEMEROĞLU, B., YEMENICIOĞLU, A.VE OZKAN, M. 2001. Meyve ve sebzelerin bileşimi ve soğukta depolanmaları. *Gıda Tek. Dergisi Yayınları, Ankara*.
- CEMEROĞLU, B. 2007a. Gıda analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara.150-155 s.
- CEMEROĞLU, B. 2007b. Gıda analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara.45-51 s.
- CEMEROĞLU, B. 2015. Reaksiyon kinetiği. Bizim Grup Basımevi, Ankara.38-50 s.
- CHEN, F., SUN, Y., ZHAO, G., LIAO, X., HU, X., WU, J.VE WANG, Z. 2007. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid

- chromatography–mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14 (6): 767-778.
- CHENG, A.-W., XIE, H.-X., QI, Y., LIU, C., GUO, X., SUN, J.-Y. VE LIU, L.-N. 2017. Effects of storage time and temperature on polyphenolic content and qualitative characteristics of freeze-dried and spray-dried bayberry powder. *LWT-Food Science and Technology*, 78: 235-240.
- CHUNG, C., ROJANASASITHARA, T., MUTILANGI, W. VE McCLEMENTS, D.J. 2016. Stabilization of natural colors and nutraceuticals: Inhibition of anthocyanin degradation in model beverages using polyphenols. *Food Chemistry*, 212: 596-603.
- CISSÉ, M., BOHUON, P., SAMBE, F., KANE, C., SAKHO, M. VE DORNIER, M. 2012. Aqueous extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa*: Experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering*, 109 (1): 16-21.
- CISSE, M., VAILLANT, F., ACOSTA, O., DHUIQUE-MAYER, C. VE DORNIER, M. 2009. Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the arrhenius, eyring, and ball models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57 (14): 6285-6291.
- CROSBY, W.H., FULGER, C.V., HAAS, G.J. VE NESHEIWAT, D.M. 1984. Stabilized anthocyanin food colorant US4481226 A
- CUNHA, S., BARRADO, A., FARIA, M. VE FERNANDES, J. 2011. Assessment of 4-(5-) methylimidazole in soft drinks and dark beer. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24 (4): 609-614.
- ÇİMEN, E. 2013. Kırmızı gül yapraklarından farklı ekstraksiyon yöntemleriyle doğal boyar madde eldesi ve tekstil alanında uygulanabilirliği. Yüksek lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul. 264 s.
- DARAVINGAS, G. VE CAIN, R. 1968. Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model systems. *Journal of Food Science*, 33 (2): 138-142.
- DELGADO-VARGAS, F. VE PAREDES-LÓPEZ, O. 2003. Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses. Florida: CRC Press. 167-219 s.
- DEMİR, Ü. 2015. Kesme çiçek sektör raporu. *Doğu Akdeniz Kalkınma Ajansı*.
- DONG, F.-M. VE BAI, X.-T. 2008. Optimization of Ultrasound-assisted Extraction Process Parameters of Flavonoids from *Eucommia ulmoides* Staminate Flower by Response Surface Methodology [J]. *Food Science*, 8: 048.
- DOWNHAM, A. VE COLLINS, P. 2000. Colouring our foods in the last and next millennium. *International journal of food science & technology*, 35 (1): 5-22.
- EKICI, L. 2011. 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.219 s.
- ERDOĞAN, Ş. 2007. Ankara piyasasında satışı sunulan bazı gıdalarda sentetik boya miktarlarının araştırılması.Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara s.
- ERGIN, F., ATAMER, Z., ARSLAN, A.A., GOCER, E.M.C., DEMIR, M., SAMTLEBE, M., HINRICH, J.VE KÜCÜKCETİN, A. 2016. Application of cold-and heat-adapted *Lactobacillus acidophilus* in the manufacture of ice cream. *International Dairy Journal*, 59: 72-79.
- EROĞLU, E. 2014. Çözünür kuşburnu çayı üretiminde ekstraksiyon ve kurutma optimizasyonu.Yüksek lisans tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.62 s.
- ESPIN, J.C., SOLER-RIVAS, C., WICHERS, H.J.VE GARCÍA-VIGUERA, C. 2000. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48 (5): 1588-1592.
- FERNANDES, L., CASAL, S., PEREIRA, J.A., SARAIVA, J.A.VE RAMALHOSA, E. 2017. Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. *Journal of Food Composition and Analysis*.
- FULEKI, T.VE FRANCIS, F. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science*: 78-83.
- GE, Q.VE MA, X. 2013. Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (An ning). *Food Science and Human Wellness*, 2 (2): 68-74.
- GEGNER, L. 2004. Hog production alternatives. *ATTRA's Organic Matters Series*.
- GIUSTI, M.M.VE WROLSTAD, R.E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14 (3): 217-225.
- HENDRY, G.A.F.VE HOUGHTON, J. 1996. Natural food colorants. Springer Science & Business Media.348 s.
- HEPSAĞ, F., HAYOĞLU, İ.VE BÜLENT, H. 2012. Karadut meyvesinin antosiyanin içeriği ve antosiyaninlerin gıda sanayinde renk maddesi olarak kullanım olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7 (1): 9-19.
- HILTON, B.W., LIN, R.I.VE TOPOR, M.G. 1982. Processed anthocyanin pigment extracts. US4320009 A
- HOU, Z., QIN, P., ZHANG, Y., CUI, S.VE REN, G. 2013. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food research international*, 50 (2): 691-697.

- HWANG, J.-Y., SHYU, Y.-S. VE HSU, C.-K. 2009. Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. *LWT-Food Science and Technology*, 42 (1): 312-318.
- JAFARI, S.-M., MAHDAVI-KHAZAEI, K. VE HEMMATI-KAKHKI, A. 2016. Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. *Carbohydrate polymers*, 140: 20-25.
- KARAALI, A. VE ÖZÇELİK, B. 1993. Gıda katkısı olarak doğal ve sentetik boyalar. *Gıda*, 18 (6).
- KARASU, S., KILICLI, M., BASLAR, M., ARICI, M., SAGDIC, O. VE KARAAGACLI, M. 2015. Dehydration Kinetics and Changes of Bioactive Compounds of Tulip and Poppy Petals as a Natural Colorant under Vacuum and Oven Conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (6): 2096-2106.
- KIRCA, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara. 109 s.
- KIRCA, A. VE CEMEROĞLU, B. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chemistry*, 81 (4): 583-587.
- KIRCA, A., ÖZKAN, M. VE CEMEROĞLU, B. 2007. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*, 101 (1): 212-218.
- KOCABAŞ, I. VE KAPLAN, M. 2007. Farkli gübre uygulamalarının karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) fidesinin beslenme ve renk değerleri üzerine etkisi. *Bahçe*, 36 (1): 29-35.
- KONG, J.-M., CHIA, L.-S., GOH, N.-K., CHIA, T.-F. VE BROUILLARD, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64 (5): 923-933.
- LAOKULDILOK, T. VE KANHA, N. 2015. Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. *LWT-Food Science and Technology*, 64 (1): 405-411.
- LEHOTAY, S.J., TULLY, J., GARCA, A.V., CONTRERAS, M., MOL, H., HEINKE, V., ANSPACH, T., LACH, G., FUSSELL, R. VE MASTOVSKA, K. 2007. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 90 (2): 485-520.
- LONGO, L. VE VASAPOLLO, G. 2006. Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry*, 94 (2): 226-231.
- MANE, C., CHANFORAN, C., LEMMONIER, P. VE JOUENNE, E. 2013. Anthocyanin-based colorant WO2013079518 A1

- MARKHAM, K.R., GOULD, K.S., WINEFIELD, C.S., MITCHELL, K.A., BLOOR, S.J.VE BOASE, M.R. 2000. Anthocyanic vacuolar inclusions—their nature and significance in flower colouration. *Phytochemistry*, 55 (4): 327-336.
- MINIOTI, K.S., SAKELLARIOU, C.F.VE THOMAIDIS, N.S. 2007. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, 583 (1): 103-110.
- MLCEK, J.VE ROP, O. 2011. Fresh edible flowers of ornamental plants—A new source of nutraceutical foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22 (10): 561-569.
- MOJICA, L., BERHOW, M.VE DE MEJIA, E.G. 2017. Black bean anthocyanin-rich extracts as food colorants: Physicochemical stability and antidiabetes potential. *Food Chemistry*, 229: 628-639.
- MOL, Z. 2016. Kırmızı lahana (*Brassica oleracea L.*)'dan ekstrakte edilen antosiyaninler ile doğal mavi renk maddesi üretimi ve ankapsülasyon tekniği ile stabilitesinin artırılması.Yüksek lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.73 s.
- NAKAYAMA, M., KOSHIOKA, M., YOSHIDA, H., KAN, Y., FUKUI, Y., KOIKE, A.VE YAMAGUCHI, M.-A. 2000. Cyclic malyl anthocyanins in *Dianthus caryophyllus*. *Phytochemistry*, 55 (8): 937-939.
- OKAMURA, M., NAKAYAMA, M., UMEMOTO, N., CANO, E.A., HASE, Y., NISHIZAKI, Y., SASAKI, N.VE OZEKI, Y. 2013. Crossbreeding of a metallic color carnation and diversification of the peculiar coloration by ion-beam irradiation. *Euphytica*, 191 (1): 45-56.
- ONOZAKI, T., MATO, M., SHIBATA, M.VE IKEDA, H. 1999. Differences in flower color and pigment composition among white carnation (*Dianthus caryophyllus L.*) cultivars. *Scientia horticulturae*, 82 (1): 103-111.
- ÖZEN, G., AKBULUT, M.VE ARTIK, N. 2011. Stability of black carrot anthocyanins in the Turkish delight (Lokum) during storage. *Journal of Food Process Engineering*, 34 (4): 1282-1297.
- RAMÍREZ, M.J., GIRALDO, G.I.VE ORREGO, C.E. 2015. Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. *Powder Technology*, 277: 89-96.
- RANGAN, C.VE BARCELOUX, D.G. 2009. Food additives and sensitivities. *Disease-a-month*, 55 (5): 292-311.
- RAO, A.V.VE RAO, L.G. 2007. Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, 55 (3): 207-216.

- REYES, L.F.VE CISNEROS-ZEVALLOS, L. 2007. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple-and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chemistry*, 100 (3): 885-894.
- SAĞDIÇ, O., EKICI, L., OZTURK, I., TEKINAY, T., POLAT, B., TASTEMUR, B., BAYRAM, O.VE SENTURK, B. 2013. Cytotoxic and bioactive properties of different color tulip flowers and degradation kinetic of tulip flower anthocyanins. *Food and chemical toxicology*, 58: 432-439.
- SALDAMLI, İ. 1998. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.492-498 s.
- SASAKI, N., MATSUBA, Y., ABE, Y., OKAMURA, M., MOMOSE, M., UMEMOTO, N., NAKAYAMA, M., ITOH, Y.VE OZEKI, Y. 2013. Recent advances in understanding the anthocyanin modification steps in carnation flowers. *Scientia horticulturae*, 163: 37-45.
- SASS-KISS, A., KISS, J., MILOTAY, P., KEREK, M.VE TOTH-MARKUS, M. 2005. Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food research international*, 38 (8): 1023-1029.
- SRIVASTAVA, J.VE VANKAR, P.S. 2010. Canna indica flower: New source of anthocyanins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12): 1015-1019.
- STILLMAN, J.A. 1993. Color influences flavor identification in fruit-flavored beverages. *Journal of Food Science*, 58 (4): 810-812.
- ŞAHİN, Ö.VE KILIÇ, B. 2009. Yiyecek içecek işletmeciliğinde yenilebilir çiçekler. 3. Ulusal Gastronomi Sempozyumu, 15 ss, 17-18 Nisan, Akdeniz Üniversitesi Alanya İşletme Fakültesi, Alanya Meslek Yüksek Okulu.
- TAJCHAKAVIT, S., BOYE, J.VE COUTURE, R. 2001. Effect of processing on post-bottling haze formation in apple juice. *Food research international*, 34 (5): 415-424.
- TAN, J.B.L., LIM, Y.Y.VE LEE, S.M. 2014. Rhoeo spathacea (Swartz) Stearn leaves, a potential natural food colorant. *Journal of Functional Foods*, 7: 443-451.
- TERAHARA, N.VE YAMAGUCHI, M.-A. 1986. ¹H NMR spectral analysis of the malylated anthocyanins from Dianthus. *Phytochemistry*, 25 (12): 2906-2907.
- TERAHARA, N., YAMAGUCHI, M.-A., TAKEDA, K., HARBORNE, J.B.VE SELF, R. 1986. Anthocyanins acylated with malic acid in Dianthus caryophyllus and D. deltoides. *Phytochemistry*, 25 (7): 1715-1717.
- THORNGATE, J.H. 2002. Synthetic food colorants, <http://vahabonline.com/wp-content/uploads/2013/06/sdgdhf175420.pdf>. (Son erişim tarihi: 12.04.2017)
- TIWARI, B.K. 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71: 100-109.

- TOPUZ, A. 2008. A novel approach for color degradation kinetics of paprika as a function of water activity. *LWT-Food Science and Technology*, 41 (9): 1672-1677.
- TÜRKYILMAZ, M.VE ÖZKAN, M. 2014. Effects of condensed tannins on anthocyanins and colour of authentic pomegranate (*Punica granatum L.*) juices. *Food Chemistry*, 164: 324-331.
- UYAN ERSUS, S. 2004. Kara havuç (*Daucus carota L.*) antosiyanin ekstraktının püskürtmeli kurutucu kullanılarak mikroenkapsülasyonu.Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.167 s.
- WALLIN, B.K. 1980. Process of purifying plant anthocyanin colors. US4211577 A
- WEBER, F., BOCH, K.VE SCHIEBER, A. 2017. Influence of copigmentation on the stability of spray dried anthocyanins from blackberry. *LWT-Food Science and Technology*, 75: 72-77.
- XU, D.-P., ZHENG, J., ZHOU, Y., LI, Y., LI, S.VE LI, H.-B. 2017. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chemistry*, 217: 552-559.

7. EKLER

EK-1. Sadece belirli renklendiricilerin kullanımına izin verilen gıda maddeleri

İzin Verilen Gıda Maddeleri	İzin Verilen Renklendirici	Maksimum Miktar
Malt ekmeđi	E 150a Sade karamel	QS
	E 150b Kostik sülfid karamel	
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	
Bira	E 150a Karamel	QS
Cidre bouche	E 150b Kostik sülfid karamel	
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	
Tereyağı (yağı azaltılmış ve konsantre tereyağları dahil)	E 160a Karotenler	QS
Margarin, minarin ve diğer yağ emülsiyonları ve	E 160a Karotenler	QS
	E 100 Kurkumin	QS
	E 160b Anatto. Biksin. norbiksin	10mg/kg
Turuncu, sarı ve krem renkli olgunlaştırılmış peynirler, aromalandırılmamış eritme peynirler,	E 160a Karotenler	QS
	E 160c Paprika ekstraktı	QS
	E 160b Anatto. Biksin. norbiksin	15 mg/kg
Sirke	E 150a Karamel	QS
	E 150b Kostik sülfid karamel	
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	
Viski, tahıl alkolü	E 150a Karamel	QS
	E 150b Kostik sülfid karamel	
	E 150c Amonyum karamel	
şarap bazlı aromalandırılmış içkiler (bitter soda hariç) ve aromalandırılmış şaraplar	E 150d Amonyum sülfid, karamel	QS
	E 150a Karamel	
	E 150b Kostik sülfid karamel	
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	

EK-1'in devamı

	E 150a Karamel	
	E 150b Kostik sülfid karamel	QS
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	
	E 100 Kurkumin	
	E 101 (i) Riboflavin	
	(ii) Riboflavin –5'-fosfat	
Bitter soda	E 102 Tartrazin	
	E 104 Kinolin sarısı	
	E 110 Sunset yellow	100 mg/L (tek veya birlikte)
	Orange yellow S	
	E 120 Koşineal, karminik asit, karminler	
	E 122 Azorubin, karmosin	
	E 123 Amarant	
	E 124 Ponso 4R, koşineal	
	E 129 Allura red AC	
	E 150a Karamel	
Belirlenmiş bölgelerde üretilen likör şarapları ve kalite likör şarapları	E 150b Kostik sülfid karamel	QS
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	
	E 101 (i) Riboflavin	
	(ii) Riboflavin –5'-fosfat	
	E 140 Klorofiller, klorofilinler	
	E 141 Klorofiller ve klorofilinlerin bakır kompleksleri	
	E 150a Karamel	
Sirke, tuzlu su (salamura) ve yağda sebzeler (zeytin hariç)	E 150b Kostik sülfid karamel	QS
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid, karamel	
	E 160a Karotenler:	
	- Karışım halindeki karotenler	
	- Beta-karoten	
	E 162 Pancar kökü kırmızısı, betanin	
	E 163 Antosiyaninler	
	E 150c Amonyum karamel	QS
Ekstrude edilmiş, parlatılmış ve/veya meyve aromalı kahvaltılık tahıllar	E 160a Karotenler	QS
	E 160b Anatto, biksin, norbiksin	25 mg/kg
	E 160c Paprika ekstraktı, kapsantin, kapsorubin	QS

EK-1'in devamı

Meyve aromalı kahvaltılık tahıllar	E 120 Koşineal, karminik asit, karminler	200 mg/kg (tek veya birlikte)
	E 162 Pancar kökü kırmızısı, betanin	
	E 163 Antosiyaninler	
Reçel, jöle ve marmelatlar ve benzeri meyve preparatları düşük kalorili ürünler dahil	E 100 Kurkumin	QS
	E 140 Klorofiller, klorofilinler	
	E 141 Klorofiller, klorofilinlerin bakır kompleksleri	
	E 150a Karamel	
	E 150b Kostik sülfid karamel	
	E 150c Amonyum karamel	
	E 150d Amonyum sülfid karamel	
	E 160a Karotenler:	
	(i) Karışım halindeki karotenler	
	(ii) Beta-karoten	
	E 160c Paprika ekstraktı, kapsantin, kapsorubin	
	E 162 Pancar kökü kırmızısı, betanin	
	E 163 Antociyaninler	
	E 104 Kinolin sarısı	
	E 110 Sunset yellow	
E 120 Koşineal, karminik asit, karminler	100 mg/kg (tek veya birlikte)	
E 124 Ponso 4R, koşineal		
E 142 Green S		
E 160d Likopen		
E 161b Lutein		
Sosis, salam ve pateler	E 100 Kurkumin	20 mg/kg
	E 120 Koşineal, karminik asit, karminler	100 mg/kg
	E 150a Karamel	QS
	E 150b Kostik sülfid karamel	QS
	E 150c Amonyum karamel	QS
	E 150d Amonyum sülfid karamel	QS
	E 160a Karotenler:	20 mg/kg
	E 160c Paprika ekstraktı, kapsantin, kapsorubin	10 mg/kg
E 162 Pancar kökü kırmızısı, betanin	QS	
Kahvaltılık sosisler (min % 6 tahıl içeren)	E 129 Allura red AC	25 mg/kg
	E 120 Koşineal, karminik asit, karminler	100 mg/kg

EK-1'in devamı

Köfteler (burger) (min % 4 sebze ve/veya tahıl içeren)	E 150a Karamel	QS
	E 150b Kostik sülfid karamel	QS
	E 150c Amonyum karamel	QS
	E 150d Amonyum sülfid karamel	QS
Pastırma (yenilebilir dış kaplamaları)	E 100 Kurkumin	
	E 101 (i) Riboflavin	QS
	(ii) Riboflavin –5'-fosfat	
	E 120 Koşineal, karminik asit, karminler	
Kurutulmuş patates granülleri ve gevrekleri	E 100 Kurkumin	QS
	E 102 Tartrazin	100 mg/kg
Bezelye konservesi	E 133 Brillant blue	20 mg/kg
	E 142 Green S	10 mg/kg

EK-2. Sadece belirli kullanımlar için izin verilen renklendiriciler

EC Kodu ve Renklendiricinin Adı	Gıda Maddesi	Maksimum Miktar
E 123 Amarant	Aperatif şaraplar, hacmen % 15 den daha az alkol içeren ürünler dahil olmak üzere damıtık içkiler	30 mg/L
	Balık yumurtası	30 mg/L
E 127 Eritrosin	Kokteyl kirazları ve kiraz şekerlemeleri	200 mg/kg
	Bigarro kirazlar (şurup halinde veya kokteyl halinde)	150 mg/kg
E 128 Red 2G	Kahvaltılık sosisler (min % 6 tahıl içeren)	20 mg/kg
	Köfteler (burger) (min. % 4 oranında sebze ve/veya hububat içeren)	20 mg/kg
E 154 Brown FK	Tuzlanmış ve tütsülenmiş ringa balığı	20 mg/kg
E 161 g Kantaksantin	Strazburg sosisi	15 mg/kg
E 173 Alüminyum	Pasta ve hafif fırıncılık ürünlerinin süslenmesinde kullanılan şekerlemelerin dış kaplamaları	QS
E 174 Gümüş	Şekerlemelerin dış kaplamaları	
	Çikolataların süslemeleri	QS
E 175 Altın	Likörler	
	Şekerlemelerin dış kaplama maddesi	
E 180 Litolrubin BK	Çikolataların süslemeleri	QS
	Likörler	
E 160b Anatto, Biksin, Norbiksin	Yenilebilir peynir kabukları	QS
		15 mg/kg
	Sarı, turuncu ve krem renkli, olgunlaştırılmış peynirler Aromalandırılmamış eritme peynirler,	15 mg/kg
	Aromalandırılmış eritme peynirler Mimolet peyniri Kırmızı Leicester peyniri Margarin,	15 mg/kg
	minarin ve diğer yağ emülsiyonları ve susuz yağlar	35 mg/kg
		50 mg/kg
		10 mg/kg
	Gıda süsleme ve kaplama maddeleri	20 mg /kg
	Hafif fırıncılık ürünleri	10 mg/kg
	Yenilebilir buzlar	20 mg/kg
	Likörler (Hacmen % 15 ten az alkol içerenler dahil)	10 mg /L
	Tatlılar	10 mg/kg
	Füme balık	10 mg/kg
	Yenilebilir peynir kaplama maddesi ve kılıfları	20 mg /kg
Kuru patates, tahıl veya nişasta bazlı çerezler:		
-Patlamış veya hacimlendirilmiş çerezler	20 mg/kg	
-Diğer çerezler	10 mg/kg	
Hacimlendirilmiş ve/veya meyve aromalı kahvaltılık tahıllar	25 mg/kg	

EK-3. EK-1 ve EK-2’de belirtilenler dışındaki gıda maddelerinde kullanımına izin verilen renklendiriciler**Birinci Bölüm**

Aşağıdaki renklendiriciler, bu ekin ikinci bölümünde belirtilen gıda maddelerinde ve tüm gıda maddelerinde EK-1 ile EK-2 de yer alanlar hariç olmak üzere *quantum satis* seviyesinde kullanılabilirler.

E 101	(i)Riboflavin (ii)Riboflavin-5’-fosfat
E 140	Klorofiller ve klorofilinler
E 141	Klorofiller ve klorofilinlerin ve bakır kompleksleri
E 150a	Sade karamel
E 150b	Kostik sulfat karamel
E 150c	Amonyum karamel
E 150d	Amonyum sülfat karamel
E 153	Bitkisel karbon
E 160a	Karotenler
E 160c	Paprika ekstraktı, kapsantin, Kapsorubin
E 162	Pancar kökü kırmızısı, Betanin
E 163	Antosiyantinler
E 170	Kalsiyum karbonat
E 171	Titanyum dioksit
E 172	Demir oksit ve hidroksitler

EK-3'ün devamı

İkinci Bölüm

Aşağıdaki gıdalarda, bu bölümde bulunan renklendiriciler tabloda belirtilen maksimum seviyelere kadar tek veya birlikte kullanılabilirler. Ancak, alkolsüz aromalı içecekler, yenilebilir buzlar, tatlılar, hafif fırıncılık ürünlerinde ve şekerlemelerde renklendiriciler, ilgili çizelgede belirtilen limite kadar kullanılabilir; fakat E110, E122, E124 ve E155 kodlu renklendiricilerin hiçbirisinin miktarı 50mg/kg veya 50mg/L yi geçemez.

E 100	Kurkumin
E 102	Tartrazin
E 104	Kinolin sarısı
E 110	Sunset yellow FCF Orange yellow S
E 120	Koşineal, Karminik asit, Karminler
E 122	Azorubin, Karmosin
E 124	Ponso 4R, Koşineal Red A
E 129	Allura Red AC
E 131	Patent Blue V
E 132	İndigotin (İndigo Karmin)
E 133	Brilliant Blue FCF
E 142	Green S
E 151	Brilliant Black BN, Black PN
E 155	Brown HT
E 160d	Likopen
E 160e	Beta-apo-8'-karotenel (C 30)
E 160f	Beta-apo-8'-karotenik asidin etil esteri(C 30)
E 161b	Lutein

EK-3'ün devamı

Gıda Maddesi	Maksimum Miktar
Alkolsüz aromalı içecekler	100 mg/L
Meyve ve sebze şekerlemeleri	200 mg/kg
Korunmuş kırmızı meyveler	200 mg/kg
Şekerlemeler	300 mg/kg
Süsleme ve kaplama maddeleri	500 mg/kg
Hafif fırıncılık ürünleri	200 mg/kg
Yenilebilir buzlar	150 mg/kg
Aromalandırılmış eritme peynir	100 mg/kg
Aromalandırılmış süt ürünleri dahil tatlılar	150 mg/kg
Soslar, çeşni maddeleri, turşular	500 mg/kg
Hardal	300 mg/kg
Balıkların ve kabukluların ezmeleri	100 mg/kg
Ön pişirme yapılmış kabuklular	250 mg/kg
Somon balığı benzerleri	500 mg/kg
Surimi	500 mg/kg
Balık yumurtası	300 mg/kg
Füme balık	100 mg/kg
Kuru patates, tahılveya nişasta bazlı çerezler	100 mg/kg
-Patlamış veya hacimlendirilmiş çerezler	200 mg/kg
-Diğer çerezler	100 mg/kg
Peynirlerin yenilebilen kabukları ve kılıfları	QS
Kilo kontrol amaçlı komple formüller, günlük toplam diyet yerine geçen veya bir öğün için olan gıdalar	50 mg/kg
Tıbbi kontrol altında kullanılan komple formüller ve ek gıdalar	50 mg/kg
Sıvı gıda takviyeleri	100 mg/L
Katı gıda takviyeleri	300 mg/kg
Çorbalar	50 mg/kg
Bitkisel protein bazlı et ve balık analogları	100 mg/kg
Distile alkollü içkiler (hacmen % 15 den az alkol içeren ürünler dahil) (Ek-2 ve Ek-3 de yer alanlar hariç)	200 mg/L
Aromalandırılmış şaraplar, aromalandırılmış şarap bazlı içkiler ve aromalandırılmış şarap- ürün kokteyli (Ek-2 ve Ek-3 de yer alanlar hariç)	200 mg/L
Meyve şarapları (durgun ve köpüren), elma şarabı (Cidre bouche hariç) ve aromalandırılmış armut şarabı	200 mg/L

EK-4. LC-MS-MS ile antosiyanin analizi sonuç raporu



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
GIDA GÜVENLİĞİ VE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR MERKEZİ

ÖZEL İSTEK MUAYENE VE ANALİZ RAPORU

Numune Geliş Tarihi	14.06.2017	Rapor No	2017-629-631
Tahmini Rapor Tarihi			
Analiz	Pestisit ve antosiyanin analizi		
İlgili Kişi Adı-Soyadı / Kuruluş	Ecem Vural		
İlgili Kişi Adresi	Akdeniz Üni. Gıda Mühendisliği Bölümü		
İlgili Kişi Telefon Numarası	0505 987 45 43		
İlgili Kişi E-Posta Adresi			
TC Kimlik / Vergi No			
Analizin Başlama ve Bitiş Tarihi			
Numunenin Cinsi	Karanfil ekstraktı		
Miktarı (net)			
Numune Geliş Şekli	ELDEN [X] KARGO [] RESMİ []		
Proje No / Yürütücü			

NUMUNE ADI	PARAMETRE	ANALİZ SONUÇLARI	ANALİZ YÖNTEMİ
2017-629 (doğal renk karanfil ekstraktı) (mg/L)	Pelargain_Chloride	4,26	LC-MS/MS
	Callistephin_Chloride	6,40	
	Cyanin_Chloride	349,45	
	Kuromanin_Chloride	328,27	
	Myrfillin_Chloride	108,56	
	Delphin_Chloride	37,73	
2017-630 (doğal renk donuk kurutma) (mg/kg)	Pelargain_Chloride	23,48	LC-MS/MS
	Callistephin_Chloride	47,31	
	Cyanin_Chloride	1156,74	
	Kuromanin_Chloride	1723,40	
	Myrfillin_Chloride	431,59	
	Delphin_Chloride	143,82	
2017-631 (doğal renk sprey kurutma) (mg/kg)	Pelargain_Chloride	21,42	LC-MS/MS
	Callistephin_Chloride	33,51	
	Cyanin_Chloride	921,38	
	Kuromanin_Chloride	1689,33	
	Myrfillin_Chloride	370,42	
	Delphin_Chloride	114,12	

< R.L. Raporlama Limitinin Altında

Yapılan muayene ve analizler sonucunda yukarıda belirtilen değerler tespit edilmiştir.

NOT 1: Bu analiz raporu adli-idari işlemlerde ve reklam amacıyla kullanılamaz.

NOT 2: Bu analiz raporunun hiç bir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.

NOT 3: Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir.

NOT 4: İzin alınmadan raporlarımız çoğaltılamaz ve yayımlanamaz. İmzasız raporlar geçersizdir.

Analiz Uzmanı
Timur TONGUR

Analiz Uzmanı
Taner ERKAYMAZ

Merkez Müdürü
Prof. Dr. Mehmet İNAN

Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Akdeniz Üniversitesi Dumlupınar Bulvarı 07058 Kampus Antalya / TÜRKİYE

EK-5. LC-MS-MS ile pestisit analizi sonuç raporu



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
GIDA GÜVENLİĞİ VE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR MERKEZİ

ÖZEL İSTEK MUAYENE VE ANALİZ RAPORU

Numune Geliş Tarihi	14.06.2017	Rapor No	2017-629
Tahmini Rapor Tarihi			
Analiz	Pestisit analizi		
İlgili Kişi Adı-Soyadı / Kuruluş	Ecem Vural		
İlgili Kişi Adresi	Akdeniz Ünl. Gıda Mühendisliği Bölümü		
İlgili Kişi Telefon Numarası	0505 987 45 43		
İlgili Kişi E-Posta Adresi			
TC Kimlik / Vergi No			
Analizin Başlama ve Bitiş Tarihi			
Numunenin Cinsi	Karanfil ekstraktı		
Miktarı (net)			
Numune Geliş Şekli	ELDEN [X] KARGO [] RESMİ []		
Proje No / Yürütücü			

NUMUNE ADI	PARAMETRE	ANALİZ SONUÇLARI	ANALİZ YÖNEMİ
2017-629 (Doğal renk karanfil ekstraktı)	Pestisit (300 parametre)	Ek-1	LC-MS/MS

< R.L. Raporlama Limitinin Altında
Yapılan muayene ve analizler sonucunda yukarıda belirtilen değerler tespit edilmiştir.

NOT 1: Bu analiz raporu adı-ıdari işlemlerde ve reklam amacıyla kullanılamaz.
NOT 2: Bu analiz raporunun hiç bir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.
NOT 3: Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir.
NOT 4: İzniniz alınmadan raporlarımız çoğaltılamaz ve yayımlanamaz. İmzasız raporlar geçersizdir.

Analiz Uzmanı
Timur TONGUR

Analiz Uzmanı
Taner ERKAYMAZ

Merkez Müdürü
Prof. Dr. Mehmet İNAN

EK-5'in devamı



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
GIDA GÜVENLİĞİ VE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR MERKEZİ

EK-1: PESTİSİT ANALİZ SONUCU

BİLEŞEN	Raporlama Limiti (mg/kg)	Analiz Sonucu (mg/kg)	BİLEŞEN	Raporlama Limiti (mg/kg)	Analiz Sonucu (mg/kg)	Analiz Metodu
2,4-D	0,010	<R.L.	captan	0,020	<R.L.	AOAC 2007.01
2,4-DDD	0,010	<R.L.	carbaryl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
2,4-DDE	0,010	<R.L.	carbendazim	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
2,4-DDT	0,010	<R.L.	carbofuran	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
2,4-dimethylaniline	0,010	<R.L.	carbofuran-3-hydroxy	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
3,5-dichloroaniline	0,010	<R.L.	carbosulfan	0,020	<R.L.	AOAC 2007.01
4,4-DDD	0,010	<R.L.	carboxin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
4,4-DDE	0,010	<R.L.	chinomethionate	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
4,4-DDT	0,010	<R.L.	chlorbenside	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
abamectin	0,010	<R.L.	chlorbromuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
acephate	0,010	<R.L.	chlordane-cis	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
acetachlor	0,010	<R.L.	chlordane-trans	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
acetamiprid	0,010	<R.L.	chlordecone	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
acibenzolar-s-methyl	0,010	<R.L.	chlorfenapyr	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
aclonifen	0,010	<R.L.	chlorfenoson	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
acrinathrin	0,010	<R.L.	chlorfenvinphos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
alachlor	0,010	<R.L.	chlorfluazuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
aldicarb	0,010	<R.L.	chloridazon	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
aldicarb-sulfone	0,010	<R.L.	chlomequat chloride	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
aldicarb-sulfoxide	0,010	<R.L.	chlorobenzilate	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
aldrin	0,010	<R.L.	chlorothalonil	0,015	<R.L.	AOAC 2007.01
amitraz	0,025	<R.L.	chloroxuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
amitrole	0,020	<R.L.	chlorpropham	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
anilazine	0,010	<R.L.	chlorpyrifos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
aramite	0,010	<R.L.	chlorpyrifos methyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
atrazine	0,010	<R.L.	chlozolinate	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
azimsulfuron	0,010	<R.L.	cinidon-ethyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
azinthos-ethyl	0,010	<R.L.	clodinafop-propargyl ester	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
azinthos-methyl	0,010	<R.L.	clofentezine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
azoxystrobin	0,010	<R.L.	cyanazine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
barban	0,010	<R.L.	cycloate	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
benalaxyl	0,010	<R.L.	cycloxydim	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bendiocarb	0,010	<R.L.	cyfluthrin, alpha	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
benfuracarb	0,010	<R.L.	cyfluthrin, beta	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
benomyl	0,050	<R.L.	cyfluthrin, teta	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bentazone	0,010	<R.L.	cyfluthrin, zeta	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bifenthrin	0,010	<R.L.	cyhalofop-butyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
binapacryl	0,010	<R.L.	cyhalothrin-lambda	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bioallethrin	0,010	<R.L.	cyhexatin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bitertanol	0,010	<R.L.	cymoxanil	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
boscalid	0,010	<R.L.	cypermethrin, alpha	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bromacil	0,010	<R.L.	cypermethrin, beta	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bromophos-ethyl	0,010	<R.L.	cypermethrin, teta	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bromopropylate	0,010	<R.L.	cypermethrin, zeta	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bromoxynil	0,010	<R.L.	imazail	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bromuconazole	0,010	<R.L.	imidacloprid	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
bupirimate	0,010	<R.L.	ioxynil	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
buprofezin	0,010	<R.L.	iprodione	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
butocarboxim	0,010	<R.L.	iprovalicarb	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
butralin	0,010	<R.L.	isoproturon	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
cadusafos	0,010	<R.L.	kresoxim-methyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
captafol	0,020	<R.L.	lenacil	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01

Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Akdeniz Üniversitesi Dumlupınar Bulvarı 07058 Kampus Antalya / TÜRKİYE

EK-5'in devamı



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
GIDA GÜVENLİĞİ VE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR MERKEZİ

BİLEŞEN	Raporlama Limiti (mg/kg)	Analiz Sonucu (mg/kg)	BİLEŞEN	Raporlama Limiti (mg/kg)	Analiz Sonucu (mg/kg)	Analiz Metodu
linuron	0,010	<R.L.	picloram	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
lufenuron	0,010	<R.L.	picolinafen	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
malaoxon	0,010	<R.L.	piperonyl-butoxide	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
malathion	0,010	<R.L.	pirimicarb	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
mecarbam	0,010	<R.L.	pirimiphos-ethyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metabromuron	0,010	<R.L.	pirimiphos-methyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metalaxyl	0,010	<R.L.	prochloraz	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metalaxyl-m	0,010	<R.L.	procymidone	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metamitron	0,010	<R.L.	profenofos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
methamidophos	0,010	<R.L.	prometryn	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
methidathion	0,010	<R.L.	propamocarb	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
methiocarb	0,010	<R.L.	propanil	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
methiocarb-sulfone	0,010	<R.L.	propargite	0,015	<R.L.	AOAC 2007.01
methiocarb-sulfoxide	0,010	<R.L.	propazine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
methomyl	0,010	<R.L.	propham	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
methoxychlor	0,010	<R.L.	propiconazole	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metolachlor	0,010	<R.L.	propoxur	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metoxuron	0,010	<R.L.	propyzamide	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metribuzin	0,010	<R.L.	prosulfuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
metsulfuron-methyl	0,010	<R.L.	prothiophos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
mevinphos	0,010	<R.L.	pymetrozine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
molinat	0,010	<R.L.	pyraflufen-ethyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
monocrotophos	0,010	<R.L.	pyrazophos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
monolinuron	0,010	<R.L.	pyridaben	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
myclobutanil	0,010	<R.L.	pyridaphenthion	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
nitrofen	0,010	<R.L.	pyridate	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
nitrothal-isopropyl	0,010	<R.L.	pyrifenoxy	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
nonachlor	0,010	<R.L.	pyrimethanil	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
nuarimol	0,010	<R.L.	pyriproxyfen	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
omethoate	0,010	<R.L.	quinalphos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
oxadiazon	0,010	<R.L.	quintozene	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
oxadixyl	0,010	<R.L.	resmethrin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
oxamyl	0,010	<R.L.	simazine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
oxyfluorfen	0,010	<R.L.	spinosad-A	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
paclobutrazole	0,010	<R.L.	spinosad-D	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
parathion-ethyl	0,010	<R.L.	spiroxamine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
parathion-methyl	0,010	<R.L.	sulfosulfuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
penconazole	0,010	<R.L.	T-2.4.5-	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
pencycuron	0,010	<R.L.	tebuconazole	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
pendimethalin	0,010	<R.L.	tebufenozide	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
pentachlorophenol	0,010	<R.L.	tebufenpyrad	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
permethrin-cis	0,010	<R.L.	tecnazene	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
permethrin-trans	0,010	<R.L.	teflubenzuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phenmedipham	0,010	<R.L.	tefluthrin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phenothrin	0,010	<R.L.	terbufos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phenthoate	0,010	<R.L.	terbutylazine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phenylphenol-2	0,010	<R.L.	terbutryn	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phorate	0,010	<R.L.	tetrachlorvinphos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phosalone	0,010	<R.L.	tetradifon	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phosmet	0,010	<R.L.	tetramethrin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phosphamidon	0,010	<R.L.	tetrasul	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
phoxim	0,010	<R.L.	thiabendazole	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01

EK-5'in devamı



AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
GIDA GÜVENLİĞİ VE TARIMSAL ARAŞTIRMALAR MERKEZİ

BİLEŞEN	Raporlama Limiti (mg/kg)	Analiz Sonucu (mg/kg)	BİLEŞEN	Raporlama Limiti (mg/kg)	Analiz Sonucu (mg/kg)	Analiz Metodu
tebuconazole	0,010	<R.L.	thiophanate-methyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tebufenozide	0,010	<R.L.	tolclofos-methyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tebufenpyrad	0,010	<R.L.	tolyfluanid	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tecnazene	0,010	<R.L.	triadimefon	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
teflubenzuron	0,010	<R.L.	triadimenol	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tefluthrin	0,010	<R.L.	triallate	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
terbufos	0,010	<R.L.	triasulfuron	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
terbuthylazine	0,010	<R.L.	triazophos	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
terbutryn	0,010	<R.L.	tribenuron methyl	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tetrachlorvinphos	0,010	<R.L.	trichlorfon	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tetradifon	0,010	<R.L.	tridemorph	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tetramethrin	0,010	<R.L.	trifloxystrobin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
tetrasul	0,010	<R.L.	triflumizole	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
thiabendazole	0,010	<R.L.	trifluralin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
thiacloprid	0,010	<R.L.	triforine	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
thiamethoxam	0,010	<R.L.	tris	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
thiazopyr	0,010	<R.L.	vamidothion	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
thifensulfuron-methyl	0,010	<R.L.	vinclozolin	0,010	<R.L.	AOAC 2007.01
thiodicarb	0,010	<R.L.	zoxamide	0,020	<R.L.	AOAC 2007.01
thiometon	0,015	<R.L.				

ÖZGEÇMİŞ



Ecem VURAL 1991 yılında Isparta’da doğdu. Lise öğrenimini Antalya Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2009 yılında girdiği Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2013 yılında mezun oldu. 2014 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimine başlayan Ecem VURAL halen aynı anabilim dalında eğitimini sürdürmektedir.