İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAZE VE TİCARİ VİŞNE (PRUNUS CERASUS) SULARININ TOPLAM ANTOSİYANİN, TOPLAM FENOLİK VE ŞEKER MİKTARLARININ TAYİNİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esin KAFTANOĞLU

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Bedia ERİM BERKER

MAYIS 2013

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAZE VE TİCARİ VİŞNE (PRUNUS CERASUS) SULARININ TOPLAM ANTOSİYANİN, TOPLAM FENOLİK VE ŞEKER MİKTARLARININ TAYİNİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esin KAFTANOĞLU
(509111013)

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Bedia ERİM BERKER

MAYIS 2013

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509111013 numaralı Yüksek Lisans / Doktora Öğrencisi **Esin KAFTANOĞLU**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **"TAZE VE TİCARİ VİŞNE (PRUNUS CERASUS) SULARININ TOPLAM ANTOSİYANİN, TOPLAM FENOLİK VE ŞEKER MİKTARLARININ TAYİNİ VE KARŞILAŞTIRILMASI"** başlıklı tezini asağıda imzaları olan iüri önünde basarı ile sunmustur.

Tez Danışmanı :	**Prof. Dr. Bedia Erim Berker** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
Jüri Üyeleri :	**Prof. Dr. Adı SOYADI** Yıldız Teknik Üniversitesi	.....
	Prof. Dr. Adı SOYADI Boğaziçi Üniversitesi	.....
	Prof. Dr. Adı SOYADI Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü	.....

Teslim Tarihi : **3 Mayıs 2013**
Savunma Tarihi : **31 Mayıs 2013**

Aileme,

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi, tecrübe ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, fikirleriyle beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bedia Erim Berker'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerinden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Sayın Ar. Gör. Filiz Tezcan'a,

Çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen ve bilgilerini paylaşan Sayın Ar. Gör. Sesil Uzaşçı'ya,

Herzaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen, üniversite yıllarımı güzelleştiren dostlarım Esin Gözde Erkul, Ebru Çevik ve Ayça Çobanoğlu'na,

Canım dostlarım Tuğçe Çokkoska, Sezen Kaftanoğlu ve Merve Acar'a,

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip anneme, sevgilerini ve desteklerini her an hissedebildiğim, her daim yanımda olan canım aileme,

Çok teşekkür ediyorum.

Mayıs 2013

Esin Kaftanoğlu
(Kimyager)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **ix**
KISALTMALAR ..... **xi**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xiii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xv**
ÖZET ..... **xvii**
SUMMARY ..... **xxi**
1. GİRİŞ **1**
2. KAPİLER ELEKTROFOREZ **3**
2.1 Kapiler Elektroforezin Prensipleri 3
2.2 Elektroforetik Mobilite 4
2.3 Elektroosmotik Akış 5
2.3.1 Elektroosmotik akış varlığında analitlerin geçişi 8
2.4 Elektroosmotik Akış Hızına Etki Eden Faktörler 8
2.5 Kapiler Elektroforez Cihazının Temel Bileşenleri 9
2.5.1 Voltaj kaynağı 10
2.5.2 Enjeksiyon 10
2.5.2.1. Hidrodinamik enjeksiyon 10
2.5.2.2 Elektrokinetik enjeksiyon 11
2.5.3 Dedektör 11
3. ANTİOKSİDAN MOLEKÜLLER **13**
3.1 Fenolik Maddeler 14
4. KARBOHİDRATLAR **17**
5. DENEYSEL KISIM **21**
5.1 Kullanılan Cihazlar 21
5.2. Kullanılan Kimyasallar 21
5.3. Vişne Örneklerinin Hazırlanması 21
5.4 Toplam Fenolik Madde Analizi 22
5.5 Toplam Antosiyanin Tayini 22
5.6 Şeker Tayini 23
KAYNAKLAR **31**
ÖZGEÇMİŞ **33**

KISALTMALAR

EOF	**:** Elektroosmotik Akış
CE	**:** Kapiler Elektroforez
CZE	**:** Kapiler Zon Elektroforez
MEKC	**:** Misel Elektrokinetik Kromatografi
HPLC	**:** Yüksek Performans Sıvı Kroamtografisi
GC	**:** Gaz Kromatografisi
UV	**:** Ultraviyole
CTAB	**:** Setil trimetilamonyum bromür

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : EOF'e etki eden faktörle…..……..8
Çizelge 2.2 : Kapiler elektroforezde kullanılan dedeksiyon çeşitleri.……...11
Çizelge 5.1 : Taze ve ticari vişne sularındaki toplam fenolik miktarları….……..27
Çizelge 5.2 : Taze ve ticari vişne sularının toplam antosiyanin miktarları…….…...28
Çizelge 5.3 : Taze ve ticari vişne sularındaki şeker miktarları ve F/G oranları…...29
Çizelge 5.4 : Şekerlerin LOD, LOQ ve tekrarlanırlık değerleri……29
Çizelge 5.5 : Şekerlerin yüzde geri kazanım değerleri……..30

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Kapiler elektroforez sistemi için genel bir gösterim……..4
Şekil 2.2 : Kapiler duvarı çift tabakası……5
Şekil 2.3 : Akış türleri (a) Elektroosmotik düz akış (b) Basınçla sağlanan laminar akış……7
Şekil 2.4 : Analitlerin EOF ile birlikte hareket yönleri……....8
Şekil 2.5 : Kapiler elektroforez cihazının şematik gösterimi……...9
Şekil 3.1 : Antosiyanidinin yapısı……..16
Şekil 5.1 : 10 mM üçlü şeker karışmı standartına elektroferogram……...……25
Şekil 5.2 : Taze vişne suyuna ait elektroferogram……26
Şekil 5.3 : Ticari vişne suyuna ait elektroferogram……..26

TAZE VE TİCARİ VİŞNE SULARININ (PRUNUS CERASUS) TOPLAM ANTOSİYANİN, TOPLAM FENOLİK VE ŞEKER MİKTARLARININ TAYİNİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZET

Anadolu, bitki populasyon çeşitliliği açısından dünyanın en önemli bölgelerinden birisidir. Birçok meyve varlığını doğal olarak sürdürmektedir. Bu meyvelerden biri de vişnedir. Türkiye, yıllık 192,705 ton üretimle dünyanın en büyük vişne üreticilerinden biridir.

Vişne *(Prunus cerasus),* gülgiller (Rosaceae) familyasından kiraza benzeyen ve tadı kiraz tadından daha ekşi olan bir meyve türüdür. Anayurdu Anadolu ve Balkanlar olan vişne, 5-7 m kadar boylanabilir; 4 yaşındayken meyve vermeye başlar ve 40-50 yıl yaşar. Türkiye' de iki önemli vişne ağacı çeşidi yetiştirilmektedir. Bunlardan meyvesi her tür kullanıma elverişli olan Kütahya vişnesi, uzun saplı, iri boyda, ucu hafif sivrice, koyu kırmızı ince kabuklu, çok sulu, ekşi ve kırmızı etli meyveler verir. Macar vişnesi ise, kısa saplı, ince, koyu kırmızı renkli kalınca kabuklu, ekşi ve kırmızı etli meyve vermektedir. Her iki çeşidin ağaçları da, temmuz ayından başlayarak bol ürün verir.

Vişnenin kendine özgü kırmızı rengi antosiyanin içeriğiyle bağdaştırılmaktadır. Antosiyaninler, meyve, sebze, çiçekler, yaprak, kök ve diğer bitki depolama organlarında bulunan kendine özgü pembe, kırmızı, mor ve maviye kadar geniş bir aralıktaki renkleri veren, suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir. Çoğu antosiyaninin rengi ortamın pH değerine bağlı olarak bir indikatör gibi değişim gösterir. Düşük pH değerlerinde mor-kırmızı, daha yüksek pH değerlerinde ise yeşil-mavi bir renk alırlar. Vişnenin rengi de yüksek asitliğe sahip olmasından dolayı antosiyaninlerin kırmızı renk almasından kaynaklanmaktadır.

Antosiyaninler, renk verici özelliklerinin yanısıra güçlü antioksidan etkiye sahiptirler. Hücre yaşlanmasını önleyici etkiye sahip oldukları ve serbest radikal oluşumunu önlediklerinden dolayı antikanserojen oldukları düşünülmektedir. Sağlıklı dokuları ve hücreleri koruyarak kanser ve kalp hastalıklarına yakalanma riskini azalttıkları, bunun yanısıra görsel aktiviteyi arttırdıkları da bilinmektedir.

Araştırmacılar tarafından vişnede bulunan dört antosiyanin çeşidi; cyanidin-3-glucosylrutinoside,cyanidin-3-sophoroside, cyanidin-3-rutinoside and cyanidin-3-glucosidedir.

Vişne, yapısında bulunan polifenoller, antosiyaninler gibi metabolitler sayesinde yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinen bir meyvedir. Bilindiği gibi antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelerdir. Serbest radikaller, yaşamsal faaliyetler sırasında veya mitokondrial sızıntı, solunum, enzim reaksiyonları, otooksidasyon reaksiyonları gibi endojen kaynaklar ile sigara dumanı, hava kirliliği, UV ışınları ve iyonize radyasyon gibi çeşitli çevresel kaynakların etkisiyle meydana gelebilmektedirler.

Günümüzde serbest radikallerin birçok hastalığa neden oldukları bildirilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin kalp damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama ve sinir sistemi hastalıklarına yol açtığı, yaşlanmayı hızlandırdığı iddia edilmektedir. Serbest radikallerin neden olduğu bu zararları önlemek için hücrelerde su ve yağda çözünebilen antioksidanlar ve antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Bunların varlığı ve etkinliği büyük oranda tüketilen gıdalarla ilişkilidir. Günümüzde gıdalardaki antioksidanların özellikle bitkisel kaynaklıların çeşitli hastalık risklerini azalttığı bilinmektedir.

Vişneye rengini veren antosiyaninler ve vişnenin içerdiği fenolik bileşenler, vişnenin antioksidan kaynaklarıdır. Bu çalışmada taze sıkılmış ve ticari meyve sularının toplam fenolik ve antosiyanin aktiviterinin tayini hedeflenmiştir. Toplam fenolik miktarları Folin–Ciocalteu yöntemi ile, toplam antosiyanin miktarları ise pH diferansiyel metodu ile tayin edilmiştir.

Meyveler genel olarak fruktoz ve glikoz şekerlerini içerir. Bazı meyvelerin toplam şeker miktarları yüksekken bazılarının şeker miktarları düşüktür. Meyveler arasında önemli bir farklılık fruktoz/glikoz (F/G) oranlarındadır. F/G oranları meyve türüne özeldir. Örneğin bir meyvenin farklı çeşitlerinde toplam şeker miktarı farklı olmasına rağmen aynı cins meyvenin F/G oranı sabittir. Bu oran bazı meyve türlerinde 1 civarı iken bazı meyve türleri yüksek fruktoz içerir ve oran 2.5'u aşabilir. Meyvelerin F/G oranlarının bilinmesi diyabet hastaları ve özellikle fruktoz toleransı düşük kişiler için önemlidir. Ticari meyve suları için geçerli kurallar çerçevesinde meyve suyuna şeker ilavesi olmaması gerekir. Şeker ilaveli meyveli içecekler, etiketlerinde meyve suyu değil nektar olarak adlandırılmalıdır. %100 meyve suyu olarak etiketlendirilen meyve sularının daha ucuz meyve suları ile hilelendirilmesi bu sektörde rastlanan bir problemdir. Meyve sularının F/G içeriği bu hilelendirmeleri de ortaya çıkaracak bir ölçüttür. Kapiler elekroforez yöntemi ile şeker tayini basit ve hızlı bir şekilde yapılabilmektedir.

Kapiler elektroforez (CE), bir elektrik alan varlığında, yüklü türlerin göç etmesine dayalı bir analiz tekniği olan elektroforez ile kromotografinin bileşimi olan bir tekniktir. Kapiler elektroforeze has olumlu özellikler; geniş analitik çeşitlilik, yüksek verimli ayırım, yüksek kütle duyarlılığı, son derece düşük örnek hacimleriyle çalışma olanağı, düşük analiz süreleri (genellikle <30 dak), tampon çözelti ve diğer sarf malzemelerin (kapiler borular vb.) asgari düzeyde kullanımı, ileri tanı sistemleriyle (kütle spektroskopisi gibi) uyumluluk ve temel cihaz kurgusunun basitliği ile sıralanabilir.

Sağladığı yüksek ayırımcılık ve seçicilik sayesinde CE, gıda, ilaç, çevre, adli tıp, biyoloji gibi pek çok araştırma alanında başarıyla kullanılmaktadır. CE protein, peptit ve aminoasit dizilimleri, tek hücre analizleri ve DNA dizilim, gen mutasyonu, vb. genetik araştırmalarda da kullanılmaktadır. Son yıllarda CE in gıda alanında çok sayıda uygulamaları görülmekte ve gıda içeriğindeki çok sayıda bileşeninin analizi CE ile yapılabilmektedir.

Bu çalışmada taze ve ticari vişne sularının şeker tayini kapiler elektroforez yöntemi ile basit ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Şekerler ancak yüksek pH'larda yüklenebildiklerinden ayırma ortamının pH' ı 12,3 olarak seçilmiştir. Ayırma ortamı olarak sorbik asit tamponu seçilmiş, sorbik asit hem ayırma tamponu hem de kromofor olarak görev yaparak, UV aktif olmayan şekerlerin dolaylı dedeksiyonu sağlanmıştır. Çalışma tamponuna eklenen ve katyonik yüzey aktif bir madde olan, CTAB ile kapiler içindeki elektroosmotik akış ters çevrilerek yüksek pH' da negatif

yüklenmiş olan şekerlerin daha kısa sürede ayrımı sağlanmıştır. Bu yöntemle taze sıkılmış ve ticari meyve sularının fruktoz ve glukoz içerikleri kantitatif olarak tayin edilmiştir.

DETERMINATION AND COMPARISON OF THE AMOUNT OF TOTAL ANTHOCYANIN, TOTAL PHENOLICS AND SUGAR CONTENT OF FRESH AND COMMERCİAL CHERRY (PRUNUS CERASUS) JUICES

SUMMARY

Anatolian is one of the most important regions of the world with regard to population diversity of plant. A lot of plant naturally exist that the cherry (*Prunus cerasus*) is one of them. Turkey is one of the major cherry producer with 192,705 tone production yearly.

Prunus cerasus (sour cherry, tart cherry or wild cherry) is a species of *Prunus* in the subgenus *Cerasus* (cherries), native to much of Europe and southwest Asia. It is closely related to the sweet cherry (*Prunus avium*), but has a fruit that is more acidic. Its homeland is Anatolian and Balkans, it can grow up to 5-7 cm. It bears fruit when 4-5 years old and it can live 40-50 years. Two important sour tree are grown in Turkey. One of them is Kutahya sour cherry whisch is long-stemmed, juicy, sour and red and it has large size. The other one is Hungarian sour cherry which is short – stalked, dark red coloured thick rind and sour. Two of them bear plenty of fruit starting in July.

Sour cherry's specific red colour is correlated its anthocyanin content. Anthocyanins are water-soluble vacuolar pigments that may appear red, purple, or blue depending on the pH. They belong to a parent class of molecules called flavonoids synthesized via the phenylpropanoid pathway; they are odorless and nearly flavorless, contributing to taste as a moderately astringent sensation. Anthocyanins occur in all tissues of higher plants, including leaves, stems, roots, flowers, and fruits. Anthoxanthins are clear, white to yellow counterparts of anthocyanins occurring in plants. Anthocyanins are derivatives of anthocyanidins, which include pendant sugars. Most of anthocyanin's colour change with the pH of the media like an indicator. Their colour is purple-red at lower pH values, and blue-green at higher pH values. The colour of cherry is red due to the anthocyanins color change with cherry's high acidity.

Anthocyanins have powerful antioxidant effect in addition to coloring feature.It is thought that they have anti-aging effect on cells and they are anticancer due to demonstrate inhibition of free radical formation. It is known that they protect healthy tissues and cells, accordingly they reduce the risk of cancer and hearth diseases. Beside these they increase visual activity.

Researchers found four anthocyanin type in sour cherry; cyanidin-3-glucosylrutinoside,cyanidin-3-sophoroside, cyanidin-3-rutinoside and cyanidin-3-glucoside.

Sour cherry is known as a powerful antioxidant fruit due to its structure that has metabolites such as polyphenols, anthocyanins. As is known, antioxidants are

compunds that prevent oxidation caused by free radicals and have the ability to capture and stabilize free radicals. Free radicals are molecules that can act independently due to having unpaired electrons on their atomic orbitals. Free radicals can occur during the vital functions or mitocondrial leakage, with endogen sources like respiration, enzyme reactions or otooxidation reactions and with the effect of environmental sources lika cigarette smoke, air pollution, UV rays and ionizing radiation.

When free radicals are not neutralized in the body, they can kill cells by destroying the cell membrane, block the cell function by exterminating the membrane lipids and proteins, effect geneitc material in nucleus by burning core membrane, reduce the effect of immune system by destroying cells in immune system.

Nowadays, it is known that free radicals causes varios disesases. It is claimed that reactive oxygen species cause cardiovascular disesases, various cancer types, cataract, weakening in immune system, nervous system diseases and acceralete aging. There are water and fat-soluble antioxidants in cells to prevent this damage of free radicals. Presence and effectiveness of these antioxidants is associated with consumed foods. Nowadays, it is known that the antioxidants, found in foods especially plant-derived, reduce the risk of various disesases.

Anthocyanins that coloring sour cherry and phenolic compounds are antioxidant sources of sour cherry. The purpose of this thesis is determination of total phenolics and antioxidant activity of fresh and commercial sour cherry juices. The amount of total phenolics are determined with Folin–Ciocalteu method, the amount of total anthocyanins are determined with pH differantial method.

Fruits generally contains fructose and glucose as sugar. Some fruits total sugar content is higher, but some of them is lower. There is an important difference in fruits between the fructose/glucose ratio. F/G ratio is special for every fruit species. For example, the total sugar content of different varieties of same species is different from each other altough F/G ratio of same species of fruit is constant. While this ratio is equal to 1 for some fruits, it can be over 2,5 for some fruits that contain fructose in higher amounts. It is important to know the sugar content of fruits for diabetics and especially people who has low tolerance for fructose. Accordance with the rules applicable to commercial fruit juices should not be adding sugar to fruit juice. Fruit drinks that contain extra sugar should be labeled as nectar not fruit juice. Cheating with adding cheaper fruit juices to the fruit juices which are labelled as %100 fruit juice is a common problem. F/G ratio is a criterian for debunking this tricks. Sugar can be determined easily and fast with capillary electrophoresis method.

Capillary electrophoresis (CE), also known as capillary zone electrophoresis (CZE), can be used to separate ionic species by their charge and frictional forces and hydrodynamic radius. In traditional electrophoresis, electrically charged analytes move in a conductive liquid medium under the influence of an electric field. Capillary electrophoresis unique positive features can be listed as a wide variety of analytical, highly efficient separation, high mass sensitivity, the ability to work at extremely low sample volumes, lower analysis times (typically <30 min), solvent (buffer solution), and other supplies (capillary tube and so on.) to a minimum the use of advanced diagnostic systems (such as mass spectroscopy), compatibility and simplicity of structure of the device.

CE is used succesfully in nutrition, medicine, forensic medicine and biology owing to its high yield and selectivity. CE is also used in genetic researches such as protein, peptide and amino acid sequences, single-cell analysis and DNA sequencing, gene mutation, and so on. Recently, most of food component analysis have been performed with CE.

In this study, determination of sugars in fresh and commercial cherry juices were performed by CE as a simple and fast way. Since sugars can only be charged at high pH values, pH of the seperation media was chosen as 12,3. Sorbic acid was chosen as both seperation buffer and chromophoric substance and indirect detection of UV-inactive sugars were achieved. EOF in the capillary was reversed with the addition of a cationic surfactant, CTAB, to the separation buffer and negatively charged sugars at pH 12,3 were separated in 5 min. With this method, fructose and glucose were determined, separated and quantified in sour cherry juices.

1. GİRİŞ

Kapiler elektroforez (CE) yöntemi; yeni gelişen bir yöntem olmasına rağmen diğer analiz yöntemlerine göre pek çok üstünlükleri vardır. Az çözücü sarfiyatı, küçük hacimlerde (nL) numune enjeksiyonu, aynı kolonla hem polar hem apolar maddelerin, katyon ve anyonların büyük moleküllerin aynı anda analiz edilebilmesi, basitliği, yüksek ayırım gücü gibi avantajlarından dolayı son yıllarda hızla gelişen ve pek çok alanda kullanılan bir yöntemdir. Birçok maddenin analizinde, DNA gibi büyük moleküllerin analizlerinde, inorganik anyon ve metal iyonlarının analizinde oldukça fazla kullanılan bir yöntemdir [1].

Kapiler elektroforez gıdalardaki uygulamaları ile övgüye değerdir. Uzun süren ekstraksiyon işlemlerine gerek olmaksızın gıda örneklerinin proteinleri uzaklaştırıldıktan sonra doğrudan enjeksiyonu veya basit bir ön işlemle enjeksiyonu, zaman, reaktif harcaması, ekstraksiyon işlemleri sırasında olası hatalar, vb. gibi analizi etkileyen ve performansının azalmasına neden olan etkileri yok ederek kısa sürede kesin ve doğru sonuç alınan bir yöntem olarak önemli bir duruma kavuşmuştur.

Antioksidanlar; radyasyon, çevre kirliliği gibi olaylardan etkilenen canlı metabolizmada kendiliğinden oluşan serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarını önleme yeteneğine sahip maddelerdir. Bitkilerin rengi, kokusu ve tadından sorumlu olan fenolik asitler ise antioksidan aktiviteden sorumlu bileşiklerdir. Bitkilerde doğal olarak bulundukları için çok önemli antioksidan kaynaklarıdırlar. Bu özelliklerinden dolayı literatürde fenolik asitler ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır [2]. Öte yandan kırmızı meyvelere rengini veren antosiyaninler de antioksidan özellik gösteren bileşiklerdir.

Meyvelerde bulunan en önemli şekerler fruktoz ve glukozdur. Meyvelerde bulunan fruktoz ve glukozun mutlak miktarları değişsede fruktoz/glukoz oranları meyveler için spesifiktir. Pek çok meyvede bu oran bir civarında iken bazı meyvelerde 2,5

civarında olmaktadır. Meyve sularının şeker şurupları veya ucuz meyve suları ile hilelendirilmesinin teşhisinde fruktoz/glukoz oranı önemli bir göstergedir.

Bu çalışmanın amacı taze ve ticari vişne suyu örneklerinde toplam antosiyanin, toplam fenolik ve şeker içeriklerinin belirlenmesidir. Vişne suyu örneklerinde toplam antosiyanin tayini pH diferansiyel metodu ile, toplam antosiyanin tayini Folin-Cicolteau metodu ile yapılmıştır. Şeker tayini ise kapiler elektroforez yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Kapiler elektroforez uçucu olmayan, yüksüz şeker moleküllerinin tayininde hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir. Yüksek pH ortamında negatif yüklenen şeker molekülleri, ayırma ortamına yüzey aktif madde ilavesiyle ters çevrilen elektroosmotik akış sayesinde hızlı bir şekilde ayrılmış ve indirekt tayin yöntemiyle miktarları bulunmuştur.

2. KAPİLER ELEKTROFOREZ

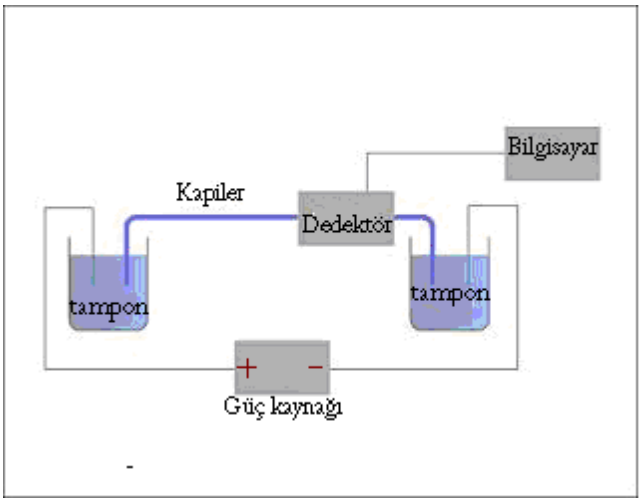
Elektroforez, bir elektrik alan altındaki tampon çözeltide yüklü partiküllerin belirli bir pH'da diferansiyel göç hızlarına dayanan ayırma yöntemidir. İsveçli kimyacı Arne Tselius tarafından serum proteinleri üzerinde çalışırken ilk olarak bulunmuş olup proteinler, nükleik asitler, amino asitler ve karbonhidratlar gibi birçok zor analitik ayırma problemlerine uygulanmaktadır [1,2].

Günümüzde elektroforez ya jel ya da dar bir kolon şeklinde olan kapilerde gerçekleşmektedir. Kapiler elektroforez 1980'lerden itibaren akademik alanda ve endüstride hızla gelişen bir teknik olarak oldukça hızlı, 0.1 ile 10 nL gibi çok küçük hacimlerdeki numunelerle sağlanan yüksek ayırma gücüne sahip bir yöntemdir. Farklı tiplerinin farklı ayırım mekanizmaları ile seçicilik göstermeleri, kantitatif analizde aynı anda dedeksiyon potansiyeli, hızla önemli bir ayırım tekniği haline gelmesine neden olmaktadır [1,3].

Analizler 25-100 µm iç çapa sahip kapiler kullanılarak gerçekleştirilir. Ayırımcılığı yüksektir, kolay metod oluşturulabilir. Çiral ayırımlar üzerindeki başarılı çalışmalar ile son zamanlarda ilaç sanayisinde ve genom araştırmalarında önde gelen bir analitik cihaz olarak kullanılmaktadır [4].

2.1 Kapiler Elektroforezin Prensipleri

Ayırımı sağlayan bölge elektrolit çözeltisiyle doldurulmuş dar bir kapiler kolondur. Kapilerin iki ucu, iki farklı çözelti kabına batırılır ve bu iki kapta bulunan elektrotlara uygulanan yüksek voltajla, kapilerin bir ucundan injekte edilen örnek diğer ucuna doğru ilerler ve dedeksiyon bu uçta gerçekleşir. Sistemin basit bir şeması Şekil 2.1'de verilmiştir [5].



Şekil 2.1. Kapiler elektroforez sistemi için genel bir gösterim.

2.2 Elektroforetik Mobilite

Elektroforetik ayırmaların temeli, analitlerin bir elektrik alanda, farklı hızlarda göç etmesine dayanmaktadır. Bir iyonun elektrik alandaki hızı aşağıdaki formül ile ifade edilir.

$$v = \mu_e \cdot E \qquad \textbf{(2.1)}$$

Burada; v iyon göç hızı, μ_e elektroforetik mobilite, E ise uygulanan elektrik alandır. Taneciğin mobilitesi ortamdaki elektrik alan kuvvetinden ve sürtünme kuvvetinden etkilenir. Yüklü tanecik üzerine etkili olan elektrik alan kuvveti iyonun yükü ve uygulanan elektrik alan ile doğru orantılı ve sürtünme kuvveti ile ters orantılıdır[6].

Elektrik alan kuvveti;

$$F_E = q.E \qquad \textbf{(2.2)}$$

ve küresel bir tanecik için sürtünme kuvveti;

$$F_F = -6\Pi\eta rv \qquad \textbf{(2.3)}$$

eşitlikleri ile verilir.

Burada, q iyon yükü, ŋ çözelti viskozitesi, r iyon çapı, v iyon hızını ifade eder. Sabit elektrik alan uygulandığında sürtünme ve elektrik alan kuvveti eşitlik 2.4‘ deki gibi dengeye ulaşır. Böylece yüklü tanecikler sabit hızla hareket ederler.

$$F_E = F_F \quad \textbf{(2.4)}$$

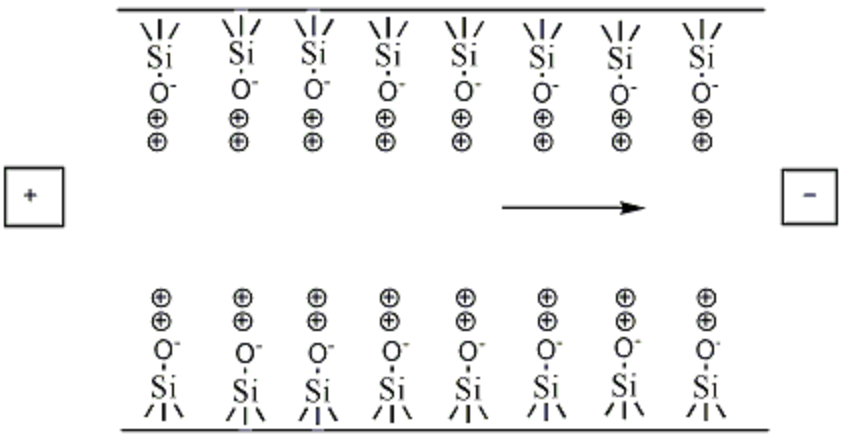
(2.2) ve (2.3) eşitlikleri (2.4) eşitliğinde yerine konup düzenlenir ise μ_e, eşitlik (2.5)'deki gibi tanımlanabilir.

$$\mu_e = v / E = q / 6\Pi\eta r \quad \textbf{(2.5)}$$

Viskozite sabit olduğundan, elektroforetik mobilite (μ_e), taneciğin yük ve büyüklük oranına (q/r) bağlı olacaktır. Analitler bu orana bağlı olarak elektrik alanda farklı hıza sahip olurlar. Küçük ve çok yüklü türler yüksek mobiliteye sahipken, büyük ve az yüklü türler düşük mobiliteye sahiptir. Tamponun pH'ının değişmesi bazı analitlerin yükünü değiştirir ve böylece analitlerin elektroforetik mobiliteleri de değişir [6,7].

2.3 Elektroosmotik Akış

Kapiler elektroforezdeki en temel kavramlardan biri elektroosmotik akıştır. Elektroosmotik akış, elektrik alan uygulanması sonucu iç kapiler duvarında oluşan çift tabaka yükünün (Şekil 2.2) sebep olduğu bir hacim akışıdır.



Şekil 2.2 : Kapiler duvarı çift tabakası.

pH 2'nin üzerinde çalışıldığında silika kapilerin iç duvarı negatif yüklenir. Bunun nedeni silanol gruplarının disosiye olmasıdır.

$$SiOH\ (k) \leftrightarrow SiO\text{-}(k) + H+(aq)$$

Yük dengesini oluşturan karşıt iyonlar (genellikle katyonlar) ise çift tabakayı oluşturarak duvara çok yakın bir bölgede potensiyel farka sebep olurlar. Bu potansiyele zeta potansiyeli denir [8].

Bu sisteme, yüksek bir voltaj uygulandığında (+) yüklü iyonlar (-) yüklü elektroda doğru hızlı hareket ederken iyonların etrafındaki hidratize halde çözücüde bir akış meydana getirirler. İşte buna elektroosmotik akış (EOF) veya endoosmotik akış denir. Bu akış kapiler elektroforezde, ayrılmanın gerçekleşmesini sağlayan temel olaydır.

Elektroosmotik akış hızı şu şekilde ifade edilir:

$$v_0 = \mu_0 . E \qquad \textbf{(2.6)}$$

Burada v_0; elektroosmotik akış hızını; μ_0 elektroosmotik mobiliteyi gösterir.

Çözeltide osmotik mobilite, genellikle iyonik mobilitelerden büyüktür. Bundan dolayı çözelti içindeki tüm tanecikler, yükü ne olursa olsun bu güçlü akış hızı ile negatif elektroda doğru sürüklenir.

Taneciklerin hızını şöyle ifade edebiliriz:

Pozitif iyonlar için $v_+ = (\mu_o + \mu_+).E$

Nötral iyonlar için $v_0 = \mu_o.E$ **(2.7)**

Negatif iyonlar için $v_- = (\mu_o - \mu_-).E$

Maddelerin göç zamanları sadece elektroforetik mobiliteleri ile değişmez. Aşağıdaki eşitlikte de görüldüğü gibi göç zamanları, kapilerin boyu ve uygulanan voltaj ile de alakalıdır. Kapilerin etkin boyu, injeksiyon noktasından dedektöre kadar olan kısmının uzunluğudur.

$$t = lL / ((\mu_{eof} \pm \mu_i)V \quad \textbf{(2.8)}$$

t = geliş süresi

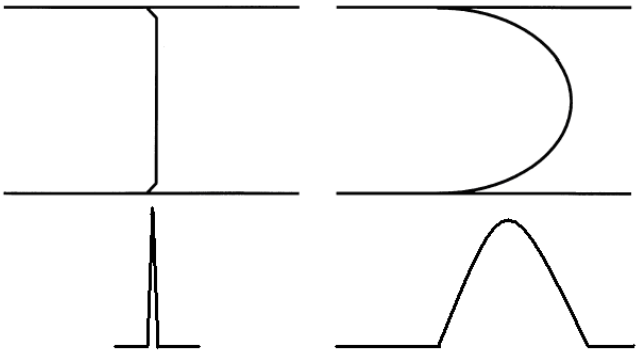
L = Kapilerin tam boyu

l = Kapilerin etkin boyu

V = voltaj

Katyonlar kendi mobilitelerine eklenen EOF etkisiyle en hızlı hareket eden taneciklerdir. Nötral tanecikler EOF hızında birbirlerinden ayrılamadan katoda varırlar. Anyonlar ise anoda doğru bir mobiliteye sahip olmalarına rağmen elektroosmotik akış eşliğinde katoda vardıklarından en yavaş taneciklerdir.

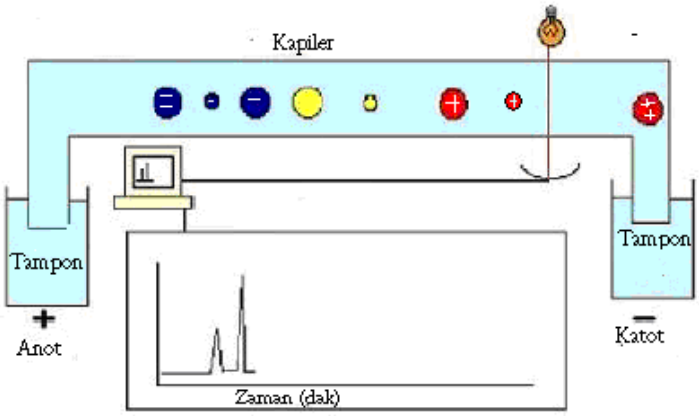
Elektroosmotik akışın diğer bir önemli özelliği ise düz akış olmasıdır (Şekil 2.3a). Akışı ilerleten kuvvet kapiler boyunca düzenli dağılmıştır ve herhangi bir basınç değişimi olmadığından akış düze yakındır. Düz akış, analitlerin dağılımına sebep olmaması sebebiyle dik ve simetrik pikler sağlar. Bu nedenle CE"in ayırım etkinliği yüksektir. Dış basıncın itici güç olduğu HPLC"de ise laminar akış gözlenir (Şeki2.3b). Laminar akış, pik genişlemesine neden olur [7].



Şekil 2.3 (a) Elektroosmotik düz akış. (b) Basınçla sağlanan laminer akış.

2.3.1 Elektroosmotik akış varlığında analitlerin geçişi

Duvar yükü negatif olan silika kapilerde, elektroosmotik akış hızı anottan katoda doğrudur.



Şekil 2.4 Analitlerin EOF ile birlikte hareket yönleri.

Katot bölgesine yakın yerleştirilen dedektöre elektroforetik mobilitesi EOF yönünde olan katyonlar ilk olarak ulaşır. Daha sonra gelen nötral moleküllerin kendi elektroforetik mobiliteleri olmadığından EOF ile hareket ederler. Takiben gelen anyonların elektroforetik mobiliteleri EOF' ye ters yönde olduğundan dedektörden en geç bu iyonlar geçerler. Böylelikle, kapilerin pozitif ucundan injekte edilen bütün türden yükleri içeren örnek karışımı tek bir çalışma metoduyla tayin edilmiş olur [7].

2.4 Elektroosmotik Akış Hızına Etki Eden Faktörler

EOF'e etki eden faktörler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 2.1: EOF'e etki eden faktörler [9].

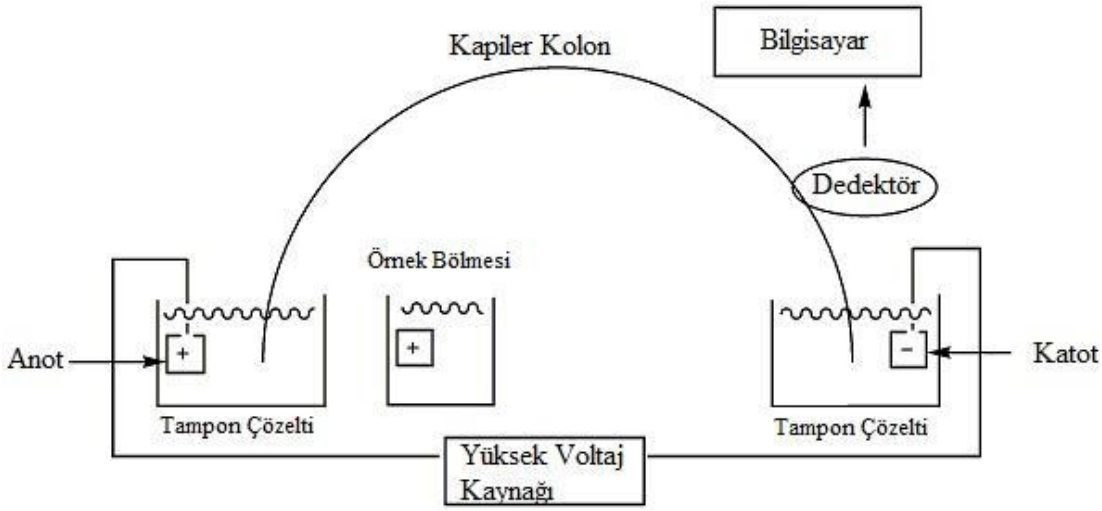
Ayırma sistemindeki değişiklik	**EOF'e etkisi**
Tamponun pH değeri arttığında	EOF ↑
Tampon konsantrasyonu arttığında	EOF↓
Sıcaklık arttığında	EOF ↑ (η değişimi nedeniyle)
Organik çözücü ilavesi ile	EOF↓↑
Pozitif yüklü yüzey aktif ilavesi ile	EOF terse çevrilir
Elektrik alan arttığında	EOF ↑

2.5 Kapiler Elektroforez Cihazının Temel Bileşenleri

Kapiler elektroforez cihazında kullanılan kapilerler genellikle silika kapilerlerdir. Silika kapilerler kırılmayı önlemek ve elastikiyeti sağlamak amacıyla koruyucu bir polimer tabaka ile kaplanmıştır. Bu polimer tabakanın çok küçük bir kısmı yakılarak dedeksiyon için gereken optik pencere elde edilir. Bu kapilerlerin iç çapları 10-200 µm, dış çapları 350-400 µm arasında değişmektedir. Genellikle iç çapı 25-75 µm olanlar kullanılmaktadır. Kapiler elektroforezde kapiler boyu, 0 – 1 m arasında değişmektedir. Kapilerin boyu uzaıkça ayrım kolaylaşmasına karşın ayırma süresi artar [10].

Tekrarlanabilir sonuçlar alınması açısından kapilerin kullanıma hazırlanması (şartlandırma işlemi) çok önemlidir. Yeni kapiler genellikle 1M NaOH ile en az yarım saat yıkanarak aktif hale getirilir ve çalışmaya başlarken kapilerin tamponla belli bir süre dengeye gelmesine müsaade edilir.

CE' de silika kapiler kadar kullanışlı olmasa da nadir olarak teflon kapilerler de kullanılır. Teflon geçirgen olduğu için özel bir optik pencere açmaya gerek duyulmamaktadır. İç çaplarında homojenliği sağlamak zor olduğu gibi düşük ısı transfer özelliği de dezavantajlarındandır [3].



Şekil 2.5 : Kapiler elektroforez cihazının şematik gösterimi.

2.5.1 Voltaj kaynağı

Uygulanan voltaj, CE'de elde edilen ayrım veriminde en önemli etkendir. Bir iyonun mobilitesi, uygulanan voltaj ve bu voltaj sonucunda oluşan elektrik alan kuvveti ile ilişkilidir. CE'de uygulanan elektrik alan 200-600 V/cm arasındadır [11].

2.5.2 Enjeksiyon

Kapiler elektroforezde ayrımı yapılacak olan numuneyi kapilere almak için hidrodinamik ve elektrokinetik injeksiyon olmak üzere iki tip enjeksiyon uygulanır.

2.5.2.1. Hidrodinamik enjeksiyon

Bu enjeksiyon çeşidinde örnek, uygulanan basınç vasıtasıyla kapiler içerisine alınır. Cihazın tipine göre hidrodinamik enjeksiyon üç farklı yöntemle yapılmaktadır. İlk yöntemde örnek kısmına kontrollü bir basınç uygulanırken diğer yöntemde kapilerin diğer ucuna uygulanan kontrollü bir vakumla örnek kapiler içine alınır. En son yöntemde ise basınç farkı, örnekle tampon arasında bir seviye farkı meydana getirilerek sağlanır. Hidrodinamik enjeksiyon için enjeksiyon hacmi eşitlik (2.9)' daki gibi hesaplanır.

$$V=\Delta P \Pi r^4/8\eta L \qquad \textbf{(2.9)}$$

Burada ΔP kapiler boyunca basınç farkını, r kapilerin iç çapını, t injeksiyon süresini, η tamponun vizkositesini, L kapilerin toplam boyunu göstermektedir.

Sifonik injeksiyon için ΔP aşağıdaki eşitlikten hesaplanabilir:

$$\Delta P=\rho g \Delta h \qquad \textbf{(2.10)}$$

Burada ρ örneğin yoğunluğunu, g yerçekimi ivmesi katsayısını, Δh örnek ve tampon kabı arasındaki yükseklik farkını göstermektedir **[12].**

2.5.2.2 Elektrokinetik enjeksiyon

Bu injeksiyon çeşidinde, kapiler örnek kabının içindeyken, kısa bir süre voltaj uygulanarak örnek kapiler içerisine alınır. Elektrokinetik injeksiyonun tekrarlanırlığı hidrodinamik injeksiyona göre daha azdır. İnjekte edilen madde miktarı analitlerin elektroforetik mobilitelerine bağlıdır [13].

2.5.3 Dedektör

CE'de en sık kullanılan dedektörler UV-Vis ve floresans dedektörlerdir. Diğer dedeksiyon yöntemleri ve uygulamaları çizelge 2.2 de verilmiştir.

Çizelge 2.2 : Kapiler elektroforezde kullanılan dedeksiyon çeşitleri [14].

Dedeksiyon Türü	**LOD (mol/L)**	**Tipik Uygulamaları**
UV absorbsiyon	10^{-7}-10^{-4}	Aromatik bileşikler, proteinler, nükleik asitler
İndirek UV	10^{-16} -10^{-13}	Aminler, şekerler, org. , inorganik iyonlar
Floresans	10^{-9}-10^{-4}	Aminoasitler, DNA, peptidler
Amperometri	10^{-8}-10^{-6}	Kolay indirgenebilen ve yükseltgenebilen maddeler
Potensiyometri	10^{-8}-10^{-7}	Alkali iyonları
Kütle spektrometrisi	10^{-8}-10^{-7}	Protein, peptid, ilaç
Alev Fotometrisi	10^{-3} -10^{-5}	iyonik organik bileşikler

3. ANTİOKSİDAN MOLEKÜLLER

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon taşıyan moleküllerdir [15].

Vücutta kalkan görevi yapan bu kimyasal bileşiklerin özelliği, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize etmeleri ve bu sırada serbest radikal haline gelmemeleridir [16]. Antioksidanların insan sağlığındaki yerini belirleyen en önemli faktörler, onların kimyasal yapıları, çözünürlükleri, yapı/aktivite ilişkileri ve doğal kaynaklardan elde edilebilmeleridir [17].

Canlı sistemlerde gerçekleşen bütün fizyolojik süreçler; enzim, hormon ve iz elementler gibi farklı ajanlar tarafından yönetilen oksidasyon ve indirgenme reaksiyonlarının kompleks kombinasyonlarını içerir. Canlılarda redoks dengesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, hücrelerin ve doku fonksiyonlarının bozulmasına sebep olabilir. Antioksidan maddeler dokularda doğal olarak bulunur ve farklı oksidasyon reaksiyonlarını düzenler. Ayrıca, antioksidan maddeler veya antioksidan savunma sistemlerinde bulunan bazı bileşenlerin endojen sentezinde meydana gelebilecek bir yetersizlik, farklı hastalık türlerini meydana getirebilir [18].

Son yıllarda yapılan klinik çalısmalarda, yaşlanma ve yaşlanmanın dejeneratif hastalıklarında (kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarak vb.) anahtar rolü vücutta bulunan serbest radikallerin üstlendigi belirlenmistir [19]. Serbest radikaller, vücutta meydana gelen normal fizyolojik prosesler ve patolojik sartlar altında oluşmaktadır.

Serbest radikaller nötralize edilmediginde vücutta, hücre membranı proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek, membran lipit ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertlestirip hücre fonksiyonlarını engellemek, çekirdek membranını yararak çekirdekteki genetik materyale etki edip, DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek ve bagısıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bagısıklık sisteminin etkisini azaltmak gibi hasarlara neden olabilirler.

Vücutta olusan serbest radikallerin inaktivasyonu antioksidan savunma mekanizmalarıyla gerçeklestirilmektedir. Antioksidanlar, düşük konsantrasyonlarda dahi bulundukları ortamdaki oksidasyonla bozunmaya ugrayacak substratları oksidasyona karsı koruyan veya oksidasyonu tam olarak ortadan kaldıran bilesiklerdir.

Antioksidanlar etkilerini; serbest radikal olusumunu engellenmesi (başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki, oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyon azaltıcı etki, katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki) ve oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi (toplayıcı etki, bastırıcı etki, onarıcı etki, zincir kırıcı etki) olmak üzere iki şekilde gösterirler. Antioksidanların vücuttaki aktivitesi, ortamdaki oksijen miktarı, sıcaklık, konsantrasyon miktarı ve substrat çeşidi gibi özelliklere bağlı olarak değiskenlik gösterir.

Dogal antioksidan kaynakları olarak meyveler, sebzeler, bitkisel çaylar, şarap, kahve ve kakao gibi ürünleri içeren birçok gıda maddesi ve içecegini saymak mümkündür. Doğal antioksidan kaynaklarını genel olarak 'bitki fenolik maddeleri' oluşturmaktadır [20].

3.1 Fenolik Maddeler

Fenolik bileşikler bitkinin normal gelişimi sırasında sentez edilen ikincil metabolitlerdir. Fenolik maddeler; genellikle bir veya birden fazla hidroksil grup içeren bir aromatik halkaya sahip, farklı yapı ve fonksiyonlardaki metabolitlerdir [21]. Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler en sıklıkla meyvelerde gözükmekle birlikte meyvenin çeşidine bağlı olarak farklılıklar söz konusudur. Ayrıca aynı meyve türünde; büyüme mevsimi, cins, çevresel ve iklimsel koşullar, bitki hastalıkları, toprak çeşidi, coğrafik bölge, olgunluk gibi etkenler fenolik bileşik içeriğini etkilemektedir [22].

Gıdalarda bulunan fenolik maddeler; renk, acılık, burukluk, tat, koku ve ürünün oksidatif stabilitesine etki edebilmektedir [21]. Besinsel fonksiyonu olmamasına rağmen gıdalardaki fenoliklerin sağlık üzerine olumlu etkileri vardır. Flavonoidler ve diğer bitki polifenolleri yüksek redoks potansiyelleri ile önemli antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, metallerle şelat oluşturmaları, bazı enzimleri inaktive etmeleriyle açıklanır [23].

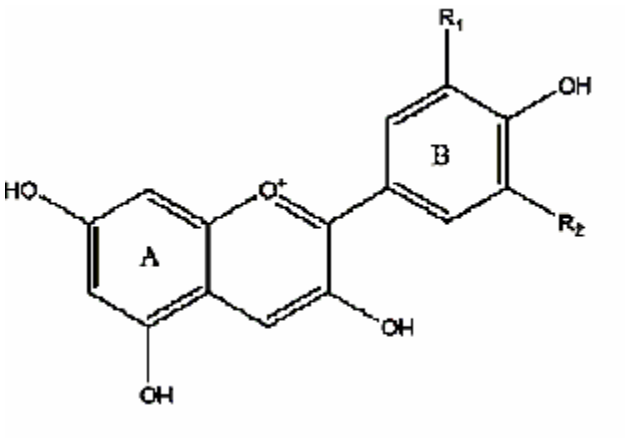
Doğal olarak oluşan fenolik maddelerin en yaygın grubu flavonoidlerdir. Flavonoidlerin dışında bitki fenolleri; basit fenolleri, fenolik asitleri (benzoik ve sinnamik asitler), kumarinleri, stilbenleri, hidrolize ve kondense tanenleri, lignan ve ligninleri içermektedir [20].

Fenolik maddeler, bitkilerde homojen olarak dağılmamaktadır. Suda çözünmeyen fenolikler hücre duvarının bileşeni iken, suda çözünenler bitki hücresinin içinde yer alırlar. Bitkisel dokuda bitkinin dış tabakası iç tabakadan daha fazla fenolik madde içermektedir. Lignin ve hidroksi sinamik asitler gibi hücre duvarında bulunalar, çeşitli hücresel bileşenlerle bağlantılıdır. Bu maddeler; hücre duvarının mekanik gücüne katkıda bulunur ve bitki gelişiminde düzenleyici rol oynarlar [20].

3.2 Antosiyaninler

Antosiyaninler üzüm, çilek, kiraz, vişne gibi meyvelere rengini veren (kırmızı, mor, pembe, mavi) ayrıca çeşitli çiçekler ve bitki kökleride de bulunan, en iyi doğal renklendiricilerdir [24].

Antosiyaninlerin yapısında heterosiklik bir halka olan pirilyum katyonu bulunmaktadır. Pirilyum ise yapısında pozitif yüklü bir oksijen bulunan bir oksonyum iyonudur. Antosiyaninler bu eksik elektrondan ötürü oldukça aktif polimetoksi türevlerinden oluşan glikozitlerdir. Bu yapı, şeker gruplarının(mono-di-tri sakkaritler), şeker olmayan (aglikon) maddelerle birleşmesi ile oluşmaktadır. Antosiyaninlerin şeker olmayan kısmı, fenolik maddelerden antosiyanidinler (C6-C3-C6) olarak adlandırılmaktadır. Her bir antosiyanidinin farklı şeker ya da asitlerle, farklı pozisyonlarda bağlanması ile çok sayıda antosiyanin oluşabilmektedir [24,25].



Şekil 3.1 : Antosiyanidinin yapısı.

R_1 ve R_2 gruplarına farklı grupların bağlanmasıyla farklı antosiyanidinler oluşur. Başlıca antosiyanidinler; pelargonidin, siyanidin, delfinidin, peonidin ve malvidindir. Bunlar arasında en yaygın bulunanı siyanidindir [26].

Antosiyanin flavonoidleri, pigment olarak rengin oluşumunda önemli etkiye sahiptirler. Bu bileşenler, taze yapraklarda ultraviyole ışınlarının neden olduğunu zarara karşı koruyucu etki göstermekte, patojenlere direnci artırmaktadırlar. Ayrıca Antosiyaninler antioksidan enzim inhibitörü olarak da rol oynayabilmektedirler. Buna ilaveten flavonoidler fotosentez ve enerji transfer bileşenleri olarak da fonksiyon gösterebilir ve bitkinin gelişiminde etkili olabilirler [27].

Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler; pH, sıcaklık, ışık, kopigmentler, metalik iyonlar, oksijen, askorbik asit, şeker, degredasyon ürünleri şeklinde sıralanabilir. Bu faktörlerin yanı sıra açillenme gibi antosiyanin yapısını etkileyen durumlar da stabiliteyi etkilemektedir [28].

En önemli antosiyanin kaynakları, üzüm suyu ve şarap yapımında atık olarak ele geçen posalar, bazı üzüm çeşitleri, kuşburnu, (0.6-0.8mg/g meyve) mürver ağacı meyvesi (2-10mg/g meyve), kiraz (43.6 mg/100 g meyve) ve vişne (35-82 mg / g meyve) şeklinde belirtilmiştir [24].

4. KARBOHİDRATLAR

Karbohidratlar, miktarları açısından konuşmak gerekirse, dünyadaki organik bileşiklerin en büyük grubu olup bitki, hayvan ve mikroorganizmalardaki her yaşam biçimiyle uzaktan veya yakından ilişki içindedir. Gıda bileşenleri içinde en önemlilerinden biri (nişasta gibi) olup, insan giysisi, kağıt ve pek çok biyoteknolojik işlem için (bira ve antibiyotik üretimi gibi) hammadde olarak kullanılmaktadır.

$Cx(H_2O)_y$ genel formülü ile gösterildikleri için eskiden beri karbonun hidratları anlamındaki karbohidratlar ismiyle adlandırılırlar. Diğer adlandırmaları sakkaritler veya şekerlerdir. En çok bilinen sakkaritler sofra şekeri olan sukroz, kan şekeri olan glikoz, malt şekeri olan maltoz ve meyve şekeri olan fruktozdur. Karbohidratlar polihidroksi aldehitler ve polihidroksi ketonlar veya hidrolize polihidroksi aldehit ve keton veren bileşiklerdir. Bu bileşikler yarı asetal veya asetal yapılarda bulunabildikleri için (>C=O ve OH içeriyorlar) karbohidratlar ayrıca hemiasetaller (yarıasetaller) ve asetaller veya hemiketaller (yarı ketaller) ve ketaller olarak da isimlendirilir.

Karbohidratlar kimyasal yapıları itibariyle üç ana gruba ayrılabilir, bunlar a) monosakkaritler, b) disakkaritler ve c) polisakkaritler şeklindedir. Hidroliz ile daha küçük karbohidratlara ayrılamayan sakkaritlere monosakkaritler denir. Hidroliz ile yalnız 2 mol monosakkarit verenlere disakkaritler, daha çok sayıda monosakkarit içerenlere polisakkaritler denilmektedir. En bilinen monosakkaritlerden olan glikoz bütün bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda bol miktarda bulunur; biyolojik sistemlerde en önemli organik bileşiklerden biridir; nişasta ve selüloz gibi pek çok polisakkairidin bileşenidir. Disakkaritlerden olan fruktoz ise pek çok meyvede, bitkide ve balda serbest olarak; sakkaroz gibi oligosakkaritlerde de yapıtaşı olarak bulunur. Sukroz, pek çok köklü bitkide (şekerpancarı, havuç) ve meyvelerde (erik, kayısı) ve serbest halde bulunmakta olup dünyada en yaygın kullanılan tatlandırıcıdır.

Karbohidratlar bitkilerin ve diğer canlıların yapılarındaki en önemli elementlerdir. Yalnız enerji kaynağı olmakla kalmaz ayrıca hücrelerin en önemli destek maddesi olarak önem kazanırlar. Yeşil bitkilerde hava CO_2'i güneş enerjisi ve bitkilerin yeşil pigmenti olan klorofil varlığında indirgenir, yani tutulur ve karbohidrat oluşur.

$$xCO_2 + yH_2O + \text{güneş enerjisi} \leftrightarrow Cx(H_2O)y + H_2O \qquad \textbf{(4.1)}$$

Klorofilin renginin yeşil olması ve bu nedenle görünür bölgede güneş ışınını absorblaması klorofili yapısındaki geniş konjuge sistem nedeni ile gerçekleşmektedir. Klorofilin absorbladığı güneş enerjisi denklemde de görüldüğü gibi CO_2'i karbohidrata indirgemeye, H_2O' da O_2' ye yükseltgemeye yarar. Absorbladıkları enerji nedeni ile karbohidratlar enerji deposu görevi üstlenirler. Bitkiler ve diğer canlılardaki metabolizma (sindirim) sonucunda önceden alınmış enerji oksidasyon ile geri verilir. Bu sindirim enzimleri ile gerçekleşen reaksiyon denklem **(4.2)**'de gösterilmiştir.

$$C_x(H_2O)_y + O_2 \leftrightarrow x\,CO_2 + yH_2O + \text{enerji} \qquad \textbf{(4.2)}$$

Canlıdaki karbohidratların yalnız bir kısmı doğrudan ısı enerjisine dönüşürken büyük bir kısmı da yeni kimyasal bileşikler oluştururlar. Fosfat bileşikleri olan bu yeni bileşikler canlının tüm enerji ihtiyacında (kasların çalışması gibi) veya makromoleküllerin sentezinde kullanılır (Fosfat bileşikleri kaslarda yakılmazsa insan kilo alır) [29].

Karbohidratlar insan beslenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle analizleri oldukça önemlidir. Karbohidratların ilk analiz yöntemleri gravimetrik, titrimetrik ve kolorimetrik prosedürler olmuş ve bunlar 'klasik yöntemler' olarak isimlendirilmiş ve bunlar yalnızca farklı karbonhidrat gruplarının nitel ve nicel analizlerine imkan tanımış ancak tekil bileşikler için aynı olay geçerli olmamıştır. Kromatografik, elektroforetik ve enzimatik yöntemlerin geliştirilmesiyle, elli yıl önce büyük bir değişim gözlenmiştir. Bu prosedürler karmaşık karbohidrat bileşikleri karışımında tekil türlerin nitel ve nicel analizine imkan tanımaktadır.

Karbohidrat analizinde karşılaşılan problemlerden biri karbohidratların kromofor grup bulundurmamasından dolaylı UV ile tayininin gerçekleştirilememesidir. CE ile ayırma ortamına ilave edilen bir kromofor madde vasıtasıyla mono ve disakkaritlerin kolaylıkla dolaylı UV tayini gerçekleştirilebilir. Bu yöntemde elektrolite sorbik asit,

riboflavin, p-nitrofenol gibi kuvvetli absorbanlar ilave edilerek bir background sinyal elde edilir ve bu sayede UV-aktif olmayan grubun sinyali gözlenir.

Karbohidrat analizinde karşılaşılan diğer problem ise karbohidratların yüksüz olmasıdır. Karbohidratların yüklenmesini sağlamak için birkaç metod vardır; a) belirli iyonlarla kompleksleştirme (borat kompleksleri gibi), b) Kuvvetli bir alkali ile pH yükseltmek c) türevlendirme. pH > 12 ortamında karbonhidratlar negatif yüklenir ve bu sayede CE ile ayrımları gerçekleştirilebilir [30].

5. DENEYSEL KISIM

5.1 Kullanılan Cihazlar

Şekerlerin ayrılması ve tayini Diod array dedektörle kombine Agilent marka kapiler elektroforez cihazı kullanılarak yapıldı. pH ölçümlerinde Metrohm (654 pH meter) marka pH-metre, antosiyanin ve toplam fenolik madde tayini için Schimadzu UV-1800 marka sprektrofotometre kullanılmıştır. Kullanılan kapiler kolonlar Polymicro Technologies firmasına aittir. Kapilerin çapı 75 µm, toplam uzunluğu 55 cm ve etkin uzunluğu 40 cm olarak seçildi. Kapiler ilk kullanımda 1 M NaOH ile 30 dakika, ardından su ile 5 dakika aktive edilmiştir. Gün başlarında kapiler kolon sırasıyla 10 dakika 1M NaOH, 2 dakika su, 5 dakika 0,1 M NaOH, 2 dakika su ve 5 dakika çalışma tamponu ile ve her injeksiyon arasında 1 dakika NaOH, 1 dakika su ve ardından 2 dakika çalışma tamponu ile yıkandı. Otomatik kapiler yıkaması, örnek injeksiyonu ve voltaj uygulaması ve verilerin değerlendirilmesi Agilient ChemStation yazılım programına sahip bir PC bilgisayarla kontrol edildi. Ayırım 25 kV potansiyel uygulanarak 25 º C' de, enjeksiyonlar 50 mbar basınçta 5 saniyede negatif kutuptan gerçekleştirilmiştir.

5.2. Kullanılan Kimyasallar

CTAB (Setil trimetil amonyum bromür) Merck' ten (Darmstadt, Almanya); glikoz, fruktoz ve sukroz şekerleri Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir. Bütün çözeltiler Elga Purelab Option-Q model sistemi ile elde edilen saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Vişneler ve vişne suları yerel marketlerden temin edilmiştir.

5.3. Vişne Örneklerinin Hazırlanması

Üç farklı bölgenin taze vişne örnekleri -18º C'nin altında saklanmıştır. Kullanılacağı gün oda sıcaklığına gelmesi sağlanarak sıkılarak suyu çıkarılmıştır. Şeker tayini için,

sıkılan vişne suları cihaza verilmeden önce mikrofiltreden süzülmüştür. Ticari vişne suları ise çalışma yapılacağı gün taze alınmıştır.

5.4 Toplam Fenolik Madde Analizi

Taze ve ticari vişne örneklerindeki toplam fenolik madde miktarının hesaplanmasında Folin–Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Vişne sularından deney tüpüne 300'er µL alınmış, 1,5 mL Folin-Ciocalteu Reaktifi (1:10) ve 1,2 mL sodyum karbonat (% 7,5 w/v) ilave edildikten sonra 10 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Örneklerin 1:10 oranında seyreltilerek absorbans değerleri çift ışınlı UV-Visible spektrofotometresiyle 760 nm'de ölçülmüştür. Yöntem her örneğe 2 deney tekrarıyla uygulanmıştır. Yöntemde elde edilen sonuçlar gallik asit cinsinden ifade edilmiştir.

5.5 Toplam Antosiyanin Tayini

Taze ve ticari vişne örneklerinde toplam antosiyanin tayini pH diferansiyel metodu ile gerçekleşirilmiştir. Vişne sularından deney tüplerine 500'er µL alınmış, pH=1 olan tampondan (0,05 M KCl) 2000 µL ilave edilmiştir. Örneklerin 520 ve 700 nm dalga boyunda 1:10 oranında seyreltme yapılarak absorbansları ölçülmüştür. Daha sonra aynı işlemler pH= 4,5 olan tampon (0,4 M NaoAc) ile tekrarlanmıştır. Eşitlik 5.1 ve 5.2 yardımıyla miktarlar hesaplanmıştır.

$$\text{Absorbans farkı} = (A_{520}-A_{700})_{(pH=1)} - (A_{520}-A_{700})_{(pH=4,5)} \quad \textbf{(5.1)}$$

$$\text{Monomerik antosiyanin miktarı (mg/L)} = \frac{(A)\,(MW)\,(SF)\,1000}{(\varepsilon)\,(L)} \quad \textbf{(5.2)}$$

A : Absorbans farkı (pH 1.0 ve 4.5 değerlerinde ölçülen absorbans farkı)

MW : Baz olarak alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı

SF : Seyreltme faktörü,

ε : Molar absorpsiyon katsayısı,

L : Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı, (cm).

5.6 Şeker Tayini

Taze ve ticari vişne suyu örneklerinde şeker tayini 20 mM sorbik asit, 0,2 mM CTAB içeren pH'I 12,3 olan tampon çözelti ile gerçekleştirilmiştir. Şeker standartları 6-30 mM aralığında hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Taze vişne numenelerinden sıkılarak elde edilen vişne suları once 20 µm, ardından 0,2 µm'lik mikrofiltre yardımıyla süzüldükten sonra 1:10 oranında seyreltilerek enjekte edilmiştir. Dört adet ticari vişne suyu örneği de seyreltilerek enjekte edilmiştir.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Şeker ayrımı için çeşitli tampon çözeltiler denenmiş ancak optimum koşullar sorbik asit tamponu ile elde edilmiştir. Şekerlerin yüklenmesi için pH 12.3 olarak seçilmiştir.

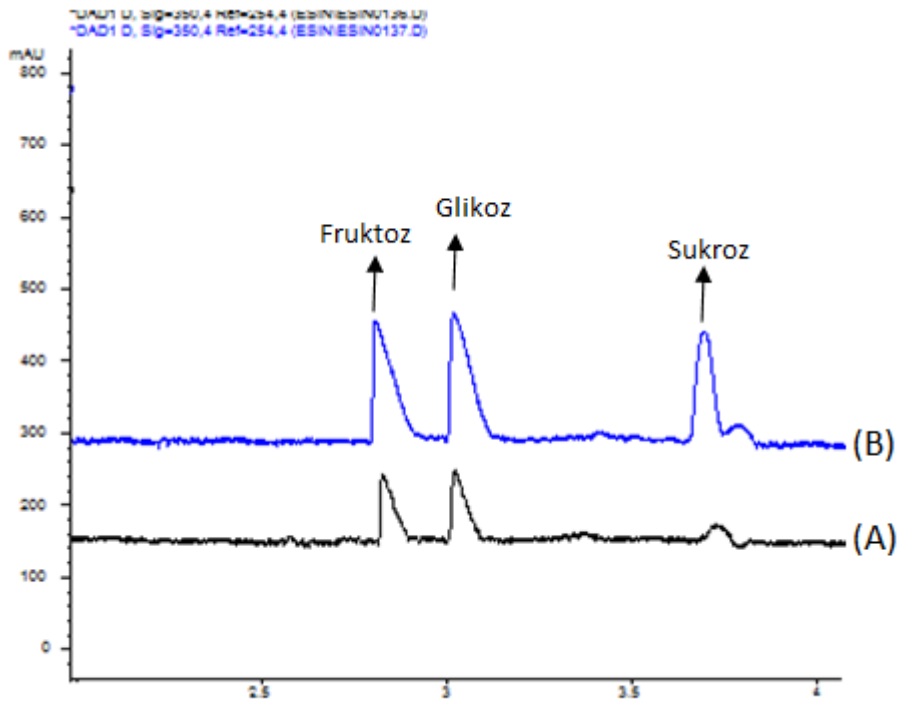
Tampon ortamına eklenen CTAB ile elektroosmotik akış ters çevrilerek yüksek pH'ta negatif yüklenmiş olan şekerlerin 5 dakika içerisinde ayrımı gerçekleştirilmiştir.

Şekil 5.1, 10 mM üçlü şeker standartına ait elektroferogramdır.

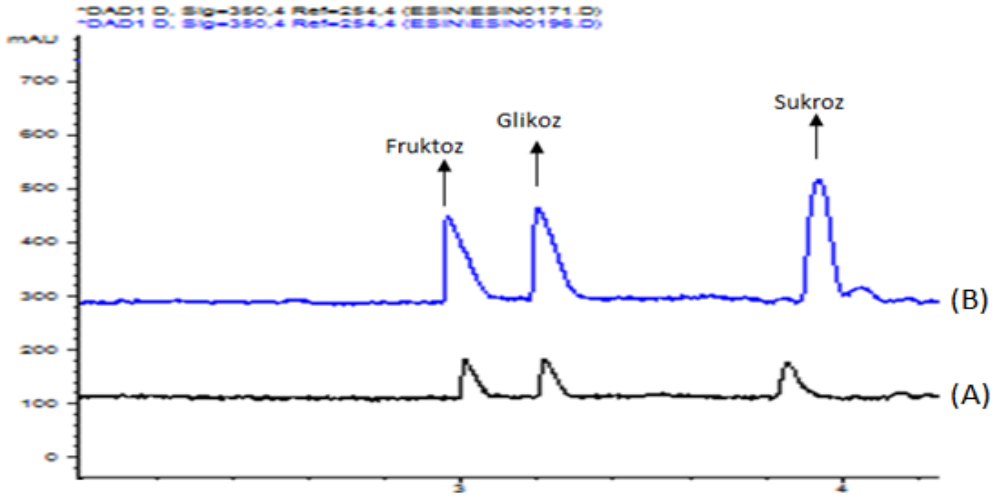
Şekil 5.1 : 10 mM Fruktoz, Glikoz ve Sukroz standart karışımı.

Taze vişne suyu örneklerinde sukroz piki gözlenmemekle birlikte, bazı ticari vişne suyu örneklerinde sukroz gözlenmiştir. Taze ve ticari vişne suyu örneklerine fruktoz, glikoz ve sukroz 3'lü karışımı şeklinde spike yapılmış, taze vişne suyu örneğine ait elekroferogramlara bakıldığında gözlenen piklerin fruktoz ve glikoza ait olduğu sukroz pikinin ise gözlenmediği kanıtlanmıştır. Ticari vişne suyuna ait elektroferogramlara bakıldığında ise fruktoz, glikoz ve sukroz şekerlerini içerdiği kanıtlanmıştır. 4. Dakika civarında gelen pikin ise su piki olduğu sisteme kör çözelti enjekte edilerek tespit edilmiştir.

Şekil 5.2 spike yapılan taze vişne suyu örneğine ait elektroferogramı, Şekil 5.3 ise ticari vişne suyuna ait elektroferogramı göstermektedir.



Şekil 5.2 : (A) (1/50) Taze Yalova vişne suyu örneğine ait elektroferogram (B) 7,5 mM Fruktoz, Glikoz ve Sukroz şeker standart karışımı eklenen (1/50) taze Yalova vişne suyu örneğine ait elektroferogram.



Şekil 5.3 : (A) (1/50) Ticari 3 vişne suyuna ait elektroferogram (B) 8 mM Fruktoz, Glikoz ve Sukroz standart şeker karışımı eklenen (1/50) Ticari 3 vişne suyuna ait elektroferogram.

Çizelge 5.1' de taze ve ticari vişne örneklerinde bulunan toplam fenolik madde miktarları verilmektedir. Miktarlar, gallik asit standartı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisinin denkleminden faydalanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, mg GAE/ mL gallik asit cinsinden verilmiştir.

Çizelge 5.1: Taze ve ticari vişne sularındaki toplam fenolik miktarları.

Örnek	**Total fenolik (mg GAE/ mL)**
Kütahya 1	1239± 0,026
Kütahya2	1215± 0,003
Kütahya 3	1209± 0,014
Kütahya 4	1229± 0,02
İzmir	1220± 0,004
Yalova	1198±0,001
Ticari 1	490± 0,004
Ticari 2	1000± 0,044
Ticari 3	859± 0,001
Ticari 4	938± 0,027

Çizelge 5.2' de taze ve ticari vişne sularının toplam antosiyanin miktarları verilmiştir. Miktarlar eşitlik 5.1 ve 5.2 yardımıyla hesaplanmıştır. Sonuçlar cyanidin-3-glucoside cinsinden verilmiştir.

Çizelge 5.2: Taze ve ticari vişne sularının toplam antosiyanin miktarları.

Örnek	Antosiyanin (mg cyanidin-3-glucoside/L)
Kütahya 1	684,65±28,34
Kütahya2	660,86±21,84
Kütahya 3	501,38±14,76
Kütahya 4	445,03±76,75
İzmir	738,09±7,08
Yalova	421,65±2,36
Ticari 1	3,38±0,30
Ticari 2	24,92±0,18
Ticari 3	52,85±0,24
Ticari 4	13,82±0,30

Gerek toplam fenolik gerekse antosiyanin içerikleri değerlendirildiğinde hiçbir katkı maddesi içermeyen taze sıkma vişne sularının antioksidan gücünün piyasada var olan ticari vişne sularından çok daha fazla olduğu açıkça görülmektedir.

Taze ve ticari vişne suyu örneklerinde bulunan şeker miktarları Çizelge 5.3'te verilmektedir. Tabloda görüldüğü gibi taze vişne örneklerinde fruktoz ve glikoz şekerleri bulunmakla birlikte sukroz şekerine rastlanmamıştır.Ticari örneklerde belirtildiği üzere şeker şurubu ilave edildiği sonuçlardan da açıkça görülmektedir.

Çizelge 5.3 Taze ve ticari vişne suyu örneklerinde şeker miktarları ve F/G oranları.

	Fruktoz (g/L)	Glikoz (g/L)	Sukroz (g/L)	F/G
Kütahya 1	55,18± 0,11	61,17±1,04	*ND	0,90
Kütahya 2	84,08±1,07	97,23±1,35	*ND	0,86
Kütahya 3	43,13±1,32	51,78±0,18	*ND	0,83
Kütahya 4	44,84±2,45	50,08±0,76	*ND	0,90
İzmir	94,91±8,43	97,72±1,83	*ND	0,97
Yalova	44,75±0,89	51,80±1,79	*ND	0,86
Ticari 1	40,01±1,50	38,97±1,03	88,75±4,43	1,08
Ticari 2	56,94±1,74	52,78±16,40	1,51±0,095	0,96
Ticari 3	44,18±2,92	45,90±1,78	71,24±1,84	0,78
Ticari 4	76,20±0,18	97,68±0,36	2,58±0,12	1,03

*ND: not dedectable (dedekte edilmedi)

Fruktoz, glikoz ve sukroz şekerleri için 6-30 mM aralığında kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. R^2 değerleri 0,991-0,997 arasındadır.

Şekerler için tespit limiti (LOD) 1,29-1,74 mM arasında hesaplanmıştır. Tekrarlanırlık sonuçları düzeltilmiş pik alanları için % RSD cinsinden gün içinde 1'den az, günler arası 5'ten az değerlere sahiptir. Değerler Çizelge 5.4'te gösterilmektedir.

Çizelge 5.4: Şekerlerin LOD, LOQ ve tekrarlanırlık değerleri.

	LOD (mM)	LOQ (mM)	Kalibrasyon (6-30 mM) (R^2)	Tekrarlanırlık gün içi n=5 % RSD	Tekrarlanırlık günlerarası n=5x3 % RSD
Fruktoz	1,74	5,82	0,991	0,89	3,51
Glikoz	1,72	5,75	0,997	0,32	2,26
Sukroz	1,29	4,31	0,994	0,64	4,61

Geri kazanım çalışmaları, seçilen bir ticari vişne suyu örneği üzerinde üç ayrı derişimde şeker standartları eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Tatmin edici geri kazanım değerleri %81,5-105,5 olarak hesaplanmıştır ve sonuçlar Çizelge 5.6'da verilmektedir.

Çizelge 5.5: Şekerlerin yüzde geri kazanım değerleri.

Örnek	Örnekteki miktar (mM)	Eklenen miktar (mM)	Yüzde geri kazanım
Fruktoz	4	2	95,60±3,80
Fruktoz	4	4	102,04±3,39
Fruktoz	4	8	103,67±2,10
Glikoz	4	2	92,21±2,42
Glikoz	4	4	101,16±2,42
Glikoz	4	8	105,29±2,25
Sukroz	4	2	81,56±1,65
Sukroz	4	4	90,52±0,42
Sukroz	4	8	99,98±1,23

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Vişne, içerdiği toplam antosiyanin ve toplam fenolik içeriklerine bakıldığında güçlü antioksidan etkiye sahip bir meyve olduğu sonucuna varılabilir.

Şeker tayini sonucu elde edilen değerler literatürle uyumludur. Ayrıca meyvelerin F/G oranlarının 1'e yakın olduğu bilinmektedir. Vişne için elde edilen F/G oranlarına bakıldığında değerlerin 1'e yakın olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak taze ve ticari vişne örneklerinde toplam antosiyanin, toplam fenolik ve şeker miktarları, kesiliği ve doğruluğu saptanan analitik bir yöntemle tayin edilmiştir. Kapiler elektroforezin şeker tayini için hızlı ve ekonomik bir metod olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

[1] **Baker D. R.,** 1995, *Capillary Electrophoresis*, John Wiley and Sons Inc. USA.

[2] **Bektaş N.,** 2003. Bazı fenolik asitler ve kombinasyonlarının antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi,* Anadolu Üniv., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

[3] **Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A.,** 1998. Principles of Instrumental Analysis, Saunders College Publishing, USA.

[4] **Manz, A., Pamme, N., Iossifidis, D.,** 2004. Bioanalytical Chemistry, Imperial College Press, London.

[5] **Nutku, M. S.,** 1998. İnorganik anyonların, organic asitelerin ve DNA parçalarının kapiler elektroforez ile ayırımında polielektrolit kullanımı, *Doktora Tezi,* İ.TÜ.Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[6] **Belin, G. K.,** 2003. Nötral aromatic ve izomerik aromatik bileşiklerin elektrokinetik kromatografi yöntemi ile ayırımı ve tayini, *Doktora Tezi,* İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[7] **Erim, F. B.,** (FN705) Kapiler elektroforez Teori ve Uygulamaları Dersinin notları (1995).

[8] **Cansever, M.Ş.,** 2010. Metabolik Hastalıkların Teşhisinde Kapiler Elektroforez, *Doktora Tezi,* İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[9] **Heiger, D.,** 2000. *High Performance Capillary Electrophoresis An Introduction,* Agilent Technologies, Germany.

[10] **Alemdar, İ.,** 1997. Fenollerin sulu çözeltilerden organo kil üzerinde adsorpsiyon ile zenginleştirilmesi ile kapiler elektroforez yöntemi ile tayini, *Yüksek Lisans Tezi,* İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[11] **Potocek, B., Machiel, B., Gas, B., Chiari, M. and Kenndeler, E.,** 1998. Seperation of nature compounds by capillary electrokinetic chromotograpy with a replaceable linear polyöer as pseudo stationary phases, *J. Chromatogr.* A, 789**,** 269-273.

[12] **Heigher, D. N.,** 1992. High Performance Capillary Electrophoresis, Hewlett Packard Company, France.

[13] **Bjergaard, C., Michaelsen, S.,** 1999. Chromatography and Capillary Electrophoesis in food Analysis, Paston Prepress, Denmark.

[14] **Başkan, S.,** 2005. Adaçayının (Salvia Officinalis) antioksidan bileşikleri rosmarinik ve karnosik asitin kapiler elektroforez ile tayini, *Yüksek Lisans Tezi,* İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[15] **Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S and Heinonen, M.,** 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47*:3954-3962.

[16] **Prior, R. L. And Cao, G, H,** 2000. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: A review. *Journal of AOAC International* 83 (4): 950-956.

[17] **Kaur, C. And Kapoor H. C.** 2001. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology.* 37(2):153-161.

[18] **Cuttler, R. G. and Pryor, W. A.** 1984. In free radical in biology. Free Radicals in Biology, 6:371-423.

[19] **Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P.,** 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile, *Food Chemistry,* 89, 27-36.

[20] **Eruçar, S.,** 2006, bazı bitkisel çayların fenolik madde profili ve antioksidan aktivitelerini incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İT.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

[21] **Naczk, M. and Shahidi, F.,** 2004. Extraction and Analysis of Phenolics in food. *Journal of Choramtograpy A.,* 1054, 95-11.

[22] **Sellapan, S., Akoh, C. C., Krewer, G.,** 2000. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 50, 2432-2438.

[23] **Yang, R., Tsao, R.,** 2003. Optimization of a new mobile to know the complex and real polyphenolic composition: Towards a tool phenolic index using high performance lşquid chromatograpy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 46, 3630-3634.

[24] **Çalımlı, A.,** 2003. Kayısı ve vişne suyu üretimindeki atıkların değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri. Ankara.http:papirus.ankara.edu.tr/arastırma/2003/a2003_28/proje.pdf.

[25] **Jamet, A. and Ebeling, P.W.** 2002. Stabilization Mechanism for Anthocyanin: The case for Copolymerization Reactions. Engineering and Food for the 21. St Century, CRC Press LLC, pp.1-4.

[26] **Turker, N.**, 2007. Kara havuç *(Dausus carota var L.)* antosiyaninlerinin ferrulik asit ile kopigmentasonu, *Yüksek Lisans Tezi*, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.

[27] **Naudi, A. S., Bidlack W. R. And Crecelüus, A. T.,** 2000. Flavonoids. CRC. Press. Newyork.

[28] **Turker, N., Aksay, S and Ekiz, H.I.,** 2004. Effects of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (Daucus carota var L.) beverage: shalgam. *Journal of Agricultural and Food.*

[29] **Scherz, H., Bonn, G.,** 1998, Analytical Chemistry of Carbohydrates, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.

[30] **Cabalkova, J., Zidkova, J., Pribyla, L., Chmelik, J.,** 2004, **'**Determination of carbohydtrates in juices by liquid capillary electrophoresis, high performance liquid chromatography, and matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry.', 25, 487-493.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Esin Kaftanoğlu

Doğum Yeri ve Tarihi: 21.10.1987

E-Posta: kaftanoglu_e@hotmail.com

Lisans: İ.T.Ü Kimya

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

▪ Kaftanoglu, E., Tezcan, F., Erim, F. B., 2012: Kapiler Elekktroforez Yöntemi ile Meyve Sularının Şeker İçeriklerinin Belirlenmesi. *Ulusal Analitik Kimya Kongresi,* 03-07 Eylül, 2012 Hatay, Türkiye.