



## Factors Affecting the Stability of Anthocyanins

Buket Aşkın<sup>1,a,\*</sup>, Erdoğan Küçüköner<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Food Engineering Department, Faculty of Engineering, Kırklareli University, 39100 Kırklareli, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Süleyman Demirel University, 32000 Isparta, Turkey

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 08/02/2019 Accepted : 17/07/2019</p> <p><b>Keywords:</b> Anthocyanin pH Color Temperature Stability</p>	<p>Anthocyanins are compounds, which responsible for red, blue, purple colors of fruits and vegetables and they have water soluble properties. One of the natural color pigments are anthocyanins were placed in flavonoids group. This pigment has glycoside form and it has different properties according to the included sugar group and chemical composition. Anthocyanins which known to have positive effects on health bring attractive to the visual features products bring. The limited stability of anthocyanins may cause important problems for process and storage of fruit and vegetables included anthocyanins. The chemical structure and important factors related to the stability of anthocyanins were evaluated within the scope of this review.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(11): 1759-1765, 2019

## Antosiyaninlerin Stabilesini Etkileyen Faktörler

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 08/02/2019 Kabul : 17/07/2019</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Antosiyanin pH Renk Sıcaklık Stabilite</p>	<p>Bilindiği gibi antosiyaninler meyve ve sebzelerin kırmızı, mavi, mor tonlardaki renginden sorumlu olan bileşiklerdir. Doğal renk maddelerinden biri olan antosiyaninler flavonoidler grubunda yer alan pigmentlerdir. Antosiyaninler glikozid formunda olup, içerdikleri şekere ve kimyasal kompozisyona bağlı olarak farklı özellikler göstermektedirler. Sağlık üzerine olumlu etkileri ile öne çıkan antosiyaninler, ürünlerin görsel özelliklerini de cazip hale getirirler. Ancak, bu pigmentlerin oldukça sınırlı stabiliteye sahip olması antosiyanin içeren meyve ve sebzelerin farklı ürünlere işlenmesi ve depolanması gibi işlemler sırasında önemli problemler oluşturabilmektedir. Antosiyaninlerin kimyasal yapısı ve stabilitesi ile ilgili önemli faktörler bu derleme kapsamında incelenmiştir.</p>

<sup>a</sup> [buketaskin@klu.edu.tr](mailto:buketaskin@klu.edu.tr) <sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0001-6327-0946> | <sup>a</sup> [erdogankucukoner@sdu.edu.tr](mailto:erdogankucukoner@sdu.edu.tr) <sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9259-4800>



## Giriş

Antosiyaninler meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı viole, mavi ve mor tonlardaki çeşitli renklerini veren polifenolik bileşiklerdir (Horbowicz ve ark., 2008). Bitkiler aleminde, en büyük suda çözünür pigment grubunu oluşturan antosiyaninler vakuollerde bulunmaktadır (Eiro ve Heinonen, 2002; Jordheim, 2007). Doğada 600'den fazla antosiyanin bulunduğu tahmin edilmektedir (Clifford, 2000).

## Antosiyaninlerin Kimyasal Yapısı

Antosiyaninler, flavonoidlerin temel iskelet yapısı olan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> halka yapısına sahiptirler (Horbowicz ve ark., 2008). Kimyasal açıdan incelendiğinde, antosiyaninler antosiyanidinlerin şekerle esterleşmesi sonucu oluşan formlardır. Başka bir deyişle glikozit yapısında olan antosiyaninler antosiyanidin (aglikon) ve şeker molekülünden meydana gelmektedir. Antosiyanidinlerin, dolayısı ile antosiyaninlerin, temel yapıtaşı flavilium katyonudur (2-fenilbenzopirillium). Antosiyanidinlerin ana bölümünü bir heterosikliklik benzopiran halkası (C), bir aromatik halka (A) ve bir de fenil yapıya sahip halka (B) olmak üzere 3 farklı halka yapıya sahip olan flavilium katyonu oluşturmaktadır. Antosiyanidinler, C halkasında iki çift bağ ihtiva ederler ve bu nedenle de pozitif yüke sahiptirler (He ve ark., 2010).

Flavilium katyonunun B halkasında farklı sayılarda hidroksil ve metoksil grupları yer almaktadır. Temel antosiyanidin iskeleti içerdiği hidroksil ve metoksil grubunun pozisyonuna göre 6 farklı şekilde tanımlanmaktadır. Grubun yapısı antosiyanin reaktivitesini ve molekülde elektron dağılımı ise rengini etkilemektedir. Bugüne kadar tanımlanmış antosiyaninlerden pelargonidin, siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve malvidin bitkilerde daha yaygın olarak bulunmaktadır (Prior ve Wu, 2006; Janeiro ve Brett, 2007).

Antosiyaninlerde hidroksilasyon arttıkça renk mavime doğru dönmekte ve mavimsi renk pelargonidin, siyanidin ve delfinidin olmak üzere sırasıyla artmaktadır. Buna karşılık, glikosillenme ve metillenme ise rengin kırmızıya dönmesine neden olur, kırmızı renk siyanidinden peonidine doğru artmaktadır (Acar, 1998).

Antosiyaninler genellikle glikozitler halinde mevcuttur. Bu glikozitlerde, bir ya da daha çok hidroksil grubu olan glukoz, galaktoz, ramnoz ve arabinoz şekerleri bir araya gelmiştir. Antosiyaninler, antosiyanidinlere bağlanan bu şekerlerin sayısı ve pozisyonuna göre tanımlanmaktadır (Clifford, 2000).

Antosiyaninlerde meydana gelen bir diğer değişim açillenmedir. Antosiyanin glikozil ünitelerine üçüncü bir komponent ester bağları ile bağlanmaktadır. Açillenme, genellikle aromatik veya alifatik asitlerle veya her ikisinin kombinasyonu ile meydana gelmektedir (Rein, 2005).

En yaygın açillenme ajanları, p-kumarik, kafeik, ferulik, sinapik, gallik asit gibi aromatik asitler, p-hidroksibenzoik asitler veya malonik, okzalik, malik, süksinik, asetik asit gibi alifatik asitlerdir (Clifford, 2000; Janeiro, 2007). Bu açil grupları genellikle monosakkaritlerin 6. pozisyonuna yerleşmektedir, ancak daha az sıklıkla 2-, 3- ve 4- pozisyonlarda da yer almaktadır (Giusti ve Wrolstad, 2003; Rein, 2005).

Kısaca özetlemek gerekirse, antosiyanin moleküldeki hidroksil ve hidrojen gruplarının sayısı, bu grupların yerleşimi, moleküle bağlanmış şekerlerin türü, sayısı ve bağlanma şekli, bu şekerlere bağlanmış alifatik ve aromatik asitlerin yapı ve sayısı gibi faktörler antosiyaninler arasındaki farklı özellikleri ortaya koymaktadır (Eiro ve Heinonen, 2002; Kırca, 2004).

## Antosiyaninlerin Stabilesini Etkileyen Faktörler

Sağlığa yararlı etkileri ile öne çıkan antosiyaninleri içeren meyve ve sebzeler farklı ürünlere işlenmektedirler. Bu nedenle antosiyaninlerin kimyasal stabilesi ve stabilizeye etki eden faktörler teknolojik olarak önem kazanmaktadır (Patras ve ark., 2010). Kimyasal yapı antosiyanin stabilesi üzerine etkili olan en önemli faktörlerdendir. Yapılarına hidroksil, metoksil, glikozil ve açil gruplarının eklenmesi stabilesini oldukça etkilemektedir. Meydana gelen bu dayanıklı yapı, yüksek pH ortamı veya bisülfidler gibi etmenler ile zarar görmekte ve renk kaybı meydana gelmektedir (Jing, 2006). Antosiyaninlerin stabilesi sadece kimyasal yapılarından etkilenmemektedir. Yapılan çalışmalar antosiyanin stabilesinin, sıcaklık, ışık, fenolik bileşikler, enzimler, metal iyonları, askorbik asit, hidrojen peroksit, kükürt dioksit ve çevresel faktörler gibi birçok faktörden etkilendiğini göstermektedir (Jing, 2006; Horbowicz ve ark., 2008; Patras ve ark., 2010).

### *Kimyasal Yapının Antosiyanin Stabilesi Üzerine Etkisi*

Aglikona bağlanan glikozil birimleri, açil grupları ve bağlandıkları yerler antosiyanin molekülünün stabilesi üzerine önemli bir etkiye sahiptir. Ayrıca, aglikonda bulunan hidroksil ve metoksil gruplarının yeri ve sayısı da molekülün kimyasal özelliklerini etkilemektedir (Drdak ve Daucik, 1990; Matsufuji ve ark., 2007; He ve ark., 2010). Aglikon hidroksilasyonunun artması, aglikonun stabilizasyonunu da arttırmaktadır. Bu nedenle, asidik metanolde delfinidin siyanidinden daha stabildir. Fakat, aglikon hidroksilasyonu ile antosiyanin stabilesi arasında aynı ilişki görülememektedir. pH değeri 3.1 olan bir tampon çözeltide, siyanidin-3-glukozid'in delfinidin-3-glukozid'den daha stabil olduğu bilinmektedir (Rein, 2005). Ayrıca, yapılan bir çalışmada, B halkasında 2 hidroksil grubuna sahip olan petunidin-3-glukozid molekülünün, aynı halkada 1 hidroksil grubuna sahip olan peonidin-3-glukozid molekülünden daha az stabil olduğu görülmüştür (Cabrita ve ark., 2000). C-4 ve C-7 pozisyonlarında bulunan metoksil grupları, aynı pozisyonlarda hidroksil grupları bulunan bir pigmentin stabilesini düşürmektedir (Rein, 2005). Ayrıca, hidroksil ve metoksil grupları antosiyaninlerin stabilesi ile birlikte rengini de değiştirdiği daha önce belirtilmiştir.

Glikolizasyon molekül yapısını stabilize etmektedir ve bu nedenle antosiyanidinlerin glikolize olmuş formları yani antosiyaninler doğada daha fazla bulunurlar (Prior ve Wu, 2006). Açillenmenin de antosiyanin stabilesi üzerine önemli etkiye sahip olduğu ve stabilesini arttırdığı bilinmektedir (Cai ve ark., 1998). Şekerlerde olduğu gibi, hangi açil grubunun ilave olduğu da antosiyanin stabilesini etkilemektedir. Molekülün aromatik asitler ile

açılması sonucunda alifatik asitlerle açılması durumundan daha yüksek stabiliteye sahiptir. Antosiyaninlerin açılması daha yoğun renk oluşumu ve hue değerinde değişim ile sonuçlanmaktadır (Rein, 2005). Yapılan farklı çalışmalarda da antosiyanin kimyasal yapısının stabilitesi üzerine etkiyen birincil faktörlerden olduğu vurgulanmıştır (Garcia-Viguera ve Bridleinfluence, 1999; Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos, 2004; Feng ve ark., 2008; Castaneda-Ovando ve ark., 2009; Yoshida ve ark., 2009; Shipp ve Abdel-Aal, 2010).

#### *Kopigmentasyon ve Antosiyanin Stabilitesi*

Kopigmentasyon ilk kez 1916 yılında Willstätter ve Zollinger tarafından, bir üzüm pigmenti olan malvidin-3-glukozid'in renginin, gallik asit ve tanin ilavesi sonucunda mavimsi kırmızıya dönmesiyle tanımlanmıştır. Sonrasında kopigmentasyon çalışmaları daha çok çiçeklerde yoğunlaşmıştır (Rein, 2005).

Antosiyaninlerle kompleks oluşturarak, stabil ve daha yoğun bileşik oluşturan maddelere "kopigment" denir. Bir kopigment çoğunlukla kendi başına renksizdir, fakat antosiyanin çözeltisine eklendiğinde, çözeltinin renk yoğunluğunu arttırmaktadır (Kırca, 2004).

Birçok molekül kopigment olarak davranabilmekle birlikte, en yaygın kopigment bileşikleri flavonoidler, polifenoller, alkaloidler, aminoasitler ve organik asitlerdir (Markovic ve ark., 2000). Antosiyaninler kopigmentasyon ile daha parlak, kuvvetli ve daha stabil renklere sahip olurlar. Gıdalarda ve meyve-sebzelerde kopigmentasyon, tüketici tercihini önemli derecede etkileyen kalite faktörlerinden biri olan renk için önemli bir etkileşimdir (Eiro ve Heinonen, 2002). Kopigmentasyon, özellikle üzümü meyvelerden elde edilen meyve suları için büyük önem taşımaktadır (Rein, 2005).

Kopigmentasyon ile flavilium katyonunun stabilizasyonunun kendiliğinden birleşme (self-association), molekül içi kopigmentasyon (intermolecular copigmentation) ve moleküller arası kopigmentasyon (intramolecular copigmentation) olmak üzere 3 farklı mekanizma ile gerçekleştiği ileri sürülmektedir (Wilska-Jeszka ve Korzuchowska, 1996; Jordheim, 2007; Torskangerpoll ve Andersen, 2005).

Kendiliğinden birleşme (self-association), antosiyanidin çekirdeği ile aromatik açıl grupları arasında moleküller içi bir interaksiyonla gerçekleşmektedir ve özellikle şarapların olgunlaştırılmasında önem taşımaktadır (He ve ark., 2010).

İntramoleküler istiflenme daha çok çiçek vakuollerinde önem kazanırken, intermoleküler istiflenme ise daha çok meyveler ve genellikle üzümü meyvelerde görülmektedir. Intermoleküler kopigmentasyon, antosiyanidin çekirdeği ve molekülünün kromoforik olmayan kısımları (aromatik asit) arasında bir interaksiyonla gerçekleşirken; moleküller arası kopigmentasyon ise, iki veya daha fazla molekül arasında gerçekleşmektedir (Eiro ve Heinonen, 2002).

İntramoleküler interaksiyonlar yoluyla meydana gelen ve bir organik asit, aromatik açıl grubu veya flavonoidin yer aldığı kopigmentasyon reaksiyonları, antosiyanin çekirdeğine bir kovalent bağ ile bağlanmaktadır (Brouillard, 1982; Eiro ve Heinonen, 2002). İnteramoleküler kopigmentasyon kovalent bağ ile mevcut olmasından dolayı intermoleküler kopigmentasyondan daha güçlü stabilize edici etkiye sahiptir (Figueiredo ve

ark., 1996; Rein, 2005). İlk kez Brouillard (1982) antosiyanin aglikonunun iki tarafının istiflenme ile korunduğu ortaya atılmış ve sandviç tipi istiflenme olarak tanımlanmıştır. Brouillard (1982) aynı zamanda, flavilium aglikonu ve açıl gruplarının aromatik kısımları arasında hidrofobik interaksiyonlar olduğunu ve istiflenme oluşumuna itici güç oluşturduğunu ifade etmiştir. Açıl gruplarının sayıları, yapıları, eklenen glikozil pozisyonu ve sakkaritlerin sayısı intramoleküler kopigmentasyonu etkilemektedir (Rein, 2005).

Kopigmentasyon, poliaçıllanmış antosiyaninlerden monoaçıllanmışlara kıyasla daha fazla etkilenmektedir. Monoaçıllanmış antosiyaninin bir tarafı korunmamakta, bu taraftaki aglikon sudan etkilenilmekte ve kısmen stabilizasyona sahip olmaktadır (Rein, 2005).

İnteramoleküler interaksiyon ise meyvelerin, kırmızı üzümü meyvelerin ve ürünlerinin kopigmentasyonu için daha büyük öneme sahiptir çünkü bunlarda açıllanmış antosiyanin daha az bulunmaktadır. İnteramoleküler interaksiyon mekanizması, öncelikle zayıf bir kompleks oluşuma bağlıdır (Rein, 2005). Sonrasında, intermoleküler kopigmentasyon renkli antosiyanin ve antosiyanine kovalent bağ ile bağlanan renksiz kopigment arasındaki interaksiyon olarak tanımlanmaktadır. Bu oluşumda itici gücün hidrojen bağı ve hidrofobik interaksiyonlar olduğu bilinmektedir (Eiro ve Heinonen, 2002).

İnteramoleküler kopigmentasyon tüm antosiyanidinde meydana gelmektedir ve antosiyanin yapısı kopigmentasyonu etkilemektedir. Örneğin, maksimum kompleks oluşumu ve renk artışı 3-monoglukozid için pH 3,5-4,2'de, 3,5-diglukozid ve 3-açılglukozid-5-glukozid için pH 3,1'de ve 3-açılglukozid- için pH 4,0-4,5'de gözlemlenmektedir. Kırmızı üzümü meyvelerden elde edilen meyve sularının pH değerleri genellikle 3,5 civarındadır ve bu değer birçok antosiyanin için maksimum kopigmentasyonun meydana gelmesi için uygun bir değeri teşkil etmektedir (Rein, 2005).

Kopigmentasyon reaksiyonları kompleks reaksiyonlardır. Özellikle üzümü meyvelerde meydana gelen intermoleküler kopigmentasyon reaksiyonları tam olarak açıklanamamıştır (Eiro ve Heinonen, 2002). Çilek ve kuş kirazı sularında antosiyaninlerin klorojenik asit ile kopigmentasyonunun stabilitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; klorojenik asidin yüksek konsantrasyonlarda meyve sularının renk stabilitesini arttırdığı saptanmıştır (Wilska-Jeszka ve Korzuchowska, 1996).

Eiro and Heinonen (2002), kırmızı üzümü meyvelerde ve ürünlerinde renk artışına neden olan intermoleküler kopigmentasyonun depolama süresince antosiyanin stabilitesi üzerine etkisini belirlemişlerdir. Bu amaçla, 5 farklı antosiyanin;

- Pelargonidin-3-glukozid,
- Siyanidin-3-glukozid,
- Malvinidin-3-glukozid
- Siyanidin-3-o-(2<sup>n</sup>-o-β-xylopyranosyl-6<sup>n</sup>-o-(6-o-(e)-coumaroyl)-β-glukopiranoil)-β-galaktozid
- Siyanidin-3-o-(2<sup>n</sup>-o-β-xylopyranosyl-6<sup>n</sup>-o-β-glukopiranozil)- β-galaktrozid)

ve 5 farklı fenolik asidin;

- Ferulik asit
- Kafeik asit
- Rosmarinik asit
- Klorojenik asit
- Sinapik asit

reaksiyonları araştırılmıştır. Araştırmada, en büyük kopigmentasyon reaksiyonlarının malvidin-3-glukozid solüsyonlarında meydana geldiği ve en kuvvetli kopigmentlerin ise ferulik ve rosmarinik asit olduğu ifade edilmiştir. Rosmarinik asit ve malvidin-3-glukozid arasında meydana gelen reaksiyonlar en fazla dalga boyu artışına (bathochromic shift, 19nm) sebep olduğu ve en kuvvetli hiperkromik etki (renk yoğunluğu artışı, %260) gösterdiği tespit edilmiştir.

Jettanapornsumran (2009) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, boysenberry (böğürtlen ve ahududu melezi bir meyve) suyunun renk stabilitesini arttırmak amacıyla farklı kırmızı üzümü meyve suları (frenk üzümü, kızılçik ve nar suları) ilave edilmiş ve antosiyanin pigmentlerinin stabilitesi ve kopigmentasyon mekanizması belirlenmiştir. Ancak, 5°C'de yapılan depolama sonunda sadece frenk üzümü suyunun renginin stabil olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonunda, boysenberry suyunda bulunan elajik asidin frenk üzümü suyu antosiyaninleri ile kopigmentasyon oluşturduğu ve bu durumun depolama süresince meyve suyu stabilitesini arttırdığı vurgulanmıştır.

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Sıcaklık Etkisi*

Sıcaklık, antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan en önemli faktördür (Patras ve ark., 2010). Özellikle meyve ve sebze ürünlerinde sıcaklık uygulaması ve/veya depolanması sırasında sıcaklığın antosiyaninler üzerine olumsuz etkisi olduğu yapılan birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Dyrby ve ark., 2001; Garzon ve Wrolstad, 2002; Kırca ve ark., 2007; Reyes ve Cisneros-Zevallos, 2007; Aurelio ve ark., 2008; Harbourne ve ark., 2008; Mishra ve ark., 2008; Yang ve ark., 2008; Patras ve ark., 2010). Ancak, dikkat edilmesi gereken bir nokta uygulanan sıcaklığın derecesi ve süredir. Bu iki faktör sıcaklık faktörünü etkileyen en önemli etmenlerdir (Patras ve ark., 2010).

Antosiyaninlerin termal degradasyonu birinci derece kinetik modele uyum göstermektedir. Farklı çalışmalarda da aritmetik sıcaklık artışlarıyla logaritmik antosiyanin kaybı meydana geldiği ifade edilmiştir (Dyrby ve ark., 2001; Rhim, 2002; Kırca ve Cemeroglu, 2003; Kırca ve ark., 2007; Castaneda-Ovando ve ark., 2009). Erbay (2011) yapmış olduğu çalışmada, durultulmuş karadut suyu ve konsantrelerindeki antosiyaninlerin 70-90°C sıcaklıklardaki ısı stabilitesinde meydana gelen değişimler ortaya konmuştur. Karadut suyunda antosiyaninlerin ısı yolla parçalanmasına ilişkin yarı ömür değerleri; 70, 80 ve 90°C'lerde sırasıyla 11,8; 6,3 ve 3,4 saat olarak saptanmıştır. *k* değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak artması ya da yarı ömür değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak azalması karadut antosiyaninlerin sıcaklık arttıkça hızla parçalandığını göstermektedir. Karadut suyu konsantrelerinde ise antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarılanma süreleri -20°C, 4°C, 10°C ve 20°C

sıcaklıklarda sırasıyla 100,3; 14,3; 7,2 ve 1,7 ay olarak saptanmıştır. Farklı çalışmalarda farklı antosiyaninlerin ısı stabilitesi ortaya konmuştur. Böğürtlen suyunda, antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı ömür değerleri 60-90°C'lerde sırasıyla; 16,7; 8,8; 4,7 ve 2,9 saat olarak belirlenmiştir (Wang ve Xu, 2007). Kırca (2004) siyah havuç antosiyaninlerinin parçalanmasına ait yarı ömür değerlerini, 70° C, 80° C ve 90°C'lerde sırasıyla 16,7; 10,0 ve 5,0 saat olarak belirlemiştir. Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada ise, yaban mersini suyu 40, 50, 60, 70 ve 80°C'lerde ısıtılmış ve yine antosiyaninlerinin parçalanmasına ait yarı ömür değerleri sırasıyla; 180,5; 42,3; 25,3; 8,6 ve 5,1 saat olarak saptanmıştır.

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine pH Değerinin Etkisi*

Sulu asidik çözeltilerde, antosiyaninlerin kimyasal yapısında geri dönüşümlü değişimler meydana gelmekte ve bu durum önemli renk farklılıkları ile sonuçlanmaktadır (Jing, 2006). Çünkü antosiyaninlerin iyonik yapısı ortamın pH değerine bağlı olarak değişim göstermektedir. Antosiyaninler asidik ortamlarda yüksek stabilite gösterirken, alkali ortamlarda daha az stabildirler (Jordheim, 2007; Keleş, 2015).

Antosiyaninler farklı pH'larda dört formda ve denge halinde bulunmaktadır. Bunlar kuinidal baz, flavilium kasyonu, psödobaz ya da karbonil ve çalkon formudur (Lapidot ve ark., 1998; Jordheim, 2007). Belirtilen bu farklı yapılar pH değişimi ile birlikte birbirlerine dönüşebilmektedirler (Lapidot ve ark., 1998).

Kuvvetli asidik ortamlarda (pH<2) antosiyaninler flavilium kasyonu formunda bulunmaktadır ve ortamda kırmızı renk hakimdir. pH artışıyla birlikte kırmızı veya mavi renkli kuinoidal formu oluşmaktadır çünkü ortamda hızlı bir proton kaybı meydana gelmektedir (Kırca, 2004). Ortam pH değerinin 4,5'e gelmesiyle birlikte renksiz hemiketal formu öne çıkmaktadır. Eğer pH değeri daha da yükselirse, su molekülleri antosiyanin molekülünün C halkasında bulunan 2. karbon atomuna nükleofilik bir atak yaparak halkanın açılmasına neden olmaktadır (Rein, 2005; Jordheim, 2007). Bu durumda, zarar gören konjuge C halkası rengini kaybetmektedir ve halkanın açılmasıyla karbinol form renksiz çalkon formuna dönüşmektedir (Janeriro ve Brett, 2007; Jordheim, 2007).

Antosiyanin stabilitesi ile ilgili yapılan çalışmalar, bazı antosiyaninlerin pH 8-9 değerlerinde, yoğun renge sahip olmasalar bile, stabilitelelerinin arttığını göstermiştir. Alkali çözeltilerdeki antosiyanin yoğunluğunun pH 10 değeri yakınlarında arttığı fakat hiçbir zaman asidik koşullardaki en yüksek renk yoğunluğuna ulaşmadığı bilinmektedir. Ayrıca, her iki ortamda hue ve  $\lambda_{max}$  renk karakteristiklerinin de farklı olduğu bilinmektedir (Rein, 2005).

Wahyuningsih ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, kırmızı gülden antosiyanin ekstrakte etmiştir. Çalışmada antosiyaninler sırasıyla maserasyon, ekstraksiyon ve ince tabaka kromatografisi (TLC) ile elde edilmiştir. Ekstrakt, başlangıç maserasyon aşamalarından elde edilmiş, daha sonra koyu kırmızı renkli fraksiyonları izole etmek için kromatografiyle birkaç fraksiyona ayrılmıştır. Bileşiğin fonksiyonel grubunun tanımlanmasında ise FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, antosiyaninlerin kırmızı renkte düşük pH değerinde stabil olduğu vurgulanmıştır. Yüksek pH değerinde antosiyaninin mavi renge dönüştüğü ifade

edilmiştir. Başka bir çalışmada ise farklı meyve suları sistem olarak kullanılmış, pH değeri 2, 3, 4, 5 ve 6 olan sıvı örnekler kullanılmış ve tatlı mor patates antosiyaninlerinin en çok pH 3 ve 4'te ve elma ile armut sularında stabil olduğu belirlenmiştir (Jie ve ark., 2012).

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Konsantrasyon Etkisi*

Antosiyanin konsantrasyonunun artışı renk stabilitesinin artışı teşvik eden faktörlerdendir (Giusti ve Wrolstad, 2003). Artan antosiyanin içeriği kendiliğinden birleşme interaksyonu ile renk stabilitesini arttırmaktadır (Skrede ve ark., 1992). Yapılan birçok araştırmada artan antosiyanin miktarı ile renk yoğunluğunun çok fazla artış gösterdiği belirlenmiştir (Skrede ve ark., 1992; Dao ve ark., 1998; Giusti ve Wrolstad, 2003; Rein, 2005).

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Işık Etkisi*

Işık meyvelerdeki kırmızı pigmentler üzerine etkili bir diğer önemli faktördür (Dussi ve ark., 1995; Iversen, 2004). Işık, bitkilerde antosiyanin sentezinde önemli rol oynamaktadır. Ancak bitkisel ürünlerin gerek depolanması gerekse de yeni ürünlere işlenmesi sonucu elde edilen ürünlerin ışığa maruz kalması antosiyaninlerin parçalanma hızlarını arttırmaktadır (Cemeroğlu ve ark., 2004). Işık faktörünün antosiyaninleri iki farklı şekilde etkilediği bilinmektedir. Antosiyanin biyosentezi üzerinde olumlu etkisi olan bu faktör, aynı zamanda degradasyonunu da hızlandırmaktadır. Karanlıkta depolanmaları sürecine renkleri koruyan antosiyaninler, ışıkta depolandıkları takdirde 24 saat içerisinde renklerinde farklılıklar meydana gelmektedir (Rein, 2005).

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Askorbik Asit Etkisi*

Oksidasyon ile mücadele yöntemlerinden biri olan ve gıdanın besin değerini arttıran askorbik asidin, antosiyanin renk stabilitesi üzerine birçok farklı role sahip olduğu düşünülmekte ve askorbik asidin antosiyanin degradasyonunu hızlandırdığı bilinmektedir. Ayrıca, ortamda mevcut olan askorbik asit, polimer pigment oluşumunu arttırmakta ve antosiyanin pigmentlerinde renk kayıplarına neden olmaktadır. Ancak, askorbik asit varlığı antosiyaninleri enzim degradasyonuna karşı korumaktadır (He ve ark., 2010; Nikkhah ve ark., 2010).

Nitekim literatürde birçok çalışmada askorbik asidin antosiyaninlerin kaybını hızlandırdığı gösterilmiştir. Marti ve ark. (2002) nar sularına zenginleştirme amacıyla eklenen askorbik asidin antosiyaninlerin kaybını hızlandırdığını vurgulamıştır. Aynı şekilde, Özkan (2002) hidrojen peroksit eklenen meyve sularında, askorbik asit konsantrasyonunun arttırılmasıyla antosiyaninlerin parçalanma hızında önemli artışlar saptandığını göstermiştir. Çalışmalarda askorbik asidin antosiyaninler için geri dönüşümsüz yıkıma yol açtığı öne sürülmüştür (Farr ve Giusti, 2018). Bu nedenle, gıda endüstrisi için antosiyanin bazı renklendiricilerin, özellikle C vitamini ile takviye edilmiş meyve suları ve içeceklerde kullanılması için bu durum büyük bir engel teşkil etmektedir (Özkan, 2002; Farr ve Giusti, 2018).

Askorbik asidin bu etkisi çilek sularında da ortaya konulmuş (Nikkhah ve ark., 2010) ve araştırmacılar üç farklı çilek çeşidinden ekstrakte ettikleri antosiyanini 3 farklı askorbik asit (%10, %25 ve %50) ve hidrojen peroksit (9,31; 18,61 ve 27,92 mmol/L) konsantrasyonuna maruz

bırakmışlardır. Çalışmada tüm örneklerin absorbans değerinde azalma tespit edilerek, antosiyanine askorbik asidin yıkıcı etkisi olduğu vurgulanmıştır. Çilek suyu ile yapılan diğer çalışmalarda ise (Sondheimer ve Kertesz, 1952; Meschter, 1953; Davidek ve ark., 1990; Turfan ve ark., 2008) araştırmacılar askorbik asidin doğrudan antosiyaninleri parçalamadığını, ancak askorbik asidin parçalanma ürünlerinin antosiyaninleri parçaladığı yer almıştır. Meschter (1953), askorbik asidin parçalanma ürünlerinden dehidroaskorbik asit, furfural ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in antosiyaninleri parçaladığını saptamıştır. Askorbik asidin, bakır veya demirle reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit oluşmaktadır (Davidek ve ark., 1990; Turfan ve ark., 2008).

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Hidrojen Peroksit Etkisi*

Hidrojen peroksitin antosiyaninler üzerine olan olumsuz etkisi ilk kez yukarıda da ifade edildiği gibi Sondheimer and Kertesz (1952) tarafından çilek sularında ortaya konmuştur. Yine belirtildiği gibi çalışmalarda, meyve sularını zenginleştirmek amacıyla askorbik asit ilavesinin antosiyanin stabilitesi üzerine negatif etkisi olduğunu ve bileşiklerin karşılıklı bozulmasına yol açtığını, böylece askorbik asit ilavesinin amacı karşılayamayacağı sonucuna ulaşmışlardır (Nikkhah ve ark., 2010). Dolayısıyla askorbik asidin oksidasyonu sırasında oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in de antosiyaninlerin parçalanmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Marti ve ark., 2002; Turfan ve ark., 2008). Hidrojen peroksit uzun yıllardır gıdalarda, gıda paketleme materyallerinde, aseptik işleme sistemlerinde çeşitli amaçlarla ve en yaygın ambalaj steril bileşeni olarak kullanılmaktadır. Oysa, birçok meyve önemli miktarda antosiyanin içerir ve hidrojen peroksit pigmentlerin ve askorbik asidin degradasyonuna neden olabilmektedir ve istenmeyen renk kayıpları ile sonuçlanabilmektedir (Özkan ve ark., 2004; Nikkhah ve ark., 2010).

#### *Antosiyanin Stabilitesi Üzerine Etkili Olan Diğer Faktörler*

Yapılan çalışmalar, antosiyanin stabilitesinin oksijen, enzim varlığı, proteinler, şeker, metalik iyonlar ve kükürt dioksit gibi özellikler ile de değişime uğradığını göstermektedir (Kırca, 2004; Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos, 2004; Horbowicz ve ark., 2008; Turfan ve ark., 2008; Nikkhah ve ark., 2010).

## **Sonuç**

Renk, meyve ve sebzelerin en önemli duyuşsal karakteristiklerinden biridir. Ancak, antosiyaninlerin vermiş olduğu kırmızı renk stabil değildir ve çeşitli faktörlerin etkisiyle kolaylıkla parçalanabilmektedir. Bu durum meyve ve sebzelerin işlenmesi ve depolanması sırasında problem teşkil etmektedir. Bu nedenle antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörlerin ve etki mekanizmalarının bilinmesi alınacak önlemlerin tespiti açısından büyük önem taşımaktadır.

## **Kaynaklar**

Acar J. 1998. Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri. Gıda Kimyası, Saldamlı, İ. (ed), Hacettepe Üniversitesi Basımevi, Ankara, s. 435-452.

- Aurelio DL, Edgardo RG, Navarro-Galindo S. 2008. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. cv. 'Criollo') infusion. *Int J Food Sci Tech.*, 43, 322-325.
- Brouillard R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Pericles Markakis (ed.), Academic Press Inc., New York, p.1-38.
- Cabrita L, Fossen T, Andersen OM. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem*, 68: 101-107.
- Cai Y, Sun M, Corke H. 1998. Colorant Properties and Stability of *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *J Agric Food Chem*, 46: 4491-4495.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández ML, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chem*, 113 (4): 859-871.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2004. Meyve ve sebzelerin bileşimi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt I, B. Cemeroğlu (ed.), s. 1-188, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cevallos-Casals BA, Cisneros-Zevallos L. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chem*, 86 (1): 69-77.
- Clifford MN. 2000. Review: Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agr*, 80: 1063-1072.
- Dao LT, Takeoka GR, Edwards RH, Berrios JDJ. 1998. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *J Agric Food Chem* 46: 3564-3569.
- Davidek J, Velisek J, Pokorny J. 1990. Chemical changes during food processing. Elsevier, Amsterdam-Oxford-N.Y.-Tokyo, 397-403.
- Drdak M, Daucik P. 1990. Changes of elderberry (*Sambucus nigra*) pigments during the production of pigment concentrates. *Acta aliment*, 19: 3-7.
- Dussi MC, Sugar D, Wrolstad RE. 1995. Characterizing and Quantifying Anthocyanins in Red Pears and the Effect of Light Quality on Fruit Color. *J Amer Soc Hort Sci*, 120(5): 785-789.
- Dyrby M, Westergaard N, Stapelfeldt H. 2001. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chem*, 72(4): 431-437.
- Eiro MJ, Heinonen M. 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *J Agric Chem*, 50: 7461-7466.
- Erbay B. 2011. Karadut Antosiyaninlerinin ısı ve depolama stabilitesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Doktora Tezi, 162s
- Farr JE, Giusti MM. 2018. Investigating the interaction of ascorbic acid with anthocyanins and pyranoanthocyanins. *Molecules*, 23, 744.
- Feng W, Jie-hong D, Xing-he T, Li-hong Z, Hao Z, Qing-ming L. 2008. Research progress on anthocyanins and copigmentation. *Food Science*, 02: 105.
- Figueiredo P, Elhabiri M, Saito N, Brouillard R. 1996. Anthocyanin intramolecular interactions. A new mathematical approach to account for the remarkable colorant properties of the pigments extracted from *matthiola incana*. *J Am Chem Soc*, 118: 4788-4793.
- García-Viguera C, Bridle Influence P. 1999. Influence of structure on colour stability of anthocyanins and flavylum salts with ascorbic acid. *Food Chem*, 64(1): 21-26.
- Garzon G A, Wrolstad RE. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *JFS*, 67(4): 1288-1299.
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem Eng J*, 14: 217-225.
- Harbourne N, Jacquier JC, Morgan DJ, Lyng JG. 2008. Determination of the degradation kinetics of anthocyanins in a model juice system using isothermal and non-isothermal methods. *Food Chem.*, 111(1): 204-208.
- He F, Mu L, Liang GL, Liang NN, Pan, QH, Wang J, Reeves MJ, Duan CQ. 2010. Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. *Molecules*, 15: 9057-9091.
- Horbowicz M, Kosan R, Grzesiuk, A, Debski, H. 2008. Anthocyanins of fruits and vegetables-their occurrence analysis and role in human nutrition. *VCRB*, 68: 5-22.
- Iversen CK. 2004. Black Currant Nectar: Effect of Processing and Storage on Anthocyanin and Ascorbic Acid Content. *Food Chem*, 88: 591-597.
- Janeiro P, Brett AMO. 2007. Redox behavior of anthocyanins present in *Vitis vinifera* L. *Electroanalysis*, 19 (17): 1779-1786.
- Jettanapornsumran M. 2009. Copigmentation reactions of boysenberry juice. a thesis presented in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Technology in Food Technology at Massey University, Albany, New Zealand, p. 87.
- Jie F, Parton KA, Cox RJ. 2012. 'An agile supply chain analysis of Australian beef wholesalers and retailers', *Int. J. Agile Systems and Management*, 5(4): 297-318.
- Jing P. 2006. Purple corn anthocyanins: Chemical structure, chemoprotective activity and structure/function relationships. Dissertation for Degree Doctor of Philosophy the Graduate School of The Ohio State University, The Ohio State University, ABD, p.287.
- Jordheim M. 2007. Isolation, identification and properties of pyranoanthocyanins and anhtocyanin forms. Dissertation for degree of Philosophiae Doctor (PhD). Department of Chemistry, University of Bergen, 108p.
- Keleş Y. 2015. Antosiyanin pigmentlerin biyokimyası ve analizi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8 (1): 19-25.
- Kırca A, Cemeroğlu B. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chem*, 81 (4): 583-587.
- Kırca A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısı stabilitesi. Doktora tezi, Ankara, 123s.
- Kırca A, Özkan M, Cemeroğlu B. 2007. Thermal stability of black carrot anthocyanins in blond orange juice. *J Food Qual*, 26 (5): 361-366.
- Lapidot T, Harel S, Akiri B, Granit R, Kanner J. 1998. pH-Dependent Forms of Red Wine Anthocyanins as Antioxidants. *J Agric Food Chem*, 47: 67-70.
- Matsufuji H, Kido H, Misawa H, Yaguchi J, Otsuki T, Chino M, Takeda M, Yamagata K. 2007. Stability to light, heat, and hydrogen peroxide at different pH values and DPPH radical scavenging activity of acylated anthocyanins from red radish extract. *J Agric Food Chem*, 55: 3692-3701.
- Markovic JMD, Petranovic NA, Baranac JM. 2000. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *J Agric Food Chem*, 48: 5530-5536.
- Marti N, Perez-Vicente A, Garcia-Viguera C. 2002. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *J. Sci. Food Agric*, 82, 217-221.
- Meschter EE. 1953. Effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *J. Arrric. Fd. Chem.* 1: 574.
- Mishra DK, Dolan KD, Yang L. 2008. Confidence intervals for modeling anthocyanin retention in grape pomace during nonisothermal heating. *JFS*, 73: E9-E15.
- Nikkhah E, Khaiamy M, Heidary R, Sorayaie A. 2010. The effect of ascorbic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on the stability of anthocyanin pigments in berries. *Turk J Biol*, 34: 47-53.
- Özkan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chem.*, 78(4), 499-504.

- Özkan M, Kırca A, Cemeroğlu B. 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Food Chem*, 88: 591–597.
- Patras A, Brunton NP, Donnell C, Tiwari BK. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Sci & Tech*, 21: 3-11.
- Prior RL, Wu X. 2006. Anthocyanins: Structural characteristics that in unique metabolic patterns and biological activities. *SFRR-E*, 40 (10): 1014-1028.
- Rein M. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Academic dissertation. Forestry of the University of Helsinki, for public criticism in lecture hall B2, Vikki, on April 8th, Helsinki.
- Reyes LF, Cisneros-Zevallos L. 2007. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chem*, 100(3): 885-894.
- Rhim JW. 2002. Kinetics of thermal degradation of anthocyanin pigment solutions driven from red flower cabbage. *J Food Sci Biotechnol*, 11: 361-364.
- Shipp J, Abdel-Aal ESM. 2010. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *Open Food Sci J*, 4: 7-22.
- Skrede G, Wrolstad RE, Lea P, Enersen G. 1992. Color stability of strawberry and black currant syrups. *J Food Sci*, 57: 172-177.
- Sondheimer E, Kertesz ZI. 1952. The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Food Research*, 17(3), 288–298.
- Torskangerpoll K, Andersen ØM. 2005. Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chem*, 89: 427-440.
- Turfan Ö, Yemiş Ö, Özkan M. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum 63-64.
- Wahyuningsih S, Wulandari L, Wartono MW, Munawaroh H, Ramelan AH. 2017. The effect of pH and color stability of anthocyanin on food colorant. *IOP Conference Series*, 193.
- Wang WD, Xu SY. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J. Food Eng.* 82: 271–275.
- Wilska-Jeszka J, Korzuchowska A. 1996. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation - influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 203 (1), 38-42.
- Yang Z, Han Y, Gu Z, Fan G, Chen Z. 2008. Thermal degradation kinetics of aqueous anthocyanins and visual color of purple corn (*Zea mays* L.) cob. *Innovat Food Sci Emerg Tech* 9(3): 341-347.
- Yoshida K, Mori M, Kondo T. 2009. Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology. *Nat Prod Rep*, 26: 884-915.