



Enzim ön uygulamasının siyah üzüm ve ahududu sularının fiziksel ve kimyasal özellikleri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitesi üzerine etkisi

Effect of enzyme pretreatment on the physical and chemical properties, total phenolic content and total antioxidant capacity of black grape and raspberry juices

Ezgi AYDIN¹, Özge SARIKAYA¹, Gizem ÇATALKAYA², Derya KAHVECİ^{1*}

¹Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

²İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

To cite this article:

Aydın, E., Sarıkaya, Ö., Çatalkaya, G. & Kahveci, D. (2018). Enzim ön uygulamasının siyah üzüm ve ahududu sularının fiziksel ve kimyasal özellikleri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitesi üzerine etkisi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(4): 502-512. DOI: 10.29050/harranziraat.383061

Address for Correspondence:

Derya KAHVECİ

e-mail:

derya.kahveci@yeditepe.edu.tr

Received Date:

24.01.2018

Accepted Date:

12.10.2018

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

ÖZ

Bu çalışmada, enzim ön uygulamasının siyah üzüm (ÜS) ve ahududu sularının (AS) fiziksel ve kimyasal özellikleri, toplam fenolik madde içeriği (TF) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAK) üzerine etkisi incelenmiştir. Meyveler ezilip tülbenkten geçirildikten sonra posaları geri ilave edilmiş, %0.1 (v/w) veya %0.5 (v/w) pektinaz enzimi ilave edilerek 40 ve 50 °C'de 1 saat boyunca inkübe edildikten sonra örneklerin pH, titre edilebilir asitlik (TA), briks ve renk değişimleri ile TF ve TAK belirlenmiştir. ÜS pH'sı artan enzim konsantrasyonu ve sıcaklık ile, AS pH'sı ise artan sıcaklığa bağlı olarak artmıştır. Enzimatik işlem uygulanan AS briksleri kontrol gruplarına göre artış gösterirken ÜS briksleri azalmıştır. Isıl işlem ÜS şeker içeriğinde kontrol grubuna göre artışa neden olmuştur. 40 °C'de ÜS ve AS'nin TF ve TAK değerleri oda sıcaklığına göre önemli bir değişiklik göstermezken, 50 °C'de düşüş göstermiştir. Her iki meyve örneği için 40°C'de %0.5 enzim ilave edildiğinde meyve suyu veriminde maksimum artış elde edilmiştir (ÜS için %17, AS için %4).

Anahtar Kelimeler: Meyve suyu, Enzim ön uygulaması, Üzüm, Ahududu, Antioksidan

ABSTRACT

In this study, the effect of enzyme pretreatment on the physical and chemical properties as well as total phenolic content (TP) and total antioxidant capacity (TAC) of black grape (GJ) and raspberry (RJ) juices were investigated. For this purpose, fruits were crushed and squeezed with a cheesecloth. After that, remaining pulp was added to obtained juice incubated for 1 hour at 40 and 50 °C after adding 0.1% (v/w) or 0.5% (v/w) pectinase enzyme. Titratable acidity, pH, brix, color difference, TP and TAC of the samples was determined. An increase in the temperature increased the pH of the RJ. For GJ, an increase in both temperature and enzyme increased the pH. Brix of the enzymatically treated RJ was increased comparing to control groups, but GJ. Heat application caused an increase in the total sugar content of GJ compared to control group. There was no significant difference on the TP and TAC values of the GJ and RJ treated at 40 °C comparing to control group treated at room temperature. However, a decrease was observed at 50 °C. For both juices, maximum yield increase was obtained when treated at 40°C with 0.5% enzyme concentration (For GJ 17% and for RJ 4%).

Key Words: Juice, Enzyme pretreatment, Grape, Raspberry, Antioxidant

Giriş

Meyve suları ve nektarlarının ülkemizde tüketim oranı, ürün çeşitliğine paralel olarak, her geçen yıl artmaktadır (Benli Tüfekci ve Fenercioğlu, 2010). Siyah üzüm ve ahududu hem besinsel hem de duyuşal özellikleri açısından sıklıkla tüketilen meyveler arasındadır. Her iki meyve de biyoaktif bileşenler bakımından zengindir. Yapılan çeşitli çalışmalar, siyah üzüm ve ahududu meyvelerinin özellikle antosiyaninler olmak üzere, flavanoidler, flavonoidler ve fenolik asitlerce zengin olduklarını göstermektedir (Mullen ve ark., 2002; Yang ve ark., 2009; Baiano ve Terracone, 2011; Burton-Freeman ve ark., 2016). Üzüm suyunun tatlılık ve asitlik oranı yüksek olduğu için genellikle tek başına tüketimi tercih edilmemekte, elma suyu gibi diğer meyve suları ile karıştırılarak tüketime sunulmaktadır (Lieu ve Man Le, 2010). Ahududu ise raf ömrünün kısa olmasından dolayı genellikle dondurma, meyve suyuna işleme gibi yöntemlerle muhafaza edilmekte (Sójka ve ark., 2016), ayrıca renk ve aroma vermek amacıyla diğer meyve suları veya içecekler ile karıştırılmaktadır (Withy ve ark., 1993).

Epidemiyolojik çalışmalar yüksek miktarda fenolik maddelerce zengin meyve ve sebze tüketiminin koroner kalp hastalıkları ve kanser gibi hastalık risklerinin daha düşük oranda görülmesi ile ilişkili olduğunu belirtmektedir. Kırmızı ve koyu renkli meyveler, özellikle antosiyaninler olmak üzere yüksek miktarda fenolik maddeler içermektedirler. Literatürde bu doğal pigmentlerin antioksidan, anti-enflamatuar, anti-karsinogenik aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Weisel ve ark., 2006). Kronik hastalık riskini azaltmada meyve ve sebze suyu tüketiminin, taze meyve ve sebze tüketimi kadar etkili olabileceğini bildirmiştir (Ruxton ve ark., 2006). Fakat bahsedilen fenolik bileşikler bitkinin hücre duvarı matrisi içerisinde tutulmuş durumdadır. Konvansiyonel meyve suyu üretimi ile yalnızca erişilebilir ve zayıf bağlanmış fenolik maddeler meyveden ekstrakte edilebilmektedir (Le

Bourvellec ve ark., 2005). Ekstraksiyon koşullarında sıcaklık, partikül büyüklüğü, enzimatik önışlem, çözgen:kati madde oranı ya da çözgen kompozisyonu gibi değişkenler, fenolik maddelerin meyveden salınımını etkilemektedir (Cacace ve Mazza, 2003). Adı geçen yöntemlerin arasında hücre duvarı yıkıcı enzimlerin kullanılması, meyve dokusundan fenolik maddelerin ayrılmasını geliştiren etkin yöntemlerden biridir. Bu da hidrojen ya da hidrofobik bağlanma ile fenolikleri polisakkarit-lignin ağında tutan polisakkaritlerin hidrolitik degradasyonu ile gerçekleşmektedir (Bagger-Jørgensen ve Meyer, 2004).

Meyve suyu endüstrisinde hücre duvarı yıkıcı olarak en çok kullanılan enzimler pektinazlardır. Pektinazlar, bitkilerin orta lamelinde ve hücre duvarında yapısal polisakkaritler olarak bulunan pektik bileşikler üzerine etki ederler. Bu yolla, daha kısa işleme süresinde daha yüksek verim ile yüksek kalitede aromatik meyve suları elde edilebilmekte ve atık posa miktarı azaltılabilmektedir (Sarioğlu ve ark., 2001). Meyve suyu üretimi sırasında mekanik parçalamadan sonra oluşan meyve püresi, parçalama etkisi ile açığa çıkan pektinden dolayı oldukça yüksek vizkozitededir ve bu da meyve suyunu direk sıkma işleminde çıkarmayı oldukça zorlaştırmaktadır (Landbo ve Meyer, 2004). Bu nedenle meyve suyu üretiminde pektolitik enzim kullanımı önkoşul haline gelmiştir. Pektolitik enzimler tarafından çözünür pektinin hidrolizi ve pulpun hücre duvarının zayıflatılması ile meyve suyunun viskozitesi azalmakta, böylece meyve suyu salımı kolaylaşmakta ve sıkma işlemi herhangi bir yardımcı madde gerektirmeden kolaylaşmaktadır (Mutlu ve ark., 1999; Mojsov ve ark., 2011). Yapılan çalışmalar, meyve suyu üretiminde pektolitik enzim ile ön işlem uygulamasının meyve suyunun duyuşal özelliklerini iyileştirdiğini ve daha fazla renk maddesinin ekstrakte edildiğini göstermiştir (Buchert ve ark., 2005; Koponen ve ark., 2008).

Bu çalışmanın amacı, siyah üzüm ve ahududu meyve suyu üretiminde enzimatik önışlem uygulamasının meyve suyu verimi, renk

ekstraksiyonu, siyah üzüm ve ahududu sularının fizikokimyasal özellikleri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitesi üzerine etkilerini incelemektir.

Materyal ve Metot

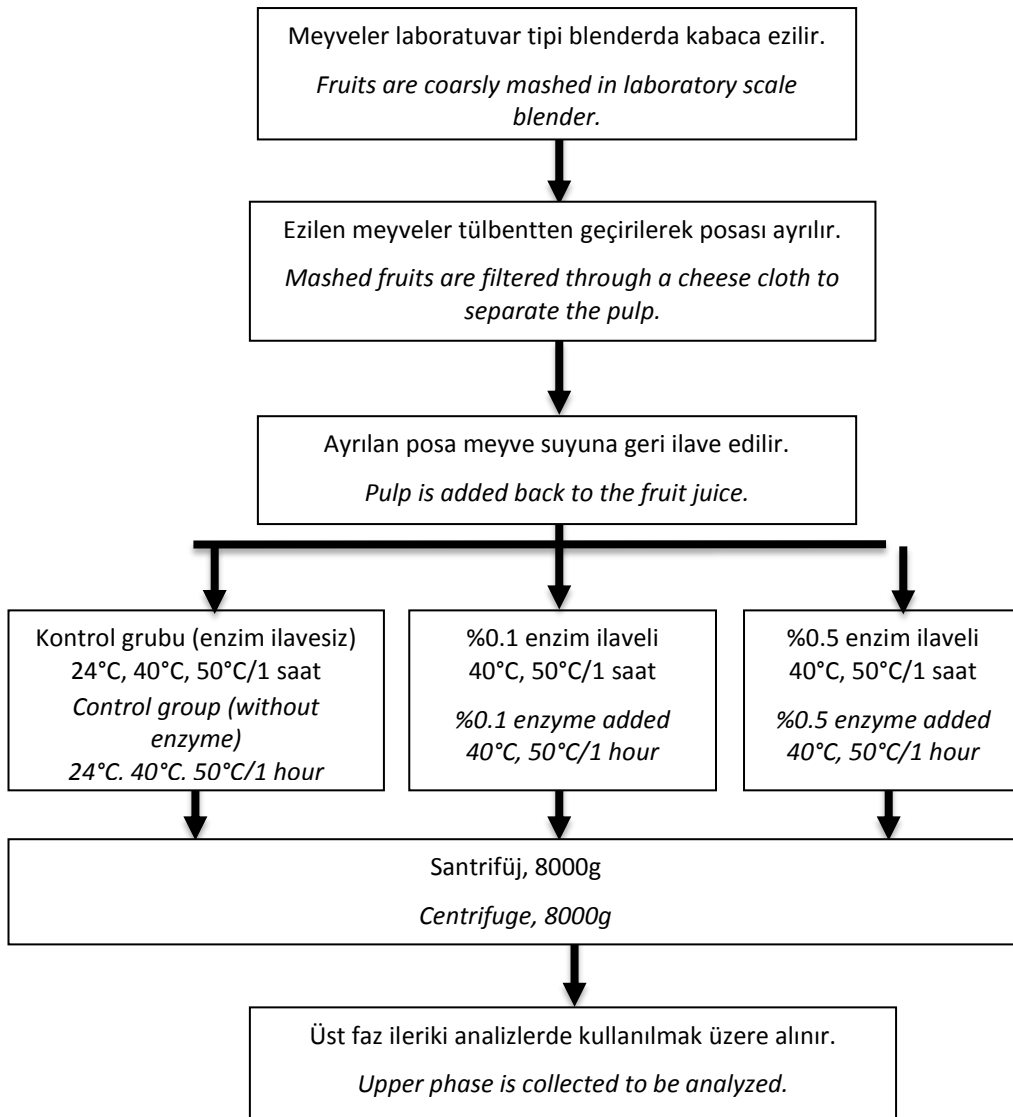
Materyal

Çalışmada kullanılan ahududu ve siyah üzüm yerel marketten temin edilerek içerisindeki çürük ve deforme meyveler ayıklanmış, analiz edilene kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Pektolitik enzim Pectinex Ultra SP-L Novozymes (Baegsverd, Danimarka) firması tarafından temin edilmiştir. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radikali (DPPH), Folin reaktantı, sodyum karbonat (Na₂CO₃), sodyum hidroksit (NaOH) ve metanol Sigma-Aldrich'ten, fenol (C₆H₆O) ve sülfürik asit (H₂SO₄)

Riedel-de Haën'den temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Yeditepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir.

Meyve sularının hazırlanması

Meyve sularının hazırlanması işlemi Şekil 1'de görüldüğü gibidir. Kısaca, ahududu ve siyah üzümler laboratuvar tipi mikserde (Waring) kabaca öğütüldükten sonra tülbentten süzülerek posa ve meyve suyu birbirinden ayrılmış, elde edilen meyve suyu miktarı tespit edildikten sonra enzim ilave edilmek üzere, ayrılan posa ile meyve suyu tekrar karıştırılmıştır. Analizlerde kullanılacak örnekler -20 °C'de, artan örnekler ise daha sonra kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Meyve sularının hazırlanmasına ait akım şeması
Figure 1. Flowchart of juice preparation

Elde edilen meyve suyu ve posa karışımı %0.1 (v/w) ve %0.5 (v/w) olmak üzere iki farklı düzeyde pektolitik enzim ilave edilerek sıcaklık ayarlı çalkalamalı su banyosu (Gyromax 929) içerisinde iki farklı sıcaklıkta (40 °C ve 50 °C) 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. 24 °C, 40 °C ve 50 °C'de muamele edilen enzim ilavesiz posa içeren meyve suyu örnekleri ise kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Enzimatik reaksiyon süresi sonunda örnekler 100 °C'deki suda 2 dakika bekletildikten sonra soğuk suda soğutulularak enzim inaktivasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnekler 8000 g hızda 10 dakika boyunca santrifüj (Sigma 3-30K) edildikten sonra enzim ve katı parçacıklarından ayrılan sıvı üst faz alınarak sonraki analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Fiziksel ve kimyasal analizler

Örneklerde suda çözünen kuru madde miktarı Bellingham Stanley refraktometre, pH değeri MeterLab pHmetre kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin asitliği titrimetrik metod ile (Nielsen, 2010), toplam şeker içeriği ise fenol-sülfürik asit metodu (Nielsen, 2010) ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Örneklerin renk yoğunluğu ise Konica Minolta CM5 kolorimetresi ile ölçülmüştür. Bu amaçla, 1:1 oranda su ile seyreltilen örnekler kolorimetrik olarak L*, a* ve b* değerleri ölçülmüştür ve toplam renk farklılığı aşağıdaki denklem ile bulunmuştur (Lee ve Coates, 2002):

$$\Delta E^* (\sqrt{(L_{kontrol} - L)^2 + (a_{kontrol} - a)^2 + (b_{kontrol} - b)^2}) \quad (1)$$

Ahududu ve siyah üzüm sularının toplam antioksidan kapasitesi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yöntemi ile belirlenmiştir (Kumaran ve Joel Karanukaran, 2006). Kısaca, 100 µl örneğe 2 ml 0.1 mM DPPH çözeltisi ilave edilip, vorteks ile karıştırıldıktan sonra örnekler 30 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. 30 dakikanın sonunda 517 nm dalga boyunda örneklerin absorbansları okunmuştur. Standart olarak 0.01-0.1 mg ml⁻¹ konsantrasyon aralığında troloks çözeltisi hazırlanmıştır. Örneklerin toplam

antioksidan kapasitesi mM troloks eşdeğeri 100 ml⁻¹ örnek şeklinde ifade edilmiştir.

Ahududu ve siyah üzüm sularının toplam fenolik madde içeriği ise Folin-Ciocalteu metoduna göre tespit edilmiştir (Spanos ve Wrolstad, 1990). Bunun için, öncelikle 100 µl örneğe 100 µl distile su eklendikten sonra 5 ml %10'luk Folin çözeltisi (v/v) ilave edilmiştir. Üç dakika sonra 4 ml %7.5 (w/v) Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilerek elde edilen karışım reaksiyonun gerçekleşmesi için 2 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin absorbansları 765 nm dalga boyunda okunmuştur. Standart olarak 0.01-0.1 mg ml⁻¹ konsantrasyon aralığında gallik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Örneklerin toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit eşdeğeri 100 ml⁻¹ örnek şeklinde ifade edilmiştir.

İstatistiksel analiz

Analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Tüm veriler %95 güven aralığında varyans analizi ile istatistiksel olarak incelenmiş ve ortalamalar arası önemli farklılıklar IBM SPSS 19 yazılımı kullanılarak Tukey testi ile belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Enzim ve ısı işlem uygulanmamış siyah üzüm ve ahududu sularının karakterizasyonu

Yapılan analizlere göre üzüm ve ahududu sularının başlangıç özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatürle kıyaslanabilir özelliktedir. Buna göre yapılan bazı çalışmalarda üzüm suları için briks değeri 23, toplam şeker içeriği 138.9-229 g glukoz l⁻¹, pH değeri 3.78, yüzde titre edilebilir asitlik değeri %0.43, renk farklılığı ise 1.42 olarak ifade edilmiştir (Rihm ve ark., 1989; Orak, 2007; Tiwari, 2010; Arpa ve Cabaroğlu, 2017). Ahududu suları için ise bahsedilen parametreler şu şekilde bildirilmiştir; briks değeri 7-13.2, toplam şeker içeriği 18-106 g glukoz l⁻¹, pH değeri 3.1-3.3, yüzde titre edilebilir asitlik değeri %1.65, renk farklılığı 56 (Boyles ve Wrolstadt, 1993; Viljakainen ve ark., 2002; Vazquez-Araujo ve ark., 2010; Anekelle ve

Orsat, 2013). Çalışmada kullanılan hammaddelerin briks, toplam şeker içeriği ve pH değerleri daha önce literatürde yayınlanmış çalışmalarda bulunan değerlere yakın veya verilen aralıklar içerisinde bulunduğu halde, yüzde titre edilebilir asitlik ve toplam renk farklılıkları kıyaslandığında önceki bulgulara göre yüksek değerler elde edilmiştir. Bu farklılığın nedeni kullanılan hammaddenin varyetesi, yetiştirilme koşulları veya hasat zamanından kaynaklanıyor olabilir.

Çizelge 1. Enzimatik işlem uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının özellikleri. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (n=3)

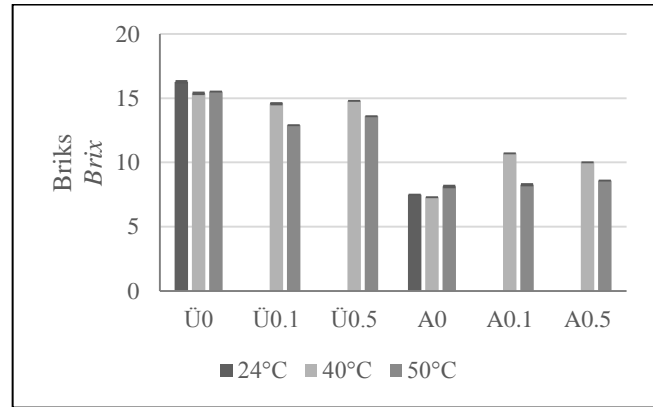
Table 1. Properties of the enzymatically untreated grape and raspberry juices. Results were expressed as mean±standard (n=3)

	Siyah üzüm suyu Black grape juice	Ahududu suyu Raspberry juice
Briks Brix	16.3±0.06	7.5±0.00
Toplam şeker, glukoz l ⁻¹ Total sugar, glucose l ⁻¹	138±3.93	61.6±9.66
pH	3.6±0.01	3.1±0.01
Titre edilebilir asitlik, % Titratable acidity, %	4.5±0.77	14.5±0.00
Toplam renk farklılığı Total colour difference	76.1±0.44	98.4±3.08

Farklı sıcaklıklarda enzim uygulamasının siyah üzüm ve ahududu sularının fizikokimyasal özellikleri ve meyve suyu verimine etkisi

Siyah üzüm ve ahududu örneklerine farklı sıcaklıklarda uygulanan enzimatik ön işlem, örneklerin suda çözünen kuru madde içeriğini önemli derecede etkilemiştir. Her iki meyve için briks değerleri Şekil 2'de verilmiştir. Varyans analizine göre, ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametrelerinin ve iki yöllü enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin her iki meyve tipine ait briks değerleri üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu (p<0.05) belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, enzim ilavesi ve sıcaklık uygulamasının ahududu suyunun briks değerlerinde kontrol grubuna göre artışa neden olduğunu göstermiştir ve briks değeri en çok 40°C sıcaklıkta %0.1 (v/w) düzeyinde enzim uygulaması yapıldığında %42.7 oranında artmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalar ile benzerlik

göstermektedir. Chang ve ark. (1995) enzim ve sıcaklık etkisiyle daha fazla doku parçalanması sonucu suda çözünen kuru maddede artışa neden olan bileşenlerin açığa çıktığını bildirmiştir. Dolayısıyla, bu durum ahududu suyunun briks değerinin artması ile ilişkili olabilir. Üzüm suyunda enzim ilavesi ve sıcaklık uygulaması, ahududu örneğine kıyasla aksi bir etki göstererek, briks değerinin kontrol grubuna göre daha düşük bir değere sahip olmasına neden olmuştur. Buna bağlı olarak, 50°C sıcaklıkta %0.1 (v/w) oranında enzim ilavesi yapıldığında briks değerinde en fazla %21 oranında azalma olduğu görülmüştür. Ekstraksiyonda açığa çıkan suda çözünebilir kurumadde artarken meyve suyunun da artması üzüm suyunun briks değerinde düşüşe neden olmuş olabilir.



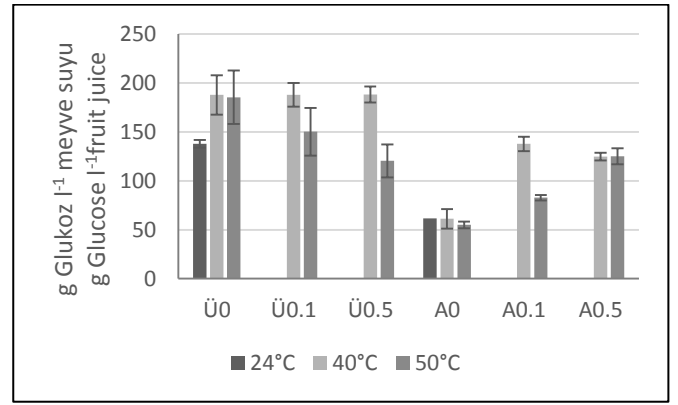
Şekil 2. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının briks değerleri (Ü0: enzim ilavesiz üzüm suyu, Ü0.1: %0.1 enzim ilaveli üzüm suyu, Ü0.5: %0.5 enzim ilaveli üzüm suyu, A0: enzim ilavesiz ahududu suyu, A0.1: %0.1 enzim ilaveli ahududu suyu, A0.5: %0.5 enzim ilaveli ahududu suyu) (n=3)

Figure 2. Brix values of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices (Ü0: grape juice without enzyme, Ü0.1: 0.1% enzyme added grape juice, Ü0.5: 0.5% enzyme added grape juice, A0: raspberry juice without enzyme, A0.1: 0.1 % enzyme added raspberry juice, A0.5: 0.5% enzyme added raspberry juice) (n=3)

Farklı sıcaklıklarda enzimatik ön işlem görmüş örneklerin ve kontrol grubunun toplam şeker miktarları Şekil 3'te verilmiştir. Enzim ve sıcaklık uygulaması istatistiki olarak değerlendirildiğinde, ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametrelerinin ve iki yöllü enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin her iki meyve suyu için de toplam şeker içeriği

üzerine önemli bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Üzüm suyuna sıcaklık uygulandığında, kontrol grubuna göre toplam şeker miktarında artış olduğu görülmüştür. Aynı zamanda 50°C 'de uygulanan ön işlem sırasında enzim konsantrasyonu arttıkça toplam şeker içeriğinde %35 azalma olduğu belirlenmiştir. Ahududu suyunda ise 50°C 'de enzim konsantrasyonu arttıkça meyve suyunun şeker içeriği de artış göstermiş ve %0.5 (v/w) enzim ilavesi yapıldığında, enzim ilave edilmeyen gruba göre %127 artış olduğu saptanmıştır. Fakat 40°C 'de %0.1 (v/w) enzim ilave edildiğinde şeker içeriği artarken, enzim konsantrasyonu %0.5 (v/w)'e yükseltildiğinde şeker içeriğinde düşüş tespit edilmiştir. Benzer şekilde Chang ve ark. (1995) de eklenen pektinaz konsantrasyonu %0.2 (v/w)'yi geçtikten sonra mürdüm eriği suyunun sükröz içeriğinin düştüğünü raporlamıştır.

Sıcaklık ve enzim uygulamasının üzüm ve ahududu sularının pH'sı üzerine etkisi incelenmiştir. Her iki meyve için pH değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde, ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametrelerinin ve iki yollu enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin üzüm sularının pH'sına önemli derecede etki ettiği gözlenmiştir ($p < 0.001$). Üzüm suyu örneklerine sıcaklık uygulaması sonucunda, örneklerin pH'sında kontrol grubuna göre artış olduğu bulunmuştur. Diğer yandan enzim konsantrasyonu arttıkça benzer şekilde üzüm suyu pH'sında artış olduğu gözlenmiştir. Ahududu suyu için ise sıcaklık meyve suyu pH'sına önemli derecede etki ederken ($p = 0.00$), enzim miktarı ve iki yollu enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin önemli bir etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir ($p > 0.05$). Buna göre, ahududu suyu üretiminde sıcaklık arttıkça meyve suyu pH'sında artış olduğu tespit edilmiştir. Yang ve Choong (2001) çeşitli meyveler içerisinde bulunan uçucu organik asit kompozisyonunu ve miktarını belirlemiştir. Buna göre, üzüm ve ahududu sularına enzimatik ön işlem uygulanması sırasında meyve suyundaki uçucu organik asitlerin sıcaklık etkisiyle ortamdan ayrılması pH artışına neden olmuş olabilir.



Şekil 3. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının toplam şeker içeriği (Kısaltmalar Şekil 2'de verilmiştir) (n=3)

Figure 3. Total sugar content of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices (Abbreviations were given in Figure 2) (n=3)

Çizelge 2. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının pH değerleri. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (Kısaltmalar Şekil 2'de verilmiştir) (n=3)

Table 2. pH of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices. Results were expressed as mean±standard deviation (Abbreviations were given in Figure 2) (n=3)

	24°C	40°C	50°C
Ü0	3.6±0.01	3.5±0.01	3.6±0.01
Ü0.1		4.0±0.00	3.8±0.01
Ü0.5		4.0±0.01	3.9±0.01
A0	3.1±0.01	3.1±0.02	3.2±0.02
A0.1		3.1±0.01	3.2±0.03
A0.5		3.1±0.01	3.2±0.01

Enzimatik ön işlem ve sıcaklık uygulamasının yüzde titre edilebilir asitlik üzerine etkisi ise şu şekildedir (Çizelge 3): Ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametreleri ile iki yollu enzim miktarı×sıcaklık etkileşimi üzüm suyunun titre edilebilir asitliği üzerine önemli bir etki göstermiştir (her biri için $P = 0.00$). Ahududu suyu için ise ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametreleri meyve suyunun titre edilebilir asitliğine önemli derecede etki ederken ($p < 0.05$), iki yollu enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin önemli bir etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir ($p > 0.05$). Elde edilen verilere göre, ahududu suyu için sıcaklık ve enzim konsantrasyonu arttıkça yüzde titre edilebilir asitlikte de kontrol grubuna göre artış meydana gelmiştir. Gözlenen bu artışın sebebi ahududu içerisindeki pektik bileşenlerin

pektolitik enzimler tarafından pektik asit ve/veya galakturonik aside dönüştürülmesinden kaynaklanmış olabilir. Benzer şekilde, Stadtman ve ark. (1977) soğuk işlenmiş domates sularında yüksek pektolitik enzim aktivitesine bağlı olarak titre edilebilir asitlikte artış olduğunu göstermiştir. Üzüm suyu için ise enzim eklendiğinde, enzimsiz işlem görenlere göre yüzde titre edilebilir asitlikte düşüş gözlenmiştir. Moris ve ark. (1980), gübrelemeye işlemi uygulanmış kırmızı üzümde biriken potasyumun meyve suyuna işleme sırasında potasyum tartarata dönüştüğünü ve üzüm suyunun asitliğinde değişime neden olduğunu belirtmiştir. Dolayısıyla, çalışma sırasında kullanılan üzümün varyetesi ve yetiştirilme koşullarına bağlı olarak işlem sırasında titre edilebilir asitliği artmış olabilir.

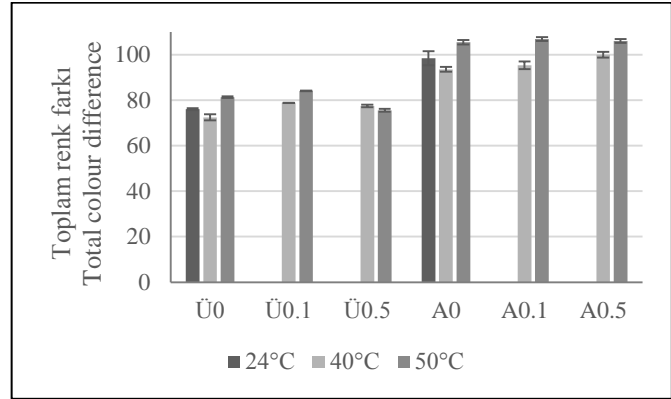
Çizelge 3. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının % titre edilebilir asitlik değerleri. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir (Kısaltmalar Şekil 2’de verilmiştir) (n=3)

Table 3. Titratable acidity (%) of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices. Results were expressed as mean±standard deviation (Abbreviations were given in Figure 2) (n=3)

	24°C	40°C	50°C
Ü0	4.5±0.77	2.8±0.31	6.0±0.31
Ü0.1		3.1±0.09	3.6±0.15
Ü0.5		3.3±0.23	3.9±0.23
A0	14±0.00	16±0.22	15±0.15
A0.1		16±0.74	16±0.07
A0.5		16±0.13	17±0.52

Renk, tüketici tercihini belirleyen en önemli faktörlerden birisidir. Antosiyaninler üzüm ve ahududunun kendilerine has renklerini veren antioksidan özellikteki fenolik bileşiklerdir. Antosiyanince zengin meyve ve sebzelere ısı uygulanması ve bu gıdalardaki polifenol oksidaz enzimi aktivitesi, antosiyanin stabilitesini olumsuz etkilemektedir (Patras ve ark., 2010). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre (Şekil 4), her iki meyve suyu için de ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametrelerinin ve iki yollu enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin renk yoğunluğu

üzerine önemli bir etkide bulunduğu görülmüştür ($p<0.05$). En yüksek toplam renk farkı hem üzüm hem ahududu suyu için 50 °C’de %0.1 (v/w) enzim ilave edildiğinde elde edilmiştir (üzüm suyu için 84, ahududu suyu için 107). Maier ve ark. (2009), antosiyaninlerin pektik bileşikler tarafından stabilize edildiğini bildirmiştir. Buradan yola çıkarak, düşük miktarda enzim ilavesi ile meyve suyu içerisindeki pektinin bir kısmının hala ortamda bulunması ve kontrol grubuna göre yüksek sıcaklık uygulamasıyla meyve ve sebzelerde renk açılmasından sorumlu polifenol oksidaz enziminin inaktivasyonu sayesinde 50 °C’de %0.1 (v/w) enzim ilave edildiği koşullarda renk stabilizasyonunu sağlamış olabilir.



Şekil 4. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının toplam renk farkı (Kısaltmalar Şekil 2’de verilmiştir) (n=3)

Figure 4. Total colour difference of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices (Abbreviations were given in Figure 2) (n=3)

Meyve suyu verimi, meyve suyu endüstrisinde önemli parametrelerden birisidir. Özellikle pahalı ve çok miktarda bulunmayan meyvelerden meyve suyu üretiminde yüksek verim elde etmek en önemli hedeflerden biridir. Bu çalışmada meyve suyuna farklı sıcaklıklarda %0.1 (v/w) ve %0.5 (v/w) oranında pektinaz enzimi eklenerek verimin nasıl değiştiği araştırılmıştır. Her iki meyve suyu için de verimde maksimum artış 40 °C’de %0.5 (v/w) enzim ilave edildiğinde gözlenmiştir (Çizelge 4). Kullanılan pektinaz enziminin optimum çalışma sıcaklığı 35 °C’dir. 40 °C’de enzimatik işleme tabi tutulan meyve sularının veriminin diğer gruplara göre daha yüksek çıkmasının nedeni, enzim aktivitesinin daha yüksek olmasına bağlanabilir. Elde edilen sonuçlara göre maksimum verim artış

oranı üzüm suyu için %17, ahududu suyu içinse %4 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının verimi

Table 4. Yield of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices

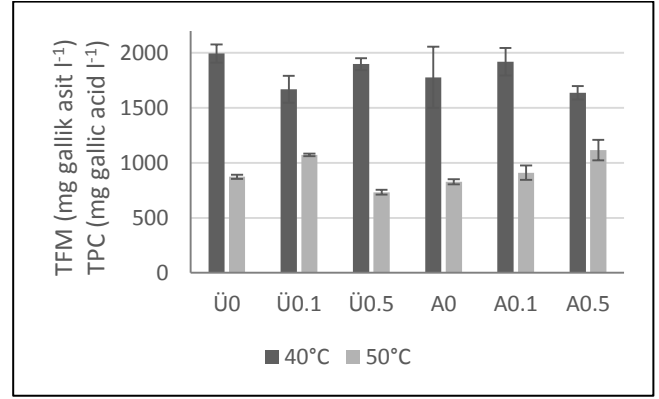
Sıcaklık Temperature	24 °C		40°C		50°C		
Enzim konsantrasyonu Enzyme concentration	%0	%0	%0.1	%0.5	%0	%0.1	%0.5
Üzüm suyu verimi, % Grape juice yield, %	51	51	64	68	50	52,5	53
Ahududu suyu verimi, % Raspberry juice yield, %	60	59	63	64	53	54	46

Farklı sıcaklıklarda enzim uygulamasının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi

40 ve 50 °C'de enzim ilaveli ve ilavesiz üzüm ve ahududu sularının toplam fenolik madde içeriği Şekil 5'te verilmiştir. Buna göre, enzim ilavesi ve ısıl işlem görmüş üzüm sularının toplam fenolik madde içeriği 1637-1994 mg gallik asit eşdeğeri l⁻¹ arasında değişim göstermektedir. Benzer şekilde, Burin ve ark. (2010) ait farklı özelliklerdeki üzüm sularının karakterizasyonu ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili bir çalışmada incelenen meyve sularının toplam fenolik madde içeriği 235-3433 mg gallik asit eşdeğeri l⁻¹ olarak verilmiştir. Bununla birlikte, ahududu sularının toplam fenolik madde içeriğinin 828-1918 mg gallik asit eşdeğeri l⁻¹ arasında olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Jakobek ve ark. (2007) de ahududu suyunun toplam fenolik madde içeriğini 1234 mg gallik asit eşdeğeri l⁻¹ olarak bildirmiştir.

Varyans analizine göre üzüm suyu örnekleri için ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametrelerinin ve iki yönlü enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin toplam fenolik madde içeriği üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu (p<0.05) belirlenmiştir. Ahududu suyu örnekleri için ise enzim miktarı toplam fenolik madde içeriği üzerine önemli bir etkide bulunmazken (p>0.05), sıcaklık ve iki yönlü

enzim miktarı×sıcaklık etkileşiminin önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 5. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının toplam fenolik madde içeriği (Kısaltmalar Şekil 2'de verilmiştir) (n=3)

Figure 5. Total phenolic content of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices (Abbreviations were given in Figure 2) (n=3)

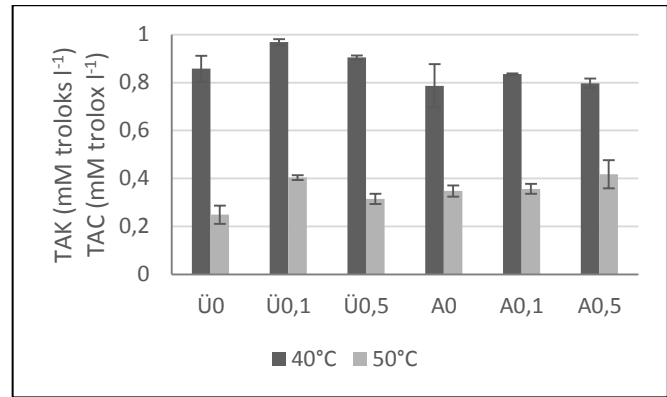
Sıcaklık 40°C'den 50°C'ye yükseldiğinde toplam fenolik madde içeriğinde üzüm suyu için %36-61, ahududu suyu için ise %32-53 düşüş olduğu görülmektedir. Patras ve ark. (2010), meyve ve sebzelerde bulunan antosiyaninlerin ısıya karşı duyarlı olduğunu ve sıcaklık uygulaması ile bu bileşenlerde kayıplar olduğunu belirtmiştir. Üzüm ve ahududu da antosiyanince zengin meyvelerden olduğundan, sıcaklık artışı ile meyve suyu içerisinde bulunan antosiyaninlerde kayıp yaşanmış ve bu da toplam fenolik madde içeriğinde düşüşe sebep olmuş olabilir. Literatürde meyve-sebze işleme uygulamalarının fenolik maddeler üzerindeki etkilerini araştıran çok sayıda çalışma bulunmakla beraber, birbiriyle çelişen sonuçlara sıkça rastlanmaktadır. Sıcaklık uygulamasının toplam fenolik madde miktarında kayba sebep olması beklenir; örneğin Crozier ve ark. (1997) soğan ve domateslerde çeşitli ısıl işlemlerin kuersetin miktarında %30 ile %80 arasında düşüşe sebep olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde, çilekte aynı fenolik maddenin ısıl işleme bağlı olarak kaybı %40 olarak bulunmuştur (Hartmann ve ark., 2008). Diğer taraftan Odriozola-Serrano ve ark. (2008), çilek suyunun kuersetin miktarının pastörizasyon uygulamasından etkilenmediğini belirtmişlerdir. Biber, bezelye ve brokolinin pişirme sonucunda antioksidan aktivitesindeki değişimleri inceleyen

bir çalışmada, bu değişimin sebze türünden çok pişirme metoduna bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (Turkmen ve ark., 2005). Üründe fenolik madde miktarının ısı işlem sonrasında arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin elma suyuna 40-70 °C aralığında uygulanan ısı işlemle flavonoid miktarında %50 artış olduğu, bunun da ısı işlemin flavonoid ekstraksiyonu verimini artırmasından kaynaklandığını rapor edilmiştir (Gerard ve Roberts, 2004). Toplam fenolik madde miktarına ısı işlemle beraber meyve-sebze cinsinin, yetiştirilme koşullarının, meyvenin büyüklüğünün ya da olgunluk düzeyinin ve meyve-sebzeye uygulanan diğer işlemlerin de etki ettiği bilinmektedir (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2009). Dolayısıyla mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar, üzüm ve ahududu meyve sularında bulunan fenolik maddelerin ısı işlemle olumsuz etkilendiklerini göstermektedir.

40 ve 50 °C'de enzim ilaveli ve ilavesiz üzüm ve ahududu suyu örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi ise Şekil 6'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde milimolar troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan aktivitesinin 0.25 ile 0.97 arasında değiştiği görülmüştür. Daha önce yapılan bir çalışmada da benzer şekilde farklı üzüm sularının antioksidan aktivitelerinin 2.51 ile 11.1 arasında değiştiği bildirilmiştir (Burin ve ark., 2010). Ahududu sularının antioksidan kapasitesinin ise 0.35 ile 0.83 mM troloks eşdeğeri/L arasında değiştiği gözlenmiştir. Fakat Jokabek ve ark. (2007) çalışmasında ahududu suyunun antioksidan kapasitesi 8.20 mM troloks eşdeğeri l⁻¹ olarak bildirilmiştir. Aradaki bu on kat fark uygulanan farklı sıcaklık ve enzimatik ön işlemin etkisinden kaynaklanmış olabilir.

Varyans analizi ile üzüm suları için, ayrı ayrı enzim miktarı ve sıcaklık parametrelerinin DPPH radikal süpürme aktivitesi üzerine önemli bir etkide bulunduğu belirlenmiştir (p<0.05). Buna karşın, iki yönlü enzim miktarı x sıcaklık etkileşiminin toplam antioksidan kapasitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür (p>0.05). Ahududu suyu için ise, sıcaklık değişiminin toplam antioksidan kapasitesi

üzerine önemli bir etkide bulunduğu (p<0.05), enzim miktarının ise istatistiki olarak önemli bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir (p>0.05). Şekil 5 ve 6'da görüldüğü gibi toplam antioksidan kapasitesi toplam fenolik madde içeriği ile benzer şekilde sıcaklık 40°C'den 50°C'ye yükseldiğinde düşüş göstermiştir. Buna göre sıcaklık artışı ile birlikte üzüm ve ahududu sularının troloks eşdeğeri cinsinden toplam antioksidan kapasitesinde üzüm suyu için %58-71, ahududu suyu için %48-57 düşüş olduğu saptanmıştır. Ayrıca, üzüm suyu örneklerinde enzim ilavesi ile toplam antioksidan kapasitesinde enzim ilavesi yapılmayan kontrol grubuna göre artış olduğu görülmüştür. Fakat Capanoğlu ve ark. (2013) yaptığı çalışmaya göre, berraklaştırma aşamasından sonra üzüm suyunun DPPH radikal süpürme aktivitesinde %25 oranında bir düşüş görülmüştür. Bu tezatlığın nedeni, yapılan çalışmada bu çalışmadan farklı olarak berraklaştırma aşamasında santrifüj, amilaz ilavesi gibi farklı aşamaların da bulunması olabilir.



Şekil 6. Enzimatik işlem uygulanmış ve uygulanmamış üzüm ve ahududu sularının toplam antioksidan kapasitesi (Kısaltmalar Şekil 2'de verilmiştir.) (n=3)

Figure 6. Total antioxidant capacity of the enzymatically treated and untreated grape and raspberry juices (Abbreviations were given in Figure 2) (n=3)

Sonuçlar

Siyah üzüm ve ahudududan elde edilen meyve sularına pektolitik enzimler ile ön işlem uygulandığında, eklenen enzim miktarı (%0.1 ve %0.5) ve enzimatik reaksiyon sıcaklığının (40 ve 50 °C) elde edilen son ürünün verimine, antioksidan özelliklerine ve kalite özelliklerine önemli bir etkisi bulunduğu görülmüştür. Bu nedenle, meyve suyu

üretiminde enzimatik ön işlem uygulamasının verime olan etkisinin yanında ürünün diğer özelliklerine olan etkilerinin göz önüne alınması ve tüketici tarafından kabul edilebilir özellikte son ürün elde etmek için bu parametrelerin optimizasyonunun yapılması gerekmektedir.

Ekler

Çalışma sonuçları 5-7 Ekim 2016 tarihlerinde Edirne’de düzenlenen Türkiye 12. Gıda Kongresi’nde aynı yazarlara ait “Enzim uygulamasının siyah üzüm ve ahududu sularının kimyasal özellikleri, toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitesi üzerine etkisi” başlıklı poster bildiri ile sunulmuştur.

Kaynaklar

Anakelle, K., & Orsat, V. (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 17-24.

Arpa, T.E., & Cabaroğlu, T. (2017). Elazığ yöresinde yetiştirilen kösetevik üzüm çeşidinin kırmızı şarap üretimine uygunluk durumunun belirlenmesi. *Gıda*, 42(3), 235-241.

Bagger-Jørgensen, R., & Meyer, A.S. (2004). Effects of different enzymatic pre-press maceration treatments on the release of phenols into blackcurrant juice. *European Food Research and Technology*, 219, 620-629.

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

Benli Tüfekci, H., & Fenercioğlu, H. (2010). Türkiye ’de üretilen bazı ticari meyve sularının kimyasal özellikler açısından gıda mevzuatına uygunluğu. *Akademik Gıda*, 8(2), 11-17.

Boyles, M.J., & Wrolstadt, R.E. (1993). Anthocyanin composition of red raspberry juice: influences of cultivar, processing, and environmental factors. *Journal Food Science*, 58(5), 1135-1141.

Buchert, J., Koponen, J.M., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Törrönen, R., & Poutanen, K. (2005). Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2548-2556.

Burin, V.M., Falcao, L.D., Gonzaga, L.V., Fett, R., Rosier, J.P., & Bordignon-Luiz, M.T. (2010). Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 1027-1032.

Burton-Freeman, B.M., Sandhu, A.K., & Edirisinghe, I. (2016). Red raspberries and their bioactive polyphenols: Cardiometabolic and neuronal health

links. *Advanced Nutrition*, 7, 44-65.

Cacace, J.E., & Mazza, G. (2003). Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science*, 68(1), 240-248.

Capanoglu, E., De Vos, R.C.H., Hall, R.D., Boyacioglu, D., & Beekwilder, J. (2013). Changes in polyphenol content during production of grape juice concentrate. *Food Chemistry*, 139, 521-526.

Chang, T.S., Siddiq, M., Sinha, N., & Cash, J. (1995). Commercial pectinases and the yield and quality of stanley plum juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 19, 89-101.

Crozier, A., Lean, M.E.J., McDonald, M.S., & Black, C. (1997). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 590-595.

Çapanoğlu, E., & Boyacıoğlu, D. (2009). Meyve ve sebzelerin flavonoid içeriği üzerine işlemenin etkisi. *Akademik Gıda*, 7, 41-46.

Gerard, K.A., & Roberts, J.S. (2004). Microwave heating of apple mash to improve juice yield and quality. *Food Science and Technology*, 37, 551-557.

Hartmann, A., Patz, C.D., Andlauer, W., Dietrich, H., & Ludwig, M. (2008). Influence of processing on quality parameters of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 9484-9489.

Jakobek, L., Seruga, M., Medvidovic-Kosanovic, M., & Nova, I. (2007). Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 103, 58-64.

Koponen, J.M., Happonen, A.M., Auriola, S., Kontkanen, H., Buchert, J., Poutanen, K.S., & Törrönen, A.R. (2008). Characterization and fate of black currant and bilberry flavonols in enzyme-aided processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3136-3144.

Kumaran, A., & Joel Karanukaran, R. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97, 109-114.

Landbo, A.K., & Meyer, A.S. (2004). Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 503-513.

Le Bourvellec, C., Bouchet, B., & Renard, C.M.G.C. (2005). Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part III: Study on model polysaccharides. *Biochim Biophys Acta*, 1725, 10-18.

Lee, H.S., & Coates, G.A. (2002). Characterization of color fade during frozen storage of red grapefruit juice concentrates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3988-3991.

Lieu, L.N., & Man Le, V.V. (2010). Application of ultrasound to grape mash treatment in juice processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 273-279.

Maier, T., Fromm, M., Schieber, A., Kammerer, D.R., & Carle, R. (2009). Process and storage stability of anthocyanins and non-anthocyanin phenolics in pectin and gelatin gels enriched with grape pomace extracts. *European Food Research and Technology*, 229, 949-960.

- Mojsov, K., Ziberoski, J., & Bozinovic, Z. (2011). The effect of pectolytic enzyme treatments on red grapes mash of Vranec on grape juice yields. *Perspectives of Innovation in Economics and Business*, 7(1), 84-86.
- Moris, J.R., Chawton, D.L., & Fleming, J.W. (1980). Effects of high rates of potassium fertilization on raw product quality and changes in pH and acidity during storage of concord grape juice. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31, 323-328.
- Mullen, W., McGinn, J., Lean, M.E.J., MacLean, M.R., Gardner, P., Duthie, G.G., & Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5191-5196.
- Mutlu, M., Sarioğlu, K., Demir, N., Ercan, M.T., & Acar, J. (1999). Use of commercial pectinase in fruit juice industry. Part I: Viscosimetric determination of enzyme activity. *Journal of Food Engineering*, 41, 147-150.
- Nielsen, S.S. (2010). *Food analysis laboratory manual*. 2. press. New York: Springer Science+Business Media.
- Odrizola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Phenolic acids, flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *European Food Research Technology*, 228, 239-248.
- Orak, H.H. (2007). Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 111, 235-241.
- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C., & Tiwari, B.K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 3-11.
- Rhim, J.W., Nunes, R.V., Jones, V.A., & Swartzel, K.R. (1989). Kinetics of color change of grape juice generated using linearly increasing temperature. *Journal of Food Science*, 54, 776-777.
- Ruxton, C.H.S., Gardner, E.J., & Walker, D. (2006). Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(3-4), 249-272.
- Sarioğlu, K., Demir, N., Acar, J., & Mutlu, M. (2001). Use of commercial pectinase in the fruit juice industry, Part 2: Determination of the kinetic behaviour of immobilized commercial pectinase. *Journal of Food Engineering*, 47, 271-274.
- Sin, H.N., Yusof, S., Sheikh Abdul Hamid, N., & Rahman, R.A. (2006). Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 73, 313-319.
- Sójka, M., Macierzyński, J., Zaweracz, W., & Buczek, M. (2016). Transfer and mass balance of ellagitannins, anthocyanins, flavan-3-ols, and flavonols during the processing of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) to juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 5549-5563.
- Spanos, G.A., & Wrolstad, R.E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson Seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1565-1571.
- Stadtman, F.H., Buhlfrtand, J.F., & Marsh, G.L. (1977). Titratable acidity of tomato juice as affected by break procedure. *Journal of Food Science*, 42, 379-382.
- Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J., & O'Donnell, C.P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 598-604.
- Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93, 713-718.
- Vázquez-Araújo, L., Chambers I.V.E., Adhikari, K., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2010). Sensory and physicochemical characterization of juices made with pomegranate and blueberries, blackberries, or raspberries. *Journal of Food Science*, 75, 398-404.
- Viljakainen, S., Visti, A., & Laakso, S. (2002). Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from nordic berries. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 52(2), 101-109.
- Weisel, T., Baum, M., Eisenbrand, G., Dietrich, H., Will, F., Stockis, J.P., & Janzowski, C. (2006). An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Biotechnology Journal*, 1, 388-397.
- Withy, L.M., Nguyen, T.T., Wrolstadt, R.E., & Heatherbell, D.A. (1993). Storage changes in anthocyanin content of red raspberry juice concentrate. *Journal of Food Science*, 58(1), 190-192.
- Yang, M.H., & Yong, Y.M. (2001). A rapid gas chromatographic method for direct determination of short-chain (C2–C12) volatile organic acids in foods. *Food Chemistry*, 75, 101-108.
- Yang, J., Martinson, T.E., & Liu, R.H. (2009). Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. *Food Chemistry*, 116, 332-339.