



Karadut (*Morus nigra*) suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısı parçalanma kinetiği

Thermal degradation kinetics of rutin and total phenolic compounds in black mulberry (*Morus nigra*) juice

Cemre SERNİKLİ¹ , Çetin KADAKAL^{1*} 

¹Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 20160, Kınıklı, Denizli-TURKEY

To cite this article:

Sernikli, C. & Kadakal, Ç. (2020). Karadut (*Morus nigra*) suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısı parçalanma kinetiği. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 24(3): 290-300. DOI:10.29050/harranziraat.687653

Address for Correspondence:

Çetin KADAKAL

e-mail:

ckadakal@pau.edu.tr

Received Date:

13.02.2020

Accepted Date:

07.07.2020

© 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, karadut suyunun 70-95 °C sıcaklık aralığında ve farklı ısıtma periyotlarında (0, 5, 10, 15, 20 ve 30 dk.) ısı işleme tabi tutulmasıyla karadut suyunun rutin ve toplam fenolik içeriğinde meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Bu amaçla taze karadut meyveleri öncelikle meyve suyunu işlenmiş ardından ısı işlem uygulaması yapılmıştır. Karadut suyunda rutin tayini sıvı kromatografik, toplam fenolik tayini ise spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Isıl işlem sırasında, karadut suyunda ısı işlem uygulamasına bağlı olarak rutin ve toplam fenolik içeriğindeki bozunmalar birinci dereceden kinetik modele uymuştur. Rutin ve toplam fenolik reaksiyonların sıcaklık bağımlılığı Arrhenius ilişkisi ile tanımlanmıştır. Rutin ve toplam fenolik içeriğinin 70-95 °C sıcaklık aralığındaki aktivasyon enerjileri sırasıyla 50.53 ve 34.89 kJ mol⁻¹ bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Fenolik, Karadut, Meyve suyu, Parçalanma kinetiği, Rutin

ABSTRACT

In this paper, the effect of heat treatment on rutin and total phenolic compounds in black mulberry juice with the heating periods (0, 5, 10, 15, 20 and 30 min) at temperatures ranging from 70 to 95 °C is analyzed and experimental results are presented. Firstly, fresh black mulberry fruits were processed to black mulberry juice and then thermal treatment is performed. Liquid chromatographic and spectrophotometric methods were used for the analysis of rutin and total phenolic compounds, respectively. During thermal processing, degradation of rutin and total phenolic compounds in black mulberry juice were fitted to a first-order reaction kinetic model. Arrhenius relationship was used for the description of temperature dependence of reaction. Activation energies for rutin and total phenolic compounds between 70 to 95 °C were found as 50.53 and 34.89 kJ mol⁻¹, respectively.

Key Words: Phenolic, Black mulberry, Juice, Degradation kinetics, Rutin

Giriş

Moraceae familyasına ait olan karadutun (*Morus nigra*) (Tarko ve ark., 2014; Dinçer ve ark., 2016) anavatanı Hindistan, Çin ve Japonya'dır. Karadut ayrıca Kuzey İran, Suriye, Suudi Arabistan, Yunanistan, Fransa, İtalya, İspanya, Rusya, Güney Asya, ABD, Avustralya, Akdeniz Ülkeleri, Orta

Avrupa ve kısmen Kuzey Avrupa'da da iyi yetişir (Davis, 1987).

Biyoaktif bazı bileşiklerin iyi bir kaynağı olan karadutun önemi içeriğindeki toplam fenolik ve C vitamini kompozisyonuna ilaveten (Fazaeli ve ark., 2013; Sánchez-Salcedo ve ark., 2015) protein, karbonhidrat, yağ, lif, mineral madde (özellikle kalsiyum, demir, fosfor) ve suda çözünür

vitaminler (tiamin, riboflavin, nikotinic asit ve askorbik asit) gibi besleyici değerlerinden kaynaklanmaktadır (Vankatesh ve Chauhan, 2008). Karadut meyvesi keşfedildiği günden beri ilaç (balgam söktürücü, kan şekerini düşürücü, dizanteriyi tedavi edici, ateş ve kan basıncı düşürücü) olarak kullanılmaktadır (Güngör ve Şengül, 2008). Tüm bu özelliklerine ek olarak antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklere sahip karadut meyvesi çeşitli fitokimyasallar içeren fenolikleri de bünyesinde bulundurmaktadır (Gecer ve ark., 2016).

Besleyicilik, fizyolojik ve teknolojik özellikleri nedeniyle önemli bir meyve olan karadut tatlı, hoş bir tada sahiptir. Ancak yumuşak dokusu ve kısa sürede bozulmasından dolayı hasat edilmesi, taşınması ve pazarlanması zor bir meyvedir. Bu nedenle meyve çoğunlukla işlenerek tüketilir (Gerasopoulos ve Stavroulakis, 1997). Türkiye, geleneksel gıda üretim teknikleri konusunda zengin bir birikime sahiptir. Ülkemizde karadut meyvesi taze ve kurutulularak tüketildiği gibi pekmez, meyve suyu, marmelat, likör, pestil ve köme gibi çeşitli ürünlere işlenerek de tüketilir (Boranbayeva ve ark., 2014; Tomas ve ark., 2015).

Fenolik bileşikler; fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Flavonoidler, doğal bitkisel çaylarda, meyve ve sebzelerde bulunan polifenolik antioksidanlardır (Nizamlioğlu ve Nas, 2015). Fenolik bileşiklerin bazıları, meyve ve sebzelerin lezzet bileşenlerinin oluşumunda, özellikle ağızdaki acılık ve ekşilik gibi iki önemli lezzetin oluşumunda etkilidir. Bazılarında meyve ve sebzelerin sarı, sarı-kahverengi, kırmızı-mavi renk tonlarını sağlamaktadır (Gökalp ve ark., 1992). Fenolikler, antioksidan, antimutajenik ve antikanserojenik etkilerine ilaveten gen ekspresyonunu değiştirebilme yeteneğine sahiptirler (Nakamura ve ark., 2003; Ercişli ve Orhan, 2008). Türkiye'de yetişen karadut meyvelerinde gerçekleştirilen bir çalışmada toplam fenolik içeriği 1943-2237 mg gallik asit (mg GAE 100g⁻¹) eşdeğeri (taze ağırlık) olarak belirlenmiştir (Kicel ve ark., 2015).

Flavonoid sınıfının bir glikoziti olan rutin, quercetin ve disakkarit olan rutinozdan oluşur

(Kicel ve ark., 2015; Yıldırım ve ark., 2017). Önemli bir rutin kaynağı olan karadut antioksidan (Korkmaz ve Kolankaya, 2010), antiinflamatuvar (Lee ve ark., 2012), nöroprotektif (Yıldırım ve ark., 2017), antihiperlipidemik ve antimikrobiyal aktivitelere sahiptir (Kamalakkannan ve Prince, 2006). Rutinin diğer kaynakları karabuğday, soğan, limon, elma, portakal, greylift (Attia, 2016) ve çaydır (Kuntic ve ark., 2007). Ancak, önemli bir rutin kaynağı olmasına rağmen beyaz veya karadutlarda rutin üzerine çalışma yok denecek kadar az, rutinin ısıl parçalanma kinetiği konusunda ise hiç çalışmaya rastlanılmamıştır.

Yaklaşık iki aylık hasat süresine sahip karadut meyvesinin kısa bir süre soğukta saklanma imkânı vardır. Bu nedenle meyvenin muhafazasında en önemli yöntem ısıl işlem uygulamasıdır (Maskan ve ark., 2002; Fazaeli ve ark., 2013). Meyve olgunluğu, hasat zamanı, saklama koşulları ve süresi, tüketim öncesi pişirme ve depolama gibi faktörler meyvenin toplam fenolik madde içeriğini etkilemektedir (Gecer ve ark., 2016).

Toplam fenolik analizinde yaygın kullanılan yöntem spektrofotometrik (İnanç ve Yüksel, 2018; Karaman ve ark., 2020) olmasına karşılık rutin analizinde hem spektrofotometrik (Kuntic ve ark., 2000) hemde sıvı kromatografik teknikler kullanılır (Daigle ve Conkerton, 1988; Menghinello ve ark., 1999; Li ve Fitzloff, 2001; Leite ve ark., 2001; Pang ve ark., 2009). Ancak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) hızlı, doğru ve hassas belirleme açısından rutin analizi için tercih edilen yöntemdir.

Gıdalarda teknolojik kontrolün sağlanması ve öngörülen kalitenin sağlanabilmesi açısından gıdalardaki değişimlerin kinetik modellenmesi gereklidir (Van Boekel, 2008). Güvenli gıda üretiminde gıda kalite göstergesi olan bileşiklerin parçalanmadan maksimum seviyede kalabilmesini sağlamak için, gıda prosesleri tasarlanırken ısıl işlem uygulamalarına ilişkin kinetik modellere ihtiyaç vardır (Avila ve Silva, 1999). Yapılan literatür çalışmasında karadut suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısıl parçalanması hakkında herhangi bir yayına rastlanılmamıştır. Bu çalışmada:

- Isıl işlemler (70, 80, 90 ve 95 °C) sırasında rutin ve toplam fenolik bileşiklerdeki değişikliklerin belirlenmesi,
- Karadut suyundaki rutin ve toplan fenolik bileşiklerin 70-95 °C sıcaklık aralığında farklı süre (0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dk.) ısıtma işlemine tabi tutulmasına bağlı olarak bozunma kinetiklerinin belirlenmesi,
- Kinetik parametrelerin belirlenmesi ile parçalanma reaksiyonlarının tanımlanması (reaksiyon hızı sabiti, reaksiyon derecesi, aktivasyon enerjisi, Q_{10} , yarı ömür süresi) amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Taze karadut meyveleri (*Morus nigra*), Doğu Karadeniz Bölgesi'nde faaliyet gösteren bir meyve suyu fabrikasından (Gümüşsu Gıda Sanayi, Gümüşhane) sağlanmıştır. Hasat döneminde fabrikadan temin edilen yaklaşık 300 kg taze karadut, Denizli, Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne soğutmalı araç ile transfer edilerek karadut suyuna işlenmiştir.

Karadut suyu üretimi

Karadut meyvesi öncelikle kir, yaprak ve yabancı maddelerinden uzaklaştırılmıştır. Yabancı maddelerden ayıklama işlemi takiben bir meyve değirmeni yardımı ile öğütülen meyveler (Model KMS6000, Vestel) bez torba içine alınmış ve hidrolik pres (Bucher-Guyer AG, Niederweningen, İsviçre) kullanılarak suyu çıkarılmıştır. Elde edilen karadut suyu, bir filtreden (25 µm gözenek boyutu) geçirilerek cam tüplere (75x10 mm ID) aktarılmış ve ısıtma işlemi uygulama zamanına kadar 4 °C'de saklanmıştır.

Isıl işlem uygulaması

Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik içeriğinin ısıtma parçalanma kinetiğinin belirlenmesi için 70, 80, 90 ve 95 °C sıcaklıklar seçilmiştir. Isıtma işlemi, içerisine 25 ml karadut suyu konulan ve termostatik su banyosuna (Model 3047, Kottermann, Hänigsen/Germany)

yerleştirilen borcam tüplerinden (üç boyunlu yuvarlak tabanlı bir şişe, 75x10 mm ID) yararlanılmıştır. Sıcaklık uygulama süresinin tespitinde, termokupl ile ölçülen numune sıcaklıklarının istenen sıcaklığa ulaşması esas alınmıştır. Tüm ısıtma işlemlerinde istenen en yüksek (95 °C) sıcaklığa 8 dakikada ulaşılmaktadır. Yaklaşık %90 doluluk oranına sahip tüplerin kapakları, buharlaşmayı önlemek için sıkıca kapatılarak termostatik su banyosuna yerleştirilmiştir. Meyve suyu örnekleri su banyosunda belli süreler bekletilmiş (0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dk.), sonra sıcak su banyosundan alınarak buzlu su banyosunda hızlı bir şekilde soğutulmuştur. Tüm deneyler üç tekerrür halinde gerçekleştirilmiş ve her bir sıcaklığa ait reaksiyon hızı sabitleri de üç tekerrür için hesaplanmıştır.

Sıcaklık seçimi ve ısıtma süreleri

Çalışmada kullanılan 70-95 °C sıcaklık aralığının seçiminde geleneksel ve endüstriyel üretim prosesleri dikkate alınmıştır. Karadut suyu ve meyve suyu konsantresinin endüstriyel üretiminde kullanılan en düşük sıcaklık değeri ısıtma süresine bağlı olarak 70 °C civarındadır. Geleneksel üretim yönteminde ise şişelenmiş karadut suları açık tip kazanlarda yaklaşık 20-30 dk. kaynar suya bırakılır. Böylece, şişe içindeki karadut suyunun merkezi sıcaklığı yaklaşık 95 °C'ye ulaşır. Tüm bu uygulamalar dikkate alınarak çalışma için uygulama sıcaklığı 70-95 °C aralığında seçilmiştir.

Metot

Toplam fenolik madde analizi

Karadut suyunun toplam fenolik madde içeriği Folin Ciocalteu spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir (Tanner ve Brunner, 1979). Bu amaçla 40, 80, 120, 160 ve 200 ppm konsantrasyonlarda gallik asit çözeltileri hazırlanmıştır. 75 ml distile su ile 1 ml numune (seyreltilmemiş) balon jodede (100 mL) karıştırılarak üzerine 5 ml Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenmiş ve 3 dk. bekletilmiştir. Daha sonra doymuş sodyum karbonat çözeltisi (10 mL, %20)

ilave edilerek tekrar iyice çalkalanan içerik saf suyla 100 ml'ye tamamlanmıştır. Elde edilen çözelti, karanlık bir yerde 1 saat bekletildikten sonra UV/VIS spektrofotometre cihazı (T80, PG Instruments, UK) kullanılarak 720 nm dalga boyunda absorbans okuması gerçekleştirilmiştir. Ölçülen absorbans karşılığı toplam fenolik madde içeriği, deiyonize suda çözünen ve litre başına mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilen standart gallik asit eğrisinden (0-200 mg/L) belirlenmiştir.

Rutin analizi

Katı faz ekstraksiyonu (SPE) uygulanarak elde edilen örneklerin analizinde Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi cihazı (HPLC) kullanılmıştır. Rutin analizinde kullanılan HPLC cihazına ilişkin cihaz özellikleri ve yöntem koşulları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Rutin tayini için sıvı kromatografik koşullar
Table 1. Liquid chromatographic conditions for rutin analysis

HPLC	SHIMADZU (Kyoto/Japan)
Kolon Fırını <i>Column oven</i>	CTO-20A, Sıcaklık 25 °C
Kolon <i>Column</i>	C-18 (150x4.6 mm, ID, 5µm particle size) SUPELCO
Pompa <i>Pump</i>	SHIMADZU, LC(Liquid Chromatography)-20AD
Degazer <i>Degasser</i>	SHIMADZU, DGU-20A
Detektör <i>Detector</i>	SHIMADZU, Photo Diode Array (PDA) Detector, SPD-M20 AVP; Dalga boyu: 220 nm
Sistem Kontrol <i>System controller</i>	SHIMADZU, CBM, 20Alite
Mobil Faz <i>Mobil phase</i>	İzokratik; KH ₂ PO ₄ -Asetonitril (99:1, v/v),
Akış Hızı <i>Flow rate</i>	1 ml dk. ⁻¹
Enjeksiyon <i>Injection</i>	20 ml
Program <i>Programme</i>	Shimadzu Software Program

Kalibrasyon eğrisinin çizilmesi

Analizlerde Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) sağlanan HPLC saflığındaki metanol ve ekstra saf potasyum dihidrojen fosfat kullanılmıştır. Analizlerde deiyonize su kullanılmıştır. Analitik saflıktaki rutin standardı Sigma firmasından (Sigma Chemical Company,

Deisenhofen-Germany) temin edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında mobil faz içerisinde hazırlanan beş farklı konsantrasyondaki rutin standardı kullanılmıştır. Tüm çözeltiler ışığın olumsuz etkilerine karşı koyu renkli cam şişelerde ve buzdolabında saklanmıştır. Rutin standardının stok çözeltisi kullanılarak 5-250 ppm aralığında, pik alanına (mAU) karşı çizilen konsantrasyon (mg L⁻¹) eğrisinde 5 noktayı kapsayan ve 0.999 korelasyon katsayılı kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında her bir standart çözeltiyle üç enjeksiyon gerçekleştirilmiştir.

Örnek hazırlama (Katı faz ekstraksiyonu=SPE)

Karadut bileşenlerinin çoğu, kromatografik belirleme işleminde rutin ile etkileşime neden olur. Bu nedenle, rutinin ayrıştırmasını sağlayan, diğer bileşenlerin ayrışmasına izin vermeyen veya diğer bileşenlerin çoğunu askıya alan Sep-Pak C18 (500 mg) kartuşlu bir SPE numune hazırlama yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla 5 g karadut suyuna 25 g deiyonize su eklenerek (Seyreltme faktörü, F=6) 1 dk. boyunca orta hızda bir homojenizatörde karışımın homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Karışımın homojenleştirilmesini takiben 14x10³ rpm'de (Model 2-16, Sigma Bioblock Scientific) 10 dk. santrifüj işlemi uygulanmıştır. Rutin ekstraksiyonunda, SPE yönteminde bazı modifikasyonlar yapılmıştır (Cho ve ark., 2000). Sabit fazın aktivasyonunda yıkama sırasında pH değeri 4.2'ye ayarlanmış eşit hacimli 20 ml metanol-su (v/v) karışımı kullanılmıştır. Sabit faz aktivasyonunun ardından, homojenize edilmiş ve santrifüjlenmiş karadut suyu (10 mL) sisteme yüklenmiştir. Sisteme yüklenen numune 0.005 M HCL çözeltisi kullanılarak asitlendirilmiş su (5 mL, pH 4.2) ve ardından 1 ml dk.⁻¹ akış hızında metanol (10 mL) ile elüe edilmiştir. Elüsyonu takiben eluantlar bir şişede toplanarak sıvı faz tamamen uzaklaştırılana kadar evapore edilmiştir. Kalıntının 1 ml mobil fazda çözündürülmesini takiben 0.45 µm gözenek boyutundaki filtreden (Schleicher-Schuell, Darmstadt Germany) süzülen filtratın 20 µl'lik

kısım rutin analizi için HPLC kolonuna enjekte edilmiştir.

Rutin analizinde 204 nm dalga boyuna ayarlanan PDA detektörü kullanılmıştır. Analiz için kullanılan mobil faz öncelikle ultrasonik su banyosunda tutulmak suretiyle gazdan arındırılmış, kullanımdan hemen önce de 0.45 µm 'lik bir filtreden süzülmüştür. HPLC analizinde mobil faz olarak 0.7 ml dk.⁻¹ akış hızında 0.1 mol L⁻¹ potasyum dihidrojen fosfat (pH:7) ve metanol (90:10) (v/v) kullanılmıştır. Rutin konsantrasyonu, elde edilen kromatografik piklerin standart rutin ile hazırlanan kalibrasyon eğrisinde değerlendirilmesi ile hesaplanmıştır.

Rutin için geri kazanım testi

Rutin konsantrasyonu bilinen iki ayrı karadut suyu numunesi üzerine bilinen konsantrasyonlardaki rutin standart çözeltilerinden ekleme yapıp HPLC cihazındaki aynı şartlarda gerçekleştirilen ölçüm ile geri kazanım oranı belirlenmiştir. Bu amaçla, her ekleme seviyesi için altı enjeksiyon yapılmıştır. Gıda proseslerinde kalitede meydana gelen kayıplar daha çok sıfır ve birinci dereceden kinetiğe uygunluk göstermektedir (Labuza ve Riboh, 1982; Labuza, 1984). Bu çalışmada farklı sıcaklık ve sürelerde ısı işlem uygulamasına bağlı olarak pastörize edilen karadut sularının rutin ve toplam fenolik bileşik içeriğindeki azalmanın kinetiği incelenmiştir. Her iki parametre için kaybın birinci dereceden kinetiğe uygun olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla elde edilen verilerin hesaplanmasında birinci derece reaksiyonu tanımlayan 1 No.lu eşitlik kullanılmıştır (Arabshahi ve Lund, 1985).

$$\ln C = \ln C_0 - k \cdot t \quad (1)$$

Kinetik parametrelerin hesaplanması

Parçalanma kinetiği için genel hız ifadesi 2 No.lu eşitlik ile tanımlanmaktadır (Labuza ve Riboh, 1982; Kadakal ve Artık, 2008):

Burada;

$$-\frac{d[C]}{dt} = k[C]^m \quad (2)$$

Burada;

[C]: Dikkate alınan bileşenin nicel değeri,

k : Reaksiyon hız sabiti,

m : Reaksiyonun derecesi,

t : Reaksiyonun gerçekleşme süresi (dk.),

Genel hız denkleminin entegrasyonundan sonra birinci derece kinetik modele uyarlanmasıyla 3 No.lu eşitlik elde edilir.

$$\ln \left(\frac{[C]_t}{[C]_0} \right) = -kt \quad (3)$$

Burada;

C_0 : Başlangıç rutin veya fenolik madde konsantrasyonu (mg L⁻¹),

C_t : Herhangi bir t süresindeki rutin veya toplam fenolik madde konsantrasyonu

k : Reaksiyon hız sabiti (dk.⁻¹),

t : Reaksiyonun gerçekleşme süresi (dk.)

Rutin ve toplam fenolik maddenin sıcaklığa bağımlılığı 4 No.lu eşitlikte gösterilen Arrhenius denklemleri ile tanımlanmıştır.

$$k = k_0 \times e^{-E_a/RT} \quad (4)$$

Bu eşitliğin integrasyonu ile 5 No.lu eşitliğe ulaşılır.

$$\ln k = \frac{-E_a}{R} \times \frac{1}{T} + \ln k_0 \quad (5)$$

Burada;

k : Reaksiyon hız sabiti,

k_0 : Frekans faktörü,

E_a : Aktivasyon enerjisi (cal mol⁻¹ veya J mol⁻¹)

R : Gaz sabiti (1.987 cal mol⁻¹ K⁻¹ veya 8.314 J mol⁻¹ K⁻¹)

T : Sıcaklık (K).

Reaksiyon hız sabitlerinin (k) doğal logaritmaları ($\ln k$) aritmetik skalalı bir grafiğin ordinatına, $\ln k$ değerlerine karşılık gelen sıcaklık (K) değerlerinin

resiprokali ($1/T$) apside girilerek Arrhenius grafiği denilen lineer bir kurve elde edilmiştir. Regresyon analizi uygulanan kurve yardımıyla elde edilen eğim değerinin gaz sabiti ile çarpılmasıyla aktivasyon enerjisi bulunmuştur.

Q_{10} değeri, aktivasyon enerjisi gibi reaksiyonların sıcaklıktan etkilenme derecelerini gösteren bir parametredir. Q_{10} değerinin hesaplanmasında 6 No.lu eşitlikten yararlanılmıştır (Labuza ve Schmidl, 1985).

$$Q_{10} = \left(\frac{k_2}{k_1}\right)^{\frac{10}{T_2-T_1}} \quad (6)$$

Burada;

T : Mutlak sıcaklık;

k_1 : T_1 sıcaklık derecesindeki hız sabiti,

k_2 : T_2 sıcaklık derecesindeki hız sabiti,

Yarılanma süresi ($t_{1/2}$)

Bir kalite parametresinde %50 azalışın gerçekleşmesi için geçen süre yarılanma süresi olarak tanımlanır. Birinci dereceden reaksiyonlarda yarılanma 7 No.lu eşitlikle hesaplanır (Labuza, 1984).

$$t_{1/2} = 0.693/k \quad (7)$$

Burada;

k : Reaksiyon hızı sabitidir ($dk.^{-1}$),

$t_{1/2}$: Yarılanma süresi ($dk.$),

Diğer analizler

Toplam kuru madde (%), suda çözünür kuru madde ($^{\circ}Bx$), pH ve toplam asitlik (sitrik asit cinsinden) analizlerinde Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990) metodu kullanılmıştır. Karadut suyundaki toplam şeker miktarı ise Lane-Eynon metoduna göre belirlenmiştir (Cemeroğlu, 1992).

İstatistiksel analizler

Tüm verilerin istatistiksel analizi için SAS® yazılımı (SAS, 1985) kullanılmıştır. Örnekler arası farkın önemli olduğu durumlarda ortalamalar

arası farkı belirlemek için Duncan testi kullanılmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Dünya literatüründe beyaz dut, karadut ve yakın türler ile ilgili yapılmış çalışmalar çoğunlukla bu ürünlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinedir. Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik madde içeriğinin ısı parçalanma kinetiği üzerine bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, dünya literatüründe gıda maddelerinde rutin içeriği ve ısı parçalanması üzerine yapılan çalışmaların sayısı sınırlı ve çalışmalar çoğunlukla tıp alanındadır. Yapılan bu çalışmanın dünya literatüründeki eksikliği tamamlamak suretiyle literatüre önemli bir katkı sağlama potansiyeli bulunmaktadır.

Kullanılan karadut suyu örneklerinin özellikleri

Araştırmada kullanılan karadut suyunun %16.15 toplam kuru madde, 15.16 $^{\circ}Bx$ (suda çözünür kuru madde), 3.4 pH, %0.35 toplam asit ve %11.50 toplam şeker ihtiva ettiği tespit edilmiştir. Karadut suyunun suda çözünür kurumadde, toplam asit (sitrik asit cinsinden) ve pH değerlerinin sırasıyla %11.55-19.04, 1.37-2.24 g 100^{-1} ml $^{-1}$ ve 3.63-4.18 arasında değiştiği bildirilmiştir (Erkaleli ve Dalkılıç, 2016).

HPLC yönteminin analitik karakteristikleri

Karadut suyunda rutin analizine ilişkin yöntemin doğruluğu ve cihaz hassasiyetinin belirlenmesi amacıyla elde edilen kalibrasyon eğrisi lineerliği, dedeksiyon limiti, geri kazanım ve hassasiyet değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Rutin için R değeri 0.999, r^2 değeri ise %99.82 olarak tespit edilmiştir. Rutinin HPLC cihazında tespit limiti S/N (sinyal/gürültü) değeri üzerinden 0.5 ppm olarak tespit edilmiştir. Cihazın geri kazanım değerlerinin belirlenmesi amacıyla standart ekleme yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla önceden rutin içeriği bilinen örneklerle 30 ve 50 mg L $^{-1}$ düzeyinde standart rutinden ekleme yapılarak her bir ekleme için cihazdan alınan altı sonuç kaydedilmiştir. 30 ve 50 mg L $^{-1}$ düzeyindeki

eklemelerden sırasıyla %101.5 ve %102.3, ortalama %101.9 geri kazanım sağlandığı belirlenmiştir. Metot hassasiyetinin belirlenmesi aynı kimyasalların ve aynı cihazın aynı deneysel koşullar altında aynı örnek üzerinde intra ve inter-gün testlerinin 6 ölçümle gerçekleştirilmesiyle ortaya konulmuştur. Çalışılan metot için bağıl standart sapma (BSS) değeri %2.20 olarak tespit edilmiştir. Bilindiği gibi düşük BSS değeri HPLC için hassasiyetin, diğer bir ifade ile sonuçlar açısından değişken olmayan veri göstergesidir.

Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısı parçalanması

Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik madde içeriğinin ısı parçalanma kinetiğinin belirlenmesi için 70, 80, 90 ve 95 °C sıcaklık ve (0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dk.) süre seçilerek her iki parametre için kinetik çalışmaya ait veriler elde edilmiştir. Şekil 1 ve 2'de görüldüğü gibi, rutin ve toplam fenolik bileşiklerin parçalanması birinci

dereceden kinetik modele göre gerçekleşmiştir. Isıtma sıcaklığı ve süresi arttıkça, rutin ve toplam fenolik maddedeki parçalanma artış göstermiştir. Şekil 1 ve Şekil 2'den görüldüğü gibi karadut suyunda rutin ve toplam fenolik madde için 0.98'in üzerindeki korelasyon katsayısı birinci dereceden parçalanma kinetiğine uygunluğu göstermektedir. Bilindiği gibi sıfır veya birinci dereceden reaksiyonlar arasındaki istatistiksel farklılıklar önemsiz olabilmektedir (Van Boekel, 2008). Diğer yandan karadut suyunda rutin ve toplam fenolik bileşiklerin ısı parçalanması hakkında yayınlanmış bir veriye rastlanmadığından sonuçlar literatür bilgileriyle karşılaştırılamamıştır.

Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik maddenin ısı parçalanma kinetiğine ilişkin hız sabitleri (k) ve yarı ömür süreleri ($t_{1/2}$) Çizelge 2'de gösterilmiştir. Isıl parçalanmaya ilişkin hız sabitinin belirlenmesi için $\ln(C/C_0)$ - t grafiğinin doğrusal eğimi kullanılmıştır.

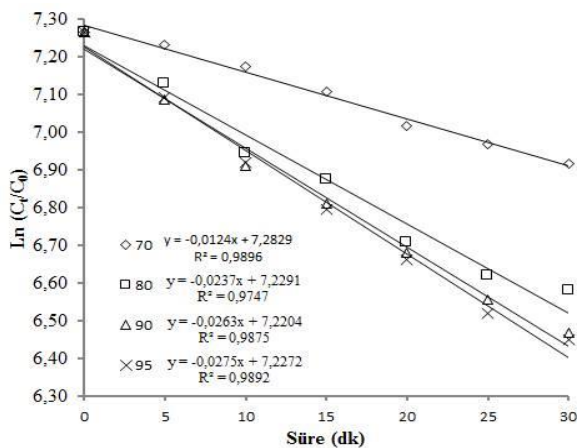
Çizelge 2. Karadut suyunda rutin analizine ait kalibrasyon eğrisi lineerliği, dedeksiyon limiti, geri kazanım ve hassasiyet değerleri. Table 2. Linearity of standard curve and detection limit, recovery and precision of method for determination of rutin in black mulberry

Vitamin	Lineer aralık (mg L ⁻¹)	R	r ²	Dedeksiyon limiti (mg L ⁻¹)	Başlangıç değeri (mg L ⁻¹)	İlave sonrası değeri (mg L ⁻¹) ^{a,b}	Geri kazanım (%)		Hassasiyet
							Ort. Average	B.S.S. (%)	
Rutin	5.0-250.0	0.999	99.82	0.5	248.6 ± 0.9	305.5±0.13	102.3±0.54	2.20	
Vitamin	Linear range (mg L ⁻¹)			Detection limit (mg L ⁻¹)	Initial value (mg L ⁻¹)	Content after addition (mg L ⁻¹) ^{a,b}	Recovery (%)	Precision	
									R.S.D. (%)

^a: 50 mg rutin ilavesi; ^b:30 mg rutin ilavesi; ^c:Ortalama±standard sapma.

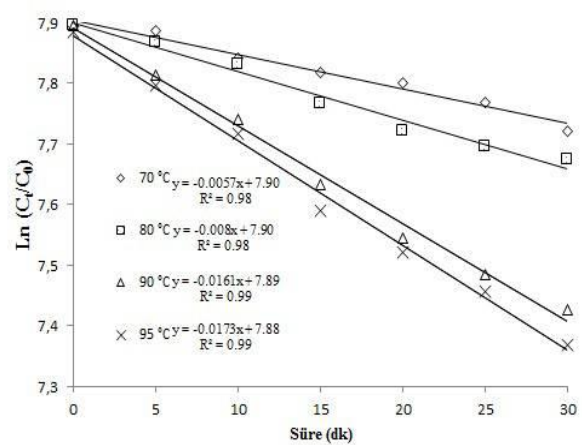
^a:addition of 50 mg rutin, ^b:addition of 30 mg rutin; ^c:Mean ± standard deviation.

B.S.S: Bağıl standart sapma R.S.D: Relative standard deviation



Şekil 1. Karadut suyunda toplam fenolik bileşenlerin farklı sıcaklıklardaki birinci dereceden ısı parçalanma kinetiği.

Figure 1. First order kinetic of TPC thermal degradation at different temperatures in black mulberry



Şekil 2. Karadut suyunda rutin farklı sıcaklıklardaki birinci dereceden ısı parçalanma kinetiği.

Figure 2. First order kinetic of rutin thermal degradation at different temperatures in black mulberry

Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik madde açısından sıcaklığın aktivasyon enerjisi (E_a), reaksiyon hız sabiti (k), Q_{10} ve yarılanma süresi ($t_{1/2}$) üzerine etkisine ait veriler Çizelge 3'de verilmiştir. Rutin ve toplam fenolik maddenin hız sabitleri, sıcaklığın artmasıyla artmıştır. Bu sonuç, rutin ve toplam fenolik maddenin bozunmalarının sıcaklığa bağımlı olduğunu göstermektedir. Rutin içeriği toplam fenolik maddeye göre daha az bozunmaya meyillidir. Rutinin hız sabiti, 70-80 °C ve 90-95 °C arasında sıcaklık artışıyla artmaktadır. Bununla birlikte artış önemli ölçüde 80 ila 90 °C arasında belirlenmiştir. Analiz sonuçlarından, rutin 95 °C'de daha yüksek k değerine sahip olduğu, dolayısıyla diğer sıcaklık değerlerine göre daha hızlı bir bozunmaya uğradığı görülmüştür. Buna karşılık, toplam fenolik maddenin hız sabiti,

70-80 °C arasında belirgin bir şekilde, 80-90 °C ve 90-95 °C arasında ise az bir artış göstermiştir. Rutin ve toplam fenolik maddenin k değerleri 70-95 °C arasındaki sıcaklıklarda sırasıyla 5×10^{-3} - 16×10^{-3} ve 10×10^{-3} - 28×10^{-3} değerleri arasında değişmiştir (Çizelge 3).

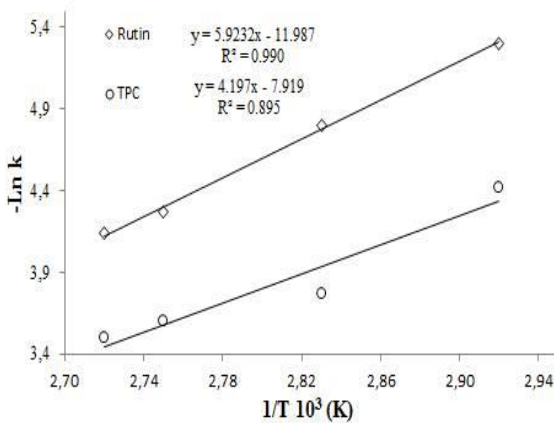
Çizelge 3'te gösterildiği gibi, sıcaklığın artması ile rutin ve toplam fenolik madde için yarı ömür süreleri ($t_{1/2}$) azalmıştır. Bu sonuç, rutin ve toplam fenolik bileşiklerin yüksek sıcaklıklarda daha hızlı parçalandığına işaret etmektedir. Rutin, aynı sıcaklık değerleri baz alınarak karşılaştırıldığında toplam fenolik maddeye göre daha yüksek $t_{1/2}$ değerine sahiptir. Bu sonuç karadut suyunda aynı sıcaklıklarda rutin toplam fenolik madde ile karşılaştırıldığında daha yüksek termal stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3. Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik açısından sıcaklığın aktivasyon enerjisi (E_a), reaksiyon hız sabiti (k), Q_{10} ve yarılanma süresi ($t_{1/2}$) üzerine etkisi.

Table 3. Effect of temperature on the activation energy (E_a), reaction rate constant (k), Q_{10} and half-life ($t_{1/2}$) values of rutin and TPC.

Parametre Parameter	T (C)	k 10 ³ (1/dk..)	t _{1/2} (dk..)	Q ₁₀			E _a (kJ/mol)
				70-80 C	80-90 C	90-95 C	
Rutin	70	5	138.63				
	80	8	86.64				
	90	14	49.51	1.6	1.75	1.07	50.53
	95	16	43.32				
TFM TPC	70	10	138.63				
	80	25	86.64	1.92	1.13	1.08	34.89
	90	26	49.51				
	95	28	43.32				

TFM: Toplam fenolik madde TPC: Total phenolic compound



TPC: Topam fenolik bileşik, TPC: Total phenolic compound

Şekil 3. Karadut suyunda farklı sıcaklık uygulamasıyla toplam fenolik bileşikler ve rutin ısı parçalanmasına ilişkin arrhenius eğrileri

Figure 3. Arrhenius plots for degradation of TPC and rutin in black mulberry nectar during heating

Hız sabitlerinin logaritması mutlak sıcaklık değerlerinin resiprokaline karşı bir lineer koordinat sistemine işlendiğinde, lineer eğrinin eğimi E_a/R değerini vermektedir (Şekil 3). Karadut suyundaki rutin ve toplam fenolik maddenin parçalanmasına ilişkin aktivasyon enerjileri, 70-95 °C arasındaki sıcaklıklarda farklılık göstermektedir. Tüm sıcaklık değerlerinde toplam fenolik maddeye göre rutin daha yüksek aktivasyon enerji değerine sahiptir. Bu sonuç, rutin toplam fenolik maddeye kıyasla ısı parçalanmaya karşı daha dayanıklı olduğunu göstermektedir. Toplam fenolik madde ve rutin ısı parçalanması için aktivasyon enerjileri sırasıyla

34.83 ve 50.53 kJ mol⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bir reaksiyonun yüksek aktivasyon enerjisi, bu reaksiyonun sıcaklık değişimine çok duyarlı olduğunu gösterir. Bu nedenle karadut suyunun rutin ve toplam fenolik madde içeriği, 95 °C'de 70 °C'ye göre ısıl parçalanmaya karşı daha hassastır.

Karadut suyunda 70-95 °C sıcaklıkları arasındaki rutin ve toplam fenolik maddeye ilişkin Q_{10} değerleri Çizelge 3'te gösterilmiştir. Karadut suyunda 70-95 °C arasındaki sıcaklıklarda her 10 °C'lik artış için Q_{10} değerleri farklılık göstermiştir. Rutin ve toplam fenolik madde için en yüksek Q_{10} değerleri sırasıyla 80-90 °C ve 70-80 °C aralığında elde edilmiştir. Bu sonuç, rutinin ısıl parçalanmasının 80-90 °C, toplam fenolik bileşiklerin parçalanmasının ise 70-80 °C arasındaki sıcaklıklarda daha fazla olduğunu, diğer sıcaklık aralıklarında ise rutin ve toplam fenolik bileşiklerin sıcaklık değişimlerinden çok az etkilendiğini göstermektedir.

Sonuçlar

Bu çalışma çeşitli sıcaklık ve sürelerde ısıl işlem uygulanan karadut suyunda rutin ve toplam fenolik maddenin ısıl parçalanması ilişkin bir ilktir. Karadut suyunda rutin ve toplam fenolik maddenin ısıl parçalanma kinetiği birinci dereceden kinetik modele göre gerçekleşmektedir. Sıcaklık ve ısıtma süresi arttıkça, incelenen bileşiklerin bozunma hızı artmıştır. Karadut suyunun uzun süreli ısıl işleme tabi tutulmasında rutin ve toplam fenolik madde içeriğindeki kaybın azalması anlamında en iyi sıcaklık 70 °C'dir. Karadut suyu üretimi gerçekleştiren işletmeler açısından, üretim sürecinde rutin ve toplam fenolik madde miktarının kontrolünde bu çalışmanın sonuçları faydalı olacaktır. Ayrıca, karadut ve karadut suyundaki rutin ve toplam fenolik maddenin ısıl parçalanmasına ilişkin literatürde bir çalışma yoktur. Bu nedenle, bu çalışma gelecekteki çalışmalara da ışık tutacaktır.

Ekler

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi [proje no: 2012FBE007] tarafından desteklenmiştir. Bu çalışma Cemre SERNİKLİ'nin "Karadut (*Morus nigra*) suyunda toplam fenolik madde ve suda çözünen vitaminlerin ısıl parçalanma kinetiği" adlı yüksek lisans tezinden üretilerek hazırlanmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Kaynaklar

- AOAC, (1990). *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Arabshahi, A., & Lund, D. B. (1985). Considerations in calculating kinetic parameters from experimental data. *Journal of Food Process Engineering*, 7(4), 239-251.
- Attia, T. Z. (2016). Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid mixture in their pure and combined dosage form. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 169, 82-86.
- Avila, I. M. L. B., & Silva, C. L. M. (1999). Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree. *Journal of Food Engineering*, 39(2), 161-166.
- Boranbayeva, T., Karadeniz, F., & Yılmaz, E. (2014). Effect of storage on anthocyanin degradation in black mulberry juice and concentrates. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7), 1894-1902.
- Cemeroğlu, B. (1992). Meyve ve sebze işleme endüstrisinde temel analiz metotları (Basic analysis methods in fruit and vegetable processing industry). *Biltav Üniversite Kitapları Serisi (University Book Series, Biltav edition) No, 02-2*.
- Cho, C. M., Ko, J. H., & Cheong, W. J. (2000). Simultaneous determination of water-soluble vitamins excreted in human urine after eating an overdose of vitamin pills by a HPLC method coupled with a solid phase extraction. *Talanta*, 51(4), 799-806.
- Daigle, D. J., & Conkerton, E. J. (1988). Analysis of flavonoids by HPLC: an update. *Journal of liquid chromatography*, 11(2), 309-325.
- Davis, P. H. (1970). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3*.
- Dincer, C., Tontul, I., & Topuz, A. (2016). A comparative study of black mulberry juice concentrates by thermal evaporation and osmotic distillation as influenced by storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 57-64.
- Ercisli, S., & Orhan, E. (2008). Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.)

- genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 116(1), 41-46.
- Erkaleli, Z.Ö., Dalkılıç, Z. (2006). Uşak ili Ulubey ilçesinde yetişen karadutların (*Morus nigra* L.) Morfolojik, Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(1), 89-106.
- Fazaeli, M., Hojjatpanah, G., & Emam-Djomeh, Z. (2013). Effects of heating method and conditions on the evaporation rate and quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate. *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 35-43.
- Gecer, M. K., Akin, M., Gundogdu, M., Eyduran, S. P., Ercisli, S., & Eyduran, E. (2016). Organic acids, sugars, phenolic compounds, and some horticultural characteristics of black and white mulberry accessions from Eastern Anatolia. *Canadian Journal of Plant Science*, 96(1), 27-33.
- Gerasopoulos, D., & Stavroulakis, G. (1997). Quality characteristics of four mulberry (*Morus* sp) cultivars in the area of Chania, Greece. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(2), 261-264.
- Gökalg, H. Y., Certel, M., & Nas, S. (1992). *Biyokimya: Temel yapılar ve kavramlar*.
- Güngör, N., & Sengul, M. (2008). Antioxidant activity, total phenolic content and selected physicochemical properties of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Properties*, 11(1), 44-52.
- İnanç, A. L., & Yüksel, D. (2018). İhlamur bitkisinin (*Tilia cordata*) katı-sıvı ekstraksiyonunda toplam fenolik madde kinetiğinin matematiksel modellenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 22(1), 12-20.
- Kadakal, Ç., & Artik, N. (2008). Degradation kinetics of ergosterol in tomato paste serum. *European Food Research and Technology*, 227(3), 683-688.
- Kamalakkannan, N., & Prince, P. S. M. (2006). Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 98(1), 97-103.
- Karaman, H. T., Küskü, D.Y., & Söylemezoğlu, G. (2020). Bazı üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerine ait salkım iskeletlerinin toplam fenolik bileşik ve trans-resveratrol düzeyleri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*. 24(2), 222-228.
- Kicel, A., Owczarek, A., Michel, P., Skalicka-Woźniak, K., Kiss, A. K., & Olszewska, M. A. (2015). Application of HPLC, UHPLC-PDA-ESI-MS3 and HPLC-PDA methods for rapid, one-step preparative separation and quantification of rutin in *Forsythia* flowers. *Industrial Crops and Products*, 76, 86-94.
- Korkmaz, A., & Kolankaya, D. (2010). Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. *Journal of Surgical Research*, 164(2), 309-315.
- Kuntić, V., Maleshev, D., Radović, Z., & Vukojević, V. (2000). Spectrophotometric investigation of the complexing reaction between rutin and titynyloxalate anion in 50% ethanol. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, 131(7), 769-777.
- Kuntić, V., Pejić, N., Ivković, B., Vujić, Z., Ilić, K., Mičić, S., & Vukojević, V. (2007). Isocratic RP-HPLC method for rutin determination in solid oral dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 43(2), 718-721.
- Labuza, T. P., & TP, L. (1982). Theory and application of Arrhenius kinetics to the predication of nutrient losses in foods.
- Labuza, T. P. (1984). Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal of Chemical Education*, 61, 348-358.
- Labuza, T. P., & Schmidl, M. K. (1985). Accelerated shelf-life testing of foods. *Food Technology*, 39(9), 57-62.
- Lee, W., Ku, S. K., & Bae, J. S. (2012). Barrier protective effects of rutin in LPS-induced inflammation in vitro and in vivo. *Food and Chemical Toxicology*, 50(9), 3048-3055.
- Leite, J. P. V., Rastrelli, L., Romussi, G., Oliveira, A. B., Vilegas, J. H., Vilegas, W., & Pizza, C. (2001). Isolation and HPLC quantitative analysis of flavonoid glycosides from Brazilian beverages (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3796-3801.
- Li, W., & Fitzloff, J. F. (2001). High performance liquid chromatographic analysis of St. John's wort with photodiode array detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 765(1), 99-105.
- Maskan, A., Kaya, S., & Maskan, M. (2002). Effect of concentration and drying processes on color change of grape juice and leather (pestil). *Journal of Food Engineering*, 54(1), 75-80.
- Menghinello, P., Cucchiari, L., Palma, F., Agostini, D., Dacha, M., & Stocchi, V. (1999). Simultaneous analysis of flavonoid aglycones in natural products using an RP-HPLC method. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 22(19), 3007-3018.
- Nakamura, Y., Watanabe, S., Miyake, N., Kohno, H., & Osawa, T. (2003). Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3309-3312.
- Nizamlioglu, N., & Nas, S. (2010). The phenolic compounds in vegetables and fruit; structures and their importance. *Electronic Journal of Food Technologies*, 5(1), 20-35.
- Pang, N., Malike, D., & Liu, H. (2009). Simultaneous determination of main bioactive components in *Rosa multiflora* Thunb. and their fragmentation study by LC-MS. *Chromatographia*, 70(7-8), 1253.
- Sánchez-Salcedo, E. M., Mena, P., García-Viguera, C., Hernández, F., & Martínez, J. J. (2015). (Poly) phenolic compounds and antioxidant activity of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves: Their potential for new products rich in phytochemicals. *Journal of Functional Foods*, 18, 1039-1046.
- SAS Institute. (1985). *SAS user's guide: Statistics* (Vol. 2). Sas Inst.
- Tanner, H., & Brunner, H. R. (1979). *Getränke-Analytik: Untersuchungsmethoden für die Labor- und Betriebspraxis*. Verlag Heller Chemie- und Verwaltungsgesellschaft, § c1987.
- Tarko, T., Duda-Chodak, A., Satora, P., Sroka, P., Pogoń, P.,

- & Machalica, J. (2014). Chaenomeles japonica, Cornus mas, Morus nigra fruits characteristics and their processing potential. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 3934-3941.
- Tomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R., Beekwilder, J., & Capanoglu, E. (2015). The effects of juice processing on black mulberry antioxidants. *Food Chemistry*, 186, 277-284.
- Van Boekel, M. A. (2008). *Kinetic modeling of reactions in foods*. CRC press.
- Venkatesh Kumar, R., & Chauhan, S. (2008). Mulberry: life enhancer. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(10), 271-278.
- Yıldırım, S., Kadioğlu, A., Sağlam, A., & Yaşar, A. (2017). Determination of phenolic acids and rutin in Heliotropium thermophilum by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Instrumentation Science & Technology*, 45(1), 35-48.