

SICAKLIK, ASKORBİK ASİT VE pH'NİN KIRMIZI PANCAR (*Beta vulgaris* L.) BETASIYANİNLERİNİN BOZUNMA KİNETİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

*Esra TEKİN**
*Hasan TÜRE***
*Işıl BARUTÇU MAZİ**

Alınma:27.12.2017; düzeltme:29.05.2018; kabul:18.06.2018

Öz: Bu çalışmada farklı sıcaklık (4, 25, 40, 60°C) ve pH (5,5, 7,5, 9,5) koşullarında stabilizatör olarak askorbik asit ilavesinin kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) suyu betasiyanin pigmentlerinin bozunma kinetiği üzerine etkileri incelenmiştir. Genel olarak betasiyaninlerin bozunumunun tüm koşullar için birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uyum sağladığı görülse de, pH 5,5'ta askorbik asit ilavesiyle ve tüm pH değerlerinde 4°C sıcaklıkta betasiyanin bozunum kinetiğinin değişim gösterdiği ve ikinci dereceden reaksiyon kinetiğine daha iyi uyum sağladığı tespit edilmiştir. Reaksiyon hız sabiti (k) değerlerinin artan pH ve sıcaklık ile önemli derecede arttığı gözlenmiştir. Askorbik asit ilavesi ile k değerleri önemli oranda azalırken, aktivasyon enerjisi (Ea) değerleri artmaktadır. Tüm sonuçlar içerisinde en düşük k değerine 4°C'de 5,5 pH'da askorbik asit ilave edilmiş örneklerde $0,006 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$ değeri ile ulaşılırken en yüksek k değerlerine 60°C'de 9,5 pH'da askorbik asit ilavesiz örneklerde $28,65 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$ değeri ile ulaşılmıştır. 53,4-87,7 kJ/mol arasında değişen aktivasyon enerjisi değerleri, pH 9,5'ta en düşük bulunmuştur. Ayrıca örneklerin renk değişim kinetiği de birinci dereceden model kullanılarak incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Betasiyanin, Kırmızı pancar, Askorbik asit, Kinetik

Investigation of the Influences of Temperature, Ascorbic Acid and pH on the Kinetics of Degradation of Red Beet (*Beta vulgaris* L.) Betacyanins

Abstract: In this study, the effect of ascorbic acid addition as stabilizer on degradation kinetics of betacyanin pigments of red beet (*Beta vulgaris* L.) extract was investigated under different temperature (4, 25, 40, 60°C) and pH (5.5, 7.5, 9.5) conditions. In general, although the degradation of betacyanins seems to follow the first-order reaction kinetics under all investigated conditions, it was determined that the degradation kinetics of betacyanins shows a change and indicates a better fit to the second order reaction kinetics at pH 5.5 with the addition of ascorbic acid and at the temperature of 4°C. It was observed that reaction rate constant (k) values increased significantly with increasing pH and temperature. k values decreased significantly while activation energy (Ea) values increased with the addition of ascorbic acid. Among all results, the lowest k value was reached at 4°C and pH 5.5 with a value of $0.006 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ in the samples with ascorbic acid, while the highest k value was reached at 60°C and 9.5 pH with a value of $28.65 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ in the samples without ascorbic acid. Activation energy value ranging between 53.4 and 87.7 kJ/mol was found to be lowest at pH 9.5. The kinetic of color change was also evaluated using the first order model.

Keywords: Betacyanin, Red beet, Ascorbic acid, Kinetic

* Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 52200, Altınordu-Ordu

** Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Mühendisliği, 52400, Fatsa-Ordu
İletişim Yazarı: Işıl BARUTÇU MAZİ (ibarutcu@odu.edu.tr)

1. GİRİŞ

Betalainler suda çözünebilir ve nitrojen içeren betalamik asit türevi doğal pigmentlerdir. Betalainlerin doğal kırmızı renk verici madde olarak ana ticari kaynağı kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) köküdür (Azeredo, 2009). Kırmızı pancardan elde edilen betalainler geniş bir pH aralığında (pH 3-7) renk stabilitesine sahip olsa da, gıdalarda renk maddesi olarak kullanımı antosiyaninlere ve karotenoidlere göre düşüktür (Strack ve diğ., 2003; Stintzing ve Carle, 2004). Betalain pigmentleri için, kırmızı pancar dışında, kaktüs meyvesi gibi alternatif bitki kaynaklarının araştırılmasından elde edilen sonuçlar, bu pigmentlerin gıda maddelerine uygulama alanını genişletmiştir (Polturak ve Aharoni, 2018; Gengatharan ve diğ., 2016; Herbach ve diğ., 2006b, 2007). Ancak halen kırmızı pancar, ticari açıdan en yaygın olarak kullanılan pigment kaynağıdır (Stintzing ve Carle, 2007). Günümüzde de enkapsülasyon gibi yeni teknikler kullanılarak betalain pigmentlerinin stabilitesinin artırılması yönünde çalışmalar devam etmektedir (Amjadi ve diğ., 2018; Antigo ve diğ., 2018; Shaaruddin ve diğ., 2017). Betalainler renk maddesi olarak kullanılabilmesinin yanı sıra insan sağlığı açısından da önemli görülmektedir (Slimen ve diğ., 2017; Khan, 2016). Kırmızı pancardan elde edilen betalain pigmentlerinin antioksidan ve radikal süpürücü aktiviteye sahip bileşikler olduğu (Gandia-Herrero ve diğ., 2016) ve betalain içeren ürünlerin insanlardaki oksidatif stres ilişkili bazı bozukluklara karşı koruma sağlayabileceği (Kanner ve diğ., 2001; Gentile ve diğ., 2004) rapor edilmiştir. Pancar kökü pigmentlerinin deri, akciğer, kolon kanseri gibi farklı kanser türlerini önlemede önemli etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Kapadia ve diğ., 1996; Reddy ve diğ., 2005). Bu nedenle betalainler kullanımda olan bazı sentetik renklendiricilere karşı güvenilir, doğal bir alternatif olarak tercih edilmektedir. Betalainler, geniş bir pH stabilitesine sahip olmaları nedeniyle özellikle düşük asitli gıdalar için uygundur. Ülkemizde gıdalarda renklendirici olarak kullanılan betanin (E162) pancar kökü kırmızı olarak ta adlandırılmakta ve Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiricilerin Sağlık Kriterleri Tebliği'ne (No: 2002/27) göre kırmızı pancar köklerinin sulu ekstraksiyonu ile elde edilen betalain sınıfına ait farklı pigmentlerden oluştuğu ifade edilmektedir. Pancar kırmızısı (E162), dondurma, dondurulmuş tatlılar, yoğurt, peynir, sosis, toz içecekler, kurutulmuş meyve ve sebzeler, jöleler, sert şekerler, sakız, kahvaltılık tahıllar gibi gıdalara renk vermek için kullanılmaktadır ve kullanımına ilişkin herhangi bir üst sınır belirlenmemiştir (EFSA, 2015).

Kırmızı pancarın betalain içeriğinin 380mg/100g taze ağırlık olduğu bildirilmektedir (Attia ve diğ., 2013). Kırmızı pancarda bulunan betalainler yapısal olarak kırmızı-mor renge sahip betasiyaninler ($\lambda_{max} \sim 540$ nm) ve sarı renge sahip betaksantinler ($\lambda_{max} \sim 480$ nm) olmak üzere başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Nilsson (1970) kültivatöre bağlı olarak kırmızı pancarın betasiyanin ve betaksantin oranlarını sırasıyla 0,04-0,21% ve 0,02-0,14% olarak bulmuştur. Betalainler gıda renklendiricisi olarak kullanıldığında, rengin korunabilmesi açısından betalain stabilitesine etki eden faktörlerin bilinmesi önemlidir. Pigment yapısı ve konsantrasyonu, sıcaklık, pH, oksijen, ışık, su aktivitesi, metal katyonları, antioksidan ve enzimlerin varlığı depolama süresince betalain pigmentlerinin stabilitesini etkileyen faktörler arasındadır (Azeredo, 2009; Sumaya-Martínez ve diğ., 2011; Slimen ve diğ., 2017). Von Elbe ve diğ. (1974) model sistemlerde yaptıkları çalışmalarda, pancar pigmentlerinin ısıya karşı oldukça hassas olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak pancardan elde edilen betalain pigmentleri, soya proteini, protein jeli, sosis gibi bazı gıdalara eklendiğinde, depolama süresince rengin, model sistemlerle karşılaştırıldığında, oldukça stabil kaldığı gösterilmiştir (Yıldız Turp ve diğ., 2016 ; von Elbe ve Maing, 1973; von Elbe ve diğ., 1974). Pedreno ve Escibano (2001) kırmızı pancar kökü ekstraktından ayırt ettikleri betanin pigmentinin farklı pH (3,5 ve 8,5) ve sıcaklıklardaki (25, 50, 75°C) stabilitesini inceledikleri çalışmalarında, artan sıcaklık ve pH ile betaninin degradasyon hızının arttığını göstermişlerdir.

Asitlendirilmiş etanol ile kırmızı pancardan ekstrakte edilerek elde edilen betaninin stabilitesi üzerine farklı pH (2-10) ve sıcaklığın (40-100°C) etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada pH 3-7 aralığında ve sıcaklık 40-50°C arasında, stabilitenin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Attia ve diğ., 2013). Yapılan çalışmalara bakıldığında pigment stabilitesini artırmak amacı ile eklenen antioksidanın etkisinin, sıcaklık, pH, ışık, konsantrasyon gibi faktörlere göre değişim gösterdiği görülmektedir (Mosshammer ve diğ., 2007; Elbandy ve Abdelfadeil, 2008; Woo ve diğ., 2011). Su ile ekstrakte edilen betalain pigmentlerinin farklı pH'lardaki stabilitesinin araştırıldığı bir çalışmada, maksimum kırmızı renk değerinin pH 7'de elde edildiği, pigment ekstraktına askorbik asit ilavesi ile renk stabilitesinin arttığı görülmüştür (Elbandy ve Abdelfadeil, 2008). Ancak, literatürde, farklı koşullarda yapılan çalışmalarda, askorbik asit ilavesinin betalainin bozunmasını hızlandırdığının da rapor edildiği görülmektedir (Herbach ve diğ., 2006b; Azeredo, 2009). Literatürde askorbik asit ilavesinin farklı sıcaklık ve pH'larda betalain pigmentlerinin bozunmasında kinetik parametrelerin belirlenmesi üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışmada, askorbik asit ilavesinin, kırmızı pancardan elde edilen ekstraktta bulunan betasiyanin pigmentlerinin farklı sıcaklık (4, 25, 40 ve 60°C) ve pH'larda (5,5, 7,5 ve 9,5) degradasyonuna ait kinetik parametreler üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca ekstraktların renk tonu değişim kinetiği de incelenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Kırmızı pancarlar yerel marketten temin edilerek analizler yapılincaya kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışmada kullanılan asetik asit, sodyum asetat, sodyum benzoat, glisin, HCl, NaOH ve sodyum fosfat analitik saflıkta olup Merck ve Sigma-Aldrich firmalarından sağlanmıştır.

2.1. Ekstraksiyon

Yıkayıp kabuğu soyulduktan sonra blender yardımıyla parçalanmış 100 gr kırmızı pancar pH 5,5 (asetik asit + sodyum asetat), pH 7,5 (sodyum fosfat) ve pH 9,5 (glisin + NaOH) bufferlarına (1L) eklenerek bir dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir (Elbandy ve Abdelfadeil, 2008). Daha sonra süzme bezi ile sıkılarak süzölmüş ve süzöntü 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Ayrıca askorbik asidin etkisinin gözlenmesi amacı ile de süzöntüye 0,5 g/100 ml oranında askorbik asit ilave edilmiştir (Herbach ve diğ., 2006b). Elde edilen süzöntülerin pH'sı NaOH (0,1 mol/L) ve HCl (0,1 mol/L) kullanılarak ayarlanmıştır. Hazırlanan örnekler koruyucu olarak 0,1 g/100 ml oranında sodyum benzoat eklendikten sonra (Moldovan ve David, 2014), örnekler 10ml lik amber renkli kapaklı cam şişelere konularak, şişeler parafillenmiş ve 4, 25, 40 ve 60°C sıcaklıklarda bekletilmiştir (Reshmi ve diğ., 2012; Roy ve diğ., 2004).

2.2. Betasiyanin Konsantrasyonunun Hesaplanması

Örneklerin 200 ve 600 nm aralığında UV/Vis spektrofotometrede (UV-mini 1240, SHIMADZU) absorbans değerleri okunmuş ve 536 nm 'de maksimum absorbans değeri verdiği saptanmıştır. Örneklerin 536nm deki absorbans değerleri belirli aralıklarda ölçülmüştür. Toplam betasiyanin konsantrasyonu betanin eşdeğeri cinsinden aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Betasiyanin (betanin eşdeğeri)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times SF \times MW \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

Burada, A, bulanıklık çıkarıldıktan sonraki absorbands değeri, SF, seyreltme faktörü, MW, molekül ağırlığı, molekül ağırlığı, ϵ , molar sönüm katsayısı (molar extinction coefficient) ve l , absorbands ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı ya da küvet uzunluğu (1cm) dur. Betanin için molar absorbands değeri (ϵ) 60.000 L/ mol.cm, molekül ağırlığı (MW) 550 g/mol olarak alınmıştır (Sumaya-Martínez ve diğ., 2011; Priatni ve Pradita, 2015).

2.3. Renk Tonu Tayini

Örneklerin 1 mm kalınlığındaki küvetlerde, 420 nm ve 520 nm'lerde saf suya karşı UV/Vis spektrofotometrede (UV-mini 1240, SHIMADZU) absorbands değerleri belirli aralıklarla okunmuş ve bunların oranları (A420/A520) renk tonu olarak verilmiştir (Tangüler, 2010). Tangüler (2010) farklı yöntemlerle üretilen şalgam sularının 420 nm ve 520 nm'lerde saf suya karşı absorbandslarını belirleyerek bunların oranını renk tonu olarak vermiştir

2.4. Reaksiyon Hız Sabiti (k) Hesaplanması

Literatüre bakıldığında farklı kaynaklardan elde edilen betalain pigmentlerinin, oluşturulan model sistemlerde farklı pH ve sıcaklıklardaki bozunumunun birinci dereceden kinetiği takip ettiği görülmektedir (von Elbe ve diğ., 1974; Saguy ve diğ., 1978; Drdak ve Vallova, 1990; Priatni ve Pradita, 2015; Sanchez-Chavez ve diğ., 2015). Bu çalışmada, incelenen koşullarda elde edilen betasiyanin konsantrasyon verilerinin, sıfırıncı (Eşitlik 2), birinci (Eşitlik 3) ve ikinci (Eşitlik 4) derece kinetik denklemlere uyumu incelenmiş ve reaksiyon hız sabitleri hesaplanmıştır (Labuza, 1984). Ayrıca renk tonu verilerinin de birinci dereceden kinetik denkleme uyumu incelenmiştir.

$$[C] - [C_0] = -kt \quad (2)$$

$$\ln[C] - \ln[C_0] = -kt \quad (3)$$

$$\frac{1}{[C]} - \frac{1}{[C_0]} = kt \quad (4)$$

Burada, C_0 , başlangıç betasiyanin konsantrasyonu veya başlangıç renk tonu değeri, C , (t) süre sonundaki betasiyanin konsantrasyonu veya renk tonu değeri ve k , reaksiyon hız sabitidir. Elde edilen lineer kurvelere basit doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve her bir eşitlik için belirleme katsayıları (R^2) değerleri belirlenmiştir (Microsoft Excel 2010). Regresyon analizi sonucunda elde edilen denklemlerin eğim değeri reaksiyon hız sabitini vermektedir. R^2 değerinin 1'e yakın olması ve SEE değerinin küçük olması doğrusal regresyonun iyi sonuç verdiğinin bir göstergesidir.

2.5. Yarılanma Süresinin ($t_{1/2}$) Hesaplanması

Başlangıçtaki derişimin yarıya inmesi için geçecek süreyi ifade eden yarılanma süresi ($t_{1/2}$) birinci derece kinetiğe uyan tepkimeler için aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$t_{1/2} = \ln(2) / k \quad (5)$$

2.6. Aktivasyon Enerjisinin (E_a) Hesaplanması

Tepkime hızı ve sıcaklık arasındaki ilişkiyi veren Arrhenius eşitliği yardımı ile renk tonu değişimi ve betanin degradasyonu ile ilgili reaksiyonların aktivasyon enerjisi değerleri hesaplanmıştır (Labuza, 1984).

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad \text{veya} \quad \ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (6)$$

Burada; k, reaksiyon hız sabiti, A, frekans faktörü, R, gaz sabiti (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹), T, sıcaklık (K) ve E_a, aktivasyon enerjisi (J mol⁻¹) dir. Hesaplanmış olan k değerlerinin doğal logaritmaları (lnk), bu değerlere karşılık gelen sıcaklık değerlerinin resiprokaline (1/T) karşı çizilerek elde edilen lineer kurveye basit doğrusal regresyon analizi uygulanmıştır. Elde edilen denklemdeki eğim değeri ile gaz sabiti çarpılarak aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır. Excel kullanılarak uygulanan doğrusal regresyon analizi ile belirleme katsayıları (R²) ve tahminin standart hatası (Standard Error of Estimates-SEE) değerleri belirlenmiştir. Ayrıca lineer kurveye uygulanan doğrusal regresyon analizi sonucunda elde edilen eğim ve kesim noktası parametrelerinin pH ile ilişkisi matematiksel bir fonksiyon ile belirlenmiş (Excel) ve reaksiyon hız sabitinin sıcaklık ve pH ile ilişkisini ifade eden matematiksel eşitlikler elde edilmiştir.

2.7. İstatistiksel Analizler

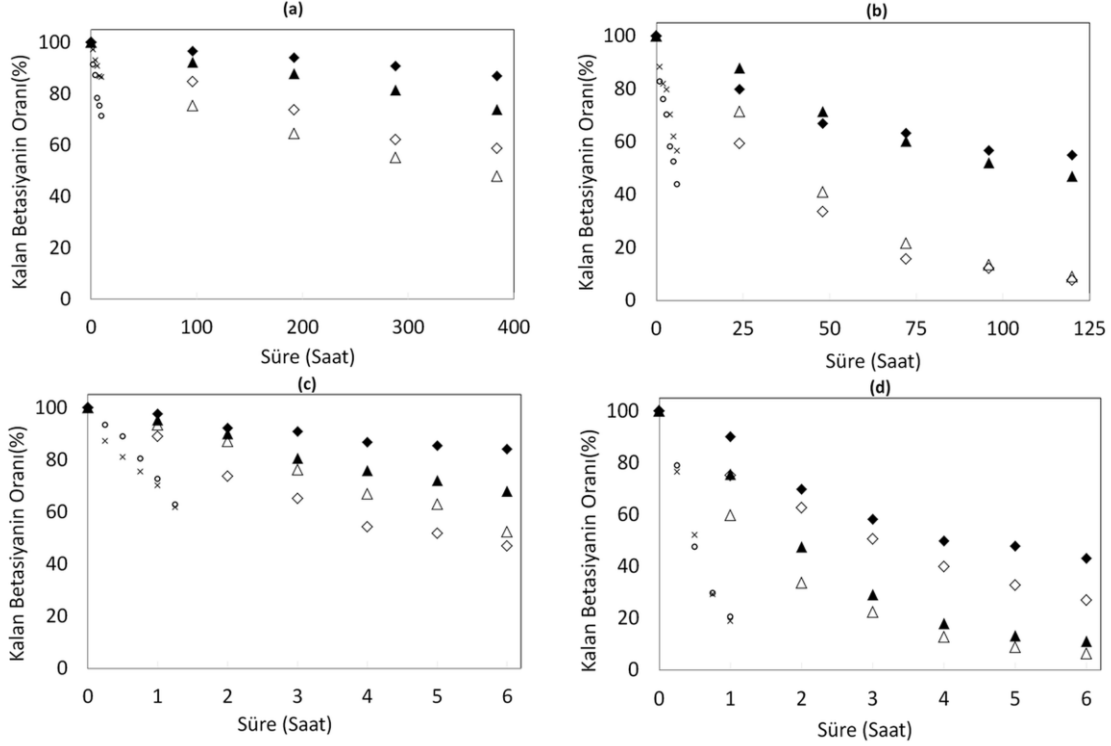
Analizler üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Analizlerden elde edilen verilerin varyans analizi (Genel Doğrusal Model), Minitab 17 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi'yle karşılaştırılmıştır (p < 0,05).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Kırmızı pancar kökünün farklı tampon çözeltilerinde (pH 5,5, 7,5, 9,5) ekstrakte edilmesi ile elde edilen betasiyanin pigmentlerinin, askorbik asit ilave edilerek ve edilmeden, farklı sıcaklıklarda (4, 25, 40, 60°C) bekletilmesiyle bozunumu sonucu ortamda kalan betasiyanin oranlarının zamanla değişimi Şekil 1'de verilmiştir. Sıcaklık, pH ve askorbik asit ilavesinin betasiyanin stabilitesi üzerine etkili olduğu görülmektedir.

Kırmızı pancar betasiyanin pigmentlerinin farklı pH ve sıcaklık değerlerinde birinci derece degradasyon reaksiyonuna ait hız sabiti (k) değerleri ve yarı-ömür süreleri (t_{1/2}) Tablo 1'de özetlenmiştir. Tüm örnekler için belirleme katsayıları (R²) 0,92 değeri üzerindedir. Isıl işlem süresince betanin izomerizasyon, dekarboksilasyon veya ayrılma reaksiyonları ile bozunuma uğrayabilmektedir (Herbach ve diğ., 2006b). Elde edilen sonuçlar, betasiyaninlerin degradasyonunun tüm koşullar için, birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uyduğunu göstermektedir. Sanchez-Chavez ve diğ. (2015) pancar ve baldan yapılmış olan ticari bir içecekteki (pH=5,2) betasiyanin ve betaksantin pigmentlerinin 30, 40 ve 50°C sıcaklıklarındaki bozunum kinetiğini inceledikleri çalışmalarında, elde ettikleri verilerin sıfırıncı, birinci ve ikinci derece kinetik modellere uyumunu incelemişler, en yüksek belirleme katsayıları ile en düşük ortalama karesel hata değerlerini sağlamasından dolayı pigmentlerin degradasyonunun üç sıcaklıkta da birinci dereceden kinetiği takip ettiğini tespit etmişler ve birinci derece reaksiyon hız sabiti değerlerini 0,083-1,23×10⁻³ dak⁻¹ aralığında bulmuşlardır. Saguy ve diğ. (1978) kırmızı pancar betaninlerinin termal kinetik degradasyonunu inceledikleri çalışmalarında, betaninin betalamik aside degradasyonunun birinci dereceden bir reaksiyon olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde, Priatni ve Pradita (2015) farklı bir betalain kaynağı olan kırmızı ejder meyvesi kabuklarından su ile

ekstrakte edilen betasiyaninlerin 50, 60 ve 70°C'lerdeki bozunumlarının birinci derece kinetiğe uyduğunu rapor etmişlerdir.



Şekil 1

İnkübasyon süresince (a)4°C, (b)25°C, (c) 40°C ve (d) 60°C sıcaklıklarında kalan betasiyanin oranları(%). ◆ pH 5,5, askorbik asit ilaveli, ◇ pH 5,5 askorbik asit ilavesiz, ▲ pH 7,5, askorbik asit ilaveli, △ pH 7,5 askorbik asit ilavesiz, × pH 9,5, askorbik asit ilaveli, ○ pH 9,5, askorbik asit ilavesiz

Varyans analizi sonucunda sıcaklık ve pH 'nın k değerleri üzerine etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca sıcaklık ve pH'nın birlikte etkisinin (interaksiyon etkisi) önemli düzeyde olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Tüm pH değerleri için artan sıcaklık ile k değerlerinin önemli ölçüde arttığı, yarılanma sürelerinin ($t_{1/2}$) ise azaldığı görülmektedir. Sıcaklık derecesi yükseldikçe betaninlerin stabilitesinin azalması beklenen bir durumdur (Herbach ve diğ., 2006b). Betanin pigmentlerinin termostabiliteilerinin pH'ya bağlı olarak değiştiği bilinmektedir (von Elbe ve diğ., 1974). Artan sıcaklık ile reaksiyon hız sabitindeki artışa bakıldığında, en yüksek artışın pH 5,5'ta sıcaklığın 4°C'den 25°C'ye artması ile olduğu görülmektedir. Bu artış askorbik asit içermeyen örnekler için 15,3, içeren örnekler içinse 13,5 kat olarak tespit edilmiştir. Aynı sıcaklıkta, k değerlerinin pH ile değişimine bakıldığında, tüm sıcaklıklar için pH 9,5'ta elde edilen k değerlerinin pH 5,5 ve 7,5'ta elde edilen değerlere göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. pH 9,5'ta reaksiyon hız sabiti değeri, pH 5,5 ve 7,5'taki örneklerle göre, en düşük sıcaklıkta bile oldukça yüksek iken pH 7,5'ta k değerlerindeki artış 40°C'den sonra belirgin olmuştur. pH 5,5 'ta stabilitenin yüksek olması beklenen bir durumdur. Literatüre bakıldığında betasiyanin pigmentlerinin ısıya karşı stabiliteilerinin pH 4-6 arasında maksimum olduğu görülmektedir (von Elbe ve diğ., 1974; Reshmi ve diğ., 2012). Reshmi ve diğ., (2012) *Basella alba* meyvesinden elde ettikleri betasiyanin pigmentlerinin stabilitesi üzerine ışık, sıcaklık (10-70°C) ve pH'nın (1,1-10,5) etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, elde

ettikleri betasiyanin ekstraktlarının zayıf asit ve nötral pH değerlerinde, alkali koşullara göre daha stabil olduğunu belirlemişlerdir.

Örneklerin reaksiyon hız sabiti değerlerinin askorbik asit ilavesi ile önemli oranda azaldığı görülmektedir. Reaksiyon hız sabitinin azalması stabilitenin artması anlamına gelmektedir. Cai ve Corke (1999) *Amaranthus* bitkisinden elde ettikleri betasiyaninleri jöle, dondurma ve model bir içecek içerisine ekleyerek farklı sıcaklıklarda renk stabilitesini inceledikleri çalışmalarında, askorbik asit ilavesinin *Amaranthus* betasiyaninleri üzerine koruyucu etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Betasiyanin kaynağı olarak kırmızı pancara alternatif olarak düşünülen mor pitaya suyunun renk stabilitesinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, %0,1 ve %1,0 oranlarında askorbik asit ilavesinin, 85°C'de 1 saat ısıtma işlem görmüş pitaya suyunun (pH 4 ve 6) renk stabilitesini önemli oranda artırdığı tespit edilmiştir (Herbach ve diğ., 2006a). Bu çalışmada askorbik asit ilavesi sonucu hız sabiti değerindeki düşüş en fazla pH 5,5'ta 25 ve 40°C'lerde sırasıyla %77,9 ve %76,9 oranlarında gerçekleşmiştir. Aynı sıcaklık değerleri için artan pH ile askorbik asit ilavesi etkisinin daha az olduğu tespit edilmiştir. pH 9,5'ta düşük sıcaklıklarda askorbik asit eklenmesi ile %29,0-54,1 oranında bir azalma olsa da, 40 ve 60°C'lerde askorbik asit eklenmesinin bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Bu durum betanin degradasyon hızının yüksek sıcaklık ve pH değerinde yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Askorbik asit ilave edilmemiş örnekler için, pH değerinin 5,5'tan 7,5 değerine yükselmesinin, 4°C, 25°C ve 40°C sıcaklıklarında k değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı, 60°C'de ise önemli oranda artışa neden olduğu görülmektedir. Askorbik asit ilave edilmiş örneklerde ise 4°C ve 25°C'lerde örneklerin k değerleri arasında önemli bir fark yok iken, 40°C ve 60°C'lerde, k değeri artan pH değeri ile artmaktadır. Tüm sonuçlar içerisinde en yüksek k değeri ($28,65 \times 10^{-3} \text{ dak}^{-1}$), 60°C'de 9,5 pH'da askorbik asit ilavesiz örneklerde elde edilmiştir.

Çalışmada ayrıca betasiyanin pigmentlerine ait elde edilen verilerin sıfırıncı ve ikinci dereceden kinetik modellere uyumu da incelenmiş, elde edilen belirleme katsayıları (R^2) ve reaksiyon hız sabiti değerleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Sıfırıncı derece kinetik model için elde edilen belirleme katsayılarının birinci dereceden kinetik modele göre daha düşük olduğu görülmektedir. Öte yandan askorbik asit ilave edilmiş örnekler için pH 5,5'ta tüm sıcaklıklarda, pH 7,5'ta 4 ve 25°C sıcaklıklarda ve diğer tüm örnekler için 4°C sıcaklıkta betasiyaninlerin bozunumunun ikinci dereceden denkleme uyumuna ait R^2 değerlerinde, birinci dereceden uyumuna ait R^2 değerlerine kıyasla az da olsa bir artış olduğu görülmektedir. Bu durum askorbik asit ilavesinin pH 5,5'ta betasiyaninlerin bozunum kinetiğini etkilediğini göstermektedir. Ayrıca en düşük sıcaklık olan 4°C'de de betasiyaninlerin bozunum kinetiğinde değişim olduğu söylenebilir. Özkan (2002) hidrojen peroksit ve askorbik asit varlığında, vişne suyu antosiyaninlerinin degradasyon kinetiğini incelediği çalışmasında, hidrojen peroksit varlığında antosiyanin degradasyonunun birinci dereceden kinetiği takip ettiğini ancak 60mg seviyesinde askorbik asit ilavesi sonucu degradasyonun ikinci dereceden reaksiyon kinetiğine daha iyi uyum sağladığını rapor etmiştir.

Askorbik asit ilaveli ve askorbik asitsiz örnekler için, birinci dereceden bozulma kinetiğine ait hız sabiti değerleri kullanılarak, 3 farklı pH değerinde (5,5, 7,5, 9,5) aktivasyon enerjisi (E_a) ve regresyon denklemlerine ait R^2 ve SEE değerleri elde edilmiştir (Tablo 3). Tüm örnekler için belirleme katsayılarının (R^2) yüksek olması (0,947-0,998), reaksiyon hız sabitlerinin sıcaklığa bağlılığının Arrhenius denklemini takip ettiğini göstermektedir. Aktivasyon enerjisi, k değerinin sıcaklığa bağlılığını göstermektedir. Aktivasyon enerjisinin yüksek olması reaksiyon hızının sıcaklıktaki değişimlere daha duyarlı olduğunu gösterir (Ling ve diğ., 2015). Aktivasyon enerjisinin, yani reaksiyon hızındaki değişimin sıcaklığa karşı duyarlılığının, pH 9,5'ta en düşük olduğu görülmektedir. Bu sonuç pH 9,5'ta elde edilen yüksek degradasyon hızından kaynaklanmaktadır. pH 9,5'ta 25-60°C arasında örneklerin yarılanma ömürleri 0,4-7,5 dakika

arasındadır. Drdak ve Vallova (1990) kırmızı pancardan izole ettikleri betaninlerden hazırladıkları model solüsyonda (pH=5,0), termal degradasyon için aktivasyon enerjisini 60-86 °C arasında 144,8 kJ/mol olarak hesaplamışlardır. Sanchez-Chavez ve diğ. (2015) pancar ve baldan yapılmış olan ticari bir içecekteki (pH=5,2) betasiyanin ve betaksantin pigmentlerinin 30-50°C arasındaki degradasyonuna ait aktivasyon enerjilerini sırası ile 99,01 ve 83,29 kJ/mol olarak hesaplamışlardır. Bu çalışmada elde edilen aktivasyon enerjisi değerleri 53,42 ile 87,76 kJ/mol arasındadır. Elde edilen aktivasyon enerjisi değerleri arasındaki bu fark betalainlerin thermal stabilitesinin pek çok faktöre bağlı olarak değişmesinden kaynaklanmaktadır. Betalain pigmentlerinin stabilitesinin pH (von Elbe ve diğ., 1974) dışında pancar türüne göre de değiştiği bilinmektedir (Sapers ve Hornstein, 1979). Ayrıca, betalain pigmentlerinin termal stabilitesinin degradasyonun gerçekleştiği ortamda bulunan bileşiklere bağlı olarak değiştiği (Sumaya-Martinez ve diğ., 2011) ve ekstrakt içerisinde iken saflaştırılmış haline göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (von Elbe ve diğ., 1974; Cai ve diğ., 2001). Askorbik asit eklenmesi ile aktivasyon enerjisi tüm pH değerleri için artış göstermiştir. Kopjar ve diğ. (2009) benzer şekilde kırmızı frenk üzümü suyuna farklı fenolik maddeler (katekol, klorojenik asit, kateşin, gallik asit) eklenmesiyle antosiyaninlerin termal degradasyonuna ait aktivasyon enerjilerinde artış tespit etmişlerdir.

Tablo 1. Kırmızı pancar betasiyaninlerinin farklı pH ve sıcaklıklarda depolanması sırasında birinci derece bozulma kinetiğine ait hız sabiti (k) ve yarılanma süresi ($t_{1/2}$) değerleri

| | pH | Sıcaklık (°C) | Denklem | R ² | SEE | $k \times 10^3$ (dak ⁻¹) | $t_{1/2} \times 10^{-3}$ (dak) |
|------------------------|-----|---------------|-------------------------------------|----------------|-------|--------------------------------------|--------------------------------|
| Askorbik asit ilaveli | 5,5 | 4 | $y = -6,00 \times 10^{-6}x + 2,706$ | 0,993 | 0,005 | $0,006 \pm 0,001a^1$ | 116,969 |
| | | 25 | $y = -8,10 \times 10^{-5}x + 2,621$ | 0,921 | 0,071 | $0,081 \pm 0,001a$ | 8,558 |
| | | 40 | $y = -5,03 \times 10^{-4}x + 3,100$ | 0,968 | 0,013 | $0,503 \pm 0,033b$ | 1,380 |
| | | 60 | $y = -2,46 \times 10^{-3}x + 3,080$ | 0,962 | 0,069 | $2,458 \pm 0,047c$ | 0,282 |
| | 7,5 | 4 | $y = -1,30 \times 10^{-5}x + 2,251$ | 0,989 | 0,014 | $0,013 \pm 0,000a$ | 54,385 |
| | | 25 | $y = -1,10 \times 10^{-4}x + 2,505$ | 0,991 | 0,031 | $0,110 \pm 0,001a$ | 6,330 |
| | | 40 | $y = -1,12 \times 10^{-3}x + 2,821$ | 0,989 | 0,017 | $1,123 \pm 0,018b$ | 0,618 |
| | | 60 | $y = -6,60 \times 10^{-3}x + 2,827$ | 0,986 | 0,112 | $6,596 \pm 0,100c$ | 0,105 |
| | 9,5 | 4 | $y = -2,59 \times 10^{-4}x + 2,626$ | 0,983 | 0,011 | $0,259 \pm 0,018a$ | 2,681 |
| | | 25 | $y = -1,54 \times 10^{-3}x + 2,624$ | 0,984 | 0,028 | $1,543 \pm 0,016b$ | 0,449 |
| | | 40 | $y = -5,96 \times 10^{-3}x + 2,547$ | 0,985 | 0,023 | $5,958 \pm 0,035c$ | 0,116 |
| | | 60 | $y = -2,77 \times 10^{-2}x + 2,664$ | 0,984 | 0,098 | $27,667 \pm 0,471d$ | 0,025 |
| Askorbik asit ilavesiz | 5,5 | 4 | $y = 2,40 \times 10^{-5}x + 2,664$ | 0,979 | 0,036 | $0,024 \pm 0,000a$ | 29,085 |
| | | 25 | $y = 3,66 \times 10^{-4}x + 2,659$ | 0,986 | 0,132 | $0,367 \pm 0,006b$ | 1,895 |
| | | 40 | $y = 2,18 \times 10^{-3}x + 3,086$ | 0,980 | 0,044 | $2,179 \pm 0,006c$ | 0,318 |
| | | 60 | $y = 3,60 \times 10^{-3}x + 3,071$ | 0,998 | 0,024 | $3,600 \pm 0,165d$ | 0,193 |
| | 7,5 | 4 | $y = -3,10 \times 10^{-5}x + 2,437$ | 0,978 | 0,049 | $0,031 \pm 0,000a$ | 22,360 |
| | | 25 | $y = -3,61 \times 10^{-4}x + 2,560$ | 0,994 | 0,084 | $0,361 \pm 0,013a$ | 1,921 |
| | | 40 | $y = -1,78 \times 10^{-3}x + 2,866$ | 0,982 | 0,035 | $1,784 \pm 0,169b$ | 0,390 |
| | | 60 | $y = -7,79 \times 10^{-3}x + 2,751$ | 0,993 | 0,093 | $7,791 \pm 0,197c$ | 0,089 |
| | 9,5 | 4 | $y = -5,64 \times 10^{-4}x + 2,686$ | 0,983 | 0,019 | $0,564 \pm 0,020a$ | 1,229 |
| | | 25 | $y = -2,17 \times 10^{-3}x + 2,685$ | 0,987 | 0,035 | $2,175 \pm 0,130b$ | 0,319 |
| | | 40 | $y = -6,11 \times 10^{-3}x + 2,523$ | 0,970 | 0,033 | $6,108 \pm 0,200c$ | 0,114 |
| | | 60 | $y = -2,86 \times 10^{-3}x + 2,574$ | 0,989 | 0,078 | $28,650 \pm 0,071d$ | 0,024 |

¹Her pH değerindeki farklı sıcaklıklar için, aynı sütun içinde bulunan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ile gösterilen ortalama k değerleri arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05)

Tablo 2. Kırmızı pancar betasiyaninlerinin farklı pH ve sıcaklıklarda depolanması sırasında sıfıncı ve ikinci derece bozulma kinetiğine ait hız sabiti (k) ve yarılanma süresi ($t_{1/2}$) değerleri

| | pH | Sıcaklık (°C) | Sıfıncı derece | | İkinci derece | |
|------------------------|-----|---------------|--------------------------------------|----------------|--------------------------------------|----------------|
| | | | $k \times 10^3$ (dak ⁻¹) | R ² | $k \times 10^3$ (dak ⁻¹) | R ² |
| Askorbik asit ilaveli | 5,5 | 4 | 0,083±0,012 | 0,924 | 0,0004±0,0001 | 0,994 |
| | | 25 | 0,886±0,010 | 0,782 | 0,008±0,0000 | 0,957 |
| | | 40 | 10,291±0,741 | 0,946 | 0,025±0,001 | 0,972 |
| | | 60 | 36,597±0,532 | 0,900 | 0,173±0,004 | 0,975 |
| | 7,5 | 4 | 0,135±0,000 | 0,979 | 0,001±0,0000 | 0,992 |
| | | 25 | 0,935±0,006 | 0,963 | 0,013±0,0002 | 0,993 |
| | | 40 | 15,526±0,228 | 0,984 | 0,082±0,001 | 0,989 |
| | | 60 | 41,708±0,355 | 0,848 | 1,547 ±0,194 | 0,954 |
| | 9,5 | 4 | 3,319±0,223 | 0,969 | 0,021±0,001 | 0,989 |
| | | 25 | 16,164±0,136 | 0,975 | 0,150±0,002 | 0,966 |
| | | 40 | 61,500±0,427 | 0,956 | 0,587±0,002 | 0,981 |
| | | 60 | 182,067±0,306 | 0,981 | 5,483±0,015 | 0,906 |
| Askorbik asit ilavesiz | 5,5 | 4 | 0,267±0,006 | 0,948 | 0,002±0,0000 | 0,986 |
| | | 25 | 1,844±0,016 | 0,768 | 0,112±0,005 | 0,930 |
| | | 40 | 33,606±0,162 | 0,937 | 0,146±0,0002 | 0,970 |
| | | 60 | 43,466±2,37 | 0,900 | 0,333±0,012 | 0,975 |
| | 7,5 | 4 | 0,261±0,001 | 0,890 | 0,004±0,000 | 0,997 |
| | | 25 | 1,565±0,016 | 0,882 | 0,129±0,003 | 0,913 |
| | | 40 | 22,587±2,013 | 0,975 | 0,145±0,014 | 0,954 |
| | | 60 | 40,718±1,065 | 0,683 | 2,417±0,097 | 0,927 |
| | 9,5 | 4 | 7,073±0,269 | 0,964 | 0,046±0,001 | 0,988 |
| | | 25 | 21,804±0,904 | 0,959 | 0,226±0,020 | 0,964 |
| | | 40 | 59,914±1,658 | 0,958 | 0,633±0,026 | 0,945 |
| | | 60 | 169,250±1,721 | 0,964 | 5,407±0,200 | 0,939 |

Tablo 3. Kırmızı pancar betasiyaninlerinin farklı pH'larda depolanması sırasında bozulma kinetiğine ait aktivasyon enerjisi (Ea) değerleri

| | pH | Denklem $k=a \cdot \exp[-b \cdot (1/T)]$ | R ² | SEE | Ea (kJ/mol) |
|------------------------|-----|---|----------------|-------|-------------|
| Askorbik asit ilaveli | 5,5 | $k= 3,5 \times 10^{10} \exp(-10044 \cdot 1/T)$ | 0,997 | 0,178 | 83,51±1,30 |
| | 7,5 | $k= 38,2 \times 10^{10} \exp(-10554,9 \cdot 1/T)$ | 0,990 | 0,339 | 87,76±2,25 |
| | 9,5 | $k= 0,03 \times 10^{10} \exp(-7728,6 \cdot 1/T)$ | 0,998 | 0,099 | 64,26±0,25 |
| Askorbik asit ilavesiz | 5,5 | $k= 3,4 \times 10^{10} \exp(-10034,5 \cdot 1/T)$ | 0,947 | 0,638 | 71,44±1,06 |
| | 7,5 | $k= 37,5 \times 10^{10} \exp(-10544 \cdot 1/T)$ | 0,997 | 0,158 | 76,49±2,70 |
| | 9,5 | $k= 0,03 \times 10^{10} \exp(-7720,9 \cdot 1/T)$ | 0,989 | 0,212 | 53,42±1,01 |

Tablo 3'deki denklemlere ait eğim (a) ve kesim noktası(b) parametrelerinin pH ile ilişkisini ifade eden ikinci dereceden polinom denklemler elde edilerek " $k=a \cdot \exp[-b \cdot (1/T)]$ " genel eşitliğinde yerine yazıldığında, reaksiyon hız sabitinin sıcaklık (T) ve pH'ya bağlı değişimlerini ifade eden eşitlikler elde edilmiştir. Askorbik asit ilave edilmiş ve edilmemiş örnekler için elde edilen eşitlikler sırası ile eşitlik 7 ve 8'de verilmiştir.

$$k=(-9*10^{10}*pH^2+10^{12}*pH-5*10^{12})\exp[(-417.2*pH^2+5678.5*pH-8568.7)*(1/T)] \quad (7)$$

$$k=(-9*10^{10}*pH^2+10^{12}*pH-5*10^{12})\exp[(-416.6*pH^2+5671.1*pH-8554.3)*(1/T)] \quad (8)$$

Kırmızı pancar esas olarak betanin (kırmızı) ve vulgaksantin I (sarı) çözüner pigmentlerinden oluşmaktadır (Stintzing ve Carle, 2004; Azeredo, 2009). Bozulma gerçekleştikçe tüm örneklerin renk tonu değerlerinin zamanla doğrusal olarak arttığı görülmüştür. Chandran ve diğ., (2014) pancar renginin sıcaklık ile bozunum kinetiğini araştırdıkları çalışmalarında, püre haline getirdikleri pancarı 50-120°C arasında değişen sıcaklıklarda 60dakika süresince bekleterek belirli periyotlarda örneklerde Hunter L, a, b değerlerini ölçmüşlerdir. Elde ettikleri Hunter 'a/b' değerindeki değişimin birinci derece kinetiği takip ettiğini ve hız sabitinin artan sıcaklık ile arttığını belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada, Narkprasom ve diğ., (2012) Djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz) betasiyanin ekstraktını değişen konsantrasyonlarda etil alkol içeren model sistemlerde farklı sıcaklıklarda (20-50°C) bekleterek elde ettikleri Hunter a değerlerindeki değişimin birinci dereceden kinetiği takip ettiğini rapor etmişlerdir (R^2 0,93-0,98). Bu çalışmada renk tonundaki değişimin birinci dereceden kinetik denkleme uyumu incelendiğinde R^2 değerlerinin 0,918- 0,996, SSE değerlerinin de 0,015-0,298 arasında değiştiği, elde edilen renk değişimi verilerinin birinci dereceden kinetiğe uyduğu görülmektedir. Elde edilen hız sabiti (k) değerlerine (Tablo 4) bakıldığında, sıcaklık, pH ve sıcaklık x pH interaksiyonunun renk tonunun değişim hızı üzerinde etkili birer faktör olduğu ($p<0,05$) ve artan sıcaklık ile renk tonundaki değişimin daha hızlı gerçekleştiği görülmektedir. pH 5,5 ve 7,5 değerlerinde sıcaklığın 4-40°C arasındaki artışının hız sabitinin artışı üzerine etkisi, 40-60°C arasındaki sıcaklık değişiminin hız sabitinin artışı üzerine etkisine oranla daha fazladır.

Genellikle betanin pigmentlerinin stabilitesinin pH 3-7 aralığında değişmeden kaldığı, pH 3'ün altında mor renge dönüştüğü, pH 7'den sonra mavi renge dönüşmeye başladığı ancak en önemli dönüşümün pH 9'dan sonra olduğu rapor edilmiştir (Jackman ve Smith, 1996; Stintzing ve Carle, 2004). Yüksek pH değerlerinde alkali hidrolizi gerçekleşmekte, betanin ve izobetanin pigmentleri açık sarı betalamik asit ve renksiz cyclodopa-5-O-glikosite çevrilmektedir (Jackman ve Smith, 1996). Bu çalışmada, en düşük sıcaklıkta (4°C), pH 5,5, 7,5 ve 9,5 değerlerindeki hız sabiti değerleri sırası ile $0,012 \times 10^{-3} \text{dak}^{-1}$, $0,023 \times 10^{-3} \text{dak}^{-1}$ ve $0,583 \times 10^{-3} \text{dak}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Genel olarak bakıldığında, aynı sıcaklık değerleri için, artan pH ile renk tonu değişimi reaksiyon hız sabiti değerlerinin de arttığı görülmektedir. Ancak, k değerlerindeki bu artış, 4, 25 ve 40°C'lerde pH'nın 5,5 tan 7,5 değerine yükselmesinde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Renk tonunun en hızlı pH 9,5'ta değişiyor olması beklenen bir durumdur. Mikolajczyk-Bator ve Czapski (2017) kırmızı pancardan elde ettikleri betalain çözeltilerini 4,0-9,0 arasında değişen pH'larda 90°C'de 30 dakika ısıtma işlemine tabi tuttıkları çalışmalarında, artan pH ile çözeltilerde kırmızı pigmentlerin miktarının azaldığını, sarı pigmentlerin miktarının ise tersine arttığını rapor etmişlerdir. Askorbik asit ilavesinin renk tonu değişim hızını pH 5,5'te önemli derecede azalttığı görülmektedir. pH 7,5'ta da askorbik asit ilavesi renk değişim hızını düşürmüştür ancak bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. pH 9,5'teki örnekler için de askorbik asit ilavesi ile örneklerin k değerlerinde belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Kırmızı pancar ekstraktının renk tonu değişimine ait aktivasyon enerjisi (E_a) değerleri Arrhenius eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır (Tablo 5). Askorbik asit ilavesi ile aktivasyon enerjisindeki en büyük değişimin pH 5,5'ta gerçekleştiği ve 68,4 değerinden 81,2 değerine yükseldiği görülmektedir. Elde edilen değerler literatür ile de uyum göstermektedir. Narkprasom ve diğ. (2012) Djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz) betasiyanin ekstraktı (pH 5,5) için 20-50°C arasında renk değişimine ilişkin aktivasyon enerjisini 81,04 kJ/mol olarak hesaplamışlardır.

Tablo 4. Kırmızı pancar ekstraktının farklı pH ve sıcaklıklarda depolanmasında renk tonu değişimine ait hız sabiti (k) değerleri

| | pH | Sıcaklık (°C) | Denklem | R ² | SEE | kx10 ³ (dak ⁻¹) |
|------------------------|-----|---------------|--------------------------------|----------------|-------|--|
| Askorbik asit ilaveli | 5,5 | 25 | y=1,20*10 ⁻⁵ x-1,09 | 0,962 | 0,028 | 0,012±0,002a1 |
| | | 40 | y=9,20*10 ⁻⁵ x-1,66 | 0,953 | 0,061 | 0,092±0,016b |
| | | 60 | y=9,18*10 ⁻⁴ x-1,29 | 0,981 | 0,018 | 0,918±0,028c |
| | | 4 | y=3,59*10 ⁻³ x-1,10 | 0,918 | 0,152 | 3,588±0,018d |
| | 7,5 | 4 | y=2,20*10 ⁻⁵ x-1,21 | 0,975 | 0,037 | 0,037±0,000a |
| | | 25 | y=1,93*10 ⁻⁴ x-1,12 | 0,960 | 0,119 | 0,193±0,001a |
| | | 40 | y=2,08*10 ⁻³ x-1,25 | 0,995 | 0,021 | 2,083±0,033b |
| | | 60 | y=4,25*10 ⁻³ x-0,98 | 0,949 | 0,232 | 7,562±0,103c |
| | 9,5 | 4 | y=5,65*10 ⁻⁴ x-0,66 | 0,981 | 0,019 | 0,565±0,042a |
| | | 25 | y=2,30*10 ⁻³ x-0,62 | 0,985 | 0,041 | 2,302±0,033a |
| | | 40 | y=8,95*10 ⁻³ x-0,67 | 0,996 | 0,015 | 8,950±1,119b |
| | | 60 | y=2,93*10 ⁻² x-0,65 | 0,981 | 0,111 | 29,257±0,039c |
| Askorbik asit ilavesiz | 5,5 | 4 | y=4,40*10 ⁻⁵ x-1,23 | 0,996 | 0,029 | 0,040±0,004a |
| | | 25 | y=2,88*10 ⁻⁴ x-1,12 | 0,937 | 0,225 | 0,288±0,002b |
| | | 40 | y=2,98*10 ⁻³ x-1,15 | 0,966 | 0,079 | 2,987±0,018c |
| | | 60 | y=4,25*10 ⁻³ x-1,03 | 0,949 | 0,141 | 4,255±0,035d |
| | 7,5 | 4 | y=3,53*10 ⁻⁵ x-0,82 | 0,975 | 0,051 | 0,035±0,013a |
| | | 25 | y=1,57*10 ⁻⁴ x-0,29 | 0,957 | 0,086 | 0,157±0,070a |
| | | 40 | y=3,18*10 ⁻³ x-1,19 | 0,972 | 0,077 | 3,185±0,019b |
| | | 60 | y=8,47*10 ⁻³ x-0,85 | 0,942 | 0,298 | 8,472±0,364c |
| | 9,5 | 4 | y=6,12*10 ⁻⁴ x-0,55 | 0,920 | 0,045 | 0,612±0,172a |
| | | 25 | y=2,19*10 ⁻³ x-0,52 | 0,975 | 0,050 | 2,192±0,034b |
| | | 40 | y=5,01*10 ⁻³ x-0,70 | 0,933 | 0,037 | 5,010±0,484c |
| | | 60 | y=3,15*10 ⁻² x-0,74 | 0,965 | 0,166 | 31,508±0,078d |

¹Her pH değerindeki farklı sıcaklıklar için, aynı sütun içinde bulunan farklı küçük harfler (a, b, c, d) ile gösterilen ortalama k değerleri arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05)

Tablo 5. Kırmızı pancar ekstraktının farklı pH'larda depolanmasında renk tonu değişimine ait aktivasyon enerjisi (Ea) değerleri

| | pH | Denklem | R ² | SEE | Ea (kJ/mol) |
|------------------------|-----|-------------------|----------------|-------|-------------|
| Askorbik asit ilaveli | 5,5 | y= -9763,9x+23,81 | 0,985 | 0,382 | 81,2±1,61 |
| | 7,5 | y= -9167,6x+22,44 | 0,962 | 0,571 | 76,2±0,2 |
| | 9,5 | y= -6613,5x+16,31 | 0,994 | 0,166 | 54,9±0,06 |
| Askorbik asit ilavesiz | 5,5 | y= -8224,1x+19,68 | 0,939 | 0,661 | 68,4±1,01 |
| | 7,5 | y= -9670,1x+24,44 | 0,942 | 0,754 | 80,4±3,24 |
| | 9,5 | y= -6328,2x+15,26 | 0,969 | 0,355 | 52,6±2,50 |

4. SONUÇ

Kırmızı pancar (*Beta vulgaris* L.) suyu içerisindeki betasiyanin pigmentlerinin, farklı sıcaklık, pH ve askorbik asit varlığında bozunması, genel olarak birinci dereceden reaksiyon kinetiğine uyum sağlamaktadır. Ancak pH 5,5'ta askorbik asit ilave edilmiş olan örnekler için ve ayrıca tüm pH değerlerinde 4°C sıcaklıkta bekletilen örnekler için, betasiyanin bozunum kinetiğinin değişim gösterdiği ve ikinci dereceden reaksiyon kinetiğine daha iyi uyum sağladığı görülmektedir.

Pigmentlerin bozunumuna ait hız sabiti değerlerinin sıcaklık, pH ve askorbik asit etkisine bağlı olarak önemli derecede değiştiği görülmektedir. pH 5,5 değerinde pigmentlerin daha stabil olduğu ve tüm pH değerleri için artan sıcaklık ile bozunum hızının da arttığı tespit edilmiştir. Askorbik asit, en yüksek pH 5,5'ta olmak üzere, tüm koşullar için betasiyanin pigmentleri stabilitesini artırıcı etki göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Amjadi, S., Ghorbani, M., Hamishehkar, H. ve Roufegarinejad, L. (2018) Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: its application in gummy candy as a food model, *Food Chemistry*, 256, 156-162. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.02.114
2. Antigo, J.L.D., Bergamasco, R.D. ve Madrona, G.S. (2018) Effects of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying, *Food Science and Technology*, 38(1), 72-77. doi: 10.1590/1678-457X.34316
3. Attia, G.Y., Moussa, M.E.M. ve Sheashea, E.R. (2013) Characterization of red pigments extracted from red beet (*Beta vulgaris*, L.) and its potential uses as antioxidant and natural food colorants, *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 91 (3), 1095-1110.
4. Azeredo, H.M.C. (2009) Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review, *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (12), 2365–2376. doi: 10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x
5. Cai, Y. ve Corke, H. (1999) *Amaranthus* betacyanin pigments applied in model food systems, *Journal of Food Science*, 64 (5): 869–873. doi: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb15930.x
6. Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W. ve Corke, H. (2001) Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (9), 4429-35. doi: 10.1021/jf0104735
7. Chandran, J., Nisha, P., Singhal, R.S. ve Pandit, A.B. (2014) Degradation of colour in beetroot (*Beta vulgaris* L.): a kinetics study, *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 51 (10), 2678-2684. doi: 10.1007/s13197-012-0741-9
8. Drdak, M. ve Vallova, M. (1990) Kinetics of the thermal degradation of betanin, *Nahrung*, 34 (4), 307-310. doi: 10.1002/food.19900340402
9. EFSA, European Food Safety Authority (2015) Scientific opinion on the re-evaluation of beetroot red (E 162) as a food additive, *EFSA Journal*, 13 (12), 4318. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4318
10. Elbandy, M.A. ve Abdelfadeil, M.G. (2008) Stability of betalain pigments from red beetroot (*Beta vulgaris*), *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 36, 49-60.
11. Gandia-Herrero, F., Escribano, J. Ve Garcia-Carmona, F. (2016) Biological activities of plant pigments betalains, *Critical Reviews in Food Science and Technology*, 56(6), 937-945. doi: 10.1080/10408398.2012.740103
12. Gengatharan, A., Dykes, G.A. ve Choo, W.S. (2016) Stability of betacyanin from red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and its potential application as a natural colourant in milk, *International Journal of Food Science and Technology*, 51(2), 427-434. doi: 10.1111/ijfs.12999

13. Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, M.A. ve D'Alessio, P. (2004) Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression, *Signal Transduction and Communication in Cancer Cells*, 1028, 481–486. doi: 10.1196/annals.1322.057
14. Herbach, K.M., Maier, C., Stintzing, F.C. ve Carle, R. (2007) Effects of processing and storage on juice color and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice, *European Food Research and Technology*, 224 (5), 649-658. doi: 10.1007/s00217-006-0354-5
15. Herbach, K.M., Rohe, M., Stintzing, F.C. ve Carle, R. (2006a) Structural and chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton&Rose) betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives, *Food Research International*, 39 (6), 667–677. doi: 10.1016/j.foodres.2006.01.004
16. Herbach, K.M., Stintzing, F.C. Carle, R. (2006b) Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects, *Journal of Food Science*, 71 (4), 41-50. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00022.x
17. Hendry, G.A.F. ve Houghton, J.D. (1996) *Natural Food Colourants*, Blackie Academic & Professional, London.
18. Kanner, J., Harel, S. ve Granit, R. (2001) Betalains - a new class of dietary cationized antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (11), 5178– 5185. doi: 10.1021/jf010456f
19. Kapadia, G.J., Tokuda, H., Konoshima, T. ve Nishino, H. (1996) Chemoprevention of lung and skin cancer by *Beta vulgaris* (beet) root extract, *Cancer Letters*, 100 (1-2), 211–214. doi: 10.1016/0304-3835(95)04087-0
20. Khan, M.I. (2001) Plant betalains: safety, antioxidant activity, clinical efficacy, and bioavailability, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2), 316-330. doi: 10.1111/1541-4337.12185
21. Kopjar, M., Pilizota, V., Subaric, D. ve Babic, J. (2009) Prevention of thermal degradation of red currant juice anthocyanins by phenolic compounds addition, *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 1 (1), 24-30.
22. Labuza, T.P. (1984) Application of chemical kinetics to deterioration of foods, *Journal of Chemical Education*, 61 (4), 348-358. doi: 10.1021/ed061p348
23. Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E.J. ve Wang, S. (2015) Kinetics of food quality changes during thermal processing: a review, *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 343-358. doi: 10.1007/s11947-014-1398-3
24. Mikolajczyk-Bator, K. ve Czapski, J. (2017) Effect of pH changes on antioxidant capacity and the content of betalain pigments during the heating of a solution of red beet betalains, *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, 67 (2), 123-128. doi: 10.1515/pjfn-2016-0012
25. Moldovan, B. ve David, L. (2014). Influence of temperature and preserving agents on the stability of cornelian cherries anthocyanins, *Molecules*, 19(6), 8177-8188. doi: 10.3390/molecules19068177
26. Mosshammer, M.R., Rohe, M., Stintzing, F.C. ve Carle, R. (2007) Stability of yellow-orange cactus pear (*Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. cv. 'Gialla') betalains as affected by the juice matrix

- and selected food additives, *European Food Research and Technology*, 225 (1), 21-32. doi: 10.1007/s00217-006-0378-x
27. Narkprasom, K., Shao-Pin, W., Shu-Mien, H. ve Pi-Jen, T. (2012) Kinetics of color loss of Djulis (*Chenopodium formosanum* Koidz.) extracts during storage in different concentrations of alcohol and temperature, *APCBEE Procedia*, 2, 32-36. doi: 10.1016/j.apcbee.2012.06.007
 28. Nilsson, T. (1970) Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.), *Lantbrukshogskolans Annaler*, 36, 179–219.
 29. Pedreno, M.A. ve Escribano, J. (2001) Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta Vulgaris* L roots under different pH, temperature and light conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81 (7), 627-631. doi: 10.1002/jsfa.851
 30. Polturak, G. ve Aharoni, A. (2018) "La Vie en Rose": biosynthesis, sources, and applications of betalain pigments, *Molecular Plant*, 11(1), 7-22. doi: 10.1016/j.molp.2017.10.008
 31. Priatni, S. ve Pradita, A. (2015) Stability study of betacyanin extract from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels, *Procedia Chemistry*, 16, 438-444. doi: 10.1016/j.proche.2015.12.076
 32. Reddy, M.K., Alexander-Lindo, R.L. ve Nair, M.G. (2005) Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (23), 9268–9273. doi: 10.1021/jf051399j
 33. Reshmi, S.K., Aravindhan, K.M. ve Devi, S.P. (2012) The effect of light, temperature, pH on the stability of betacyanin pigments in *Basella alba* fruit, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5 (4), 107-110.
 34. Roy, K., Gullapalli, S., Chaudhuri, U.R. ve Chakraborty, R. (2004) The use of a natural colorant based on betalain in the manufacture of sweet products in India, *International Journal of Food Science and Technology*, 39(10), 1087-1091. doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.00879.x
 35. Saguy, I., Kopelman, I.J. ve Mizrahi, S. (1978) Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (2), 360–362. doi: 10.1021/jf60216a052
 36. Sanchez-Chavez, W., Cortez-Arredondo, J., Solano-Cornejo, M. ve Vidaurre-Ruiz, J. (2015) Kinetics of thermal degradation of betacyanins, betaxantins and vitamin C in a juice-based drink beet (*Beta vulgaris* l.) and honey, *Scientia Agropecuaria*, 6(2), 111-118.
 37. Sapers, G.M. ve Hornstein, J.S. (1979) Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments, *Journal of Food Science*, 44 (4), 1245–1248. doi: 10.1111/j.1365-2621.1979.tb03490.x
 38. Shaaruddin, S., Ghazali, H.M., Mirhosseini, S.H. ve Muhammad, K. (2017) Stability of betanin in pitaya powder and confection as affected by resistant maltodextrin, *LWT-Food Science and Technology*, 84, 129-134. doi: 10.1016/j.lwt.2017.05.031
 39. Slimen, I.B., Najar, T., ve Abderrabba, M. (2017) Chemical and antioxidant properties of betalains, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 675-689. doi: 10.1021/acs.jafc.6b04208

40. Stintzing, F.C. ve Carle, R. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition, *Trends in Food Science and Technology*, 15 (1), 19–38. doi: 10.1016/j.tifs.2003.07.004
41. Stintzing, F.C. ve Carle, R. (2007) Betalains- emerging prospects for food scientists, *Trends in Food Science and Technology*, 18 (10), 514-525. doi: 10.1016/j.tifs.2007.04.012
42. Strack, D., Vogt, T. ve Schliemann, W. (2003) Recent advances in betalain research, *Phytochemistry*, 62 (3), 247–269. doi: 10.1016/S0031-9422(02)00564-2
43. Sumaya-Martínez, M.T., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J.D., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino, N., Valadez-Veg,a C., Martinez-Cardenas, L. ve Alanís-García, E. (2011) Betalain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears, *International Journal of Molecular Sciences*, 12 (10), 6452-6468. doi: 10.3390/ijms12106452
44. Tangüler, H. (2010) Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi, *Doktora Tezi*, Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
45. Von Elbe, J.H. ve Maing, I.Y. (1973) Betalains as possible food colorants of meat substitutes, *Cereal Science Today*, 18 (9), 263–4, 316–7.
46. Von Elbe, J.H., Maing, I. ve Amundson, C.H. (1974) Colour stability of betanin, *Journal of Food Science*, 39 (2), 334–337. doi: 10.1111/j.1365-2621.1974.tb02888.x
47. Woo, K.K., Ngou, F.H., Ngo, L.S., Soong, W.K. ve Tang, P.Y. (2011) Stability of betalain pigment from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*), *American Journal of Food Technology*, 6 (2), 140-148. doi: 10.3923/ajft.2011.140.148
48. Yıldız Turp, G., Kazan, H. Ve Ünübol, H. (2016) Sosis üretiminde doğal renk maddesi ve antioksidan olarak kırmızı pancar tozu kullanımı, *CBÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 12 (2), 303-311. doi: 10.18466/cbujos.76228

