

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR VE ÇİLEK SULARININ SICAK DURULTMA YÖNTEMİYLE
DURULTULMASI**

Buket ORHAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2014**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Buket ORHAN tarafından hazırlanan “**Nar ve Çilek Sularının Sıcak Durultma Yöntemiyle Durultulması**” adlı tez çalışması 08/10/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI
Hacettepe Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. İbrahim DEMİR
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

08.10.2014

Buket Orhan

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NAR VE ÇİLEK SULARININ SICAK DURULTMA YÖNTEMİYLE DURULTULMASI

Buket ORHAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Bu çalışmanın başlıca amacı, nar ve çilek sularının meyve suyu endüstrisinde yaygın olarak uygulanan sıcak durultma yöntemiyle durultularak, kullanılan durultma yardımcı maddelerinin en uygun dozlarının belirlenmesidir. Durultma işleminin etkinliği konusunda meyve sularının bulanıklık ve antosiyanin (ACN) içeriklerinde meydana gelen değişimler esas alınmış olup, nar suyunun durultulmasında, 0.2 g/L bentonit, 0.05 g/L jelatin ve 0.8 mL/L kizelsol; çilek suyunun durultulmasında ise, 0.2 mL/L pektolitik enzim ve 0.4 g/L bentonit kullanılmıştır. Gerçekleştirilen durultma işlemiyle nar ve çilek sularının bulanıklığı sırasıyla, 101 ve 9.5 NTU'ya düşürülmüştür. Nar suyunun bulanıklık değerinin çilek suyuna oranla yüksek olmasının başlıca nedeninin nar suyundaki yüksek polifenol içeriğinden [çilek suyundaki polifenol miktarının yaklaşık 2 katı (5276 mg GAE/L)] kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sıcak durultma sürecinde, nar ve çilek sularının ACN içeriklerindeki kayıplar sırasıyla, %21 ve %13 olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada nar suları için sıcak durultma işlemi ile soğuk durultma işleminin etkileri de kıyaslanmıştır. Sonuçta, sıcak durultma sonucunda nar suyunda saptanan ACN miktarı (188 mg/L) soğuk durultma sonucunda elde edileninkinden (170 mg/L) daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, ACN'lerin ısıya karşı duyarlı olmaları nedeniyle şaşırtıcıdır. Ancak, sıcak durultma işleminde bentonit kullanımı sonucunda, metal iyon konsantrasyonunun arttığı ve meyve suyundaki ACN'lerle bu metaller arasında renk yoğunluğu ve stabilitesini artıran kopigmentasyon etkileşimi olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, renk dikkate alındığında, nar sularında sıcak durultma önerilmektedir.

Meyve sularının bulanıklık değerleri ve ACN içeriklerindeki değişimin yanı sıra toplam polimerik renk oranı, briks, pH, titrasyon asitliği, toplam polifenol miktarı ve antioksidan aktivite değeri ile çilek suyunda askorbik asit miktarındaki değişimler de belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, meyve sularında oluşan polimerik rengin durultulmamış meyve sularında bile yüksek olduğu görülmüştür. Durultma işleminin ardından nar suyunda oluşan polimerik oranı (%40.9), çilek suyunda oluşana (%21.3) kıyasla daha fazla bulunmuştur.

Durultma işlemiyle birlikte meyve sularının toplam polifenol içeriklerinde önemli bir değişim gözlenmemiş olup, nar suyunun antioksidan aktivite değerinin %8 azaldığı tespit edilmiştir. Çilek suyunun askorbik asit miktarında ise %24 azalma görülmüştür. Sonuç olarak, çilek suyunun nar suyuna kıyasla sıcak durultma yöntemiyle daha etkin bir şekilde durultulabildiği belirlenmiştir.

Ekim 2014, 92 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nar suyu, çilek suyu, sıcak durultma, ACN'ler, bentonit, jelatin, kizelsol.

ABSTRACT

Master Thesis

CLARIFICATION OF POMEGRANATE AND STRAWBERRY JUICES BY HOT CLARIFICATION

Buket ORHAN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

The main objective of this study was to investigate the optimum doses for the clarifying agents in hot clarification method which has been preferred in fruit juice industry for the production of clear pomegranate and strawberry juices. Changes in turbidity and anthocyanin content of fruit juices are considered as the major indicator of effective clarification. As clarifying agents, 0.2 g/L bentonite, 0.05 g/L gelatin and 0.8 mL/L kieselsol were used for the clarification of pomegranate juice and 0.2 mL/L enzyme and 0.4 g/L bentonite for the clarification of strawberry juice. After clarification, the turbidity of pomegranate and strawberry juices decreased to 101 and 9.5 NTU, respectively. The higher turbidity of pomegranate juice is mainly attributable to the high polyphenol content (approximately 2 times higher than strawberry juice, 5276 mg of GAE/L).

Hot clarification resulted in 21 and 13% losses in anthocyanin content of pomegranate and strawberry juices, respectively. Additionally, the effects of hot and cold clarification on some properties of pomegranate juice were also compared in this study. Consequently, anthocyanin content of pomegranate juice after hot clarification (188 mg/L) was found higher than those after cold clarification (170 mg/L). This finding was very surprising due to high sensitivity of anthocyanins to heat. However, the use of bentonite in hot clarification is believed to cause the increase in metal ion concentration and as a result of this increase, copigmentation between anthocyanins and metals led to the higher color stability and color density in juice. Therefore, if the color is taken into consideration, then hot clarification is suggested in pomegranate juice.

Moreover, aside from the changes in turbidity and anthocyanin contents, the changes in polymeric colour ratio, brix, pH, titrable acidity, total polyphenol content and antioxidant activity of the juice samples as well as the ascorbic acid content of strawberry juice were determined. Results showed that polymeric colour was very high even in unclarified samples. After clarification, polymeric colour ratio of pomegranate juice was found to be higher (40.9%) than the ratio of strawberry juice (21.3%).

There was no significant change found in the total polyphenol content of both fruit juices after clarification, but the antioxidant activity decreased 8% in clarified pomegranate juice. Similarly, after clarification, 24% decrease was observed in strawberry juice. Consequently, compared to pomegranate juice, hot clarification method is more effective in the clarification of strawberry juice.

October 2014, 92 pages

Key Words: Pomegranate juice, strawberry juice, hot clarification, anthocyanins, bentonite, gelatin, kieselsol.

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek yakın ilgi ve destek gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a (Ankara Üniversitesi/Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübelerine başvurduğum Dr. Betül ERKAN KOÇ ve Dr. Meltem TÜRKYILMAZ'a, araştırmada kullanılan meyve sularını ve durultma yardımcı maddelerini sağlayan "TARGID Meyve Suyu Firması" na, laboratuvarında birlikte çalıştığım arkadaşlarım Sevgin DIBLAN ve Sümeyye ALAGÖZ'e ve her zaman yanımda olduğunu hissettiğim sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından 13L4343005 no'lu proje kapsamında desteklenmiş olup, verdiği destek için Ankara Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

Buket Orhan

Ankara, Ekim 2014

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER	3
2.1 Dünyada ve Ülkemizde Nar ve Çilek Üretimi	3
2.1.1 Dünyada ve ülkemizde nar üretimi	3
2.1.2 Dünyada ve ülkemizde çilek üretimi	4
2.2 Berrak Nar ve Çilek Suyu Üretiminde Durultma İşlemi	6
2.2.1 Depektinizasyon	7
2.2.2 Berraklaştırma	8
2.2.3 Geleneksel durultmada kullanılan durultma yardımcı maddeleri.....	10
2.2.4 Durultma işleminin meyve suyu rengi ve bileşimi üzerine etkisi.....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Nar ham suyu ve çilek ham suyu	20
3.1.2 Kimyasallar.....	20
3.2 Yöntem	20
3.2.1 Nar suyunun durultulması	21
3.2.2 Çilek suyunun durultulması.....	23
3.2.3 Fiziksel analizler.....	23
3.2.3.1 Suda çözünür kuru madde tayini	23
3.2.3.2 pH tayini.....	24
3.2.3.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi	24
3.2.3.4 Reflektans renk tayini.....	24
3.2.4 Kimyasal analizler.....	25
3.2.4.1 Titrasyon asitliği.....	25
3.2.4.2 Toplam monomerik ACN tayini	26
3.2.4.3 ACN dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi.....	27

3.2.4.4 Recovery (geri kazanım) testi.....	29
3.2.4.5 ACN parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi.....	30
3.2.4.6 Toplam polifenollerin tayini.....	32
3.2.4.7 Antioksidan aktivite tayini	34
3.2.4.8 Askorbik asit dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi	36
3.2.5 İstatistik değerlendirme.....	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	38
4.1 Nar ve Çilek Sularının Durultulması	38
4.1.1 Nar suyunun durultulması	38
4.1.2 Çilek suyunun durultulması.....	41
4.2 Nar ve Çilek Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi	44
4.3 Nar ve Çilek Sularının ACN İçeriklerinin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler	46
4.4 Nar ve Çilek Sularının ACN İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi	48
4.4.1 Nar sularının ACN içerikleri üzerine durultma işleminin etkisi.....	48
4.4.2 Çilek sularının ACN içerikleri üzerine durultma işleminin etkisi	55
4.6 Nar ve Çilek Sularında Oluşan Polimerik Renk Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	61
4.7 Nar ve Çilek Sularının Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler	63
4.8 Nar ve Çilek Sularının Toplam Polifenol Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	65
4.9 Çilek Suyunun Askorbik Asit İçeriği Üzerine Durultma İşleminin Etkisi	68
4.10 Nar ve Çilek Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Durultma İşleminin Etkisi	71
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	75
EK 1 Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları	87
ÖZGEÇMİŞ.....	92

KISALTMALAR DİZİNİ

ACN	Antosiyanin
Briks (°Bx)	Suda çözümlü kuru madde
PVPP	Polyvinilpoliprolidon
NTU	Neflometrik Bulanıklık Birimi (Nephelometric Turbidity Unit)
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
h	Saat (hour)
PVDF	Poliviniliden florür (Polyvinylidene fluoride)
HCl	Hidroklorik asit
MeOH	Metanol
PDA	Foto diodera dedektörü
IFU	Uluslararası Meyve Suyu Federasyonu (International Fruit Juice Union)
dak.	Dakika
UV	Ultraviyole
MEYED	Meyve Suyu Endüstrisi Derneği
PBS	Fosfat Tamponu (Phosphate Buffer Saline)
TEAC	Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Türkiye’de yıllara göre çilek üretim miktarları.....	5
Şekil 2.2	Pektinin parçalanmasıyla bulanıklık unsurlarının stabilitelerinin bozulması.....	8
Şekil 2.3	Polifenol bakımından zengin meyve sularında polifenol-protein etkileşimi.....	10
Şekil 3.1	Nar suyunun durultulması.....	21
Şekil 3.2	Çilek suyunun durultulması.....	21
Şekil 4.1	Delfinidin-3,5-diglukozit standart eğrisi.....	46
Şekil 4.2	Siyanidin-3,5-diglukozit standart eğrisi.....	46
Şekil 4.3	Delfinidin-3-glukozit standart eğrisi.....	47
Şekil 4.4	Pelargonidin-3,5-diglukozit standart eğrisi.....	47
Şekil 4.5	Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi.....	47
Şekil 4.6	Pelargonidin-3-glukozit standart eğrisi	47
Şekil 4.7	Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi	48
Şekil 4.8	Nar sularındaki ACN’lerin HPLC kromatogramları	52
Şekil 4.9	Çilek sularındaki ACN’lerin HPLC kromatogramları.....	58
Şekil 4.10	Gallik asit standart eğrisi.....	65
Şekil 4.11	Askorbik asit standart eğrisi.....	69
Şekil 4.12	Çilek sularındaki askorbik asit HPLC kromatogramları.....	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	2008 yılı verilerine göre Türkiye ve diğer bazı ülkelerin nar üretim ve ihracat miktarları.....	3
Çizelge 2.2	Yıllara göre nar, meyve suyuna işlenen nar miktarı ve nar suyu konsantresi üretim miktarı.....	4
Çizelge 2.3	2010 yılı ülkelere göre dünya çilek ihracat miktarları.....	6
Çizelge 2.4	Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin kimyasal yapıları.....	13
Çizelge 2.5	Nar ve çilek meyvesinde bulunan ACN'ler.....	14
Çizelge 3.1	HPLC ile ACN'ler için uygulanan elüsyon profili.....	29
Çizelge 3.2	HPLC ile askorbik asit için uygulanan elüsyon profili.....	37
Çizelge 4.1	Nar sularına (250 mL) uygulanan jelatin ile soğuk durultma sonuçları.....	38
Çizelge 4.2	Nar sularına (250 mL) uygulanan bentonit durultma sonuçları.....	39
Çizelge 4.3	Nar sularına (250 mL) uygulanan jelatin durultma sonuçları.....	40
Çizelge 4.4	Nar sularına (250 mL) uygulanan jelatin ve kizelsol durultma sonuçları.....	41
Çizelge 4.5	Çilek sularına (250 mL) uygulanan depektinizasyon sonuçları.....	42
Çizelge 4.6	Çilek sularına (250 mL) uygulanan bentonit durultma sonuçları.....	43
Çizelge 4.7	Çilek sularına (250 mL) uygulanan jelatin durultma sonuçları.....	43
Çizelge 4.8	Çilek sularına (250 mL) uygulanan jelatin ve kizelsol durultma sonuçları.....	44
Çizelge 4.9	Durultma işleminin nar ve çilek sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerlerine etkisi.....	45
Çizelge 4.10	Durultma işleminin nar sularının toplam monomerik ACN miktarları üzerine etkisi.....	48
Çizelge 4.11	Durultma uygulanmış ve uygulanmamış nar sularının toplam ACN içerikleri.....	50
Çizelge 4.12	Nar sularında durultma işleminden önce ve sonra belirlenen ACN'lerin miktarları.....	53
Çizelge 4.13	Durultma işleminin çilek sularının toplam monomerik ACN miktarları üzerine etkisi.....	55
Çizelge 4.14	Durultma uygulanmış ve uygulanmamış çilek sularının toplam ACN içerikleri.....	57
Çizelge 4.15	Çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra belirlenen	

ACN'lerin miktarları.....	59
Çizelge 4.16 Nar ve çilek sularındaki ACN'lerin geri kazanımları.....	60
Çizelge 4.17 Durultma işleminin nar ve çilek sularında polimerik renk oluşumu üzerine etkisi.....	61
Çizelge 4.18 Nar ve çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra ölçülen reflektans renk değerleri.....	64
Çizelge 4.19 Nar ve çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra ölçülen toplam polifenol miktarları.....	66
Çizelge 4.20 Durultma işleminin çilek suyunun askorbik asit içeriğine etkisi.....	70
Çizelge 4.21 Nar ve çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra ölçülen antioksidan aktivite düzeyi.....	71

1. GİRİŞ

Son yıllara kadar, nar ve çilek sularının üretimine ilgi duyulmadığı için bu meyve sularının durultulması üzerine de yeterince araştırma yapılmamıştır. Günümüzde ise; yüksek miktardaki polifenol içerikleri ve yüksek antioksidan aktiviteleri nedeniyle nar, çilek ve bu meyvelerden elde edilen ürünlerin tüketimi gerek dünyada gerekse de ülkemizde giderek artmaktadır. Nitekim nar; danelenmesi zor olan ve çok sert yapıdaki çekirdekleri nedeniyle taze olarak tüketimden ziyade meyve suyu üretimine daha uygun bir meyvedir. Kendine özgü flavoru nedeniyle hem dünyada hem de ülkemizde yaygın olarak taze tüketilen çilek ise; son yıllarda meyve suyuna da işlenmektedir. Bunun dışında çilek; çilek suyu konsantresine işlenerek ihraç edilmekte ve çilek suyu konsantresi; dondurmalarda, alkollü ve alkolsüz içeceklerde, pastacılık ürünlerinde aroma ve dekoratif amaçlı olarak sıklıkla kullanılmaktadır.

Tüketici, antosiyanin (ACN) içeren tüm kırmızı meyve sularında olduğu gibi, nar ve çilek sularının kalitesini de parlak kırmızı renk ile değerlendirmektedir. Ayrıca, ambalajda görülen bulanıklık ve tortu da tüketicide bir kuşku meydana getirmekte ve tüketicinin tercihini olumsuz yönde etkilemektedir. Bunu önlemek için; meyve sularından bulanıklık ve tortu oluşturan unsurların uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla; berrak meyve suyu üretiminde durultma işlemi uygulanmakta olup, bu işlem prosesin en önemli aşamalarından birisidir.

Durultma, pektinaz ve amilaz gibi enzimlerle pektin ve nişasta gibi koruyucu kolloidlerin (pektin ve nişasta) parçalandığı “depektinizasyon işlemi” ve çeşitli durultma yardımcı maddeleri kullanılarak bulanıklık unsurlarının uzaklaştırıldığı “berraklaştırma işlemi” olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır. Ayrıca; durultma, uygulandığı sıcaklığa göre “sıcak durultma” ve “soğuk durultma” olarak gruplandırılmaktadır. Soğuk durultma yönteminde, durultmaya neden olan unsurların başında gelen polifenoller etkin olarak uzaklaştırılmakta ve daha berrak meyve suyu elde edilmektedir. Fakat soğuk durultmada oluşan aglomeratların (iri yumakçıklar) filtre edilebilecek aşamaya gelmesi uzun zaman almakta ve bu da endüstri için ekonomik

olmamaktadır. Bu yüzden endüstride soğuk durultma yerine daha kısa süren ve dolayısıyla daha ekonomik olan sıcak durultma işlemi tercih edilmektedir. Bu çalışmada da nar ve çilek suları, endüstriye katkı sağlanması açısından sıcak durultma işlemiyle berraklaştırılmıştır.

Yapılan literatür araştırmasında; nar ve çilek sularının durultulması konusunda sınırlı sayıda araştırmaya rastlanmış olup, yapılan çalışmaların nar ve çilek sularının sıcak durultma yöntemiyle durultulmasındaki teknik sorunların giderilmesine yönelik bir yöntem ortaya koymak için yeterli olmadığı görülmüştür. Nitekim Cemeroglu (1977) tarafından bölümümüzde yürütülen bir çalışmada narın pektin içermediği belirlenmiş fakat buna rağmen meyve suyu üreten pek çok firmanın halen presten aldıkları nar ham suyunun durultulmasında depektinizasyon işlemi uyguladıkları görülmüştür. Bu yüzden bu çalışma hem nar ve çilek sularının sıcak durultulması konusunda literatürdeki bilgi eksikliğini gidermeye yönelik hem de endüstride uygulanan berrak nar ve çilek suyu üretim yöntemlerine katkı sağlamaya yönelik olarak gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmanın ana konusunu, nar ve çilek sularının endüstride uygulanan sıcak durultma yöntemiyle durultularak kullanılan bentonit, jelatin ve kizelsolün en uygun dozlarının belirlenmesi oluşturmaktadır. Bu iki meyve suyunun bulanıklık değerleri ve ACN içeriklerindeki değişimin yanı sıra toplam polimerik renk oranı, briks, pH, titrasyon asitliği, toplam polifenol miktarı ve antioksidan aktivite değeri ile çilek suyunda askorbik asit miktarındaki değişimler de belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ VE KURAMSAL TEMELLER

2.1 Dünyada ve Ülkemizde Nar ve Çilek Üretimi

2.1.1 Dünyada ve ülkemizde nar üretimi

Nar, antik çağlardan beri bilinen, sağlığın ve bereketin simgesi olarak görülmüş bir meyvedir. Punicaceae familyasının *Punicagranatum* L. türüne dahildir (Kulkarni vd. 2004). Çok yıllık odunsu bir bitki olup tropik ve sub-tropik bölgelerde yetişebilmektedir (Mirdehghan ve Rahemi 2007, Varasteh vd. 2009). Güneydoğu Asya orijinli bir meyve olan nar, en fazla Hindistan, İran, Türkiye ve A.B.D.'de yetiştirilmektedir (Vardin ve Fenercioğlu 2003, Anonim 2012). 2008 yılı verilerine göre, Türkiye 127 760 ton nar üretimiyle; Hindistan ve İran'dan sonra 3. sırada yer almaktadır (Anonim 2012) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 2008 yılı verilerine göre Türkiye ve diğer bazı ülkelerin nar üretim ve ihracat miktarları (Anonim 2012)

Ülke	Üretim (Ton)	İhracat (Ton)
Hindistan	1 140 000	35 000
İran	705 000	60 000
Türkiye	127 760	12 000
A.B.D.	110 000	17 000
Irak	80 000	–
İspanya	40 000	15 000

Ülkemizde nar; en çok Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin sahil şeridinde ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde üretilmektedir (Özgüven ve Yılmaz 2000, Gölükçü vd. 2008, Özgen vd. 2008). Son yıllarda ülkemizde nar üretim miktarında sürekli olarak artış gözlenmiş ve nar üretiminin 2007–2008 yılları arasında 1.2 kat arttığı belirlenmiştir

(Anonim 2012). 2008 yılında, 12 000 ton olan nar ihracatımız, 2009 yılında yaklaşık 3.5 kat artarak 41 939 ton'a ulaşmıştır (Anonim 2012).

Ülkemizde üretilen narın bir bölümü Almanya, Avusturya ve İsveç gibi çeşitli ülkelere ihracat edilmesi dışında yaklaşık yarısı, nar suyuna işlenmektedir. 2007 yılında, üretilen 102 000 ton narın 57 500 tonu meyve suyuna işlenmiştir (Anonim 2012). Nara dolayısıyla nar suyuna olan ilginin artması, meyve suyuna işlenen nar miktarının da sürekli artış göstermesine neden olmuştur. Nar suyu, genellikle 65°Bx'te konsantreye işlenip depolanmakta; iç ve dış piyasaya konsantre olarak sunulmaktadır. Çizelge 2.2'de 2000–2008 yılları arasındaki nar üretim miktarı, nar suyuna işlenen meyve miktarı ve üretilen nar suyu konsantresi miktarı verilmiştir.

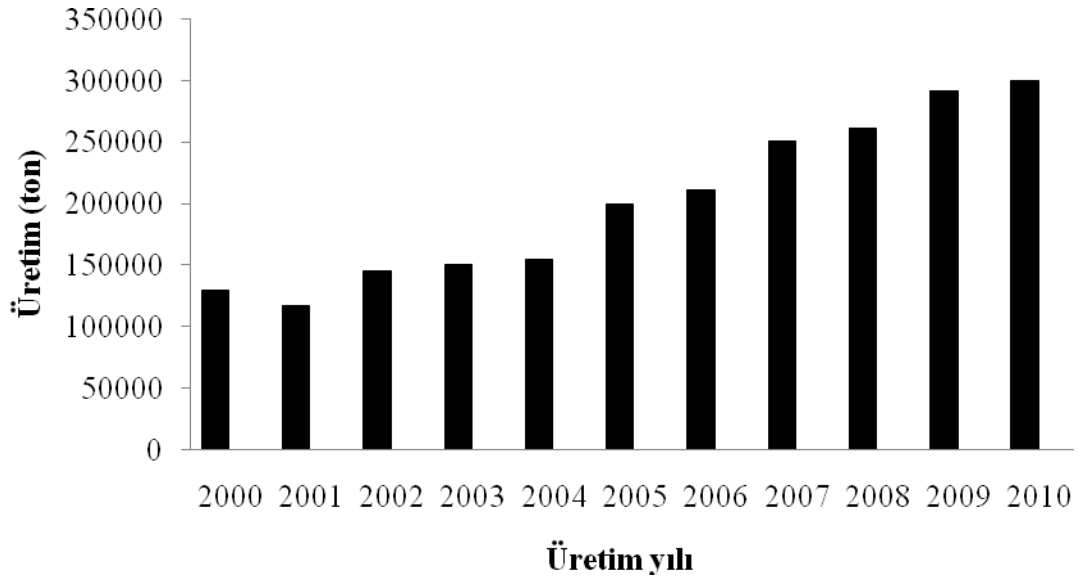
Çizelge 2.2 Yıllara göre nar, meyve suyuna işlenen nar miktarı ve nar suyu konsantresi üretim miktarı (Anonim 2012)

Üretim yılı	Nar üretim (ton)	Meyve suyuna işlenen nar (ton)	Nar suyu konsantre (65°Bx) üretimi (ton)
2000	59 000	–	–
2001	60 000	–	–
2002	60 000	–	–
2003	80 000	–	–
2004	73 000	–	–
2005	80 000	17 600	2 800
2006	91 000	46 600	6 900
2007	102 000	57 500	5 600
2008	128 000	49 500	5 200

2.1.2 Dünyada ve ülkemizde çilek üretimi

Son yıllarda narın yanı sıra, değeri daha çok anlaşılan ürünlerden birisi de üzüksü bir meyve olan çilektir. Ticari olarak yetiştirilen çilek, Rosaceae familyası, *Fragaria*

cinsine ait olup, genellikle *F. chiloensis* ile *F. virginiana* türünün melezlenmesi ile elde edilen *Fragaria ananassa* türüne dahildir (Zabetakis ve Holden 1997, Deuel ve Plotto 2004). Çilek, farklı ekolojik koşullara ve farklı iklim tiplerine kolay adapte olabilen bir meyvedir. Nitekim Sibirya'dan Ekvator'a, yükseltisi fazla olan yerlerden deniz seviyesinde olan yerlere kadar farklı ekolojik koşullarda çilek üretilebilmektedir. Bu yüzden ülkemizde de hemen her bölgede yetiştirilebilme olanağı vardır (Geçer ve Yılmaz 2011). Başta A.B.D. olmak üzere Türkiye, İspanya, Meksika, Mısır, Polonya, Japonya, Almanya, Rusya, İngiltere, Fransa ve İtalya önemli miktarda çilek üreten ülkelerdir. 2009 yılı verilerine göre; özellikle A.B.D.'nin dünya çilek üretiminin büyük bir bölümünü gerçekleştirdiği görülmektedir (Anonymous 2012). Ülkemizde ise, çoğunlukla Akdeniz ve Ege bölgelerinde çilek üretimi yapılmakta olup, zamanla iç bölgelerimizde de çilek yetiştirilmeye başlanmıştır. Şekil 2.1'de ülkemizde 2000–2010 yılları arasında üretilen çilek miktarları verilmiştir.



Şekil 2.1 Türkiye'de yıllara göre çilek üretim miktarları (Anonim 2012)

Dünya genelinde çilek ihracat değerlerine bakıldığında ise; 2010 yılında en fazla çilek ihracatı yapan ülkenin İspanya olduğu ve onu, A.B.D. ve Meksika'nın izlediği görülmektedir. Ayrıca dünya çilek üretiminde ilk sıralarda yer alan Türkiye; çilek ihracatı konusunda, dünya sıralamasında 6. sırada bulunmaktadır. Son yıllarda, çilek taze olarak ihraç edilmesi dışında, bazı firmalar tarafından çilek suyu konsantresi olarak

da ihraç edilmektedir. Çizelge 2.3'te, 2010 verilerine göre taze olarak ihraç edilen çilek miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.3 2010 yılı ülkelere göre dünya çilek ihracat miktarları (Anonymous 2012)

Ülke	İhracat (Ton)
İspanya	360 204
A.B.D.	139 810
Meksika	66 019
Hollanda	43 090
Belçika	38 573
Türkiye	25 867
Fas	18 396
Fransa	18 000
İtalya	17 914
Mısır	17 513

Ülkemizde üretimi büyük ölçüde yapılan ve farklı aromatik özelliği nedeniyle tercih edilen çilek, taze olarak tüketiciye ulaşabildiği gibi aynı zamanda çeşitli endüstriyel ürünlere işlenerek de tüketiciye sunulmaktadır. Bu endüstriyel ürünlerin başında reçel, marmelat, meyveli süt, meyveli yoğurt, çikolata, bisküvi ve meyve suyu gibi ürünler gelmektedir. Bunlar arasında çileğin meyve suyuna işlenmesi ülkemizde daha çok son yıllarda gerçekleştirilen bir prosestir. Fakat başta A.B.D. olmak üzere, pek çok Avrupa ülkesinde çilek, meyve suyuna yaygın olarak işlenmektedir. İstatistiklere göre 2007 ve 2008 yıllarında ülkemizde meyve suyuna işlenen çilek miktarı sırasıyla 4100 ve 7700 tondur (Anonim 2012).

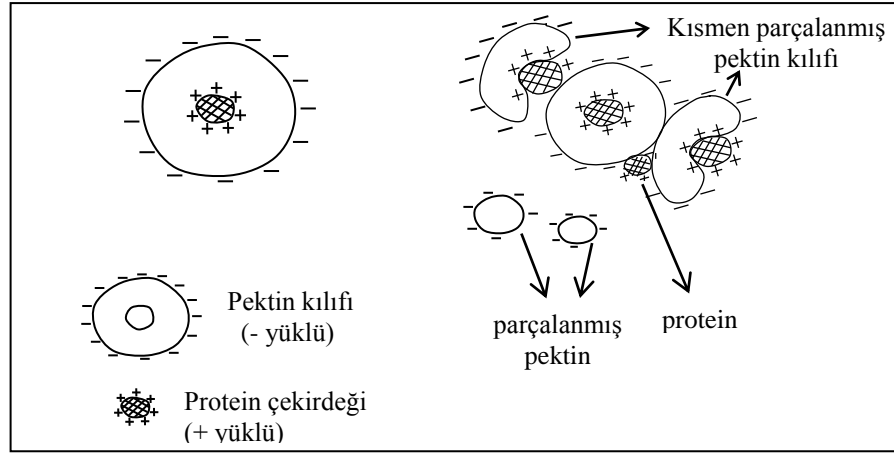
2.2 Berrak Nar ve Çilek Suyu Üretiminde Durultma İşlemi

Berrak nar suyu ve çilek suyu üretiminde meyveler durultma işleminden önce çeşitli işlemlere tabi tutulmaktadırlar. Öncelikle meyveler ayıklama ve yıkama gibi ön

işlemlerden geçirilerek meyve suyuna işlemeye hazır hale getirilmektedir. Yıkama işleminin ardından çilekler saplarından ayrılırken, narlar; kabuklarıyla preslenecekse dörde bölünmekte ya da narların daneleri preslenecekse daneleme işleminden geçirilmektedir. Çok çabuk bozulduklarından hemen işlenmesi gereken çilekler, saplarından ayrıldıktan sonra meyve değirmeninde mayşe haline getirilmekte ve ardından daha yüksek verimle çilek suyu üretimi amacıyla çileklerden elde edilen mayşeye enzimasyon uygulanarak presleme işlemine geçilmektedir (Deuel ve Plotto 2004). Nar suyu üretiminde ise; meyve mayşe haline getirilmeden, narlar; doğrudan kabuklarıyla veya danelenerek preslenmektedir. Gerçekleştirilen presleme işleminin ardından berrak meyve suyu üretiminde en önemli sorunu oluşturan bulanıklık unsurlarının uzaklaştırıldığı durultma işlemine geçilmekte olup, durultma işlemi depektinizasyon ve berraklaştırma olmak üzere iki aşamadan oluşmaktadır.

2.2.1 Depektinizasyon

Presleme sonrasında elde edilen meyve ham suyu, büyüklükleri farklılık gösteren ve meyve suyuna bulanık bir görüntü veren çeşitli maddeler içermektedir. Bu maddeler kaba dispers parçacıklar, koloidal halde çözülmüş bileşikler ve gerçek çözelti halindeki bileşiklerden oluşmaktadır (Okoth vd. 2000). Bunlar arasında özellikle meyve suyu kolloidleri durultma işleminde oldukça önem taşımaktadır. Bu koloidal maddeler, meyve suyunda bulanıklığa neden olan maddelerin meyve suyundan ayrılmasını engellemekte ve dolayısıyla meyve suyundan uzaklaştırılamayan bulanıklık unsurları da meyve suyuna gelen ışığı dağıtırak meyve suyunun bulanık görünmesine neden olmaktadır (Siebert 2006). Meyve suyunun bulanık görünümünün giderilip saydam bir görünüm kazanabilmesi için de durultmanın ilk aşaması olarak depektinizasyon işlemi uygulanmakta ve pektolitik enzimlerle pektin ve amilolitik enzimlerle nişasta içeren ürünlerdeki nişasta parçalanmaktadır. Böylece bulanıklık unsurlarını koruyucu kolloid görevi gören negatif yüklü pektin kılıfı içindeki pozitif yüklü proteinler serbest kalmakta ve durultma yardımcı maddesiyle flok oluşturabilecek duruma gelmektedir (Lozano 2003). Şekil 2.2’de bu durum şematik olarak gösterilmiştir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009).



Şekil 2.2 Pektinin parçalanmasıyla bulanıklık unsurlarının stabilitelerinin bozulması (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009)

Cemeroğlu (1977) tarafından bölümümüzde yürütülen bir çalışmada narın pektin içermediği belirlenmiş ve bu nedenle de nar suyunun depektinizasyonunun gerekli olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Çileğin ise; galakturonik asit cinsinden 1.24 mg pektin (mg galakturonik asit/100 g meyve) içerdiği belirtilmekte olup, çilek suyu üretiminde depektinizasyon işleminin bulanıklık unsurlarının stabilitelerinin bozulması açısından gerekli olduğu önerilmektedir (De Souza vd. 1999, Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Depektinizasyon işleminden sonra, durultmanın ikinci aşaması olan ve durultma yardımcı maddeleriyle gerçekleştirilen berraklaştırma işlemi uygulanmaktadır.

2.2.2 Berraklaştırma

Berraklaştırma işleminde amaç; depektinizasyon ile stabiliteleri bozulan bulanıklık unsurlarının meyve suyundan uzaklaştırılmasını sağlamaktır. Meyve sularında bulanıklık; pektin, nişasta vb. koruyucu kolloidlerin neden olduğu reaksiyonlar dışında, protein-polifenol interaksiyonu ve polifenollerin kendi aralarındaki polimerizasyonu ve kondensasyonu sonucu da oluşabilmektedir (Beveridge 1997, Fang vd. 2006a).

Proteinler: Diğer meyvelerde olduğu gibi nar ve çilek meyvelerinde de azotlu bileşiklerin miktarı çok düşüktür ve genellikle %1'in altındadır (Mishkin ve Saguy 1982, Sharma vd. 2009, Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Buna rağmen bazen meyve

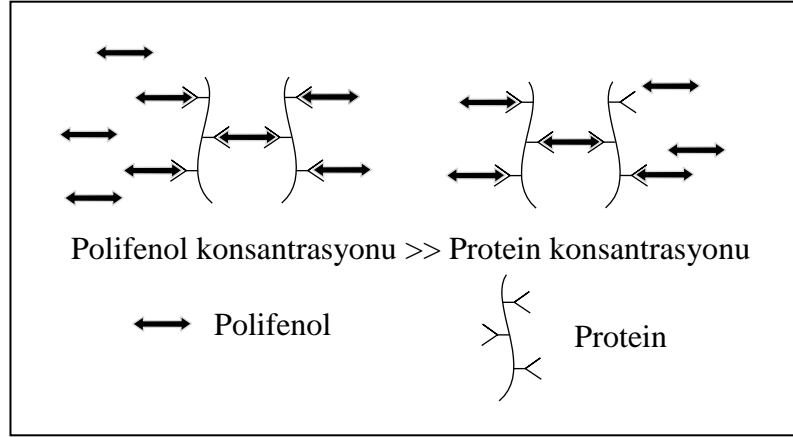
sularında proteinlerin neden olduğu önemli bulanma sorunlarıyla karşılaşmaktadır. Meyve sularındaki proteinler, meyve sularının genel pH sınırlarında (pH 3.5–4.0) pozitif yüklüdürler. Daha önce de açıklandığı gibi pektin kılıfı tarafından sarılmış olan bu proteinlerin meyve suyundan uzaklaştırılması, negatif yüklü pektin kılıfının pektinazlar tarafından parçalanmasının ardından gerçekleşmektedir.

Polifenoller: Polifenoller, meyve ve sebzelerde buruk tat ve kırmızı-mor renkten sorumlu olan bileşik grubudur. Meyve sularındaki bu bileşikler, meyve sularının rengi ve bulanıklığı açısından son derece önemlidir. Özellikle nar suları, polifenoller bakımından oldukça zengin meyve suları olup, nar sularında bulunan polifenoller bulanıklık ve tortu oluşumunda rol oynayan en önemli bileşik grubudur (Turfan 2008, Mirsaeedghazi vd. 2010). Meyve suyundan, bu yüksek moleköl ağırlığına sahip bileşiklerin uzaklaştırılmasıyla; berrak görünüme sahip bir meyve suyu elde edilmesinin yanı sıra, meyve suyunun tadı da yumuşamakta ve içilebilirliği iyileşmektedir.

Polifenoller, hem proteinlerle kompleks oluşturarak hem de kendi aralarında gerçekleşen polimerizasyon ve kondensasyon reaksiyonları sonucunda meyve sularında bulanıklık oluştururlar. Meyve sularında bulunan polifenoller arasında prosiyanidinler ise (kateşin, epikateşin vs.), oldukça kararsız bileşikler olup, polimerize olmuş prosiyanidinler, proteinlerle kompleks oluşturmadan da bulanıklık ve sediment oluşturabilecek kadar yüksek moleköl ağırlığına sahip moleküller meydana getirebilmektedir (Spanos ve Wrolstad 1992).

Protein-polifenol etkileşimi: Şekil 2.3'te görüldüğü gibi protein-polifenol etkileşimi ile ortaya çıkan bulanıklık, polifenollerle bağ yapma yeteneğine sahip proteinler (Haze Active Protein) ile iki protein molekölü arasında köprü oluşturabilme yeteneğinde olan bir polifenol (Haze Active Polifenol) arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu oluşmaktadır (Siebert vd. 1996). HA polifenoller, en az iki bağlanma bölgesine sahiptirler ve böylelikle bir polipeptid üzerinde bulunan aromatik halkalardaki en az iki hidroksi grubuna bağlanabilirler (Siebert 1999). Dolayısıyla, proteinlerin yapısındaki

polifenol bağlama bölgelerinin ve polifenol moleküllerinin bağlanma uçlarının eşit sayıda olduğu durumlarda maksimum düzeyde bulanıklık oluşmaktadır.



Şekil 2.3 Polifenol bakımından zengin meyve sularında polifenol-protein etkileşimi (Siebert vd. 1996)

2.2.3 Geleneksel durultmada kullanılan durultma yardımcı maddeleri

Durultmanın etkin bir şekilde gerçekleştirilebilmesinde şüphesiz kullanılacak durultma yardımcı maddelerinin fonksiyonları son derece önemlidir. Durultma yardımcı maddeleri genel yapıları itibariyle; toprak bazlılar (bentonit, kaolin), proteinler (jelatin, kazein, albümin), polisakkaritler (agarlar), sentetik polimerler (PVPP), silisyum dioksit (kizelsol) vb. olarak gruplandırılmaktadır (Benitez ve Lozano 2007). Meyve sularının durultulmasında, genellikle bu durultma yardımcı maddelerinden bentonit, jelatin, kizelsol veya bunların kombinasyonları kullanılmaktadır.

Bentonit: Bentonit, meyve sularının durultulmaları ve stabilizasyonunda çok yönlü etkisi bulunan bir durultma yardımcı maddesidir. Doğal bir kil olan bentonitin, en önemli bileşeni %60–80 arasında değişen oranlardaki montmorillonit'tir. Montmorillonitin genel formülü, $Me^{+0.36}[(Al_{1.64}Mg_{0.36}(OH)_2(Si_4O_{10})]^{0.36-}$ dir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Bentonitin durultmadaki esas etkisi, adsorpsiyon gücüne dayanmaktadır. Geniş yüzey alanına sahip olan bentonit, önemli ölçüde negatif yükle yüklenmiş olmasının yanı sıra yer değiştirme özelliğine sahip katyonlar içerir (Eisenhour ve Brown 2009). Montmorillonit üç katmanlı bir yapıda olup, Al^{+3} , O^{-2} ve

OH⁻ iyonlarından oluşan iki oktahedral ve Si⁺⁴, O⁻² iyonlarından oluşan bir tetrahedral katman içermektedir (Niekamp 1984). Bentonit, su absorbe ettiğinde formülü (Al, Mg, Fe³⁺)₄(Si, Al)₈O₂₀(OH)₄xH₂O şekline dönüşmektedir (Krauskopf 1967). Durultma sırasında kullanılan bentonitin orta katmanındaki katyonlar ile, meyve suyunda bulunan pozitif yük taşıyan proteinler yer değiştirir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Dolayısıyla, bentonitten ayrılan katyonlar meyve suyunda serbest hale geçerler. Bilindiği üzere, ACN'ler; Al, Mg, Fe, Cu ve Sn gibi metallerle kompleks oluşturarak (Starr and Francis 1974, Markakis 1982), stabil ve daha yoğun renkli bileşikler meydana getirirler. Bunun aksine bazı çalışmalarda ise, bentonitin kullanılmasıyla oluşan floklarla birlikte ACN ve diğer polifenollerin de meyve suyundan uzaklaştığı belirtilmektedir (Morris ve Main 1995, Siebert ve Lynn 1997a).

Jelatin: Sığır, koyun vb. hayvanların deri, kemik ve bağ dokularındaki kollajenin hidrolizasyonu ile elde edilen suda çözünebilir bir proteindir. “A tipi” ve “B tipi” olmak üzere iki çeşidi vardır. Bu iki çeşit jelatinin elde edilme yöntemleri farklı olduğu gibi, meyve sularının durultulmasında önemli olan izoelektrik noktaları açısından da farklılık göstermektedir. Hammaddenin hidrolizasyonunun asitte yapılmasıyla elde edilen A tipi jelatinin izoelektrik noktası pH 7.0–9.0 arasındadır. Hammaddenin alkalide hidrolizasyonu ile elde edilen B tipi jelatinin ise, izoelektrik noktası pH 4.0–5.0 arasındadır (Baziwane ve He 2003). İzoelektrik nokta, farklı pH değerlerinde jelatinin kazandığı pozitif ve negatif yük miktarını etkilediği için önemli bir özelliktir. Jelatin, izoelektrik noktası altındaki pH değerinde pozitif yük kazandığı için meyve suyu pH aralığında (pH 3.0–4.0) pozitif yüktedir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Ayrıca jelatinin izoelektrik noktasındaki pH derecesi ile meyve suyunun pH derecesi arasındaki fark arttıkça, jelatinin pozitif yükü de artmaktadır. Bu nedenle meyve sularının durutulmasında A tipi jelatin kullanılmaktadır. Bu şekilde meyve sularının pH'sında yoğun bir şekilde pozitif yük içeren jelatin, negatif yüklü polifenollerle flok oluşturmakta ve oluşan jelatin-polifenol kompleksi dibe çökmektedir. Bu sayede hem meyve suyu berrak bir görünüm kazanmakta hem de meyve suyunun buruk tadından sorumlu olan polifenoller uzaklaştırıldığı için meyve suyunun tadı yumuşamaktadır. Fakat durultma işleminde kullanılacak olan jelatin konsantrasyonu son derece

önemlidir. Bu yüzden durultma işleminden önce yapılan ön deneylerle en uygun jelatin konsantrasyonu (dozu) belirlenmelidir (Djagny vd. 2001).

Kizelsol: Silisyum dioksidin sulu süspansiyonlarına verilen isimdir. Meyve suyu pH aralığında jelatinin aksine negatif yüklüdür ve durultma işleminde genellikle jelatinle birlikte kullanılır. Kizelsol, meyve suyu berraklaştırılmasında çeşitli fonksiyonları dolayısıyla tercih edilmektedir. Bunlardan birincisi, yeterli miktarda polifenol içermeyen meyve sularına eklenmesi sonucu, meyve suyundaki negatif yükleri artırmasıdır (Hahn ve Possmann 1977, Morris ve Main 1995). Böylece jelatin-polifenol olarak floklaşmayan kalıntı jelatin, kizelsol ile flok oluşturmakta ve bu sayede uzaklaştırılabilmektedir. Eğer meyve suyu içerisinde fazla miktarda jelatin kalırsa, depolanma sırasında sonradan bulanma sorunu ile karşılaşılabilir. Kizelsolün diğer bir kullanım amacı ise, sıcak durultma olanağı sağlamasıdır. Sıcak durultmada (50°C) jelatin, polifenollerle tek başına flok oluşturamadığı için etkin bir berraklaştırma gerçekleştirilememektedir. Jelatinin daha iyi flok oluşturması için, kizelsol ile kombinasyonundan yararlanılmaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009)

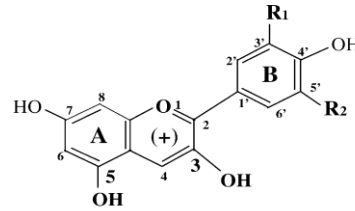
2.2.4 Durultma işleminin meyve suyu rengi ve bileşimi üzerine etkisi

Renk, kalite kriterleri arasında tüketici beğenisini etkileyen en önemli faktördür. Nar ve çilek gibi kırmızı meyvelerde ve dolayısıyla bu meyvelerden elde edilen meyve sularında da kalitenin en önemli indikatörü renktir. Birçok meyve, sebze ve çiçeğin kendine özgü pembe, kırmızı, mavi ve mor tonlardaki çeşitli renginden sorumlu olan bileşikler “antosiyenin (ACN)” adı verilen doğal renk maddeleridir.

ACN’ler; polifenollerin flavonoid grubuna dahil, suda çözünebilir yapıdaki bileşiklerdir. 635’den fazla çeşidi olduğu belirlenen (He ve Giusti 2010) bu renk maddelerinin temel yapısını, flavilium katyonundan türemiş olan antosiyanidinler (aglikon) oluşturmaktadır. Toplamda 23 civarında antosiyanidin olduğu saptanmış olup, bunlardan 6 tanesinin meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunduğu belirtilmektedir

(De Pascual–Teresa ve Sanchez–Ballesta 2008, Castañeda–Ovando vd. 2009). Çizelge 2.4’de bu 6 antosiyanidin kimyasal yapısına yer verilmiştir (Guisti ve Wrolstad 2003).

Çizelge 2.4 Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin kimyasal yapıları (Guisti ve Wrolstad 2003)



Antosiyanidin	R ₁	R ₂	λ_{\max} (nm)	Renk
Siyanidin (Cy)	OH	H	506 nm	Turuncu-Kırmızı
Pelargonidin (Pg)	H	H	494 nm	Turuncu
Peonidin (Pn)	OCH ₃	H	506 nm	Turuncu-Kırmızı
Delfinidin (Dp)	OH	OH	508 nm	Kırmızı
Petunidin (Pt)	OCH ₃	OH	508 nm	Kırmızı
Malvidin (Mv)	OCH ₃	OCH ₃	510 nm	Mavi-Kırmızı

Meyve ve sebzelerde başat olarak bulunan ACN’ler; başta meyve ve sebze çeşidi olmak üzere iklim ve toprak yapısı gibi birçok etkene bağlı olarak önemli farklılıklar göstermektedir. Doğada yaygın olarak bulunan antosiyanidin glikozitlerinden 3-glikozitler, 3,5-diglikozidlerden yaklaşık 2.5 kat daha fazla bulunmakta olup, siyanidin 3-glikozit, doğada en yaygın bulunan ACN molekülüdür. Çizelge 2.5’te nar ve çileklerde yaygın olarak bulunan ACN’lere yer verilmiştir.

Meyve sebzelerin çeşitli renklerinden sorumlu olması dolayısıyla önem taşıyan ACN’ler; stabilitesi düşük pigmentler olup, ACN’lerin düşük stabilitesinin temel nedeni olarak C halkasının doymamış yapıda olması ve bu durumun bileşiğe reaktif özellik kazandırması gösterilmektedir (Turfan 2008). Bunun dışında ACN’ler; moleküldeki hidroksil ve metoksil gruplarının sayısı ve konumu, konsantrasyon, kopigmentasyon ve açılasyon derecesi gibi yapısal faktörlerin yanı sıra çevresel birçok faktörden de

etkilenmektedir. Başta sıcaklık ve oksijen olmak üzere askorbik asit, hidrojen peroksit, kükürt dioksit, enzimler, şeker ve parçalanma ürünleri, metal iyonları ve ışık gibi birçok çevresel faktör ACN'lere etki ederek parçalanmalarına ve kendilerine özgü renklerini kaybederek istenmeyen renkte bileşikler oluşturmalarına neden olmaktadır. Dolayısıyla ACN içeriği yüksek olan nar ve çilek gibi kırmızı meyvelerden elde edilen meyve suları, durultma işleminden önemli ölçüde etkilenmektedir.

Çizelge 2.5 Nar ve çilek meyvesinde bulunan ACN'ler

Meyve	Çeşit	ACN'ler	Kaynak
Çilek (Strawberry)	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	Pelargonidin-3-glu (%23), siyanidin-3-glu (%14)	Fuleki (1969)
	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	Pelargonidin-3-glu (%72,1), pelargonidin-3-glu-mal (%17,1), siyanidin-3-glu (%10,3), pelargonidin-3-glu-succ (%0,5)	Kammerer vd. (2007)
	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	Pelargonidin-3-glu (%83), pelargonidin-3-rut (%8), siyanidin-3-glu (%7)	Lopes da Silva vd. (2007)
Nar (Pomegranate)	<i>Punica granatum</i> L. cv. Assaria (Portekiz) cv. Gabsi (Tunus)	Siyanidin-3-glu, delfinidin-3-glu, siyanidin-3,5-diglu, delfinidin-3,5-diglu, pelargonidin-3-glu pelargonidin-3,5-diglu	Miguel vd. (2004), Hasnaoui vd. (2011)
	<i>Punica granatum</i> L. cv. Wonderful (A.B.D.)	Siyanidin-3-glu (%42), delfinidin-3-glu (%25), siyanidin-3,5-diglu (%17), delfinidin-3,5-diglu (%14), pelargonidin-3-glu (%2)	Gil vd. (2000)
	<i>Punica granatum</i> L. cv. Mollar (İspanya)	Siyanidin-3-glu (%40), siyanidin3,5-diglu (%38), pelargonidin-3-glu (%7), delfinidin-3,5-diglu (%6), pelargonidin-3,5-diglu(%4), delfinidin-3-glu (%4)	Martí vd. (2001)

Literatürde durultma işleminde kullanılan durultma yardımcı maddelerinin meyve suyunun ACN içeriğini etkilediğini gösteren çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Diğer meyve sularına kıyasla nar ve çilek sularının durultulması ile ilgili olarak sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

Daha önce de bahsedildiği gibi, nar sularında bulanıklık oluşumuna öncelikli olarak polifenol-polifenol kompleksi neden olmaktadır (Turfan 2008). Benzer şekilde çilek sularının da polifenol içeriğinin yüksek olması (nar sularındaki kadar fazla olmasa da) nedeniyle çilek sularında da bulanıklık oluşumunun öncelikli olarak polifenollerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun dışında çilek suyunda bulunan (-) yüklü pektin de presten alınan meyve suyundaki diğer bulanıklık etmeni parçacıkların etrafını sarmakta ve (-) yük kazandırarak çökmelerini engellemektedir.

İşte meyve suyunda bulunan yüksek miktardaki polifenollerin polimerizasyonu veya kondensasyonu sonucu bulanıklık oluşumu gözlenmekte ve zamanla bu polimerik yapılar molekül ağırlıklarının artmasıyla tortu oluşturarak dibe çökmektedirler. Durultma sırasında kullanılan durultma yardımcı maddeleri de flok oluşumunu artırarak meyve suyundan bulanıklık unsurlarının uzaklaşmasını sağlamaktadırlar. Ayrıca oluşan bu floklar, meyve suyundan ayrılırken ACN'leri de beraberinde sürükleyerek ACN kaybına da neden olabilmektedir (Tabur vd. 1987, Vardin ve Fenercioğlu 2003). Nitekim nar sularının durultulması üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada, durultma işleminde pektinaz (1 ml/L), bentonit (0.045 g/L) ve jelatin (0.17 g/L) kullanılmış olup, nar suyunun başlangıçta 241 mg/L olan ACN içeriği durultma işleminin ardından 232 mg/L'ye düşmüştür (Taştan 2013). Benzer şekilde Erkan-Koç (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, nar suyunun 0.375 g/L jelatin ile durultulmasıyla meyve suyunun ACN içeriğinin 180 mg/L'den 145 mg/L'ye düştüğü görülmüştür. Yapılan bu çalışmalarda durultma işlemi sonundaki ACN kaybının, bir kısım ACN'lerin kullanılan durultma yardımcı maddeleriyle polifenoller arasında oluşan flokla birlikte meyve suyundan uzaklaşmasından kaynaklandığı sonucuna ulaşılmıştır.

Çilekte bulunan ACN'ler ise, diğer meyvelere kıyasla durultma işleminden daha fazla etkilenebilmekte ve durultma işlemi sırasında uygulanan sıcaklığın da etkisiyle hızlı bir şekilde parçalanarak veya diğer polifenollerle kondense olarak da kayba uğramaktadır. Bakker vd. (1992) meyve suyu prosesinin çilek suyu ACN'leri üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada, çilek suyunu durultma işlemini santrifugasyon (4°C'de 200 x g 20dak.) ve filtrasyon ile gerçekleştirmişlerdir. Araştırma sonunda durultma işleminden sonra çilek suyunun ACN içeriğinde büyük oranda kayıp gözlenmiş olup, bu kayıp ACN'lerin askorbik asit ve oksijenin etkisi sonucu okside olarak parçalanmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca polifenol oksidaz (PPO) enziminin de ACN kaybına neden olduğu ve PPO aktivitesi sonucu oluşan kinon ve diğer ara ürünlerin, ACN kaybına yol açan oksidasyon ve polimerizasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Bunların dışında Vukosavljević vd. (2006) gerçekleştirdikleri bir çalışmada "raspberry" meyve suyu üretimi sırasında uygulanan enzimasyon, durultma ve konsantre işleminin meyve suyu ACN'leri üzerine etkisini incelemişlerdir. Durultma işleminde; geleneksel durultma, mikrofiltrasyon ve ultrafiltrasyon olmak üzere 3 farklı yöntem uygulanmıştır. Geleneksel durultmada durultma yardımcı maddesi olarak 0.036 g/L jelatin ve 1 g/L bentonit kullanılmış olup, geleneksel durultma işlemi ile %50 oranında ACN kaybı meydana geldiği belirlenmiştir.

Nar ve çilek suları dışında Vinhao şarapları üzerine yapılan başka bir çalışmada, durultma yardımcı maddesi olarak PVPP (1 g/L), albumin (0.2 g/L), jelatin (0.2 g/L) ve kazein (0.6 g/L) kullanılmış ve şarapların ACN içeriğinde meydana gelen değişimler analiz edilmiştir (Castillo-Sanchez vd. 2006). Araştırma sonucunda, kullanılan durultma yardımcı maddelerinin ACN'ler üzerine etkisinin, uygulanan şarap üretim yöntemine göre farklılık gösterdiği saptanmıştır. Örneğin; uygulanan bir proseste (12 saatte bir rotasyon ile gerçekleştirilen fermentasyon işlemi) bu durultma yardımcı maddeleri arasında PVPP'nin diğer durultma maddelerinden daha fazla renk kaybına neden olduğu saptanmışken diğer bir proseste ise (saatte bir hava pompalama ile gerçekleştirilen fermentasyon işlemi), kazeinin PVPP'den %50 daha fazla ACN ve dolayısıyla renk kaybına neden olduğu belirtilmiştir.

Meyve sularında, durultma işleminin etkisiyle ACN içeriğinde azalış görülebildiği gibi bazı durumlarda azalışın aksine artış da gözlenebilmektedir. Bu artış, ACN'lerin Al, Mg, Fe, Cu ve Sn gibi metallerle kompleks oluşturmasıyla ilişkilendirilmektedir (Markakis 1982). Çünkü ACN'ler "kopigment" adı verilen ve genellikle kendi başına renksiz olan bu maddelerle kompleks oluşturdukları zaman, ACN'lerin renk yoğunluğu ve stabiliteleri büyük oranda artmaktadır (Wrolstad ve Erlandson 1973). Sadece siyanidin, delfinidin ve petunidin içeren ACN'ler; "B" halkalarında birden fazla hidroksil grubu bulundurmaları nedeniyle, metallerle çelat oluşturma yeteneğindedirler. Ayrıca, kopigmentasyon etkisi; özellikle pH 4 civarında en üst düzeydedir (William ve Hrazdina 1979, Rein 2005). Dolayısıyla meyve suyunda bulunan ACN'ler ile bentonitin yapısındaki Al, Mg ve Fe metallerinin kopigmentasyonu sayesinde durultma işleminden sonra, meyve suyunun ACN miktarında artış gözlenebilmektedir. Nitekim Türkyılmaz vd. (2012) yürüttükleri bir çalışmada; durultmada kullandıkları pektolitik enzim ve bentonitin siyah havuç suyu ACN içeriğinde artışa neden olduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmada; durultma işleminde 2.85 mL/L enzim, 0.715 g/L bentonit, 0.15 g/L jelatin ve 0.39 mL/L kizelsol (%15, v/v) kullanılmıştır. Araştırma sonucunda depektinizasyon ve bentonit uygulamalarının ardından meyve suyunun ACN içeriğinde sırasıyla %7 ve %9–11 oranında artış gözlenmiş olup, bu artışın ACN'lerin meyve suyundaki polifenoller veya metallerle kopigmentasyonundan kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Bentonitin ardından ilave edilen jelatin ve kizelsolün ise, %10 oranında ACN kaybına neden olduğu görülmüştür. Bu kayıp; siyah havuç suyu pH'sında (pH 4.3) pozitif yüklü jelatin ile negatif yüklü kizelsolün etkileşime girerek flok oluşturmaları ve oluşan bu flokların da meyve suyundan ayrılırken ACN'lerin de meyve suyundan uzaklaşmasına neden olması ile ilişkilendirilmiştir. Diğer taraftan Dıblan (2014) tarafından yapılan çalışmada ise üzüm suyu, 0.2 g/L bentonit kullanılarak durultulmuş ve durultma işlemi sonrasında meyve suyunun ACN içeriğinde %6 oranında azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Bu çalışmada, üzüm suyu ACN'lerinde kopigmentasyon etkisi görülmemiş olup, negatif yüklü bentonit ile pozitif yüklü ACN'lerin zıt yükleri sayesinde, interaksiyona girerek ACN'lerin ortamdan uzaklaştığı belirtilmiştir. Bilindiği gibi, kopigmentasyonun gerçekleşebilmesi için ACN'lerin B halkasının en az 2 tane OH grubu içermesi gerekmektedir. Yapılan birçok çalışmada, kırmızı üzümde bulunan başat antosiyaninin malvidin monoglikozit (mlv-3-glu) olduğu bildirilmiş olup, bu

antosiyenin, B halkasında bulunan R1 ve R3 pozisyonlarına bağı grupların her ikisi de metil grubudur. Bu nedenle, üzüm suyunda kopigmentasyon etkisi görülmediği düşünölmektedir.

Durultma işleml, meyve sularının ACN içeriğinde değişim meydana getirmesinin yanı sıra meyve sularındaki diğer polifenoller üzerinde de etkili olabilmektedir. Nitekim nar kabukları, hidrolize olabilen polifenoller açısından son derece zengin olup, başta ellajitanen ve izomerleri olmak üzere daha az miktarlarda punikalın (4,6-gallagylglucose), gallik asit, ellajik asit ve ellajik asit glikozitlerini (hexoside, pentoside, rhmnoside vs.) içermektedir. Presleme boyunca kabuk ve bölmeler arası dokudan meyve suyuna yüksek miktarda polifenol geçmekte olup, bunlar arasında kondense olabilen polifenoller (proantosiyanidinler) ile hidrolize olabilen polifenoller (ellajitanenler ve gallotanenler) yüksek molekül ağırlığına sahip polifenolik bileşiklerdir (Seeram vd. 2005). Çilek meyvesi ise, başta ellajik asit türevleri (ellajik asit, ellajitanen, ellajik asit glukozitleri) olmak üzere flavonoller (kamferol, kuersetin, mirisetin), flavanoller, sinamik asit ve türevleri bakımından oldukça zengindir (Aaby vd. 2007). Durultma işleml sırasında kullanılan pozitif yüklü jelatin de daha çok bu yüksek molekül ağırlığına sahip negatif yüklü polifenollere etki etmekte ve meyve suyunun polifenol içeriğinin azalmasına neden olmaktadır.

Elma, armut ve üzüm suyunda bulunan polifenollerin meyve suyu üretimi sırasında değişiminin incelendiği bir çalışmada, jelatinle gerçekleştirilen durultma işleminin elma suyunun polifenol içeriğinde azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın daha çok polimerik prosiyanidin miktarında meydana geldiği belirtilmektedir. Armut suyunun polifenol içeriğinde ise; bentonit, jelatin ve kizelsol kullanılmasıyla önemli bir azalma görülmemiş olup, polifenoller arasında flavonol glikozitlerin proses aşamalarından en az etkilenen bileşik grubu olduğu belirtilmiştir (Spanos ve Wrolstad 1992). Karaca (2011) tarafından yürütölen çalışmada da nar suyu, jelatin (20–30g/ton) ve bentonit (200–250 g/ton) ile durultulmuş ve pres çıkışı nar suyunda 156.1 mg/L olan ellajik asit miktarı durultma sonrasında 71.7 mg/L'ye düşmüştür.

Başka bir çalışmada ise, Pinelo vd. (2006) siyah kuş üzümü suyunu (black currant juice), 12.5 g/L jelatin ve 1.188 g/mL kizelsol ile durultmuşlar ve durultma sonrasında toplam polifenol içeriğinde %42, ACN içeriğinde ise, %44 oranında kayıp belirlemişlerdir. Durultma yardımcı maddesi olarak bentonit ve kizelsolün kullanıldığı başka bir çalışmada da, meyve suyundan proteinleri uzaklaştırmada kizelsole kıyasla (yaklaşık %25) bentonitin büyük oranda etkili olduğu (yaklaşık %92) tespit edilmiştir (Siebert ve Lynn 1997b). Ayrıca bentonit ve kizelsolün polifenoller üzerinde sınırlı ölçüde etkisinin olduğu da gözlenmiştir.

Bu çalışmalar dışında Fang vd. (2007) “bayberry” meyve suyunu jelatin/bentonit kombinasyonundan yararlanarak durultmuşlar ve bulanıklık değeri 1010 NTU olan durultulmamış “bayberry” meyve suyunun bulanıklığı oda sıcaklığında gerçekleştirilen durultmayla 71.3 NTU’ya düşürülmüştür. Durultma öncesi ve sonrası meyve suyunun polifenol ve protein içeriği kıyaslandığında ise sırasıyla; %13 ve 43 oranında azalma meydana geldiği belirlenmiştir.

Siyah havuç suyu konsantresi ile gerçekleştirilen bir diğer araştırmada meyve suyu üretimi sırasında meyve suyunun polifenol içeriğindeki değişimler ve bu değişimlerin antioksidan aktivite ile ilişkisi araştırılmıştır (Özkan 2009). Siyah havuç suyunun durultulmasında; 2.85 mL/L enzim, 0.715 g/L bentonit, 0.15 g/L jelatin ve 2.6 mL/L kizelsol (%15) kullanılmıştır. Durultma işlemi sonucunda siyah havuç suyunun polifenol içeriğinde %9 düzeyinde azalış saptanmıştır. Bunun yanında, en düşük toplam polifenol miktarı “depektinize edilmiş” örneklerde belirlenmiştir. Depektinize edilmiş örneklerin polifenol madde içeriğindeki bu azalışın nedeni açıklanamamıştır. Ayrıca antioksidan aktivitedeki değişim incelendiğinde ise; “depektinize edilmemiş” siyah havuç sularının antioksidan aktivitesi “40.15 μ M troloks/ μ L siyah havuç suyu” iken, “depektinize edilmiş” siyah havuç sularında, bu değer “34.63 μ M troloks/ μ L siyah havuç suyu” olarak bulunmuştur. Yani siyah havuç sularının depektinize edilmesi sonucunda, antioksidan aktivite değerlerinde %14 düzeyinde azalma saptanmıştır. Bununla birlikte, “depektinize edilmiş” siyah havuç sularına göre, diğer durultma aşamalarında alınan örneklerin antioksidan aktivite değerlerinde önemli bir değişim saptanmamıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Nar ham suyu ve çilek ham suyu

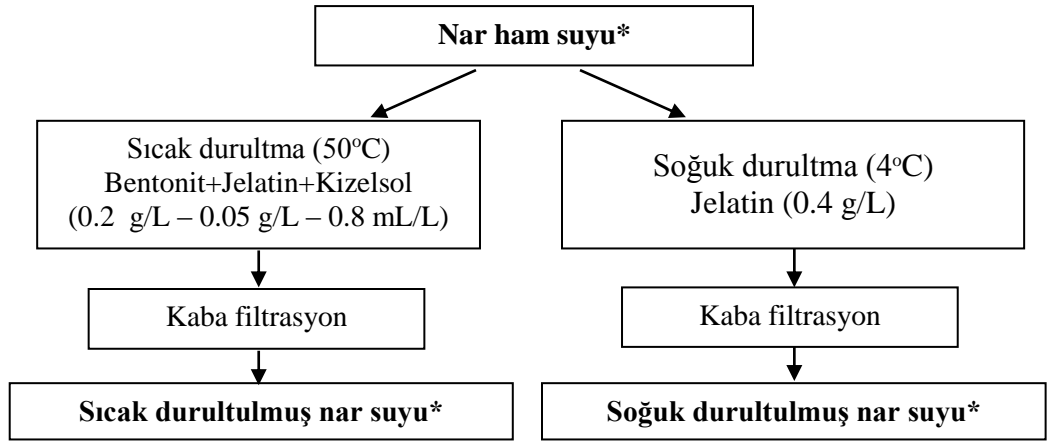
Araştırmada materyal olarak “Tarım ve Gıda Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti.” (TARGID, Mersin) firmasından, üretimin pres çıkışı aşamasında temin edilmiş “nar ham suyu” ve “çilek ham suyu” kullanılmıştır. Nar ham suyu; danelerinin koyu kırmızı renkte olması dolayısıyla meyve suyu işlenmesine uygun bir nar türü olan “Hicaz” türü narlardan elde edilmiştir. Çilek ham suyu ise; Akdeniz Bölgesi’nde yetiştirilen ve meye suyuna işlemeğe uygun “Camarosa” türü çileklerden elde edilmiştir.

3.1.2 Kimyasallar

ACN’lerin HPLC ile tanımlanmasında kullanılan standartlardan "siyanidin 3-O-glukozit" ve "siyanidin 3,5-O-diglukozit" Sigma (Taufkirchen, Almanya) firmasından, "pelargonidin 3-O-glukozit", "pelargonidin 3,5-O-diglukozit", "delfinidin 3-O-glukozit" ve "delfinidin 3,5-O-diglukozit" Extrasynthese (Genay, Fransa) firmasından satın alınmıştır. ACN’lerin saflaştırılmasında kullanılan C18-Sep-Pak kartuşları (kolonları) Waters firmasından (Milford, MA, A.B.D.) temin edilmiştir. ACN’lerin ekstraksiyonunda, saflaştırılmasında ve HPLC ile analizinde, daima HPLC saflığında (HPLC grade) solventler kullanılmıştır. Diğer analizlerde; Merck (Darmstad, Almanya) firmasından temin edilen, ya analitik saflıkta ya da yüksek saflıkta (extra pure) kimyasallar kullanılmıştır.

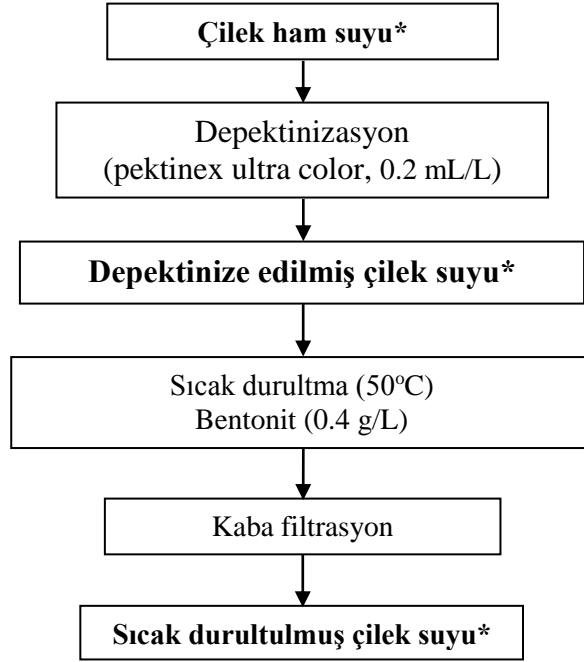
3.2 Yöntem

TARGID Ltd. Şti. firmasından, üretimin pres çıkışı aşamasında temin edilen nar ve çilek ham suyunun durultulmasında uygulanan işlemler şekil 3.1–3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.1 Nar suyunun durultulması

*: Örnek alım aşaması



Şekil 3.2 Çilek suyunun durultulması

*: Örnek alım aşaması

3.2.1 Nar suyunun durultulması

Durultma, endüstriyel üretimde uygulanan sıcak durultma yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Nar suyunda pektin bulunmadığı için (Cemeroğlu 1977), depektinizasyon işlemine gerek duyulmadan, sadece kullanılması öngörülen durultma yardımcı maddeleriyle sıcak durultma işlemi (bentonit, jelatin ve kizelsol) yapılmıştır.

Kullanılacak durultma yardımcı maddelerinin en uygun dozları, yapılan ön denemelerle belirlenmiştir. Durultma ön denemeleri için; farklı dozlarda durultma yardımcı maddeleri (bentonit, jelatin ve kizelsol kombinasyonu) nar suyuna eklenmiş olup, maksimum berraklığın elde edildiği durultma yardımcı maddeleri miktarları belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları ve Tartışma" bölümünde verilmiştir.

Durultma yardımcı maddelerinin en uygun dozları belirlenirken öncelikle uygun bentonit dozu saptanmıştır. Denemelerde kullanılacak bentonit, kütlesinin 9 katı su ile iyice karıştırılarak süspansiyon haline getirilmiş ve bu süspansiyon 1 gece kendi halinde bırakılarak şişmesi sağlanmıştır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Her bir durultma denemesinde 250 mL nar suyu kullanılmıştır. Nar suyuna %10 (w/v) konsantrasyonda hazırlanan bentonit çözeltisinden farklı miktarlarda eklendikten sonra nar suyu 50°C’de bir su banyosunda (GFL model, şehir, Almanya) 30 dak. bekletilmiştir. Daha sonra bentonit uygulanmış nar suyuna %1’lik (w/v) jelatin çözeltisinden ve %15’lik (v/v) kizelsol çözeltisinden farklı miktarlarda eklenerek, jelatin ve kizelsol için doz denemeleri yapılmıştır. Durultma işleminin ardından nar suyu kaba filtreden filtre edilmiş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Ayrıca sıcak durultma yöntemiyle kıyaslanması amacıyla nar suyu “soğuk durultma” yöntemi ile de durultulmuştur. Bu amaçla, 4°C’ye soğutulan nar sularına %1’lik (w/v) jelatin çözeltisinden farklı miktarlarda eklenerek, 18 h süreyle sıcaklık kontrollü bir inkübatörde (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) bekletilmiştir. Elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları ve Tartışma" bölümünde verilmiştir.

Durultulmamış, soğuk ve sıcak durultmaya tabi tutulmuş nar suları, fiziksel özellikleri ve kimyasal kompozisyonu bakımından kıyaslanmıştır. Nar ham suyunun ve durultulmuş nar sularının genel bileşimini belirlemek için; briks, pH ve titrasyon asitliği tayini yapılmıştır. Bunun dışında; toplam polifenol miktarı, antioksidan aktivite, toplam monomerik ACN miktarı ile ACN parçalanma ölçütleri belirlenmiştir. Son olarak da; ACN dağılımları HPLC yöntemiyle saptanmıştır.

3.2.2 Çilek suyunun durultulması

Nar sularında olduğu gibi çilek suları da, endüstriyel üretimde uygulanan sıcak durultma yöntemi ile durultulmuştur. Bu amaçla, çilek suyuna ilk olarak ticari enzim preparatı "Pectinex Ultra Color"dan (Novozymes A/S, Danimarka) farklı miktarlarda eklenerek 50°C'de (GFL model) 2 h süreyle depektinize edilmiştir. Her bir durultma denemesinde 250 mL nar suyu kullanılmıştır. Depektinizasyon işleminin tamamlanıp tamamlanmadığı alkol testi ile izlenmiştir. Ayrıca örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve bulanıklık düzeyleri türbidimetre ile ölçülmüştür. Bu denemeler sonucunda en düşük NTU değerinin elde edildiği enzim dozu dikkate alınarak durultma işleminin ikinci aşaması olan berraklaştırma işlemine geçilmiştir. Belirlenen dozlarda enzim, çilek suyuna ilave edildikten sonra nar suyundaki gibi öncelikle bentonit dozu belirlenmiştir. Daha sonra bentonit uygulanmış nar suyuna %1'lik (w/v) jelatin çözeltisinden ve %15'lik (v/v) kizelsol çözeltisinden farklı miktarlarda eklenerek, jelatin ve kizelsol için doz denemeleri yapılmıştır.

Durultma işleminin ardından çilek suyu kaba filtreden filtre edilmiş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları ve Tartışma" bölümünde verilmiştir. Durultulmamış ve bahsedilen durultma yardımcı maddeleri ile durultulan çilek suyunun, fiziksel özellikleri ve kimyasal kompozisyonu bakımından kıyaslanmıştır. Çilek ham suyunun ve durultulmuş çilek suyunun genel bileşimini belirlemek için; briks, pH ve titrasyon asitliği tayini yapılmıştır. Bunun dışında; toplam polifenol miktarı, antioksidan aktivite, toplam monomerik ACN miktarı ile ACN parçalanma ölçütleri belirlenmiştir. Son olarak da; ACN dağılımları ve askorbik asit miktarı HPLC yöntemiyle saptanmıştır.

3.2.3 Fiziksel analizler

3.2.3.1 Suda çözünür kuru madde tayini

Örneklerde suda çözünür kuru madde (briks) dijital bir refraktometre (Atago Rx-7000,

Tokyo, Japonya) kullanılarak saptanmıştır. Briks ölçümleri, 20°C’de yapılmıştır. Refraktometrenin sıfır ayarı, damıtık su ile yapılmıştır.

3.2.3.2 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (Mettler Toledo SevenCompact pH/Ion S220, Schwerzenbach, İsviçre) ile saptanmıştır. Bu amaçla, bulanık ve berrak nar ve çilek suyu örneklerinden bir behere 20 mL alınarak pH değeri belirlenmiştir. pH ölçümleri, 20°C’de yapılmıştır.

3.2.3.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Bulanıklık ölçümleri, türbidimetre (Hach 2100N, Loveland, CO, A.B.D.) yardımıyla belirlenmiştir. Bulanıklık düzeyi "NTU (Nephelometric Turbidity Unit)" değeri ile ifade edilmiştir. Bulanıklık düzeyi, nar ve çilek sularında seyreltme yapılmadan doğrudan belirlenmiştir.

3.2.3.4 Reflektans renk tayini

Bu amaçla, reflektans spektrofotometresi (Minolta CM-3600d, Osaka, Japonya) kullanılmıştır. Nar ve çilek sularının renklerinin ölçümünde CIE L*a*b* sistemi kullanılarak L*, a* ve b* değerleri belirlenmiştir. Daha sonra a* ve b* değerlerinden, C* (chroma, renk yoğunluğu) ve h° (hue, renk tonu) değerleri aşağıda verilen 3.1 ve 3.2 No'lu eşitlikler yardımıyla hesaplanmıştır:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3.1)$$

$$h^\circ = \arctan (b^*/a^*) \quad (3.2)$$

Spektrofotometre, beyaz seramik plakaya karşı her kullanımdan önce standardize edilmiştir. Renk ölçümünde, 1 cm tabaka kalınlığı olan 10 mL hacimdeki quartz küvet

kullanılmıştır. Işık kaynağı olarak CIE tarafından belirlenen C ışıtıcısından (Illuminant C) yararlanılmıştır.

Örneklerin reflektans renk değerlerinin (L^* , a^* , b^* , C^* ve h) aritmetik ortalama ve standart sapma değerlerinin hesaplanmasında, “Minolta CM-S100w SpectraMagic NX” 1.22 versiyonu bilgisayar programı kullanılmıştır. Renk ölçümleri örneklerin maksimum dalga boyundaki absorbands değerleri 1.000 ± 0.05 'e ayarlandıktan sonra yapılmıştır. Bu amaçla meyve suyu örnekleri, 0.025 *M* potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) kullanılarak seyreltilmiş ve analiz gerçekleştirilmiştir.

CIE $L^*a^*b^*$ sisteminde L^* değeri aydınlık derecesi (lightness) olarak tanımlanmakta ve bu değer 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişmektedir. CIE a^* değeri, 0 ile 60 arasında değişmekte olup, pozitif a^* değerleri kırmızı, negatif a^* değerleri ise, yeşil rengi göstermektedir. CIE b^* değerleri de, 0 ile 60 arasında değişmekte; pozitif b^* değerleri sarı, negatif b^* değerleri ise, mavi rengi göstermektedir. a^* ve b^* değerlerinin 0 olması, cismin renksiz (akromatik) olduğunu göstermektedir. CIE C^* (kroma, chroma) değeri, renk doygunluğu veya renk yoğunluğu (saturation) ile ilgili bir nitelik olup 0 ile 60 arasında değişmekte ve renk düzleminin merkezinde 0 (mat, dull) ve merkezden uzaklaştıkça parlak (vivid) tonlar artmaktadır. h° (hue) değeri ise, renk tonu veya renkle ilgili bir nitelik olup 0° – 360° arasında değişmekte; 0° ve 360° kırmızı, 90° sarı, 180° yeşil ve 270° mavi olarak değerlendirilmektedir.

3.2.4 Kimyasal analizler

3.2.4.1 Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği, pH ile izlenerek yürütülen elektrometrik titrasyonla saptanmış olup, analizde IFU (1968) tarafından önerilen işlemler uygulanmıştır. Bu amaçla, pH tayini için hazırlanmış olan nar ve çilek suları ayarlı 0.1 *N* NaOH çözeltisi ile ve pH metre yardımıyla, pH 8.1'e ulaşıncaya kadar titre edilmiştir. Nar ve çilek suyu örneklerinin titrasyon asitliği, susuz sitrik asit cinsinden "g 100 mL⁻¹" olarak hesaplanmıştır.

3.2.4.2 Toplam monomerik ACN tayini

Bu amaçla, Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen, Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH diferansiyel metodu kullanılmıştır. Bu metodun ilkesi, monomerik ACN'lerin pH 1.0'da renkli oksonium formunun, pH 4.5'de ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortam pH 1.0 ve 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan ACN konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Nar ve çilek suları seyreltilmeden analizde kullanılmıştır. Durultulmamış meyve suları 10 000 x g'de 10 dak. süreyle santrifüj edilip, bulanıklık oluşturacak tortularından ayrılmıştır.

Nar ve çilek suyu örnekleri, potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile seyreltilerek, absorbans değerleri 1.0 civarına getirilmiştir. Böylece analizler birçok spektrofotometrenin doğrusal sınırı olan 1.2 absorbans değerinin (Özkan vd. 2010) altında yürütülmüştür. Potasyum klorür çözeltisi (pH 1.0) ile belirlenen bu seyreltme oranı, hem potasyum klorür ve hem de sodyum asetat tampon çözeltisi (pH 4.5) ile uygulanmış ve elde edilen seyreltikler, 15 dak. süreyle denge oluşması için kendi halinde bırakılmışlardır. Bekleme süresi sonunda, seyreltikler 0.45 µm gözenek çapındaki PVDF (polyvinylidene fluoride) filtreden (Sartorius AG, Goettingen, Almanya) filtre edildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (damıtık su) aynı anda koyulabildiği çift huzmeli (double-beam) spektrofotometre (ThermoScientific Evolution 201, Cambridge, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Absorbans ölçümleri, damıtık suya karşı, nar ACN'lerinin $\lambda_{vis-maks}$ dalga boyu olan 515 nm ile çilek ACN'lerinin $\lambda_{vis-maks}$ dalga boyu olan 499 nm'de ayrıca düşük düzeydeki bulanıklığın belirlenmesi için 700 nm'de 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık küvetlerde (Brand GmbH, Postfach, Wertheim, Almanya) yapılmıştır. Monomerik ACN miktarı, nar suyunda baskın bulunan siyanidin-3-glukozid (Gil vd. 2000) ve çilek suyunda baskın bulunan pelargonidin-3-glukozid (Lopes da Silva vd. 2007) cinsinden aşağıda verilen 3.3 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Monomerik ACN miktarı (mg/L)} = \frac{(A) (MW) (S_f) 1000}{(\epsilon) (L)} \quad (3.3)$$

Burada:

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

MW : Baz olarak alınacak ACN'in⁽¹⁾ molekül ağırlığı (g/mol),

S_f : Seyreltme faktörü,

ε : Molar absorpsiyon katsayısı⁽²⁾ (L cm⁻¹ mol⁻¹),

L : Spektrofotometre küvetinin tabaka kalınlığı (cm).

- (1) Siyanidin-3-glukozidin molekül ağırlığı MW=449.2 g/mol ve pelargonidin-3 glukozidin molekül ağırlığı MW=433.2 g/mol,
- (2) Siyanidin-3-glukozidin molar absorbans değeri ε =26 900 L cm⁻¹ mol⁻¹ ve pelargonidin-3 glukozidin molar absorbans değeri ε =22 400 L cm⁻¹ mol⁻¹ alınarak hesaplama yapılmıştır (Giusti ve Wrolstad 2001).

3.2.4.3 ACN dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi

HPLC yöntemi iki aşamadan (saflaştırma ve hesaplama) oluşan bir uygulama olup, bu aşamalar aşağıda açıklanmıştır.

Saflaştırma

Nar suyu örneklerinden, şeker ve organik asit gibi unsurların uzaklaştırılması amacıyla saflaştırma işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla Skrede vd. (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Saflaştırma işleminin ilk aşamasında C-18 Sep-Pak kolonlarındaki (Waters Co.) dolgu maddesinin (sorbentin, 100 mg) ACN'lerle reaksiyona girebilmesini sağlamak için şartlandırma (conditioning) işlemi yapılmıştır. Bu işlemde kolondan sırasıyla; 5 mL etil asetat, 5 mL metanol (%0.01 HCl içeren) ve son olarak da 2 mL asitlendirilmiş su (%0.01 HCl içeren) geçirilmiştir. Ekstraksiyona

hazır hale getirilen kolona, saflaştırılacak bileşeni içeren nar suyu örneğinden 1 mL ve çilek suyu örneğinden 0.5 mL yüklenmiş ve daha sonra 5 mL asitlendirilmiş suyla elüe edilmiştir. Böylece bu elüsyon ile organik asitler, şekerler ve suda çözünür nitelikteki diğer bileşikler gibi analizi interfere eden bileşikler uzaklaştırılırken, ACN'ler ve diğer polifenolik bileşikler kolon üzerinde sorbente bağlanmıştır. Eşdüze bir saflaştırma işlemi için saflaştırma düzeneğinden (manifold) (Waters Co.) yararlanılmıştır.

C-18 Sep-Pak kolonu, N₂ gazı akımında tutularak kalıntının kuruması sağlanmıştır. Daha sonra 2 mL asitlendirilmiş MeOH (%0.01 HCl içeren) ile yıkanarak ACN'leri içeren ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ACN fraksiyonu bir evaporasyon tüpüne alınmış ve azot evaporatöründe (Caliper, TurboVap, Hopkinton, MA, A.B.D) 35°C'de asitlendirilmiş MeOH, N₂ gazı altında kurutulmuştur. Daha sonra evaporasyon tüpündeki kalıntı üzerine 2 mL asitlendirilmiş su eklenerek kalıntı yeniden çözüldürülmüştür. ACN'leri içeren bu çözelti 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtreden (Sartorius AG) filtre edilerek, HPLC'nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 2 mL'lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Tanımlama ve Hesaplama

ACN'lerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında “yüksek performanslı sıvı kromatografisi” cihazından (HPLC, Agilent 1200 serisi, Waldbronn, Almanya) yararlanılmıştır. Kullanılan HPLC sistemi; ikili (binary) pompa, foto diyoderey dedektörü (PDA, photo dioderay dedector), +4°C'ye inebilen soğutma sistemine sahip oto-örnekleyici (auto-sampler), gaz giderici (degasser) ve kolon fırınından (thermostatted column compartment) oluşmaktadır. Elde edilen kromatogramlar "ChemStation rev.B.02.01" yazılım programı ile değerlendirilmiştir.

Kromatografi koşulları

- **Kolon** : Ters faz (reverse phase) C₁₈ kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc., Los Angeles, CA, A.B.D.)

- **Koruyucu kolon:** C₁₈ koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc.)
- **Akış hızı :** 1 mL dak.⁻¹
- **Elüsyon süresi :** 20 dak.
- **Enjeksiyon hacmi :** 50 µL
- **Dalga boyu :** 520 nm
- **Hareketli faz (mobile phase) :** Asetonitril (%100) (A) ile *O*-fosforik asit-asetik asit:asetonitril:su (1:10:5:84; v/v/v/v) (B) karışımı. Gradyent akış söz konusu olup, Skrede vd. (2000) tarafından önerilen elüsyon profili tarafımızdan modifiye edilerek uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 HPLC ile ACN'ler için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	1	99
10	12	88
20	22	78
25	22	78
30	1	99

Kromatogramlarda elde edilen ACN pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Örnekteki ACN'lerin miktarı; "siyanidin 3-*O*-glukozit, pelargonidin 3-*O*-glukozit, siyanidin 3,5-*O*-diglukozit, delfinidin 3-*O*-glukozit, delfinidin 3,5-*O*-diglukozit ve pelargonidin 3,5-*O*-diglukozit" standart maddelerinin her biri için oluşturulan 5 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğrilerden hesaplanmıştır.

3.2.4.4 Recovery (geri kazanım) testi

ACN'lerin analiz sürecindeki kayıp düzeylerini belirlemek için recovery (geri kazanım) testi yürütülmüştür. Bu amaçla Yemiş vd. (2010) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Recovery deneyinden önce, deneyin yapılacağı nar ve çilek suyu

örneğinde, her bir ACN bileşeninin miktarı HPLC ile ayrı ayrı belirlenmiştir. Orijinal örnekteki ACN miktarı göz önüne alınarak, saflaştırma için aynı kitleden alınmış nar suyu üzerine, nar suyunda bulunan başat ACN olan cy-3,5-diglu standart çözeltilerinden; çilek suyu üzerine ise çilek suyunda başat ACN olan pg-3-glu standart çözeltilerinden "Araştırma Bulguları ve Tartışma" bölümünde belirtilen miktarlarda ilave edilmiştir. Böylece recovery deneyinin, analizin başlangıç aşaması olan saflaştırma işlemini kapsamaması da sağlanmıştır.

Bu test için, 2 mL örnek üzerine, örnekteki ACN miktarı kadar ACN standart çözeltisi eklenerek iyice karıştırılmıştır. Daha sonra "3.2.4.3 ACN dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi" bölümünde anlatıldığı şekilde ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri yapılmış ve elde edilen ekstraktlar 0.45 µm gözenek çapındaki PVDF filtrelerden (Sartorius AG) filtre edildikten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir. Elde edilen kromatogramlarda oluşan pik alanları integre edilerek hesaplama yapılmıştır. Saptanmış standart madde miktarlarından yararlanılarak aşağıda verilen 3.4 ve 3.5 No'lu eşitlikler yardımıyla "recovery" ve "tekrarlanabilirlik" (reproducibility, varyasyon katsayısı) değerleri hesaplanmıştır.

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{A_2 - A_1}{A_3} (100) \quad (3.4)$$

Burada:

A_1 : Standart eklenmemiş materyaldeki bileşen miktarı,

A_2 : Standart eklenmiş materyaldeki bileşen miktarı,

A_3 : Eklenen standart miktarı.

3.2.4.5 ACN parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi

Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen yöntem kullanılarak; ACN'lerin parçalanma ölçütleri olarak kabul edilen "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" gibi üç nitelik belirlenmiştir.

Toplam monomerik ACN miktarı tayininde 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) kullanılarak uygun bir seyreltme oranı saptanmıştı. Bu seyreltme oranına göre, nar ve çilek suyu örnekleri bu defa damıtık suyla seyreltilmiş ve böylece ortamın, materyalin doğal pH derecesinde kalması sağlanmıştır. Örneklerle herhangi bir ilave seyreltme yapılmamıştır. Ortamdaki bulanıklık yapan unsurları uzaklaştırmak için, tüm örnekler 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtrelerden (Sartorius AG) filtre edilmiştir. Analiz öncesinde bu filtrasyona ilaveten, durultulmamış nar suyu örneğine 10 000 x g'de 10 dak. süreyle santrifüj işlemi uygulanarak, bulanıklık oluşturacak tortulardan ayrılmıştır.

İki ayrı 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık spektrofotometre küvetinin (Brand Gmbh) her birine bu seyreltikten 2.8 mL alınıp, küvetlerden birindeki seyreltik üzerine 0.2 mL bisülfite (%20; w/v, K₂S₂O₅) çözeltisi eklenerek, örnekteki monomerik ACN'lerin renksiz "sülfonik asit kompleksi" oluşturması sağlanmıştır. Buna karşın, "polimerik ACN-tanen" kompleksleri ve "melanoidin" pigmentleri ise, bisülfite karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Bu esmer renkli pigmentlerin ortamdaki konsantrasyonu arttıkça, 420 nm'de okunan absorpsiyon değerleri yükselmektedir.

Diğer küvete ise, bisülfite çözeltisi yerine 0.2 mL damıtık su eklenerek her iki küvet 15 dak. süreyle denge oluşumu için kendi haline bırakılmışlardır. Bu süre sonunda, her iki küvetteki çözeltilerin absorpsiyon değerleri 420 nm, λ_{vis-maks} (nar suyu için 515 nm, çilek suyu için 499 nm) ve 700 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Ölçümler damıtık suya karşı yapılmıştır. Ölçüm sonuçları aşağıda belirtildiği gibi "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" olarak değerlendirilmiştir.

Renk yoğunluğu

Bu değer, "bisülfite uygulanmamış küvette bulunan örneğin, λ_{vis-maks} ve 420 nm dalga boylarındaki absorpsiyonları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.5 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

$$\text{Renk yoğunluğu} = [(A_{\lambda_{\text{vis-maks}}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.5)$$

Burada:

S_f : seyreltme faktörü

Polimerik renk

Bu değer, "bisülfid uygulanmış küvette bulunan örneğin, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ ve 420 nm dalga boylarındaki absorpsanları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.6 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

$$\text{Polimerik renk} = [(A_{\lambda_{\text{vis-maks}}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.6)$$

Polimerik renk oranı

Polimerik renk oranı; polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı olarak tanımlanmaktadır. Hiçbir işlem görmemiş taze meyve ve sebze sularında bu oranın genellikle %10'un altında olduğu bildirilmektedir (Guisti ve Wrolstad 2001). Bu değer arttıkça, monomerik ACN'lerin parçalandığı ve esmer renkli pigmentlerin arttığı, kısaca doğal rengin bozulduğu anlaşılır. Bu değer, aşağıda verilen 3.7 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

$$\text{Polimerik renk oranı (\%)} = \frac{\text{Polimerik renk}}{\text{Renk yoğunluğu}} (100) \quad (3.7)$$

3.2.4.6 Toplam polifenollerin tayini

Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem, polifenollerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayıracını

indirgeyerek kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna ve bu reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi rengin spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda şahide karşı okunmasına dayanmaktadır. Örnekte ölçülecek absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan polifenol miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde hesaplanmıştır. Toplam polifenol miktarı, nar ve çilek sularında, “mg gallik asit/L meyve suyu” cinsinden belirlenmiştir.

Nar ve çilek suları, fazla miktarda polifenol içermeleri nedeniyle seyreltilerek analize hazırlanmıştır. Bu amaçla, 1 mL örnek 5 mL’lik ölçü balonunda damıtık su ile seyreltilmiştir. 100 mL’lik ölçü balonuna konulan 75 mL damıtık su üzerine 1 mL seyreltilmiş nar suyu eklenmiştir. Daha sonra, balon içeriği üzerine 5 mL Folin-Ciocalteu ayracı eklenerek balon iyice çalkalanmıştır. Balon içeriği 3 dak. kendi haline bırakıldıktan sonra, üzerine 10 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi (%20; w/v) eklenip balon, damıtık su ile hacme tamamlanmış ve bir kez daha iyice çalkalanmıştır. Balon içeriği kendi halinde 60 dak. bekletildikten sonra spektrofotometrede aynı şekilde hazırlanmış ancak içerisine nar suyu yerine, bu defa aynı hacimde damıtık su eklenmiş şahide karşı 720 nm’de absorbansı saptanmıştır. Absorbans ölçümleri, 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık küvetlerde (Brand Gmbh) yapılmıştır.

Örneklerin polifenol içeriği gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla 100 mg gallik asit 100 mL damıtık suda çözündürülerek 1000 mg L⁻¹ konsantrasyonda gallik asit stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 ve 8.0 mL alınarak her biri 10 mL’lik ölçü balonlarına aktarılmış, balonlar damıtık su ile çizgisine tamamlanmıştır. Bu şekilde sırasıyla 100, 200, 400, 600 ve 800 mg gallik asit L⁻¹ konsantrasyonlarda çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltiler ile 1000 mg L⁻¹ konsantrasyonda hazırlanan stok çözeltilere nar ve çilek suyu örneklerine uygulanan analiz aşamaları uygulanmış ve yine 720 nm dalga boyunda bu 6 çözeltilerin absorbans değerleri saptanmıştır. Bu absorbans değerleri gallik asit konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak gallik asit standart eğrisi elde edilmiş ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneklerin absorbans değerlerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan polifenol miktarları, standart eğriyi tanımlayan eşitlik yardımıyla

bulunmuştur. Regresyon eşitliğinden bulunan konsantrasyon değerleri, seyreltme oranları ile çarpılarak örneklerdeki toplam polifenol miktarları hesaplanmıştır.

3.2.4.7 Antioksidan aktivite tayini

Bu amaçla, Miller ve Rice-Evans (1997) ile Arts vd. (2001) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem, ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) ve potasyum persülfat arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu mavi/yeşil renkli ABTS^{•+} radikal katyonunun oluşması ve bu katyon tarafından tutulan antioksidatif maddelerin miktarının sentetik bir antioksidan olan Troloks'un (suda çözünen E vitamini analogu) standart miktarlarıyla kıyaslanarak bağlı ölçümünü sağlamaktadır. Ölçümler, mavi/yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS^{•+} radikalinin kayboluşunun spektrofotometrik olarak belirlenmesiyle yapılmıştır.

Antioksidan aktivite tayini analizinde öncelikle 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, 20°C'ye ayarlı bir inkübatörde (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) 12–16 h arasında bekletilerek, ABTS^{•+} radikal çözeltinin oluşması sağlanmıştır. Daha sonra bu radikal çözeltisinin, örneklerin ve troloks standardının seyreltilmesinde kullanılacak olan PBS (fosfat tamponu; **Phosphate Buffer Saline**) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla, öncelikle 0.1 M fosfat tamponu hazırlanmış ve üzerine 8.77 g NaCl eklenerek 1 L'ye damıtık suyla tamamlanmıştır. Böylece pH'sı 7.4 olan PBS çözeltisi elde edilmiştir. Daha sonrasında nar ve çilek sularında antioksidan aktivite düzeyinin belirlenmesi için gerekli olan troloks standart eğrisi hazırlanmış ve standart eğrinin oluşturulmasında analizde elde edilen verilere, doğrusal regresyon analizi uygulanarak troloks eğrisini tanımlayan eşitlik ($y = 4.1548x + 2.142$, $R^2=0.9968$) belirlenmiştir. Bu eşitlik yardımıyla nar ve çilek sularının antioksidan aktivite düzeyi hesaplanmıştır.

Analize başlamadan önce nar ve çilek suları seyreltilmiştir. Bu amaçla nar suyundan 0.4 mL alınarak 50 mL hacme PBS ile tamamlanmış ve çilek suyundan 0.5 mL alınarak 25 mL hacme PBS ile tamamlanmıştır. Örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin

(PBS) aynı anda konulabildiği çift huzmeli (double beam) spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Absorbans ölçümleri 734 nm'de 2 mL hacimde 1 cm ışık yolu uzunluğunda tek kullanımlık mikro küvetlerde (Brand Gmbh) yapılmıştır. Ayrıca ABTS^{•+} radikal çözeltisi PBS çözeltisi ile 734 nm'de absorbans değeri 0.700±0.02 olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ABTS^{•+} radikal çözeltisinden 990 µL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Mikro küvet içindeki radikal çözeltisi üzerine örnekten 10 µL eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmıştır. 6 dak. boyunca, her bir dakikada absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Nar suyu örneklerinde bulunan antioksidan bileşiklerin, radikal çözeltisinin rengini gittikçe açmasıyla, 6 dakikalık süreçte absorbans değerleri zamana bağlı olarak düşmüştür. 6. dak. sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorbans değeri} - \text{Son absorbans değeri}}{\text{Başlangıç absorbans değeri}} \times 100 \quad (3.8)$$

10 µL örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek 20 µL (980 µL ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine) ve 30 µL (970 µL ABTS^{•+} radikal çözeltisi üzerine) hacimlerde aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20 ve 30 µL) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Sonuçlar TEAC (**T**rolox **E**quivalent **A**ntioxidant **C**apacity; troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi) değeri olarak ifade edilmiştir. Bu değer, örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğiminin, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanmasıyla elde edilmiştir. Elde edilen eğim değeri, seyreltme faktörü ile de çarpılarak örneklerin antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir.

3.2.4.8 Askorbik asit dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi

Askorbik asit kompozisyonu, HPLC yöntemiyle iki aşamadan (saflaştırma ile tanımlama ve hesaplama) oluşan bir uygulama sonunda belirlenmiş olup, bu aşamalar aşağıda açıklanmıştır.

Saflaştırma

Saflaştırma işleminin ilk aşamasında, C-18 Sep-Pak kartuşları (Waters Co.), önce 5 mL etil asetat ile, daha sonra 5 mL metanol ile (%0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş) ve nihayet 2 mL %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş su ile aktive edilmiştir. Ekstraksiyona hazır hale getirilen kartuşa, 1 mL çilek suyu yüklenerek, 2 mL asitlendirilmiş su ile elüe edilmiş ve %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş su ile 5 mL hacme tamamlanmıştır. Elüsyon işlemi ile organik asitler (askorbik asidin de içinde olduğu), şekerler ve suda çözünür diğer bileşikler elüe edilirken, ACN'ler ve diğer polifenoller, kartuş üzerinde sorbente bağlanmıştır. Böylece, organik asit dağılımının belirlenmesinde kullanılan dalga boyunda interferans yapan polifenollerin, örnekten uzaklaştırılması sağlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar, 0.45 µm tek kullanımlık PVDF filtrelerden (Sartorius AG) filtre edildikten sonra HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

Tanımlama ve hesaplama

Askorbik asidin tanımlama ve hesaplanmasında; “3.2.4.3 ACN dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi” başlığı altında özellikleri verilen HPLC cihazından (Agilent 1200 serisi) yararlanılmıştır.

Kromatografi koşulları

- **Kolon** : Ters faz (reverse phase) C₁₈ kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc.)
- **Elüsyon süresi** : 70 dak.

- **Dalga boyu :** 210 nm
- **Enjeksiyon hacmi :** 100 µL
- **Mobil faz :** 0.005 N H₂SO₄ çözeltisi (pH'sı 2.75'e ayarlanmış). Elüsyon profili aşağıdaki gibi uygulanmıştır (Çizelge 3.2). Daood vd. (1994) tarafından önerilen metod tarafımızdan modifiye edilerek uygulanmıştır.

Çizelge 3.2 HPLC ile askorbik asit için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	% B	Akış hızı (mL/dak.)
0	100	0.5
15	100	0.5
20	100	1.5
55	100	1.7
70	100	1.7

Standart eğrinin oluşturulmasında, analizlerde elde edilen verilere, doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve bu eğriyi tanımlayan eşitlik belirlenmiştir. Bu eşitlik yardımı ile çilek sularında bulunan askorbik asit miktarları hesaplanmıştır.

3.2.5 İstatistik değerlendirme

Nar ve çilek sularının sıcak durultma yöntemiyle durultulmasının briks, pH, titrasyon asitliği, toplam monomerik ACN miktarı, polimerik renk oluşumu, toplam polifenol miktarı ve antioksidan aktivite üzerine etkilerini belirlemek için nar ve çilek sularının durultulması sonucunda elde edilen veriler iki tekerrürlü faktöriyel düzende varyans analiz tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre, gerekli olduğu durumda, Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak faktörlerin hangi seviyeleri arasındaki farklılığın önemli olduğu araştırılmıştır. İstatistik analizler için "Minitab for Windows (ver. 15.1)" ve "MSTAT" paket programları kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Nar ve Çilek Sularının Durultulması

4.1.1 Nar suyunun durultulması

Daha öncede değinildiği üzere, nar sularına depektinizasyon işlemi uygulanmamıştır. Nar suları pektin içermemesine karşın, polifenol içeriği yüksek olan bir meyve suyudur. Yapılan çalışmalarda bu polifenollerin nar sularında, zamanla tortu oluşumuna neden olduğu, aynı zamanda nar sularına buruk bir tat kazandırdığı ve bu yüzden nar sularının durultulması gerektiği belirtilmektedir (Cemeroğlu 1977). Nitekim Turfan vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada nar suyuna 2 g/L jelatin eklenerek 5°C’de gerçekleştirilen soğuk durultma işlemi ile mükemmel berraklıkta nar suyu elde edilebileceği belirlenmiştir. Çalışmamızda da sıcak durultma yönteminin soğuk durultma yöntemi ile kıyaslanması amacıyla nar suyu, ilk önce soğuk durultma (+4°C’de 18 h) yöntemi ile durultulmuştur. Soğuk durultma işlemi sırasında nar sularına 0.2 g, 0.4 g ve 0.6 g/L miktarlarında 3 ayrı dozda jelatin içerecek şekilde jelatin çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve bulanıklık düzeyleri ile monomerik ACN miktarları belirlenmiş ve sonuçlar çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Nar sularına (250 mL) uygulanan jelatin ile soğuk durultma sonuçları

Jelatin konsantrasyonu (g/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	>4000.0	188.0
0.2	41.6	174.5
0.4	28.7	169.5
0.6	25.1	168.8

*: pH diferansiyel metoduyla tayin edilen toplam monomerik ACN miktarı

Soğuk durultma işleminden sonra nar suyu sıcak durultma yöntemiyle durultulmuş olup,

bu durultma yardımcı maddelerinin en uygun dozları belirlenirken nar sularının hem bulanıklığındaki hem de ACN içeriğindeki değişim göz önüne alınmıştır. Sıcak durultma işlemi uygulanacak meyve sularında durultma yardımcı maddelerinin eklenme sırası önce bentonit, sonrasında jelatin ve kizelsol olarak önerilmektedir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Bu yüzden nar sularının durultulmasında, öncelikle uygun bentonit dozu belirlenmiştir.

Narların preslenmesinden hemen sonra alınan nar ham suyuna yukarıda belirtilen ilkeler doğrultusunda durultma denemeleri uygulanarak gerekli bentonit miktarı belirlenmiştir. Her bir durultma denemesinde 250 mL meyve suyu kullanılmış olup, durultma "3.2.1 Nar suyunun durultulması" başlığı altında belirtildiği gibi, 50°C'ye getirilmiş nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar sularına 0.1 g, 0.2 g, 0.4 g, 0.6 g, 0.8 g, 1.0 g ve 1.2 g/L miktarlarında 7 ayrı dozda bentonit içerecek miktarlarda %10'luk (w/v) bentonit çözeltisi eklenmiş ve 50°C'de 30 dak. süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutularak bulanıklık düzeyleri ile monomerik ACN miktarları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Nar sularına (250 mL) uygulanan bentonit durultma sonuçları

Bentonit konsantrasyonu (g/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	>4000	188.0
0.1	109	183.1
0.2	93	182.8
0.4	107	179.3
0.6	108	179.4
0.8	110	171.1
1.0	99	176.4
1.2	120	175.0

*: Toplam monomerik ACN miktarı, siyanidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

Bu denemelerden elde edilen verilere göre, nar suyuna 0.2 g/L bentonit uygulanmasıyla en düşük NTU değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı belirlenmiştir. Ayrıca nar sularının ACN içeriğinde, 0.2 g/L bentonit dozunun diğer dozlara göre daha az azalmaya neden olduğu da görülmektedir. Bentonit ile gerçekleştirilen durultma denemelerinden sonra 0.2 g/L bentonit uygulanmış nar suyuna %1'lik (w/v) jelatin çözeltisinden farklı miktarlarda eklenmiş ve jelatin için durultma denemeleri yapılmıştır. Jelatin denemelerine ilişkin sonuçlar, çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Nar sularına (250 mL) uygulanan jelatin durultma sonuçları

Jelatin konsantrasyonu (g/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	>4000	188.0
0.05	162	185.7
0.1	226	181.6
0.2	293	179.4
0.3	232	176.0
0.4	347	172.9
0.5	241	169.4
0.6	228	170.5

*: Toplam monomerik ACN miktarı, siyanidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

Elde edilen sonuçlar; 0.2 g/L bentonit eklenmiş nar sularında, gerek en düşük bulanıklık düzeyine gerekse de ACN içeriğinde en az azalmaya, 0.05 g/L ve 0.1 g/L jelatin uygulanmalarıyla ulaşıldığını göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda son olarak, bentonit uygulanmış nar suyuna bu iki jelatin dozu ile %15'lik (v/v) kizelsol çözeltisinden farklı miktarlarda eklenerek jelatin ve kizelsol için durultma denemeleri yapılmıştır. Jelatin ve kizelsol durultma uygulamalarına ilişkin sonuçlar, çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Nar sularına (250 mL) uygulanan jelatin ve kizelsol durultma sonuçları

Jelatin konsantrasyonu (g/L)	Kizelsol konsantrasyonu (mL/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	–	>4000	188.0
0.05	0.16	120	183.8
0.05	0.40	119	182.1
0.05	0.80	101	179.8
0.1	0.16	141	176.0
0.1	0.40	159	177.3
0.1	0.80	133	178.4

*: Toplam monomerik ACN miktarı, siyanidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

Bu denemelerden alınan sonuçlara göre ise; maksimum berraklığa, 0.2 g/L bentonit (%10'luk), 0.05 g/L jelatin (%1'lik) ve 0.8 mL/L kizelsol (%15'lik) uygulanmasıyla ulaşıldığı saptanmıştır. Böylece durultma yardımcı maddelerinin en uygun dozları belirlenmiş olup, bundan sonraki aşamada durultma işlemiyle nar sularının başta renk ve ACN içeriğindeki değişim olmak üzere kimyasal kompozisyonlarında meydana gelen değişim incelenmiştir.

4.1.2 Çilek suyunun durultulması

Çilek, pektin içeren bir meyve (Yu ve Love 1996, Baker 1997) olduğu için, çilek suyunda öncelikle durultma işleminin ilk aşaması olan depektinizasyon denemeleri yapılmıştır. Yapılan denemelerde depektinizasyon sonrasında meyve suyunda üstte oluşan tortu nedeniyle bulanıklık belirlenememiş ve dolayısıyla uygun enzim dozu saptanamamıştır. Bu yüzden depektinizasyondan önce çilek suları tülbent bezinden kaba bir filtrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra çilek sularına ticari enzim preparatı “Pectinex Ultra Color”dan (Novozymes A/S, Danimarka) farklı miktarlarda eklenerek

50°C’de 2 h süreyle bekletilmiştir. Alkol testi ile depektinizasyon işleminin tamamlanıp tamamlanmadığı izlenmeye çalışılmış ve örnekler kaba filtrasyon kağıdından geçirilerek bulanıklık düzeyleri türbidimetrede ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5 Çilek sularına (250 mL) uygulanan depektinizasyon sonuçları

Enzim konsantrasyonu (mL/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	231	305.2
0.2	23	268.7
0.4	23	268.9
0.8	22	270.9
1.6	18	267.6

*: Toplam monomerik ACN miktarı, pelargonidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

Çizelge 4.5’de de görüldüğü gibi, farklı konsantrasyonlarda enzim ilavesiyle çilek sularında benzer bulanıklık değerleri elde edilmiştir. Ayrıca artan enzim dozu ile birlikte çilek sularının monomerik ACN miktarlarında meydana gelen azalmalar arasındaki farkın çok fazla olmadığı da görülmüştür. Depektinizasyon işleminin ardından berraklaştırma aşamasına geçilerek belirlenen enzim dozu uygulanan çilek suyuna %10’luk (w/v) bentonit çözeltisinden farklı miktarlarda eklenerek bentonit için durultma denemeleri yapılmıştır. Bentonit denemelerine ilişkin sonuçlar çizelge 4.6’da verilmiştir.

Bu denemeden alınan sonuçlara göre, çilek suyuna 0.4 g/L bentonit uygulanmasıyla en düşük bulanıklık düzeyine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. Daha sonra 0.4 g/L bentonit uygulanmış nar suyuna %1’lik (w/v) jelatin çözeltisinden farklı miktarlarda eklenerek jelatin için durultma denemeleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.6 Çilek sularına (250 mL) uygulanan bentonit durultma sonuçları

Bentonit konsantrasyonu (g/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	231.0	305.2
0.2	20.6	266.2
0.4	9.5	260.1
0.6	14.4	260.3
0.8	10.4	263.6

*: Toplam monomerik ACN miktarı, pelargonidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7 Çilek sularına (250 mL) uygulanan jelatin durultma sonuçları

Jelatin konsantrasyonu (g/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	231	305.2
0.01	70	259.5
0.03	170	255.1
0.05	284	258.7
0.07	435	256.5

*: Toplam monomerik ACN miktarı, pelargonidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7’de de görüldüğü gibi, 0.4 g/L bentonit uygulanmış çilek suyuna farklı dozlarda eklenen jelatin, çilek suyunda bulanıklığı artırmıştır. Bu yüzden daha sonraki aşamada bentonitin yanı sıra jelatin ile birlikte meyve suyundaki kalıntı jelatinin giderilmesine yardımcı olabileceği düşüncesiyle kizelsol de kullanılmış olup, bulanıklık ve ACN içeriğindeki değişim gözlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi, 0.4 g/L bentonit uygulanmış çilek suyuna jelatin ve kizelsolün eklenmesi ile çilek suyunun bulanıklık değeri çok fazla artış göstermiştir. Bu yüzden çilek sularının durultulmasında depektinizasyon işleminin ardından sadece

bentonit (0.4 g/L) uygulanmasıyla en iyi berraklıkta çilek suyu elde edilebildiği belirlenmiştir. Böylece çilek suyunun durultulmasında en uygun durultma yardımcı maddesi ve miktarı belirlenmiş olup, bundan sonraki aşamada durultma işlemiyle çilek suyunun başta renk ve ACN içeriğindeki değişim olmak üzere kimyasal kompozisyonunda meydana gelen değişim incelenmiştir.

Çizelge 4.8 Çilek sularına (250 mL) uygulanan jelatin ve kizelsol durultma sonuçları

Jelatin konsantrasyonu (g/L)	Kizelsol konsantrasyonu (mL/L)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	–	231	305.2
0.01	1.6	72	252.2
0.01	3.2	79	253.4
0.01	4.8	102	255.1

*: Toplam monomerik ACN miktarı, pelargonidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

4.2 Nar ve Çilek Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Durultulma öncesi ve sonrasında nar ve çilek sularında pH, briks ve titrasyon asitliği gibi bazı nitelikler belirlenmiş ve sonuçlar çizelge 4.9’da verilmiştir. Çizelge 4.9’da görüldüğü üzere, durultma işleminin elde edilen nar ve çilek sularının pH ve titrasyon asitliği üzerine önemli bir etkisi olmamıştır ($p>0.01$).

Meyve sularının briks değerlerine bakıldığında ise, sıcak durultma işlemi uygulanması ile nar suyunun briksinde %1.4, çilek suyunun briksinde %2.6 oranında çok sınırlı düzeyde azalma meydana geldiği görülmüştür. Yapılan varyans analizi (EK 1, Çizelge 1–2) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (EK 1, Çizelge 3) da bu azalmayı doğrulamıştır ($p<0.05$). Benzer şekilde Chatterjee vd. (2004) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada da bentonit ve jelatin kullanılarak durultulmuş elma, üzüm ve portakal suyunda bentonit kullanılması ile briks değerlerinde sırasıyla %2.4, 3.1, 4.3 oranında; jelatin kullanılması ile %3.5, 3.4 ve 6.3 oranında azalma belirlenmiştir. Ayrıca Fang vd.

(2007), nar ve çilek suları gibi yüksek ACN içeriğine sahip olan “bayberry” suyunun bentonit/jelatin kombinasyonu ile durultulması sonucunda, meyve suyu briksinde %10 azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.9 Durultma işleminin nar ve çilek sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerlerine etkisi*

Meyve suyu	Briks (%)	pH	Titrasyon asitliği* (g/100 mL)
<i>Nar suyu</i>			
Durultulmamış	14.40±0.01A	3.27±0.01	0.46±0.01
Soğuk durultma sonrası	13.57±0.00C	3.28±0.01	0.43±0.01
Sıcak durultma sonrası	14.30±0.00B	3.28±0.00	0.44±0.00
<i>Çilek suyu</i>			
Durultulmamış	8.87±0.00A	3.49±0.01	0.22±0.00
Sıcak durultma sonrası	8.64±0.01B	3.50±0.01	0.21±0.00

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

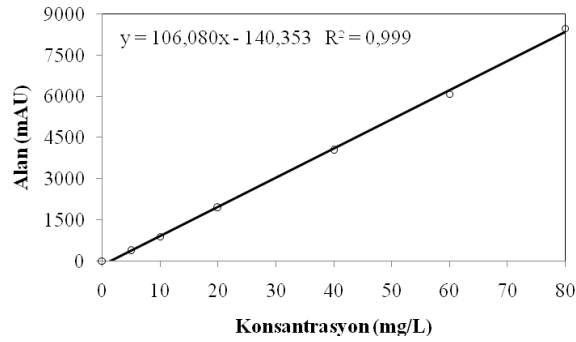
*: Susuz sitrik asit cinsinden

A–C: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

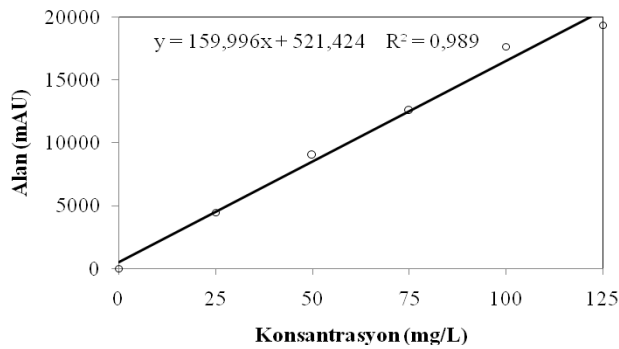
Bilindiği gibi, meyve sularının briks derecesi; meyve sularında bulunan şeker ve organik asit miktarına bağlıdır. Benzer şekilde, çileğin kalite özellikleri arasındaki ilişkinin incelendiği çalışmada da, çileklerin briks dereceleri ile toplam şeker miktarı arasında güçlü ($r = 0.82$), asit miktarı ile orta düzeyde ($r = 0.53$) bir korelasyon saptanmıştır (Gündüz ve Özdemir, 2012). Nar ve çilek sularının titrasyon asitliği üzerine durultma işleminin önemli bir etkisinin olmaması nedeniyle, durultma sonrasında briks derecesinde meydana gelen sınırlı azalmanın organik asitlerden ziyade şeker miktarındaki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha önce de belirtildiği gibi, bu çalışmada uygulanan sıcak durultma işleminde bentonit ve kizelsol yanında jelatin kullanılmıştır. Protein yapısındaki jelatin ile doğal ve oksitlenmiş formdaki mono ve disakkaritler arasında çapraz bağ oluşumu önceki çalışmalarda ortaya konulmuştur (Cortesi vd. 1998). Durultma sırasında oluşan flokla birlikte, jelatinle şeker arasında oluşan bu bağ nedeniyle, bir miktar şekerin meyve suyundan uzaklaştığı düşünülmektedir.

4.3 Nar ve Çilek Sularının ACN İçeriklerinin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler

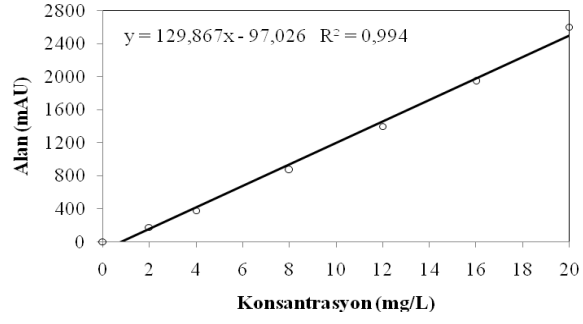
Meyve sularında HPLC yöntemi ile ACN miktarlarının hesaplanmasında kullanılması amacıyla nar suları için delfinidin-3,5-diglukozit (Dp), siyanidin-3,5-diglukozit (Cy), delfinidin-3-glukozit, pelargonidin-3,5-diglukozit (Pg) ve siyanidin-3-glukozit standart eğrileri; çilek suları için pelargonidin-3-glukozit ve siyanidin-3-glukozit standart eğrileri hazırlanmış ve bu eğriler sırasıyla şekil 4.1–4.7’de verilmiştir. Standart eğrilerin oluşturulmasında, analizlerde elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve bu eğrileri tanımlayan eşitlikler belirlenmiştir. Bu eşitlikler yardımı ile nar ve çilek sularında bulunan her bir ACN’in miktarı hesaplanmıştır.



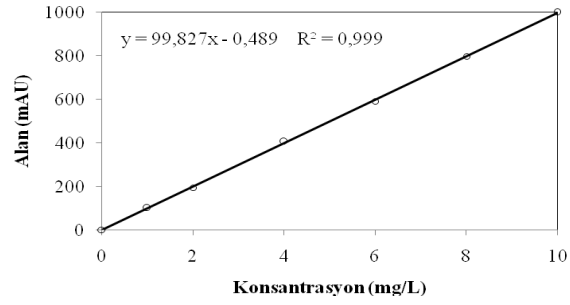
Şekil 4.1 Delfinidin-3,5-diglukozit standart eğrisi



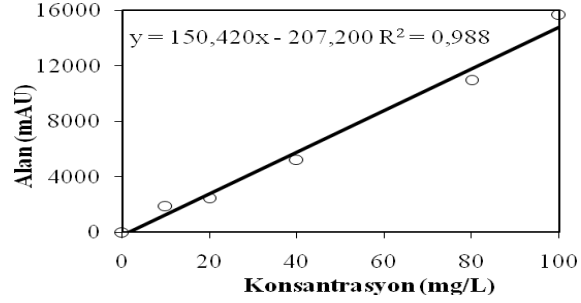
Şekil 4.2 Siyanidin-3,5-diglukozit standart eğrisi



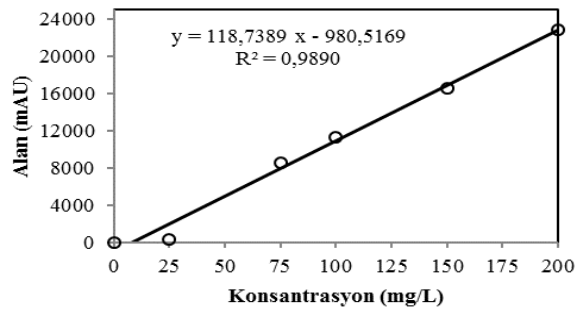
Şekil 4.3 Delfinidin-3-glukozit standart eğrisi



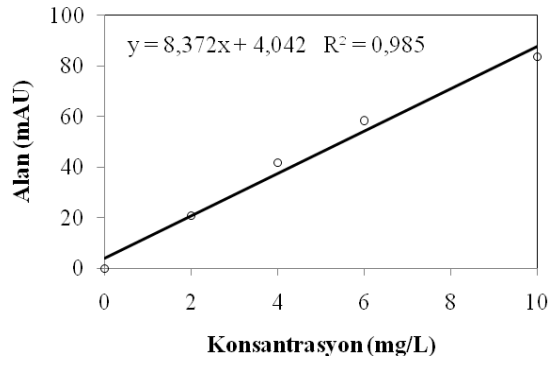
Şekil 4.4 Pelargonidin-3,5-diglukozit standart eğrisi



Şekil 4.5 Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi (Nar suyundaki antosiyanin miktarının hesaplanmasında kullanılmıştır)



Şekil 4.6 Pelargonidin-3-glukozit standart eğrisi



Şekil 4.7 Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi (Çilek suyundaki antosiyanin miktarının hesaplanmasında kullanılmıştır)

4.4 Nar ve Çilek Sularının ACN İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

4.4.1 Nar Sularının ACN İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Bentonit, jelatin ve kizelsol ile gerçekleştirilen sıcak durultma işleminin nar suyu ACN'leri üzerine etkisini saptamak üzere nar suyundaki ACN miktarı, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiştir. Ayrıca sıcak ve soğuk durultma işlemleri sırasında ACN değişiminin kıyaslanması amacıyla soğuk durultma ile durultulan nar suyunun ACN içeriği de belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.10'de verilmiştir.

Çizelge 4.10 Durultma işleminin nar sularının toplam monomerik ACN miktarları üzerine etkisi*

Meyve suyu	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	188.0±2.47 A
Soğuk durultma sonrası	169.6±1.82 B
Sıcak durultma sonrası	179.8±4.16 A

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

*: Toplam monomerik ACN miktarı, siyanidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Nar sularının ACN miktarları için yapılan varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (EK 1, Çizelge 4–5), soğuk durultma işleminin ACN

miktarında önemli düzeyde azalmaya yol açmasına ($p<0.05$) rağmen, sıcak durultma işleminin ACN miktarında önemli bir azalmaya yol açmadığını göstermiştir ($p>0.05$).

Elde edilen verilere göre, 0.4 g/L jelatin kullanılarak yapılan soğuk durultma işleminden sonra nar suyunun ACN miktarında %9.8 oranında azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Benzer şekilde laboratuvarımızda gerçekleştirilen diğer bir çalışmada da, nar suları; jelatin, kazein, albümin, ksantan gam ve kitosan kullanılarak soğuk durultma yöntemi ile durultulmuş ve bu durultma yardımcı maddelerinin nar suyunun ACN içeriğine etkisi araştırılmıştır (Erkan–Koç 2013). Sonuç olarak, soğuk durultma işlemiyle 0.375 g/L jelatinin %19.4 oranında ACN kaybına neden olduğu görülmüştür. ACN miktarında meydana gelen bu kayıp, jelatinin polifenollerle flok oluşturup nar suyundan çökerek uzaklaşması sırasında ACN'leri de beraberinde sürüklemesi ile ilişkilendirilmiştir (Alper vd. 2005, Turfan vd. 2011).

Ayrıca, nar suyunun jelatinle durultulmasına ilişkin literatürde yer alan diğer çalışmalar incelendiğinde durultmada kullanılan jelatin miktarının artmasıyla meyve suyundaki ACN kaybının da arttığı görülmektedir. Örneğin nar suyunun soğuk durultma yöntemiyle durultulduğu bir çalışmada, durultulmada kullanılan jelatinin miktarına (0.5–2.5 g/L) bağlı olarak toplam monomerik ACN miktarında %5.6–6.2 düzeyinde azalma belirlenmiştir (Vardin ve Fenercioğlu 2003). Aynı şekilde Turfan vd. (2011) tarafından yapılan araştırmada nar suları, 0.4 g/L (danelerin preslenmesi) ve 1 g/L (tüm meyvenin preslenmesi) jelatin kullanarak 5°C'de durultulmuş, durultma sonrasında sırasıyla %4.1 ve 19 oranında ACN kaybı olduğu belirlenmiştir. Görüldüğü gibi, yapılan çalışmalarda durultmada kullanılan jelatin miktarına bağlı olarak meyve suyundaki ACN kaybı da farklılık göstermektedir. Bu farklılık, gerek kullanılan jelatinin kimyasal özelliklerinin farklı olmasından gerekse de meyve suyuna işlenen nar çeşitlerinin farklı olmasından kaynaklanabilmektedir. Aynı zamanda, aynı çeşit narların kimyasal kompozisyonunun; yetiştirme bölgesine, iklime, olgunluğa ve depolamaya bağlı olarak değişmesi de meyve suyundaki ACN kaybını etkileyen bir diğer faktördür.

Sıcak durultma sonrasında ise; nar suyunun ACN içeriğinde %4.4 oranında azalma meydana gelmiş olsa da, bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

Durultma işleminin ACN'ler üzerine etkisini incelemek amacıyla, nar sularının toplam monomerik ACN miktarlarının belirlenmesinin yanı sıra HPLC ile de toplam ACN içerikleri belirlenmiştir. HPLC ile toplam ACN miktarı, materyale ait kromatogramdaki her bir ACN pikinin alanının hesaplanmasından sonra, siyanidin-3-glukozit pikine ait standart eğri esas alınarak suretiyle miktar belirlenmiş ve bunların toplamı "toplam ACN" olarak verilmiştir. Her iki yöntemle de elde edilen veriler, çizelge 4.11'de verilmiştir. Toplam ACN miktarlarının "siyanidin 3-O-glukozit" cinsinden hesaplanması nedeniyle, spektrofotometrik ve HPLC yöntemleri arasında kıyaslama yapılması da mümkün olmuştur.

Çizelge 4.11 Durultma uygulanmış ve uygulanmamış nar sularının toplam ACN içerikleri*

Meyve suyu	Toplam ACN miktarı (mg/L)*	
	Spektrofotometrik	HPLC
Durultulmamış	188.0±2.47A	204.7±3.31A
Soğuk durultma sonrası	169.6±1.82B	173.3±3.03B
Sıcak durultma sonrası	179.8±4.16A	162.2±6.25B

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

*: Toplam monomerik ACN miktarları, siyanidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

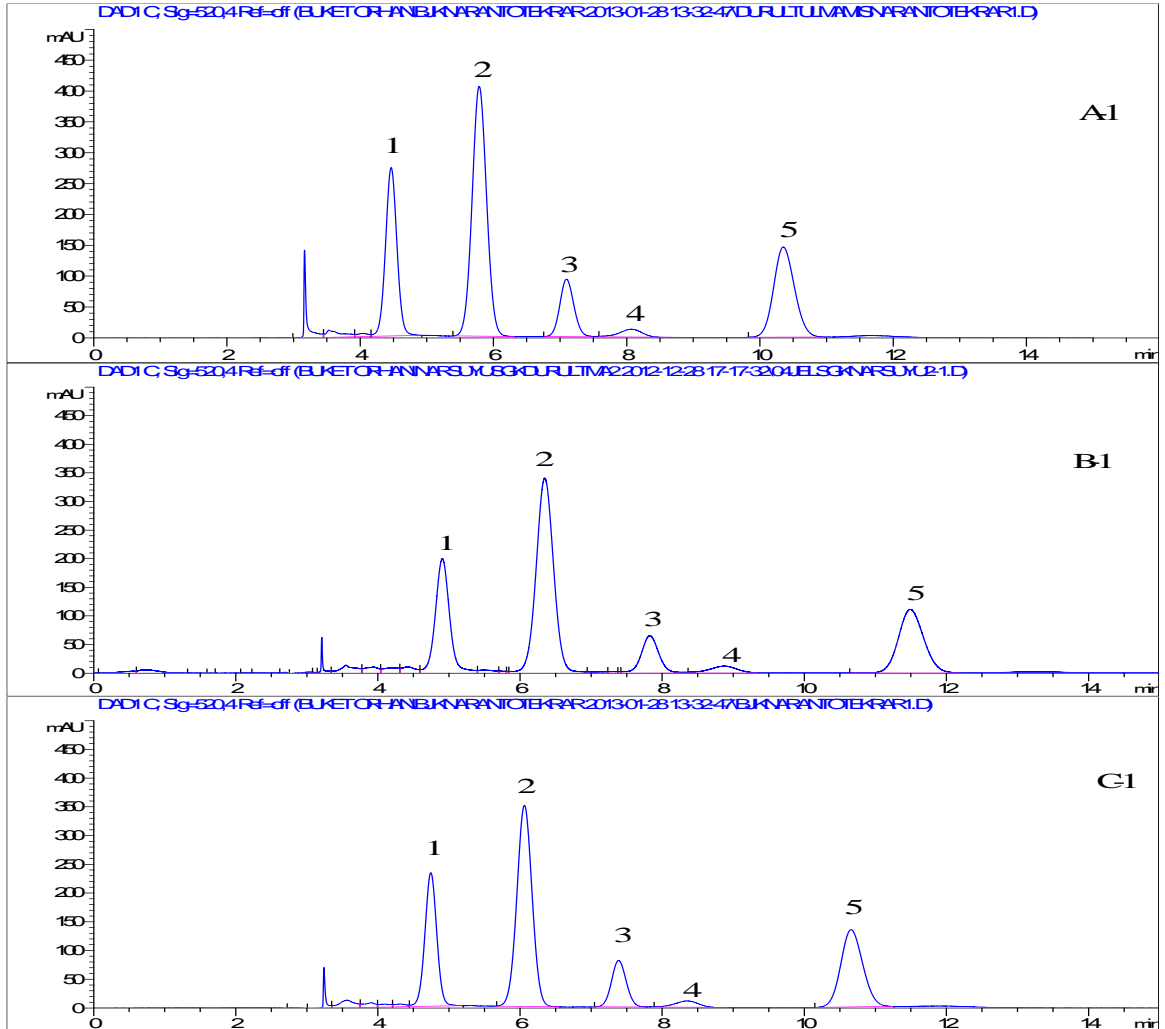
Spektrofotometrik yöntem ve HPLC ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında, genellikle birbirine yakın sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Benzer şekilde, Turfan vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada da, nar sularında spektrofotometrik ve HPLC yöntemleriyle belirlenen ACN miktarlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçların aksine; “elderberry” meyvesinde (Lee ve Finn 2007) ve “raspberry” suyunda (Dosssett 2007) HPLC yöntemiyle belirlenen ACN miktarının spektrofotometrik yöntemle belirlenenden yaklaşık 2.0–2.3 kat daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Oldukça duyarlı olan bu iki yöntemle belirlenen toplam ACN miktarındaki farklılık, kullanılan dalga boyu ve standartlar arasındaki farklılıktan kaynaklanabilmektedir. Nitekim, genel olarak spektrofotometre ile ACN miktarı belirleneceği zaman, örnekteki ACN'lerin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda ölçüm yapılırken, HPLC ile ACN analizi genel olarak maksimum dalga boyu dikkate alınmaksızın 520 nm'de yapılmaktadır. Ayrıca spektrofotometrik ve HPLC yöntemlerinde farklı çözücülerin kullanılmasının etkisiyle ACN'lerin spektral karakteristiklerinde de farklılıklar görülebilmekte ve bunun sonucunda her iki yöntemle belirlenen ACN miktarları da farklı olabilmektedir (Lee vd. 2008). Bunun dışında bilindiği gibi, meyve suyunun durultma işlemi sırasında ACN'ler parçalanmakta ve meyve suyunda polimerik pigment oluşumu gözlenmektedir. Bu oluşan polimerik pigmentler de ACN miktarının spektrofotometrik olarak belirlenmesinde, absorbansın olduğundan daha yüksek okunmasına neden olabilmektedir. HPLC yönteminde ise, bu pigmentler, HPLC kolonuna tutunacağından belirlenecek ACN miktarına etki etmemekte ve dolayısıyla spektrofotometrik olarak belirlenen ACN miktarı, HPLC yöntemiyle belirlenenden fazla çıkmaktadır.

Nar sularının toplam ACN içeriklerinin belirlenmesinin yanı sıra HPLC ile ACN dağılımları da belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar şekil 4.8'de verilen kromatogramlarda gösterilmiştir. Nar sularında 5 farklı ACN piki tespit edilmiştir. Kromatogramlarda 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak gösterilmiş olan pikler sırasıyla; Dp-3,5-diglu, Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu ve Cy-3-glu olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan Hicaznar çeşidinden elde edilen nar sularında başat ACN'in Cy-3,5-diglu olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Hicaznar çeşidinden elde edilen nar suyu ACN'leri üzerine yapılan diğer bir çalışmada da, çalışmamızla paralel olarak başat ACN'in Cy-3,5-diglu olduğu belirlenmiştir (Turfan vd. 2011). Bunun dışında Hasnaoui vd. 2011 tarafından 30 farklı Tunus nar çeşidiyle (Gabsi, Tounsi, Zehri vs.) ve Varasteh vd. 2012 tarafından Rabbab-e-Neyriz nar çeşidiyle yürütülen çalışmalarda da başat ACN'in Cy-3,5-diglu olduğu belirlenmiştir. Buna karşın, yapılan bir diğer çalışmada Wonderful çeşidinden elde edilen nar suyundaki başat ACN'in Cy-3-glu (Gil

vd. 2000) ve Assaria çeşidinden elde edilen nar suyundaki başat ACN'in Dp-3,5-diglu (Miguel vd. 2004) olduğu bulunmuştur. İran nar çeşitleri üzerine yapılan bir çalışmada, 8 farklı nar çeşidinden elde edilen meyve sularında başat ACN'lerin; Dp-3,5-diglu, Cy-3,5-diglu ve Pg-3,5-diglu olduğu ortaya konmuştur (Mousavinejad vd. 2009). Hernandez vd. (1999) ise, yürüttükleri çalışmada narların olgunlaşma döneminde Dp-3,5-diglu'in başat ACN olduğunu, ancak meyve olgunlaştıktan sonra Cy-3-glu ile Cy 3,5-diglu'in başat ACN olarak Dp-3,5-diglu'in yerini aldığını belirlemişlerdir. Bu çalışmalar, nar suyundaki ACN'lerin, çeşide ve olgunluk düzeyine göre değiştiğini göstermektedir.



Şekil 4.8 Nar sularındaki ACN'lerin HPLC kromatogramları

- A-1: Durultulmamış
- B-1: Durultulmuş (Soğuk durultma)
- C-1: Durultulmuş (Sıcak durultma)

Çizelge 4.12 Nar sularında durultma işleminden önce ve sonra belirlenen ACN'lerin miktarları

Meyve suyu	ACN miktarları (mg/L)				
	Dp-3,5-diglu	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu
Durultulmamış	66.1	75.6	24.1	7.6	48.1
Soğuk durultma sonrası	56.1	66.4	18.2	6.4	39.4
Sıcak durultma sonrası	52.4	57.7	19.0	5.2	40.2

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan Hicaznar çeşidinden elde edilen nar suyundaki ACN'lerin yaklaşık %34'ünü Cy-3,5-diglu'in, %30'unu Dp-3,5-diglu'in, %21'ini Cy-3-glu'in, %10'unu Dp-3-glu'in ve %3'ünü Pg-3-glu'in oluşturduğu saptanmıştır. Mena vd. (2011) tarafından HPLC tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, İspanya'da yetiştirilen "Mollar" nar çeşidinden elde edilen nar sularındaki ACN'lerin %32.8'ini Dp-3,5-diglu'in, %24.4'ünü Cy-3,5-diglu'in, %1.6'sını Pg-3,5-diglu'in, %12.6'sını Dp-3-glu'in, %42.9'unu Cy-3-glu'in ve %7.8'ini Pg-3-glu'in oluşturduğu belirlenmiştir.

“Mollar” çeşidi narlardan elde edilen nar sularındaki ACN miktarlarının belirlendiği başka bir çalışmada da, nar sularındaki ACN'lerin %39.2'sini Cy-3-glu'in ve %36.8'ini Cy-3,5-diglu'in oluşturduğu ve bunu azalan sırayla Pg-3-glu, Dp-3,5-diglu, Dp-3-glu ve Pg-3,5-diglu'in izlediği saptanmıştır (Martí vd. 2001). Ayrıca laboratuvarımızda gerçekleştirilen bir çalışmada, Hicaznar çeşidinden elde edilen nar suyundaki ACN oranları; %43 Cy-3,5-diglu, %23 Dp-3,5-diglu, %21 Cy-3-glu, %5.4 Dp-3-glu, %5.1 Pg-3-glu ve %2.9 da Pg-3,5-diglu olarak belirlenmiştir (Erkan–Koç 2013).

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre soğuk durultma işlemiyle nar suyundaki Cy-3,5-diglu miktarında %12, Cyn-3-glu miktarında %18, Dp-3,5-diglu miktarında %15, Dp-3-glu miktarında %25 ve Pg-3,5-diglu miktarında %16'lık bir azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar, monoglukozit yapıda olan ACN'lerin diglukozit yapıda olanlara kıyasla uygulanan durultma işleminden daha çok etkilendiğini göstermiştir. Nitekim, ACN'lere bağlanan şeker sayısının artması, ACN'lerin stabilitesini artırmaktadır. Daha önceki çalışmalarda elde edilen sonuçlar da çalışmamızla paralellik göstermektedir

(Alighourchi ve Barzegar 2009, Kim vd. 2010, Turfan vd. 2012). Monoglukozit yapıdaki ACN'lerle diglukozit yapıdaki ACN'lerin stabiliteyi arasındaki bu farklılık, ACN'lerin yapısında bulunan şeker moleküllerinin ACN'lerin parçalanmasını önlemesiyle açıklanmaktadır. Çünkü ACN'lerin parçalanması sırasında yapıdan ilk ayrılan molekül şeker molekülüdür. Şeker molekülün ardından ise flavilium kationundaki A ve B halkaları birbirinden ayrılmakta ve fenolik asit (A) ile aldehite (B) kadar parçalanma gerçekleşmektedir (Fleschhut vd. 2006, Sadilova vd. 2007). İşte yapısında tek şeker bulunan ACN'lerde, şekerin yapıdan ayrılması ile geriye ACN'e göre çok daha düşük stabiliteye sahip olan "antosiyanidin" kalmaktadır. Oysa ki, diglukozit yapılarda, şekerlerden biri yapıdan ayrılrsa dahi, diğer şeker hala antosiyanidinle bağlı olduğu için monoglukozidik ACN yapısı korunmaktadır. Ancak, ikinci şeker de yapıdan uzaklaştığında geriye monoglukozitlerde olduğu gibi "antosiyanidin" kalmakta ve stabilite önemli düzeyde düşmektedir.

İçerdikleri antosiyanidin yapısı dikkate alınarak, ACN'lerin stabilitesi incelendiğinde ise, delfinidin türevli ACN'lerin stabiliteyi pelargonidin ve siyanidin türevli ACN'lerinkine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Hernandez 1999, Marti vd. 2001, Turfan vd. 2012). Bunun; delfinidin yapısındaki hidroksil grupları sayısının (2 hidroksil grubu içermektedir) pelargonidin (hiç hidroksil grubu içermemektedir) ve siyanidine (bir hidroksil ve bir hidrojen grubu içermektedir) göre fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Fleschhut vd. 2006). Çünkü B halkasına bağlanan hidroksil veya metoksil gruplar, antosiyanidinlerin stabilitesini büyük oranda etkilemekte olup, genel olarak hidroksilasyon derecesi arttıkça antosiyanidinlerin stabilitesi de azalmaktadır (Brouillard 1982, Castañeda–Ovando vd. 2009).

Sıcak durultma sonuçları incelendiğinde ise, durultma işlemiyle nar suyundaki Cy-3,5-diglu'in %24, Cyn-3-glu'in %17, Dp-3,5-diglu ve Dp-3-glu'in %21, Pg-3,5-diglu'in %32 oranında azaldığı gözlenmiştir. Bilindiği gibi sıcaklık; ACN'lerin degradasyonu üzerine son derece etkili bir faktördür. Literatürde ACN'lerin sıcaklıkla parçalandığını gösteren pek çok çalışma yer almaktadır. Nitekim, farklı sıcaklıklarda depolanan çilek reçellerinde ACN'lerin parçalanmasını inceleyen García–Viguera vd. (1999), çilek

reçellerinde 20°C’ de 5 aylık depolama sonunda toplam ACN içeriğinde % 93.3–96.3’lük bir kayıp olduğunu, buna karşın 37°C’ de ise yalnızca 33 günlük depolama sonunda ACN içeriğinde % 91.4–95.5’ lik bir kayıp olduğunu tespit etmişlerdir.

4.4.2 Çilek Sularının ACN İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Durultmanın ACN üzerine etkisini saptamak üzere, çilek sularında ACN miktarları, durultma işleminden önce, depektinizasyon ve durultma işleminden sonra belirlenmiştir. Çilek sularında, belirtilen aşamalarda yapılan toplam monomerik ACN miktarlarına ilişkin sonuçlar çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13 Durultma işleminin çilek sularının toplam monomerik ACN miktarları üzerine etkisi*

Meyve suyu	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	305.2±6.56 A
<i>Sıcak durultma uygulanmış</i>	
Depektinizasyon sonrası	268.7±3.73 B
Durultma sonrası	260.1±5.46 B

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

*: Toplam monomerik ACN miktarları, pelargonidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çilek sularının ACN miktarları için yapılan varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları (EK 1, Çizelge 6–7), durultulmamış örnek ile depektinizasyon sonrası ve durultma sonrası elde edilen örnekler arasında görülen farkın tesadüfi olmadığını, durultma işleminin çilek suyu ACN miktarında önemli düzeyde azalmaya yol açtığını göstermiştir (p<0.05).

Elde edilen verilere göre, çilek suyunun toplam monomerik antosiyanin içeriğinde depektinizasyon işleminden sonra %12 ve durultma işleminden sonra %14.8 oranında

azalma olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda bulunan sonucun aksine, Versari vd. (1997) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, depektinizasyon işlemiyle (45°C’de 2 h) ilek suyunun antosiyanin içeriğinde önemli bir azalma saptanmamıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar göstermiştir ki, depektinizasyon işleminde kullanılan enzimin gösterdiği aktiviteye bağlı olarak, depektinizasyon işleminin antosiyanin miktarı üzerine etkisi farklılık göstermektedir. Wightman ve Wrolstad (1996) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da, böğürtlen suyunun antosiyanin içeriği üzerine depektinizasyonda kullanılan farklı enzimlerin farklı etki gösterdiği ve kullanılan 23 enzim preparatından birinin (Bicellulase TRI) meyve suyunda bulunan Cy-3-glu miktarını yaklaşık %39 oranında azalttığı saptanmıştır. Meyve sularının antosiyanin içeriğinde enzim uygulamasıyla meydana gelen bu değişimlerin enzimin β -glukozidaz aktivitesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Wightman ve Wrolstad 1996, Versari vd. 1997, Wightman vd. 1997). Bilindiği gibi, β -glukozidaz, β -galaktozidaz ve α -arabinozidaz enzimleri antosiyaninleri; antosiyanidin ve şekerlere parçalamakta ve oluşan antosiyanidinlerin stabilitesi antosiyaninlere göre çok daha düşük olduğu için kısa sürede antosiyanidinlerden renksiz bileşikler oluşmaktadır. Mayşe maserasyonunda ya da depektinizasyon aşamasında kullanılan enzim preparatlarının bu özelliğe sahip enzimleri de içermesi, antosiyaninlerce zengin ürünlerde göz önüne alınması gereken önemli bir husustur.

alışmamızdakine benzer şekilde, Klopotek vd. (2005) tarafından gerçekleştirilen araştırmada da ilek suyu üretiminde, durultma yardımcı maddesi olarak bentonit, jelatin ve kizelsol kullanılmış olup, çalışma sonucunda durultma işleminin ardından ilek suyunun ACN içeriğinin %12 oranında azaldığı belirlenmiştir. Başka bir çalışmada ise, “bayberry” suyu 0.1 mL/kg enzim ve 0.2 g/L jelatin ve 0.2 g/L bentonit kullanılarak durultulmuş ve meyve suyunun ACN içeriğinin yaklaşık %5–10 oranında azaldığı görülmüştür (Fang vd. 2006b). ACN içeriğinde meydana gelen bu düşüş, durultma işlemi sırasında oluşan floklarla beraber ACN’lerin de sürüklenerek meyve suyundan uzaklaşmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Sıcak durultma sonrasında ilek suyu ACN’lerinde meydana gelen azalma nar sularındaki ile kıyaslandığında %10 daha fazladır. ilek ACN’lerinin stabilitelerinin

diğer ACN'lerden daha düşük olmasının en büyük nedeni çileğin önemli düzeyde askorbik asit içermesidir. Nitekim Lundahl vd. (1989) ve Özkan vd. (2002), çilekteki askorbik asit miktarının çok yüksek olduğunu (285–943 g/kg meyve), hem oldukça reaktif özellikteki askorbik asidin hem de askorbik asidin parçalanma ürünleri olan dehidro-L-askorbik asit ile H₂O₂'nin çilek ACN'lerinin parçalanmasını hızlandırdığını belirtmektedirler. Ayrıca ortamdaki metal iyonları da (demir ve bakır) askorbik asidin parçalanmasını hızlandırmakta olup, ACN'lerin parçalanmasını tetiklemektedirler (Meschter 1953, Abers 1978).

Durultma işleminin ACN'ler üzerine etkilerini incelemek amacıyla, çilek sularının toplam monomerik ACN miktarlarının belirlenmesinin yanı sıra HPLC ile de toplam ACN içerikleri belirlenmiştir. Her iki yöntemle de elde edilen veriler, çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.14 Durultma uygulanmış ve uygulanmamış çilek sularının toplam ACN içerikleri*

Meyve suyu	Toplam ACN miktarı (mg/L)*	
	Spektrofotometrik	HPLC
Durultulmamış	305.2±6.60A	352.5±1.18A
Sıcak durultma sonrası	260.1±5.46B	306.3±1.36B

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

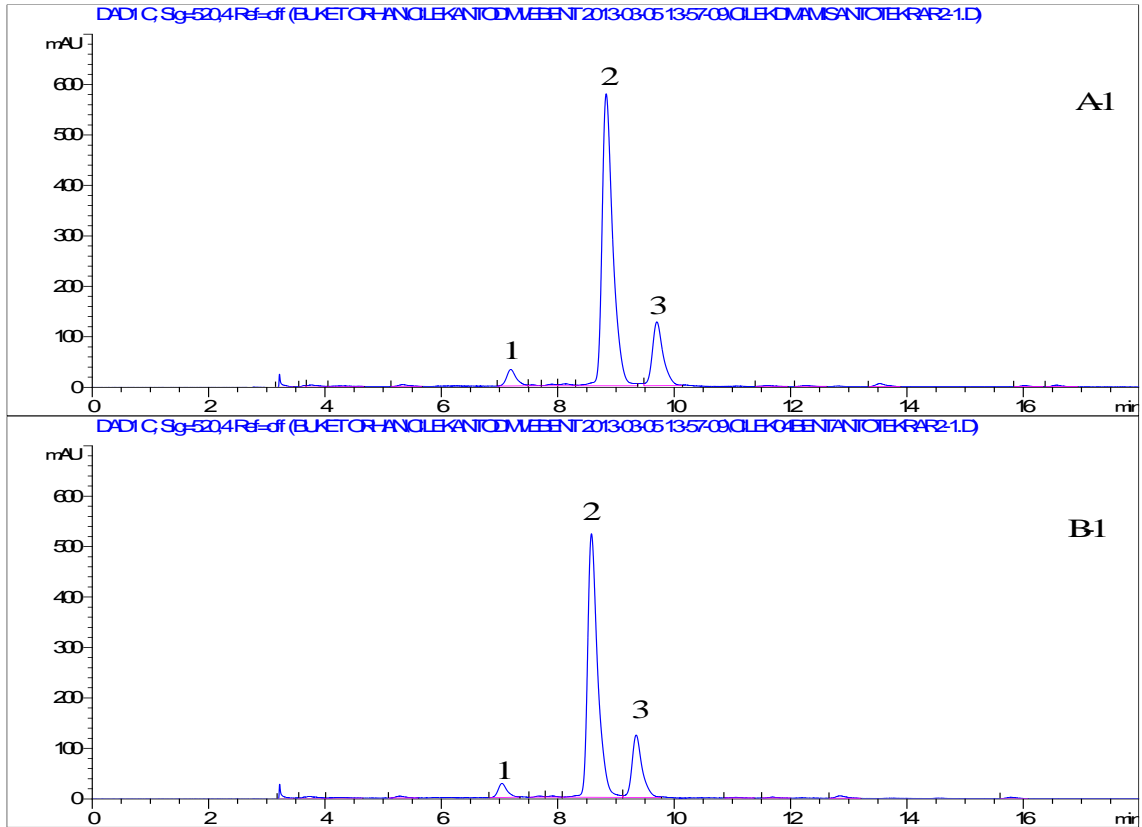
*: Toplam monomerik ACN miktarları, pelargonidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Spektrofotometrik yöntem ve HPLC ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında, nar sularında olduğu gibi çilek sularında da genellikle birbirine yakın sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir.

Durultma öncesinde ve durultma sonrasında elde edilen çilek sularının ACN kompozisyonları, şekil 4.9'da verilen kromatogramlarda gösterilmiştir. Çilek sularında 3 farklı ACN piki tespit edilmiştir. Kromatogramlarda 1, 2 ve 3 olarak gösterilmiş olan pikler sırasıyla; Cy-3-glu, Pg-3-glu ve Pg-3-rut olarak tanımlanmıştır. Pg-3-rut standardı çalışmamız sırasında sağlanamadığı için, bu ACN'e ait olduğu düşünülen 3 No'lu pikin

tanımlanmasında Lopes da Silva vd. (2007) tarafından yapılan çalışmadaki geliş zamanı dikkate alınmıştır. Nar ve çilek suyunda saptanan ACN'lere ait kromatogramlar incelendiğinde, çilek sularındaki ACN'lerin neden nar sularındaki ACN'lerden daha az stabil oldukları kolaylıkla anlaşılmaktadır. Çilekte bulunan ACN'lerin tamamı monoglukozit yapıda iken, nar sularınıninkinin sadece %43'ü monoglukozit yapıdadır. Daha önce de belirtildiği gibi, diglukozit ACN'ler monoglukozitlerden daha stabillerdir. Benzer şekilde, Wu vd. (2006) de çilekte bulunan ACN'lerin %93'ünün monoglukozit yapıda, %8'inin ise diglukozit yapıda olduğunu tespit etmişlerdir.



Şekil 4.9 Çilek sularındaki ACN'lerin HPLC kromatogramları

A-1: Durultulmamış,

B-1: Durultulmuş (Sıcak durultma)

Çalışmamızda kullanılan çilek sularında başat ACN'in Pg-3-glu olduğu ve çilek sularındaki ACN oranlarının ise sırasıyla, Cy-3-glu (%32), Pg-3-glu (%52) ve Pg-3-rut (%17) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 Çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra belirlenen ACN'lerin miktarları

Meyve suyu	ACN miktarları (mg/L)		
	Cy-3-glu	Pg-3-glu	Pg-3-rut*
Durultulmamış	178.9	284.2	88.7
Sıcak durultma sonrası	144.7	245.5	83.6

*: Toplam monomerik ACN miktarları, pelargonidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

Çalışmamızda elde edilen verilerle paralel olarak Versari vd. (1997) tarafından çilek suyu ACN'leri üzerine yapılan bir çalışmada da başat ACN'in Pg-3-glu olduğu ve diğer ACN'lerin de Cy-3-glu ve Pg-3-rut olduğu ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, ACN miktarlarında farklılık saptanmış ve bu araştırmacıların inceledikleri çilek suyundaki ACN oranları, Cy-3-glu (%6), Pg-3-glu (%84) ve Pg-3-rut (%10) olarak saptanmıştır. Benzer bir araştırmada da, çilek suyunda Cy-3-glu, Pg-3-glu ve Pg-3-rut olduğu belirlenmiş ve bunlardan %78.7'sinin Pg-3-glu'ten, geriye kalan % 21.3 oranındaki ACN'in de %17.7'sinin Pg-3-rut'ten, %3.6'sının Cy-3-glu'ten meydana geldiği ortaya konulmuştur (Jakobek vd. 2007). Aaby vd. (2007), çilek meyvesinde en çok bulunan ACN'lerin %76.1 Pg-3-glu, %12.5 Pg-3-malonilglu, %3.6 Cy-3-glu ve %3.1 Pg-3-rut olduğunu; Gössinger vd. (2009) ise %75.1–76.8 oranında Pg-3-glu ve %3.5–4.5 Cy-3-glu bulunduğunu belirtmektedir.

Oszmiański ve Wojdyło (2009), 3 çeşit (Elkat, Kent, Senga Sengana) çilekten elde edilen çilek sularındaki ACN içeriklerini araştırmış ve üçünde de başat ACN'in Pg-3-glu olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, Pg-3-glu'i azalan sırayla Cy-3-glu, Pg-3-rut ve Pg-3-malonilglu'in izlediği görülmüştür. Yine farklı çilek çeşitlerinden elde edilen meyve sularında gerçekleştirilen bir çalışmada, 7 farklı çilek suyunun ACN içerikleri, %89–95 Pg-3-glu, %3.9–10.6 Cy-3-glu ve %3.1–3.9 Cy-3-arab olarak tespit edilmiştir (Goiffon vd. 1999). Çilek ACN'leri üzerine yapılan çalışmalarda, çilekteki başat anyosiyaninin her zaman Pg-3-glu olduğu, bunu da Cy-3-glu ve Pg-3-rut'in izlediği saptanmıştır. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar, bu üç ACN oranlarının çeşitten çeşide değiştiğini de ortaya koymuştur.

Çalışmamızda durultma sonrasında elde edilen çilek suyunun ACN dağılımı incelendiğinde ise; Cy-3-glu miktarında %19, Pg-3-glu miktarında %14 ve Pg-3-rut miktarında %6'lık bir azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar, pelargonidin bazlı ACN'lerin sıcak durultmaya karşı daha stabil olduğunu ve antosiyanidine bağlanan rutinozidin glukozite göre stabiliteyi %8 artırdığını göstermiştir.

4.5 Recovery (geri kazanım) Testi

Geri kazanım testi nar suyunda başat ACN olan cyn-3,5-diglu ve çilek suyunda başat ACN olan pg-3-glu standardı kullanılarak belirlenmiştir. Geri kazanım testinde elde edilen değerler, çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16 Nar ve çilek sularındaki ACN'lerin geri kazanımları

ACN standardı	Örnekteki ACN miktarı (mg)	Eklenen ACN miktarı (mg)	Hesaplanan ACN miktarı (mg)	Recovery (%)	Recovery ortalaması (%)
<i>Nar suyu</i>					
Cy-3,5-diglu	71.7	75.6	133.8	82	93.1
	71.7	75.6	139.1	89	
	90.7	37.8	126.0	93	
	90.7	37.8	131.5	108	
<i>Çilek suyu</i>					
Pg-3-glu	189.7	142.1	291.1	71	69.4
	189.7	142.1	285.4	67	

Elde edilen veriler, saflaştırma işleminden önce örneğe ilave edilen cyn-3,5-diglu'in yaklaşık %93'ünün, pg-3-glu'in ise, yaklaşık %70'inin geri kazanıldığını göstermektedir. Bu değerler, ACN'lerin analiz sürecindeki kayıplarının kabul edilebilir düzeylerde olduğunu göstermektedir.

4.6 Nar ve Çilek Sularında Oluşan Polimerik Renk Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Nar ve çilek sularında polimerik renk oluşumu, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiş olup, sonuçlar çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17 Durultma işleminin nar ve çilek sularında polimerik renk oluşumu üzerine etkisi*

Meyve suyu	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
<i>Nar suyu</i>			
Durultulmamış	5.9	2.6	44.1±0.07 B
Soğuk durultma sonrası	5.1	2.4	47.4±0.14 A
Sıcak durultma sonrası	6.0	2.5	40.9±0.21 C
<i>Çilek suyu</i>			
Durultulmamış	4.8	1.0	20.0±0.00
Depektinizasyon sonrası	4.7	1.0	20.7±0.21
Sıcak durultma sonrası	4.7	1.0	21.3±0.28

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Nar sularının polimerik renk oranlarına ilişkin varyans analizi sonuçları (EK 1, Çizelge 8); durultulmamış, sıcak ve soğuk durultma uygulanmış nar sularındaki polimerik renk oranları arasında gözlenen farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermiştir (p<0.05). Hangi örneklerin, polimerik renk oluşumları arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu belirlemek üzere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (EK 1, Çizelge 9). Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları; soğuk durultma işleminin nar suyunun polimerik renk oranında önemli düzeyde artışa yol açtığını, sıcak durultma işleminin ise nar suyunun polimerik renk oranında önemli düzeyde azalışa yol açtığını göstermiştir (p<0.05). Çalışmamızla paralel olarak, laboratuvarımızda gerçekleştirilen başka bir araştırmada da, soğuk durultma işlemiyle nar suyunun polimerik renk oranında artış gözlenmiş olup, nar suyunun jelatinle durultulması ile polimerik renk oranının %21.5’ten %26.4’e çıktığı saptanmıştır (Erkan–Koç 2013).

Bilindiği gibi, polimerik renk değerleri; ACN'lerin polimerizasyonunun, parçalanmasının ve üründe oluşan esmer renkli bileşiklerin bir ölçüsüdür. Polimerik renk değerleri; nar suyunda yüksek miktarda bulunan ACN'ler ile flavan-3-ollerin (kateşin, epikateşin, proantosiyanidin vb.) kondensasyonu sonucunda da artmaktadır. Soğuk durultma işleminde, tek başına kullanılan jelatin meyve suyundaki polifenollere etki ederek bulanıklık etmeni bu maddeleri meyve suyundan uzaklaştırmaktadır. Ancak daha önce de vurgulandığı gibi, jelatin sadece belli molekül ağırlığındaki polifenollerle flok oluşturmakta ve bunları meyve suyundan uzaklaştırmaktadır. Öyleyse, ortamda nispeten daha küçük molekül ağırlığına sahip fenolikler baskın hale geçmektedir. Bu nedenle, örneğin küçük molekül ağırlığına sahip olan kateşin ve epikateşinlerin ACN'lerle reaksiyona girmesi için ortam daha elverişli hale gelmektedir. Böylece, soğuk durultma işlemi sonunda ACN'lerin kateşin/epikateşinlerle daha kolay polimerize olduğu ve polimerik renk değerinde artış meydana geldiği düşünülmektedir.

Sıcak durultma sonuçları incelendiğinde ise, beklenenin aksine polimerik renk oranında %3.2 oranında azalış gözlenmiştir. Bu durum muhtemelen soğuk durultma işleminden farklı olarak sıcak durultma işleminde kullanılan bentonitten kaynaklanmaktadır. Sıcak durultma sırasında kullanılan bentonitin hem polimerik renk değerinde artışa neden olan esmer renkli bileşikler adsorplama özelliğinin olması hem de esmer renkli pigmentlerin oluşumuna neden olan polifenoloksidazı meyve suyundan uzaklaştırması nedeniyle polimerik renk değerinde azalış sağladığı düşünülmektedir. Nitekim Gómez-Plaza vd. (2000) tarafından kırmızı şarabın bentonit (15 g/100 g üzüm) ile durultulduğu bir çalışmada, bentonitin hem polifenoloksidaz gibi enzimleri hem de proteinlerle kompleks oluşturmuş polifenolleri meyve suyundan uzaklaştırdığı belirtilmekte olup, kırmızı şarabın kontrol örneğinde %13 olan polimerik renk oranının bentonit kullanılması ile %11'e düştüğü görülmüştür.

Polimerik renk oranının, hiçbir işlem görmemiş taze meyve sularında genellikle %10'un altında olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda nar ve çilek ham sularının polimerik renk oranları sırasıyla %44.1 ve %20 olarak belirlenmiştir. Turfan vd. (2012) tarafından yürütülen bir çalışmada nar ham suyunun polimerik renk oranı %38 olarak belirlenmiştir. Polimerik renk oranının yüksek olması (%10>), meyvelerin işlenmeden

önce uygun olmayan koşullarda uzun süre depolandığını ya da uygulanan ısı işlem ve uzun süreli depolama sonunda bir yandan ACN'lerin parçalandığını diğer yandan da esmerleşme reaksiyonları sonucunda kahverengi melanoidin pigmentlerinin oluştuğunu göstermektedir (Giusti ve Wrolstad 2001, Turfan vd. 2011). Ancak, yapılan çalışmalar çok kısa süre uygun koşullarda depolanan (4°C'de 2 gün) narlardan elde edilen nar sularının da yüksek polimerik renk oranına sahip olduğunu göstermiştir (Turfan vd. 2011). Polimerik renk oranının ACN'ler ile kondense fenolikler ve kateşin/epikateşin gibi flavan-3-ol'ler arasındaki etkileşim sonucunda artmakta ve bu nedenle de iyi bir kateşin ve epikateşin kaynağı olan nar sularının polimerik renk oranının yüksek olduğu düşünülmektedir.

Çilek sularındaki yüksek polimerik renk oranının ise, çilek suyunda bulunan ACN'lerin yine çileğin yapısında bulunan ferulik ve siringik asit ile kompleks oluşturarak polimerik renkli pigmentler oluşturmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Cao vd. 2011). Ayrıca, çileğin polimerik renk oranının artmasının diğer bir nedeni de, ACN'lerin parçalanması sonucu oluşan parçalanma ürünleri olabilir. ACN'ler, sıcaklığın da etkisiyle parçalandığında pirilyum halkası açılmakta ve çilekte başat ACN olan pg-3-glu'in ayrılma ürünleri olan floroglusin aldehit ile 4-hidroksibenzoik asit oluşmaktadır. Bunlardan floroglusin aldehit, polifenoloksidaz ile reaksiyona girerek esmer renkli pigmentlerin oluşmasına neden olmaktadır (Cao vd. 2011).

Çilek sularının polimerik renk oranlarına ilişkin yapılan varyans analizi sonuçları ise, çilek sularında depektinizasyon ve berraklaştırma işlemi sonucunda polimerik renk oranları arasında gözlenen farkın tesadüfi olduğunu göstermiştir ($p>0.01$).

4.7 Nar ve Çilek Sularının Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler

Nar ve çilek sularının durultma işleminden önce ve sonra reflektans renk renklerinde oluşan değişimler, materyalin renginin reflektans spektrofotometresi ile CIE L*, a*, b*, C* (kroma) ve h° (hue) değerlerinin ölçülmesi ile izlenmiştir. Renk ölçümlerden önce örnekler, 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile seyreltilmiş ve

maksimum dalga boyundaki absorbans değerleri 1.000 ± 0.05 'e ayarlanmıştır. Byalelikle meyve sularındaki ACN konsantrasyonununundan kaynaklanan renk değişimleri nlenmiş olup, sadece uygulanan durultma işlemlerinin nar ve ilek sularının rengi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu ölçümlere ilişkin veriler izelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.18 Nar ve ilek sularında durultma işleminden önce ve sonra ölçülen reflektans renk değerleri

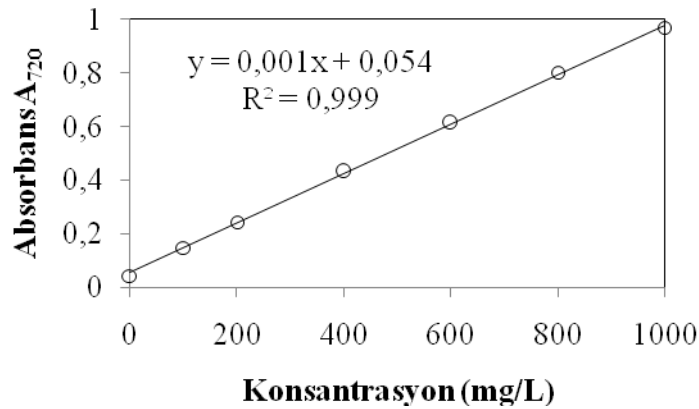
Meyve suyu	L*	a*	b*	C*	h°
<i>Nar suyu</i>					
Durultulmamış	69.4	51.0	16.8	53.7	18.2
Soğuk durultma sonrası	73.0	45.5	15.1	48.0	18.3
Sıcak durultma sonrası	70.3	49.2	16.7	52.0	18.7
<i>ilek suyu</i>					
Durultulmamış	25.7	12.1	11.6	16.7	43.8
Sıcak durultma sonrası	25.4	11.7	11.4	16.4	44.1

ACN'lerce zengin meyve sularının renkleri monomerik ACN'lerle birlikte, esmerleşme reaksiyonları sonucu oluşan esmer pigmentler ve ACN'lerin parçalanma ürünlerinden meydana gelmektedir. Reflektans spektrofotometresi ile ölçülen a* değerindeki artış, meyve suyundaki monomerik ACN miktarının artışı ile ilişkilendirilirken b* değerindeki artış ise esmer renkli pigmentlerin artışı ile ilişkilendirilmektedir (Cao vd. 2011). Bu doğrultuda, izelge 4.18 incelendiğinde, nar ve ilek ham sularının a* ve b* değerlerinde sıcak durultma sonunda önemli bir değişim olmadığı görülmektedir. Oysa ki, sıcak durultma sonucunda ürünlerin monomerik ACN'lerinin önemli düzeyde parçalandığı HPLC yöntemiyle belirlenmiştir. a* ve b* değerlerinde elde edilen bu sonuç, sıcak durultma yöntemindeki bentonit kullanımına bağlanmaktadır. Bentonitin esmer renkli bileşikleri absorplamasıyla b* değerinde; yapısında bulunan metallerin meyve suyundaki ACN'lerle kopigmentasyona girmesiyle de (monomerik ACN'lerin parçalanmasına rağmen) a* değerinde önemli bir değişim olmadığı düşünülmektedir.

Ayrıca nar ve çilek sularına ait reflektans renk değerleri kıyaslandığında ise nar suyu örneklerindeki a^* değerinin, çilek suyu örneklerindeki göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun nar suyunda ağırlıklı olarak siyanidin (%56) türevli ACN'ler bulunmasına karşın, çilek suyunda ağırlıklı olarak pelargonidin türevli (%68) ACN'lerin bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bilindiği gibi siyanidin maksimum dalga boyunda kırmızı renge sahip, pelargonidin ise turuncu renge sahiptir (Guisti ve Wrolstad 2003). Bu nedenle, siyanidin türevli ACN'lerin buldukları ürünün a^* değerini yükseltici etkileri vardır.

4.8 Nar ve Çilek Sularının Toplam Polifenol Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Nar ve çilek sularında toplam polifenol miktarının belirlenmesi için gerekli olan gallik asit standart eğrisi hazırlanmış ve bu eğri şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10 Gallik asit standart eğrisi

Nar ve çilek sularında toplam polifenol miktarları, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiş olup, sonuçlar çizelge 4.19'da verilmiştir.

Nar sularının toplam polifenol miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1, Çizelge 10); durultulmamış, sıcak ve soğuk durultma uygulanmış nar sularının en az ikisi arasında toplam polifenol içerikleri açısından farklılık olduğunu göstermiştir

($p < 0.05$) Farklılığın hangi örnekler arasında olduğunu belirlemek üzere elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış (EK 1, Çizelge 11) olup, aynı toplam monomerik ACN miktarında meydana gelen değişimde olduğu gibi soğuk durultma işleminin nar suyunun toplam polifenol miktarında kayda değer bir azalmaya yol açtığı görülmüştür. Ayrıca sıcak durultma işleminin nar suyunun toplam polifenol miktarında istatistiki açıdan önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Çilek sularının toplam polifenol miktarları için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre ise, sıcak durultma işleminin çilek suyunun toplam polifenol içeriğinde değişime neden olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$).

Çizelge 4.19 Nar ve çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra ölçülen toplam polifenol miktarları*

Meyve suyu	Toplam polifenol miktarı (mg/L)*	Bulanıklık (NTU)
<i>Nar suyu</i>		
Durultulmamış	5276±23.6 A	>4000.0
Soğuk durultma sonrası	4371±70.7 B	28.7
Sıcak durultma sonrası	5134±74.6 A	101.0
<i>Çilek suyu</i>		
Durultulmamış	2152±33.0	231.0
Sıcak durultma sonrası	2133±3.15	9.5

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

*: Toplam polifenol miktarları, gallik asit cinsinden hesaplanmıştır.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

Daha önce de vurgulandığı gibi nar suyu, polifenol içeriğinin yüksek olması nedeniyle buruk bir tada ve bulanık bir görünüme sahiptir. Bu yüzden nardan meyve suyu elde edilirken, bir yandan presleme basıncı ve süresi ayarlanırken diğer yandan da durultma yapılarak meyve suyuna geçen polifenol miktarı sınırlandırılmaktadır. Nitekim, nar suyu üretimi sırasında, pres basıncındaki her 1.2 bar artışın, o periyotta elde edilen nar suyundaki toplam polifenol miktarını yaklaşık %15 artırdığı bildirilmektedir (Tağı 2010).

Narda bulunan ve bulanıklığa neden olan polifenollerin önemli bir bölümü kabukta bulunmakta olup, Apaydın (2008) danelerden elde edilen nar sularında gallik asit cinsinden toplam polifenol miktarının 1784 mg/L düzeyinde olduğunu, bütün meyveden elde edilen nar sularında ise, 2540 mg/L düzeyinde olduğunu saptamıştır. Benzer bir çalışmada da, nar suyundaki toplam polifenol miktarı danelerden elde edilen nar sularında 2117 mg/L, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında ise, 2566 mg/L düzeyinde bulunmuştur (Gil vd. 2000). Bu çalışmalar göstermektedir ki narın bütün olarak preslenmesi sırasında, kabukta yoğun olarak bulunan polifenoller büyük oranda meyve suyuna geçmektedir. Nitekim çalışmamızda kullanılan nar ham suyunda da gallik asit cinsinden toplam polifenol miktarının 5276 mg/L gibi yüksek bir değerde olduğu belirlenmiştir. Bunun endüstriyel nar suyu üretiminde meyve suyu veriminin yüksek tutulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Endüstriyel nar suyu üretiminde verim, %50 düzeyinde bulunurken, Apaydın (2008) tarafından yapılan çalışmada nar suyu verimi %35.2 olarak belirlenmiştir. Verim arttıkça, nar kabuklarından çok daha fazla miktarda polifenolik maddenin nar suyuna geçtiği düşünülecek olursa, çalışmamızda kullanılan ticari nar sularındaki yüksek polifenol miktarı şaşırtıcı bulunmamıştır.

Çalışmamızda elde edilen verilere göre, nar suyunun toplam polifenol miktarının (gallik asit cinsinden) soğuk durultma işlemi ile %17 oranında azaldığı gözlenmiştir. Nitekim çalışmamızla paralel olarak, Alper vd. (2005) nar suyunun jelatin (0.3 g/L) ve bentonit (0.3 g/L) ile oda sıcaklığında 1 h süreyle durultulması sonucu nar suyunun toplam polifenol miktarının (gallik asit cinsinden) %17 oranında azaldığını belirlemişlerdir. Ayrıca Vardin ve Fenercioğlu (2003) da, 1 g/L jelatinle gerçekleştirdikleri soğukta durultma (5°C'de 16 h) işlemi ile nar suyunun toplam polifenol miktarının %18 ve bulanık değerinin ise %86 oranında azaldığını tespit etmişlerdir.

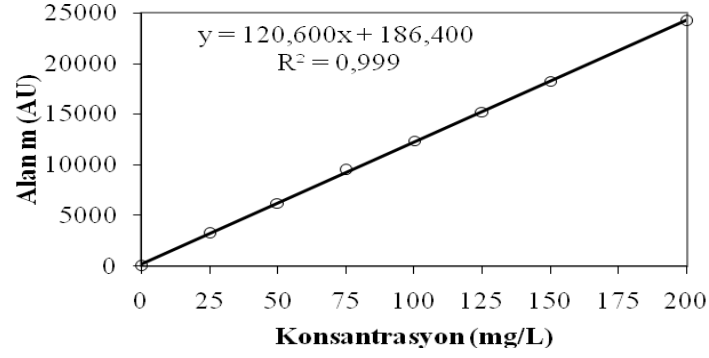
Bilindiği gibi jelatin ile uygulanan geleneksel durultmada, büyük moleküllü polifenoller (M.A.>500 Da) meyve suyundan uzaklaştırılırken, küçük moleküllü polifenoller uzaklaştırılmamaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009, Cosme vd. 2009). Sıcak durultma işleminde ise, genel olarak jelatin (+ yüklü) kizelsol (- yüklü) ile birlikte kullanılmakta ve meyve suyu pH'sında zıt yüklere sahip olan bu maddelerin

etkileşimiyle oluşan flok yardımıyla durultma işlemi gerçekleşmektedir. Öyleyse, soğuk durultma işleminden farklı olarak, sıcak durultma işleminde jelatin meyve suyundaki büyük moleküllü polifenollerle doğrudan etkileşime girmemektedir. Sıcak durultma işleminde meydana gelen polifenol miktarındaki azalma asıl olarak meyve suyundaki polifenollerin jelatin ve kizelsol arasında oluşan flokla birlikte sürüklenip meyve suyundan uzaklaşmasıyla gerçekleşmektedir. Bununla birlikte, sıcak durultma işleminde, küçük moleküllü polifenollerin jelatinle yaptığı bağ kolaylıkla kırılmaktadır. Bilindiği üzere, jelatin küçük moleküllü polifenollere hidrojen köprüsü ile bağlanmakta (Versari vd. 1998), bu bağlanma düşük bir bağlanma enerjisi ile gerçekleşmekte ve durultmada uygulanan ısıtma ile bu bağ parçalanarak jelatin-polifenol agregatları parçalanmaktadır. (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Çalışmamızda da soğuk durultmayla nar suyunda daha sıkı flokların oluştuğu ve dolayısıyla nar suyunun polifenol içeriğinde daha fazla azalma meydana geldiği görülmüştür.

Toplam polifenol miktarındaki azalışa paralel olarak, soğuk durultma ile bulanıklık değeri (28.7 NTU) daha çok düşürülmüş olsa da, endüstriyel meyve suyu üretiminde tercih edilen sıcak durultma işlemiyle, başlangıçta >4000 NTU olan bulanıklık değerinin 101 NTU'ya kadar düşürülmesinin de iyi bir sonuç olduğu açıktır. Üstelik, durultma işleminden sonra sadece kaba bir filtrasyon işlemi uygulanmış ve bu filtrasyondan hemen sonra bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Bizim uygulamamızdan farklı olarak, endüstriyel uygulamada, durultulan meyve sularına ultrafiltrasyonun da uygulandığı bir dizi filtrasyon işleminin uygulandığı da gözden kaçırılmamalıdır. Benzer şekilde, sıcak durultma işlemiyle çilek sularında da oldukça başarılı bir bulanıklık düzeyine (9.5 NTU) ulaşılmıştır.

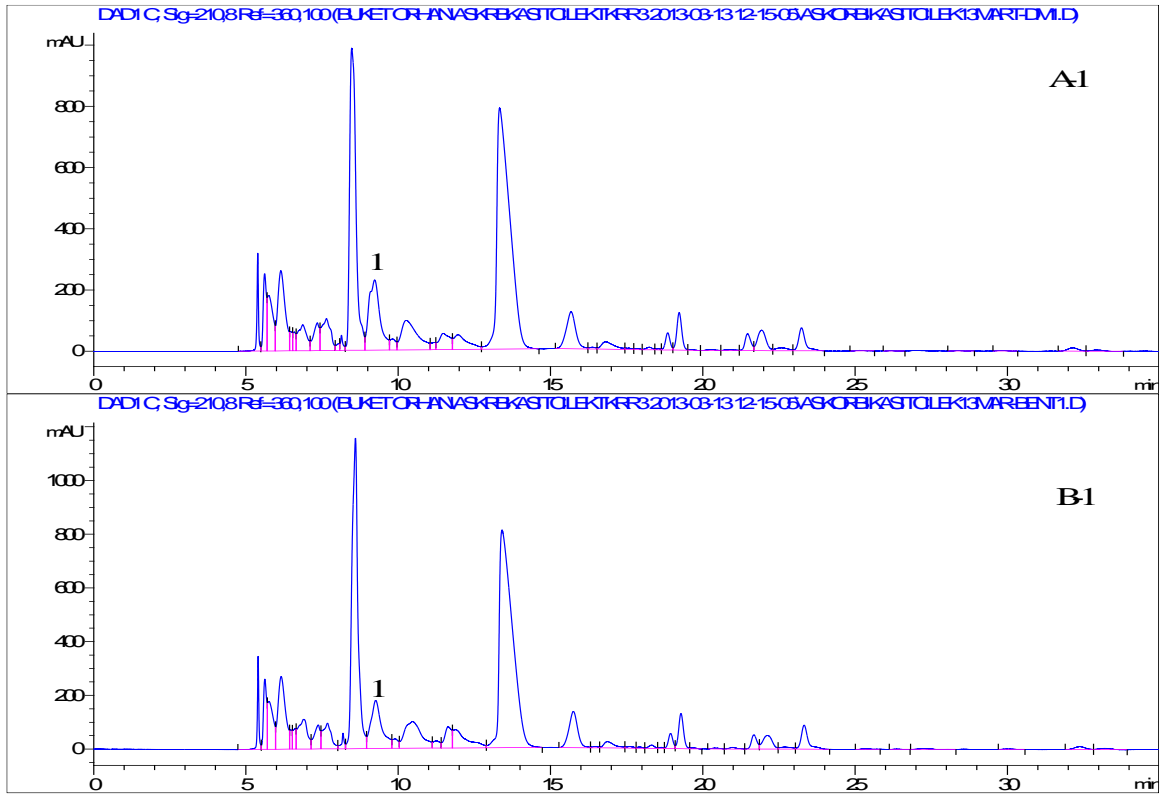
4.9 Çilek Suyunun Askorbik Asit İçeriği Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Çilek sularında HPLC yöntemi ile askorbik asit miktarlarının hesaplanmasında kullanılan askorbik asit standart eğrisi şekil 4.11'de verilmiştir.



Şekil 4.11 Askorbik asit standart eğrisi

Durultma öncesi ve sonrasında çilek sularının askorbik asit kompozisyonları, şekil 4.12’de verilen kromatogramlarda gösterilmiştir. Kromatogramlarda gösterilmiş olan 1 No’lu pik, askorbik asit olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.12 Çilek sularındaki askorbik asit HPLC kromatogramları

A-1: Durultulmamış,
B-1: Durultulmuş (Sıcak durultma)

Durultma işleminden önce ve sonra, çilek sularında askorbik asit analizi yapılmış ve elde edilen sonuçlar çizelge 4.20’de verilmiştir. Çizelge 4.20’de görüldüğü gibi, çalışmamızda incelenen Camarossa çeşidine ait çilek ham sularının 231 mg/L askorbik asit içerdiği belirlenmiştir. Ancak, çilek sularının içerdiği askorbik asit miktarı; çeşide, çevresel ve tarımsal uygulamalara bağlı olarak farklılık göstermektedir. Örneğin, Kalt (2005) tarafından 308 farklı çilek çeşidinin askorbik asit içeriğinin 320–990 mg/kg arasında değiştiği bildirilmektedir. Başka bir çalışmada da, “Camarosa” ve “Selva” olmak üzere 2 farklı çilek çeşidinin askorbik asit miktarları sırasıyla 445 mg/kg ve 399 mg/kg olarak belirlenmiştir (Van De Velde vd. 2013). Ayrıca, portakal suyu (93–160 mg/L, Khosravi ve Asadollahzadeh 2014), limon suyu (97 mg/L, Khosravi ve Asadollahzadeh 2014) ve greyfrut suyu (84 mg/L, Khosravi ve Asadollahzadeh 2014) gibi askorbik asitçe zengin meyve sularıyla kıyaslandığında da, Camrossa çeşidinden üretilen çilek sularının çok daha yüksek askorbik asit içeriğine sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.20 Durultma işleminin çilek suyunun askorbik asit içeriğine etkisi*

Çilek suyu	Toplam askorbik asit miktarı (mg/L)
Durultulmamış	231±3.59A
Sıcak durultma sonrası	175±4.03B

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre, sıcak durultma işlemi ile çilek suyunun askorbik asit içeriğinde %24 oranında azalma meydana geldiği ortaya konmuş olup, yapılan varyans analizi de (EK 1, Çizelge 12), bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermiştir (p<0.05). Yukarıda da bahsedildiği gibi çileklerin bir ürüne işlenmesinden önceki askorbik asit miktarında, meyve çeşidi ve olgunlaşma düzeyi belirleyici faktörlerken, çeşitli ürünlere işlenmesi sırasında ise, askorbik asit miktarı aynı ACN’ler gibi proses koşullarından büyük oranda etkilenmektedir. Nitekim çilek suyunun bentonit, jelatin ve kizelsol ile durutulması sırasında yaklaşık %9 oranında askorbik asit kaybı meydana geldiği belirlenmiştir (Klopotek vd. 2005). Bilindiği gibi askorbik asit, sıcaklık ve oksijene karşı oldukça duyarlıdır. Dolayısıyla, sıcak durultma

işlemi sırasında da uygulanan sıcaklık ve oksijenin de etkisiyle çilek suyunun askorbik asit içeriğinde azalma meydana geldiği düşünülmektedir. Askorbik asit, yüksek sıcaklık ve oksijen varlığında öncelikle L-dehidroaskorbik asit ile hidrojen peroksit gibi parçalanma ürünlerine dönüşmekte ve sonrasında dehidroaskorbik asitin lakton halkası açılarak diketoglunik asit ve furfurala kadar parçalanmaktadır (Kırca ve Cemeroğlu 2001). Ayrıca askorbik asit kaybının diğer bir nedeninin ise, durultma işlemi sırasında oluşan flokla birlikte bir miktar askorbik asitin de çilek suyundan uzaklaştırılmış olduğu düşünülmektedir.

4.10 Nar ve Çilek Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Nar ve çilek sularında antioksidan aktivite düzeyi, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiş ve sonuçlar çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21 Nar ve çilek sularında durultma işleminden önce ve sonra ölçülen antioksidan aktivite düzeyi*

Meyve suyu	Antioksidan aktivite (mM troloks/mL meyve suyu)
<i>Nar suyu</i>	
Durultulmamış	64.5±0.57 A
Soğuk durultma sonrası	58.3±0.07 B
Sıcak durultma sonrası	59.3±1.34 B
<i>Çilek suyu</i>	
Durultulmamış	22.7±0.42
Sıcak durultma sonrası	22.1±0.00

*: Değerler, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Narların çeşitlerine, olgunlaşma düzeylerine ve proses koşullarına bağlı olarak nar sularının antioksidan aktivite değerleri de farklılık göstermektedir. Nitekim, çalışmamızda kullanılan Hicaznar çeşidinden elde edilen ticari nar ham suyunun antioksidan aktivite değeri 64.50 mM troloks/mL olarak bulunmuşken, laboratuvarımızda

gerçekleştirilen diğ er bir ç alışmada ise Hicaznar ç eşidinden elde edilen nar ham suyunun antioksidan aktivite değeri 29.94 mM troloks/mL olarak bulunmuştur (Erkan–Koç 2013). Ayrıca laboratuvarımızda yürütölen diğ er bir ç alışmada, ölkemizde yetiştirilen başlıca nar ç eşitlerinin antioksidan aktivite değerlerinin 17.1–24.6 mM troloks/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. En düşük antioksidan aktivite değeri İzmir 1478 ç eşidinde, en yüksek ise İzmir 1477 ç eşidinde saptanmıştır. Ç alışmamızda kullanılan ve meyve suyu endüstrisinin en ç ok tercih ettiği Hicaznar ç eşidinin antioksidan aktivite değeri; İzmir 1478 ç eşidinden %73, İzmir 1477 ç eşidinden ise %62 daha fazla olarak bulunmuştur (Özkan vd. 2009). Göröldüğü gibi, ç alışmamızda kullanılan ticari nar suyundaki antioksidan aktivite değeri, laboratuvar koşullarında elde edilen nar sularına kıyasla daha fazla bulunmuştur. Nitekim daha önce de vurgulandığı gibi, endüstriyel nar suyu üretiminde meyve suyu verimi yüksek tutulmakta ve dolayısıyla nar kabuklarından ç ok daha fazla miktarda polifenolik madde nar suyuna geçmektedir. Bilindiği üzere, bu polifenolik maddeler de yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerdir. İşte bu nedenle; ticari nar sularının antioksidan aktivite değerlerinin yüksek olması, ticari nar sularındaki yüksek polifenol içeriğiyle ilişkilendirilmektedir.

Ç alışmamızda, farklı iki durultma işleminin de nar suyunun antioksidan aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen verilere göre, soğuk durultma ile nar sularının antioksidan aktivite düzeyinde %10 oranında azalma gözlenirken, sıcak durultma ile ise %8 oranında azalma meydana geldiği gözlenmiştir ($p < 0.05$, EK 1, Ç izelge 13–14). Bu azalmanın, durultma sırasında nar sularının toplam polifenol madde ve monomerik ACN miktarlarında meydana gelen azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Antioksidan aktivite ile toplam polifenol madde ($r=0.731$) ve monomerik ACN miktarları ($r=0.894$) arasında belirlenen güçlü korelasyonlar da bu varsayımı doğrulamaktadır.

Nar suları ile kıyaslandığında ç ok daha düşük antioksidan aktiviteye sahip olan ç ilek suyunun antioksidan aktivite düzeyi üzerine sıcak durultma işleminin ise, önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Ç ilek suyu ve pürelereinin antioksidan aktivitesi üzerinde, ürünlerin içeriği askorbik asit, ACN ve polifenol miktarı etkili

olup, bunlar arasında polifenollerin miktarı daha çok etkilidir. Yüksek miktarda polifenol içeriğine sahip olan çilek suları daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Oszmiański ve Wojdyło 2009). Bu nedenle, sıcak durultma işleminin çilek sularının toplam polifenol içeriğinde önemli bir değişim meydana getirmemesi nedeniyle, antioksidan aktivite düzeyinde de önemli bir değişim olmadığı düşünülmektedir. Benzer şekilde, Oszmiański ve Wojdyło (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada da, elma sularının durultulmasında durultma yardımcı maddesi olarak kullanılan “bentonit (1 g/L)/jelatin (0.25 g/L)” ve “bentonit (1 g/L)/jelatin (0.25 g/L)/kizelsol(6 mL/L)” kombinasyonlarının elma suyunun antioksidan aktivitesi üzerinde herhangi bir değişime neden olmadığı saptanmıştır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde edilen önemli sonuçlardan bazıları aşağıda sunulmuştur:

1. Sıcak durultma işlemi sonucunda ulaşılan düşük bulanıklık değerleri nedeniyle, sıcak durultma işlemi gerek nar suyu gerekse de çilek suları için uygun bir durultma yöntemidir.
2. Sıcak durultma işlemi, çilek sularının toplam polifenol madde miktarında önemli bir değişime neden olmasa da askorbik asit düzeyinde önemli bir azalmaya neden olmuştur.
3. Nar sularının durultulmasında dikkate alınan tek faktörün “düşük bulanıklık düzeyi” olması durumunda, “soğuk durultma işlemi” önerilmektedir.
4. Nar sularının durultulmasında dikkate alınan faktörün “yüksek ACN miktarı, polifenol madde miktarı, a* değeri ve antioksidan aktivite değeri” olması durumunda, “sıcak durultma işlemi” önerilmektedir.
5. Sıcak durultma işlemi sonucunda ulaşılan daha yüksek ACN miktarının nedeni olduğu düşünülen bentonitin etkisini daha iyi ortaya koyabilmek için, farklı dozlarda bentonit eklenen nar sularının farklı sıcaklıklarda depolanması ve ACN miktarındaki, batokromik ve hiperkromik değerlerdeki değişimin takip edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmadaki doz denemeleri sırasında, farklı bentonit dozları denenmiş ve bentonit kullanımına bağlı olarak ACN miktarında azalma belirlenmiştir. Ancak, bentonitin ACN’lerin renk yoğunluğunu artırma üzerine etkilerini gösterebilmeleri için bir süreye ihtiyaçları vardır. Daha önce de bahsedildiği gibi, bentonitlerde bulunan metaller meyve suyundaki proteinlerle yer değiştirirler. Daha açık ifadeyle, bentonitteki metaller meyve suyuna geçer, proteinler ise bentonite bağlanır. Meyve suyuna geçen metallerle ACN’lerin etkileşimin meydana gelmesi için de belli bir süre geçmesi gerekir. İlerde yapılacak çalışmalarla, bu sürenin belirlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Aaby, K., Wrolstad, E.R., Ekeberg, D. and Screeds, G. 2007. Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purées impact of achene level and storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(13); 5156–5166.
- Abers, J.E. 1978. Causative factors of color deterioration in strawberry-preserves during processing and storage. Master Thesis, Oregon State University, Department of Food Science and Technology, 39, OR.
- Alighourchi, H., Barzegar, M. and Abbasi, S. 2008. Anthocyanins characterization of 15 Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their variation after cold storage and pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227(3);881–887.
- Alighourchi, H. and Barzegar, M. 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90(2); 179–185.
- Apaydın, E. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antioksidan aktivitedeki değişimler. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 64, Ankara.
- Alper, N., Behçeci, K.S. and Acar, J. 2005. Influence of processing and pasteurization on color values and total phenolic compounds of pomegranate juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(5–6); 357–368.
- Anonim. 2012. Web Sitesi: <http://www.meyed.org.tr>, Erişim Tarihi: 10.11.2012.
- Anonim. 2012. Web Sitesi: <http://www.batem.gov.tr>, Erişim Tarihi: 10.11.2012.
- Anonymous. 2012. Web Sitesi: <http://faostat.fao.org>, Erişim Tarihi: 10.11.2012.
- Arts, M.J., Haenen, G.R., Voss, H.P. and Bast, A. 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology*, 39(8); 787–791.
- Bakker, J., Bridle, P. and Koopman, A. 1992. Strawberry juice colour: Effect of some processing variables on the stability of anthocyanins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 60(4); 471–476.
- Baker, R.A. 1997. Reassessment of some fruit and vegetable pectin levels. *Journal of Food Science*, 62(2); 255–229.
- Balík, J. 2003. Effect of bentonite clarification on concentration of anthocyanins and colour intensity of red and rosè wines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 30(4); 135–141.

- Baziwane, D. and He, Q. 2003. Gelatin: The paramount food additive. *Food Reviews International*, 19(4); 423–435.
- Benitez, E.I. and Lozano, J.E. 2007. Effect of gelatin on apple juice turbidity. *Latin American Applied Research*, 37(4); 261–266.
- Beveridge, T. 1997. Haze and cloud in apple juices. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(1); 75–91.
- Bridle, P. and Timberlake, C.F. 1997. Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. *Food Chemistry*, 58(1–2); 103–109.
- Brouillard, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.), Academic Press Inc., pp.1–38, New York, NY.
- Bueno, J.M., Sáez–Plaza, P., Ramos–Escudero, F., Jiménez, A.M., Fett, R. and Asuero, A.G. 2012. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: Chemical structure, color, and intake of anthocyanins. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(2); 126–151.
- Cao, X., Zhang, Y., Zhang, F., Wang, Y., Yi, J. and Liao, X. 2011. Effects of high hydrostatic pressure on enzymes, phenolic compounds, anthocyanins, polymeric color and color of strawberry pulps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5); 877–885.
- Castillo–Sanchez, J.J., Mejuto, J.C., Garrido, J. and Garcia–Falcon, S. 2006. Influence of wine–making protocol and fining agents on the evolution of the anthocyanin content, colour and general organoleptic quality of Vinhao wines. *Food Chemistry*, 97(1);130–136.
- Castañeda–Ovando, A., Pacheco–Hernández, M.L., Páez–Hernández, M.E., Rodríguez J.A. and Galán–Vidal, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4); 859–871.
- Cemeroğlu, B. 1977. *Nar Suyu Üretim Teknolojisi Üzerinde Araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, No: 664, 71, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B. ve Karadeniz, F. 2009. Meyve suyu üretim teknolojisi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, B. Cemeroğlu (ed.), s. 391–692, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P. and Guha, A.K. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*, 39(12); 2229–32.
- Cortesi, R., Nastruzzi, C. and Davis, S.S. 1998. Sugar cross-linked gelatin for controlled release: microspheres and disks. *Biomaterials*, 19(18); 1641–1649.

- Cosme, F., Ricardo-da-Silva, J. and Laureano, O. 2009. Effect of various proteins on different molecular weight proanthocyanidin fractions of red wine during wine fining. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(1); 74–81.
- Damar, İ. 2008. Vişne suyunun antosiyanin profili ve antioksidan kapasitesi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 72, Ankara.
- Daood, H.G., Biacs, P.A., Dakar, M.A. and Hajdu, F. 1994. Ion–pair chromatography and photodiode–array detection of vitamin C and organic acids. *Journal of Chromatographic Science*, 32(11); 481–487.
- De Pascual–Teresa, S. and Sanchez–Ballesta, M.T. 2008. Anthocyanins: From plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2); 281–299.
- De Souza, A., Scalon, S., Chitarra, M. and Chitarra, A. 1999. Post–harvest application of CaCl₂ in strawberry fruits (*Fragaria ananassa* Dutch cv. Sequoia): Evaluation of fruit quality and post–harvest life. *Ciências Agrotécnicas*, Lavras, 23(4); 841–848.
- Deuel, C.L. and Plotto, A. 2004. Strawberries and raspberries. In *Processing Fruits*. Web Sitesi: www.scribd.com. Erişim Tarihi: 10.11.2013.
- Dıblan, S. 2014. Kalecik karası üzümünden (Vitis Vinifera L.) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 100, Ankara.
- Djagny, K.B., Wang, Z. and Xu, S. 2001. Gelatin: A valuable protein for food and pharmaceutical industries. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(6); 481–492.
- Dossett, M. 2007. Variation of heritability of vegetative, reproductive and fruit chemistry traits in black raspberry (*Rubus occidentalis* L.). Master Thesis, Department of Horticulture, Oregon State University, 73, Corvallis, Oregon.
- Eisenhour, D.D. and Brown R.K. 2009. Bentonite and its impact on modern life. *Elements*, 5(2); 83–88.
- Elfalleh, W., Tlili, N., Nasri, N., Yahia, Y., Hannachi, H., Chaira, N., Ying, M. and Ferchichi, A. 2011. Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum*) fruits. *Journal of Food Science*, 76(5); 707–713.
- Erkan–Koç, B. 2013. Nar sularının çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve konsantrelerin depolanması sürecinde bileşimindeki değişimler. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 193, Ankara.

- Fang, Z., Zhang, M., Tao, G., Sun, Y. and Sun, J. 2006a. Chemical composition of clarified bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc) juice sediment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20); 7710–7716.
- Fang, Z., Zhang, M., Sun, Y. and Sun, J. 2006b. How to improve bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) juice color quality: Effect of juice processing on bayberry anthocyanins and polyphenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(1); 99–106.
- Fang, Z.X., Zhang, M., Du, and Sun, J.C. 2007. Effect of fining and filtration on the haze formation in bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(1); 113–119.
- Fleschhut, J., Kratzer, F., Rechkemmer, G. and Kulling, E.S. 2006. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. *European Journal of Nutrition*, 45(1); 7–18.
- Fuleki, T. and Francis, F.J. 1968. Quantative methods for anthocyanins 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science*, 33(1); 72–77.
- Fuleki, T. 1969. The anthocyanins of strawberry, rhubarb, radish and onion. *Journal of Food Science*, 34(4); 365–369.
- García-Viguera C., Zafrilla P., Romero F., Abellán P., Artés F. and Tomás-Barberán F.A., 1999. Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *Journal of Food Science*, 64(2); 243–247.
- Geçer, M.K. ve Yılmaz, H. 2011. Van ekolojik koşullarında çilek fidesi üretim olanaklarının belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(1); 28–34.
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10); 4581–4589.
- Goiffon, J.P., Mouly, P.P. and Gaydou, E.M. 1999. Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 382(1–2); 39–50.
- Gómez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., López-Roca, J.M., De La Hera-Orts, M.L. and Martínez-Cuñillas, A. 2000. Effect of the addition of bentonite and polyvinylpyrrolidone on the colour and long-term stability of red wines. *Journal of Wine Research*, 11(3); 223–231.

- Gölküçü M., Tokgöz H. and Kırılan, M. 2008. Some properties of important pomegranate (*Punica granatum*) cultivar's seeds grown in Turkey. *Gıda*, 33(6); 281–290.
- Gössinger, M., Ullram, T., Hermes, M., Wendelin, S., Berghold, S., Halbwirth, H., Stich, K. and Berghofer, E. 2009. Effects of pre-freezing, puree content and pasteurization regime on colour stability of strawberry nectar made from puree. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(1); 144–149.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Wrolstad, R.E. and Schwartz, S.J. (eds.), 1–13, John Wiley & Sons, New York, NY.
- Guisti, M.M. and Wrolstad R.E. 2003. Review: Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3); 217–225.
- Gündüz, K. ve Özdemir, E. 2012. Çileklerde meyve kalite özellikleri arasındaki ilişkiler. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(1); 9–14.
- Hager, T. J, Howard, L. R. and Prior, R. L. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3); 689–95.
- Hahn, G.D. and Possmann, P. 1977. Colloidal silicon dioxide as a fining agent for wine. *American Journal Enology and Viticulture*, 28(2); 108–112.
- Hasnaoui, N., Jbir, R., Mars, M., Trifi, M., Kamal-Eldin, A., Melgarejo, P. and Hernandez, F. 2011. Organic acids, sugars, and anthocyanins contents in juices of Tunisian pomegranate fruits. *International Journal of Food Properties*, 14(4); 741–757.
- Hassanein, S.M. 1982. Color of strawberry juice concentrate as influenced by heating and storage temperature. Master Thesis, Oregon State University, Department of Food Science and Technology, 126, Corvallis, OR.
- He, J. and Giusti, M.M. 2010. Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1;163–187.
- Hernandez, F., Melgarejo, P., Tomas-Barberan, F.A. and Artes, A. 1999. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *European Food Research and Technology*, 210(1); 39–42.
- IFU. 1968. Analysen. Nr: 3 (Determination of titratable acidity). Internationale Fruchtsaft Union. Juris Verlag, Zurich, İsviçre.

- Jakobek, L., Seruga, M., Medvidovic–Kosanovic, M. and Novak, I. 2007. Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Deutsche Lebensmittel– Rundschau*, 103(2); 58–64.
- Jiang, J., Paterson, A. and Piggott, J.R. 1990. Effects of pectolytic enzyme treatments on anthocyanins in raspberry juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 25(5); 596–600.
- Kalt, W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1); 11–19.
- Kammerer, D.R., Schillm ller, S., Maier, O., Schieber, A. and Carle, R. 2007. Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colourants. *European Food Research and Technology*, 224(6); 667–679.
- Karaca, E. 2011. Nar suyu konsantresi üretiminde uygulanan bazı işlemlerin fenolik bileşenler üzerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, 144, Adana.
- Khosravi, F. and Asadollahzadeh, H. 2014. Determination of ascorbic acid in different citrus fruits under reversed phase conditions with UPLC. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1);91–94.
- Kim, M., Yoon, S.H., Jung, M. and Choe, E. 2010. Stability of meoru (*Vitis coignetiea*) anthocyanins under photochemically produced singlet oxygen by riboflavin. *New Biotechnology*, 27(4); 435–439.
- Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2001. Askorbik asitin degradasyon mekanizmaları. *Gıda*, 26(4); 233–242.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda M hendisliği Anabilim Dalı, 109, Ankara.
- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2006. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chemistry*, 97(4); 598–605.
- Klopotek, Y., Otto, K. and Böhm, V. 2005. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin, C. total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14); 5640–5646.
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N. K., Chia, T.F. and Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5); 923–933.
- Krauskopf, K.B. 1967. *Introduction to Geochemistry*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY.

- Kulkarni, A.P., Aradya, S.M. and Divakar, S. 2004. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant– punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry*, 87(4); 551–557.
- Lee, J. and Finn, C.E. 2007. Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(14); 2665–2675.
- Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R.E. 2002. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: Comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67(11); 1660–1667.
- Lee, J., Rennaker, C. and Wrolstad, R.E. 2008. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 110(3); 782–186.
- Lozano, J.E. 2003. Separation and clarification. In *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Caballero, B., Trugoand, L. and Finglas, P. (eds.), pp. 5187–5196, AP Editorial Elsevier, London, England.
- Lopes da Silva, F., Escribano–Bailón, M.T., Pérez Alonso, J.J., Rivas–Gonzalo, J.C. and Santos–Buelga, C. 2007. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT–Food Science and Technology*, 40(2); 374–382.
- Lundahl, D.S., McDaniel, M.R. and Wrolstad, R.E. 1989. Flavor, aroma, and compositional changes in strawberry juice concentrate stored at 20°C. *Journal of Food Science*, 54(5); 1255–1258.
- Magerramov, M.A., Abdulagatov, A.I., Azizov, N.D. and Abdulagatov, I.M. 2007. Effect of temperature, concentration, and pressure on the viscosity of pomegranate and pear juice concentrates. *Journal of Food Engineering*, 80(2); 476–489.
- Main, G. and Morris, J. 1991. Color of riesling and vidal wines as affected by bentonite, cufex and sulfur dioxide juice treatments. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(4); 354–357.
- Markakis, P. 1982. Stability of anthocyanins in foods. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.), Academic Press Inc., pp. 163–178, New York, NY.
- Martí, M., Pérez–Vicente, A. and García–Viguera, C. 2001. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(2); 217–221.
- Mena, P., García–Viguera, C., Navarro–Rico, J., Moreno, D.A., Bartual, J., Saura, D., and Martí, N. 2011. Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(10); 1893–1906.

- Meschter, E.E. 1953. Fruit color loss, effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(8); 574–579.
- Miller, N.J. and Rice–Evans, C.A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60(3); 331–337.
- Miguel, G., Dandlen, S., Antunes, D., Neves, A. and Martins, D. 2004. The effect of two methods of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice extraction on quality during storage at 4°C. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2004(5); 332–337.
- Mirdehghan, S.H. and Rahemi, M. 2007. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2); 120–127.
- Mirsaeedghazi, H., Emam–Djomeh, Z., Mousavi, S.M., Aroujalian, A. and Navidbakhsh, M. 2010. Clarification of pomegranate juice by microfiltration with PVDF membranes. *Desalination*, 264(3); 243–248.
- Mishkin, M. and Saguy, I. 1982. Thermal stability of pomegranate juice. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A (European Food Research and Technology)*, 206(6); 294–296.
- Morris, J.R. and Main, G.L. 1995. Fining agents for wine. *Proc. 14th NM Conf.*
- Mousavinejad, G., Emam–Djomeh, Z., Rezaei, K and Haddad Khodaparast, M.H. 2009. Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry*, 115(4); 1274–1278.
- Mullen, W., Lean, M.E. and Crozier, A. 2002. Rapid characterization of anthocyanins in red raspberry fruit by high-performance liquid chromatography coupled to single quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2); 63–70.
- Niekamp, A., Unklesbay, K., Unklesbay, N. and Eilersieck, M. 1984. Thermal properties of bentonite-water dispersions used for modeling foods. *Journal of Food Science*, 49(1); 28–31.
- Odriozola–Serrano, I., Soliva–Fortuny, R. and Martin–Belloso, O. 2009. Impact of high–intensity pulsed electric fields variables on vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity of strawberry juice. *LWT–Food Science and Technology*, 42(1); 93–100.
- Okoth, M.W., Kaahwa, A.R. and Imungi, J.K. 2000. The effect of homogenisation, stabilise randomylase on cloudiness of passion fruit juice. *Food Control*, 11(4); 305–311.

- Onsekizoğlu Bağcı, P. 2014. Effective clarification of pomegranate juice: A comparative study of pretreatment methods and their influence on ultrafiltration flux. *Journal of Food Engineering*, 141; 58–64.
- Oszmiański, J. and Wojdyło, A. 2007. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. *European Food Research and Technology*, 224(6); 755–762.
- Oszmiański, J. and Wojdyto, A. 2009. Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *European Food Research and Technology*, 228(4); 623–631.
- Özgen, M., Durgaç, C., Serçe, S. and Kaya, C., 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chemistry*, 111(3); 703–706.
- Özgüven, A.I. and Yılmaz, C. 2000. Pomegranate growing in Turkey. *Options Mediterraneennes, Serie A: Seminaires Mediterraneennes*, 42; 41–48.
- Özkan, M., Yemenicioğlu, A., Asefi, N. and Cemeroğlu, B. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juices by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science*, 67(2); 525–529.
- Özkan, M. 2009. Siyah havuç suyu konsantresi üretimi ve depolanması sürecinde fenolik maddeler ve antosiyaninlerdeki değişimler ve bu değişimlerin antioksidan aktivite ile ilişkisi. Proje No: 07B4343002, 107 s., Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Ankara.
- Özkan, M., Türkyılmaz, M., Güzel, N. ve Dereli, U. 2009. Ülkemizde yetiştirilen başlıca nar çeşitlerinin bazı kimyasal nitelikleri. Proje No: 08H4343004, 52 s., Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Ankara.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2010. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri. *Gıda Analizleri*, 2. Baskı, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 87–156, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 34, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Patras, A., Brunton, N.P., Da Pieve, S. and Butler, F. 2009. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purees. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(3); 308–313.
- Pinelo, M., Landbo, A.R., Vikbjerg, A.F. and Meyer, A.S. 2006. Effect of clarification techniques and rat intestinal extract incubation on phenolic composition and antioxidant activity of black currant juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18); 6564–6571.

- Rein, M.J. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (dissertation). EKT series 1331. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 88, Helsinki.
- Sadilova, E., Carle, R. and Stintzing, F.C. 2007. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(12); 1461–1471.
- Seeram, N., Lee, R., Hardy, M. and Heber, D. 2005. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and Purification Technology*, 41(1); 49–55.
- Sharma S., Joshi, V.K. and Abrol G. 2009. An overview on Strawberry [*Fragaria × ananassa* (Weston) Duchesne ex Rozier] wine production technology, composition, maturation and quality evaluation. *Natural product Radiance*, 8(4); 356–365.
- Siebert, K.J., Troukhanova, N.V. and Lynn, P.Y. 1996. Nature of polyphenol–protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1); 80–85.
- Siebert, K.J. and Lynn, P.Y. 1997a. Haze–active protein and polyphenols in apple juice assessed by turbidimetry. *Journal of Food Science*, 62(1); 79–84.
- Siebert, K.J. and Lynn, P.Y. 1997b. Mechanisms of adsorbent action in beverage stabilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(11); 4275–4280.
- Siebert, K.J. 1999. Effects of protein–polyphenol interactions on beverage haze, stabilization and analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2); 353–362.
- Siebert, K.J. 2006. Haze formation in beverages. *LWT–Food Science and Technology*, 39(9); 987–994.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3); 144–153.
- Skrede, G., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65(2); 357–364.
- Starr, M.S. and Francis, F.J. 1974. Effect of metallic ions on color and pigment content of cranberry juice cocktail. *Journal of Food Science*, 38(6); 1043–1046.
- Spanos, G.A and Wrolstad, R.E. 1992. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage–A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9); 1478–1487.

- Tabur, D., Bakkal, G. ve Yurdagel, Ü. 1987. Nar suyunun durultulma işlemi ve depolama süresince meydana gelen değişimler üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 12(5); 305–311.
- Tağı, Ş. 2010. Nar suyu üretim aşamalarında antimikrobiyel aktivite ve fenolik madde miktarındaki değişimler. Proje No: 08B4343002, 37 s., Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Ankara.
- Taştan, Ö. 2013. Berrak meyve suyu üretiminde durultma ajanı olarak kitosan kullanımı ve meyve suyu kalite özelliklerine etkilerinin belirlenmesi. TÜBİTAK Proje No: 112O047, 96 s., İzmir.
- Threifall, R.T., Morris, J.R. and Mauromoustakos, A. 1999. Effects of fining agents on trans-resveratrol concentration in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 5(1); 22–26.
- Turfan, Ö. 2008. Nar suyu konsantresi üretimi ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 140, Ankara.
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2011. Anthocyanin and colour changes during processing of pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) juice from sacs and whole fruit. *Food Chemistry*, 129(4); 1644–1651.
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2012. Effects of clarification and storage on anthocyanins and color of pomegranate juice concentrates. *Journal of Food Quality*, 35(4); 272–282.
- Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2012. Clarification and pasteurisation effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. *Food Chemistry*, 134(2); 1052–1058.
- Van De Velde, F., Tarola, A.M., Güemes, D. and Pirovani, M.E. 2013. Bioactive compounds and antioxidant capacity of camarosa and Selva strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Foods*, 2(2); 120–131.
- Vardin, H. and Fenercioglu, H. 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: Clarification of pomegranate juice. *Nahrung/Food*, 47(5); 300–303.
- Varasteh, F., Arzani, K., Zamani, Z.A. and Mohseni, A. 2009. Evaluation of the most important fruit characteristics of some commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars of Iran. *Acta Horticulturae*, 818; 103–108.
- Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M. and Zamani, Z. 2012. Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coating pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 130(2); 267–272.

- Verbeyst, L., Crombruggen, K.V., Plancken, I.V., Hendrickx, M. and Loey, A.V. 2011. Anthocyanin degradation kinetics during thermal and high pressure treatments of raspberries. *Journal of Food Engineering*, 105(3); 513–521.
- Versari, A., Barbanti, D., Biesenbruch, S. and Farnell, P.J. 1997. Analysis of anthocyanins in red fruits by use of HPLC/spectral array detection. *Italian Journal of Food Science*, 9(2); 141–148.
- Versari, A., Barbanti, D., Potentini, G., Mannazzu, I., Salvucci, S. and Galassi, S. 1998. Physico-chemical characteristics of some oenological gelatins and their action on selected red wine components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(2); 245–250.
- Vukosavljević, P., Bukvić, B., Janković, M., Petrović, T. and Stevanović, S. 2006. Change of juice color during raspberry processing in fruit juice and fruit juice concentrate. *Journal of Agricultural Sciences*, 51(1); 99–115.
- Wrolstad R.E. and Erlandson J.A. 1973. Effect of metal ions on the color of strawberry puree. *Journal of Food Science*, 38(3); 460–463.
- Wrolstad, R.E. 2004. Anthocyanin pigments–bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*, 69(5); 419–425.
- Wightmann, J.D. and Wrolstad, R.E. 1996. β -Glucosidase activity in juice-processing enzymes based on anthocyanin analysis. *Journal of Food Science*, 61(3); 544–547.
- Wightman, J.D., Price, S.F., Watson, B.T. and Wrolstad, R.E. 1997. Some effects of processing enzymes on anthocyanins and phenolics in Pinot noir and Cabernet Sauvignon Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48(1); 39–48.
- Williams M. and Hrazdina G. 1979. Anthocyanins as food colorants: effect of pH on the formation of anthocyanin-rutin complexes. *Journal of Food Science*, 44(1); 66–68.
- Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E. and Prior, R.L. 2006. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11); 4069–4075.
- Yemiş, O., Türkyılmaz, M. ve Özkan, M. 2010. Gıda analizlerinde HPLC yöntemleri. *Gıda Analizleri*, 2. Baskı, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 257–350, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 34, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Yu, L.R. and Love, C.A. 1996. Strawberry texture and pectin content as affected by electron beam irradiation. *Journal of Food Science*, 61(4); 844–848.
- Zabetakis, I. and Holden, M.A. 1997. Strawberry flavour: Analysis and biosynthesis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(4); 421–434.

EK 1 Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Çizelge 1 Nar suyunun durultulmasıyla briks değerinde meydana gelen azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	0.797	0.399	7969.3	0.000*
Hata	3	0.000	0.000		
Genel toplam	5	0.797			

* : p<0.05

Çizelge 2 Çilek suyunun durultulmasıyla briks değerinde meydana gelen azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	0.053	0.053	529.00	0.002*
Hata	3	0.000	0.000		
Genel toplam	5	0.053			

* : p<0.05

Çizelge 3 Durultma uygulamalarının nar sularının briks değerleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Nar suyu	Briks (%)
Durultulmamış	14.4±0.01A
Soğuk durultma sonrası	13.6±0.00C
Sıcak durultma sonrası	14.3±0.00B

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 4 Nar sularının durultulmasıyla monomerik ACN miktarlarında meydana gelen azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	342.26	171.13	19.24	0.019*
Hata	3	26.68	8.89		
Genel toplam	5	368.94			

* : p<0.05

Çizelge 5 Durultma uygulamalarının nar sularının monomerik ACN içerikleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Nar suyu	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	180.0±2.47 A
Soğuk durultma sonrası	169.6±1.82 B
Sıcak durultma sonrası	179.8±4.16 A

*: Toplam monomerik ACN miktarı, siyanidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 6 Çilek sularının durultulmasıyla ACN miktarlarında meydana gelen azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	2297.2	1148.6	39.70	0.007*
Hata	3	86.8	28.9		
Genel toplam	5	2384.0			

* : p<0.05

Çizelge 7 Durultma işleminin çilek sularının monomerik ACN içerikleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Çilek suyu	Toplam monomerik ACN miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	305.2±6.56 A
<i>Sıcak durultma uygulanmış</i>	
Depektinizasyon sonrası	268.7±3.73 B
Durultma sonrası	260.1±5.46 B

*: Toplam monomerik ACN miktarı, siyanidin-3-glukozid cinsinden hesaplanmıştır.

A-B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 8 Nar sularının durultulmasıyla polimerik renk oranlarında meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	42.910	2.455	919.0	0.000*
Hata	3	0.070	0.023		
Genel toplam	5	42.980			

* : p<0.05

Çizelge 9 Durultma uygulamalarının nar sularının polimerik renk oranları üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Nar suyu	Polimerik renk oranı (%)
Durultulmamış	44.1±0.07 B
Soğuk durultma sonrası	47.4±0.14 A
Sıcak durultma sonrası	40.9±0.21 C

A-B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 10 Nar sularının durultulmasıyla polifenol miktarında meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	949 078	474 539	127.94	0.001*
Hata	3	11 127	3 709		
Genel toplam	5	960 205			

* : p<0.05

Çizelge 11 Durultma uygulamalarının nar sularının polifenol miktarları üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Nar suyu	Toplam polifenol miktarı (mg/L)*
Durultulmamış	5276±23.6 A
Soğuk durultma sonrası	4371±70.7 B
Sıcak durultma sonrası	5134±74.6 A

*: Toplam polifenol miktarları, galik asit cinsinden hesaplanmıştır.

A-B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 12 Çilek sularının durultulmasıyla askorbik asit miktarında meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	3094.7	3094.7	212.34	0.005*
Hata	2	29.1	14.6		
Genel toplam	3	3123.8			

* : p<0.05

Çizelge 13 Nar sularının durultulmasıyla antioksidan aktivite düzeyinde meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	2	45.083	22.542	31.75	0.010*
Hata	3	2.130	0.710		
Genel toplam	5	47.213			

* : p<0.05

Çizelge 14 Durultma uygulamalarının, nar sularının antioksidan aktivite düzeyi üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Nar suyu	Antioksidan aktivite (mM troloks/mL meyve suyu)
Durultulmamış	64.5±0.566 A
Soğuk durultma sonrası	58.3±0.071 B
Sıcak durultma sonrası	59.3±1.344 B

A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Buket Orhan

Doğum Yeri : Nevşehir

Doğum Tarihi : 1987

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Nevşehir Anadolu Lisesi (2001–2005)

Lisans : Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
(2006–2010)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Ana Bilim Dalı (Eylül 2011–Ekim 2014)

Yayınları:

- ✓ **Orhan, B.** ve Özkan, M. Meyve sularının durultulmasında kitosan kullanımı. Türkiye 11. Gıda Kongresi, s. 541, 10–12 Ekim, 2012, Hatay. (**Buket Orhan** tarafından sunulmuştur.)