

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**NAR SULARININ ÇEŞİTLİ DURULTMA YARDIMCI MADDELERİ İLE
DURULTULMASI VE KONSANTRELERİN DEPOLANMASI SÜRECİNDE
BİLEŞİMİNDEKİ DEĞİŞİMLER**

Betül ERKAN KOÇ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2013**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

NAR SULARININ ÇEŞİTLİ DURULTMA YARDIMCI MADDELERİ İLE DURULTULMASI VE KONSANTRELERİN DEPOLANMASI SÜRECİNDE BİLEŞİMİNDEKİ DEĞİŞİMLER

Betül ERKAN KOÇ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Nardan elde edilen ve aralarında nar suyu ve konsantrelerinin de bulunduğu ürünlerin çekici ve stabil kırmızı-viole renkleri tüketiciler için önemli bir kalite kriteridir. Antosiyanin içeren gıdaların gerek işlenmesi gerekse de depolanması süresince meydana gelen renk bozunmaları, monomerik antosiyaninlerin parçalanması ve esmer renk oluşumundan kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada, durultma işleminin nar suyunun antosiyanin içeriği ve rengi üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca, -20° , 4° , 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolama süresince, nar suyu konsantrelerinin antosiyanin içeriği ve rengindeki değişimler de gözlenmiştir. Durultma ve depolama boyunca nar suyu ve konsantrelerinin renklerindeki değişimi belirlemek için kullanılan başlıca renk kriterleri; monomerik antosiyanin miktarı, antosiyanin kompozisyonu, polimerik renk ve reflektans renk değerleridir. Bu renk analizlerinin yanı sıra, aynı zamanda gerek nar suyunun durultulması gerekse de elde edilen konsantrelerin depolanması süresince toplam polifenol, hidrolize olabilen tanen miktarları ve antioksidan aktivite düzeyindeki değişimler de incelenmiştir.

Çalışmamızda, Türk meyve suyu endüstrisi tarafından nar suyu üretiminde en çok tercih edilen Hicaznar çeşidi kullanılmıştır. Dörde bölünmüş narlar kabuklarıyla birlikte pilot işletmede paketli preste preslenerek nar suyuna işlenmiştir. Elde edilen bulanık nar suyu; farklı durultma uygulamaları ve konsantre eldesi için 7 ayrı kitleye bölünmüştür. Her bir kitle; doğal sedimantasyon (2°C'de), jelatin, kitosan, kazein, albümin ve ksantan gam olmak üzere farklı bir durultma uygulamasına tabi tutulmuştur. Kalan nar suyu kitlesi ise durultulmamıştır. Nar suyu konsantreleri, durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilmiştir.

Durultma işlemiyle, uygulanan yöntemin farklılığına bağlı olarak nar sularının antosiyanin içeriğinde %10–27 azalma meydana gelmiştir. Durultma yardımcı maddelerinden monomerik antosiyaninlerde, kazeinin (%27) en büyük kayba neden olduğu saptanırken; ksantan gam (%11.1) ve kitosanın (%11.6) en az kayba neden olduğu saptanmıştır. Siyanidin-3,5-diglikozit (%43) nar sularının başat antosiyaninidir. Nar suyundaki diğer antosiyaninlerin, en yüksekte başlayarak düşüğe doğru sırasıyla: Delfinidin-3,5-diglikozit (%23), siyanidin-3-glikozit (%21), delfinidin-3-glikozit (%5), pelargonidin-3-glikozit (%5) ve pelargonidin-3,5-diglikozit (%3) olduğu saptanmıştır. Literatürdeki diğer meyve sularından çok daha fazla polimerik renge sahip olan nar sularının, presleme işleminden hemen sonra polimerik renk oranının %21.5 olduğu saptanmıştır. Durultma işlemi polimerik renk oluşumunun artmasına neden olmuştur. Antosiyanin miktarındaki kayıp ile polimerik renk oluşumu arasında pozitif korelasyon ($r = 0.7225$) saptanmıştır. Polifenol miktarında en fazla kayıp (%23.7) jelatinle durultulan örneklerde meydana gelmiştir. Nar sularının polifenol miktarıyla antioksidan aktiviteleri arasında pozitif korelasyon olduğu gözlenmiştir. Nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarlarında (91.2%) ve antioksidan aktivitelerinde (24.7%) en fazla kayba kazeinle durultma neden olmuştur. Nar suyundaki başat hidrolize olabilen tanenler α -punikalajin ve β -punikalajindir.

Nar suyu konsantrelerinin (65°Bx) depolanması süresince depolama sıcaklığının bulanıklık düzeyine etkisi olmadığı saptanmıştır. Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantrenin bulanıklık düzeyinde depolama sonucunda önemli düzeyde azalma meydana gelirken ($p < 0.05$), farklı durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin bulanıklık değerlerinde bir değişim gözlenmemiştir. Kinetik veriler, nar suyu konsantrelerinin depolanması boyunca monomerik antosiyaninlerin parçalanmasının birinci derece; polimerik renk oluşumunun ise doğrusal olmayan (non-linear) kinetik modelle tanımlanabileceğini göstermiştir. Beklendiği gibi, depolama sıcaklığındaki artışla nar suyu konsantrelerinde gerek antosiyaninlerin parçalanma gerekse de esmer pigment oluşum hızları artmıştır. Örneğin, durultulmamış nar suyu konsantrelerinde, antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarılanma süreleri ($t_{1/2}$); 4° , 10° ve 20°C sıcaklıklarda sırasıyla 60, 43 ve 20 gün olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, nar suyu konsantrelerinin -20°C'de 7-8 ay depolanması boyunca renklerinin neredeyse hiç değişmediğini; buna karşın, 20°C'de depolanan konsantre örneklerinde renk bozunmasının çok hızlı gerçekleştiğini göstermiştir. Örneğin; durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantrelerin 20°C'de 60 gün depolanması sonunda monomerik antosiyanin miktarında %88 kayıp ve polimerik renk oranında ise %49 artış (%24.7'den %73.8'e) gözlenmiştir. Durultulmamış ve farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polifenol miktarlarında ve antioksidan aktivite düzeylerinde düzenli bir artış veya azalış olmadığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Konsantrelerin hidrolize olabilen tanen içeriklerinde depolama süresince bir değişim gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Nar suyu konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen miktarıyla antioksidan aktivite düzeyleri arasında pozitif korelasyon ($r = 0.8695$) olduğu ortaya konmuştur.

Temmuz 2013, 238 sayfa

Anahtar Kelimeler: Durultma, antosiyaninler, renk, polifenoller, antioksidan aktivite, nar suyu ve konsantresi, depolama

ABSTRACT

Ph.D Thesis

CHANGES IN THE COMPOSITION OF POMEGRANATE JUICE DURING FINING WITH VARIOUS AGENTS AND POMEGRANATE JUICE CONCENTRATES DURING STORAGE

Betül ERKAN KOÇ

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

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

An attractive and stable violet-red color of pomegranate products including juice and concentrates is the indication of high quality for consumers. However, during processing and storage, the color deterioration in anthocyanin containing products occurs as a result of both monomeric anthocyanin degradation and brown pigment formation. This study was conducted to determine the effects of fining on the anthocyanins and color of pomegranate juice. Moreover, the changes in anthocyanins and color of pomegranate juice concentrates were monitored during storage at -20° , 4° , 10° and 20°C . Monomeric anthocyanin content, anthocyanin composition and polymeric color were the primary color indices used to determine the color changes in pomegranate juice and concentrates during fining and storage. In addition to these color analyses; changes in polyphenol content, hydrolyzable tannin content and antioxidant activity of pomegranate juice and concentrates were also determined during fining and storage, respectively.

The variety of pomegranates selected in this study was Hicaznar variety which was the most preferred variety for juice processing by Turkish fruit juice industry. Pomegranate quarters with rinds were processed into juice on a rack and cloth press in the pilot plant. The cloudy juices obtained were divided into seven parts for fining trials as well as concentration after fining with each fining agent. The cloudy juices were clarified (fined) by natural sedimentation (at 2°C), gelatin, chitosan, casein, albumin and xanthan gum. The remaining juice was not clarified. Pomegranate juice concentrates were obtained from both clarified and non-clarified juices.

Clarification with six different methods resulted 10–27% loss in anthocyanin content of pomegranate juices. While the casein caused the highest loss in monomeric anthocyanins (27%), xanthan gum (11.1%) and chitosan (11.6%) resulted in the least loss in monomeric anthocyanin content. Cyanidine-3,5-diglucoside (43%) was the major anthocyanin in pomegranate juice. The other anthocyanins in pomegranate juice were in descending order: Delphinidine-3,5-diglucoside (23%), cyanidine-3-glucoside (21%), delphinidine-3-glucoside (5%), pelargonidine-3-glucoside (5%) and pelargonidine-3,5-diglucoside (3%). Right after pressing, the polymeric color ratio of pomegranate juice was 21.5%, which was much higher than those cited for other fruit juices in the literature. Clarification resulted in higher levels of polymeric color. There was a positive correlation ($r = 0.7225$) between loss in anthocyanin content and polymeric color formation. The most decrease in polyphenol content (23.7%) occurred in samples clarified with gelatin. A positive correlation was observed between polyphenol content and antioxidant activity of pomegranate juice. The highest loss in hydrolyzable tannin content (91.2%) and antioxidant capacity (24.7%) of pomegranate juices occurred after clarification with casein. α -punicalagin and β -punicalagin were the major hydrolyzable tannins in pomegranate juice.

Surprisingly, storage temperature had no effect on the turbidity of pomegranate juice concentrates (65°Bx) during storage. Although there was a significant decrease in turbidity of concentrates obtained from non-clarified pomegranate juices ($p < 0.05$), no changes were observed in turbidity values of concentrates obtained from juices clarified with different methods. Analysis of kinetic data suggested first-order models for monomeric anthocyanin degradation, but the formation of polymeric color ratio was fitted to non-linear regression models during the storage of pomegranate juice concentrates. As expected, higher storage temperatures increased the rate of anthocyanin degradation and formation of brown color in pomegranate juice concentrates. For example half-life period ($t_{1/2}$) for anthocyanin degradation in concentrates obtained from non-clarified pomegranate juices was 60, 43 and 20 days at 4° , 10° and 20°C , respectively. Results from extensive color measurements revealed that the color of pomegranate juice concentrates stored at -20°C almost unchanged during 8 months of storage. On the contrary, very fast color deterioration occurred in concentrate samples stored at 20°C . For example, 88% loss in monomeric anthocyanin content and 49% increase in polymeric color ratio (from 24.7% to 73.8%) were observed in concentrates obtained from non-clarified juices after 60 days of storage. There was not a regular increase or decrease in polyphenol content and antioxidant activity of concentrates obtained from non-clarified and clarified pomegranate juices by using different fining agents during storage at all temperature ($p < 0.05$). Hydrolyzable tannin contents of concentrates did not significantly change during storage ($p > 0.05$). There was a positive correlation ($r = 0.8695$) between hydrolyzable tannin contents and antioxidant activities of pomegranate juice concentrates.

July 2013, 238 pages

Key Words: Clarification, anthocyanins, color, polyphenols, antioxidant activity, pomegranate juice and concentrate, storage

TEŞEKKÜR

Sadece doktora çalışmam süresince değil aynı zamanda lisans eğitimim sırasında da daima bana zaman ayırıp yol gösteren, hem bir bilim adamı olarak yaptığı çalışmalara hem de insani özelliklerine çok saygı duyduğum, hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a çok teşekkür ederim. Çalışmam boyunca tezime önemli katkılarda bulunan Tez İzleme Komitesi'nin değerli üyeleri Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI'ya ve Prof. Dr. Ender Sinan POYRAZOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca hidrolize olabilen tanenlerin HPLC ile analizinde bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Oktay YEMİŞ'e ve nar suyu konsantresi üretimi ve fiziksel analizlerimde bana yardımcı olan arkadaşlarım Buket ORHAN ve Sevgin DIBLAN'a ve ihtiyacım olduğunda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Dr. Meltem TÜRKYILMAZ'a teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca gösterdiği anlayış, yaptığı tüm fedakarlıklar ve sonsuz desteği için sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Ofisi tarafından 09B4343002 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Betül ERKAN KOÇ

Ankara, Temmuz 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Nar.....	3
2.2 Durultma.....	5
2.2.1 Jelatin.....	7
2.2.2 Kitosan.....	8
2.2.3 Kazein.....	10
2.2.4 Albümin.....	11
2.2.5 Ksantan gam.....	12
2.3 Antosiyaninler.....	13
2.3.1 Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler.....	18
2.3.1.1 Yapısal faktörler.....	18
2.3.1.2 Diğer faktörler.....	20
2.4 Polifenoller ve Antioksidan Aktivite.....	31
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	37
3.1 Materyal.....	37
3.1.1 Nar.....	37
3.1.2 Kimyasallar.....	38
3.2 Yöntem.....	38
3.2.1 Narın meyve suyuna işlenmesi.....	38
3.2.2 Nar ham suyunun durultulması.....	40
3.2.2.1 Doğal sedimantasyon.....	40
3.2.2.2 Jelatinle durultma.....	40
3.2.2.3 Kitosarla durultma.....	42
3.2.2.4 Kazeinle durultma.....	43
3.2.2.5 Albüminle durultma.....	43
3.2.2.6 Ksantan gamla durultma.....	44

3.2.3 Nar sularının konsantreye işlenmesi ve depolanması.....	44
3.2.4 Fiziksel analizler.....	45
3.2.4.1 Suda çözünür kuru madde tayini.....	45
3.2.4.2 pH tayini.....	47
3.2.4.3 Reflektans renk tayini.....	47
3.2.4.4 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi.....	48
3.2.5 Kimyasal analizler.....	48
3.2.5.1 Titrasyon asitliği.....	48
3.2.5.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini.....	48
3.2.5.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi.....	50
3.2.5.4 Geri kazanım (recovery) testi.....	53
3.2.5.5 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi.....	54
3.2.5.6 Toplam polifenollerin tayini.....	56
3.2.5.7 Hidrolize olabilen tanen dağılımının belirlenmesi.....	58
3.2.5.8 Antioksidan aktivite tayini.....	60
3.2.5.9 Kinetik katsayıların hesaplanması.....	62
3.2.5.10 İstatistik değerlendirme.....	65
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	66
4.1 Nar Ham Sularının Durultulması.....	66
4.1.1 Nar suyunun doğal sedimantasyon yöntemiyle durultulması.....	67
4.1.2 Nar suyunun jelatinle durultulması.....	67
4.1.3 Nar suyunun kitosanla durultulması.....	69
4.1.4 Nar suyunun kazeinle durultulması.....	75
4.1.5 Nar suyunun albüminle durultulması.....	77
4.1.6 Nar suyunun ksantan gamla durultulması.....	78
4.2 Nar Suları ve Konsantrelerinin Antosiyanin İçeriklerinin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler.....	82
4.3 Nar Sularının Antosiyanin İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi....	85
4.4 Geri Kazanım (Recovery) Testi.....	96
4.5 Nar Sularında Oluşan Polimerik Renk Üzerine Durultma İşleminin Etkisi..	97
4.6 Nar Sularının Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler.....	100
4.7 Nar Suları ve Konsantrelerinin Toplam Polifenol, Hidrolize Olabilen Tanen ve Antioksidan Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler.....	101

4.8 Nar Sularının Toplam Polifenol Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	104
4.9 Nar Sularının Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	107
4.10 Nar Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Durultma İşleminin Etkisi...	112
4.11 Nar Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi	116
4.12 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Bulanıklık Değerlerindeki Değişimler.....	118
4.13 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Antosiyaninlerdeki Değişimler.....	123
4.14 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Polimerik Renk Oranındaki Değişimler.....	142
4.15 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler.....	150
4.16 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Toplam Polifenol Miktarındaki Değişimler.....	153
4.17 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Hidrolize Olabilen Tanen Miktarındaki Değişimler.....	158
4.18 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Antioksidan Aktivite Düzeyindeki Değişimler.....	163
4.19 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Bazı Analitik Özelliklerindeki Değişimler.....	169
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	171
KAYNAKLAR.....	177
EKLER.....	193
EK 1 Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	194
EK 2 Farklı Depolama Sıcaklıklarında, Nar Suyu Konsantrelerinin Antosiyanin Miktarlarındaki Azalmaya İlişkin Grafikler.....	211
EK 3 Farklı Depolama Sıcaklıklarında, Nar Suyu Konsantrelerinin Polimerik Renk Oranlarındaki Artışa İlişkin Grafikler.....	215
EK 4 Arrhenius Grafikleri İçin Gerekli Veriler.....	219
EK 5 Arrhenius Grafikleri.....	220
EK 6 Nar Suyu Konsantrelerinde Antosiyaninlere Ait HPLC Kromatogramları.....	224
EK 7 Nar Suyu Konsantrelerinde Hidrolize Olabilen Tanenlere Ait HPLC Kromatogramları.....	231
ÖZGEÇMİŞ.....	238

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Briks	Suda çözünür kuru madde
k	Reaksiyon hız sabiti
$t_{1/2}$	Yarılanma süresi
E_a	Aktivasyon enerjisi
Q_{10}	Sıcaklığın 10°C arttırılmasıyla reaksiyon hızının artış katsayısı
NaOH	Sodyum hidroksit
MeOH	Metanol
UV	Ultraviole (U ltravio l et)
PPO	Polifenol oksidaz
A.B.D.	A merika B irleşik D evletleri
NTU	N ephelometric T urbidity U nit
TÜİK	T ürkiye İ statistik K urumu
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
a.g.	Analitik saflıkta (a.g, analytical grade)
dak.	Dakika
h	Saat (h our)
MEYED	Meyve Suyu Endüstrisi Derneği
ROS	Reaktif oksijen formları (R eactive O xygen S pecies)
IFU	Uluslararası Meyve Suyu Federasyonu (I nternational F ruit J uice U nion)
HMF	Hidroksimetil furfural (5- H ydroxymethyl-2- f urfural)

PVDF	Poliviniliden florür (P oly v inylidene f luoride)
POD	Peroksidaz
PVPP	Polivinilpolipirrolidone
PET	Polietilen terafitalat (P oly e thylene tera p hthalate)
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
O ₂ ^{•-}	Süperoksit
HOO•	Hidroperoksi radikali
ROO•	Peroksi radikali
HO•	Hidroksil radikali
RO•	Alkoksi radikali
O ₂	Singlet oksijen
O ₃	Ozon
PDA	Photo dioderay dedector
SO ₂	Kükürtdioksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Jelatinin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.2	Kitosanın kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.3	Kazeinin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.4	Albüminin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.5	Ksantan gamin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.6	Flavilium katyonu.....	14
Şekil 2.7	Açillenmemiş bazı antosiyaninlerin termal parçalanma mekanizmaları.....	21
Şekil 2.8	Açillenmiş bazı antosiyaninlerin termal parçalanma mekanizmaları....	22
Şekil 2.9	Ortam pH'sının antosiyaninlerin rengi üzerine etkisi.....	24
Şekil 2.10	Punikalajinin kimyasal yapısı.....	35
Şekil 2.11	Punikalin (a), elajik asit (b) ve gallik asidin (c) kimyasal yapıları.....	36
Şekil 3.1	Nar suyu üretim akış şeması.....	41
Şekil 3.2	Nar suyu konsantresi üretim akış şeması.....	46
Şekil 3.3	Örneğin saflaştırılması.....	51
Şekil 4.1	Siyanidin-3,5-diglikozit standart eğrisi.....	82
Şekil 4.2	Delfinidin-3-glikozit standart eğrisi.....	83
Şekil 4.3	Pelargonidin-3,5-diglikozit standart eğrisi.....	83
Şekil 4.4	Siyanidin-3-glikozit standart eğrisi.....	84
Şekil 4.5	Pelargonidin-3-glikozit standart eğrisi.....	84
Şekil 4.6	Farklı durultma uygulamalarının nar suyu antosiyaninleri üzerine etkisi.....	86

Şekil 4.7	Nar sularında HPLC yöntemiyle ve spektrofotometrik yöntemle belirlenen antosiyanin miktarları arasındaki doğrusal ilişki.....	91
Şekil 4.8	Nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	93
Şekil 4.9	Nar sularında meydana gelen antosiyanin kaybıyla polimerik renk oluşumu arasındaki doğrusal ilişki.....	99
Şekil 4.10	Farklı durultma uygulamalarının polimerik renk oluşumu üzerine etkisi.....	100
Şekil 4.11	Gallik asit standart eğrisi.....	102
Şekil 4.12	Punikalajin standart eğrileri.....	103
Şekil 4.13	Troloks standart eğrisi.....	103
Şekil 4.14	Farklı durultma uygulamalarının, nar suyu antosiyaninleri ve polifenollerini üzerine etkisi arasındaki ilişki.....	105
Şekil 4.15	Farklı durultma uygulamalarının nar suyu polifenollerini üzerine etkisi.....	106
Şekil 4.16	Farklı durultma uygulamalarının nar suyunun hidrolize olabilen tanen miktarı üzerine etkisi.....	109
Şekil 4.17	Nar sularındaki hidrolize olabilen tanenlerin HPLC kromatogramları.....	111
Şekil 4.18	Punikalajin standardı HPLC kromatogramı.....	112
Şekil 4.19	Farklı durultma uygulamalarının nar suyunun antioksidan aktivitesi üzerine etkisi.....	114
Şekil 4.20	Nar sularındaki antioksidan aktivite ve toplam polifenol miktarları arasındaki ilişki.....	115
Şekil 4.21	Nar sularındaki antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin miktarları arasındaki ilişki.....	116
Şekil 4.22	Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişimler.....	124
Şekil 4.23	Farklı sıcaklıklarda 60 gün süreyle depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarında meydana gelen azalmalar.....	126

Şekil 4.24	Durultulmamış nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin Arrhenius grafiği.....	130
Şekil 4.25	Durultulmamış nar sularından elde edilen ve farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları.....	136
Şekil 4.26	Durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler.....	143
Şekil 4.27	Nar suyu konsantrelerinde meydana gelen antosiyanin kaybıyla polimerik renk oluşumu arasındaki doğrusal ilişki.....	147
Şekil 4.28	4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucunda polifenol miktarında meydana gelen değişim.	154
Şekil 4.29	10°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucunda polifenol miktarında meydana gelen değişim.	154
Şekil 4.30	20°C sıcaklıkta 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucunda polifenol miktarında meydana gelen değişim.	155
Şekil 4.31	Durultulmamış nar sularından elde edilen ve farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları.....	160
Şekil 4.32	Nar suyu konsantrelerinde hidrolize olabilen tanen miktarı ile antioksidan aktivite arasındaki doğrusal ilişki.....	162
Şekil 4.33	4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucunda antioksidan aktivitede meydana gelen değişim.....	164
Şekil 4.34	10°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucunda antioksidan aktivitede meydana gelen değişim.....	164
Şekil 4.35	20°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucunda antioksidan aktivitede meydana gelen değişim.....	165

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları.....	15
Çizelge 2.2	Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler.....	16
Çizelge 2.3	Reaktif oksijen türleri.....	32
Çizelge 3.1	HPLC ile antosiyanin dağılımını belirlemek için uygulanan elüsyon profili.....	52
Çizelge 3.2	HPLC ile hidrolize olabilen tanen dağılımını belirlemek için uygulanan elüsyon profili.....	59
Çizelge 4.1	Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış jelatin deneme sonuçları.....	68
Çizelge 4.2	4°C'deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine, kitosan dozajları ile yavaş ve kısa süreli karıştırmanın etkisi.....	70
Çizelge 4.3	20°C'deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine; farklı karıştırma hızı, karıştırma süresi ve kitosan dozajlarının etkisi....	70
Çizelge 4.4	35°C'deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine, farklı kitosan dozajlarının etkisi.....	71
Çizelge 4.5	50°C'deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine, farklı kitosan dozajlarının etkisi.....	71
Çizelge 4.6	Deneme yapılan tüm sıcaklıklarda en iyi berraklığa ulaşılan kitosan dozajları.....	72
Çizelge 4.7	Kitosan uygulanmış nar sularının (200 mL) bulanıklık değerlerinin inkübasyon süresiyle (20°C'de) değişimi.....	73
Çizelge 4.8	Nar ham sularına (200 mL) 20°C'de uygulanmış kitosan deneme sonuçları.....	74
Çizelge 4.9	Nar ham sularının durultulmasında kazein etkinliği üzerine inkübasyon sıcaklığının etkisi.....	75
Çizelge 4.10	Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış kazein deneme sonuçları.....	76
Çizelge 4.11	Nar ham sularının durultulmasında albümin etkinliği üzerine inkübasyon sıcaklığının etkisi.....	77

Çizelge 4.12	Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış albümin deneme sonuçları.....	78
Çizelge 4.13	Nar ham sularının durultulmasında ksantan gamın etkinliği üzerine, ksantan gam çözeltisinin hazırlanış şeklinin farklı sıcaklıklardaki etkisi.....	79
Çizelge 4.14	Nar ham sularının durultulmasında ksantan gamın etkinliği üzerine karıştırma şeklinin etkisi.....	80
Çizelge 4.15	Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış ksantan gam deneme sonuçları.....	81
Çizelge 4.16	Farklı durultma işlemlerinin, nar sularının toplam monomerik antosiyanin miktarları üzerine etkisi.....	85
Çizelge 4.17	Durultma uygulanmış ve uygulanmamış nar sularının toplam monomerik antosiyanin ¹ içerikleri.....	90
Çizelge 4.18	Nar sularında durultma işleminden önce ve sonra saptanan antosiyaninlerin miktarları.....	95
Çizelge 4.19	Nar suyunda antosiyaninlerin geri kazanımları.....	96
Çizelge 4.20	Farklı durultma uygulamalarının, nar sularında polimerik renk oluşumu ¹ üzerine etkisi.....	98
Çizelge 4.21	Farklı uygulamalarla durultulan nar sularının reflektans renk değerleri ¹	101
Çizelge 4.22	Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının toplam polifenol miktarı ¹ üzerine etkisi.....	104
Çizelge 4.23	Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarları ¹ üzerine etkisi.....	108
Çizelge 4.24	Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının antioksidan aktivite düzeyi ¹ üzerine etkisi.....	113
Çizelge 4.25	Durultma işleminin nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği ¹ değerlerine etkisi.....	117
Çizelge 4.26	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin bulanıklık değerlerinde ¹ depolama süresince meydana gelen değişimler.....	119
Çizelge 4.27	Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik parametreler.....	128

Çizelge 4.28	Durultulmamış nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin Arrhenius grafiği için gerekli veriler.....	131
Çizelge 4.29	Farklı durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklıklarda depolanması sonucunda saptanan antosiyanin miktarları.....	133
Çizelge 4.30	Nar suyu konsantrelerinde saptanan antosiyanin miktarları.....	137
Çizelge 4.31	Konsantrasyon işleminin nar sularının antosiyanin miktarı ¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması.....	141
Çizelge 4.32	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk oranı ¹ oluşumuna ilişkin veriler.....	145
Çizelge 4.33	Konsantrasyon işleminin nar sularının polimerik renk oranı ¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması.....	150
Çizelge 4.34	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde belirlenen reflektans renk değerleri.....	151
Çizelge 4.35	Konsantrasyon işleminin nar sularının polifenol miktarı ¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması.....	158
Çizelge 4.36	Farklı durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklıklarda depolanması sonucunda saptanan hidrolize olabilen tanen miktarları.....	159
Çizelge 4.37	Konsantrasyon işleminin nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarı ¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması.....	163
Çizelge 4.38	Konsantrasyon işleminin nar sularının antioksidan aktivite düzeyi ¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması.....	168
Çizelge 4.39	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde briks, pH ve titrasyon asitliği ölçümleri.....	169

1. GİRİŞ

Berrak meyve suyu üretimi amacıyla işlenen elma, vişne, üzüm ve nar gibi meyveler preslenince bulanık bir ürün elde edilmektedir. Bulanıklık unsurları stabil olmadığından, kısa sürede ambalajın dibinde tortu oluşturmaktadır. Bu durum tüketici tercihini olumsuz yönde etkilediği için prestan alınan bulanık meyve suları, durultma denilen bir seri işlem sonunda filtre edilerek kristal berraklıkta meyve suyuna dönüştürülmektedir. Berrak meyve suları doğrudan tüketim için ambalajlanınca veya daha sonra kullanılmak üzere konsantreye işlenince normal olarak yeniden bulanmaması beklenir. Ancak birçok meyve suyunda sonradan bulanma, belli düzeyde görülmekle birlikte, nar suyu ister doğrudan ambalajlanmış olsun isterse konsantre edilmiş olsun kısa sürede yeniden ve aşırı düzeyde bulanmakta, ambalajın tabanında zamanla bir tortu tabakası oluşmaktadır.

Nar suyunda meydana gelen bu olayın önlenme yolları belirlenmeden, ülkemizde nar üretimine paralel olarak nar suyu üretiminin artması oldukça zordur. Yukarıda değinildiği gibi, bulanıklık ve tortu sağlık açısından bir sorun oluşturmaya da tüketici her türlü bulanıklık ve tortuya kuşkuyla bakmaktadır. Nar suyunda oluşan bu bulanma ve tortunun nedeni kuşkusuz polifenoller olmakla birlikte, bunun engellenme olanağı konusunda herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Olayın önlenmesi amacıyla, geleneksel durultma yöntemleri dışında son zamanlarda diğer bazı meyve sularında başarı ile uygulanmış alternatif durultma yardımcı maddelerinin bu çalışmayla nar sularının durultulmasında ilk defa kullanılması planlanmıştır.

Son yıllara kadar, nar suyu üretimine ilgi duyulmadığı için nar sularının durultulması üzerine de yeterince araştırma yapılmamıştır. Bu nedenle de nar sularının durultulması yeterince bilinmemektedir. Bu durum, ülkemizde yapılan endüstriyel nar suyu üretiminde açıkça görülmektedir. Ülkemizde, prestan alınan bulanık nar sularına bazı firmalarda önce depektinizasyon işlemi uygulanmakta ve bunu takiben de diğer meyve sularına uygulanan sıcak durultma işleminde kullanılan bentonit, jelatin ve kizelsol ile sıcak durultma işlemi yapılmaktadır. Halbuki narda pektin olmadığı bölümümüzde yürütülen bir çalışmada açıkça ortaya konulmuş olduğundan, nar sularında

depektinizasyon işlemine gerek bulunmamaktadır. Buradan, meyve suyu endüstrimizin nar sularının durultulması konusunda yeterince bilgi sahibi olmadığı anlaşılmaktadır.

Nar suyunda tüketici tercihini etkileyen diğer bir önemli etmen de antosiyanin içeriğinden kaynaklanan yoğun kırmızı-viole renktir. Antosiyaninler; başta yüksek sıcaklık (gerek ısıl işlem ve gerekse de depolamada) olmak üzere, oksijen, pH, hidrojen peroksit, askorbik asit ve şekerler gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle, özellikle meyve bazlı ürünlerde işleme ve depolama aşamalarında antosiyaninlerin parçalanıp kaybolmamasına özen gösterilmekte ve antosiyaninlerin bu ürünlerdeki stabilitesi giderek önem kazanmaktadır. Bu yüzden, çalışmamızın diğer bir amacı da, berrak nar suyu ve konsantresinin üretimi ve elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklıklarda (-20° , 4° , 10° ve 20°C) depolanması süresince antosiyaninlerin stabilitesini belirlemektir.

Son yıllarda nar suyuna olan ilginin başlıca nedeni, antioksidan etkileri dolayısıyla özellikle kalp-damar hastalıkları ve kanser gibi kronik hastalıkları önleyici etki gösteren polifenollerce zengin olmasıdır. Nar sularının antioksidan aktivitesinin önemli kısmı içerdiği hidrolize olabilen tanenler (elajitanen ve gallotanenler), antosiyaninler ve diğer flavonoidlerden (kuersetin, kamferol ve luteolin glikozitler) kaynaklanmaktadır. Literatürde birçok gıda ürününün üretim ve depolanması aşamalarında antioksidan aktivitelerinin değiştiğine dair çalışmalar mevcuttur. Bu amaçla, bu çalışmada gerek nar suyunun durultulması ve konsantreye işlenmesi gerekse de elde edilen konsantrelerin depolanması süresince toplam polifenol, hidrolize olabilen tanen miktarları ve antioksidan aktivite düzeyindeki değişimler de incelenecektir.

Gerçekleştirilen bu araştırma ile sadece literatürdeki boşluğun doldurulması amaçlanmamış olup, daha çok, ülkemiz için meyve suyu konsantresi ihracatı içinde önemli bir yer tutmaya başlayan nar suyu konsantresi üretimindeki önemli bir sorun olan durultma işleminin başarı ile yapılması amacıyla çözüm yollarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Nar

Nar (*Punica granatum* Linn.), Punicaceae familyasına ait ekonomik değeri yüksek bir meyvedir. Meyve; parlak kırmızı, sarımsı, yeşil ya da beyazımsı renkte bir kabukla kaplı olup, 5–15 cm çapında ve küreseldir (Anonim 2012). Tropik ve sub-tropik iklim kuşağında yetişmekle birlikte; sert kışları ve kuraklığı tolere edebilmekte ve çöl koşullarında bile üretilebilmektedir (Aseri vd. 2008). Narın anavatanı; Ortadoğu, Anadolu ve Kafkasya ile İran Körfezi arasında kalan bölge olup, nar; binlerce yıldır üretilen bir meyvedir (Anonim 2012). Ayrıca A.B.D., İspanya, Azerbaycan, Orta Doğu ve Arap ülkelerinde de yetiştiriciliği yapılan narın üretiminde ülkemiz; Hindistan, İran ve Çin'den sonra dünyada 4. sıradadır. Nar üretimi ile ilgili literatürde çelişkili istatistiki bilgiler bulunmaktadır. Tarım ürünleri konusunda en güvenilir istatistiki bilgilerin bulunduğu FAO internet sayfasında nar üretimi ile ilgili sınırlı düzeyde bilgi bulunmaktadır. Nar üretimi ile ilgili yayınlanmış, en güvenilir istatistiki bilgilere; FAO (Anonim 2010) ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü internet sayfalarından ulaşılmıştır (Anonim 2009b).

FAO verilerine göre, başlıca nar üreticisi konumundaki Hindistan ve İran'dan sonra, nar üretimi; Çin, Türkiye, Afganistan, Pakistan ve İspanya başta olmak üzere A.B.D., Azerbaycan, Bangladeş, Ermenistan, Fas, Fransa, Gürcistan, Japonya, Kıbrıs, Libya, Lübnan, İtalya, Ürdün, Mısır, Myanmar, Moritanya, Sudan, Tacikistan, Tunus ve Yunanistan'da da yapılmaktadır (Anonim 2010). Yazıcı ve Şahin (2010) tarafından yayımlanan çalışmada, üretici ülkelerin farklı yıllarda da olsa, 2004–2006 yılları arasındaki nar üretim miktarları verilmiştir. Bu çalışmaya göre, dünyada yaklaşık 2 milyon ton nar üretilmekte olup, bu üretimin %38'i Hindistan, %34'ü İran, %9'u Çin, %4'ü Türkiye ve geri kalan %15'i de diğer ülkeler tarafından yapılmaktadır. Ülkemizde nar çoğunlukla Akdeniz (%61.8), Ege (%23.3) ve Güneydoğu Anadolu (%9.1) bölgelerinde üretilmektedir. Bu bölgeler arasında narın en fazla üretildiği il ise, Antalya'dır (Anonim 2009a). Nar üretiminde Antalya'yı; İçel, Aydın, Denizli, Hatay ve Siirt takip etmektedir (Anonim 2009b).

Dünyada ticari olarak yetiştirilen başlıca önemli nar çeşitleri; Alandi ve Ganesh (Hindistan), Schahvar ve Robab (İran), Wonderful (Kaliforniya, A.B.D. ve İsrail), Mollar ve Tendral (İspanya) olup, ülkemizde en fazla yetiştirilen, meyve suyuna işlenen ve yaş meyve olarak ihraç edilen nar çeşidi Hicaznar çeşididir (Anonim 2009b).

Son yıllara kadar nar çoğunlukla tarlalar arasında sınır oluşturmak için yetiştirilen bir bitki olmasına rağmen, son yıllarda nara gittikçe artan ilgi nedeniyle ülkemizde modern nar plantasyonları oluşturulmuştur ve halen de oluşturulmaya devam edilmektedir. Nar, meyveler tam olgunluğa eriştikten sonra, kabukları sarıdan parlak kırmızıya doğru bir renk aldığı hasat edilmektedir (Kulkarni ve Aradhya 2005, Mirdehghan ve Rahemi 2007). Ülkemizde nar hasadı çeşide ve bölgeye göre değişmekle birlikte Ağustos sonunda başlayıp, Kasım ortalarına kadar sürmektedir.

Ülkemizde nar üretimi 2000 yılında 59 000 ton iken 2008 yılı nar üretimi 128 000 tona ve 2010 yılında ise, 350 000 tona ulaşmıştır (Anonim 2009c, Anonim 2011). Yaş meyve ihracatımızda nar, 2008 yılında 4 282 153 kg ve 2009 yılında 5 813 898 kg ile 6. sırada yer almaktadır (Anonim 2009d). En fazla nar ihraç ettiğimiz ülkeler arasında Almanya, Rusya Federasyonu, Hollanda, Ukrayna ve Yunanistan bulunmaktadır.

Ülkemizde birçok nar çeşidi yetiştirilmektedir. Ülkemizde nar üretiminin geliştirilmesi amacıyla standart nar çeşitlerinin özellikleri belirlenerek bölgelere göre yetiştirilebilecek nar çeşitleri sınıflandırılmıştır. Bütün bölgelerde yetiştirilebilecek nar çeşitleri Devediş, Kadı, Lefon, Misk, Zivzik, Çekirdeksiz ve Hicaznar olarak belirlenmiştir. Ayrıca; Akdeniz Bölgesi'nde Keben ve Katırbaşı; Ege Bölgesi'nde ise "İzmir serisi" olarak tescil ettirilen 12 adet yumuşak çekirdekli (1, 15, 23, 26, 1261, 1265, 1267, 1445, 1453, 1465, 1479, 1483), 6 adet tatlı-sert çekirdekli (2, 8, 10, 12, 16, 29) ve 3 adet mayhoş (1264, 1499, 1513) nar çeşitleri bulunmaktadır (Anonim 2012). Ülkemizde en fazla yetiştirilen ve ihraç edilen nar çeşidi ise, Hicaznar'dır. Bu çeşit; kırmızı kabuklu, koyu kırmızı taneli ve mayhoş özellikte olup; yüksek verimi, taşımaya ve muhafazaya uygunluğu ile de diğer çeşitlerden üstün özelliklere sahiptir (Anonim 2006).

Ülkemizde yetiştirilen nar çeşitlerinin bazı kimyasal niteliklerinin belirlenmesi üzerine en kapsamlı çalışma, Cemeroğlu vd. (1994a) tarafından yapılmıştır. Söz konusu çalışmada, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Menemen, İzmir), Alata Bahçe Kùltürleri Enstitüsü (Erdemli, Mersin) ve Alanya Meyvecilik Üretim İstasyonu'nun (Alanya, Antalya) koleksiyon bahçelerinden sağlanan 120 nar numunesinin kimyasal tanı değerleri (RSK değerleri) belirlenerek 120 örneğin 86'sı tatlı-mayhoş, 34'ü ise ekşi çeşit olarak nitelenmiştir. Akdeniz narlarının seleksiyonuna ilişkin yapılan bir araştırmada, 72 tip nar çeşidi belirlenmiştir (Onur 1982). Bu çalışmalar ülkemizde çok fazla nar çeşidi bulunduğunu göstermektedir. Üretilen bu nar çeşitlerinden ancak belli bir bölümü meyve suyu üretimine elverişlidir. Nitekim, Onur (1982) tarafından yapılan bir araştırmada suda çözünür kuru madde, titrasyon asitliği, renk yoğunluğu ve fenolik madde miktarının başlıca kriter alındığı değerlendirilmede, 72 nar çeşidi arasından toplam 23 çeşidin meyve suyu üretimine elverişli olduğu saptanmış ve daha sonra söz konusu çeşitler 8'e indirilmiştir (Cemeroğlu vd. 1988).

İçerdiği bioaktif bileşikler nedeniyle, son yıllarda gerek ülkemizde, gerekse de tüm dünyada “nar”a ve bu üründen elde edilen meyve sularına olan ilgi oldukça artmıştır. Nitekim, ülkemizde nar yetiştiriciliğinin hızla yayılması ve narın meyve suyuna işlenmesindeki artışlar da bu talebi doğrular niteliktedir. Ülkemizdeki nar üretiminde meydana gelen artışlara daha önce kapsamlı bir şekilde değinilmiştir. Nar, ülkemizde meyve suyuna işlenen meyveler arasında son sıralarda yer almakla birlikte, 2000 yılından beri, dünyada nar suyuna olan ilginin artmasına paralel olarak ülkemizde nar üretiminin de artması sonucu, meyve suyuna işlenme miktarı en hızlı artan meyve konumuna gelmiştir. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği (MEYED) verilerine göre, ülkemizde 2005 yılında 17 600 ton, 2006 yılında ise, 46 600 ton nar, meyve suyuna işlenmiştir (Anonim 2007a). Elde edilen nar suyundan; 2005 yılında 2800 ton, 2006 yılında ise, 6 900 ton nar suyu konsantresi (65°Briks) üretilmiştir.

2.2 Durultma

Narların meyve suyuna işlenmesi sonucunda diğer meyve sularında olduğu gibi bulanık bir ürün elde edilmektedir. Bulanıklığın nedeni; meyve suyunda süspansiyon halinde

bulunan farklı büyüklükteki meyve dokusu parçacıkları, protein-tanen kompleksleri, çözünmeyen proteinler, aktif enzimler, canlı ve ölmüş mikroorganizmalardır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Berrak meyve suyu eldesi için bu unsurların meyve suyu ortamından uzaklaştırılması amacıyla, meyve suyuna “durultma” denen “depektinizasyon + berraklaştırma + filtrasyon” olmak üzere üç aşamalı bir seri işlem uygulanmaktadır.

Depektinizasyon ile meyve suyundaki bulanıklık unsurlarını koruyucu kolloid görevi gören ve onların meyve suyundan uzaklaşmasını olanaksız hale getiren çözünmüş pektin ve nişasta; sırasıyla pektolitik ve amilolitik enzimler aracılığıyla parçalanmaktadır. Negatif yüklü pektin kılıfının parçalanması sonucunda pozitif yüklü proteinler serbest kalarak flok oluşturabilmektedirler. Böylece depektinizasyondan sonraki aşama olan berraklaştırma işlemi kolaylaşmaktadır.

Berraklaştırma aşamasında jelatin, bentonit ve kizelsol gibi bazı durultma yardımcı maddelerinden yararlanılmaktadır. Bunların dışında polivinilpoliprolidon (PVPP) da meyve sularının berraklaştırılmasında son aşamada kullanılmaktadır. Meyve sularında bulanıklığa neden olan bileşenlerin başında proteinler ve polifenoller (fenolik bileşikler) gelmektedir. Proteinlerin uzaklaştırılması için bentonit; polifenollerin uzaklaştırılması için jelatin; ortamda negatif yük taşıyan parçacıkların yeterince bulunmadığı durumlarda ise, meyve suyunda çözünmüş olarak bulunan kalıntı jelatinin neden olabileceği sonradan bulanmayı önlemek amacıyla kizelsol kullanılmaktadır. Bu üç temel durultma yardımcı maddesinin yanında, polifenollerin uzaklaştırılması için yukarıda değinildiği gibi PVPP’den de yararlanılmaktadır. PVPP özellikle jelatinle uzaklaştırılamayan ve meyve sularının depolanması sırasında bulanmaya neden olan kateşinler gibi düşük moleküllü polifenollerin uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009).

Nar sularında iz miktarda pektin bulunduğu (%0.02–0.04; Benk 1971) veya hiç bulunmadığı (Cemeroğlu 1977, Magerramov vd. 2007) için nar sularının durultulmasında depektinizasyon işlemine gerek yoktur. Benzer şekilde nar sularının

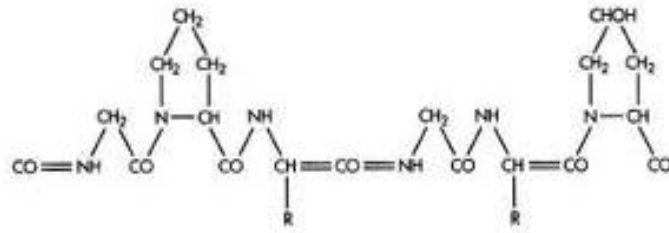
protein içeriği de çok az olduğundan (1.1 g protein 100 g⁻¹ nar danesi; Rieger 2006) berraklaştırmada bentonit; nar suyunun yüksek miktarda polifenol içermesi ve soğuk durultma yöntemiyle durultulması nedeniyle de kizelsol kullanımı gereksizdir. Nar sularının jelatin kullanılarak soğuk durultma yöntemi ile durultulması sonucunda oldukça berrak bir nar suyu elde edilmesine karşın, depolama süresince nar suları ve konsantrelerinde sonradan bulanma meydana gelmekte, tüketicici ambalajında uygulanan pastörizasyon ve depolamada uygulanan yüksek sıcaklıklarda bulanıklık oluşumu hızlanmaktadır. Oluşan bulanıklık, sağlık açısından herhangi bir sorun teşkil etmese de bu, tüketicici tarafından görsel bir kusur olarak algılanmakta ve tüketicinin nar suyuna kuşkuyla bakmasına neden olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda nar sularının durultulmasında jelatine alternatif olarak kitosan, kazein, albümin ve ksantan gam gibi durultma yardımcı maddeleri kullanılmıştır. Aşağıda söz konusu durultma yardımcı maddelerine ilişkin bilgiler yer almaktadır.

2.2.1 Jelatin

Jelatin, peptid bağı ile bağlanan amino asitlerden oluşmuş, temel amino asidi prolin olan uzun zincirli bir proteindir (şekil 2.1). Jelatin, sığır ve koyun derileri ve kıkırdak dokularından üretilmektedir. A tipi jelatin (asit hidrolizasyonu) ve B tipi jelatin (baz hidrolizasyonu) olmak üzere iki farklı çeşidi mevcuttur. A tipi jelatinin izoelektrik noktası pH 7.0–9.0 arasındayken B tipi jelatininki pH 4.4–5.0 arasında olup her iki tip jelatin de izoelektrik noktalarının altındaki pH derecelerinde pozitif yük kazanmaktadırlar. İzoelektrik nokta ile bulundukları ortamın pH derecesi birbirinden ne kadar farklı olursa jelatinin pozitif yükü de o kadar artmaktadır. Dolayısıyla meyve sularının pH aralığında (pH 3–4) A tipi jelatin B tipine göre daha fazla pozitif yüklenmekte ve bu nedenle meyve sularının durultulmasında A tipi jelatin tercih edilmektedir. Durultma için önemli diğer bir kriter de jelatinin Bloom sayısı olup durultmada en iyi sonucun orta düzey Bloom sayılı (80–100) jelatinle alındığı saptanmıştır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009).

Jelatin; meyve sularına eklendiğinde ortamın pH aralığında (pH 3–4) pozitif yük kazanmakta, yapısındaki peptid bağı ile meyve suyundaki negatif yüklü polifenollerin

hidroksil grubu arasında kurulan hidrojen bağı yardımıyla flok oluşturmaktadır. Oluşan floklar çökerken, bulanıklık yapan diğer bileşenleri de beraberinde sürükleyerek meyve suyundan uzaklaşmasını sağlamak ve meyve suyu filtre edilebilir bir nitelik kazanmaktadır. Cemeroğlu (1977) tarafından yapılan çalışmada; nar suyunun $1.5\text{--}2.0\text{ g L}^{-1}$ jelatin ilavesiyle 3 h gibi kısa bir sürede durultulabileceği belirtilmekte, ancak tortu kitlesinin tam olarak oturabilmesi için durultmanın 10°C 'nin altında yapılması ve bu sıcaklıkta 7–8 h bekletilmesi önerilmektedir.



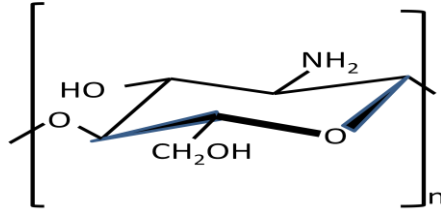
Şekil 2.1 Jelatinin kimyasal yapısı

Literatürde jelatinin, meyve sularının ve şarapların durultulması amacıyla kullanıldığı birçok çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan birinde; beyaz şarapların durultulmasında 0.08 g L^{-1} jelatin kullanılmış ve bulanıklık düzeyinde yaklaşık %24 azalma meydana gelmiştir (Cosme vd. 2008). Vardin ve Fenercioğlu (2003) tarafından yapılan çalışmada da, nar sularının durultulmasında $0.5\text{--}2.5\text{ g L}^{-1}$ arasında değişen dozajlarda jelatin kullanılmış ve jelatin konsantrasyonu arttıkça bulanıklık düzeyinde azalma olduğu gözlenmiştir. Daha önce laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, yine 1 L bulanık nar suyuna 250 mg jelatin eklenerek mükemmel berraklıkta meyve suyu elde edilmiştir (Özkan vd. 2002).

2.2.2 Kitosan

Kitosan, ticari olarak; karides, yengeç gibi kabuklu deniz hayvanlarından elde edilen kitinin kısmi deasetilasyonu ile elde edilen, reaktif fonksiyonel amino gruplarına sahip, modifiye doğal bir biyopolimerdir. Düz zincirli bir polisakkarit olup, D-glikozamin (asetillenmemiş ünite: deacetylated unit) ile N-asetil-D-glikozaminin (asetillenmiş

ünite: acetylated unit) β -(1-4) bağı ile bağlanmasıyla oluşmaktadır (Anonim 2007b) (Şekil 2.2). Kitosanın 3 tane reaktif fonksiyonel grubu olup, bunlar; C-3 ve C-6 pozisyonlarındaki birincil ve ikincil hidroksil grupları ve C-2 pozisyonunda bulunan amino grubudur (Furusaki vd. 1996).



Şekil 2.2 Kitosanın kimyasal yapısı

Kitosana olan ilgi; kitosanın çöktürme, nem tutma, film oluşturma, antimikrobiyal etki, antioksidan etki, emülgatör, enzim immobilizasyonu vb. birçok fonksiyonel özelliğe sahip olması nedeniyle son zamanlarda artmıştır. Aynı zamanda; antitümör, hipokolestolemik vb. biyofonksiyonel etkiler göstermesi ve toksik olmaması nedeniyle kitosanın gıda, ilaç, kozmetik, tıp, ziraat ve tekstil alanlarında kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır.

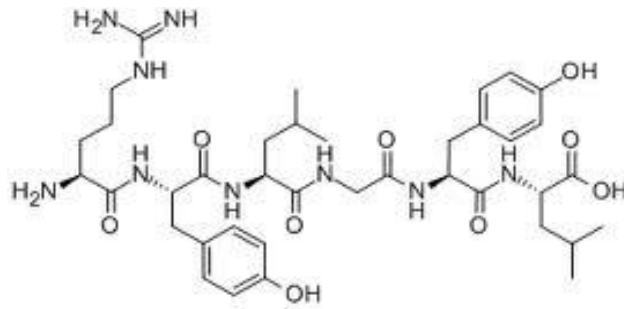
Kitosan; kuvvetli pozitif yük taşıması, ağır metalleri bağlayarak çelat oluşturma, asit bağlayıcı özelliği ve proseste kolloidal ve dispers partiküllerin ayrılmasında etkili olması nedeniyle meyve suyu üretiminde de kullanılmaktadır (Soto-Peralta vd. 1989). Kitosan asidik pH'larda kısmen dissosiyasyon olarak pozitif yük kazanmaktadır. Bu özelliği ile meyve sularının pH derecesinde kitosanın yapısındaki amin grubu (NH₂) pozitif yüklenmekte (NH₃⁺) ve negatif yüklü polifenollere bağlanarak flok oluşturmaktadır (Spagna vd. 2000).

Meyve suyu üretiminde kitosanın kullanımı üzerine Oszmiański ve Wojdyło (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli durultma uygulamalarının elma suyunun polifenol içeriği ve rengi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; kitosanın, elma suyunun biyokimyasal parametreleri üzerine herhangi bir etkide bulunmadığı ve

elma sularının durultulmasında durultma yardımcı maddesi olarak kullanılabileceği saptanmıştır. Rungsardthong vd. (2006) tarafından fungal kitosan üzerine yapılan bir çalışmada ise; elma suyunun durultulmasında *Absidia glauca* var. *Pardoxa*'dan elde edilmiş fungal kitosan ile ticari kitosanın etkinliği kıyaslanmış ve fungal kitosanın daha fazla berraklık sağladığı saptanmıştır. Bununla beraber; her iki kitosanın da 0.1–0.7 g L⁻¹ arasındaki konsantrasyonlarda bulanıklık düzeyinde kademeli bir azalma sağladığı, ancak kitosan konsantrasyonu 1 g L⁻¹'ye ulaştığında bulanıklık düzeyinin arttığı gözlenmiştir.

2.2.3 Kazein

Kazein, sütün bileşiminde bulunan başlıca protein olup (Şekil 2.3), durultma amacıyla daha çok şarap endüstrisinde kullanılmaktadır. İzoelektrik noktası pH 4.6'dır (Spagna vd. 2000) ve meyve suyu pH'sında pozitif yüklenmektedir. Ancak kazein suda çözünabilir özellikte olmamakla birlikte bazik pH'larda çözünabilmektedir. Bu nedenle kazeinin potasyum hidroksitle reaksiyonu sonucunda elde edilen suda çözünabilir özellikteki potasyum kazeinat daha çok tercih edilmektedir. Sodyum kazeinat ise, şarabın sodyum içeriğini arttırması nedeniyle tercih edilmemektedir (Morris ve Main 1995).



Şekil 2.3 Kazeinin kimyasal yapısı

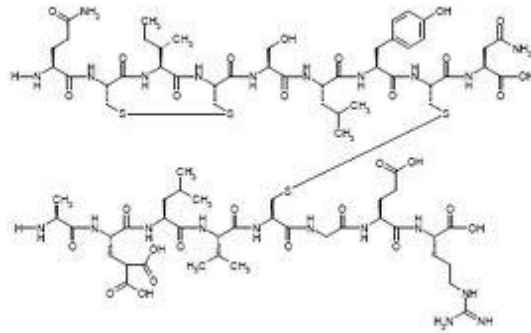
Kazeinin durultma etkinliği sağlayabilmesi için ortamda yüksek molekül ağırlığına sahip polifenol bileşiklerden tanenlerin varlığı önkoşuldur (Ribéreau-Gayon vd. 2006).

Kazein; istenmeyen kokuları ortamdan uzaklaştırması ve esmerleşme ürünlerini uzaklaştırarak rengi açması nedeniyle daha çok beyaz şarapların durultulmasında tercih edilmektedir (Morris ve Main 1995, Barón vd. 1997). Kazein ile ortamdaki polifenoller arasında meydana gelen etkileşimde, her iki moleküldeki aromatik grupların varlığı; kazeinin yapısındaki fonksiyonel gruplarla polifenollerin hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağı oluşumunu arttırmaktadır (Spagna vd. 2000).

Castillo-Sánchez vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada, Vinhão üzümlerden elde edilen şarapların durultulmasında 0.2 g L^{-1} düzeyinde kazein kullanılırken; Cosme vd. (2008), yaptıkları çalışmada genç beyaz şarapları durultmak amacıyla 0.4 g L^{-1} düzeyinde kazein kullanmışlar ve bulanıklık düzeyi olarak ifade edilen 650 nm dalga boyundaki optik yoğunluğun 7.1'den 1.8'e düştüğünü saptamışlardır.

2.2.4 Albümin

Albümin, şarapların durultulmasında yaygın olarak kullanılan protein yapısında bir durultma yardımcı maddesidir (Şekil 2.4). Kolloidal bir yapıda olan albümin, negatif yüklü tanenlere bağlanabilen pozitif yüklü yüzey alanına sahiptir (Morris ve Main 1995). Albümin, mükemmel bir flokleşme sağlamasa da oluşturduğu tortu oldukça sıkidır. Yüksek tanen içerikli ve fazlaca buruk şaraplarda tadı yumuşatmak amacıyla kullanımı önerilmekle birlikte daha çok kırmızı şaraplarda kullanımı tercih edilmektedir (Ribéreau-Gayon vd. 2006).

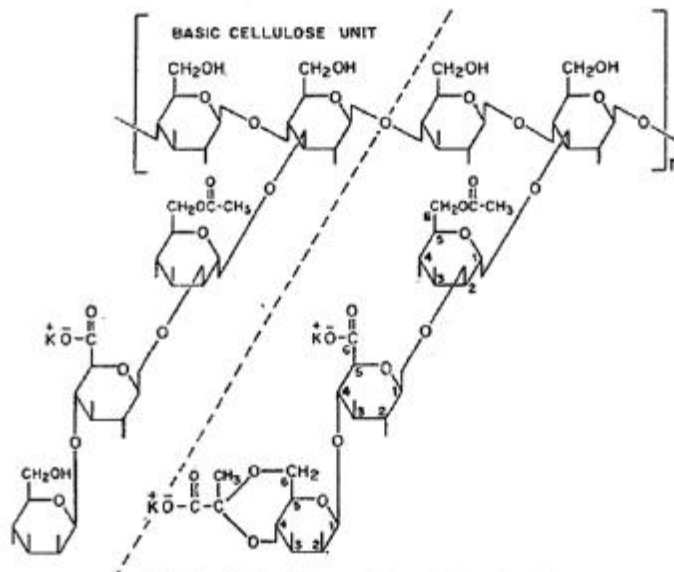


Şekil 2.4 Albüminin kimyasal yapısı

Castillo-Sánchez vd. (2008), 0.6 g L⁻¹ düzeyinde albümin kullanarak Vinhão üzümünden elde edilen şarapları durultmuşlardır. Bir diğer çalışmada da 0.125 g L⁻¹ konsantrasyonundaki albümin, genç beyaz şarapların bulanıklığında %45 düzeyinde azalmaya neden olmuştur (Cosme vd. 2008).

2.2.5 Ksantan gam

Ksantan gam, *Xanthomonas campestris* bakterisinin ürettiği doğal bir polisakkarit ve önemli bir endüstriyel biyopolimerdir. Tıpkı selülozda olduğu gibi β -D glikoz ünitelerinin 1,4 bağıyla düz zincir olarak bağlanmasıyla oluşmuştur. Yapıdaki her iki glikozdan ikincisinin 3. karbon atomuna trisakkarit bağlanmıştır. Bu trisakkaritler de glukoronik asit ünitelerinin 1,4 bağıyla mannoz ünitesine bağlanması ve bu mannoz ünitesinin de 1,2 bağıyla 2. bir mannoza bağlanmasıyla oluşmuştur (Palaniraj ve Jayaraman 2011), (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Ksantan gamin kimyasal yapısı

Ksantan gam, sıcak ve soğuk suda çözünebilir özelliktedir (Katzbauer 1998). Ksantan gamın; ilaç, deterjan, ziraat, kağıt gibi birçok alanda kullanılmasının yanı sıra gıda endüstrisinde de kullanım alanları oldukça fazladır. Örneğin; fırıncılıkta su bağlama ve

tekstürü geliştirme, içeceklerde kıvam arttırma amacıyla kullanılırken süt ürünlerinde sinerezisi önleyerek emülsiyon stabilizasyonunu sağlamaktadır (Palaniraj ve Jayaraman 2011). Ksantan gamın meyve suyu endüstrisinde durultma amacıyla kullanılmamasıyla birlikte literatürde de, ksantan gam kullanılarak meyve sularının durultulması ile ilgili sınırlı düzeyde çalışmaya rastlanmıştır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, “bayberry” sularında ksantan gam/kitosan uygulamasının toplam polifenol ve proteinlerin uzaklaştırılması açısından jelatin/bentonit uygulamasına kıyasla daha etkili olduğu ve ksantan gam/kitosan uygulamasında en az düzeyde bulanıklık olduğu görülmüştür (Fang vd. 2007).

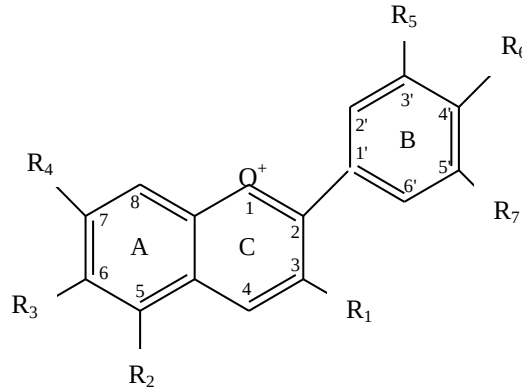
2.3 Antosiyaninler

Gıdaların rengi, tüketici beğenisi üzerinde etkili en önemli faktörlerden birisidir. Renk, gıdalarda sadece tüketici beğenisi açısından değil aynı zamanda üretimde kullanılan hammaddenin özellikleri, proses koşulları, depolama sıcaklık ve süresi gibi faktörler hakkında fikir verdiği için de önem taşır. Nar suyunun yoğun kırmızı-viole rengi önemli miktarda içerdiği antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle; aşağıda antosiyaninler ve antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler hakkında bilgi verilmiştir.

Antosiyaninler; meyve, sebze ve çiçeklere pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki kendilerine özgü çeşitli renklerini veren, suda çözünabilir nitelikteki doğal renk maddeleridir (Cemeroğlu vd. 2009). Antosiyaninler, doğada bitkiler aleminde bulunan en yaygın pigment gruplarından birisi olup, hemen hemen her meyvede daima az veya çok miktarda antosiyanin bulunmaktadır. Birçok çalışmada antosiyaninlerin insan sağlığı açısından çok yararlı bileşikler olduğu belirtilmiştir. Özellikle, nöronal hastalıklar, kalp-damar rahatsızlıkları ve şeker hastalığı (Konczak ve Zhang 2004) risklerini azaltıcı etkileri, anti-karsinojen etkileri (Wrolstad 2004) ve çeşitli kan dolaşım bozuklukları ile bazı göz hastalıklarında tedavi edici nitelikleri bulunduğu belirtilmektedir (Kırca 2004). Antosiyaninler; sağlığa yararlarının yanı sıra, işlenmiş gıdalarda lipid ve protein oksidasyonunu önleyerek besin değerini korumaktadır

(Kähkönen vd. 2001). Antosiyaninlerin bu işlevselliği; antioksidan özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

Polifenollerin flavonoid grubunda yer alan antosiyaninler, kimyasal olarak antosiyanidinlerin şekerlerle esterleşmiş formlarıdır. Nitekim yapıları, tıpkı flavonoidlerin tipik yapıları gibi $C_6C_3C_6$ karbon iskeleti ile karakterize edilmektedir. Antosiyanidinlerin (aglikonlar), dolayısı ile antosiyaninlerin, temel yapıtaşı flavilium katyonudur (2-fenilbenzopirillium). Yapıdaki aromatik halka (A), oksijen içeren bir heterosiklik halkaya (C) bağlanmış olup; bu heterosiklik halka da bir diğer aromatik halkaya (B) karbon-karbon bağıyla bağlanmıştır. Bununla birlikte, diğer flavonoidlerden farklı olarak, antosiyaninler görünür bölgedeki ışığı absorbe ederler. Şekil 2.6’da flavilium katyonunun kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.6 Flavilium katyonu

Antosiyaninler arasındaki temel farklılıklar; moleküle bağlı hidroksil gruplarının sayısı ve metilasyon derecesi, yapıya bağlı şekerlerin türü, sayısı ve bağlanma şekli ve bu şekerlere bağlı alifatik veya aromatik karboksilatların sayısı ve pozisyonundan kaynaklanmaktadır (Kong vd. 2003, Kırca 2004). Doğada farklı yapıda 500’den fazla antosiyanin (Andersen ve Jordheim 2006) ve 23 antosiyanidin (Kong vd. 2003, Rein 2005, Andersen ve Jordheim 2006) olduğu belirlenmiştir. Bitkisel dokularda en yaygın bulunan 6 antosiyanidin Çizelge 2.1’de, bazı meyvelerde bulunan başlıca antosiyaninler ise, Çizelge 2.2’de verilmiştir. Bu antosiyanidinlerin meyve ve sebzelerdeki dağılımı ise

şöyledir: Cy %50, Dp %12, Pg %12, Pn %12, Pt %7 ve Mv %7 (Castañeda-Ovando vd. 2009).

Çizelge 2.1 Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları (Castañeda-Ovando vd. 2009)

Antosiyanidin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Renk
Siyanidin (Cy)	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Turuncu-kırmızı
Pelargonidin (Pg)	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Turuncu
Peonidin (Pn)	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Turuncu-kırmızı
Delfinidin (Dp)	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Mavi-kırmızı
Petunidin (Pt)	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Mavi-kırmızı
Malvidin (Mv)	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Mavi-kırmızı

Antosiyanidinler, doğada her zaman glikozillenmiş halde yani antosiyanin halinde bulunmaktadır. Antosiyaninler, yapılarındaki şeker molekülü sayesinde antosiyanidinlere oranla suda daha iyi çözünür ve daha stabil özellikte olup; içerdikleri şeker molekülü sayısına göre sınıflandırılmaktadırlar (Rein 2005). Monoglikozit yapıdaki antosiyanin molekülüne bağlanan şeker molekülleri, genellikle 3. pozisyonda bulunan karbon atomundaki hidroksil grubuna bağlanmaktadır (Brouillard 1982). Bunun yanı sıra moleküle iki şekerin bağlandığı diglikozitlerde şeker molekülleri genellikle 3. ve 5. pozisyonlara, nadiren de 3. ve 7. pozisyonlara bağlanabileceği gibi her iki şeker molekülünün 3. pozisyonundaki hidroksil grubuna da bağlanabilmektedir. Bununla birlikte; şeker moleküllerinin 3'-, 4'- ve 5'- pozisyonlarına bağlanması da mümkündür (Rein 2005). Antosiyanidinlere yaygın olarak bağlanan monosakkarit yapısındaki şekerler, bulunuş sıklığına göre sırasıyla; glikoz, ramnoz, galaktoz, ksiloz ve arabinozdur (Jackman vd. 1987). Disakkarit ve trisakkaritlerden antosiyaninlerin yapısında en çok bulunanlar ise; rutinoz, sophoroz, sambubioz ve glikorutinozdur (De Ancos vd. 1999a).

Çizelge 2.2 Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler

Meyve	Çeşit	Antosiyanidinler ^{1, 2}	Kaynak
Yaban mersini (Blueberry)	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. cv. Rubel	Malvinidin (%51), delfinidin (%26) ve petunidin (%20) glikozitler	Lee vd. (2002)
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. cv. Rubel	Malvinidin-3-gal (%27.8), malvinidin-3-glu (%13.9), malvinidin-3-ara (%13.0), delfinidin-3-gal (%12.8), delfinidin-3-ara (%8.4), petunidin-3-gal (%5.3), petunidin-3-glu (%4.8), petunidin-3-ara (%4.6), delfinidin-3-glu (%4.4), siyanidin-3-gal (%2.0), siyanidin-ara (%1.1), peonidin-3-gal (%1.0), siyanidin-3-glu (%0.9)	Lee ve Wrolstad (2004)
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Malvinidin (%44), delfinidin (%30) ve petunidin (%23) glikozitler	Skrede vd. (2000)
Cranberry	<i>Vaccinium oxycoccus</i> L. (küçük, Norveç)	Peonidin-3-glu (%42), siyanidin-3-glu (%38)	Andersen (1989)
Ahududu (Raspberry)	<i>Rubus idaeus</i> L.	Siyanidin-3-sop (%40.5), siyanidin-3-glu (%44.9), siyanidin-3-glu (%0.6), pelargonidin-3-sop, siyanidin-3-rut, pelargonidin-3-glu	Withy vd. (1993)
Black raspberry	<i>Rubus occidentalis</i>	siyanidin-3-rut (%51.8), siyanidin-3-ksilorutinozit (%36.8), siyanidin-3-glu (%7.1), siyanidin-3-sambubioside (3.5), pelargonidin-3-rut (%0.8)	Tian vd. (2006)
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)
Böğürtlen (Blackberry)	<i>Rubus laciniatus</i> Willd., cv. Evergreen	Siyanidin-3-rut (%25), açillenmiş siyanidin türevleri (%24), siyanidin-3-glu (%19), ksiloz-siyanidin türevi (%9), siyanidin (%1)	Rommel vd. (1992)

Çizelge 2.2 Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler (devam)

Meyve	Çeşit	Antosiyanidinler ^{1,2}	Kaynak
Böğürtlen (Blackberry)	<i>Rubus laciniatus</i> , cv. Evergreen	Siyanidin-3-glu (%69.7), siyanidin-3-rut (%26.5), siyanidin-3-xly siyanidin-3-malglu (%1.1) siyanidin-3-oxlglu (%2.7)	Fan-Chiang ve Wrolstad (2005)
Siyah havuç (Black carrot)	<i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i> , cv. <i>atrorubens</i> Alef.	Siyanidin-3-xyl-glu-gal-fer (%51.8), siyanidin-3-xly-gal (%17.6), siyanidin-3-xyl-glu-gal-coum (%15.8), siyanidin-3-xly-glu-gal (%7.6), siyanidin-3-xyl-glu-gal-sin (%7.2)	Kammerer vd. (2007)
Mürver yemişi (Elderberry)	<i>Sambucus nigra</i> L.	Siyanidin-3-sam (%44.2), siyanidin-3-sam-5-glu (%36.4), siyanidin-3-glu (%15.7), siyanidin-3,5-diglu (%3.7)	Kammerer vd. (2007)
Kırmızı patates (Red-fleshed potato)	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Pelargonidin-3-sophoroz-5-glu (mono-açillenmiş pelargonidin türevi) (%80)	Rodriguez- Saona vd. (1999)
Vişne (Sour cherry)	<i>Prunus cerasus</i> L., cv. Montmorency	Siyanidin ve Peonidin glikozitler	Dekazos (1970)
Kiraz (Sweet cherry)	<i>Prunus avium</i> L., cv. Royal Ann	Siyanidin (%94) ve pelargonidin (%6) glikozitler	Chaovanalikit ve Wrolstad (2004)
	<i>Prunus avium</i> L., cv. Bing	Siyanidin (%98), pelargonidin (%0.9) ve peonidin (%1.3) glikozitler	Chaovanalikit ve Wrolstad (2004)
	<i>Prunus avium</i> L., cv. Rainier	Siyanidin (%97), pelargonidin (%2) ve peonidin (%1) glikozitler	Chaovanalikit ve Wrolstad (2004)
Kırmızı soğan (Red onion)	<i>Allium cepa</i> L.	Siyanidin ve peonidin glikozitler	Fuleki (1969)
Nar (Pomegranate)	<i>Punica granatum</i> L.	Siyanidin-3-glu, delfinidin-3-glu, siyanidin-3,5-diglu, delfinidin-3,5-diglu, pelargonidin-3-glu, pelargonidin-3,5-diglu	Due vd. (1975)
	<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)

Çizelge 2.2 Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler (devam)

Meyve	Çeşit	Antosiyanidinler ^{1,2}	Kaynak
Nar (Pomegranate)	<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)	Marti vd. (2001)
Kırmızı turp (Red radish)	<i>Raphanus sativus</i> L.	Pelargonidin-5-glu,3-sop (kafeik asit), pelargonidin-5-glu,3-sop (ferulik asit), pelargonidin-5-glu,3-sop (kafeik asit), pelargonidin-5-glu,3-sop (p-kum + fer + kaf), pelargonidin-5-glu,3-sop, pelargonidin glikozit, pelargonidin-5-glu,3-sop (p-kum + fer)	Fuleki (1969)
	<i>Raphanus sativus</i> L.	Pelargonidin türevleri; pg-3-soph-5-glu (p-kumarik asit yada ferulik asit), pg-3-soph-5-glu, pg-3-soph-5-glu (malonik + p-kumarik asit), pg-3-soph-5-glu (malonik + ferulik asit)	Rodriguez- Saona vd. (1999)

¹Antosiyanidinler en fazladan başlanarak gittikçe azalış sırasına göre verilmiştir.

²glu, glikozit; gal, galaktozit; ara, arabinozit; rut, rutinozit; malglu, malonilglikozit; glru, glikorutinozit; sop, sophorozit; xyl, ksilo; mal, malonik asit; fer, ferulik asit; sam, sambubioz; sin, sinapik asit; succ, sükinik asit; kum, kumarik asit; kaf, kafeik asit.

2.3.1 Antosiyaninlerin stabilitesini etkileyen faktörler

2.3.1.1 Yapısal faktörler

Antosiyaninler; özellikle sıcaklık, pH, oksijen, enzimler, ışık, askorbik asit, şekerler ve parçalanma ürünleri, kükürtdioksit gibi çeşitli faktörlerin etkisiyle parçalanarak kendilerine özgü renklerini kaybetmektedirler. Antosiyaninlerin bu faktörler karşısındaki stabilitesi; moleküldeki hidroksil ve metoksil gruplarının sayısı ve konumuna, konsantrasyona, kopigmentasyona ve açılasyon derecesine göre farklılıklar gösterebilmektedir.

Hidroksil ve metoksil gruplarının aglikon yapıdaki yer ve sayıları, antosiyaninlerin reaksiyonlardaki davranışlarını etkilemektedir. Ancak hidroksil ve metoksil gruplarının stabiliteyi nasıl etkilediği konusunda farklı düşünceler öne sürülmüştür. Brouillard'a (1982) göre genel olarak, hidroksilasyon derecesi arttıkça antosiyaninin stabilitesi azalırken, metoksil grupları sayısının artması stabiliteyi arttırmaktadır. Buna karşın Fleschhut vd. (2006), yapıdaki hidroksil veya metoksil grubu sayısının artmasıyla nötral ortamda aglikon stabilitesinin azaldığını bu nedenle en stabil antosiyanidinin pelargonidin olduğunu belirtmişlerdir. Diğer yandan Dao vd. (1998), aglikon yapının hidroksilasyon derecesindeki artışın antosiyanidini stabilize ettiğini, asitlendirilmiş metanol ortamında, delfinidinin siyanidine göre daha stabil olduğunu belirlemişlerdir. Hidroksil ve metoksil gruplarının sayısı antosiyaninin stabilitesinin yanında rengini de etkileyen önemli bir faktördür. Yapıdaki hidroksil grubu sayısı arttıkça, antosiyaninin rengi pembeden maviye doğru değişim göstermekte; metoksil grubu sayısının artışı ise tam tersi etki meydana getirmektedir (Rein 2005).

Antosiyaninler; yapılarındaki glikozil ünitesine ester bağıyla bağlanmış aromatik fenolik asit, alifatik dikarboksil asit ya da bunların kombinasyonu halindeki organik asitlerin bağlanmasıyla açillenmiş yapı kazanmaktadırlar. Moleküle bağlanan asitler çoğunlukla, monosakkaritin 6. pozisyonuna bağlanmakla birlikte açil gruplarının 2., 3. ve 4. pozisyonlarda yer alabileceği de gösterilmiştir (Cabrita 1999). Antosiyaninlere bağlanan en yaygın fenolik asitler; hidroksisinamik asitlerden *p*-kumarik, ferulik, kafeik ve sinapik asitlerle hidroksibenzoik asitlerden gallik asit, en yaygın alifatik asitler ise; malonik, asetik, malik, süksinik ve okzalik asitlerdir (Francis 1989, Bruneton 1995, Cabrita 1999). Bu açil grupları çoğunlukla antosiyaninin C halkasındaki 3. karbon atomuna bağlanan şeker molekülünün 6-OH ya da daha az sıklıkla 4-OH grubuyla esterleşmiştir.

Antosiyaninlerin aglikon yapılarında yer alan glikozil birimleri ve açil grupları, antosiyanin molekülünün stabilitesi ve reaktivitesi üzerine son derece etkilidir. Nitekim aromatik asitlerle di- veya poli-açillenmiş flavilium katyonlarının, pH değeri 5'in üzerindeki ortamlarda bile renk kaybına uğramadığı ve dolayısıyla açillenmemiş olanlardan daha yüksek stabilite gösterdiği saptanmıştır (Giusti ve Wrolstad 2003). Yine

kükürtle renkleri ağartılan kokteyl kirazlar, kırmızı turptan (red radish) elde edilen ekstraktla boyanmış ve bu işlemin sonunda yüksek renk ve pigment stabilitesine ulaşılmıştır (Giusti ve Wrolstad 1996). Bu sonuç, kırmızı turpta bulunan pelargonidin-3-soforit-5-glikozit'in *p*-kumarik, ferulik ve malonik asitle açılmasından kaynaklanmasıyla açıklanmaktadır.

Glikozil biriminin tipi ve antosiyanin molekülündeki konumu da antosiyaninin stabilitesi üzerine etkili bir diğer faktördür. Örneğin; 3. karbondaki glikozilasyon, antosiyaninlerin stabilitesini arttırmakta ve aynı zamanda bu bağlanma ile antosiyaninlerin sudaki çözünürlüğü de artmaktadır (Jackman vd. 1987). Buna karşın; 5. karbondaki glikozilasyon, antosiyaninlerin stabilitesini azaltmaktadır. Bu konuda yapılan bir çalışmada; siyah havuç, kırmızı lahana, patates, çilekçillerden mürver yemişi (elderberry) ve böğürtlendeki (blackberry) siyanidinlerin sinamik asitle yaptıkları açılmanın antosiyaninlerin stabilitesini arttırdığı, buna karşın 5. karbon grubundaki glikozilasyonun ise, antosiyaninlerin stabilitesini azalttığı saptanmıştır (Stintzing vd. 2002). Yine Leon vd. (1931) tarafından yapılan bir çalışmada da; pelargonidinin izomerik β -glikozitlerinde C-3 pozisyonundaki glikozilasyonun 5-, 7- ve 4'-glikozitlerine göre daha stabil olduğu belirlenmiştir. Glikozil biriminin tipinin antosiyanin stabilitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise; "cranberry" antosiyaninlerinden, yapısında galaktoz bulunduranların arabinoz bulunduranlara göre depolama süresince stabilitelerinin daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (Starr ve Francis 1968). Diglikozilasyonun da, monoglikozilasyona göre antosiyaninlerin stabilitesini arttırdığı bildirilmektedir (Mazza ve Miniati 1993). Bu konuda yapılan bir çalışmada; bir diglikozit olan sambubioz içeren antosiyaninlerin, yapısında glikoz barındıranlara göre daha stabil olduğu saptanmıştır (Broennum-Hansen ve Flink 1985).

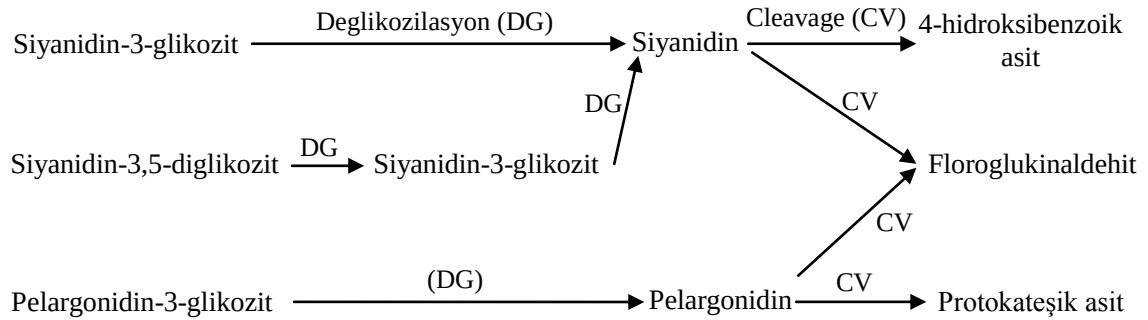
2.3.1.2 Diğer faktörler

Birçok gıda bileşeninde gözlendiği gibi antosiyaninler de çeşitli faktörlerin etkisiyle parçalanarak kendilerine özgü pembe-mavi renklerini kaybetmektedirler. Bu durum antosiyaninlerin yapıtaşları olan flavilium katyonunun C halkasının doymamış yapıda

olması ve dolayısı ile reaktivitesinin çok fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Bunun sonucunda, antosiyaninler kolaylıkla reaksiyona girerek parçalanmaktadırlar. Kimyasal yapı dışında, antosiyaninlerin stabilitesi üzerine etkili faktörlerin başlıcaları; sıcaklık, pH, oksijen, askorbik asit, hidrojen peroksit, kükürtdioksit, konsantrasyon, kopigmentasyon, enzimler, şekerler ve parçalanma ürünleri, metal iyonları ve ışıktır.

Sıcaklık

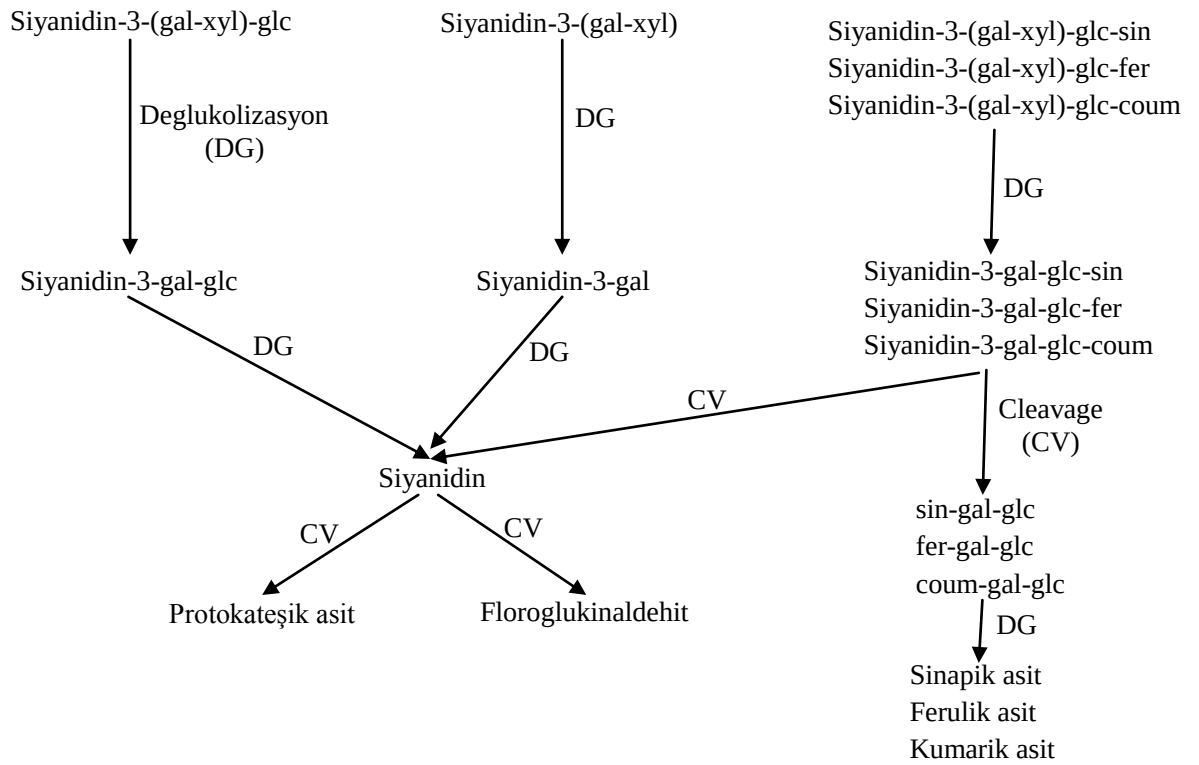
Antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan en önemli faktör sıcaklıktır. Gerek ürünün işlenmesi gerekse de depolanması süresince uygulanan yüksek sıcaklık, antosiyaninlerde mutlaka parçalanmaya neden olmaktadır. Doğada en yaygın bulunan açillenmemiş antosiyaninlerden bazılarının termal parçalanmasına ait mekanizmalar Şekil 2.7 ve açillenmiş olanlara ait mekanizmalar da Şekil 2.8’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Açillenmemiş bazı antosiyaninlerin termal parçalanma mekanizmaları
(Sadilova vd. 2006, Patras vd. 2010)

Özellikle meyve bazlı ürünlerin ısıtılması ve depolanması sırasında sıcaklığın antosiyaninler üzerine olumsuz etkisi yapılan birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Antosiyaninlerin termal degradasyonu (parçalanması); vişne suyu ve konsantrelerinde (Cemeroğlu vd. 1994b), kan portakalı suyu ve konsantrelerinde (Kırca ve Cemeroğlu 2003), yaban mersini (blueberry) sularında (Kechinski vd. 2010) ortaya konulmuştur. Bu ürünlerde, proses sıcaklığındaki her 10°C’lik artış, antosiyaninlerin parçalanma hızını 1.3–4.1 kat arttırmıştır. Antosiyaninlerin depolama süresince parçalanması; vişne

suyu konsantrelerinde (Işık 1993, Asefi 1995), ahududu (raspberry) suyu konsantrelerinde (Withy vd. 1993), nar suyu konsantrelerinde (Asefi 1995, Turfan vd. 2012), kan portakalı konsantrelerinde (Kırca ve Cemeroğlu 2003), siyah havuç suyu konsantrelerinde (Kırca vd. 2006, Türkyılmaz ve Özkan 2012) ve çilek reçellerinde (García-Viguera vd. 1999) ortaya konulmuştur. Yapılan bu çalışmalar, depolama sıcaklığındaki her 10°C’lik artışın, antosiyaninlerin parçalanma hızını 2–3 misli arttırdığını göstermektedir.



Şekil 2.8 Açillenmiş bazı antosiyaninlerin termal parçalanma mekanizmaları (Sadilova vd. 2006)

Asefi (1995), sıcaklığın antosiyaninler üzerine etkisini, vişne suyu konsantrelerini iki farklı sıcaklıkta depolayarak ortaya koymuştur. Bu çalışmada, vişne suyu konsantreleri –18°C’de 6 ay ve +20°C’de 44 gün süreyle depolanmış ve bu süreler sonunda toplam monomerik antosiyanin içeriğinde sırasıyla %4 ve %59 düzeyinde kayıp saptanmıştır. Aynı araştırmacının nar suyu konsantrelerinde yaptığı çalışmada, –18°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinde (70°Briks) 6 ay depolama sonunda antosiyanin kaybı %11

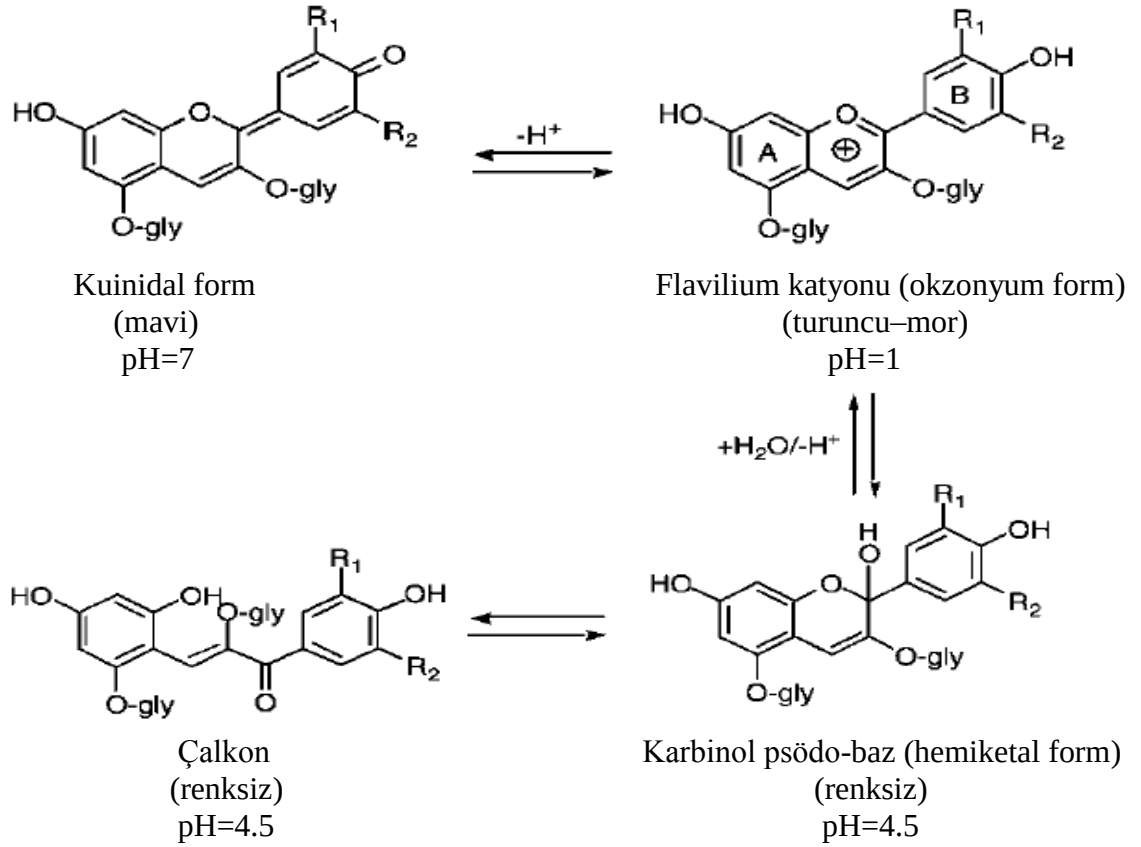
düzeyinde gerçekleşirken, 20°C’de 27 gün depolama sonunda %65 kayıp olduğu saptanmıştır. Siyah havuç suyu konsantrelerinin –23°C’de yaklaşık 1 yıl süreyle depolanması sonunda toplam antosiyanin miktarında önemli bir değişim gözlenmezken (%2), aynı örneğin 30°C’de üstelik 53 gün gibi kısa bir süre depolanması sonunda, %63 oranında bir kayıp saptanmıştır (Türkyılmaz ve Özkan 2012). Yine Turfan vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada da, durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin –23°C sıcaklıkta yaklaşık 1 yıl süreyle depolanması sonucunda toplam antosiyanin miktarı %7 azalırken, 20°C’de 73 gün depolama sonunda %83 oranında bir azalma olduğu gözlenmiştir. Rekonstitüsyonla elde edilen nar sularının 4°, 20° ve 37°C sıcaklıklarda 210 gün süreyle depolanması sonucunda antosiyanin miktarlarında sırasıyla %72, %91 ve %97 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Alighourchi ve Barzegar 2009).

Antosiyaninler üzerine sıcaklığın etkisinin gösterildiği çalışmalardan bir diğerinde, ahududu suyu konsantreleri –20°C ve +20°C sıcaklıklarda 3 ay süreyle depolanmış ve bu süre sonunda toplam monomerik antosiyanin içeriğinde sırasıyla %3.1 ve %80.4 düzeyinde kayıp saptanmıştır (Withy vd. 1993). Araştırmacılar, aynı zamanda siyanidin-3-glikozit’in diğer antosiyaninlere göre çok daha reaktif olduğunu ve bu nedenle de bu antosiyaninin, depolama süresince hızlı bir şekilde polimerize olması sonucunda ürünün renginin hızla bozulabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca antosiyaninlerin termal parçalanması; yaban mersini (blueberry) sularında da belirlenmiş; meyve sularının ısıtılmasında uygulanan sıcaklık 40°C’den 80°C’ye yükseltildiğinde yarı ömür süresinin ($t_{1/2}$), 180.5 h’ten 5.1 h’e düştüğü belirlenmiştir (Kechinski vd. 2010). Başka bir deyişle yaban mersini antosiyaninlerinin 40°C’deki yarı ömür süresinin 80°C’dekinin 35.4 katı olduğu saptanmıştır.

pH

Ortamın fizikokimyasal özelliklerinden, antosiyaninlerin renk tonu, yoğunluğu ve stabilitesi üzerine en etkili olanlarından biri, pH’dır. Antosiyaninler, asidik ortamlarda bazik ortamlarda olduğundan daha stabildir. Antosiyaninler, ortam pH’sına bağlı olarak

farklı kimyasal formlarda bulunur, adeta bir indikatör gibi renk değiştirirler (Rein 2005, Cemeroğlu vd. 2009, Castañeda-Ovando vd. 2009). pH'nın antosiyaninler üzerine etkisi Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9 Ortam pH'sının antosiyaninlerin rengi üzerine etkisi (Wrolstad 2004)

Şekil 2.9'a göre, asidik sulu çözeltilerde, antosiyaninler kuinidal baz (A), flavilium katyonu (okzonyum formu; AH^+), karbinol veya psödobaz (hemiketal form; B) ve çalkon (C) olmak üzere 4 formda ve denge halinde bulunmaktadır. Düşük pH derecelerinde ($pH < 2$) ortamda rengi kırmızı olan okzonyum iyonu baskın olarak bulunmaktadır. Ortam pH'sı arttıkça, flavilium katyonunun konsantrasyonu ile birlikte renk yoğunluğu azalırken, renksiz hemiketal form miktarı artmaktadır. Hemiketal form, pH 4–5 arasında maksimum konsantrasyona ulaşmaktadır. Hemiketal formun oluşumunda, su molekülleri antosiyanin molekülünün C halkasında bulunan 2. karbon atomuna nükleofilik bir atak yaparak halkanın açılmasına neden olmaktadır (Rein

2005). Aynı pH aralığında (4–5), hemiketal form renksiz veya açık sarı renkli çalkon formuyla da denge halinde bulunmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Ortam pH'sı 5'in üzerine çıktığında; flavilium katyonu proton kaybetmekte, kuinidal form oluşmaya başlamakta ve pH 7–8 arasında bu form ortamda baskın olarak bulunmaktadır. Kuinidal formun rengi mavidir. pH 8'in üzerinde, ortamda yeniden renksiz hemiketal form oluşmaya başlamaktadır. pH 7'nin üzerine çıktığında ise, antosiyaninlerde parçalanma meydana gelmektedir (Şekil 2.9). Nitekim, Kırca vd. (2007) sıcaklığı 70°C olan ortamda; pH'nın 2.5'ten 7'ye çıkmasıyla, siyah havuç antosiyaninlerinin parçalanmasına ilişkin k hız sabitinin 2 kat arttığını saptamışlardır. Antosiyanin stabilitesi üzerine pH'nın etkisini araştırmak amacıyla yapılan diğer çalışmalarda; bazik pH ortamında (pH 8–9), bazı antosiyaninlerin renk yoğunluğunda önemli düzeyde artış gözlenmezken, renk stabilitesinin belirgin bir artış gösterdiği saptanmıştır (Fossen vd. 1998, Cabrita vd. 2000).

Oksijen

Antosiyaninlerin stabilitesi üzerine etkili en önemli faktörlerden biri de oksijendir. Ortamdaki oksijen, antosiyanin parçalanmasına neden olan birçok reaksiyonda rol aldığı için stabilite açısından son derece önem taşımaktadır. Nebesky vd. (1949), oksijen bulunan bir ortamda ortam sıcaklığının yükselmesinin; çeşitli üzüksü meyvelerden elde edilen meyve sularında ve çeşitli kaynaklardan izole edilmiş antosiyaninlerdeki renk değişimlerinde en çok etkisi olan kombinasyon olduğunu bildirmişlerdir (Rein 2005).

Oksijenin antosiyaninler üzerindeki yıkıcı etkisi doğrudan oksidatif mekanizma ile olabildiği gibi, ortamdaki okside bileşiklerin antosiyaninlerle interaksiyonu sonucunda renksiz veya kahverengi ürünler oluşturması yoluyla da gerçekleşebilmektedir (Jackman vd. 1987). Örneğin; oksijen varlığında polifenoloksidaz (PPO); klorojenik asidin klorojen-o-kinona oksidasyonunu katalize etmekte ve oluşan bu bileşik de antosiyaninlerle reaksiyona girerek esmer renk oluşumuna neden olmaktadır (Kader vd. 1999). Kader vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada; pelargonidin-3-glikozidin, ortamdaki o-kinonlarla ve/veya kinonların oksidasyonu sonucu oluşan ikincil ürünlerle

reaksiyona girerek parçalandığı saptanmıştır. Bununla birlikte; yapılan diğer çalışmalarla, pH değişimleri veya ışık etkisinin yanı sıra ortamda oksijen de bulunduğunda antosiyanin degradasyonunun hızlandığı belirlenmiştir (Attoe ve Von Elbe 1981, Markakis 1982). Oksijen, antosiyaninler üzerinde, doğrudan veya dolaylı olarak parçalayıcı etki göstermekte; sonuç olarak, ortamda bulunan antosiyaninlerin rengi ağarmakta veya kahverengi ürünler oluşmaktadır (Jackman vd. 1987).

Askorbik asit

Meyve sularına zenginleştirme amacıyla askorbik asit eklenmesi, ürünü oksidasyona karşı korumak ve besleyici değerini arttırmak amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Rein 2005). Ancak ortamda askorbik asit bulunmasının, antosiyanin parçalanmasını ve polimerik renk oluşumunu arttırıcı ve renk ağartıcı etki gösterdiği birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Poei-Langston ve Wrolstad 1981, Marti vd. 2001, Özkan 2002). Örneğin; Özkan (2002) tarafından yapılan bir çalışmada; vişne sularına zenginleştirme amacıyla eklenen askorbik asidin, antosiyaninlerin parçalanma hızını önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır. Askorbik asit antosiyaninler üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olmakla birlikte, askorbik asit oksidasyonu sonucunda açığa çıkan hidrojen peroksit (H_2O_2) de antosiyanin stabilitesini olumsuz etkilemektedir. Kader vd. (2002), yaban mersini (blueberry) suyuna H_2O_2 eklenmesi sonucunda antosiyaninlerde parçalanma meydana geldiğini; kırmızı renk yoğunluğunun belirlendiği 520 nm dalga boyundaki absorbans azalırken, antosiyanin oksidasyonu sonucu oluşan parçalanma ürünlerinden kaynaklanan kahverengi rengin ölçüldüğü 380–420 nm dalga boyundaki absorbans değerinde artış görüldüğünü belirlemişlerdir. Starr ve Francis (1968), oksijen varlığında askorbik asidin “cranberry” sularında antosiyanin stabilitesinin azalmasına neden olduğunu saptamışlardır. Çalışmada ayrıca; termal parçalanmada olduğunun aksine, oksijen ve askorbik asit kombinasyonunun neden olduğu parçalanma reaksiyonunda “cranberry” antosiyaninlerinden galaktozidlerin arabinozidlere göre daha stabil olduğu gözlenmiştir.

Kükürtdioksit

Kükürtdioksit (SO_2) düşük konsantrasyonlarda ($<2000 \text{ mg kg}^{-1}$) "antosiyenin-bisülfid" kompleksi oluşturarak antosiyeninleri stabilize etmektedir (Jackman vd. 1987). Daha önceleri SO_2 , antosiyenin içeren meyvelerin işlenmeden önce muhafaza edilmesinde kullanılmaktaydı. Ancak, gerek SO_2 'in solunum yolu hastalıklarını tetiklemesi gerekse de dondurarak muhafaza tekniğinin yaygınlaşması ile günümüzde artık bu amaçla SO_2 kullanılmamaktadır. Buna karşın; seyreltik SO_2 çözeltisi, üzüm posasından antosiyeninlerin ekstraksiyonunda halen kullanılmaktadır. SO_2 'in antosiyeninler üzerine etkisi, uygulandığı konsantrasyona bağlı olarak geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olabilmektedir (Cemeroğlu vd. 2009). SO_2 miktarı 2000 mg kg^{-1} 'in altındaysa, desülfirizasyon işlemi (asitlendirme + ısıtma) ile SO_2 yapıdan uzaklaştırılarak antosiyeninlerin kendine özgü rengini alması sağlanabilmektedir. Yüksek konsantrasyonda ($>10,000 \text{ mg kg}^{-1}$) ise; SO_2 , antosiyeninleri geri dönüşsüz olarak parçalamaktadır. Bu özelliği sayesinde SO_2 , dekoratif amaçla kullanılan kirazların renginin ağartılmasında kullanılmaktadır. Üzüm ekstraktlarının SO_2 'in ağartıcı etkisi karşısında stabil kaldığı belirlenmiştir (Bridle ve Timberlake 1996). Aynı zamanda; Abdel-Aal ve Hucl (2003) tarafından yapılan çalışmada; mavi buğdayın (blue wheat) ısıtılması süresince SO_2 eklenmesinin kontrol örneklerine göre antosiyeninlerin stabilitesini arttırdığı saptanmıştır.

Konsantrasyon

Antosiyeninlerin ortamdaki konsantrasyonunun artması hem renk stabilitesi hem de yoğunluğunda artış sağlamaktadır (Giusti ve Wrolstad 2003). Nitekim, çilek şerbetinde renk stabilitesi üzerine artan antosiyenin konsantrasyonunun, ortamda farklı antosiyeninlerin bulunmasından daha etkili olduğu belirtilmiştir (Skrede vd. 1992). Bir başka çalışmada ise; antosiyenin konsantrasyonundaki 100 kat artışın renk yoğunluğunu 300 kat arttırdığı saptanmıştır (Asen vd. 1972).

Kopigmentasyon

Antosiyaninlerin stabilitesini arttıran önemli bir etken de kopigmentasyondur. Antosiyaninler, pH 4–5 arasında renksiz karbinol bazı formunda bulunduklarına göre, bitki vakuollerinde bulunan serbest antosiyaninlerin, zayıf asidik pH koşullarının hakim olduğu ortamlarda renksiz olmaları ve meyve ve sebzelere renk vermemeleri beklenmektedir. Ancak antosiyaninler doğada renkli halde bulunmaktadırlar ve bu durum, ortamda bulunan bazı maddelerin antosiyaninleri stabilize etmeleri ile açıklanmaktadır (Rein 2005). Antosiyaninlerle kompleks oluşturarak, stabil ve daha yoğun renkli bileşik oluşturan bu maddeler “kopigment” olarak adlandırılmaktadır. Kopigmentasyon hem renk yoğunluğunu arttırmakta (hyperchromic effect) hem de antosiyaninlerin görünür bölgedeki maksimum absorbans gösterdikleri dalga boyunun ($\lambda_{\max}$) artmasına (bathochromic effect, “blueing” effect) neden olmaktadır (Turfan 2008). Kopigment olarak davranan maddelerin başında flavonoidler gelmekle birlikte alkaloidler, amino asitler, nükleotidler ve hatta bizzat antosiyaninler de kopigment olarak antosiyaninlerle kompleks oluşturabilmektedirler (Cemeroğlu vd. 2009). Kopigmentasyon; moleküller içi, moleküller arası, self-association ve metal kompleksi olmak üzere farklı mekanizmalarla meydana gelmektedir. Kopigmentasyon reaksiyonları üzerine; pH, sıcaklık, konsantrasyon ve molekül yapısı gibi faktörler etkilidir (Rein 2005). Örneğin; kopigment konsantrasyonunun artışı ile kopigmentasyon etkisinde artış görülmesine rağmen (Scheffeldt ve Hrazdina 1978), sıcaklığın artışı kopigmentasyonu engellemektedir (Wilska-Jeszka ve Korzuchowska 1996). Asen (1976); kopigmentasyon reaksiyonunun gerçekleşmesi için ortamdaki antosiyanin konsantrasyonunun $3.5 \times 10^{-5} M$ ’ın üzerinde olması gerektiğini, bunun yanı sıra kopigment konsantrasyonunun da kritik öneme sahip olduğunu belirtmiştir. Bu konuyla ilgili bir başka çalışmada; çilek sularının renk yoğunluğunun, ortama ilave edilen kopigment miktarı arttıkça doğrusal olarak arttığı saptanmıştır (Wilska-Jeszka ve Korzuchowska 1996). Kopigmentasyon etkisi; flavilium katyonunun hakim olduğu düşük pH derecelerinde, kuinidal formun hakim olduğu pH 2–5 aralığına göre daha zayıftır (Williams ve Hrazdina 1979).

Enzimler

Enzimler, antosiyaninlerin parçalanmasına neden olan diğer bir etkidir. Antosiyanin degradasyonuna neden olan, bilinen en yaygın enzimler glikozidazlardır. Bu enzimler, antosiyanidin ile şeker arasında bulunan kovalent bağı parçalayarak stabil olmayan antosiyanidinlerin kendiliğinden renksiz bileşiklere dönüşmesine neden olmaktadır. Peroksidazlar ve fenolazlar (örneğin; polifenoloksidazlar), meyvelerde doğal olarak bulunan ve aynı zamanda antosiyanin parçalanmasına neden olan diğer enzimlerdir (Pifferi ve Cultera 1974, Kader vd. 1997). Peroksidaz (POD) enziminin antosiyaninleri dolaylı olarak parçaladığı saptanmıştır (Kader vd. 2002). POD enzimi aktivite gösterebilmek için mutlaka H_2O_2 'e gereksinim duymakta ve sağlıklı bir bitkisel hücrede H_2O_2 konsantrasyonu düşük olduğu için antosiyaninlerin POD enzimi ile parçalanma reaksiyonu gerçekleşmemektedir. Ancak çeşitli nedenlerle ortama H_2O_2 eklendiğinde, POD enzimi de polifenollerini okside ederek o-kinonları oluşturmakta ve oluşan o-kinonlar da antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. Ortama klorojenik asit gibi reaktivitesi yüksek bir polifenol ilave edildiğinde ise, POD enzimi H_2O_2 'i elektron kaynağı olarak kullanarak klorojenik asitten o-kinonları oluşturmakta ve sonuçta hem antosiyaninler parçalanmakta hem de esmerleşme hızı artmaktadır (Türkyılmaz 2009). Antosiyaninlerin oksidasyonunda özellikle fenolazlar rol oynasalar da, antosiyaninlerin bu enzimler için zayıf bir substrat niteliğinde olduğu ileri sürülmektedir (Pifferi ve Cultera 1974, Markakis 1982). Nitekim; fenolazlar, antosiyaninlerin renklerinde dolaylı olarak kayıplara neden olmaktadır. Bu durum yukarıda da değinildiği gibi antosiyaninlerin, polifenol oksidazların polifenollerini okside ederek oluşturduğu aktif o-kinonlarla reaksiyona girmeleri sonucu meydana gelmektedir (Von Elbe ve Schwartz 1996). Yapılan çalışmalar; pelargonidin-3-glikozit (Kader vd. 2001) ve siyanidin-3-glikozit (Kader vd. 1999) gibi saf antosiyaninlerin kullanıldığı model sistemlerde ve üzüksü meyvelerden elde edilen ürünlerde (Skrede vd. 2000, Kader vd. 2002) söz konusu enzimlerin antosiyaninleri dolaylı olarak parçaladığını göstermiştir.

Şekerler ve parçalanma ürünleri

Ortamda bulunan şekerler ve parçalanma ürünlerinin de antosiyaninlerin parçalanma hızlarını arttırdığı saptanmıştır. Özellikle şekerlerin parçalanması ile oluşan furfural ve hidroksimetilfurfuralın (HMF), antosiyaninlerin parçalanmasında önemli rolleri olduğu bildirilmektedir (Debicki-Pospisil vd. 1983). Daravingas ve Cain (1968); sakkaroz, fruktoz, glikoz ve ksilozun antosiyanin degradasyonunu arttırdığını saptamıştır. Ayrıca; antosiyanin degradasyonu üzerine, şekerlerin parçalanma ürünlerinin şekerlerden (Daravingas ve Cain 1968); bu ürünlerden ise, furfuralın hidroksimetilfurfuraldan daha etkin olduğu gösterilmiştir (Meschter 1953). Bu çalışmalardan farklı olarak, şekerlerin bazı ürünlerde antosiyaninleri parçalanmaktan koruduğu da belirlenmiştir. Dondurulmuş çileklerle yapılan bir çalışmaya göre sakkaroz, dondurarak depolama boyunca antosiyaninleri; parçalanmadan, esmerleşmeden ve polimerik renk oluşumundan korumaktadır. Bu sonuç, sakkarozun enzimatik reaksiyonları inhibe etmesi ve farklı kondenzasyon (condensation) reaksiyonlarını engellemesi ile açıklanmaktadır (Wrolstad vd. 1990). Ayrıca, şekerlerin ortamdaki su aktivitesini düşürerek antosiyaninleri parçalanmaktan koruduğu da ortaya konulan diğer bir sonuçtur (De Ancos vd. 1999b).

Işık

Işık, bitkilerde antosiyanin sentezinde önemli rol oynamaktadır. Ancak bitkisel ürünlerin gerek depolanması gerekse de yeni ürünlere işlenmesi sonucu elde edilen ürünlerin ışığa maruz kalması antosiyaninlerin parçalanma hızlarını arttırmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Furtado vd. (1993); son üründe antosiyaninlerinin parçalanması üzerine ışığın, sıcaklık kadar etkili olduğunu saptamıştır. Kearsley ve Rodriguez (1981), antosiyaninlerin karanlık ortamda renklerini daha iyi koruduklarını; 24 h'te bile oda sıcaklığında ve pH'sı 2.3 olan ortamda ışığa maruz kalan antosiyaninlerle karanlıktakiler arasında belirgin farklar oluştuğunu bildirmişlerdir.

Metaller

Bazı antosiyaninler; demir, alüminyum, bakır, kalay, magnezyum ve potasyum gibi metal iyonlarıyla kompleks oluşturarak yeni bir yapı kazanmakta ve renkleri kırmızıdan stabil mavi renge dönüşmektedir (Starr ve Francis 1974, Markakis 1982). Sadece B halkasında birden fazla serbest hidroksil grubu içeren siyanidin, delfinidin ve petunidin bazlı antosiyaninler, metallerle kompleks oluşturmaktadır (Osawa 1982). Antosiyaninlerin metallerle reaksiyona girerek parçalanmasıyla renksiz bileşiklerin oluşumu özellikle konserve ürünlerde görülmektedir. Nitekim, kalay içeren konserve kutularda, antosiyaninler anodik veya katodik depolarizer olarak davranabilmekte ve bunun sonucunda da antosiyaninler kendilerine özgü renklerini kaybetmektedirler (Adams 1973). Anodik depolarizer olarak kalaylı tenekelerde, B halkasında serbest o-dihidroksi grup içeren antosiyaninler, korozyon sonucu serbest hale geçen kalayla reaksiyona girmekte ve viole renkli bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır. Kalayın antosiyaninlerle kompleks oluşturması, antosiyaninlerin konserve içinde bulunan asitlerle hidroliz hızını arttırmaktadır. Diğer taraftan antosiyaninler, katodik depolarizer olarak da davranabilmekte ve korozyon sonucu oluşan hidrojen iyonları ile reaksiyona girerek de parçalanabilmektedirler (Adams 1973).

2.4 Polifenoller ve Antioksidan Aktivite

Son yıllarda nar suyuna olan ilgi, antioksidan etkileri dolayısıyla, özellikle kalp-damar hastalıkları ve kanser gibi kronik hastalıkları önleyici etki gösteren polifenollerce zengin olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle; bu bölümde polifenoller ve antioksidan aktivitelerine ilişkin bilgilere değinilmiştir.

Bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubunun bağlandığı bir benzen halkası içeren bileşikler “polifenoller” olarak adlandırılmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Polifenollerin birçoğu meyve ve sebzelerde lezzet ve burukluk oluşumunda rol oynarken, bazıları da kendilerine özgü renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Bunlara ek olarak; birçok polifenol, enzimatik esmerleşme reaksiyonlarında substrat olmakta ve berrak meyve

suyu ve şaraplarda bulanıklık ve tortu oluşumunda rol almaktadırlar. Bu nedenle polifenoller; meyve ve sebzelerin işlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Ayrıca polifenollerin; gösterdikleri antioksidan etki nedeniyle kalp-damar hastalıkları, kanser, diyabet gibi kronik hastalıkları önleyici etki gösterdiği, antimutajen özellik taşıdığı ve yaşlanmayı geciktirdiği düşünülmektedir.

Gıda ürünlerinin antioksidan aktivitesi; ham maddenin yetiştirilmesi, işlenmesi, elde edilen ürünün ambalajlanması ve depolanması sırasındaki koşullara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Nicoli vd. (1999), gıdaların antioksidan aktivite düzeyindeki değişikliklerin; polifenol kayıpları, antioksidan aktivite gösteren bileşenlerin diğer gıda bileşenleriyle interaksyonu veya Maillard veya diğer reaksiyonlar sonucunda yeni bileşiklerin oluşması sonucunda meydana gelebileceğini belirtmiştir.

Canlıların yaşamsal faaliyetleri için ihtiyaçları olan enerji elde edilirken glikoz ve yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda reaktif oksijen türleri (ROS, **R**eactive **O**xygen **S**pecies) oluşmaktadır. Yapısında oksijen içeren bu serbest radikaller, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok kronik hastalığa neden olmaktadır. Serbest radikaller ayrıca yaşlanma, diyabet, bağışıklık sistemi bozukluğu (otoimmün) ve parkinson, alzheimer gibi sinir sistemine yönelik hastalıkların oluşumunda da etkili olmaktadır (Ratnam vd. 2006). Gıdalarda bulunan reaktif oksijen türleri Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.3 Reaktif oksijen türleri (Cemeroğlu vd. 2009)

Radikal bileşikler		Radikal olmayan bileşikler	
(O ^{•-} ₂)	süperoksit anyon	H ₂ O ₂	hidrojen peroksit
(HO•)	hidroksil radikali	O ₂	singlet oksijen
(RO•)	alkoksi radikali	O ₃	Ozon
(HOO•)	hidroperoksi radikali		
(ROO•)	peroksi radikali		

Lipitlerin oksidasyonu; başlangıç (initiation), gelişme (propagation) ve sonuç (termination) olarak adlandırılan üç aşamada gerçekleşmektedir. Başlangıçta; alkil, alkoksi ve peroksi radikalleri oluşurken (Jadhav vd. 1996); gelişme aşamasında, oksijenin moleküler formda bağlanmasıyla aktif peroksi radikaller ve hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla peroksitler oluşmaktadır (Gordon 2000). Sonuç aşamasında ise, doymamış yağların miktarındaki azalma sonucunda, radikaller birbirlerine bağlanarak radikal olmayan stabil ürünler oluşmaktadır (Jadhav vd. 1996). ROS, doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipitlerin peroksidasyonuna ve protein ve DNA'ların (Deoksiribonükleik asit; **Deoxyribonucleic acid**) zarar görmesine neden olarak hücreyi inaktive etmektedirler (Murthy vd. 2002). Antioksidanlar ise, oksidasyon reaksiyonlarını başlangıç (primer antioksidanlar) veya gelişme (ikincil antioksidanlar) aşamasında engellemekte veya geciktirmektedirler (Apaydın 2008). Bu nedenle hücrelerdeki lipit peroksidasyonunu önleyen doğal antioksidanlar giderek önem kazanmaktadır.

Meyve ve sebzelerde bulunan antioksidan özellikteki başlıca bileşikler; polifenoller, karotenoidler, askorbik asit ve E vitamindir. Bu bileşiklerin antioksidan özellikleri, okside olabilir çift bağ formunda veya hidroksil grupları formunda elektronca zengin yapılarından kaynaklanmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Bunlardan; askorbik asit, E vitamini ve karotenoidler oksijenin reaktif formlarını inaktive ederek; polifenoller ise, serbest radikalleri bağlayarak, metallerle kelat oluşturarak ve lipoksigenaz enzimini inaktive ederek antioksidan etki göstermektedir (Frankel 1999).

Polifenoller arasında antioksidan aktivite gösteren bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler ve fenolik diterpenlerdir. Fenolik asitlerden kafeik asit esterlerinin (örneğin klorojenik asit) yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Koca ve Karadeniz 2005). İçinde flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler ve antosiyaninlerin yer aldığı flavonoidlerin de önemli ölçüde antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Gorinstein vd. 2004). Antosiyaninlerin antioksidan aktivitedeki payı çok sınırlı olmakla birlikte (Tezcan vd. 2009) yine flavonoidler grubunda yer alan, bitkilerde yaygın olarak bulunan kateşinler ve kateşinlerin polimerizasyonu sonucunda oluşan prosiyanidinlerin yanı sıra hidrolize olabilen

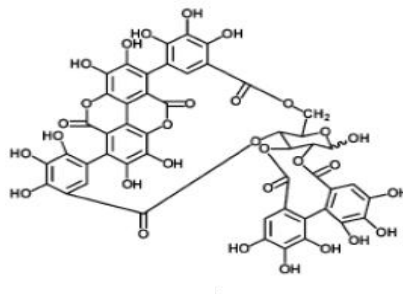
tanenler (elajitanenler ve gallotanenler) de önemli antioksidanların başında gelmektedir. Bu bileşiklerin, yapılarındaki hidroksil gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Miller ve Rice-Evans 1997). Polifenollerin antioksidan etki gösterebilmeleri için gerekli iki koşul vardır (Rice-Evans vd. 1996). Öncelikle, söz konusu polifenol, ortamda oksidasyonunu önleyeceği maddeden daha düşük konsantrasyonda bulunduğunda bile otooksidasyon veya serbest radikaller tarafından başlatılan oksidasyonu önlemeli ya da geciktirmelidir. Son olarak da, polifenollerin reaksiyonu sonucunda oluşan radikallerin, moleküller arası hidrojen bağlarıyla stabil bir yapıya kavuşmasıyla ileri düzeylerdeki oksidasyon önlenmelidir.

Nar, önemli düzeyde polifenol içermektedir. Tezcan vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada; 7 farklı ticari nar suyunun toplam polifenol miktarları belirlenmiş ve polifenol miktarlarının gallik asit cinsinden 144–10 086 mg L⁻¹ gibi geniş bir aralıkta değiştiği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada da; danenin ve bütün meyvenin işlenmesiyle elde edilen nar sularının polifenol içerikleri incelenmiş ve bütün meyveden elde edilen nar sularında polifenol miktarlarının 1875–11 250 mg L⁻¹ arasında olduğu ortaya konmuştur (Tzulker vd. 2007). Bu çalışmada ayrıca kabuklarıyla preslenen narlardan elde edilen nar sularının, daneden elde edilenlere göre 6.5 kat daha fazla polifenol içerdiği saptanmıştır. Özgen vd. (2008) 6 farklı; Çam vd. (2009) ise, 8 farklı nardan elde edilen danelerin polifenol içeriğinin sırasıyla 1245–2076 mg L⁻¹ ve 2083–3436 mg L⁻¹ arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

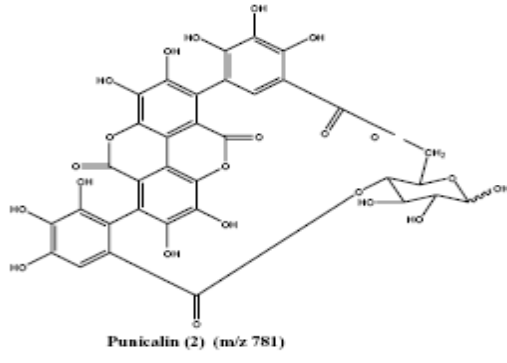
Narın özellikle kabuk kısmında yüksek molekül ağırlığına sahip polifenoller önemli miktarda bulunmaktadır. Yüksek molekül ağırlıklı polifenoller; kondense olabilen tanenler (proantosiyanidinler) ve hidrolize olabilen tanenler (elajitanenler ve gallotanenler) olmak üzere ikiye ayrılmaktadırlar (Seeram vd. 2005a). Nar kabukları hidrolize olabilen tanenler açısından zengin olup başta punikalajin ve izomerleri (2,3-hexahydroxydiphenoyl-4,6-gallagylglucose) olmak üzere daha az miktarlarda punikalın (4,6-gallagylglucose), gallik asit, elajik asit ve elajik asit glikozitlerini (hexoside, pentoside, rhamnoside vd.) içermektedir (Apaydın 2008). Nar kabuklarının hidrolize olabilen tanenler açısından zengin olması nedeniyle, narların kabuklarıyla meyve suyuna işlenmesi sırasında, preslemeyle bu bileşenler nar suyuna geçmektedir. Bu

nedenle; kabuklarıyla meyve suyuna işlenen narlardan elde edilen nar sularının antioksidan aktivitesi; hidrolize olabilen tanenlerin yanı sıra elajik asit, antosiyaninler (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin glikozitler) ve diğer flavonoid bileşiklerden (kuersetin, kamferol ve luteolin glikozitler) kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler arasında en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olanların sırasıyla punikalajin, gallik asit ve elajik asit olduğu saptanmıştır.

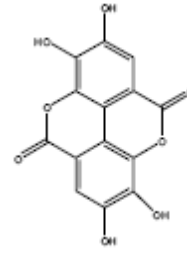
Elajitanenlerin ve elajik asidin antioksidan aktiviteleri yapılarında bulunan orto pozisyonundaki hidroksil gruplarının hidrojen verici (donör) yeteneği ve eşleşmemiş elektron içeriklerinden kaynaklanmaktadır (Nicoli vd. 1999). Bu bileşiklerin antioksidan etkileri hidroksilasyon derecesi arttıkça artarken, artan şeker molekülü sayısı ile azalmaktadır (Landete 2011). Nitekim, yapısında 16 tane serbest hidroksil grubu bulunan punikalajinin nar sularında en fazla antioksidan aktivite gösteren bileşik olduğu ve hatta nar suyundaki antioksidan kapasitenin %50'den fazlasının punikalajinden kaynaklandığı saptanmıştır (Gil vd. 2000). Kulkarni vd. (2007), punikalajinin serbest radikalleri bağlamasının yanı sıra metallerle kelat oluşturarak da antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Punikalajinin hidrolize olmasıyla, punikalalin ve elajik asit oluşmaktadır (Gil vd. 2000). Punikalajin, punikalalin, elajik asit ve gallik asidin kimyasal yapıları Şekil 2.10 ve 2.11'de gösterilmiştir. Yapıdaki hidroksil grubu sayısının yanı sıra moleküldeki pozisyonu da antioksidan kapasiteyi etkileyen bir diğer faktördür. Yapısında 3 tane serbest hidroksil grubu bulunan gallik asidin, 4 tane serbest hidroksil grubu içeren elajik aside göre 2.5 kat daha fazla antioksidan aktivite göstermesi bu ifadeyi desteklemektedir (Dereli 2010).



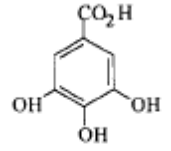
Şekil 2.10 Punikalajinin kimyasal yapısı



(a)



(b)



(c)

Şekil 2.11 Punikalın (a), elajik asit (b) ve gallik asidin (c) kimyasal yapıları

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Nar

Araştırmada materyal olarak Akdeniz kuşağında yaygın olarak yetiştirilen, koyu kırmızı renkli ve seyreltilmeden içilebilir bir "şeker:asit" dengesine sahip Hicaznar çeşidi kullanılmıştır. Materyal; Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bağlı "Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü (Erdemli, Mersin)"'nden temin edilmiştir. Bu tescilli nar çeşidi, yoğun kırmızı rengi nedeniyle endüstriyel nar suyu üretiminde tercih edilmektedir.

Meyve suyunun içilebilir bir nitelik kazanabilmesi için, şeker ve asit miktarı ile bunların birbirine oranı çok önemlidir. "Şeker:asit" ya da "briks:titrasyon asitliği, %" oranı "ratio değeri" olarak adlandırılmaktadır. Bu konuda, Cemeroğlu vd. (1994a) tarafından Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yürütülmüş olan bir TÜBİTAK projesinde, ratio değeri "15:1" in altında olan nar suyu örnekleri "asitçe zengin," buna karşın "15:1" in üzerinde olan örnekler ise, "asitçe fakir" gruba dahil edilmiştir. Ratio değeri "15:1" in altında olan nar suları meyve suyuna işlemeye elverişli örnekler olarak değerlendirilmiştir. Aynı çalışmada, tatlı-mayhoş gruba dahil edilen nar çeşitlerinde, titrasyon asitliğinin $2.0-7.9 \text{ g L}^{-1}$ (%0.2–0.79) ve briks derecesinin de 13.2–18.7 arasında değiştiği belirtilmiş ve "asitçe zengin" veya "asitçe fakir" çeşitlerden elde edilen nar sularında briks derecesinin en az 14 olması gerektiği vurgulanmıştır. Briks derecesi 14'ün altında ise, bu tip nar sularının ya sulandırıldığı ya da olgunlaşmamış narlardan elde edildiği kuşkusunun doğabileceği bildirilmiştir. Tarafımızca yürütülen bu çalışmada, nar çeşidi seçilirken; öncelikle briks ve asit miktarları belirlenmiş ve ratio değeri hesaplanarak amacımıza uygun çeşit saptanmıştır. Bu nedenle, çeşit belirlenirken ratio değeri 15:1'in altında ($16.02:1.92 = 8.34$) ve briks derecesi de 14'ün üzerinde (16.02) olan nar çeşidinin seçimine özen gösterilmiştir.

3.1.2 Kimyasallar

Nar sularının durultulmasında kullanılan durultma yardımcı maddelerinden jelatin (80–100 Bloom sayılı) Sel Sanayi Ürünleri Ticaret ve Pazarlama A.Ş.'den (Kasımpaşa, İstanbul, Türkiye), kitosan (deasetilasyon derecesi ≥ 75), albümin (molekül ağırlığı 44287 Da, saflık derecesi 2), kazein (teknik saflıkta) ve ksantan gam (higroskobik) Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.) temin edilmiştir. Antosiyaninlerin HPLC ile tanımlanmasında kullanılan standartlardan "siyanidin 3-O-glikozit" ile "siyanidin 3,5-O-diglikozit" ve "pelargonidin 3-O-glikozit" ile "pelargonidin 3,5-O-diglikozit" ve "delfinidin-3-O-glikozit" Fluka firmasından (Seelze, Almanya) satın alınmıştır. Antosiyaninlerin saflaştırılmasında kullanılan C₁₈-Sep-Pak kartuşları (kolonları) Waters firmasından (Milford, MA, A.B.D.) temin edilmiştir. Antioksidan aktivite tayininde (radikal çözeltinin hazırlanmasında) kullanılan ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.), troloks standardı ise Fluka firmasından (Seelze, Almanya) satın alınmıştır. Toplam fenolik madde tayininde kullanılacak standart galik asit ile Folin-Ciocalteu ayracı Merck firmasından (Darmstad, Almanya) temin edilmiştir. Hidrolize olabilen tanenlerin saflaştırılmasında kullanılan Sephadex LH-20 kolon dolgu maddesi ve HPLC ile tanımlanmasında kullanılan standartlardan "punikalajin" Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.) temin edilmiştir. Antosiyaninlerin ve hidrolize olabilen tanenlerin ekstraksiyonunda, saflaştırılmasında ve HPLC ile analizinde, daima HPLC saflığında (HPLC grade) solventler kullanılmıştır. Diğer analizlerde; Merck (Darmstad, Almanya) firmasından temin edilen, ya analitik saflıkta (a.g.) ya da yüksek saflıkta (extra pure) kimyasallar kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Narın meyve suyuna işlenmesi

Narlar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi "Meyve Suyu Pilot İşletmesi" nde meyve suyuna işlenmiştir. Bu amaçla etkin bir şekilde yıkanan narların çiçek evleri bıçakla

çıkarılmıştır. Etkin bir yıkama ve çiçek evlerinin uzaklaştırılması ile, narların meyve suyuna işlenmesi sırasında, mikrobiyel bulaşı olasılığı minimize edilmiştir. Daha sonra 4'e bölünen narlar, paketli preste (Bucher-Guyer, Niederweningen, İsviçre) preslenip nar ham suyu elde edilmiştir (Cemeroğlu vd. 1988). Preslemede, pres basıncı kademeli olarak arttırılmış ve maksimum pres basıncına (150 bar) 30 dakikada ulaşılmıştır (Cemeroğlu 1977). Bilindiği gibi, nar suyunda, kabuktan meyve suyuna geçen polifenol miktarını arttıran en önemli faktörler, uygulanan pres basıncı ve ulaşılan randıman düzeyidir (Cemeroğlu vd. 1988). Çalışmamızda, preslemede randımanın %35–40 düzeyinde olması hedeflenmiş (Cemeroğlu 1977) ve %34.96'lık bir randımana ulaşılmıştır. Elde edilen nar ham suyu, dörde katlanmış tülbent bezinden filtre edilerek kaba partiküllerinden ayrılmıştır. Daha sonra nar suları durultulmadan 1.5 L'lik PET şişelere doldurularak, durultma ve konsantrasyon işlemine kadar dondurulmuş olarak –20°C'de muhafaza edilmiştir.

$$\begin{array}{c}
 291.75 \text{ kg nar} \\
 \downarrow \text{Presleme} \\
 102 \text{ kg nar ham suyu}
 \end{array}$$

$$\text{Randıman (\%)} = \frac{102 \text{ kg nar ham suyu}}{291.75 \text{ kg nar}} (100) = \%34.96$$

Elde edilen nar sularının genel bileşimini belirlemek için; briks, pH ve titrasyon asitliği tayini yapılmıştır. Bunun dışında; bulanıklık, reflektans renk değerleri, toplam polifenol miktarı, antioksidan aktivite, toplam monomerik antosiyanin miktarı ile antosiyanin parçalanma ölçütleri belirlenmiştir. Son olarak da; antosiyanin ve hidrolize olabilen tanen dağılımları HPLC yöntemiyle saptanmıştır.

3.2.2 Nar ham suyunun durultulması

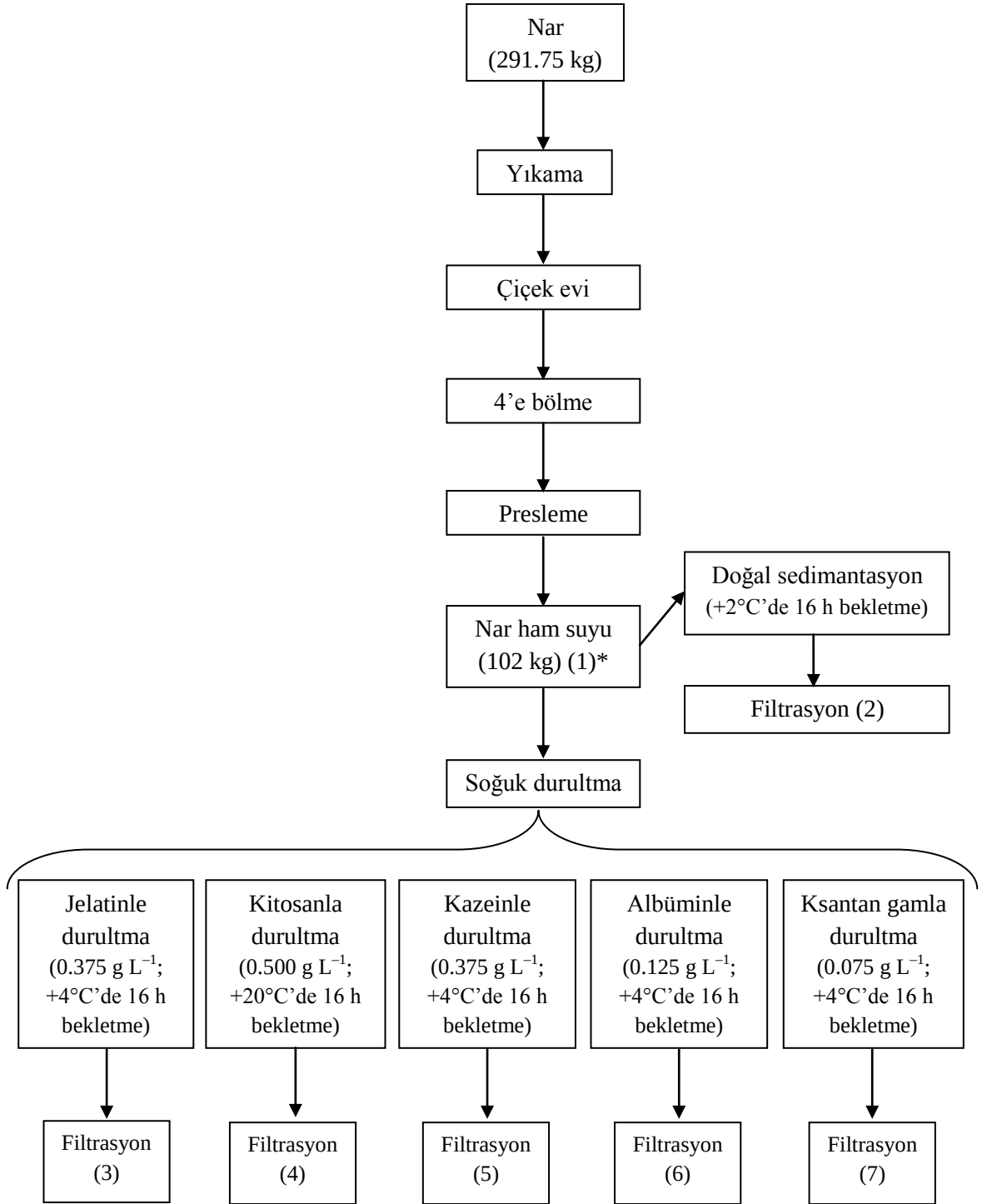
Nar suyunda pektin bulunmadığı için (Cemeroğlu 1977), depektinizasyon işlemine gerek olmadığından durultma işleminde, sadece berraklaştırma işlemi uygulanmıştır. Durultulmuş nar suyu üretimi akış şeması Şekil 3.1’de verilmiştir. Elde edilen durultulmamış, doğal sedimantasyona tabi tutulan ve jelatin, kitosan, kazein, albümin ve ksantan gamla durultulan nar suları, fiziksel özellikleri ve kimyasal kompozisyonu bakımından kıyaslanmıştır.

3.2.2.1 Doğal sedimantasyon

Bu uygulamada; nar suyu +2°C sıcaklıkta 16 h bekletilerek polifenollerin doğal yolla okside olması sonucu tortu oluşturmaları sağlanmış ve daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtrasyona tabi tutulmuştur. Bu yöntem, doğal sedimantasyon yöntemi olarak adlandırılmıştır (Vardin ve Fenercioğlu 2003). Elde edilen doğal sedimantasyon uygulanmış nar suyuna, nar ham suyuna yapılmış aynı analizler uygulanmıştır.

3.2.2.2 Jelatinle durultma

Durultmada, durultma yardımcı maddesi olarak öncelikle jelatin kullanılmıştır. Daha önce laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, 250 mg jelatin L⁻¹ nar suyu (Özkan vd. 2002); diğer bir çalışmada ise 2 g jelatin L⁻¹ nar suyu kullanılarak mükemmel berraklıkta meyve suyu elde edilmiştir (Turfan vd. 2011). Nar suyunun durultulmasında kullanılan jelatin dozundaki bu farklılık, narların bileşiminin ve özellikle de polifenol içeriğinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda da bir ön deneme yapılarak gerekli jelatin miktarı belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları" bölümünde verilmiştir. Cemeroğlu (1977) tarafından yapılan bir çalışmada, nar suyunun litreye 1.5–2.0 g jelatin ilavesiyle 3 h gibi kısa bir sürede durultulabileceği, ancak tortu kitlesinin tam olarak oturabilmesi için durultmanın 10°C’nin altında yapılması ve nar suyunun bu sıcaklıkta 7–8 h bekletilmesi önerilmektedir.



Şekil 3.1 Nar suyu üretim akış şeması

*: Örnek alma aşaması

Çalışmamızda jelatinle durultma, +4°C'ye kadar soğutulmuş nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar suyu, belirlenen dozajda jelatin çözeltisi eklendikten sonra +4°C'de 16 h bekletilmiştir. Daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtre edilmiş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Elde edilen durultulmuş nar suyuna bir önceki bölümde verilen, nar ham suyunda ve doğal sedimentasyon uygulanmış nar suyunda yapılan analizler uygulanmıştır.

3.2.2.3 Kitosanla durultma

Nar sularının durultulmasında kullanılan diğer bir durultma yardımcı maddesi de kitosandır. Daha önce elma suyunda yapılan bir çalışmada, durultmada farklı dozajlarda kitosan çözeltisi (0.1, 0.5, 0.7 ve 1.0 g L⁻¹) farklı sıcaklıklarda (30°, 35° ve 40°C) uygulanmış ve bulanıklık değerleri 2.70–3.65 NTU arasında olan elma suları elde edilmiştir (Rungsardthong vd. 2006). Yapılan diğer çalışmalarda kitosan; "bayberry" sularında 0.1 g L⁻¹ (Fang vd. 2007), elma sularında 0.3 g L⁻¹ (Oszmiański ve Wojdyło 2007) ve 2 g L⁻¹ (Chatterjee vd. 2004) ve beyaz şaraplarda ise, 0.04 g L⁻¹ (Spagna vd. 2000) düzeyinde kullanılmıştır.

Meyve sularının kitosanla durultulmasında, durultma etkinliği üzerine; kullanılan kitosan dozajı, karıştırma hızı ve süresi, inkübasyon sıcaklığı ve süresi gibi faktörlerin etkisini belirlemek amacıyla çalışmamızda ön denemeler yapılmış ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları" bölümünde verilmiştir. Çalışmamızda; %1'lik sitrik asit çözeltisinde hazırlanmış %1'lik kitosan çözeltisi kullanılmıştır (Sapers 1992). Bu amaçla; %2'lik kitosan ve %2'lik sitrik asit çözeltisi hazırlanıp bu iki çözelti eşit hacimlerde karıştırılmıştır. İçerik, Ultraturrax'ta (Heidolph, Silent Crucher M, Almanya) 15000 devir/dak. hızla 3 dak. süreyle homojenize edilmiştir. Ardından 60°C'ye ısıtılan çözelti Whatman No:541 filtreden filtre edildikten sonra, 20°C'deki nar suyunun durultulmasında kullanılmıştır. Bu amaçla; nar suları, gerekli kitosan çözeltisi eklendikten sonra 20°C'de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtre edilmiş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Elde edilen durultulmuş nar suyunda bir önceki bölümde verilen analizler

yapılmıştır.

3.2.2.4 Kazeinle durultma

Nar sularının durultulmasında, jelatin ve kitosan dışında, kazein de kullanılmıştır. Şarapların durultulması üzerine yapılan bir çalışmada; kazein, 0.6 g L^{-1} düzeyinde (Castillo-Sanchez vd. 2008); bir başka çalışmada ise 0.4 g L^{-1} düzeyinde kullanılmıştır (Cosme vd. 2008). Nar sularının kazeinle durultulmasında, kullanılacak kazein dozajı ve inkübasyon sıcaklığı, ön denemeler ile belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları" bölümünde verilmiştir. Çalışmamızda; %1'lik kazein çözeltisi kullanılmıştır. Kazein, suda çözünemeyen, bazik pH'larda çözünebilen bir durultma yardımcı maddesi olduğundan çözeltinin hazırlanmasında %1'lik sodyum karbonat kullanılmıştır. Çalışmamızda durultma, $+4^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuş nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar suyu, belirlenen dozajda kazein çözeltisi eklendikten sonra $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtre edilmiş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Elde edilen durultulmuş nar suyunda bir önceki bölümde verilen analizler yapılmıştır.

3.2.2.5 Albüminle durultma

Nar sularının durultulmasında, albümin de kullanılmıştır. Castillo-Sanchez vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada; şarapların durultulmasında yumurta albümini, 0.2 g L^{-1} düzeyinde; Cosme vd. (2008) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 0.125 g L^{-1} düzeyinde kullanılmıştır. Nar sularının albüminle durultulmasında, kullanılacak albümin dozajı ve inkübasyon sıcaklığı, ön denemeler ile belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları" bölümünde verilmiştir. Çalışmamızda; albüminin oda sıcaklığındaki damıtık suda çözündürülmesiyle hazırlanan %1'lik albümin çözeltisi kullanılmış, çözelti; $+4^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuş nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar suyu, belirlenen dozajda albümin çözeltisi eklendikten sonra $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtre edilmiş ve

türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Elde edilen durultulmuş nar suyunda bir önceki bölümde verilen analizler yapılmıştır.

3.2.2.6 Ksantan gamla durultma

Durultmada son olarak ksantan gam kullanılmıştır. Literatürde, ksantan gam kullanılarak meyve sularının durultulması ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, “bayberry” sularında ksantan gam 0.3 g L^{-1} düzeyinde kullanılmıştır (Fang vd. 2007). Nar sularının ksantan gamla durultulmasında, kullanılacak ksantan gam dozajı, karıştırma şekli ve inkübasyon sıcaklığı, ön denemeler ile belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları" bölümünde verilmiştir. Çalışmamızda; ksantan gamın oda sıcaklığındaki damıtık suda çözündürülmesiyle elde edilen %1'lik ksantan gam çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti kullanılmadan önce 60°C 'ye ısıtılmış ve oda sıcaklığına soğuduktan sonra, $+4^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuş nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar suyu, belirlenen dozajda ksantan gam çözeltisi eklendikten sonra $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtre edilmiş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyi belirlenmiştir. Elde edilen durultulmuş nar suyunda bir önceki bölümde verilen analizler yapılmıştır.

3.2.3 Nar sularının konsantreye işlenmesi ve depolanması

Nar suyu konsantresi üretim akış şeması ve yapılacak analizler için örnek alma aşamaları Şekil 3.2'de verilmiştir. Elde edilen durultulmamış, doğal sedimentasyon uygulanmış ve çeşitli durultma yardımcı maddeleriyle durultulmuş nar suları 65°Brix derecesine kadar vakum altında (11 mm Hg) 40°C 'de döner (rotary) evaporatörde (Heidolph Laborota 4003, Schwabach, Almanya) konsantre edilmiştir. Nar suyu konsantrelerinin steril koşullarda muhafaza edilebilmesi için konsantrelere kısmi pastörizasyon uygulanmıştır. Bu amaçla, nar suyu konsantreleri; döner evaporatörde 70°C 'ye ısıtılmış, bu sıcaklıkta 15 dak. tutulmuş ve daha önce otoklavda 121°C 'de 15 dak. süreyle sterilize edilen kavanozlara bunzen beki alevi yanında hızlı bir şekilde

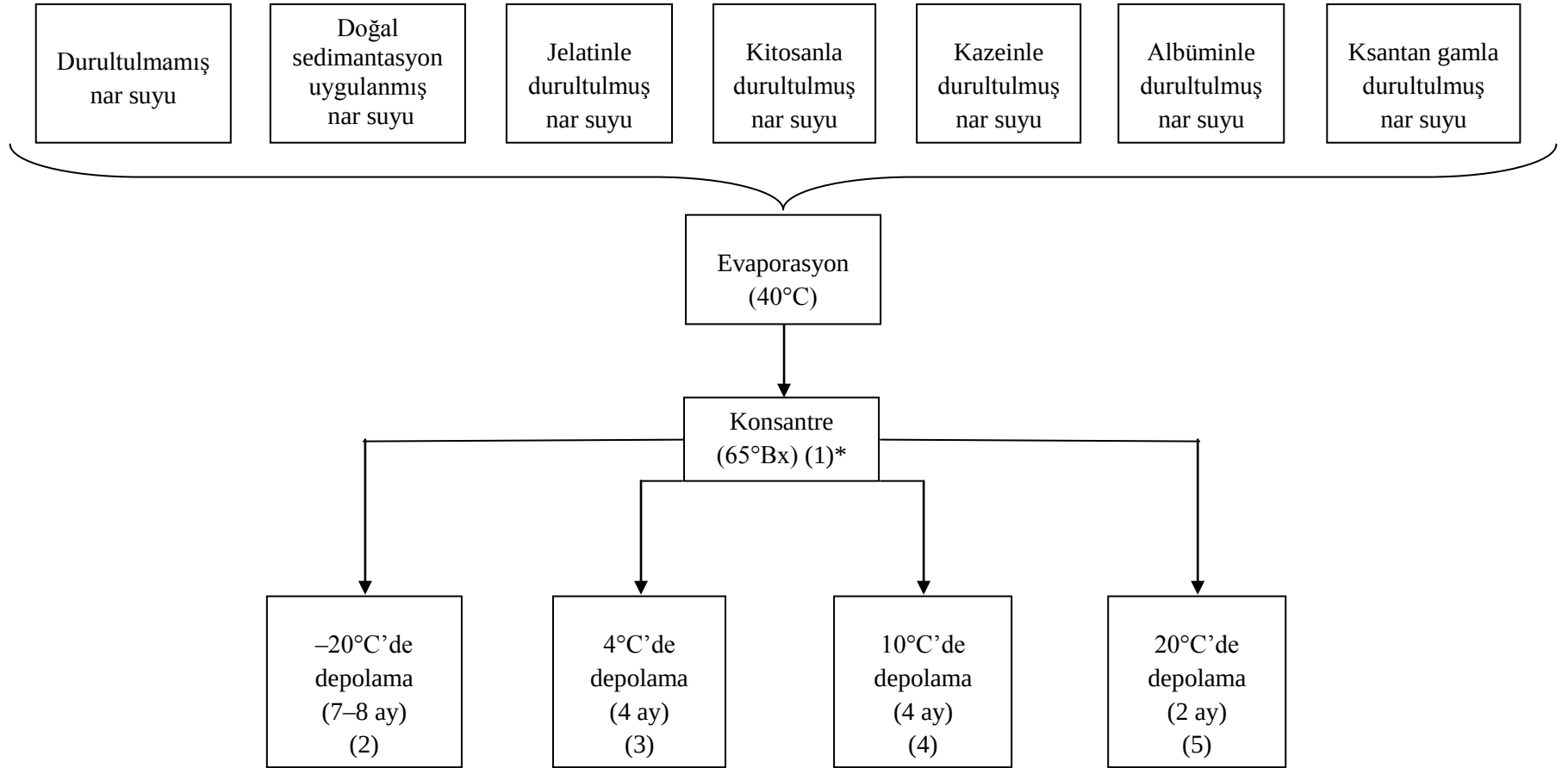
doldurulmuştur. Daha sonra kavanozların kapakları hermetik olarak kapatılarak kavanozlar hızla oda sıcaklığına kadar buzlu su içinde soğutulmuştur. Konsantre örnekleri için yapılan bu işlem tam bir pastörizasyon işlemi olmayıp, örneklerin uzun süre mikrobiyolojik bir bozulma olmadan depolanabilmesi amacıyla yapılmıştır.

Konsantre örneklerinin bulunduğu kavanozlar, depolamanın yapılacağı sıcaklık kontrollü inkübatörlere yerleştirilmiştir. +4°C, 10°C ve 20°C'deki depolama deneyleri 253 L'lik inkübatörlerde (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) yapılmıştır. Bir kısım nar suyu konsantresi ise, -20°C'de depolanmıştır. Depolama süresince, uygulanan sıcaklığa bağlı olarak farklı aralıklarda örnek alınmıştır. Depolama süresi, uygulanan sıcaklığa bağlı olarak; -20°C'de 7-8 ay , +4°C ve 10°C'de 4 ay, 20°C'de ise 2 ay süresince depolanmıştır. 4°C'de depolanan konsantrelerden 2 ay, 10°C'de depolanan konsantrelerden 1 ay ve 20°C'de depolanan konsantrelerden 15 gün aralıklarla örnek alınmıştır. -20°C'de depolanan örneklerden durultulmamış, jelatinle ve kitosanla durultulmuş konsantrelerde 8. ay; doğal sedimantasyon uygulanan, kazeinle, albüminle ve ksantan gamla durultulmuş konsantrelerde 7. ay sonunda örnek alınmıştır. Periyodik olarak alınan konsantre örneklerinde; durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanmış ve çeşitli durultma yardımcı maddeleriyle durultulmuş nar sularında da yapılan, aşağıda belirtilen fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır.

3.2.4 Fiziksel analizler

3.2.4.1 Suda çözünür kuru madde tayini

Örneklerde suda çözünür kuru madde (briks) dijital bir refraktometre (Atago Rx-7000, Tokyo, Japonya) kullanılarak saptanmıştır. Bulanıklık unsurları, briksin olduğundan daha yüksek okunmasına neden olduğundan bulanık meyve sularının brikslerinin mutlaka bulanıklık unsurları filtrasyon veya santrifüjle uzaklaştırıldıktan sonra ölçülmesi önerilmektedir (Cemeroğlu 2010). Bu nedenle de çalışmamızda durultulmamış nar suyu ve konsantreleri, santrifüj edildikten (Sigma 3K 15, Postfach, Almanya) sonra briks ölçülmüştür. Briks ölçümleri, 20°C'de yapılmıştır. Refraktometrenin sıfır ayarı, damıtık su ile yapılmıştır.



Şekil 3.2 Nar suyu konsantresi üretim akış şeması

*: Örnek alma

3.2.4.2 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (WTW Inolab Level 1, Weilheim, Almanya) ile saptanmıştır. Nar suları gibi tampon niteliği yüksek olan gıdalarda sulandırma oranı fazla olsa bile, pH değeri değişmemektedir (Cemeroğlu 2010). Bu amaçla, bulanık ve berrak nar suyu örneklerinden bir behere 3 mL alınarak, üzerine 15 mL damıtık su ilave edildikten sonra pH değeri belirlenmiştir. Nar suyu konsantreleri de damıtık suyla nar suyu briksine getirildikten sonra aynı işleme tabi tutulmuştur. pH ölçümleri, 20°C’de yapılmıştır.

3.2.4.3 Reflektans renk tayini

Bu amaçla, reflektans spektrofotometresi (Minolta CM–3600d, Osaka, Japonya) kullanılmıştır. Nar 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, her kullanımdan önce beyaz seramik plakaya karşı 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. Nar sularında renk ölçümü doğrudan, buna karşın konsantrelerin renk ölçümü damıtık su ilavesiyle briksleri doğal nar suyu briksine getirildikten sonra yapılmıştır. Renk ölçümlerinde "Minolta CM-S100w SpectraMagic NX" 1.22 versiyonu bilgisayar programı kullanılmıştır. L*, a*, b*, C* ve h° değerlerine ilişkin aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri bu program kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.4.4 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanmış ve durultulmuş nar suyu örneklerinin ve bunlardan elde edilen konsantrelerin bulanıklık düzeyleri, bir türbidimetre (HACH Ratio/XR 43900, Loveland, A.B.D.) yardımıyla belirlenmiştir. Bulanıklık düzeyi, nar sularında doğrudan belirlenirken; konsantre örneklerinin bulanıklık düzeyleri ise, konsantre örnekleri damıtık suyla nar suyu briksine seyreltildikten sonra ölçülmüştür. Bulanıklık düzeyi "NTU (Nephelometric Turbidity Unit)" değeri ile ifade edilmiştir.

3.2.5 Kimyasal analizler

3.2.5.1 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 seyreltilmiş bulanık ve berrak nar suları ve konsantreleri ayarlı 0.1 N NaOH çözeltisi ile ve pH metre yardımıyla, pH 8.1'e ulaşıncaya kadar titre edilmiştir. Nar suyu örneklerinin titrasyon asitliği, susuz sitrik asit cinsinden nar sularında "g 100 mL⁻¹", nar suyu konsantrelerinde ise "g 100 g⁻¹" olarak hesaplanmıştır.

3.2.5.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Bu amaçla, Fuleki ve Francis (1968) tarafından önerilen, Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH diferansiyel metodu kullanılmıştır. Bu metodun ilkesi; monomerik antosiyaninlerin pH 1.0'da renkli oksonium formunun, pH 4.5'te ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortam pH 1.0 ve 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Absorbans okumaları nar suyu antosiyaninlerinin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda ($\lambda_{vis-max}$), pus (haze) halindeki bulanıklığın belirlenmesi ise; 700 nm'de yapılmıştır. Nar suyunda

antosiyeninlerin 512 nm’de maksimum absorbans verdiği saptanmıştır. Bulanık ve berrak nar suları doğrudan, konsantre örnekleri ise damıtık suyla doğal nar suyu briksine seyreltildikten sonra analizde kullanılmıştır. Durultulmamış nar suyu 10 000 x g’de 10 dak. süreyle santrifüj edilip, bulanıklık oluşturacak tortularından ayrılmıştır. Nar suyu örnekleri, potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile seyreltilerek, nar suyunda bulunan antosiyeninlerin $\lambda_{vis-max}$ dalga boyu olan 512 nm’de absorbans değereri 1.0 civarına getirilmiştir. Böylece analizler birçok spektrofotometrenin doğrusal sınırı olan 1.2 absorbans değerinin (Özkan vd. 2010b) altında yürütölmüştür. 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 haline bırakılmışlardır. Bekleme süresi sonunda, seyreltikler 0.45 μ m gözenek çapındaki PVDF (polyvinylidene fluoride) filtreden (Sartorius, Minisart RC 25, Goettingen, Almanya) filtre edildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (damıtık su) aynı anda koyulabildiği çift huzmeli (double-beam) spektrofotometre (ThermoSpectronic Helios- α , Cambridge, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Absorbans ölçümleri, damıtık suya karşı, nar antosiyeninlerinin $\lambda_{vis-max}$ dalga boyu olan 512 nm’de ve ayrıca düşük düzeydeki bulanıklığın belirlenmesi için 700 nm’de 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık küvetlerde (Brand Gmbh, Postfach, Wertheim, Almanya) yapılmıştır. Monomerik antosiyenin miktarı, nar suyunda baskın bulunan siyanidin-3-glikozit cinsinden (Gil vd. 2000) aşağıda verilen 3.3 No’lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Monomerik antosiyenin miktarı (mg L}^{-1} \text{ veya mg kg}^{-1}) = \frac{(A) (MW) (S_f) 1000}{(\epsilon) (L)} \quad (3.3)$$

Burada:

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

MW : Baz olarak alınacak antosiyenin molekül ağırlığı, g (mol)⁻¹,

S_f : Seyreltme faktörü,

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

L : Spektrofotometre küvetinin tabaka kalınlığı (cm).

Siyanidin-3-glikozidin molar absorbans değeri $\epsilon = 26\,900 \text{ L (cm mol)}^{-1}$ ve moleköl ağırlığı ise, $\text{MW} = 449.2 \text{ g (mol)}^{-1}$ (Giusti ve Wrolstad 2001) alınarak hesaplama yapılmıştır.

3.2.5.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi

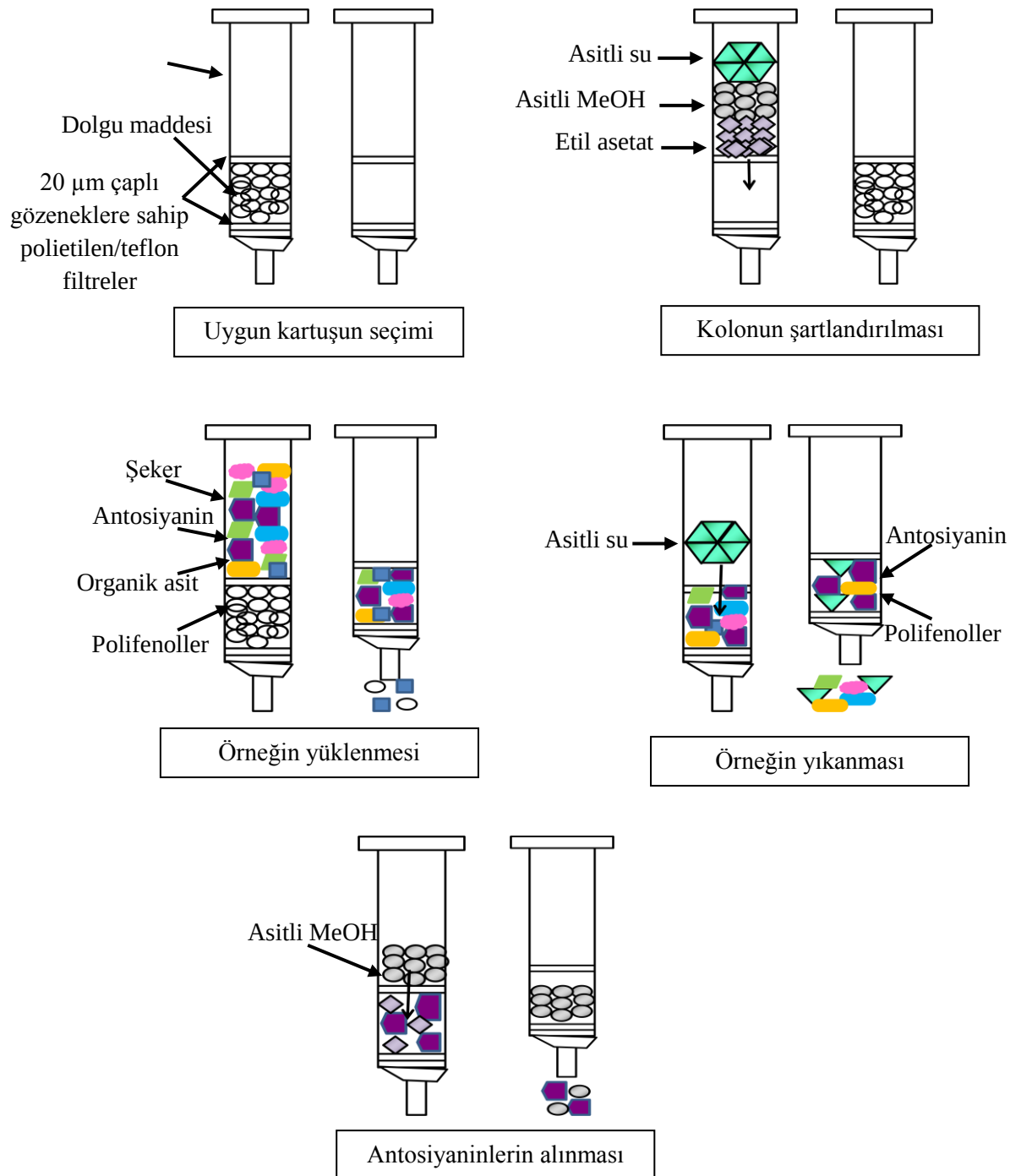
HPLC yöntemi iki aşamadan (saflaştırma ve hesaplama) oluşan bir uygulama olup, bu aşamalar aşağıda açıklanmıştır.

Saflaştırma

Nar suyu örneklerinden, şeker ve organik asit gibi unsurların uzaklaştırılması amacıyla saflaştırma işlemi uygulanmıştır (Şekil 3.3). Bu amaçla Skrede vd. (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Saflaştırma işleminin ilk aşamasında C-18 Sep-Pak kolonlarındaki (Waters Co., Milford, MA, A.B.D.) dolgu maddesinin (sorbentin, 100 mg) antosiyaninlerle reaksiyona girebilmesini sağlamak için şartlandırma (conditioning) işlemi yapılmıştır. Bu işlemde kolondan sırasıyla; 5 mL etil asetat, 5 mL asitlendirilmiş 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 1 mL nar suyu 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, antosiyaninler ve diğer polifenolik bileşikler kolon üzerinde sorbente bağlanmıştır. Eşdüze bir saflaştırma işlemi için saflaştırma düzeneğinden (manifold) (Waters Co.) yararlanılmıştır.

C-18 Sep-Pak kolonu, N_2 gazı akımında tutularak kalıntının kuruması sağlanmıştır. Daha sonra 2 mL asitlendirilmiş MeOH (%0.01 HCl içeren) ile yıkanarak antosiyaninleri içeren ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen antosiyanin fraksiyonu bir evaporasyon tüpüne alınmış ve asitlendirilmiş MeOH, azot evaporatöründe (Caliper, TurboVap, Hopkinton, MA, A.B.D) 35°C 'de N_2 gazı altında kurutulmuştur. Daha sonra evaporasyon tüpündeki kalıntı üzerine 2 mL asitlendirilmiş su eklenerek kalıntı yeniden

çözündürülmüştür. Antosiyaninleri içeren bu çözelti 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtreden 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.



Şekil 3.3 Örneğin saflaştırılması (Yemiş vd. 2010)

Tanımlama ve Hesaplama

Antosiyaninlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında “yüksek performanslı sıvı kromatografi” 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 tarafımızca modifiye edilerek uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 HPLC ile antosiyanin dağılımını belirlemek için uygulanan elüsyon profili

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

Kromatogramlarda elde edilen antosiyanin pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Örnekteki antosiyaninlerin miktarı; "siyanidin 3-O-glikozit (Şekil 4.4), siyanidin 3,5-O-diglikozit (Şekil 4.1), delfinidin 3-O-glikozit (Şekil 4.2), pelargonidin 3-O-glikozit (Şekil 4.5) ve pelargonidin 3,5-O-diglikozit (Şekil 4.3)" standart maddelerinin her biri için oluşturulan 6 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğrilerden hesaplanmıştır.

Nar suyu ve konsantre örneklerindeki antosiyanin miktarları ise, seyreltme oranı dikkate alınarak hesaplanmıştır. HPLC ile toplam antosiyanin miktarının belirlenmesinin, materyaldeki standardı olmayan piklerin alanları hesaplandıktan sonra, başat pike ait standart eğri esas alınmak suretiyle yapılması önerilmektedir (Yemiş vd. 2010). Nar sularında başat antosiyaninin, "siyanidin 3,5-O-diglikozit" olduğunun saptanmasına karşın, spektrofotometrik yöntemle toplam antosiyanin miktarının "siyanidin 3-O-glikozit" cinsinden hesaplanması nedeniyle, HPLC yöntemi ile toplam antosiyanin miktarı da, iki yöntemle hesaplanan monomerik antosiyanin miktarlarının kıyaslanabilmesi için "siyanidin 3-O-glikozit" cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.5.4 Geri kazanım (recovery) testi

Antosiyaninlerin, analiz sürecindeki kayıp düzeylerini belirlemek amacıyla geri kazanım (recovery) testi yürütülmüştür. Bu amaçla Yemiş vd. (2010) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Geri kazanım testinden önce, deneyin yapılacağı nar suyu örneğinde, her bir antosiyanin bileşeninin miktarı HPLC ile ayrı ayrı belirlenmiştir. Orijinal örnekteki antosiyanin miktarı göz önüne alınarak, saflaştırma için aynı kitleden alınmış örnekler üzerine, nar suyunda bulunan iki başat antosiyanin olan Cy-3,5-diglu ve Cy-3-glu standart çözeltilerinden, aşağıda belirtilen miktarlarda ilave edilmiştir. Böylece geri kazanım deneyinin, analizin başlangıç aşaması olan saflaştırma işlemini kapsamaması da sağlanmıştır.

Bu test için, 6 ayrı deney tüpüne 1'er mL nar suyu konulmuştur. Tüplerden iki tanesine, antosiyanin standart çözeltilerinin yerine aynı hacimde damıtık su eklenerek saflaştırma işlemi uygulanmıştır. Buna karşın, kalan tüplerden ikisine 25 mg L⁻¹ ve 50 mg L⁻¹ düzeyinde Cy-3,5-diglu içeren; diğer ikisine de 10 mg L⁻¹ ve 20 mg L⁻¹ Cy-3-glu içeren standartlardan "Araştırma Bulguları" bölümü altında verilen "Geri Kazanım (recovery) Testi" bölümündeki Çizelge 4.19'da verilen miktarlarda eklenmiş ve tüp içerikleri iyice karıştırılmıştır. Daha sonra hem standart eklenmemiş hem de eklenmiş örneklerle "3.2.5.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi" bölümünde ayrıntıları verilen saflaştırma işlemi uygulanmıştır.

Saflaştırma sonunda elde edilen ekstraktlar 0.45 µm gözenek çapındaki PVDF filtrelerden filtre edildikten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir. Elde edilen kromatogramlardaki antosiyanin piklerinin alanları hesaplanmış ve antosiyanin standart maddelerinin her ikisi için de oluşturulan standart eğrilerden (Şekil 4.1 ve 4.4) bu alanların eşdeğeri olan konsantrasyonlar saptanmıştır. Saptanmış standart madde miktarlarından yararlanılarak aşağıda verilen 3.4 No'lu eşitlik yardımıyla "geri kazanım (recovery)" değeri hesaplanmıştır.

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

Burada:

A_1 : Standart eklenmemiş materyaldeki bileşen miktarı,

A_2 : Standart eklenmiş materyaldeki bileşen miktarı,

A_3 : Eklenen standart miktarı.

3.2.5.5 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi

Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen yöntem kullanılarak; antosiyaninlerin parçalanma ölçütleri olarak nitelendirilen "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" olmak üzere üç nitelik belirlenmiştir.

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

1 cm tabaka kalınlığındaki iki ayrı 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 antosiyaninlerin renksiz "sülfonik asit kompleksi" oluşturması sağlanmıştır. Buna karşın, "polimerik antosiyanin-tanen" kompleksleri ve "melanoidin" pigmentleri ise, bisülfite karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Bu esmer renkli pigmentlerin ortamdaki konsantrasyonu arttıkça, 420 nm'de okunan absorbands 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 çözeltinin absorbands değerleri 420 nm, λ_{vis-max} (512 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-max} ve 420 nm dalga boylarındaki absorbandsları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.5 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti ve Wrolstad 2001):

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

Burada:

S_f : seyreltme faktörü

Polimerik renk

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

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

Polimerik renk oranı

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

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

3.2.5.6 Toplam polifenollerin tayini

Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem, polifenollerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayracını 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 sularında, “mg gallik asit L⁻¹”; nar suyu konsantrelerinde “mg gallik asit kg⁻¹” olarak ifade edilmiştir.

Nar suyu örnekleri, fazla miktarda polifenol içermeleri nedeniyle seyreltilerek analize hazırlanmıştır. Bu amaçla, 1.5 mL nar suyu 5 mL’lik ölçü balonunda damıtık su ile seyreltilmiştir. Nar suyu konsantreleri ise damıtık suyla nar suyu briksine seyreltildikten sonra aynı işlem tekrarlanmıştır. 100 mL’lik ölçü balonuna konulan 75 mL damıtık su üzerine 1 mL seyreltilmiş örnek 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 karanlıkta 60 dak. bekletildikten sonra spektrofotometrede aynı şekilde hazırlanmış ancak içerisine nar suyu yerine aynı hacimde damıtık su eklenmiş şahide karşı 720 nm’de absorbansı saptanmıştır.

Nar suyu ve konsantre örneklerinin 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 çözeltiden 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 çözeltiliye nar suyu örneklerine uygulanan analiz aşamaları uygulanmış ve yine 720 nm dalga boyunda bu 6 çözeltilinin absorbans değerleri saptanmıştır. Bu absorbans değerleri gallik asit konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış (Şekil 4.11) 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

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

3.2.5.7 Hidrolize olabilen tanen dağılımının belirlenmesi

Spanos ve Wrolstad (1990) ile Skrede vd. (2000) tarafından önerilen yöntemlere göre hidrolize olabilen tanenler jel kromatografi yöntemiyle saflaştırılmıştır. Bu amaçla, Sephadex LH-20 bir gece +4°C’de suda bekletilerek jel haline getirilmiş ve yaklaşık 2 mL kromatografik materyal 15 x 0.7 cm boyutlarındaki bir kolona (Kontes kolon, Fisher Scientific, Pittsburg, A.B.D.) dökülmüştür. Saflaştırma işlemi boyunca kolondaki akış hızı (0.4 mL dak⁻¹), peristaltik pompa (H.R. Flow Inducer, Watson-Marlow Ltd., Cornwall, İngiltere) yardımıyla ayarlanmıştır. Elde edilen polimer yatak 5 mL damıtık su ile yıkandıktan sonra, 1 mL örnek kolona yüklenmiştir. Kolondan, önce 30 mL %20’lik (v/v) metanol ile akışı kolaylaştıracak hafif bir vakum altında safsızlık unsurları uzaklaştırılmıştır. Sephadex LH-20 ile hazırlanan kolon %20 (v/v)’lik metanol ile yıkanırken ortamdan öncelikle şekerler ve fenolik asitler, onları takiben flavonol ve antosiyaninler uzaklaşmaktadır. Daha sonra, kolonun bu defa 15 mL %100 metanol ile yıkanmasıyla kolonda tutunmuş olan hidrolize olabilen tanenler saf olarak elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt, 35°C’de vakum altında kurutulmuş ve kalıntı 2 mL suda (HPLC grade) çözündürülmüştür. Bu ekstrakt 0.45 µm’lik PVDF membran filtreden filtre edilerek HPLC’nin oto-örnekleme ünitesinde kullanılan amber renkli 2 mL’lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC’ye enjekte edilmiştir.

Tanımlama ve hesaplama

Hidrolize olabilen tanenlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında, “3.2.5.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi” başlığı altında özellikleri verilen HPLC cihazından (Agilent 1200 serisi) yararlanılmıştır. 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, 4 µm) (Phenomenex Inc., Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Koruyucu kolon:** C₁₈ koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm) (Phenomenex Inc.)
- **Akış hızı :** 0.75 mL dak.⁻¹
- **Elüsyon süresi :** 50 dak.
- **Enjeksiyon hacmi :** 100 µL
- **Dalga boyu :** 366 ve 378 nm
- **Hareketli faz (mobile phase) :** Damıtık su:asetik asit (98:2; v/v) (A) ile Metanol:asetik asit (98:2; v/v) (B) karışımı. Gradiyent akış söz konusu olup aşağıda verilen Seeram vd. (2005a) tarafından ortaya konulan ve tarafımızca modifiye edilen elüsyon profili uygulanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 HPLC ile hidrolize olabilen tanen dağılımını belirlemek için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	99	1
5	99	1
45	40	60
50	10	90

Kromatogramlarda elde edilen hidrolize olabilen tanen pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Örnekteki hidrolize olabilen tanenlerin miktarı; "punikalajin" standart maddesi için oluşturulan 6 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğriden hesaplanmıştır (Şekil 4.12). Nar suyu ve konsantre örneklerindeki hidrolize olabilen tanen miktarları ise, seyreltme oranı dikkate alınarak hesaplanmıştır.

3.2.5.8 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 $ABTS^{\bullet+}$ 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 $ABTS^{\bullet+}$ 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, $ABTS^{\bullet+}$ radikal çözeltinin oluşması sağlanmıştır. Daha sonra bu radikal çözeltinin, 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.

Nar suyu örnekleri yüksek antioksidan aktivite gösterdiğinden, örnekler analizden önce seyreltilmişlerdir. Bu amaçla 1 mL nar suyu alınarak 50 mL hacme PBS ile tamamlanmıştır. Nar suyu konsantreleri ise damıtık suyla nar suyu briksine seyreltildikten sonra aynı işlem tekrarlanmıştır. Örneklerin absorbens 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. Analize başlamadan önce $ABTS^{\bullet+}$ radikal çözeltisi PBS çözeltisi ile 734 nm'de absorbens değeri 0.700 ± 0.02 olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilmiş $ABTS^{\bullet+}$ radikal çözeltisinden 990 µL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbens değeri belirlenmiştir. Mikro

küvet içindeki radikal çözelti üzerine örnekten 10 µL eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmıştır. 6 dak. boyunca, her 1 dakikada absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Nar suyu ve konsantre örneklerinde bulunan antioksidan bileşiklerin, radikal çözeltinin 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.

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

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.

Nar suyu ve konsantre örneklerinin antioksidan aktiviteleri, troloks kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla, 62.57 mg troloks (MW=250.29 g mol⁻¹) tartılıp kayıpsız olarak 100 mL'lik bir ölçü balonuna aktarılmış ve balon PBS çözeltisi ile hacme tamamlanmıştır. Böylece, 2.5 mM troloks stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 10 mL'lik 4 ölçü balonuna sırasıyla 2, 4, 6 ve 8 mL alınıp, balonlar PBS çözeltisi ile hacme tamamlanarak standart çözeltiler elde edilmiştir. Böylece, bu standart çözeltilerden 10 µL alınıp mikro küvet içerisindeki 1 mL radikal çözeltisine eklendiğinde mikro küvet içerisinde sırasıyla 5, 10, 15 ve 20 µM konsantrasyonlarda troloks olması sağlanmıştır. Örneklerle uygulanan spektrofotometrik ölçümler troloks standartlarına da uygulanmış, ortalama inhibisyon değerleri hesaplanarak troloks konsantrasyonuna karşı grafiğe işlenmiştir. Elde edilen verilere doğrusal regresyon analizi uygulanmak suretiyle, troloks standart eğrisine (Şekil 4.13) ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Sonuçlar TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; 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.

3.2.5.9 Kinetik katsayıların hesaplanması

Bu çalışmada, nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında antosiyaninlerin parçalanma kinetiği ile polimerik rengin oluşum kinetiği incelenmiştir. İncelenen tüm sıcaklıklarda antosiyanin degradasyonunun (parçalanma) birinci derece kinetik modele; polimerik renk oluşumunun ise, doğrusal olmayan regresyona uygun olarak geliştiği belirlenmiştir. Bu nedenle birinci derece kinetik modeli tanımlayan 3.9 No'lu diferansiyel eşitliğin integrali alınarak elde edilen 3.10 No'lu eşitlik kullanılmıştır.

$$-\frac{dC}{dt} = k_1 C \text{ (parçalanma)} \quad (3.9)$$

$$\ln C = -k_1 t + \ln C_0 \text{ (parçalanma)} \quad (3.10)$$

Burada :

C_0 : İncelenen bileşenin başlangıç konsantrasyonu ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$),

C : İncelenen bileşenin t süre sonundaki konsantrasyonu ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$),

k : Reaksiyon hız sabiti (gün^{-1}),

t : Süre (gün).

Reaksiyon hız sabitleri ile diğer tüm kinetik parametrelerin hesaplanmasında Özkan vd. (2010a) tarafından verilen hesaplama yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması

Uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin kaybına ilişkin orijinal deney verileri herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli "y" eksenine, süreler ise aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenerek doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Elde edilen bu eğrilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak eğrilerin eşitlikleri hesaplanmış ve bu eşitliklerin eğim değerleri kullanılarak aşağıda verilen 3.11 No'lu eşitliğe göre reaksiyon hız sabitleri (k) hesaplanmıştır.

$$k = (\text{eğim}) \times 2.303 \text{ (Birinci derece için)} \quad (3.11)$$

Yarı ömür süresinin ($t_{1/2}$) hesaplanması

Yarı ömür süresi, antosiyaninlerin %50'sinin kaybı için gerekli süre olup, birinci derece kinetik modele uyan reaksiyonlar için 3.12 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$t_{1/2} = -\ln(0.5) \times k^{-1} \quad (3.12)$$

Aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklık derecesine bağımlılık düzeyi, hem Q_{10} hem de aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanmasıyla belirlenmiştir. E_a değeri, Arrhenius eşitliği yardımıyla 3.13 No'lu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$k = k_0 \exp^{-E_a / RT} \quad (3.13)$$

Hesaplamalarda 3.13 No'lu eşitliğin, 3.14 No'lu eşitlikte gösterilen formu kullanılmıştır:

$$\ln k = \frac{-E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln k_o \quad (3.14)$$

Burada :

- k : Hız sabiti (gün⁻¹),
- k_o : Frekans faktörü (gün⁻¹),
- E_a : Aktivasyon enerjisi (kJ mol⁻¹),
- R : Gaz sabiti (8.314 x 10⁻³ kJ mol⁻¹ K⁻¹),
- T : Sıcaklık (K).

Aktivasyon enerjisinin hesaplanması amacıyla, antosiyaninlerin parçalanma reaksiyonuna ilişkin farklı sıcaklıklardaki hız sabitlerinin (k) doğal logaritmaları (ln k) aritmetik ölçekli bir grafiğin "y" eksenine ve sıcaklık değerlerinin (Kelvin) resiprokali (1/T) aynı grafiğin "x" eksenine işlenerek, doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Arrhenius grafiği denilen bu eğriye regresyon analizi uygulanmış ve elde edilen eşitliğin eğimi ile gaz sabiti çarpılarak, aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır.

Q₁₀ değerlerinin hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklığa bağımlılığını gösteren diğer bir boyut olan Q₁₀ değeri, sıcaklığın 10°C yükseltilmesinin reaksiyon hızına etkisini gösteren bir kriter olup, 3.15 No'lu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$Q_{10} = (k_2 / k_1)^{10 / (T_2 - T_1)} \quad (3.15)$$

3.2.5.10 İstatistik değerlendirme

Nar sularının farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulmasının briks, pH, titrasyon asitliği, toplam monomerik antosiyanin miktarı, polimerik renk oluşumu, toplam polifenol miktarı ve antioksidan aktivite üzerine etkilerini belirlemek için durultulmamış, doğal sedimantasyona tabi tutulmuş ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulmuş olan nar sularından ve farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinden 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 Ham Sularının Durultulması

Nar suyunda pektin bulunmaması nedeniyle (Cemeroğlu 1977) durultmada depektinizasyon işlemine gerek olmadığına bir önceki bölümde değinilmişti. Bölümümüzde yapılan çalışmada, nar sularında yoğun olarak bulunan polifenollerin bir yandan zamanla tortu oluşumuna neden olurken diğer yandan da meyve suyuna buruk bir lezzet kazandırdığı ve bu nedenle nar sularının durultulması gerektiği de saptanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda; nar sularının durultulmasında daha önce kullanılmamış olan kitosan, kazein, yumurta albümini ve ksantan gam kullanılarak; nar sularının hangi düzeyde berraklaştırılabildiği saptanmış ve bu durultma yardımcı maddelerinin etkinliği, nar sularının durultulmasında önerilen “sadece jelatin kullanılarak uygulanan soğukta durultma yöntemi” ile kıyaslanmıştır. Ayrıca; İspanya gibi nar suyu üretimi yapan bazı ülkelerde uygulanan, durultulmamış nar suyunun +2°C sıcaklıkta 16 h bekletilmesi sonucu üstteki berrak kısmın alınıp kaba filtrasyona tabi tutulmasıyla (doğal sedimantasyon yöntemi) elde edilen nar suyu da kıyaslamaya dahil edilmiştir.

Narın protein içeriğinin çok az ($1.1 \text{ g protein } 100 \text{ g}^{-1}$ nar danesi; Rieger 2006) olması nedeniyle nar sularında proteinden kaynaklanan sonradan bulanma sorunu olmadığı için bentonit kullanılmasına gerek görülmemiştir. Meyve sularının sıcak durultulmasında jelatin uygulandığında kizelsol de mutlaka kullanılması gereken bir durultma yardımcı maddesidir. Aksi takdirde jelatin 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda flok oluşturmamakta ve ayrıca meyve suyunda çözünmüş jelatin kalması sonucu “aşırı durulma (overfining)” meydana gelmektedir. Aşırı durulma, ilerki zamanlarda sonradan bulanmaya neden olmaktadır ve bu durum da daha önce de bahsedildiği gibi meyve suyu endüstrisinin çözüm aradığı en önemli sorunlardan birisidir. Ancak düşük sıcaklıklarda (10°C ve altında), jelatin polifenollerle flok oluşturabilmekte ve meyve sularının soğuk durultulmasında jelatin kullanıldığı durumlarda, kizelsolün kullanılmasına gerek bulunmamaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Bu nedenle nar sularının durultulmasında kizelsol de kullanılmamıştır. Çalışmamızda nar sularının

durultulmasında kullanılan durultma yardımcı maddeleri ile yapılan denemelerin sonuçlarından aşağıda ayrıntılı şekilde bahsedilmiştir.

4.1.1 Nar suyunun doğal sedimantasyon yöntemiyle durultulması

Paketli preste preslenerek elde edilen bulanık nar suyunun bir kısmı, +2°C sıcaklıkta 16 h (doğal sedimantasyon) süreyle sıcaklık ayarlı bir inkübatörde (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) bekletilmiştir. Daha sonra üstteki berrak kısım alınıp kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık değeri (**Nephelometric Turbidity Unit–NTU**) belirlenmiştir. Doğal sedimantasyon yöntemi sonucunda, durultulmamış nar suyunun 534 NTU olan bulanıklık düzeyinin 32 NTU’ya düştüğü (%94 azalma) saptanmıştır.

Vardin ve Fenercioğlu (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, kabukları ile işlenmiş narlardan elde edilen nar ham sularının durultulmasında doğal sedimantasyon, jelatin ve PVPP uygulaması olmak üzere üç farklı yöntem denenmiştir. Doğal sedimantasyon yönteminde nar suyu 5°C sıcaklıkta 96 h inkübe edilmiş ve her 16 h’te bir örnek alınıp bulanıklık ölçümü yapılmıştır. Jelatin ve PVPP uygulamasında ise söz konusu durultma yardımcı maddeleri nar sularına 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 g L⁻¹ dozajlarında eklenmiş ve yine örnekler 5°C sıcaklıkta 16 h inkübe edilmiştir. Çalışmada nar sularının bulanıklık değerleri, spektrofotometre ile 700 nm dalga boyunda verdiği absorbanslara dayanarak kıyaslanmıştır. Sonuç olarak; nar sularının 5°C’de 16 h doğal sedimantasyona bırakılması sonucu bulanıklığında %87.74 azalma gözlenirken, bulanıklıktaki düşüşün 1 g L⁻¹ jelatin ve 1 g L⁻¹ PVPP eklenerek durultulan örneklerde sırasıyla %67.72 ve %86.41 olduğu saptanmıştır.

4.1.2 Nar suyunun jelatinle durultulması

Nar ham suyunun bir kısmı jelatinle durultma denemeleri için ayrılmış ve yukarıda değinilen ilkeler ışığında yapılmış olan durultma ön denemeleri ile berrak nar suyu üretimi için gerekli jelatin miktarı belirlenmiştir. Her bir durultma denemesinde 200 mL meyve suyu kullanılmıştır. Durultma, +4°C’ye kadar soğutulmuş nar suyuna

uygulanmıştır. Bu amaçla; nar sularına 0.0625, 0.125, 0.250, 0.375, 0.500 ve 0.625 g L⁻¹ miktarlarında 6 ayrı dozajda %1 konsantrasyonda (w/v) jelatin içeren çözelti eklenmiş ve nar suları +4°C’de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık değerleri (NTU) belirlenmiştir. Jelatinle yapılan durultma denemelerinin sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış jelatin deneme sonuçları

Jelatin konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.0625	17.10
0.1250	17.00
0.2500	2.27
0.3750	6.99
0.5000	5.44
0.6250	2.37

Bu denemeden alınan sonuçlara göre, nar ham suyuna %1’lik jelatin çözeltisinden 0.250 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla en düşük NTU değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. Çalışmamız sırasında nar ham suyunda birçok dozaj denemesi yapılmıştır. Çalışma süresince yapılan denemelerde 0.250, 0.500 ve 0.625 g L⁻¹ jelatin uygulamalarıyla elde edilen sonuçlar çok fazla salınım gösterdiğinden, bu dozajlar bulanıklık ölçüm sonuçlarının değerlendirilmesinde dikkate alınmamıştır. Bu nedenle, jelatinle durultma uygulaması için ayrılan nar ham suları, 0.375 g L⁻¹ dozajı dikkate alınarak durultulmuştur. Durultma sonunda 6.04 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

Nar suyunun jelatinle durultulmasına ilişkin literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde, durultmada kullanılan jelatin miktarlarının farklılık gösterdiği gözlenmiştir. Bu farklılık meyve suyuna işlenen nar çeşitlerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi aynı çeşit narlarda bile narların kimyasal kompozisyonunun; yetiştirme bölgesine, iklime, olgunluğa ve depolamaya bağlı olarak değişmesinden de kaynaklanabilmektedir. Örneğin laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada,

Hicaznarlardan elde edilen nar sularının soğuk durultma yöntemiyle durultulmasında 0.250 g L⁻¹ düzeyinde (Özkan vd. 2002), diğer bir çalışmada ise 2 g L⁻¹ düzeyinde jelatin kullanılarak benzer berraklıkta meyve suyu elde edilmiştir (Turfan vd. 2011).

4.1.3 Nar suyunun kitosanla durultulması

Çalışmamızda, nar suyunun durultulmasında kitosan; farklı dozajlarda (0.10, 0.25, 0.50, 0.75 ve 1.00 g L⁻¹ nar suyu) ve sıcaklıklarda (4°, 20°, 35° ve 50°C) uygulanarak öncelikle kitosan dozajının farklı sıcaklıklardaki etkisi ortaya konulmuştur. Çok sayıda deneme yapılması nedeniyle, ön denemeler orijinal tez materyalinde yapılmamış olup, bu denemelerde de yine tarafımızca üretilen bir önceki nar sezonunda hasat edilen narlardan elde edilmiş nar ham suları kullanılmıştır. Kitosanla durultma işleminin nasıl yapılacağı, bu aşamada ortaya konulan parametrelerle belirlendikten sonra, gerçek dozaj denemeleri orijinal tez materyalinde gerçekleştirilmiştir. Optimum durultma koşullarının belirlenmesi için yapılan her bir durultma ön denemesinde, 100 mL meyve suyu kullanılmıştır. Çizelge 4.2’de, nar ham suları ile 4°C’de yürütülen deneme sonuçları verilmiştir. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi; 4°C sıcaklıkta en iyi berraklığa; nar suyuna 0.1 g L⁻¹ dozajda kitosan çözeltisi eklenip, kısa süreli yavaş bir karıştırma ile ulaşılmıştır. Bu sıcaklıkta, hızlı ve uzun süreli karıştırmanın etkisi sadece bir kitosan konsantrasyonunda denenmiştir. “Kısa süreli yavaş karıştırma” ile, kitosan eklendikten sonra, nar suyunun bir pipet yardımı ile 15 s süreyle karıştırılması kastedilmiştir. Buna karşın “hızlı uzun süreli karıştırma” ile, kitosan eklendikten sonra, nar suyunun bir manyetik karıştırıcıda (IKA, RCT basic, Staufen, Almanya), orta düzeydeki karıştırma hızında (5 düzeyinde) 2 h süreyle yapılan karıştırma kastedilmiştir. Yavaş ve hızlı karıştırmanın nar sularının berraklaştırılması üzerine etkisi, 20°C’de detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur.

20°C sıcaklıkta, karıştırma hızı (yavaş ve hızlı) ve süresinin (15 s ve 2 h), durultma etkinliği üzerine etkisi belirlenmiştir. Yavaş karıştırmanın etkisini belirlemek amacıyla yürütülen denemede, 20°C’deki nar ham sularına; 5 ayrı dozda (0.10, 0.25, 0.50, 0.75 ve 1.00 mg L⁻¹) kitosan içerecek şekilde kitosan çözeltisi eklenmiş ve örnekler 10–15 s süreyle yavaşça karıştırılmıştır. Farklı dozajlarda kitosan eklenen nar sularında durultma

denemesi; 20°C sıcaklıkta yapılmış ve 21 h süreyle inkübasyon uygulanmıştır. Hızlı karıştırmanın etkisini belirlemek amacıyla yürütülen denemede ise, nar sularına farklı dozajlarda kitosan çözeltisi eklendikten sonra, uzun süreli (2 h) ve hızlı bir karıştırma işlemi yapılmış ve aynı sıcaklıkta 19 h süreyle inkübasyon uygulanmıştır. Bu süre sonunda her iki örnek de kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık değerleri (NTU) belirlenmiştir. Elde edilen veriler, Çizelge 4.3'te verilmiştir. Bu denemelerden elde edilen sonuçlara göre, 20°C sıcaklıkta en iyi berraklığa, nar ham suyuna 0.1 g L⁻¹ konsantrasyonda kitosan çözeltisi eklenmesi ve yavaşça kısa süreli (15 s) karıştırılmasıyla ulaşılmıştır. Genel olarak, hızlı ve uzun süreli karıştırılan örneklerin bulanıklık düzeyi daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.2 4°C'deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine, kitosan dozajları ile yavaş ve kısa süreli karıştırmanın etkisi

Kitosan konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	
	Yavaş karıştırma (15 s)	Hızlı karıştırma (2 h)
0.10	6.4	8.77
0.25	15.3	–
0.50	22.8	–
0.75	14.0	–
1.00	33.2	–

Çizelge 4.3 20°C'deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine; farklı karıştırma hızı, karıştırma süresi ve kitosan dozajlarının etkisi

Kitosan konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)	
	Yavaş karıştırma (15 s)	Hızlı karıştırma (2 h)
0.10	2.92	3.40
0.25	4.85	6.14
0.50	2.95	5.10
0.75	4.52	8.20
1.00	7.22	6.74

Aynı dozajlardaki kitosan çözeltisi; 35° ve 50°C sıcaklıklardaki nar ham suyuna da yukarıda anlatıldığı şekilde uygulanmıştır. Hızlı ve uzun süreli karıştırmanın nar sularının durultulması üzerine olumlu bir etkisi olmadığı için (Çizelge 4.2 ve 4.3), 35° ve 50°C’lerde nar sularına kitosan eklendikten sonra nar suları bir pipet yardımıyla yavaşça karıştırılarak kitosanın homojen olarak nar suyunda dağılımı sağlanmış ve daha sonra örnekler bu sıcaklıklarda 2 h süreyle kendi halinde bırakılmıştır. Ardından örnekler 19 h süreyle oda sıcaklığında (20°C’de) inkübasyona bırakılmıştır. 35°C’deki nar ham suyu durultma denemeleri Çizelge 4.4’te, 50°C’dekiler ise, Çizelge 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.4 35°C’deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine, farklı kitosan dozajlarının etkisi

Kitosan konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.10	11.80
0.25	13.30
0.50	6.67
0.75	8.62
1.00	8.76

Çizelge 4.5 50°C’deki nar ham sularının bulanıklık düzeyi üzerine, farklı kitosan dozajlarının etkisi

Kitosan konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.10	14.3
0.25	27.7
0.50	13.7
0.75	16.0
1.00	20.1

Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5 incelendiğinde; bu sıcaklıklarda en iyi berraklığa, 0.50 g L⁻¹ dozajında kitosan ilavesi ve yavaşça kısa süreli karıştırmayla ulaşıldığı görülmektedir.

Tüm sıcaklık uygulamalarındaki; en iyi berraklığa ulaşılan kitosan dozajları, toplu olarak Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Deneme yapılan tüm sıcaklıklarda en iyi berraklığa ulaşılan kitosan dozajları

Kitosan konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Sıcaklık (°C)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.1	4	6.40
0.1	20	2.92
0.5	35	6.67
0.5	50	13.70

Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi; bu aşamada yürütülen denemelerde, en iyi berraklık; 20°C sıcaklıkta, yavaş ve kısa süreli karıştırma sonucunda elde edilmiştir. Bu aşamadan sonra, kitosan uygulanan nar suyunun 20°C sıcaklıkta inkübasyonu süresince bulanıklık değerinin nasıl değiştiği saptanmaya çalışılmıştır. Bu amaçla; 6 adet 200 mL hacminde nar suyuna aynı dozda kitosan çözeltisi eklenmiş ve örnekler 20°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince belirli zaman aralıklarında alınan örnekler, kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve bulanıklık değerleri (NTU) türbidimetre ile belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere, nar ham sularına kitosan eklendikten sonra inkübasyon süresi boyunca süre ilerledikçe bulanıklık değerleri genel olarak azalmıştır. Ancak inkübasyon 20°C’de yapıldığından nar suyunun bu sıcaklıkta uzun süre kalması nar suyunun oksidasyonunu arttırabilecektir. Bu nedenle inkübasyonun, diğer durultma uygulamalarında olduğu gibi 16 h süreyle yapılmasına karar verilmiştir.

Buraya kadar, nar ham suyunun kitosanla durultulmasında maksimum berraklığa ulaşılabilmesi için karıştırma hızı ve süresi, inkübasyon sıcaklığı ve süresi gibi bazı parametrelerin ortaya konulmasına çalışılmış ve bu konuda yapılan çalışmaların sonuçları verilmiştir. Bu parametrelerin belirlenmesinde kullanılan nar suyu kitlesi, orijinal tez materyalimize ait olmadığı ve her iki nar suyu kitlesinin bileşimi birbirinden

farklı olabileceği için; bu denemelerde maksimum berraklığa ulaşılan dozaj, orijinal tez çalışmasında kullanılan nar sularının durultulmasında doğrudan dikkate alınmamıştır.

Çizelge 4.7 Kitosan uygulanmış nar sularının (200 mL) bulanıklık değerlerinin inkübasyon süresiyle (20°C’de) değişimi

İnkübasyon süresi (h)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
2	15.80
4	8.60
6	10.60
8	9.96
10	7.69
22	3.68

Bu nedenle bu aşamada belirlenen parametreler kullanılarak tez çalışmasında kullanılan nar sularına bir dizi durultma ön denemesi yapılmış ve durultmada kullanılacak kitosan dozajı belirlenmiştir. Her bir durultma denemesinde 200 mL meyve suyu kullanılmıştır. Durultma, yukarıda belirlendiği gibi 20°C sıcaklıktaki nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar sularına 0.05–1.0 g L⁻¹ arasındaki 11 ayrı dozda %1 konsantrasyonda (w/v) kitosan içeren çözelti eklenmiş ve nar suları 20°C’de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık değerleri (NTU) belirlenmiştir. Kitosan dozaj denemelerinin sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Bu denemeden alınan sonuçlara göre, nar ham suyuna %1’lik kitosan çözeltisinden 0.90 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla en düşük NTU değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. Ancak 0.50 g L⁻¹ kitosan konsantrasyonu ile de iyi bir berraklığa ulaşıldığı ve bu berraklık değeri ile 0.90 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla elde edilen berraklık değeri arasında önemli bir fark olmadığı düşünülmüştür. Başka bir deyişle, kitosan dozajındaki 0.4 g L⁻¹’lik artış, bulanıklık değerinde önemli bir fark yaratmamıştır. Bu nedenle, bu konsantrasyonda (0.90 g L⁻¹) kitosan kullanımının gereksiz olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca; 0.20 ve 0.30 g L⁻¹ kitosan uygulamasıyla elde edilen sonuçlar çok fazla salınım gösterdiğinden, bu dozajlar da bulanıklık ölçüm

sonuçlarının değerlendirilmesinde dikkate alınmamış ve kitosanla durultma uygulaması için ayrılan nar ham suları, 0.50 g L⁻¹ dozajı dikkate alınarak durultulmuştur. Durultma sonunda 10.3 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

Çizelge 4.8 Nar ham sularına (200 mL) 20°C’de uygulanmış kitosan deneme sonuçları

Kitosan konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.05	18.30
0.10	13.10
0.20	10.30
0.30	9.88
0.40	9.52
0.50	9.18
0.60	9.53
0.70	10.30
0.80	11.20
0.90	6.92
1.00	7.84

Literatürde kitosanın, nar sularının durultulmasında kullanılmasına ilişkin herhangi bir çalışmaya rastlanmamasına karşın diğer bazı meyve sularında durultma amacıyla kullanıldığı birkaç çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde, Oszmiański ve Wojdyło (2007), çeşitli durultma uygulamalarının elma suyunun polifenol içeriği ve rengi üzerine etkilerini araştırmış ve çalışma sonucunda; kitosanın, elma suyunun biyokimyasal parametreleri üzerine herhangi bir etkide bulunmadığını ve elma sularının durultulmasında durultma yardımcı maddesi olarak kullanılabileceğini saptamışlardır. Elma sularında yapılan bir başka çalışmada da; 0.8 kg/m³ suda çözünür nitelikteki kitosan, elma suyunun bulanıklık değerini sıfıra düşürecek kadar iyi durultma etkisi göstermiştir (Soto-Peralta vd. 1989). Yine meyve suyu üretiminde kitosanın kullanımı amacıyla Chen ve Li (1996) tarafından yapılan bir çalışmada; kitosan, greyfruit sularında gerek pektinaz uygulamasını takiben gerekse pektinaz uygulaması yapılmadan durultma yardımcı maddesi olarak başarıyla kullanılmıştır (Shahidi vd. 1999).

4.1.4 Nar suyunun kazeinle durultulması

“Materyal ve Yöntem” bölümünde bahsedildiği gibi nar sularının kazeinle durultulmasında, kullanılacak kazein dozajı ve inkübasyon sıcaklığı, ön denemeler ile belirlenmiştir. Çalışmamızda; nar suyunun durultulmasında kazein, 9 farklı dozajda (0.0625, 0.125, 0.250, 0.375, 0.500, 0.625, 0.750, 0.875 ve 1.000 g L⁻¹) ve iki farklı sıcaklıkta (4° ve 20°C) uygulanarak, kazeinle durultma için optimum sonuç veren koşullar belirlenmeye çalışılmıştır. Durultma etkinliği üzerine sıcaklık faktörünün etkisi üç kazein konsantrasyonunda denenmiştir. Bu denemeye ait sonuçlar, Çizelge 4.9’da verilmiştir. Çizelge 4.9’daki sonuçlara göre kazeinle durultmada genel olarak 4°C’de inkübasyonla daha iyi berraklık değerlerine ulaşılmıştır. Bu aşamada elde edilen sonuç ışığında; kazeinle yapılan dozaj denemelerinde nar suları, durultma yardımcı maddesi eklendikten sonra 4°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır.

Çizelge 4.9 Nar ham sularının durultulmasında kazein etkinliği üzerine inkübasyon sıcaklığının etkisi

Sıcaklık (°C)	Kazein konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
4	0.250	16.0
	0.375	14.2
	0.500	11.6
20	0.250	23.9
	0.375	20.9
	0.500	9.21

Kazeinle yapılan dozaj denemelerinde 200 mL meyve suyu kullanılmıştır. Bu amaçla; nar sularına 0.0625–1.000 g L⁻¹ arasındaki 9 ayrı dozajda %1 konsantrasyonda (w/v) kazein içeren çözelti eklenmiş ve örnekler 4°C’de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık değerleri (NTU) belirlenmiştir. Kazein dozaj denemelerinin sonuçları Çizelge 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.10 Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış kazein deneme sonuçları

Kazein konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.0625	39.30
0.125	23.90
0.250	8.19
0.375	9.85
0.500	13.40
0.625	4.94
0.750	4.00
0.875	4.58
1.000	4.51

Bu denemeden alınan sonuçlara göre, nar ham suyuna %1'lik kazein çözeltisinden 0.750 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla en düşük bulanıklık (NTU) değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. Buna karşın 0.250 g L⁻¹ kazein konsantrasyonu ile de iyi bir berraklığa ulaşıldığı ve bu berraklık değeri ile 0.750 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla elde edilen berraklık değeri arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Başka bir ifadeyle, kazein dozajındaki 0.5 g L⁻¹lik artış, bulanıklık değerinde sadece 4.19 NTU'luk bir azalma meydana getirmiştir. Bu nedenle, bu iki konsantrasyon arasında 0.250 g L⁻¹ dozajı tercih edilmiştir. Ancak çalışmamız sırasında nar ham suyunda birçok kez yapılan dozaj denemelerinde 0.250 g L⁻¹ kazein uygulamasıyla elde edilen sonuçlar çok fazla salınım gösterdiğinden, bu dozaj da bulanıklık ölçüm sonuçlarının değerlendirilmesinde dikkate alınmamıştır. Tüm bu değerlendirmeler sonucunda kazeinle durultma uygulaması için ayrılan nar ham suları, 0.375 g L⁻¹ dozajı dikkate alınarak durultulmuştur. Durultma sonunda 6.53 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

Cosme vd. (2008) tarafından genç beyaz şaraplarda yapılan çalışmada, durultmada yumurta albümini, kazein, potasyum kazeinat, jelatin ve balık tutkalı (isinglass) kullanılmıştır. Şaraplara, sözkonusu durultma yardımcı maddeleri eklendikten sonra, şaraplar 7 gün süreyle 20°C'de inkübe edilmiş ve santrifüj edilmek suretiyle tortularından ayrılmıştır. 650 nm dalga boyunda gerçekleştirilen absorbans ölçümleriyle

örneklerin bulanıklık düzeyleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, durultulmamış şarabın 7.1 olan bulanıklığının çalışmamızda da durultma yardımcı maddesi olarak kullanılan 0.08 g L⁻¹ jelatinle 5.3'e, 0.125 g L⁻¹ albüminle 3.9'a ve 0.4 g L⁻¹ kazeinle 1.8'e düştüğü gözlenmiştir.

4.1.5 Nar suyunun albüminle durultulması

Çalışmamızda; nar suyunun durultulmasında albümin, 9 farklı dozajda (0.0625, 0.125, 0.250, 0.375, 0.500, 0.625, 0.750, 0.875 ve 1.000 g L⁻¹) ve iki farklı sıcaklıkta (4° ve 20°C) uygulanarak albüminle durultma için en iyi sonuç veren koşullar belirlenmeye çalışılmıştır. Durultma etkinliği üzerine sıcaklık faktörünün etkisi üç albümin konsantrasyonunda denenmiştir. Bu denemeye ait sonuçlar, Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Nar ham sularının durultulmasında albümin etkinliği üzerine inkübasyon sıcaklığının etkisi

Sıcaklık (°C)	Albümin konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
4	0.125	11.6
	0.250	17.1
	0.375	16.2
20	0.125	22.2
	0.250	23.0
	0.375	30.5

Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi, nar ham sularının albüminle durultulmasında 4°C'de inkübasyonla daha iyi berraklık değerlerine ulaşılmıştır. Bu denemeye, albüminle durultulmuş nar sularının hangi sıcaklıkta inkübe edilmesi gerektiği belirlenmiştir. Bu aşamadan sonra nar sularında maksimum berraklığa ulaşmak için kullanılması gereken albümin dozajı saptanmıştır. Albüminle yapılan dozaj denemelerinde 200 mL meyve suyu kullanılmıştır.

Bu amaçla; nar sularına 0.0625–1.000 g L⁻¹ arasındaki 9 ayrı dozda %1 konsantrasyonda (w/v) albümin içeren çözelti eklenmiş ve nar suları yukarıda belirtildiği gibi 4°C’de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık (NTU) değerleri belirlenmiştir. Albümin dozaj denemelerinin sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12 Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış albümin deneme sonuçları

Albümin konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.0625	17.3
0.125	14.4
0.250	14.7
0.375	17.0
0.500	18.0
0.625	33.2
0.750	17.4
0.875	13.6
1.000	31.2

Bu denemeden alınan sonuçlara göre, nar ham suyuna %1’lik albümin çözeltisinden 0.875 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla en düşük NTU değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. Buna karşın 0.125 g L⁻¹ albümin konsantrasyonu ile de 0.875 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla elde edilen berraklığa çok yakın bir berraklık değerine ulaşılmıştır. Diğer bir ifadeyle, albümin dozajındaki 0.75 g L⁻¹’lik artış, bulanıklık değerinde önemli bir fark meydana getirmemiştir. Bu nedenle, albüminle gerçekleştirilecek durultma uygulaması için ayrılan nar ham suları, 0.125 g L⁻¹ dozajı dikkate alınarak durultulmuştur. Durultma sonunda 10.1 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

4.1.6 Nar suyunun ksantan gamla durultulması

Literatürde ksantan gam çözeltisinin nasıl hazırlanması gerektiği konusunda sadece bir çalışmaya rastlanmıştır (Fang vd. 2007). Bu nedenle; çalışmamızda öncelikle nar ham

suyunun durultulmasında kullanılacak ksantan gam çözeltisinin nasıl hazırlanması gerektiği ortaya konulmuştur. Bu amaçla; ksantan gam çözeltisi 5 farklı şekilde hazırlanmış ve çözeltinin hazırlanma şeklinin, nar suyunun durultulmasındaki etkinliği üzerine etkisi belirlenmiştir. Farklı şekillerde hazırlanan ksantan gam çözeltileri; nar ham sularına aynı dozajda (0.4 g L^{-1}), aynı şekilde ve aynı koşullarda uygulanmıştır. Ksantan gam eklenen nar suları iki farklı sıcaklıkta (4° ve 20°C) 16 h süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Böylece her iki sıcaklıkta da diğer faktörlerin bulanıklık düzeyine etkisi ortadan kaldırılarak sadece çözelti hazırlanışının etkisi saptanmıştır. Bu amaçla yapılan durultma denemelerinin sonuçları Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13 Nar ham sularının durultulmasında ksantan gamın etkinliği üzerine, ksantan gam çözeltisinin hazırlanış şeklinin farklı sıcaklıklardaki etkisi

Uygulama	Bulanıklık düzeyi (NTU)	
	4°C 'de inkübasyon	20°C 'de inkübasyon
A	21.7	20.5
B	16.7	21.8
C	31.5	31.1
D	22.2	25.4
E	20.2	24.6

A: Taze hazırlanmış %1'lik çözelti

B: Taze hazırlanıp 60°C 'ye ısıtılmış çözelti

C: Taze hazırlanıp 60°C 'ye ısıtılmış ve 1 gece oda sıcaklığında bekletilmiş çözelti

D: Hazırlandıktan sonra 1 gece oda sıcaklığında bekletilmiş çözelti

E: Hazırlandıktan sonra 1 gece oda sıcaklığında bekletilmiş ve ertesi gün 60°C 'ye ısıtılmış çözelti

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi bulanıklık düzeyine etki bakımından en iyi sonucu B uygulaması ve 4°C 'de inkübasyon vermiştir. Bu bilgi ışığında bundan sonraki denemelerde kullanılan %1'lik ksantan gam çözeltisi B uygulamasındaki gibi hazırlanmıştır. Bu amaçla, ksantan gamın suda çözündürülmesiyle hazırlanan taze çözelti 60°C 'ye ısıtılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulan çözelti, nar ham sularına uygulanmış ve ksantan gam çözeltisi eklenen nar suları 4°C sıcaklıkta 16 h süreyle inkübe edilmiştir.

Burada kullanılan durultma yardımcı maddesi, gam yapısında olduğu için nar suyuna eklendiğinde, nar suyu içinde homojen dağılmamaktadır. Bu nedenle ksantan gamla nar

ham suyunun durultulmasında bulanıklığa etki eden diğer bir faktör de ksantan gam uygulamasının ardından nar suyunun karıştırılma şeklidir. Bu nedenle bir deneme daha yapılarak, aynı dozda (0.4 g L^{-1}) ksantan gam eklenen nar suları 3 farklı şekilde karıştırılmış ve nar suları 4°C 'de 16 h süreyle inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda, nar sularının kaba filtrasyona tabi tutulmasıyla elde edilen bulanıklık değerleri (NTU) Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14 Nar ham sularının durultulmasında ksantan gamın etkinliği üzerine karıştırma şeklinin etkisi

Uygulama	Bulanıklık düzeyi (NTU)
1	21.7
2	20.9
3	32.7

1: Çözelti nar suyuna eklendikten sonra, pipetle yavaşça karıştırılmıştır.

2: Çözelti nar suyuna eklendikten sonra, içerik; 2 dak. süreyle hızlı (manyetik karıştırıcıda 7. devirde) karıştırılmıştır.

3: Çözelti nar suyuna eklendikten sonra mezür, yere paralel şekilde dakikada 60 defa sallanmıştır.

Çizelge 4.14'te görüldüğü üzere en düşük bulanıklık düzeyine 2. karıştırma şekliyle ulaşılmıştır. Ancak yine Çizelge 4.14'teki değerlere bakıldığında 1. uygulamayla 2. uygulama arasında bulanıklık düzeyine etki bakımından önemli bir fark bulunmamaktadır. Aynı zamanda 1 numaralı karıştırma şeklinin daha pratik olması nedeniyle nar suyuna eklenen ksantan gam çözeltisinin pipetle yavaşça karıştırılmasına karar verilmiştir.

Çözeltinin nar ham sularına uygulanmasına yönelik; çözeltinin hazırlanma şekli, karıştırma şekli ve inkübasyon sıcaklığı gibi parametreler belirlendikten sonra nar suyuna eklenecek ksantan gam dozajı da ön denemelerle belirlenmiştir. Her bir durultma denemesinde 200 mL meyve suyu kullanılmıştır. Çözelti, nar suyuna yukarıdaki denemeler sonucunda elde edilen bilgiler ışığında uygulanmıştır. Durultma, yukarıda belirlendiği gibi 4°C sıcaklıktaki nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar sularına $0.05\text{--}1.0 \text{ g L}^{-1}$ arasındaki 12 ayrı dozajda %1 konsantrasyonda ksantan gam içeren çözelti eklenmiş ve nar suları 4°C 'de 16 h süreyle bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede bulanıklık değerleri (NTU)

belirlenmiştir. Ksantan gam dozaj denemelerinin sonuçları Çizelge 4.15’te verilmiştir. Bu denemeden alınan sonuçlara göre, nar ham suyuna %1’lik ksantan gam çözeltisinden 0.075 g L⁻¹ dozajının uygulanmasıyla en düşük bulanıklık değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. Ayrıca zaten dozaj ne kadar arttırılsa da ulaşılan bulanıklık değeri çok değişiklik göstermemiştir. Bu nedenle mümkün olduğunca az durultma yardımcı maddesi kullanımı tercih edilmiş ve ksantan gamla durultma uygulaması için ayrılan nar ham suları, 0.075 g L⁻¹ dozajı dikkate alınarak durultulmuştur. Durultma sonunda 20 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

Çizelge 4.15 Nar ham sularına (200 mL) uygulanmış ksantan gam deneme sonuçları

Ksantan gam konsantrasyonu (g L ⁻¹)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0.05	20.1
0.075	16.9
0.10	21.4
0.20	22.4
0.30	21.9
0.40	22.1
0.50	20.9
0.60	23.8
0.70	21.8
0.80	22.9
0.90	18.9
1.00	21.3

Literatürde rastlanan ksantan gamın durultma amacıyla kullanıldığı sınırlı sayıdaki araştırmalardan birinde, “bayberry” sularında ksantan gam (0.3 g L⁻¹)/kitosan (0.1 g L⁻¹) kombinasyonu kullanılmıştır (Fang vd. 2007). Durultma sonucunda bayberry suyunun bulanıklığının 1010 NTU’dan 71.3 NTU’ya düştüğü saptanmıştır.

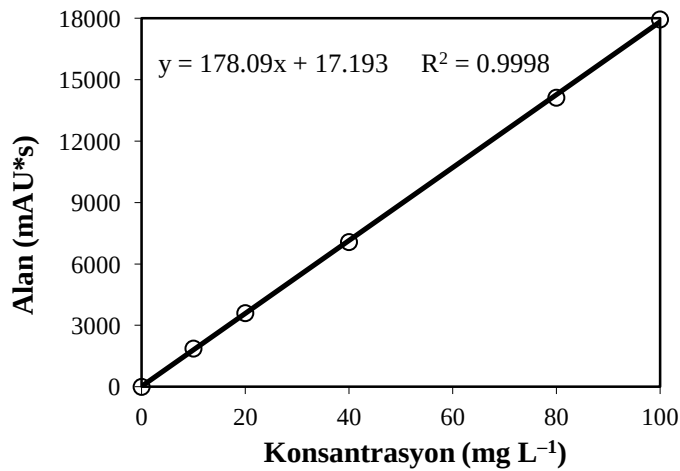
Durultulmamış nar suyunun bulanıklık değeri ile doğal sedimentasyon uygulanmış ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulmuş nar sularında en iyi

berraklık değerlerinin elde edildiği dozajlar, inkübasyon koşulları ve ulaşılan berraklık değerleri aşağıda özet halinde verilmiştir:

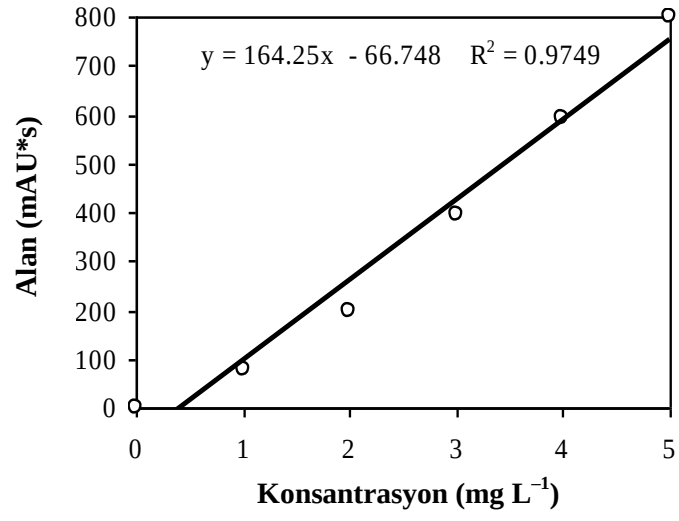
	Dozaj (g L ⁻¹)	İnkübasyon sıcaklığı (°C)	İnkübasyon süresi (h)	Bulanıklık değeri (NTU)
➤ Durultulmamış nar suyu	-	-	-	534.00
➤ Doğal sedimantasyon	-	2	16	32.00
➤ Jelatin	0.375	4	16	6.04
➤ Kitosan	0.500	20	16	10.30
➤ Kazein	0.375	4	16	6.53
➤ Albümin	0.125	4	16	10.10
➤ Ksantan gam	0.075	4	16	20.00

4.2 Nar Suları ve Konsantrelerinin Antosiyanin İçeriklerinin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler

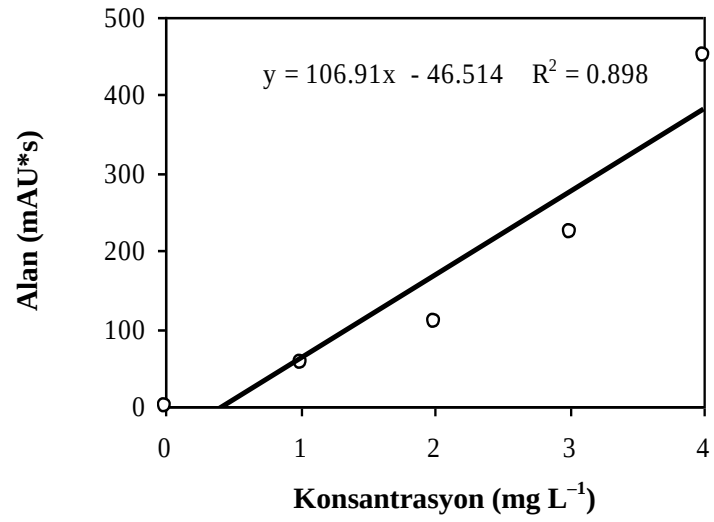
Nar suları ve konsantrelerinde HPLC yöntemi ile antosiyanin miktarlarının hesaplanmasında kullanılan siyanidin-3,5-diglikozit (Cy), delfinidin-3-glikozit (Dp), pelargonidin-3,5-diglikozit (Pg), siyanidin-3-glikozit ve pelargonidin-3-glikozit standart eğrileri hazırlanmış ve bu eğriler sırasıyla Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'te verilmiştir. Standart eğrilerin oluşturulmasında, analizlerde elde edilen verilere HPLC programı kullanılarak doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve bu eğrileri tanımlayan eşitlikler belirlenmiştir. Bu eşitlikler yardımı ile nar suları ve konsantrelerinde bulunan her bir antosiyaninin miktarı hesaplanmıştır.



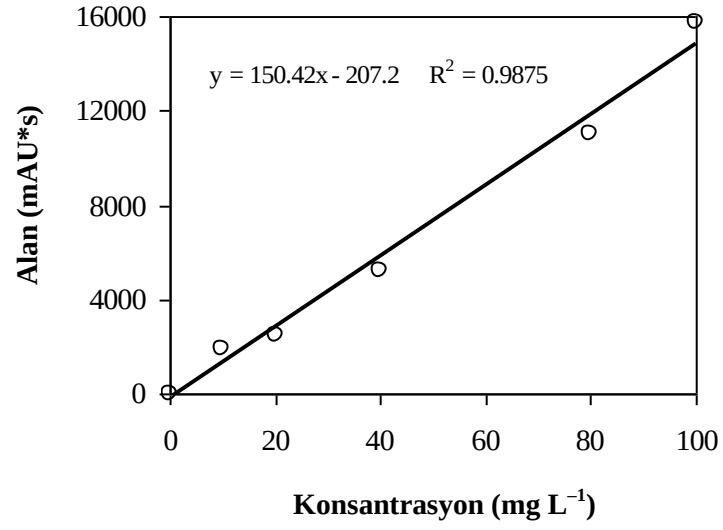
Şekil 4.1 Siyanidin-3,5-diglikozit standart eğrisi



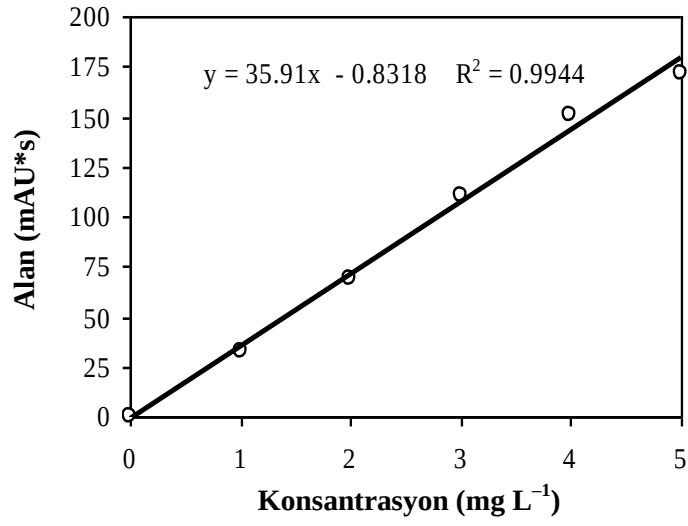
Şekil 4.2 Delfinidin-3-glikozit standart eğrisi



Şekil 4.3 Pelargonidin-3,5-diglikozit standart eğrisi



Şekil 4.4 Siyanidin-3-glikozit standart eğrisi



Şekil 4.5 Pelargonidin-3-glikozit standart eğrisi

4.3 Nar Sularının Antosiyanin İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Farklı durultma uygulamalarının nar suyu antosiyaninleri üzerine etkisini saptamak üzere, nar sularındaki antosiyanin miktarları, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.16’da verilmiştir. Çizelge 4.16’da görüldüğü gibi, durultmadan önce nar suyunda 180 mg L^{-1} antosiyanin olmasına karşın, her bir durultma uygulaması sonucu antosiyaninlerde değişik düzeylerde (%10–27.2 arasında) kayıp meydana geldiği saptanmıştır.

Çizelge 4.16 Farklı durultma işlemlerinin, nar sularının toplam monomerik antosiyanin miktarları üzerine etkisi

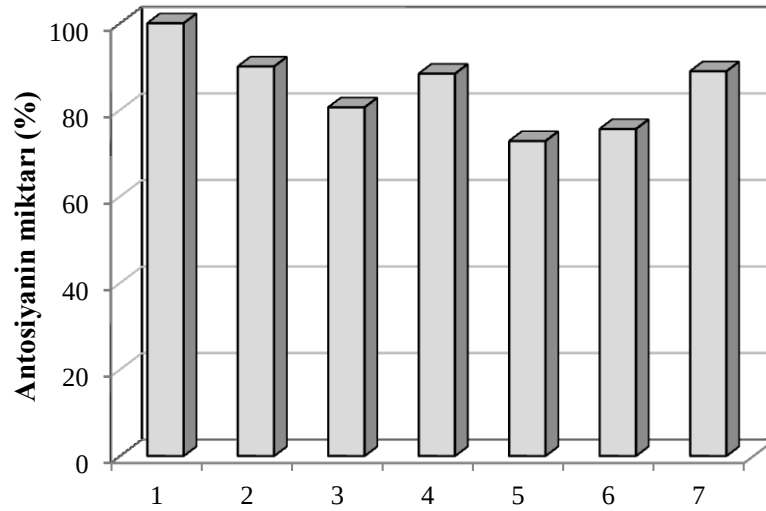
Durultma yöntemi	Toplam monomerik antosiyanin miktarı (mg L^{-1})*
Durultulmamış	180 ± 2.83
Doğal sedimentasyon	162 ± 2.12
Jelatin	145 ± 1.41
Kitosan	159 ± 4.95
Kazein	131 ± 1.41
Albümin	136 ± 0.71
Ksantan gam	160 ± 1.41

*: pH diferansiyel metoduyla tayin edilen toplam monomerik antosiyanin miktarları, siyanidin-3-glikozit cinsinden aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Nar sularının antosiyanin miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 1), tüm durultma uygulamalarının, antosiyanin miktarında önemli düzeyde azalmaya yol açtığını göstermiştir ($p < 0.05$). Elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış (EK 1; Çizelge 2) ve nar suyunun “hiçbir durultma yardımcı maddesi uygulanmadan” 2°C ’de 16 h süreyle bekletilmesi (doğal sedimentasyon) ile antosiyanin miktarında meydana gelen kaybın, kitosan ve ksantan gam uygulamasıyla durultulan nar sularındakine eşdeğer olduğu saptanmıştır ($p > 0.05$).

Durultulmamış nar suyunun antosiyanin miktarı “% 100” kabul edilerek farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar sularının antosiyanin miktarları “%” olarak

hesaplandığında, durultma uygulamaları sonucunda nar sularının antosiyanin içeriğindeki “% azalmalar” Şekil 4.6’da verilen histogramdan daha açık görülmektedir. Şekil 4.6’da görüldüğü gibi, durultma uygulamalarından nar suyu antosiyaninlerinde en büyük kayba kazeinin (%27) neden olduğu saptanırken, en az kayba doğal sedimantasyon (%10), ksantan gam (%11.1) ve kitosanın (%11.6) neden olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.6 Farklı durultma uygulamalarının nar suyu antosiyaninleri üzerine etkisi
1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5 : Kazein, 6: Albümin, 7: Ksantan gam

Bilindiği gibi oksijen varlığında antosiyaninler, doğrudan oksidatif reaksiyonla ve/veya oksidatif enzimlerin aktivitesi ile parçalanmaktadır. Doğrudan oksidasyonda bir radikal, ara semi-kinonlara bağlanarak nar suyu pH’sında hala çözünür özellikte olan sarı renkte algılanan oligomerleri oluşturmaktadır (Cilliers ve Singleton 1991). Ancak asidik ortamlarda bu reaksiyon çok yavaş gerçekleşmekte ve bu süreç haftalar hatta aylar alabilmektedir (Oszmiański vd. 1985). Bu nedenle, durultma sırasında oluşan polimerik rengin daha çok oksidatif bir enzim olan polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi ile oluştuğu düşünülmüştür. Oksijen varlığında PPO enzimi nar suyunda bulunan fenolik asitlerden o-difenol yapısındaki klorojenik asidin o-kinona (klorojenokinon) oksidasyonunu katalize etmekte ve enzimatik esmerleşme reaksiyonu başlamaktadır. Oluşan o-kinon antosiyaninlerle reaksiyona girerek kahverengi kondensasyon ürünleri oluşturmaktadır.

Doğal sedimantasyon yönteminde nar suyunun durultulması amacıyla herhangi bir durultma yardımcı maddesine başvurulmaması nedeniyle bu yöntemle nar ham suyunda meydana gelen antosiyanin kaybının, uygulama süresince materyalin oksijene maruz kalması sonucu antosiyaninlerin doğrudan oksidasyonla ve/veya PPO enzimi aracılığıyla enzimatik olarak parçalanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kader vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, Pg-3-glu'in kafeik asidin oksidasyonu sonucu oluşan hidroksikafeik asit o-kinonla reaksiyona girmesi sonucu parçalandığı belirtilmiştir. Sarni vd. (1995), Cy-3-glu ve Mv-3-glu'in parçalanma ürünleri arasında kafeoiltartarik asit ve antosiyanin kalıntıları olduğunu ve bu parçalanma ürünlerinin oksidasyonun daha ileri aşamalarında renksiz ürünlere dönüştüğünü bildirmişlerdir.

“4.1.6 Nar suyunun ksantan gamla durultulması” bölümünde ksantan gamla nar suyunun durultulması için yapılan denemelerde ksantan gam dozajı ne kadar arttırılsa da ulaşılan bulanıklık değerinde önemli bir değişiklik gözlenmediğinden bahsedilmişti. Bunun yanı sıra doğal sedimantasyon ve ksantan gam uygulamasıyla durultulan nar sularının bulanıklık değerlerinin yakın (sırasıyla 32 ve 20 NTU) ve toplam polifenol miktarlarının da aynı olması bu iki uygulamaya tabi tutulan nar sularından aynı miktarda polifenol uzaklaştığının göstergesidir. Buradan hareketle ksantan gamın aslında nar suyunun durultulmasında herhangi bir işlevinin olmadığı veya çok az etkinlik gösterdiği, ksantan gam eklenen nar suyunun tıpkı doğal sedimantasyona bırakılan örneklerdeki gibi kendi kendine durulduğu bu nedenle de antosiyanin miktarındaki azalmanın doğal sedimantasyon uygulamasındakine eşdeğer olduğu sonucuna varılmıştır.

Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu oluşan bir poliglikozamindir. Spagna vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada; kitosanın şarabın pH sınırlarında (pH 2.8–4.0; Clarke ve Bakker 2004) kısmen dissosiyeye olduğu, yapısındaki amin grubunun (NH_2) pozitif yüklendiği (NH_3^+) ve negatif yüklü polifenoller elektrostatik özelliğiyle adsorbe ederek uzaklaştırdığı ifade edilmiştir. Kitosanla polifenoller arasındaki etkileşim ya hidrojen bağıyla ya Van der Waals bağıyla ya da kitosanın amin grubu ile polifenolün karboksil grubu arasındaki iyonik interaksiyonla gerçekleşmektedir (Spagna vd. 1996). Kitosanla durultulan nar sularında iyi bir berraklık değerine ulaşılmasına karşın antosiyanin

miktarında diğer durultma yardımcı maddelerinde olduğu kadar kayıp meydana gelmemesi ise bunun, kitosanın antioksidan aktivitesinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. “4.10 Nar Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Durultma İşleminin Etkisi” bölümünde de ifade edildiği gibi kitosanla durultulan nar sularının antioksidan aktivitesinde durultulmamış örneklere kıyasla %2.4 gibi sınırlı da olsa bir artışın meydana gelmesi bu varsayımımızı destekler niteliktedir.

Nar sularının durultulmasında kullanılan jelatin, albümin ve kazeinin nar ham suyunun antosiyanin miktarında sırasıyla %19.4, %24.4 ve %27.2 azalmaya neden olduğu hem Çizelge 4.16 hem de Şekil 4.6’da görülmektedir. Söz konusu üç durultma yardımcı maddesi de protein yapısında olduğundan durultmada aynı mekanizma ile etkinlik göstermektedirler (Morris ve Main 1995). Çalışmamızda durultma yardımcı maddesi olarak kullanılan jelatin, temel amino asidi prolin olan uzun zincirli protein yapısında bir maddedir. A tipi jelatin olarak sınıflandırılan ve izoelektrik noktası pH 7.0–9.0 arasında olan jelatin; meyve sularının pH sınırlarında (pH 3–4.5) pozitif yük kazanarak, ortamdaki negatif yüklü polifenollerle etkileşmekte ve floklar oluşturmaktadır.

Kazein, sütün bileşiminde bulunan başlıca protein olup izoelektrik noktası pH 4.6’dır (Spagna vd. 2000) ve dolayısıyla kazein de nar suyunun pH’sında (çalışmamızda 3.15 olarak belirlenmiştir) pozitif yüklenmektedir. Ancak kazeinin durultma etkinliği sağlayabilmesi için ortamda tanen varlığı önkoşuldur (Ribéreau-Gayon vd. 2006). Kazein ile ortamdaki polifenoller arasında meydana gelen etkileşimde, her iki moleküldeki aromatik grupların varlığı; kazeinin yapısındaki fonksiyonel gruplarla polifenollerin hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağı oluşumunu arttırmaktadır (Spagna vd. 2000). Flavonoid grubu polifenollere ve esmerleşme ürünlerine etki ettiğinden beyaz şaraplarda kullanımı tercih edilmektedir (Barón vd. 1997). Nitekim çalışmamızda da; flavonoid yapısındaki antosiyaninlere en çok etki eden durultma yardımcı maddesinin kazein olduğu belirlenmiştir.

Albümin ise, negatif yüklü tanenlere bağlanabilen pozitif yüklü yüzey alanına sahip bir proteindir (Morris ve Main 1995). Polifenollerin yapısında bulunan hidroksil grupları ile

albüminin yapısındaki peptit bağları arasında oluşan hidrojen bağlarıyla gerçekleşen flokleşme, protein-polifenol kompleksinin kritik boyuta ulaşması sonrasında çökelmeyle sonuçlanmaktadır. Bu floklar çökelirken, polifenoller ile diğer bulanıklık unsurlarını da beraberinde aşağı doğru sürüklemekte ve böylece durultma işlemi gerçekleşmektedir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Bu nedenle, jelatin, albümin ve kazeinle yapılan durultma işlemleri sonundaki antosiyanin kaybının, bir kısım antosiyaninlerin söz konusu yardımcı maddelerle polifenoller arasında oluşan flokla birlikte meyve suyundan uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda ulaşılan sonuçlar, durultma işleminin nar suyu antosiyaninleri üzerine önemli etkisinin olduğunu göstermiştir. Literatürde; gerek nar suyu gerekse de diğer bazı kırmızı meyve sularında, antosiyaninler üzerine durultmanın etkisinin incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Nar suyunda yapılan bir çalışmada; doğal sedimentasyon ile antosiyanin miktarında %0.3, jelatinle durultmada %5.6 ve PVPP ile durultmada ise, %16.3 azalma meydana geldiği gözlenmiştir (Vardin ve Fenercioğlu 2003). Buna karşın Turfan vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada; jelatinle durultma işleminin, nar suyunun antosiyanin miktarında %19 düzeyinde azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Yine Fang vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; “bayberry” suyu, ksantan gam-kitosan (KG-K) ve jelatin-bentonit (J-B) kombinasyonları kullanılarak durultulmuştur. Çalışma sonucunda; KG-K uygulamasının, antosiyanin miktarında %11, J-B uygulamasının da %10 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Çalışmada KG-K uygulamasında kitosan ve ksantan gamın çapraz bağlanarak bir pektin-kitosan jeli oluşturduğu ve bulanıklık unsurlarının da bu yapı içinde kalarak filtrasyonla ortamdan uzaklaştırıldığı belirtilmiştir. Hager vd. (2008) tarafından böğürtlen suyunda yapılan bir çalışmada da; böğürtlen suyu, durultma amacıyla depektinize edildikten sonra 6000 x g’de 10 dak. süreyle santrifüjlenmiştir. Elde edilen meyve suyu, durultulmuş meyve suyu olarak adlandırılmış ve bu işlem sonunda antosiyanin içeriğinde %17.8 azalma meydana geldiği gözlenmiştir.

Çalışmamızda, nar sularının toplam antosiyanin içerikleri, HPLC ile de belirlenmiştir. HPLC ile toplam antosiyanin miktarı, materyale ait kromatogramdaki her bir antosiyanin pikinin alanının hesaplanmasından sonra, siyanidin-3-glikozit pikine ait

standart eğri esas alınmak suretiyle belirlenmiş ve bunların toplamı "toplam antosiyanin" olarak verilmiştir. Her iki yöntemle de elde edilen veriler, Çizelge 4.17’de verilmiştir. Toplam antosiyanin miktarlarının "siyanidin 3-O-glikozit" cinsinden hesaplanması nedeniyle, iki yöntem arasında kıyaslama yapılması da mümkün olmuştur. İki yöntemle belirlenen antosiyanin miktarları arasında yüksek bir korelasyon olduğu ($r = 0.9306$) ortaya koyulmuştur (Şekil 4.7). Lee vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli meyve sularının (“elderberry”, siyah ahududu ve Cabernet Sauvignon çeşidi üzüm) antosiyanin miktarları hem pH diferansiyel hem de HPLC yöntemiyle belirlenmiş ve iki yöntemle belirlenen antosiyanin miktarları arasında yüksek bir korelasyon olduğu ($r = 0.9310$) saptanmıştır. Yine laboratuvarımızda nar ve siyah havuç sularında yapılan çalışmalarda da aynı iki yöntemle belirlenen antosiyanin miktarları arasında sırasıyla $r = 0.73$ ve $r = 0.925$ gibi iyi korelasyonlar olduğu gözlenmiştir (Turfan vd. 2011 ve Türkyılmaz vd. 2012).

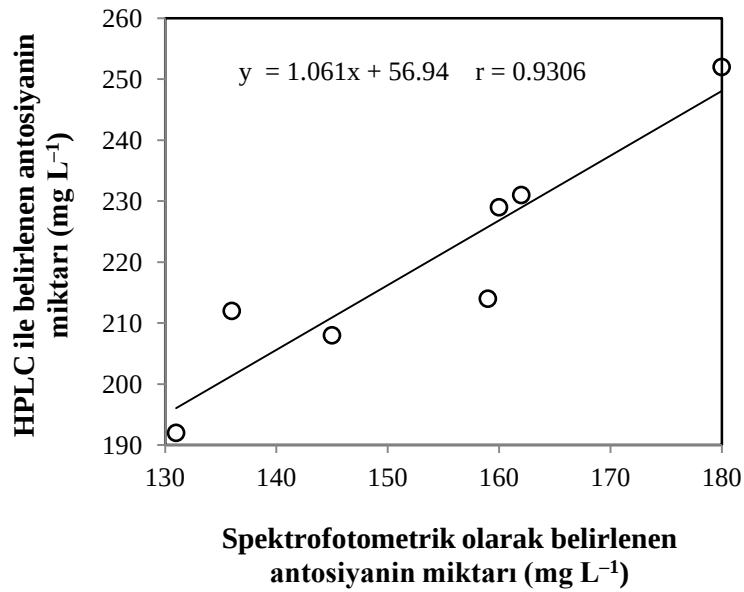
Çizelge 4.17 Durultma uygulanmış ve uygulanmamış nar sularının toplam monomerik antosiyanin¹ içerikleri

Durultma yöntemi	Toplam monomerik antosiyanin miktarı (mg L ⁻¹)	
	Spektrofotometrik	HPLC
Durultulmamış	180±2.83	252±0.71
Doğal sedimentasyon	162±2.12	231±2.83
Jelatin	145±1.41	208±2.83
Kitosan	159±4.95	214±2.12
Kazein	131±1.41	192±3.54
Albümin	136±0.71	212±2.83
Ksantan gam	160±1.41	229±5.66

¹ Antosiyanin miktarları, siyanidin-3-glikozit cinsinden aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Spektrofotometre (pH-diferansiyel yöntemi) ve HPLC ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında; HPLC ile elde edilen sonuçların, spektrofotometrik yöntemle belirlenen antosiyanin miktarlarının yaklaşık 1.4 katı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.17). Benzer bir sonuç, Lee vd. (2008) tarafından nar sularında yapılan bir çalışmada da ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, toplam antosiyanin miktarı hem pH-diferansiyel

yöntemi hem de HPLC yöntemi ile Cy-3-glu cinsinden hesaplanmış ve HPLC yöntemi ile, spektrofotometrik yöntemle bulunandan 5 kat daha fazla toplam antosiyanin bulunmuştur. Buna karşın aynı çalışmada, kıvılcık suyunda her iki yöntemle de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmacılar, her iki yöntemin de duyarlı olduğunu ve HPLC yöntemi ile toplam antosiyanin tayininde literatürdeki araştırmalar arasındaki farklılığın, kullanılan yöntem ve standarda göre farklılık gösterebildiğini vurgulamışlardır. Bu farklılığın diğeri bir nedenini de, sertifikalı antosiyanin standartlarının olmamasına bağlamışlardır.



Şekil 4.7 Nar sularında HPLC yöntemiyle ve spektrofotometrik yöntemle belirlenen antosiyanin miktarları arasındaki doğrusal ilişki

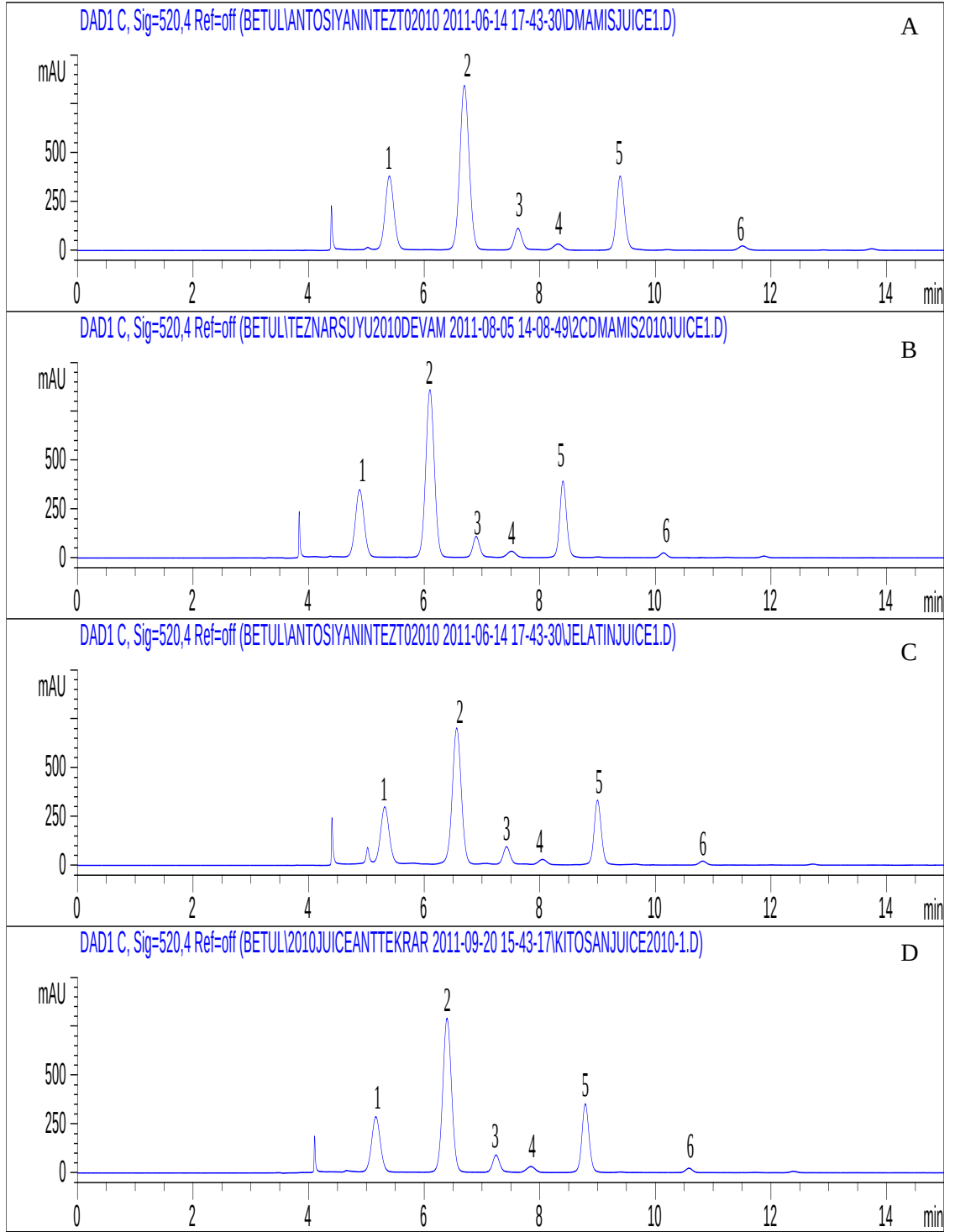
Bir başka çalışmada da bu sonuçların aksine; yaban mersini (blueberry) suyunda pH diferansiyel yöntemiyle belirlenen antosiyanin miktarının HPLC yöntemiyle belirlenenin 1.5–1.9 katı olduğu gözlenmiştir (Lee vd. 2002). Yine Turfan vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada da, nar sularında pH diferansiyel yöntemiyle belirlenen antosiyanin miktarının HPLC yöntemiyle belirlenenin 1.1–1.3 katı olduğu saptanmıştır. İki yöntemle elde edilen sonuçlar arasındaki farkın, meyve suyu örneğindeki polimerik pigment varlığından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Polimerik pigmentler, antosiyanin miktarının spektrofotometrik olarak belirlenmesinde absorbansın olduğundan daha yüksek okunmasına neden olabilmektedir. HPLC yönteminde ise, bu

pigmentler, HPLC kolonuna tutunacağından belirlenecek antosiyanin miktarına etki etmemektedir. Bu nedenle; pH diferansiyel yöntemiyle belirlenen antosiyanin miktarı, HPLC yöntemiyle belirlenenden fazla çıkabilmektedir.

Durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanan ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulan nar sularının antosiyanin kompozisyonları Şekil 4.8’de verilen kromatogramlarda gösterilmiştir. Nar sularında 6 farklı antosiyanin piki saptanmıştır. Kromatogramlarda 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 olarak gösterilmiş olan pikler sırasıyla; Dp-3,5-diglu, Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu, Cy-3-glu ve Pg-3-glu olarak tanımlanmıştır. Dp-3,5-diglu’in ticari olarak üretilen standardı bulunamadığından, bu antosiyanine ait olduğu düşünülen 1 No’lu pikin tanımlanmasında Hernandez vd. (1999) tarafından yapılan çalışmadaki geliş zamanı dikkate alınmıştır.

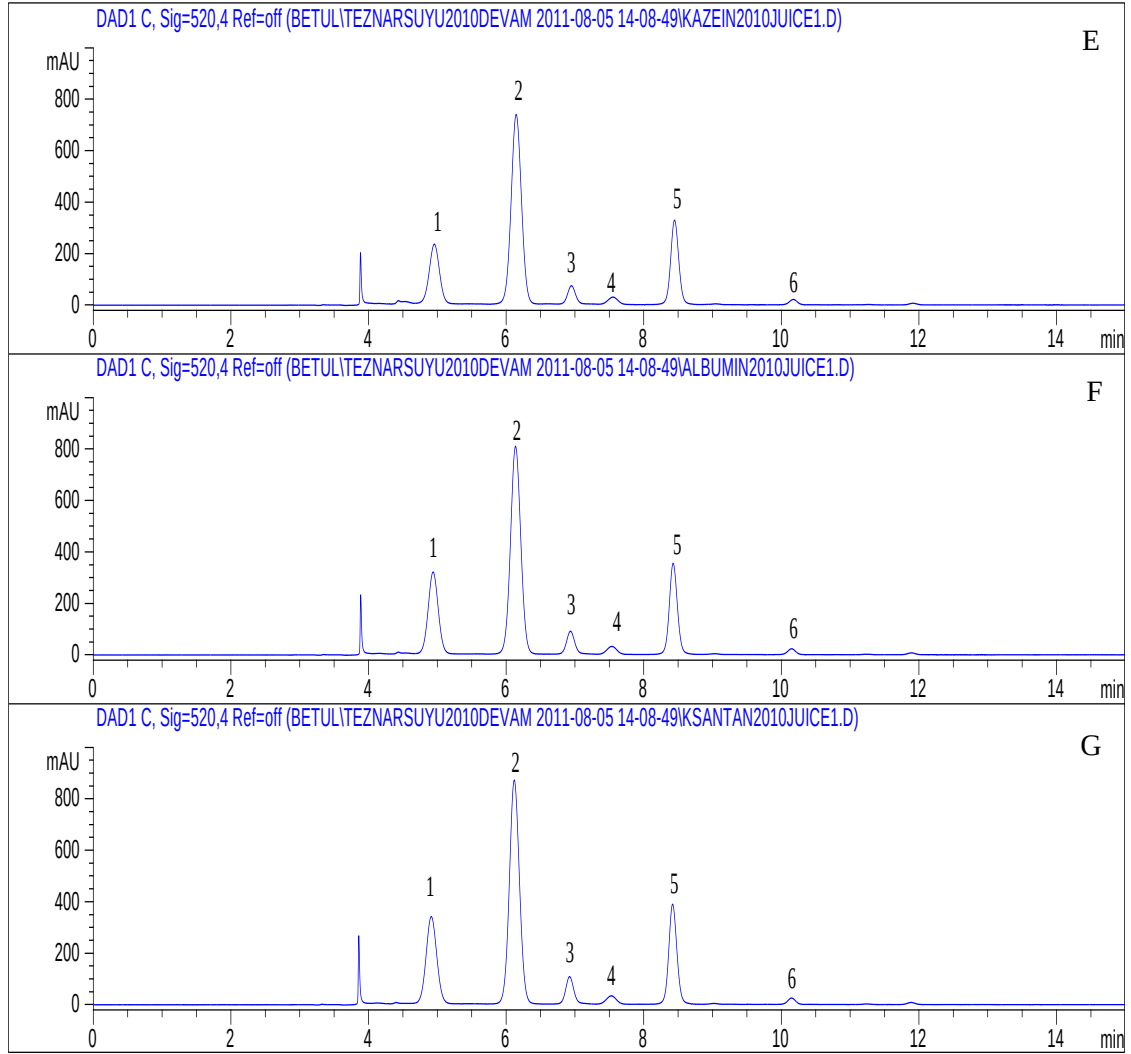
Nar sularında başat antosiyaninin, Cy-3,5-diglu olduğu belirlenmiştir. Nar suyu antosiyaninleri üzerinde yapılan ilk çalışmada, Dp-3,5-diglu başat antosiyanin olarak bulunmuştur (Harborne 1967). Buna karşın, Due vd. (1975) nar danelerinde, başat antosiyaninin Cy-3-glu olduğunu saptarken; Alighourchi ve Barzegar (2009), Varasteh vd. (2011) ve Turfan vd. (2011) ise, nar suyu ile yaptıkları çalışmalarda, çalışmamıza paralel olarak, başat antosiyaninin Cy-3,5-diglu olduğunu belirlemişlerdir.

Nar suyunda bulunan antosiyanin miktarlarına ilişkin yapılan bir çalışmada, İspanya’da yetiştirilen "Mollar" nar çeşidinin danelerinden elde edilen nar sularındaki antosiyaninlerin %40’ını Cy-3-glu’in ve %38’ini de Cy-3,5-diglu’in oluşturduğu saptanmıştır (Marti vd. 2001). Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada ise, narların olgunlaşma döneminde Dp-3,5-diglu’in başat antosiyanin olduğu, ancak meyve olgunlaştıktan sonra Cy-3-glu ile Cy-3,5-diglu’in başat antosiyanin olarak Dp-3,5-diglu’in yerini aldığı belirlenmiştir (Hernandez vd. 1999). Bu sonuçlar, nar suyundaki antosiyaninlerin bileşiminin, elde edildiği nar çeşidine ve olgunluk düzeyine göre değişebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.8 Nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları

A: Durultulmamış, B: Doğal sedimantasyon, C: Jelatin, D: Kitosan



Şekil 4.8 Nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları (devam)
E: Kazein, F: Albümin, G: Ksantan gam

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan nar suyundaki antosiyaninlerin yaklaşık %43'ünü Cy-3,5-diglu'in, %23'ünü Dp-3,5-diglu'in ve %21'ini de Cy-3-glu'in oluşturduğu saptanmıştır. Geri kalan %13'ün ise, %5.4'ünün Dp-3-glu'den, %5.1'inin Pg-3-glu'den ve %2.9'unun da Pg-3,5-diglu'den kaynaklandığı belirlenmiştir. Nar antosiyaninlerinin belirlenmesine ilişkin yapılan ilk çalışmalardan birinde antosiyaninler, kağıt kromatografisi kullanılarak tanımlanmış ve bu antosiyaninlerin azalan sıra ile Cy-3-glu, Dp-3-glu, Cy-3,5-diglu, Dp-3,5-diglu olduğu, Pg-3-glu ile Pg-3,5-diglu'in ise, çok az miktarlarda bulunduğu saptanmıştır (Due vd. 1975). Aynı çalışmada, nar kabuklarında ise, en fazla Cy-3-glu ile Cy-3,5-diglu'in bulunduğu, buna karşın Dp-3-glu ile Dp-3,5-diglu'in bulunmadığı belirlenmiştir. Gil vd. (2000)

tarafından HPLC tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, danelerden elde edilen nar sularındaki antosiyaninlerin %42'sini Cy-3-glu'in, %25'ini Dp-3-glu'in, %17'sini Cy-3,5-diglu'in, %14'ünü Dp-3,5-diglu'in ve %2'sini de Pg-3-glu'in oluşturduğu belirlenmiştir. Yine Turfan vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada danelerden elde edilen nar sularındaki antosiyaninlerin %56'sını Cy-3,5-diglu'in ve %25'ini de Cy-3-glu'in oluşturduğu ve bunu azalan sırayla Dp-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu ve Pg-3-glu'in izlediği saptanmıştır.

Nar sularının durultulmasıyla, durultma uygulamasının farklılığına göre, Cy-3,5-diglu miktarında %7–18, Cyn-3-glu miktarında %12–24, Dp-3,5-diglu miktarında %6–35, Dp-3-glu miktarında %13–38, Pg-3-glu miktarında %12–25 ve Pg-3,5-diglu miktarında %3–12'lik bir azalma gözlenmiştir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18 Nar sularında durultma işleminden önce ve sonra saptanan antosiyaninlerin miktarları

Durultma yöntemi	Antosiyanin miktarları (mg L ⁻¹)					
	Dp-3,5-diglu*	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
Durultulmamış	55.6	106.2	13.6	7.4	51.8	12.7
Doğal sedimantasyon	51.5	99.2	11.7	7.1	45.6	11.2
Jelatin	46.3	86.7	11.8	7.7	42.6	10.4
Kitosan	44.1	94.5	10.4	7.0	43.5	10.7
Kazein	36.1	88.5	8.4	6.5	39.5	9.6
Albümin	46.4	93.3	10.1	6.6	41.3	10.2
Ksantan gam	52.3	97.3	11.7	7.1	45.3	11.1

* Delfinidin-3,5-diglikozid'in miktarı, siyanidin-3-glikozit cinsinden hesaplanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre; monoglikozit yapıdaki antosiyaninlerin, nar sularına uygulanan farklı durultma işlemlerinden diglikozit yapıda olanlara göre daha çok etkilendiği saptanmıştır. Bu sonuç, antosiyaninin yapısındaki diglikozilasyonun monoglikozilasyona göre antosiyaninlerin stabilitesini arttırmasıyla açıklanmıştır (Mazza ve Miniati 1993). Diglikozit yapıdaki antosiyaninlerin içinde ise, durultmaya karşı stabilitenin; Pg-3,5-diglu > Cyn-3,5-diglu > Dp-3,5-diglu şeklinde sıralandığı

gözlenmiştir. Monoglikozit yapıdaki antosiyaninler içinde ise durultmaya karşı en duyarlı olanının Dp-3-glu olduğu bulunmuştur. Turfan vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada da; nar suyunun jelatinle durultulması sonucu en duyarlı antosiyanin olduğu belirlenen Dp-3-glu miktarında %46 azalma meydana geldiği saptanmıştır. Bunun nedeni; Dp-3-glu ve Dp-3,5-diglu'in meyve sularındaki enzimatik oksidasyonlar için en iyi substratlar olmasıdır (Varasteh vd. 2011). Fleschhut vd. (2006), nötral ortamda antosiyanidinlerin stabilitesinin, yapıdaki hidroksil veya metoksil grupları sayısındaki artışla azaldığı bu nedenle en stabil antosiyanidinin pelargonidin olduğunu belirtmişlerdir (Castañeda-Ovando vd. 2009). Dao vd. (1998), ise antosiyaninin yapıtaşı olan aglikonun hidroksilasyon derecesi arttıkça stabilitenin arttığını ve asitli metanol ortamında delfinidinin siyanidinden daha stabil olduğunu belirtmişlerdir (Rein 2005).

4.4 Geri Kazanım (Recovery) Testi

Nar suyunda bulunan 6 antosiyaninden başat 3 tanesi içinde yer alan Dp-3,5-diglu'in ticari olarak üretilen standardı bulunamadığından, geri kazanım testi, diğer iki başat antosiyanin (Cy-3,5-diglu ve Cy-3-glu) ile yürütülmüştür. Geri kazanım testinde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.19'da verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde, nar suyunda saflaştırma işlemi öncesinde örneğe ilave edilen Cy-3,5-diglu'in yaklaşık %104'ünün ve Cy-3-glu'in ise yaklaşık %97'sinin geri kazanıldığı saptanmıştır. Elde edilen bu geri kazanım değerleri, antosiyaninlerin analiz sürecindeki kayıplarının kabul edilebilir düzeylerde olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.19 Nar suyunda antosiyaninlerin geri kazanımları

Antosiyanin standardı	Örnek miktarı (mL)	Örnekteki antosiyanin miktarı (mg)	Eklenen antosiyanin miktarı (mg)	Hesaplanan antosiyanin miktarı (mg)	Recovery (%)	Recovery ortalaması (%)
Cy-3,5-diglu	1	0.0983	0.0525	0.1564	103.65	103.84
	1	0.0983	0.1050	0.2115	104.03	
Cy-3-glu	1	0.0536	0.0260	0.0772	96.98	97.16
	1	0.0536	0.0520	0.1028	97.35	

Zhang vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, üzüksü meyvelerden “bilberry” ekstraktlarında yapılan testlerde Cy-3-glu’in geri kazanımının yaklaşık %102 olduğu gözlenmiştir. Bir başka çalışmada yapılan antosiyanin analizlerinde, çilekte aglikon yapıdaki siyanidinin %96’sının; pelargonidinin ise %79’unun geri kazanıldığı belirtilmiştir (Nyman ve Kumpulainen 2001). Yine aynı çalışmada, kırmızı şarapta bulunan aglikonlardan siyanidinin geri kazanımı %99 iken, peonidininki %103 ve malvidininki ise %67 olarak saptanmıştır. Şarap örneklerinde yapılan başka bir çalışmada, organik asitlerde geri kazanımın %97–105, polifenollerde ise, %80–104 arasında değiştiği ortaya konulmuştur (Pereira vd. 2010). Çalışma sonucunda; elde edilen geri kazanım sonuçları değerlendirildiğinde, karmaşık şarap matriksinin, kullanılan analiz metodunun seçici ve duyarlı çalışmasını engellediği sonucuna varılmıştır.

4.5 Nar Sularında Oluşan Polimerik Renk Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Nar sularında polimerik renk oluşumu, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.20’de verilmiştir. Çizelge 4.20’de verilen sonuçlara göre, durultma işlemi nar sularında polimerik renk oluşumunu arttırmıştır. Örneğin; durultulmamış nar suyunda polimerik renk oranı %21.5 iken, çeşitli durultma uygulamaları ile bu değer %23.1–30.8 arasına yükselmiştir. Ayrıca farklı durultma uygulamaları sonucu antosiyanin miktarında meydana gelen kayıpla polimerik renk oluşumu arasında iyi bir korelasyon olduğu ($r = 0.7225$) ortaya koyulmuştur (Şekil 4.9).

Polimerik renk oranı, hiçbir işlem görmemiş taze meyve sularında genellikle %10’un altındadır. Meyve sularının yüksek sıcaklıklarda uzun süre ısıtılması, konsantreye işlenmesi ve uygun olmayan sıcaklıklarda uzun süre depolanması sonucunda antosiyaninlerin, monomerik formdan polimerik forma dönüşmesiyle esmer renk oluşumunda artış görülmekte ve bu oran %30 veya daha da üzerinde olabilmektedir. Ayrıca uzun süre depolanmış meyvelerden elde edilen meyve sularında, polimerik renk oranının artabileceği de bildirilmektedir. Polimerik renk oranının artması, bir yandan antosiyaninlerle tanenler arasında polimerizasyon reaksiyonları oluştuğunu, diğer

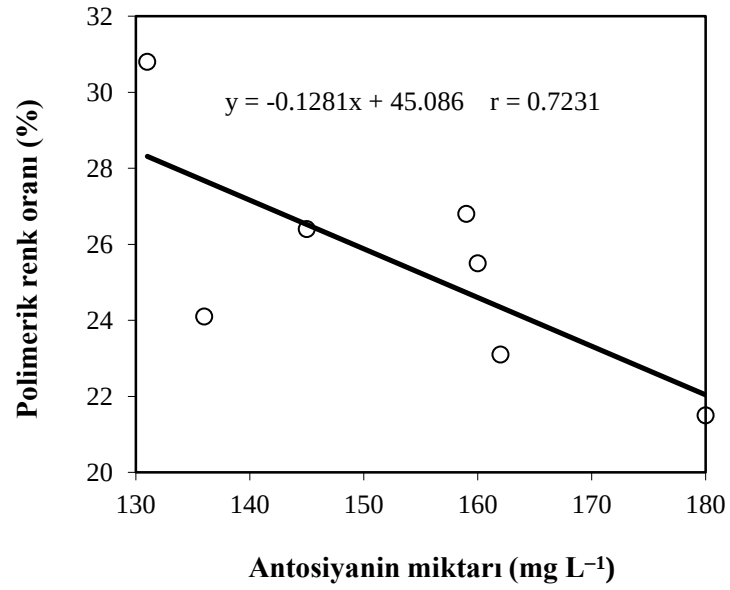
yandan da esmerleşme reaksiyonları sonucunda kahverengi melanoidin pigmentlerinin oluştuğunu göstermektedir (Giusti ve Wrolstad 2001, Turfan vd. 2011). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, durultma işleminin nar sularında polimerik renk oluşumunu arttırdığını göstermiştir. Polimerik renk oluşumunun durultma işlemi sonucunda artış gösterdiği böğürtlen suyunda yapılan bir çalışmayla da ortaya koyulmuştur (Rommel vd. 1990). Bir başka çalışmada ise böğürtlen suyunun durultulmasıyla polimerik renk oranında bir değişiklik meydana gelmediği saptanmıştır (Hager vd. 2008). Buna karşın, laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada durultma işleminin siyah havuç sularında polimerik renk oluşumunu azalttığı ve bunun durultma işlemi sırasında meyve suyundan esmer renkli bileşiklerin uzaklaşması nedeniyle meydana gelmiş olabileceği belirtilmiştir (Türkyılmaz vd. 2012). Çalışmamızda durultma ile polimerik renk oranının artmasının, durultma sırasında oluşan polimerik rengin durultma işlemiyle uzaklaşandan fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.20 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularında polimerik renk oluşumu¹ üzerine etkisi

Durultma yöntemi	Polimerik renk oranı (%)
Durultulmamış	21.5±0.495
Doğal sedimentasyon	23.1±0.141
Jelatin	26.4±0.283
Kitosan	26.8±0.212
Kazein	30.8±0.000
Albümin	24.1±0.000
Ksantan gam	25.5±0.000

¹ Polimerik renk oranları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

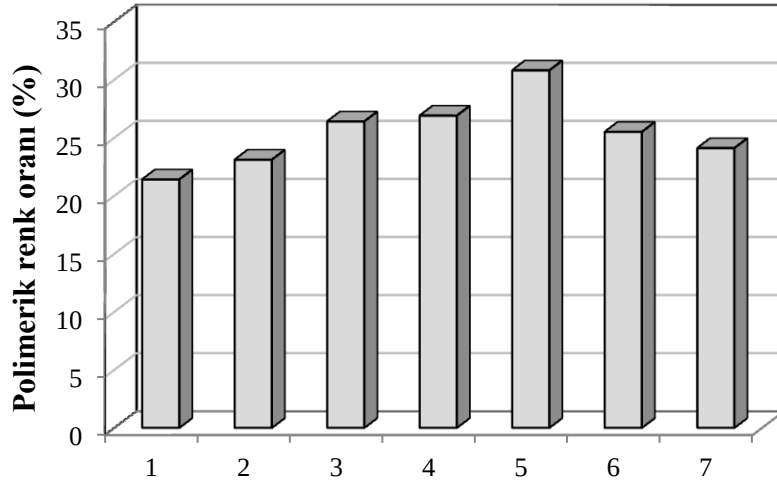
Nar sularının polimerik renk oranlarına ilişkin varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 3), en az iki durultma uygulaması arasında polimerik renk oluşumuna etki bakımından farkın istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Yani farklı durultma uygulamaları yapılan nar sularındaki polimerik renk oranları arasında gözlenen fark tesadüfi değildir.



Şekil 4.9 Nar sularında meydana gelen antosiyanin kaybıyla polimerik renk oluşumu arasındaki doğrusal ilişki

Hangi durultma uygulamalarının, nar sularında polimerik renk oluşumu üzerine etki ettiğini belirlemek üzere, elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (EK 1; Çizelge 4). Sonuç olarak, nar suyunun jelatinle durultulması sonucu oluşan polimerik renk oranının (%26.4), kitosanla durultulan nar suyundakine (%26.8) eşdeğer olduğu gözlenmiştir ($p > 0.05$). Laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada, nar suyunun jelatinle durultulması sonucu polimerik renk oranının %29'dan %31'e çıktığı saptanmıştır (Turfan vd. 2011). Bununla birlikte, durultma sonunda polimerik renk oranındaki artışın neden kaynaklandığı açıklanamamıştır. Cosme vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada protein yapısındaki bazı durultma yardımcı maddelerinin (kazein, jelatin, potasyum kazeinat ve balık tutkalı) beyaz şarapların proantosiyanidin, renk ve esmerleşme potansiyeline etkisi araştırılmıştır. Çalışmada kazein, potasyum kazeinat ve balık tutkalı ile durultulan şarapların oksidasyona karşı daha stabil olduğu ve dolayısıyla söz konusu şaraplarda esmer renk oluşumunun jelatinle durultulanlara kıyasla daha az olduğu saptanmıştır. Bu sonuç, balık tutkalı ve potasyum kazeinatın flavonoid yapısında olmayan polifenoller, kazeinin de flavonoid yapıdaki bileşikleri uzaklaştırmasıyla açıklanmıştır.

Farklı durultma uygulamalarının nar suyunda polimerik renk oluşumu üzerine etkisini daha iyi açıklamak için, söz konusu nar sularındaki polimerik renk oranları Şekil 4.10'da verilen histogramda gösterilmiştir. Şekil 4.10'da görüldüğü gibi polimerik renk oranındaki en büyük artışa (%30.8) nar sularının durultulmasında kullanılan durultma yardımcı maddelerinden kazein neden olmuştur.



Şekil 4.10 Farklı durultma uygulamalarının polimerik renk oluşumu üzerine etkisi
1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimentasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Kazein, 6: Albümin, 7: Ksantan gam

4.6 Nar Sularının Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler

Nar sularının durultma öncesi ve sonrası renklerinde oluşan değişimler, materyalin renginin reflektans spektrofotometresi ile CIE L*, a*, b*, C* (kroma) ve h° (hue) değerleri ölçülerek izlenmiştir. Bu ölçümlere ilişkin veriler Çizelge 4.21'de verilmiştir.

Bilindiği gibi, 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.

Çizelge 4.21’de verilen değerler incelendiğinde, çalışmamızda nar suyunun reflektans renk değerlerinden (L^* , a^* , b^* , C^* ve h°) açıklanabilir sonuçlar elde edilemediği görülmektedir.

Çizelge 4.21 Farklı uygulamalarla durultulan nar sularının reflektans renk değerleri¹

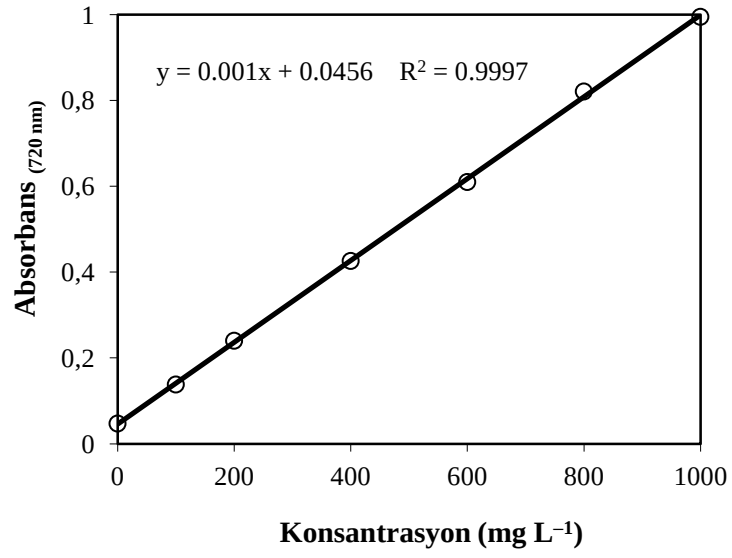
Durultma yöntemi	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
Durultulmamış	15.13±0.049	36.08±0.085	21.79±0.085	42.15±0.120	31.13±0.028
Doğal sedimant.	23.71±0.007	43.89±0.007	30.49±0.014	53.44±0.014	34.79±0.014
Jelatin	15.09±0.099	31.48±0.078	20.59±0.042	37.62±0.092	33.20±0.007
Kitosan	10.54±0.071	27.98±0.057	14.50±0.163	31.51±0.127	27.39±0.205
Kazein	14.33±0.057	29.91±0.035	16.89±0.071	34.35±0.057	29.46±0.071
Albümin	15.61±0.021	33.58±0.085	21.02±0.163	39.62±0.021	32.04±0.262
Ksantan gam	21.54±0.007	39.24±0.007	24.89±0.106	46.46±0.071	32.38±0.099

¹ Reflektans renk değerleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

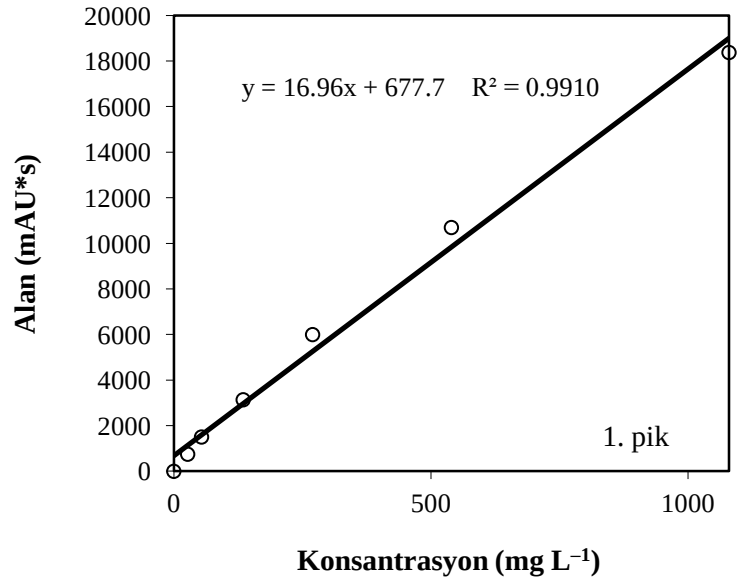
4.7 Nar Suları ve Konsantrelerinin Toplam Polifenol, Hidrolize Olabilen Tanen ve Antioksidan Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler

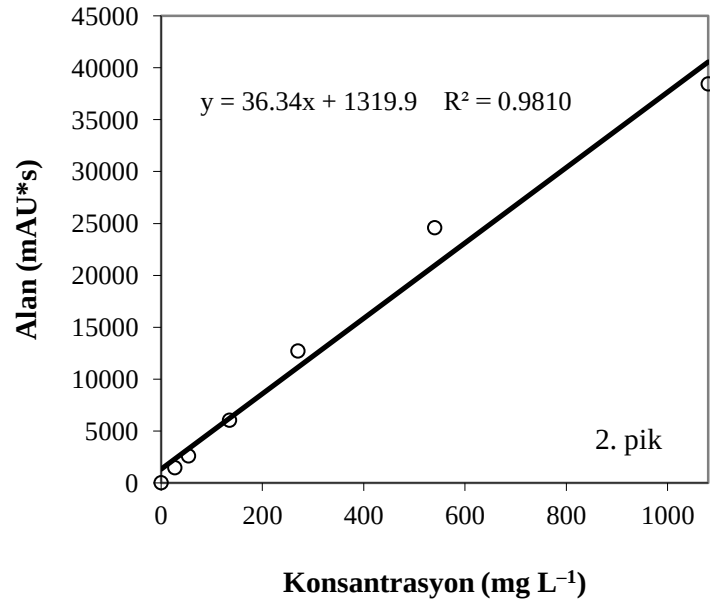
Nar suları ve konsantrelerinde toplam polifenol, hidrolize olabilen tanen ve antioksidan aktivite tayininde gerekli olan gallik asit, punikalajin ve troloks standart eğrileri hazırlanmış ve bu eğriler sırasıyla Şekil 4.11, 4.12 ve 4.13’te verilmiştir.

Standart eğrilerin oluşturulmasında analizde elde edilen verilere, doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve eğrileri tanımlayan eşitlikler belirlenmiştir. Bu eşitlikler yardımıyla nar sularının toplam polifenol miktarları, hidrolize olabilen tanen miktarları ve antioksidan aktiviteleri hesaplanmıştır.

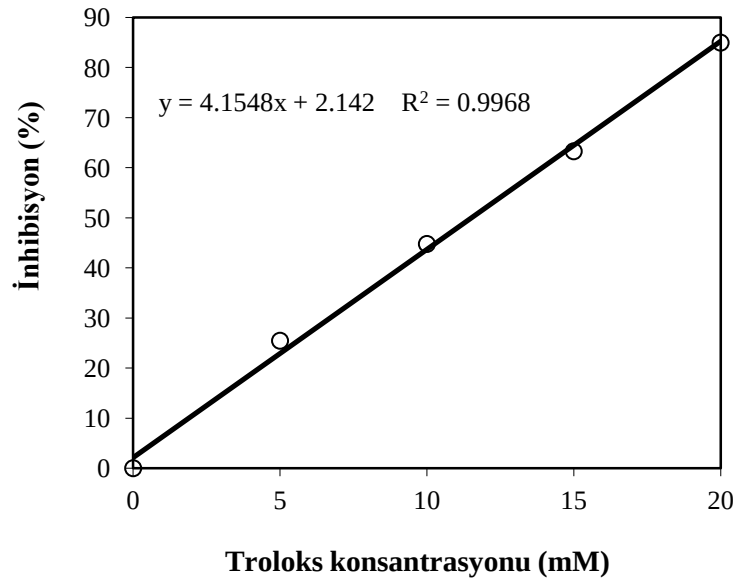


Şekil 4.11 Gallik asit standart eğrisi





Şekil 4.12 Punikalajin standart eğrileri



Şekil 4.13 Troloks standart eğrisi

4.8 Nar Sularının Toplam Polifenol Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Polifenoller, nar suyunun antioksidan aktivitesinin esas kaynağı olup nar suyunun rengi, burukluğu, oksidasyona duyarlılığı ile de yakından ilişkili olması nedeniyle önem taşımaktadır. İçilebilir nitelikteki bir nar suyunun fazla buruk olmaması gerekmektedir. Ancak, gerek kabukta gerekse meyvenin içindeki dilim zarlarında bulunan yüksek molekül ağırlığına sahip polifenoller, uygulanan meyve suyu üretim yöntemine göre az ya da çok miktarlarda meyve suyuna geçerek, tadın buruklaşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, narlarda meyve suyu randımanı %55'e ulaşabilecekken %35'i geçmemesine özen gösterilmiştir. Aynı zamanda, nar sularının bir kısmına filtrasyonu kolaylaştırmak, sonradan bulanmayı önlemek ve lezzeti düzeltmek için durultma işlemi uygulanmıştır. Çalışmamızda presleme işlemiyle, kabuktan meyve suyuna geçen polifenol miktarı ile durultmanın polifenol miktarı üzerine etkisini göstermek için nar sularındaki polifenol miktarları durultma yapılmadan önce ve durultma yapıldıktan sonra belirlenmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.22'de verilmiştir.

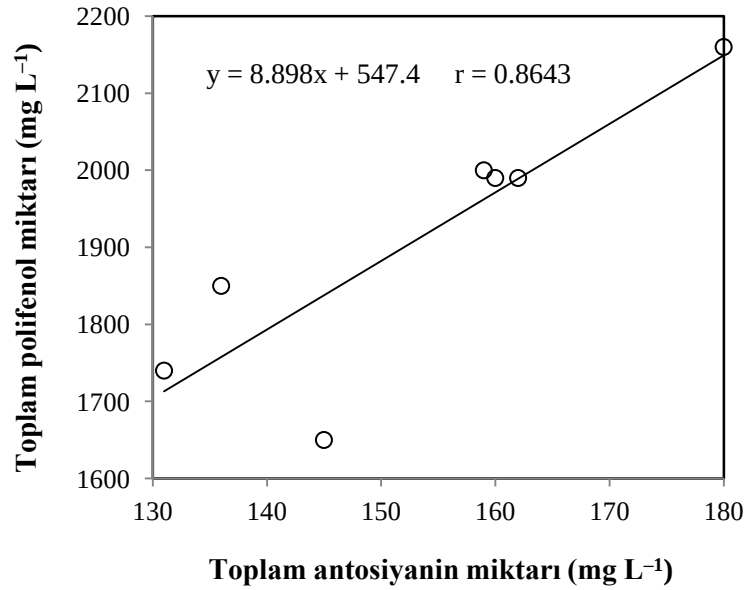
Çizelge 4.22 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularında toplam polifenol miktarı¹ üzerine etkisi

Durultma yöntemi	Toplam polifenol miktarı (mg L ⁻¹)
Durultulmamış	2163±19.10
Doğal sedimantasyon	1991±31.80
Jelatin	1649±3.54
Kitosan	1999±12.00
Kazein	1739±5.66
Albümin	1848±2.12
Ksantan gam	1992±13.40

¹Toplam polifenol miktarları, gallik asit cinsinden aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Nar sularının toplam polifenol miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 5), tüm durultma uygulamalarının, polifenol miktarında önemli düzeyde bir azalmaya yol açtığını göstermiştir ($p<0.05$). Elde edilen verilere Duncan çoklu

karşılaştırma testi uygulanmış (EK 1; Çizelge 6) ve tıpkı antosiyanin miktarında meydana gelen değişimde olduğu gibi nar suyunun hiçbir durultma yardımcı maddesi uygulanmadan 2°C’de 16 h süreyle bekletilmesi (doğal sedimantasyon) ile polifenol miktarında meydana gelen kaybın, kitosan ve ksantan gam uygulamasıyla durultulan nar sularındakine eşdeğer olduğu saptanmıştır ($p>0.05$). Nar suyu antosiyaninleriyle polifenollerinin durultma uygulamalarından benzer şekilde etkilendiği Şekil 4.14’te görüldüğü üzere elde edilen korelasyonla da ortaya koyulmuştur ($r = 0.8666$). Çalışmamızdakine benzer bir bulgu, Özgen vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da ortaya koyulmuştur. Çalışmada, Akdeniz bölgesinde yetişen bazı nar çeşitlerinin polifenol miktarlarıyla, antosiyanin miktarları arasında yüksek korelasyon ($r = 0.94$) olduğu gözlenmiştir.

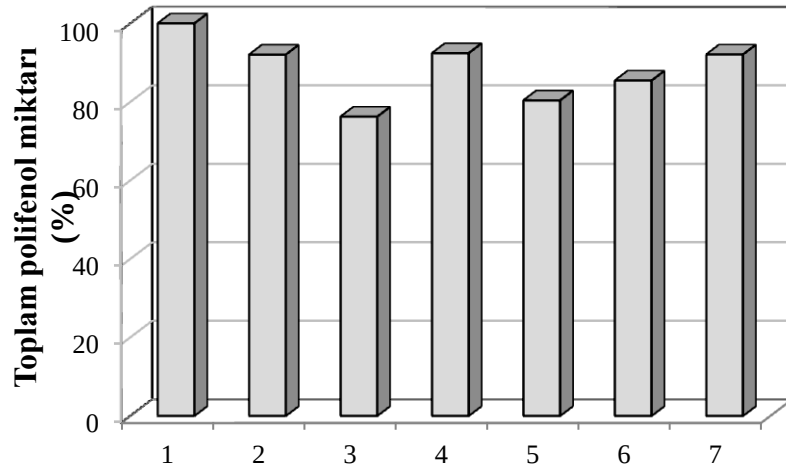


Şekil 4.14 Farklı durultma uygulamalarının, nar suyu antosiyaninleri ve polifenolleri üzerine etkisi arasındaki ilişki

Durultulmamış nar suyunun polifenol içeriği “% 100” kabul edilerek farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar sularının polifenol miktarları “%” olarak hesaplandığında, durultma uygulamaları sonucunda nar sularının polifenol miktarlarındaki “% azalmalar” Şekil 4.15’te verilen histogramdan daha açık görülmektedir. Şekil 4.15’te görüldüğü gibi en fazla polifenol kaybına (%23.7) jelatin neden olmuştur. Bu kayıp doğal sedimantasyon uygulanan ve ksantan gamla durultulan

nar sularında %7.9, kitosanla durultulan nar sularında da sadece %7.6'dır. Yani nar sularının, kitosan ve ksantan gamla durultulması sonucunda polifenol miktarında meydana gelen kayıp, doğal sedimantasyon uygulanan nar suyunda meydana gelen kayba eşdeğerdir.

Bu sonuçlara paralel bulguların elde edildiği bir çalışmada; nar sularının durultulması amacıyla doğal sedimantasyon yöntemi ile 1 g L⁻¹ konsantrasyonda jelatin ve PVPP kullanılmıştır (Vardin ve Fenercioğlu 2003). Doğal sedimantasyon uygulanan, jelatinle ve PVPP ile durultulan nar sularının polifenol miktarlarında sırasıyla; %0.7, %18.2 ve %7.2 azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada da; nar sularının durultulmasında 1 g L⁻¹ konsantrasyonunda jelatin kullanılmış ve polifenol miktarında %38'lik bir azalış meydana gelmiştir (Güzel 2010). Rao vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise, yeşil çay enfüzyonunun durultulmasında silika jel ve kitosan kullanılmıştır. Çalışma sonucunda her iki yardımcı maddenin de, durultmada etkin olmalarının yanı sıra, yeşil çay enfüzyonunun polifenol içeriğinde önemli düzeyde bir azalmaya neden olmadıkları saptanmıştır.



Şekil 4.15 Farklı durultma uygulamalarının nar suyu polifenollerine etkisi

1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Kazein, 6: Albümin, 7: Ksantan gam

Cosme vd. (2008) tarafından beyaz şaraplarda yapılan bir çalışmada; jelatinle durultma, toplam polifenol içeriğinde önemli bir değişime yol açmazken kazeinin yaklaşık %5

azalmaya neden olduğu ortaya konmuştur. Spagna vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada da; Trebbiano ve Albana çeşidi İtalyan şaraplar potasyum kazeinat, kitosan, skleroprotein ve polilaktik asit ile durultulmuş ve esmerleşmeye karşı stabiliteleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda her iki çeşit şarapta da kitosanın toplam polifenol, flavan ve proantosiyanidinlere etkisinin uygulanan dozaja göre değiştiği belirtilmiştir. Çalışmada 0.4 g L^{-1} konsantrasyonundaki kitosanın söz konusu polifenollere etkisinin aynı konsantrasyondaki potasyum kazeinata göre daha az olduğu, konsantrasyon 0.8 g L^{-1} 'ye çıkarıldığında ise her iki durultma yardımcı maddesinin etkisinin birbirine yakın olduğu saptanmıştır. Bunun, kitosanın yüzey alanının potasyum kazeinata göre daha sınırlı olması sonucu polifenollerle etkileşiminin de az olmasından kaynaklandığı öne sürülmüştür. Ayrıca, Spagna vd. (1996) tarafından yapılan bir başka çalışmada; potasyum kazeinatın şarabın pH sınırlarında daha yavaş çökmesi sebebiyle kitin ve kitosana göre ortamdaki polifenollerle daha uzun süre etkileştiği ve daha fazla polifenol uzaklaştırdığı belirtilmiştir. Nitekim çalışmamızda da; nar sularının durultulmasında kullanılan kazein dozajı (0.375 g L^{-1}), kitosan dozajından (0.500 g L^{-1}) düşük olmasına karşın nar sularının polifenol içeriğinde kazein, kitosana oranla %12 daha fazla azalmaya neden olmuştur.

4.9 Nar Sularının Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Tanenler, bitkisel hücrelerde bulunan yüksek moleküllü fenolik bileşikler olup, kondense tanenler (veya proantosiyanidinler) ve hidrolize olabilen tanenler (elajik tanenler ve gallotanenler) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Seeram vd. 2005a). Nar kabuğu, hidrolize olabilen tanenler sınıfında yer alan elajik tanenler bakımından oldukça zengindir (Landete 2011). Kabukta yoğun olarak bulunan bu bileşikler, narın meyve suyuna işlenmesi sırasında preslemeyle nar suyuna da geçmekte ve berrak nar suyunun ya da nar suyu konsantrelerinin depolanması sırasında bulanıklık ve tortu oluşumunda büyük rol oynamaktadır. Ticari nar suları, elde edildiği nar çeşidine ve proses koşullarına bağlı olarak 2 g L^{-1} 'nin üzerindeki konsantrasyonlarda polifenol içermektedir ve bu nedenle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Seeram vd. 2005a). Nar sularının polifenol içeriği; kondense olabilen tanen, hidrolize olabilen tanen,

antosiyenin (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin glikozitler) ve diğer flavonoidler (kuersetin, kamferol ve luteolin glikozitler) olarak çeşitlenmesine karşın elajitanen, gallotanen, elajik asit ve elajik asit-glikozitlerin bu polifenoller içindeki payı oldukça fazladır (Seeram vd. 2005a). Punikalajinin ise nar suyundaki başat polifenol olduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur. Seeram vd. (2005a) tarafından yapılan bir çalışmada; narda bulunan toplam tanen miktarının %80–85'inin (w/w) punikalajin anomerleri, %1.3'ünün (w/w) de elajik asitten oluştuğu saptanmıştır. Durultma işlemiyle hidrolize olabilen tanen miktarında da bir azalma meydana geleceği açıktır. Bu nedenle, durultulmamış, doğal sedimentasyon uygulanan ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durutulan nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarları HPLC ile belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.23'te verilmiştir. HPLC ile hidrolize olabilen tanen miktarı, materyale ait kromatogramdaki her bir pikin alanının hesaplanmasından sonra, punikalajin standardına ait eğri esas alınmak suretiyle belirlenmiş ve bunların toplamı olarak verilmiştir.

Çizelge 4.23 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarları¹ üzerine etkisi

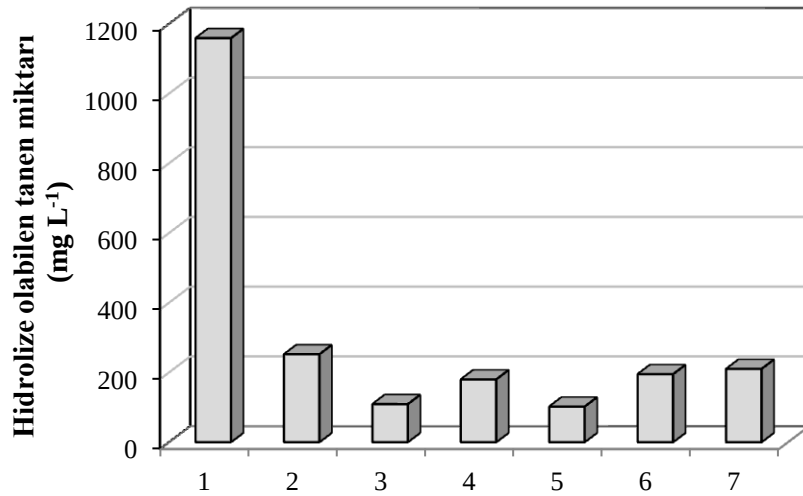
Durultma yöntemi	Hidrolize olabilen tanen miktarı (mg L ⁻¹)
Durultulmamış	1159±138.31
Doğal sedimentasyon	252±6.36
Jelatin	109±1.61
Kitosan	180±14.32
Kazein	102±4.97
Albümin	195±17.72
Ksantan gam	210±9.04

¹ Hidrolize olabilen tanen miktarları, punikalajin cinsinden aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Nar sularında hidrolize olabilen tanen miktarı için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 7), tüm durultma uygulamalarının, hidrolize olabilen tanen miktarında önemli düzeyde değişime neden olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış (EK 1; Çizelge 8) ve doğal sedimentasyon, kitosan, albümin ve ksantan gam uygulamalarının durultulmamış nar suyunun hidrolize

olabilen tanen miktarında eşit düzeyde değişime neden olduğunu göstermiştir ($p>0.05$). Aynı şekilde; jelatin, kitosan, kazein, albümin ve ksantan gam uygulamalarının durultulmamış nar suyunun hidrolize olabilen tanen miktarında eşit düzeyde değişime neden olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).

Farklı durultma uygulamalarının nar suyunun hidrolize olabilen tanen miktarı üzerine etkisini daha iyi açıklamak için, söz konusu nar sularındaki hidrolize olabilen tanen miktarları Şekil 4.16’da verilen histogramda gösterilmiştir. Örneğin; nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarında en fazla azalmaya neden olan durultma yardımcı maddesi kazein (%91.2) iken, hidrolize olabilen tanen miktarına en az etki eden uygulamanın doğal sedimantasyon (%78.3) olduğu gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, durultma işleminin nar suyundaki hidrolize olabilen tanenler üzerine önemli etkisinin olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).



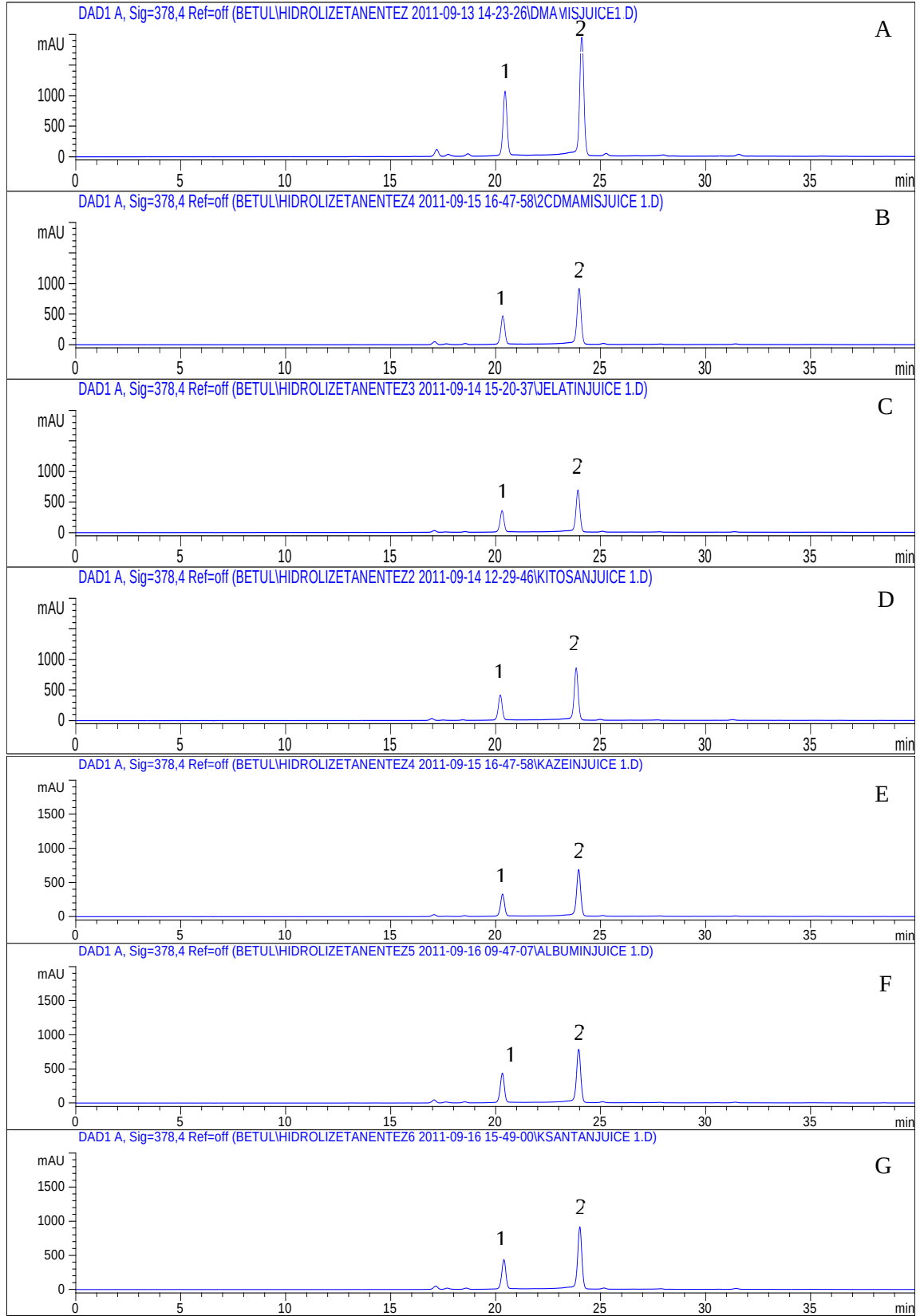
Şekil 4.16 Farklı durultma uygulamalarının nar suyunun hidrolize olabilen tanen miktarı üzerine etkisi
1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Kazein, 6: Albümin, 7: Ksantan gam

Literatürde durultmanın elajitanen miktarına etkisinin ortaya konduğu sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmış olup, bu konuda yapılan bir çalışmada böğürtlen suyunun durultulması ile elajitanen miktarında %19 azalma meydana geldiği saptanmıştır (Hager vd. 2010). Diğer bir çalışmada da; nar suyunun üç farklı şekilde berraklaştırılması

sonucunda elajik asit miktarındaki değişimler belirlenmiştir (Alper vd. 2011). 0.3 g L^{-1} jelatin + 0.3 g L^{-1} bentonit uygulandıktan sonra kizelgur filtreden geçirilen nar suyunun elajik asit miktarında %26.4; 0.3 g L^{-1} jelatin + 0.3 g L^{-1} bentonit + 0.2 g L^{-1} PVPP uygulandıktan sonra kizelgur filtreden geçirilen ve sadece ultrafiltrasyona tabi tutulan nar sularının elajik asit miktarlarında ise, sırasıyla %39.3 ve %6.4 azalma meydana gelmiştir. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada da; nar sularının jelatin kullanılarak soğuk durultma yöntemiyle durultulması sonucunda hidrolize olabilen tanen miktarında %73 oranında azalma meydana gelirken, söz konusu nar suyunun pastörize edilmesiyle hidrolize olabilen tanen miktarının %46 arttığı ortaya konmuştur (Güzel 2010).

Durultulmamış, doğal sedimentasyon uygulanan ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulan nar sularının hidrolize olabilen tanen kompozisyonları Şekil 4.17’de verilen kromatogramlarda gösterilmiştir. Nar sularında 2 başat hidrolize olabilen tanen piki saptanmıştır. Kromatogramlarda 1 ve 2 olarak gösterilmiş olan piklerin ikisi de punikalajin olarak tanımlanmıştır. Tanımlama, örneğin üzerine standart madde (punikalajin) ilavesi yöntemi ile yapılmış ve standart ilavesi sonucunda her iki pikin miktarında da artış olduğu saptanmıştır. Ayrıca punikalajin standardı HPLC’ye enjekte edildiğinde yine standartta da iki pik olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18). Bu nedenle Şekil 4.18’de görüldüğü gibi, kromatogramda 1 ve 2 olarak gösterilmiş olan piklerin sırasıyla punikalajinin iki anomeri olan; α -punikalajin ve β -punikalajin olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuca varılırken Seeram vd. (2005a), Lu vd. (2008) ve Lu vd. (2011) tarafından yapılan çalışmalarda narda α -punikalajin ve β -punikalajin olarak tanımlanan iki pikin geliş zamanlarının (retention time) çalışmamızdaki gibi, birbiri ardına olması göz önüne alınmıştır.

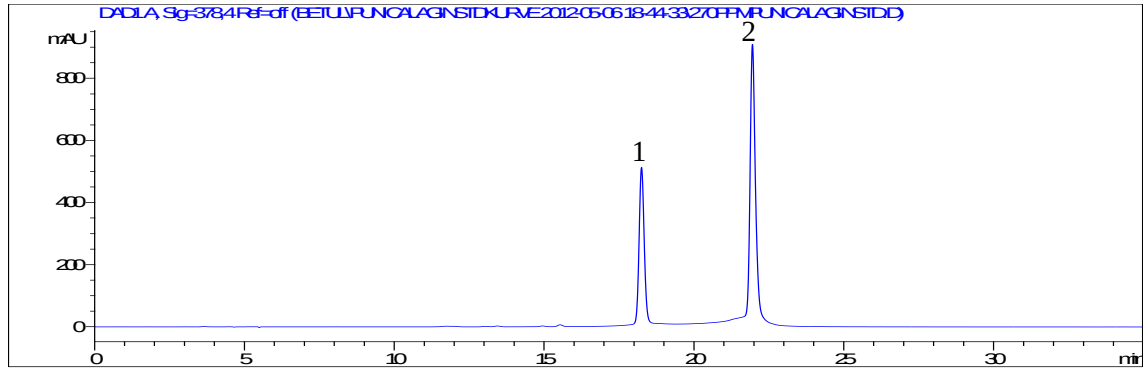
Çalışmamızda, nar sularında antioksidan aktivitenin esas kaynağı olarak bilinen hidrolize olabilen tanenlerle antioksidan aktivite düzeyi arasında korelasyon saptanamamıştır. Çalışmamızdakine benzer bir sonuç Mena vd. (2011) tarafından yapılan İspanya’da yetiştirilen 15 çeşit narın fitokimyasal özelliklerinin belirlendiği çalışmada da ortaya konmuştur. Çalışmada daneden elde edilen nar suyunun punikalajin miktarı ile antioksidan aktivite arasında korelasyon saptanamazken; elajik asit türevleri ($r = 0.84$) ve toplam antosiyanin miktarıyla ($r = 0.72$) antioksidan aktivite arasında korelasyon olduğu görülmüştür.



Şekil 4.17 Nar sularındaki hidrolize olabilen tanenlerin HPLC kromatogramlar

A: Durultulmamış, B: Doğal sedimentasyon, C: Jelatin, D: Kitosan E: Kazein, F: Albümin, G: Ksantan gam

Çalışmamızda; nar sularında hidrolize olabilen tanen miktarıyla antioksidan aktivite arasında korelasyon saptanamamasının, nar sularındaki hidrolize olabilen tanen miktarının, antioksidan aktivite gösterebilecek konsantrasyonda olmamasından bir başka deyişle minimum inhibisyon konsantrasyonundan daha düşük konsantrasyonda olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim nar sularında bu iki parametre arasında korelasyon saptanamamasına karşın “4.17 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Hidrolize Olabilen Tanen Miktarındaki Değişimler” bölümünde belirtildiği gibi nar suyu konsantrelerinde korelasyon olması bu düşüncüyü destekler niteliktedir. Bu konuda yapılan bir çalışmada; reaktif oksijen türlerinin (ROS) %50’sini inhibe edecek antioksidan aktiviteyi gösteren elajik asit, punikalajin, punikalin ve gallajik asit konsantrasyonlarının sırasıyla 1.1, 1.4, 2.3 ve 3.2 μM olduğu saptanmıştır (Reddy vd. 2007). Seeram vd. (2005b) tarafından yapılan çalışmada da; 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyondaki punikalajin, elajik asit, toplam tanen ekstraktları ile nar suyunun Fe (II) iyonlarının katalize ettiği lipid peroksidasyonunu inhibe edebildiği ortaya konmuştur. Çalışmada ayrıca bu bileşenlerin antioksidan aktivite düzeyleri açısından nar suyu > toplam tanen ekstraktı > punikalajin ekstraktı > elajik asit ekstraktı olarak sıralandığı belirtilmiştir.



Şekil 4.18 Punikalajin standardı HPLC kromatogramı

4.10 Nar Sularının Antioksidan Aktivitesi Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Nar sularında antioksidan aktivite düzeyi, durultma işleminden önce ve sonra saptanmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.24’te verilmiştir. Nar sularında antioksidan aktivite için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 9), tüm durultma uygulamalarının,

antioksidan aktivite değerlerinde önemli düzeyde değişime neden olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Nar sularındaki antioksidan aktivite düzeyine durultma işleminin etkisini daha açık bir şekilde gösterebilmek için sonuçlar Şekil 4.19’da histogram olarak da verilmiştir. Örneğin; nar sularının antioksidan aktivite düzeyinde en fazla azalmaya neden olan durultma yardımcı maddesi kazein (%24.7) iken, antioksidan aktiviteye en az etki edenin ksantan gam (%4.3) olduğu gözlenmiştir. Yani ksantan gam, nar suyunun antioksidan aktivitesine doğal sedimantasyon uygulamasından bile daha az etki etmiştir. Tüm durultma uygulamalarının aksine, kitosan ise nar sularının antioksidan aktivitesinde %2.4 gibi sınırlı da olsa bir artış sağlamıştır. Kitosanla durultulan nar sularının toplam polifenol miktarında böyle bir artış söz konusu değil iken, antioksidan aktivitede artış görülmesi, bu sınırlı artışın kitosanın kendi antioksidan aktivitesinden ve/veya kitosanın hazırlanması sırasında kullanılan sitrik asitten kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır.

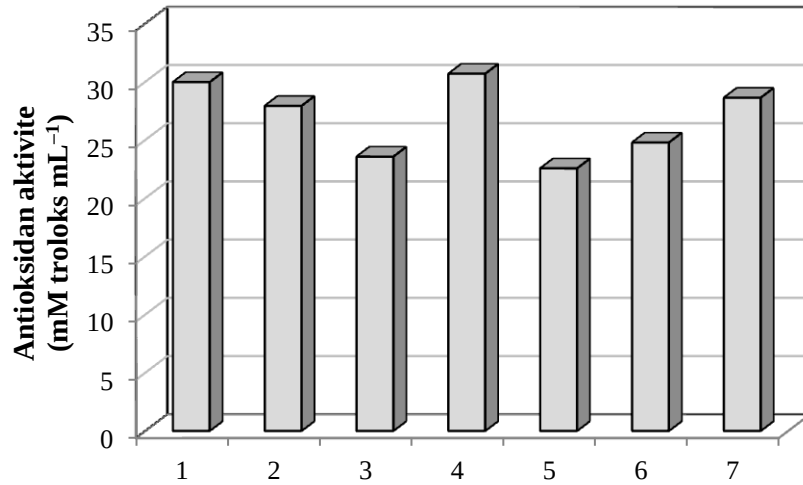
Çizelge 4.24 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının antioksidan aktivite düzeyi¹ üzerine etkisi

Durultma yöntemi	Antioksidan aktivite (mM troluks mL ⁻¹ nar suyu)
Durultulmamış	29.94±0.219
Doğal sedimantasyon	27.95±0.212
Jelatin	23.56±0.594
Kitosan	30.69±0.049
Kazein	22.54±0.141
Albümin	24.78±0.099
Ksantan gam	28.65±0.071

¹ Antioksidan aktivite düzeyleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Xie vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, hidroksil radikalının ($\bullet\text{OH}$) kitosanın aktif hidrojen atomu ile reaksiyona girerek stabil bir makromolekül radikal oluşturmasıyla kitosanın antioksidan aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bunun da; kitosanın polisakkarit ünitesindeki hidroksil gruplarının $\bullet\text{OH}$ ile bir hidrojen açığa çıkararak reaksiyona girmesi; $\bullet\text{OH}$ ’nin stabil makromolekül radikaller oluşturmak için kitosanın yapısındaki serbest amin (NH_2) grupları ile reaksiyona girmesi ve/veya

kitosanın NH_2 grubunun bulunduğu sulu çözeltiden hidrojen absorbe ederek amonyum (NH_3) gruplarına dönüşmesi ve daha sonra $\bullet\text{OH}$ ile reaksiyona girmesi olmak üzere 3 muhtemel yolla gerçekleştiği öne sürülmüştür. Literatürde kitosanın antioksidan aktivitesinden yararlanmak amacıyla özellikle et ve ürünlerinde lipit oksidasyonunu önlemede kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır (Darmadji ve Izumimoto 1994, Shahidi vd. 1999, Jo vd. 2001, No vd. 2007). Ancak meyve sularında kitosanın antioksidan etkisine ilişkin literatürde sadece bir araştırmaya rastlanmıştır. Oszmiański ve Wojdyło (2007) tarafından yapılan bu çalışmada, çalışmamızda elde edilen sonucun aksine; elma sularının durultulmasında durultma yardımcı maddesi olarak kullanılan kitosan-silikasol, kitosan-bentonit-silikasol, jelatin-bentonit ve jelatin-bentonit-silikasol kombinasyonlarının elma suyunun antioksidan aktivitesi üzerinde herhangi bir değişime neden olmadığı saptanmıştır. Kalkan-Yıldırım (2011) tarafından yapılan bir çalışmada albümin ve jelatinle durultulmuş şarapların antioksidan aktivitesinde sırasıyla %3.2 ve %1.7 azalma meydana geldiği belirlenmiştir.

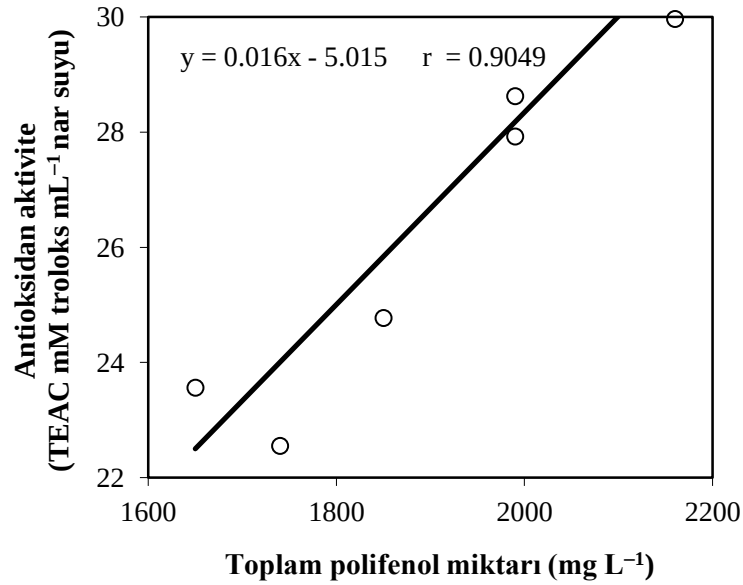


Şekil 4.19 Farklı durultma uygulamalarının nar suyunun antioksidan aktivitesi üzerine etkisi

1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimentasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Kazein, 6: Albümin, 7: Ksantan gam

Narlar meyve suyuna işlenirken uygulanan presleme, kabukta yoğun olarak bulunan suda çözünen antioksidan bileşiklerin meyve suyuna geçişini sağlamaktadır. Genel olarak bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar suyunun antioksidan aktivitesinin

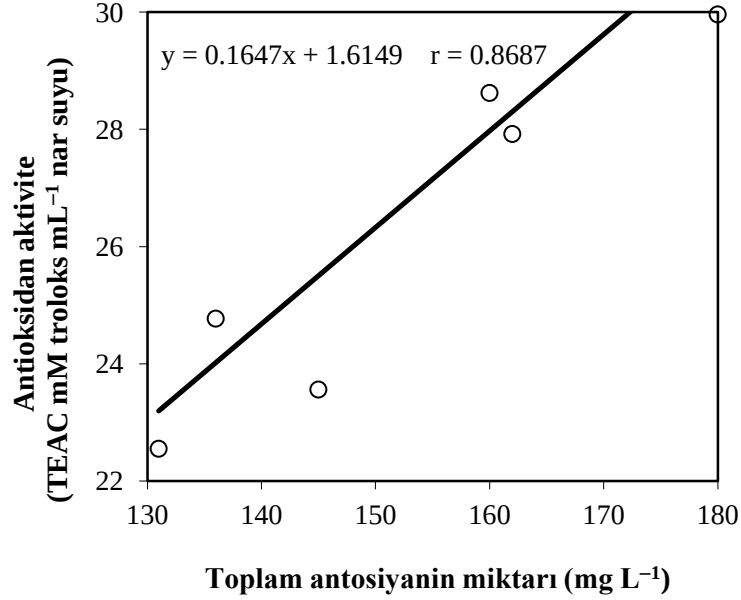
büyük oranda; hidrolize olabilen fenoliklerden, elajik asitten, antosiyaninlerden (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin glikozitlerden) ve diğer flavonoid bileşiklerden (kuersetin, kamferol ve luteolin glikozitler) kaynaklandığı belirtilmektedir (Seeram vd. 2005b). Çalışmamızda da nar suyunda bulunan polifenollerin ve antosiyaninlerin miktarındaki değişim ile antioksidan aktivitedeki değişim arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Şekil 4.20’de görüldüğü gibi; doğal sedimentasyon uygulanan ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulan nar sularının polifenol miktarlarında meydana gelen değişim, antioksidan aktivitede meydana gelen değişimle yüksek bir korelasyon ($r = 0.9055$) göstermiştir. Benzer şekilde, antosiyanin miktarı ile antioksidan aktivite arasında da iyi bir korelasyon ($r = 0.8687$) olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.20 Nar sularındaki antioksidan aktivite ve toplam polifenol miktarları arasındaki ilişki

Literatürde de bu korelasyonların doğrulandığı çalışmalara rastlanmıştır. Özgen vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, Akdeniz bölgesinde yetişen bazı nar çeşitlerinin polifenol miktarlarıyla antioksidan aktiviteleri arasında yüksek korelasyon ($r = 0.94$) olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, yine nar sularında yapılan bir başka çalışmayla da doğrulanmış; iki parametre arasındaki korelasyonun $r = 0.98$ ’den yüksek olduğu saptanmıştır (Tezcan vd. 2009). “Bayberry” sularında yapılan bir başka çalışmada da, meyve sularının antioksidan aktivitesi ile toplam polifenol miktarı

arasındaki korelasyon katsayısı $r = 0.672$, antosiyanin miktarı arasındaki korelasyon katsayısı ise $r = 0.729$ olarak belirlenmiştir (Fang vd. 2009).



Şekil 4.21 Nar sularındaki antioksidan aktivite ve toplam antosiyanin miktarları arasındaki ilişki

4.11 Nar Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanmış ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulmuş nar sularında pH, briks ve titrasyon asitliği gibi bazı nitelikler belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.25'te verilmiştir. Çizelge 4.25'te görüldüğü üzere, durultma işleminin, elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği üzerine sınırlı da olsa bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.25'te görüldüğü gibi, durultmadan önce nar suyunun briksi 16.0 (%), pH'sı 3.15 ve titrasyon asitliği ise, 1.92 (g 100 mL⁻¹) iken, her bir durultma uygulaması sonucu briks değerinde %0.6–4.4, pH değerinde %4.1 ve titrasyon asitliği değerinde ise, %1.6–4.7 değişim meydana geldiği saptanmıştır. Tüm durultma uygulamalarının; briks, pH ve titrasyon asitliği değerlerinde istatistiki olarak önemli değişime yol açtığı EK 1; Çizelge 11, 13 ve 15'te gösterilen varyans analizi sonuçlarında da açıkça görülmektedir.

($p < 0.05$). Elde edilen verilere uygulanan Duncan çoklu karşılaştırma testi (EK 1; Çizelge 12, 14 ve 16) sonuçlarına göre; nar sularının briksinde doğal sedimantasyon yöntemi dışındaki tüm uygulamalar fark oluşturmuş olsa da bu fark çok sınırlıdır. Bu fark, muhtemelen suda çözünebilen bileşiklerin bir kısmının durultma sırasında oluşan floklarla beraber ortamdan uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. Elma ve havuç sularının üretiminde kitosanın meyve suyu verimine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; %5 oranında kitosan çözeltisi eklenmiş elma suyunun suda çözünabilir kuru madde miktarının (briks) % 7.10'den % 6.53'e; havuç suyununkinin ise % 10.62'den % 10.35'e düştüğü gözlenmiştir (İmeri ve Knorr 1988). Kitosanın bu etkisinin polikasyonik özelliğinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Fang vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, “bayberry” sularının ksantan gam-kitosan ve jelatin-bentonit kombinasyonlarıyla durultulması sonucunda briksinin %9.0'dan sırasıyla %7.9 ve 8.1'e düştüğü, ultrafiltrasyonun briks üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı ortaya konmuştur.

Çizelge 4.25 Durultma işleminin nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği¹ değerlerine etkisi

Durultma yöntemi	Briks (%)	pH	Titrasyon asitliği (g 100 mL ⁻¹)*
Durultulmamış	16.0±0.007	3.15±0.028	1.92±0.035
Doğal sedimantasyon	16.1±0.007	3.17±0.007	1.99±0.035
Jelatin	15.3±0.042	3.17±0.021	1.88±0.021
Kitosan	15.4±0.085	3.18±0.000	1.92±0.014
Kazein	15.4±0.007	3.28±0.000	1.83±0.007
Albümin	15.9±0.007	3.18±0.000	1.95±0.014
Ksantan gam	15.8±0.042	3.18±0.000	1.92±0.049

¹Briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*: Susuz sitrik asit cinsinden

Nar sularının pH'sında değişime neden olan tek durultma yardımcı maddesinin kazein (%4.1) olduğu belirlenmiştir. Kazein, suda çözünmez yapıda bir durultma yardımcı maddesidir. Kazeinin çözünbilmesi için ortam pH'sının 11 civarında olması gerekmektedir (Morris ve Main 1995). Bu nedenle nar suyunun durultulmasında

kullanılan kazein, %1'lik sodyum karbonat çözeltisi içinde (pH 10.53) çözündürülerek hazırlanmıştır. Kazeinle durultulan nar suyunun pH'sındaki bu artış, muhtemelen kazein çözeltisinin pH'sından kaynaklanmaktadır.

Yine Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına (EK 1; Çizelge 16) göre; kitosan, ksantan gam ve albüminle durultulan nar sularının titrasyon asitliği değerleriyle durultulmamış nar suyunun titrasyon asitliği arasında istatistik açıdan önemli bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Yani bu uygulamalara ait titrasyon asitliği değerleri arasındaki fark tesadüfidir. Chatterjee vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada; elma, üzüm, limon ve portakal sularının berraklaştırılmasında bentonit, jelatin ve kitosan kullanılmış ve bu uygulamalar arasında, titrasyon asitliğine etki bakımından önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçların aksine, Rwan ve Wu (1996) tarafından yapılan bir çalışmada; greyfurt suyuna eklenen 0.015 g mL^{-1} konsantrasyonunda kitosanın, toplam asit miktarını %52.6 oranında azalttığı saptanmıştır (Shahidi vd. 1999). Yine Imeri ve Knorr (1988) tarafından havuç ve elma sularında yapılan bir çalışmada da; kitosan kullanımı titrasyon asitliğinde azalmaya neden olmuştur.

4.12 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Bulanıklık Değerlerindeki Değişimler

Farklı durultma yöntemleri ile durultulmuş nar sularından elde edilen nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince bulanıklık düzeyleri belirlenmiştir (Çizelge 4.26). 4° , 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanan konsantrelerde 60 gün sonunda yapılan bulanıklık ölçümleri sonucunda elde edilen verilere varyans analizi uygulanmış ve bulanıklık düzeylerinin değişimi üzerine “durultma x sıcaklık x süre” üçlü ve “durultma x sıcaklık” ile “sıcaklık x süre” ikili interaksiyonlarının istatistik olarak önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (EK 1; Çizelge 17) ($p>0.05$). Bu nedenle, bu verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmamıştır. Varyans analizi sonuçları “durultma x süre” ikili interaksiyonunun ise bulanıklık üzerine etkisinin istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Bu nedenle; durultma uygulaması ve süre faktörlerinin tek tek esas etkileri incelenmemiştir.

Çizelge 4.26 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin bulanıklık değerlerinde¹ depolama süresince meydana gelen değişimler

Durultma Uygulaması	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Bulanıklık (NTU)
<i>Durultulmamış</i>	-20	0	643±7.07
		240	643±24.04
	4	0	643±7.07
		120	544±33.94
	10	0	643±7.07
		120	577±25.46
	20	0	643±7.07
		60	543±41.72
<i>Doğal sedimentasyon</i>	-20	0	82±0.28
		210	65±2.12
	4	0	82±0.28
		120	72±1.70
	10	0	82±0.28
		120	72±0.92
	20	0	82±0.28
		60	74±1.13
<i>Jelatin</i>	-20	0	29±1.20
		240	38±0.49
	4	0	29±1.20
		120	25±0.57
	10	0	29±1.20
		120	27±1.34
	20	0	29±1.20
		60	25±0.21
<i>Kitosan</i>	-20	0	45±1.77
		240	54±1.41
	4	0	45±1.77
		120	39±0.78
	10	0	45±1.77
		120	43±0.85
	20	0	45±1.77
		60	44±0.92
<i>Albümin</i>	-20	0	38±2.90
		210	37±1.06
	4	0	38±2.90
		120	39±1.34
	10	0	38±2.90
		120	51±0.71

Çizelge 4.26 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin bulanıklık değerlerinde¹ depolama süresince meydana gelen değişimler (devam)

<i>Kazein</i>	20	0	38±2.90
		60	42±3.11
	-20	0	42±1.06
		210	38±0.49
	4	0	42±1.06
		120	34±0.49
<i>Ksantan gam</i>	10	0	42±1.06
		120	34±0.07
	20	0	42±1.06
		60	33±2.47
	-20	0	61±0.92
		210	61±1.20
	4	0	61±0.92
		120	55±1.63
	10	0	61±0.92
		120	56±2.90
	20	0	61±0.92
		60	79±1.56

¹ Bulanıklık değerleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

“Durultma x süre” ikili interaksyonu, durultma uygulamasının bulanıklık ortalamalarına etkisi arasındaki farkların süreye göre değiştiğini ve aynı zamanda sürenin bulanıklık ortalamalarına etkisi arasındaki farkların da durultma uygulamasına göre değiştiğini göstermektedir. Varyans analizi tablosuna göre; depolama sıcaklıklarının bulanıklık düzeyine etkisi olmadığı için “durultma x süre” ikili interaksyonunun etkisi sadece 4°C’de incelenmiştir. Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 18); 4°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinde durultma uygulamasının süreye göre bulanıklık ortalamalarına etkisi arasındaki farklar istatistik olarak incelendiğinde, durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantrenin bulanıklık düzeyinde 120 gün depolama sonucunda istatistik açıdan önemli düzeyde azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Bunun yanı sıra; diğer durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin 120 gün depolanması süresince bulanıklık değerlerinde bir değişim gözlenmemiştir. Bu durum; tüm durultma yardımcı maddeleri ile durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin depolama süresince bulanıklık düzeyinin stabil kaldığı anlamına gelmektedir. Öte yandan; depolama süresinin

durultma uygulamasına göre bulanıklık ortalamalarına etkisi arasındaki farklar da istatistik olarak incelenmiştir. Sonuç olarak; aynı depolama süresi için durultma uygulamaları arasında bulanıklık düzeyleri bakımından farklılıklar olduğu görülmektedir. Örneğin; 4°C’de 120 gün depolama sonucunda jelatin, kitosan, albümin ve kazein ile (sırasıyla 25, 39, 39 ve 34 NTU) kitosan ve ksantan gamla (39 ve 55 NTU) durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelerin bulanıklık düzeyleri arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmazken ($p>0.05$); durultulmamış ve doğal sedimentasyon (544 ve 72 NTU) uygulanmış nar sularından elde edilen nar suyu konsantrelerinin bulanıklık düzeylerinin hem birbirlerinden hem de diğer uygulamalardan oldukça farklı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Lee vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; durultulmamış, “bentonit” ve “jelatin + bentonit” kombinasyonu ile durultulmuş muz suları 4°, 25° ve 37°C sıcaklıklarda 24 hafta süreyle depolanmış ve depolama süresince örneklerin bulanıklık düzeyleri belirlenmiştir. Her üç sıcaklıkta, depolanan muz sularından durultulmuş olanlarda bulanıklık artışının durultulmamış örneklere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Bilindiği gibi polifenoller, proteinlerle interaksyona girerek polimerizasyon veya oksidasyonla başlayıp yüksek molekül ağırlıklı polimerik komplekslerin oluşmasıyla devam eden bir dizi reaksiyon sonucu bulanıklığa neden olmaktadır. Çalışmada; bulanıklık oluşumunun lag faz, gelişme fazı ve terminal faz olmak üzere 3 ayrı periyod halinde gerçekleştiği bildirilmiştir. Lag fazda çözünebilir protein-polifenol kompleksinin oluştuğu ve bu kompleksin henüz bulanıklığa neden olmaması, bulanıklık oluşturabilmeleri için bu moleküllerin oksidasyon veya polimerizasyona uğramaları gerektiği ile açıklanmıştır. Protein-polifenol interaksyonu bir kez gerçekleştiğinde oluşan kompleks bir prekursor görevi görerek bulanıklık oluşumunu hızlandırmakta ve bu faz, gelişme fazı olarak tanımlanmaktadır. Bulanıklık oluşumu, ortamda aktif prekursor veya bağ oluşturacak uç kalmayınca kadar devam etmekte ve bulanıklık artışının durduğu terminal fazla sonlanmaktadır (Siebert 1999a, b). Durultma ile potansiyel bulanıklık prekursorları ortamdan uzaklaştırıldığı için çalışma sonucunda, durultulmuş örneklerde bulanıklık oluşumunun daha az görülmesinin beklenen bir sonuç olduğu vurgulanmıştır.

Çalışmamızda da; sıcaklığın bulanıklık oluşumuna önemli bir etkisi saptanmamakla birlikte depolama süresinin etkisine bakıldığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Çalışmamızda, depolanan konsantrelerden şişe içeriği karıştırılmadan, üstten örnek alınarak hazırlanan örneklerde bulanıklık ölçümleri yapılmıştır. Bu durumda; depolama süresince polimerize veya kondense olan polifenollerin dibe çökmesi sonucu bulanıklık değerlerinde sürekli bir düşüş meydana gelmesi öngörülmüştür. Ancak; Çizelge 4.26 ve EK 1; Çizelge 18’de de görüldüğü gibi depolama süresince durultulmamış örneklerin dışındaki tüm örneklerde bulanıklık düzeyinde bir değişim meydana gelmemiştir. Bunun, ortamda aktif prekursor veya bağ oluşturacak uç kalmadığı için bulanıklık artışının durmasından (terminal faz) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bir başka çalışmada, durultulmuş elma sularının farklı sıcaklıklarda depolanmasının bulanıklık düzeyi ve kimyasal kompozisyon üzerine etkileri araştırılmıştır (Tajchakavit vd. 2001). 6 ay depolama sonunda; bulanıklık düzeyinde 4°, 25° ve 37°C’lerde sırasıyla 0.58, 0.95 ve 2.32 NTU’luk artışlar saptanmıştır. Her üç sıcaklıkta da bulanıklık oluşumunun birinci dereceden kinetik modele uyduğu saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca kondense olabilen fenolik bileşiklerin (kateşinler ve löykoantosiyandinler) miktarında, depolama süresi ve sıcaklığın artışı ile azalma saptanmıştır. Bu durum; düşük moleküllü fenolik bileşiklerin depolama süresince polimerize olarak prosiyanidinleri oluşturması ile açıklanmıştır. Prosiyanidinler bir yandan polimerize olarak büyük moleküllü bileşikler oluştururken, diğer yandan da proteinlerle reaksiyona girerek bulanıklığa yol açmaktadır. Yüksek sıcaklıklarda hem polimerizasyon reaksiyonları hızlanmakta ve hem de proteinler denatüre olarak prosiyanidinlerin daha kolay bağlanması mümkün olmaktadır. Bu çalışmada uygulanan depolama sıcaklıkları proteinlerin denatürasyonu için yeterli değildir. Araştırmacılar, düşük moleküllü fenolik bileşiklerin 37°C’de daha hızlı polimerize olmalarının, bu sıcaklıkta moleküllerin daha hızlı hareket etmesinden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir.

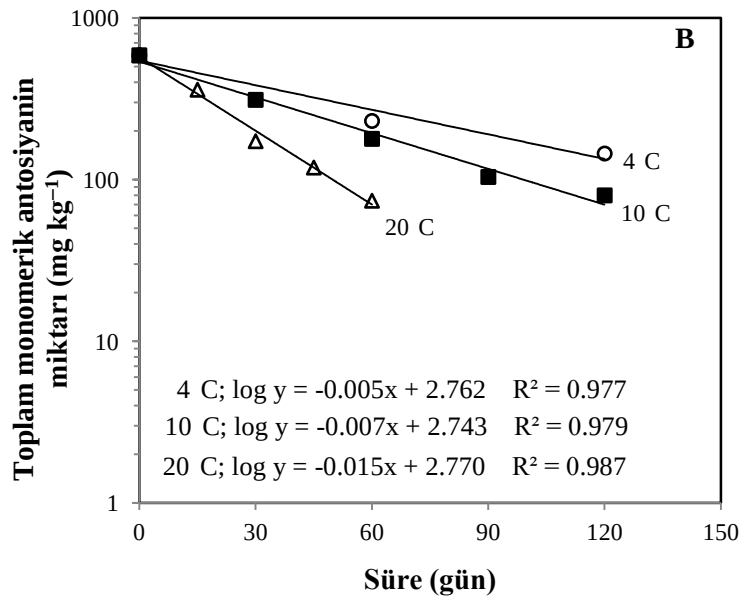
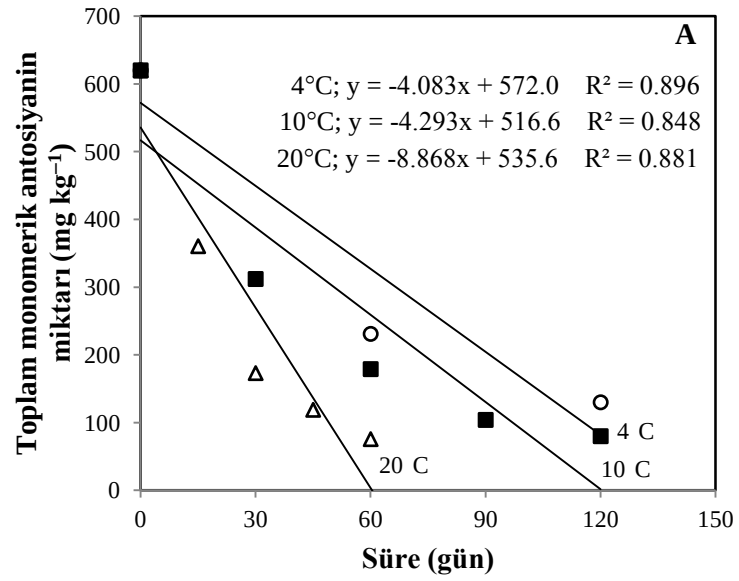
Fang vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada da; “bayberry” suyu, ksantan gamkitosan (KG-K) ve jelatin-bentonit (J-B) kombinasyonları kullanılarak durultulmuştur. Çalışma sonucunda; durultulmamış meyve suyunun bulanıklık değeri 1010 NTU iken;

bu değer, KG-K kombinasyonu (0.3 g L^{-1} ksantan gam; 0.1 g L^{-1} kitosan) ile durultma sonucu 71.3 NTU 'ya ve J-B (0.2 g L^{-1} jelatin; 0.2 g L^{-1} bentonit) kombinasyonu ile durultma sonucu da 69.3 NTU 'ya dūřmūřtır. Durultulan meyve sularının 4° ve 25°C sıcaklıklarda 6 ay karanlıkta depolanmasıyla bulanıklığın stabilitesi incelenmiştir. 0–2 ay arasında bulanıklık oluşumunun lag fazda olduğu ve artışın çok yavaş gerçekleştiği, 2. aydan sonra bulanıklık oluşumunun çok hızlandığı ve bulanıklık oluşumunun 25°C 'de 4°C 'dekine kıyasla uygulanan filtrasyon yöntemine (diatomik yüzey filtrasyonu veya ultrafiltrasyon) göre değişmekle birlikte KG-K uygulamasında 3.9–5.0 kat, J-B uygulamasında 3.9–41 kat daha hızlı gerçekleştiği ortaya konmuştur. Bu değerler, Fang vd. (2007) tarafından 4° ve 25°C sıcaklıklarda saptanan reaksiyon hız sabitleri kullanılarak tarafımızdan hesaplanmıştır.

4.13 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Antosiyaninlerdeki Değişimler

Durultulmamış ve farklı durultma yöntemleri ile durultulmuş nar sularından elde edilen nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarları belirlenmiş ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.

şekil 4.22'de görüldüğü gibi öncelikle, nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyaninlerde meydana gelen parçalanmanın hangi kinetik modele uygun olduğu ortaya konmuştur. Bu amaçla antosiyanin miktarlarına ilişkin orijinal deney verileri herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan hem aritmetik bir grafik kağdının "y" eksenine ve hem de 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağdının logaritmik ölçekli "y" eksenine, süreler ise aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenerek doğrusal eğriler elde edilmiştir. Söz konusu eğrilerin determinasyon katsayıları (R^2) karşılaştırıldığında birinci derece kinetik modele ait grafiklerde daha yüksek R^2 değerlerinin elde edildiği görülmektedir (şekil 4.22). Bu durum nar suyu konsantrelerinin 4° , 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanması süresince, antosiyaninlerinin parçalanmasının birinci derece kinetik modele uygun olarak geliştiğini göstermektedir.

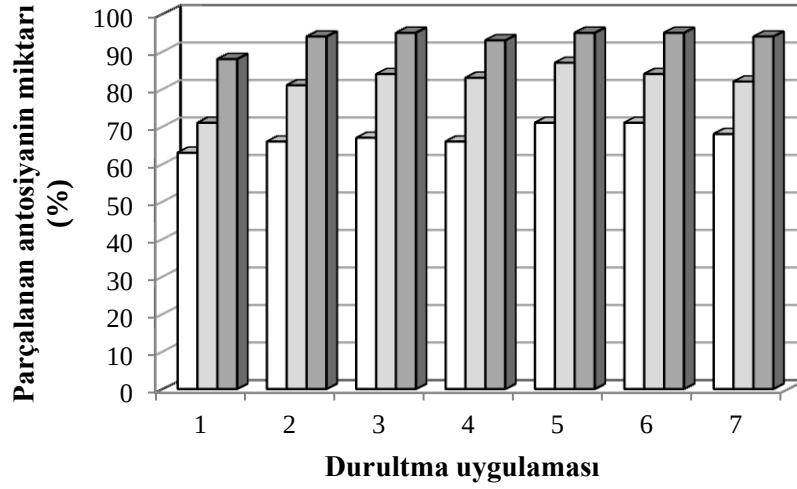


Şekil 4.22 Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarındaki değişimler
 A: Linear B: Logaritmik

Literatürde birçok üründe antosiyaninlerin parçalanmasının gerek ısıtma gerekse de depolama süresince birinci dereceden kinetik modelle tanımlandığı görülmektedir. Bu durum, nar sularının 90°C’de ısıtılması (Miskin ve Saguy 1982), nar suyu konsantrelerinin 5°–37°C (Asefi 1995) ve siyah havuç suyu konsantrelerinin 5°–30°C sıcaklıklarda (Türkyılmaz 2009) depolanması süresince de ortaya konulmuştur. Aynı şekilde antosiyaninlerin parçalanması vişne suyu konsantrelerinde (Işık 1993, Asefi 1995) ve kan portakalı suyu konsantrelerinde (Kırca ve Cemeroğlu 2003) 5°–37°C sıcaklıklarda depolama süresince; siyah havuç suyu konsantrelerinin 95°C (Sadilova vd. 2006), 70° ve 80°C’de (Kırca vd. 2007) ısıtılması, ayrıca; nar suyu konsantrelerinin 5°–20°C’de (Turfan 2008), siyah havuç suyu konsantrelerinin 4°–37°C’de (Kırca vd. 2007) depolanması süresince de birinci dereceden kinetik modelle tanımlanmıştır.

Farklı depolama sıcaklıklarında, nar suyu konsantrelerinin toplam antosiyanin miktarlarındaki azalmaya ilişkin veriler EK 2; Şekil 1’de verilen grafiklerde gösterilmiştir. Nar suyu konsantrelerindeki antosiyaninlerin, depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak parçalandığı belirlenmiştir. Nar suyu konsantrelerinde antosiyanin miktarının 4°C’de 120 gün depolama sonunda %78–83, 10°C’de 120 gün depolama sonunda %87–92 ve 20°C’de 60 gün depolama sonunda %88–95 oranında azaldığı saptanmıştır. 20°C’de depolama süresi 4°C’ye göre 2 kat daha az olmasına karşın, yaklaşık %10 daha fazla antosiyanin kaybı gerçekleşmiştir. –20°C’de 8 ay depolanan durultulmamış, jelatinle ve kitosanla durultulmuş nar suyu konsantresi örneklerinde ve 7 ay depolanan doğal sedimantasyon uygulanmış, kazeinle, albüminle ve ksantan gamla durultulmuş nar suyu konsantresi örneklerinde ise antosiyanin miktarındaki değişim çok sınırlıdır (%1.2–%4.5).

Çalışmamızda uygulanan 3 farklı depolama sıcaklığının antosiyanin kaybına etki düzeyi EK 2; Şekil 1’de verilen grafiklerdeki eğimlerden kolaylıkla görülebilir. Bu durumu daha iyi açıklayabilmek için; 4°, 10° ve 20°C sıcaklıklarda 60 gün depolama sonunda, nar suyu konsantrelerindeki antosiyanin miktarlarının yüzde azalma oranları Şekil 4.23’te verilen histogramda gösterilmiştir. Şekil 4.23’te görüldüğü gibi, nar suyu konsantrelerinin 60 gün depolanması sonunda toplam antosiyanin miktarlarında, 4°C’de %63–71, 10°C’de %71–87 ve 20°C’de %88–95 düzeyinde azalma saptanmıştır.



Şekil 4.23 Farklı sıcaklıklarda 60 gün süreyle depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarında meydana gelen azalmalar
 1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam

Nar suyu konsantrelerinin 4°, 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarında meydana gelen azalışa ilişkin kinetik parametreler EK 2; Şekil 1’den elde edilen eğrileri tanımlayan eşitliklerden hesaplanmıştır. Nar suyu konsantrelerinin 4°, 10° ve 20°C’lerde depolanması sonucunda antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin reaksiyon hız sabitleri (k) EK 2; Şekil 1’den elde edilen eğrilerin eğimlerinin "2.303" değeri ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır. Bu parçalanmaya ilişkin kinetik katsayılar, Çizelge 4.27’de verilmiştir. Kinetik veriler incelenince, beklendiği gibi depolama sıcaklığı yükseldikçe bütün örneklerde antosiyaninlerin parçalanma hızlarının arttığı görülmektedir. Örneğin; nar suyu konsantrelerinde, yarılanma süresi ($t_{1/2}$); 4°C’de 50–60 gün olduğu halde, depolama sıcaklığı 10°C’ye yükselince bu süre 33–43 güne ve 20°C’ye yükselince ise, 15–20 güne düşmüştür.

Literatürde nar sularında ve nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin stabilitesine ilişkin bazı çalışmalara rastlanmıştır. Bu çalışmaların birinde, Alighourchi ve Barzegar (2009); konsantreden rekonstitüsyonla elde edilen pastörize nar sularını (13.7°Bx) 4°, 20° ve 37°C sıcaklıkta 210 gün süreyle depolamış ve antosiyaninlerin parçalanmasını birinci derece kinetik modelle tanımlamışlardır. Çalışmada 4°C sıcaklıkta depolanan nar suyu antosiyaninlerinin yarı ömür süresinin ($t_{1/2}$) 119 gün

olduğu saptanırken, bu değer 20°C’de 45, 37°C’de ise 25 gün olarak belirlenmiştir. Bu, sıcaklığın 4°C’den 37°C’ye çıkmasıyla reaksiyon hızının 4.7 kat arttığı anlamına gelmektedir. Turfan (2008) tarafından yapılan çalışmada da, durultulmamış ve jelatin kullanılarak soğuk durultma yöntemiyle durultulmuş nar suyu konsantrelerinin 5°, 12° ve 20°C sıcaklıkta depolanması süresince antosiyaninlerin stabilitesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda durultulmamış nar suyu konsantrelerinde (64°Bx) yarılanma süresi ($t_{1/2}$) 5°C’de 215 gün olduğu halde, depolama sıcaklığı 12°C’ye yükseldiğinde bu sürenin 79 güne, 20°C’ye yükseldiğinde ise 29 güne düştüğü belirlenmiştir. Bu süreler durultulmuş nar suyu konsantrelerinde (69°Bx) de sırasıyla 167 gün, 70 gün ve 27 gün olarak saptanmıştır. Turfan (2008) tarafından 20°C’de saptanan yarı ömür süresi, çalışmamızda aynı sıcaklıkta bulunan yarı ömür süresine ($t_{1/2}$ =15–20 gün) yakın olmasına rağmen 5° ve 12°C’de elde edilen yarılanma süreleri çalışmamızda 4° ve 10°C (sırasıyla; $t_{1/2}$ =50–60 gün, $t_{1/2}$ =33–43 gün) için belirlenenlere göre çok daha yüksektir. Nar suyu konsantrelerinin depolanması süresince antosiyaninlerin parçalanmasına dair yapılan bir başka çalışmada da; antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı ömür süresi 5°C’de 78 gün ve 20°C’de ise, 32 gün olarak saptanmıştır (Asefi 1995). Yine burada da; Asefi (1995) tarafından 5° ve 20°C’de elde edilen yarılanma süreleri çalışmamızda 4° ve 20°C’de bulunan yarılanma sürelerine (sırasıyla; $t_{1/2}$ =50–60 gün, $t_{1/2}$ =15–20 gün) göre daha yüksektir.

Yarı ömür sürelerinde saptanan bu farklılık çeşitli nedenlerden kaynaklanabilmektedir. Nitekim, Asefi (1995) tarafından yapılan çalışmada nar suyu konsantresinin antosiyanin içeriği yaklaşık 440 mg kg⁻¹ iken çalışmamızda kullanılan konsantrelerin antosiyanin içeriği durultma uygulamasına bağlı olarak 620–411 mg kg⁻¹ arasında değişmektedir. Bilindiği gibi, birinci derece reaksiyonların hızı, reaktan konsantrasyonu ile orantılı olarak değişmektedir. Yani, substrat konsantrasyonu arttıkça reaksiyon hızı da artmaktadır. Diğer taraftan Asefi (1995) ve Turfan (2008) tarafından yapılan çalışmalarla, çalışmamızda saptanan yarı ömür sürelerinde saptanan bu farklılık; çalışmalarda kullanılan narların antosiyanin kompozisyonlarındaki farklılıktan da kaynaklanabilir. Bilindiği üzere, ülkemizde 200’ün üzerinde nar çeşidi bulunmakta ve bu narların da antosiyanin kompozisyonları birbirinden çok farklı olabilmektedir (Özkan vd. 2009).

Çizelge 4.27 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik parametreler

Durultma Uygulaması	Sıcaklık (°C)	$-k \times 10^3$ (gün ⁻¹)	$t_{1/2}$ (gün)	Q_{10} (4°–20°C)	E_a (kJ mol ⁻¹)
<i>Durultulmamış</i>	4	11.51 (0.977)*	60		
	10	16.12 (0.979)	43	1.99	46
	20	34.55 (0.987)	20		
<i>Doğal sedimantasyon</i>	4	11.52 (0.942)	60		
	10	16.12 (0.902)	43	2.23	54
	20	41.45 (0.922)	17		
<i>Jelatin</i>	4	13.82 (0.981)	50		
	10	20.73 (0.934)	33	2.12	51
	20	46.06 (0.944)	15		
<i>Kitosan</i>	4	11.52 (0.967)	60		
	10	18.42 (0.944)	38	2.23	54
	20	41.45 (0.935)	17		
<i>Albümin</i>	4	13.82 (0.950)	50		
	10	18.42 (0.867)	38	2.12	51
	20	46.06 (0.883)	15		
<i>Kazein</i>	4	11.52 (0.897)	60		
	10	16.12 (0.862)	43	2.30	56
	20	43.76 (0.891)	16		
<i>Ksantan gam</i>	4	13.82 (0.961)	50		
	10	18.44 (0.931)	38	1.99	46
	20	41.45 (0.889)	17		

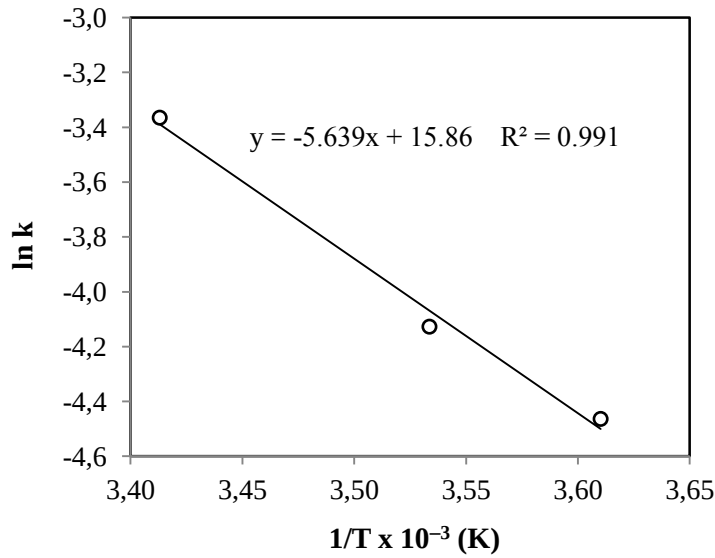
*Parantez içindeki değer determinasyon katsayısıdır (R^2).

Aynı çeşidin farklı hasat zamanlarında hasat edilmesi de antosiyanin miktarı ve stabilitesi üzerine son derece etkili olabilmektedir. Bilindiği gibi antosiyaninler sıcaklığa son derece duyarlıdır. Bu durum meyvenin olgunlaşması süresince antosiyanin oluşumunda da görülmektedir (Oren-Shamir 2009). Düşük sıcaklıklar, antosiyanin oluşumunu artırırken, yüksek sıcaklıklar antosiyanin konsantrasyonunu azaltmaktadır. Yüksek sıcaklıkta olgunlaşmış meyveler, ılıman sıcaklıklarda olgunlaşanlara göre daha

az antosiyanin ve daha açık renge sahiptirler (Borochoy-Neori vd. 2011). Borochoy-Neori vd. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada; geniş bir sıcaklık aralığında (7°–40°C), sıcaklığın nar danelerinin antosiyaninleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada sıcaklıkla antosiyanin birikimi arasında ters bir ilişki olduğu saptanmıştır. Daha serin geçen sezonlarda delfinidin birikiminin artması fakat siyanidin içeriğinin daha fazla olmasının yanı sıra; monoglikozit yapıdaki antosiyanin içeriğinin de daha yüksek olduğu ve iklim ılımanlaştıkça diglikozit yapıdaki antosiyanin oranının arttığı bildirilmiştir. Dolayısıyla meyvenin yetiştiği bölgenin iklimine, yetiştiği mevsim sıcaklık ortalamasına göre söz konusu nardan elde edilen nar suyu konsantresindeki antosiyaninlerin stabilitesi de farklılık gösterebilmekte, bu da parçalanma hızını önemli derecede etkilemektedir.

Antosiyaninlerin parçalanma hızlarındaki bu farklılık, çeşitli meyvelerden elde edilen konsantrelerde de ortaya konulmuş ve literatürde antosiyanin içeren diğer meyve ve sebze suyu konsantreleri için saptanan yarı ömür süreleri de, nar suyu konsantreleri ile ilgili olarak hesaplanmış yarı ömür süreleri ile kıyaslanmıştır. Diğer meyve ve sebze sularının durultulduktan sonra konsantreye işlendiği göz önüne alınarak, doğru kıyaslama yapabilmek için jelatinle durultulmuş nar sularından elde edilen nar suyu konsantrelerinde 4° ve 20°C’de antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin hesaplanan yarı ömür süreleri (sırasıyla 50 ve 15 gün) dikkate alınmıştır (Çizelge 4.27). Örneğin; 5° ve 20°C’de depolanan vişne suyu konsantrelerinde, antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı ömür süreleri sırasıyla 834 ve 83 gün (Işık 1993), ve 166 ve 36 gün (Asefi 1995); kan portakalı suyu konsantresinde 4.8 gün ve 0.74 gün (Kırca ve Cemeroğlu 2003) olarak bulunmuştur. Siyah havuç suyu konsantrelerinde Kırca vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada 4°, 20° ve 37°C’deki yarılanma sürelerinin sırasıyla 1505, 252 ve 28 gün olduğu saptanmışken; Türkyılmaz (2009) tarafından yapılan çalışmada yarılanma sürelerinin 5°C’de 603, 20°C’de 137 ve 30°C’de ise, 29 gün olduğu ortaya konmuştur. Bir başka çalışmada; 5°, 25° ve 37°C’de depolanan böğürtlen konsantrelerinin yarı ömür sürelerinin sırasıyla 133, 19 ve 8 gün olduğu belirlenmiştir (Wang ve Xu 2007). Bu değerler kıyaslanınca, 4° ve 20°C sıcaklıklarda, nar suyu antosiyaninlerinin, vişne, siyah havuç, böğürtlen antosiyaninlerine göre stabilitesinin daha düşük; kan portakalı antosiyaninlerine göre ise, göre oldukça stabil olduğu anlaşılmaktadır.

Nar suyu konsantrelerinde depolama süresince antosiyanin kaybının sıcaklığa bağlılığının saptanması amacıyla; aktivasyon enerjisi (E_a) ve Q_{10} değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.27). Arrhenius grafiklerinin oluşumuna ilişkin veriler EK 4; Çizelge 1’de, Arrhenius grafikleri ise, EK 5; Şekil 1’de verilmiştir. Durultulmamış nar suyu konsantresine ait Arrhenius grafiği ve grafiğe ilişkin veriler örnek olarak sırasıyla Şekil 4.24 ve Çizelge 4.28’de verilmiştir.



Şekil 4.24 Durultulmamış nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin Arrhenius grafiği

4°–20°C arasında, nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin aktivasyon enerjisi değeri (E_a); durultulmamış ve ksantan gamla durultulmuş örneklerde 46 kJ mol⁻¹, jelatin ve albüminle durultulmuş örneklerde 51 kJ mol⁻¹, doğal sedimentasyon uygulanmış ve kitosanla durultulmuş örneklerde 54 kJ mol⁻¹ ve kazeinle durultulmuş örneklerde ise 56 kJ mol⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.27). E_a değerleri kıyaslandığında, durultulmamış ve ksantan gamla durultulan örneklerdeki antosiyaninlerin parçalanma hızlarının, diğer örneklere göre sıcaklık değişimlerinden daha az etkilendiği sonucuna ulaşılmıştır. 4°–20°C arasında hesaplanan oldukça yüksek E_a ve Q_{10} değerleri, nar suyu antosiyaninlerinin parçalanma hızlarının sıcaklığa bağlı olduğunu ve bu reaksiyonun sıcaklık artışlarına oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.28 Durultulmamış nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin Arrhenius grafiği için gerekli veriler

Sıcaklık		$1/T \times 10^{-3}$ (K)	k (gün ⁻¹)	-lnk
(°C)	(K)			
4	277	3.61	0.0115 (0.977)	4.464
10	283	3.53	0.0161 (0.979)	4.128
20	293	3.41	0.0345 (0.987)	3.365

Çalışmamızda nar suyu konsantrelerinde (yaklaşık 65°Bx) 4°–20°C sıcaklıklarda antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin saptanan aktivasyon enerjisi değerleri ($E_a = 46\text{--}56 \text{ kJ mol}^{-1}$); Turfan (2008) tarafından durultulmamış, durultulmuş, durultulmamış ve pastörize edilmiş ile durultulmuş ve pastörize edilmiş nar suyu konsantrelerinde (68°–69°Bx) saptanan aktivasyon enerjisi değerlerinden ($E_a = 77\text{--}90 \text{ kJ mol}^{-1}$) daha düşüktür. Bunun yanı sıra; çalışmamızda 4°–20°C sıcaklıklarda antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin belirlenen Q_{10} değerleri ($Q_{10} = 1.99\text{--}2.30$) de yine Turfan (2008) tarafından yapılan araştırmadakine ($Q_{10} = 3.12\text{--}3.79$) göre düşüktür. Buna göre; çalışmamızda, nar suyu konsantresinde bulunan antosiyaninler sıcaklık değişimlerinden Turfan (2008) tarafından yapılan çalışmadaki konsantre örneklerinde bulunan antosiyaninlere göre daha az etkilenmiştir.

4°, 10° ve 20°C’de 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 19), “durultma x sıcaklık x süre” üçlü interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). Bu sonuç; durultma uygulamaları arasında antosiyanin miktarı üzerine etki bakımından farklılığın, sıcaklık ve süreye göre değiştiğini göstermektedir. Aynı şekilde bu interaksiyon, uygulanan depolama sıcaklıkları arasında antosiyanin miktarı üzerine etki bakımından farklılığın, durultma uygulaması ve süreye göre değiştiğini gösterdiği gibi; uygulanan depolama süreleri arasında antosiyanin miktarı üzerine etki bakımından farklılığın, durultma uygulaması ve sıcaklığa göre değiştiğini de göstermektedir. Ancak son iki ifadede yer alan antosiyanin miktarı üzerine sıcaklık ve sürenin etkisi kinetik olarak incelenip yukarıda ayrıntılı şekilde yorumlanmıştır. Bu nedenle; sıcaklık ve

sürenin etkisi istatistik olarak incelenmemiştir. Bununla birlikte nar suyu konsantrelerinde durultma uygulaması, sıcaklık ve süre antosiyanin miktarı üzerinde birlikte etkili olduğu için; durultma x sıcaklık, durultma x süre, sıcaklık x süre ikili interaksiyonları ile durultma, sıcaklık ve sürenin antosiyanin miktarı üzerine tek tek esas etkileri araştırılmamıştır.

Elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 20, 21 ve 22); durultulmamış ve 6 farklı uygulama ile durultulmuş nar sularının konsantreye işlenmesi sonucu konsantrelerin antosiyanin miktarları arasında istatistik olarak önemli farklar olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Ancak; jelatin ve kitosanla durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelerin ve ayrıca doğal sedimantasyon yöntemiyle ve kazeinle durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelerin antosiyanin içerikleri arasındaki farkların istatistik olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Nar suyu konsantrelerinin 4°, 10° ve 20°C’de depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin içeriklerinde 60 gün sonra meydana gelen değişimler üzerine durultma uygulamasının etki ettiği görülmektedir ($p<0.05$). Bunun yanı sıra; 4°C’de depolama süresince doğal sedimantasyon, albümin ve ksantan gam uygulanmış nar suyu konsantreleri ve jelatin ve kitosan uygulanmış konsantrelerde meydana gelen değişim arasında istatistik olarak fark görülmemiştir ($p>0.05$). Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince, durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantrenin dışındaki tüm uygulamalar arasında 60. gün sonundaki antosiyanin miktarına etki bakımından önemli bir fark görülmemiştir ($p>0.05$).

Farklı durultma uygulamaları ile durultulan nar sularından elde edilmiş konsantrelerde HPLC ve spektrofotometrik yöntemle (pH-diferansiyel metodu) Cy-3-glu cinsinden hesaplanan toplam monomerik antosiyanin miktarları Çizelge 4.29’da verilmiştir. HPLC yöntemiyle de hesaplanan toplam antosiyanin miktarları kıyaslandığında tıpkı spektrofotometrik yöntemdekinde olduğu gibi, en fazla parçalanma 20°C’de depolanan konsantre örneklerinde gerçekleşirken, en az parçalanma ise, -20°C’de depolanan örneklerde gerçekleşmiştir. Nar suyu konsantrelerinin -20°C’de 7–8 ay süreyle depolanması sonunda toplam antosiyanin miktarında önemli bir değişim gözlenmezken,

aynı örneğin 20°C’de üstelik 60 gün gibi kısa bir süre depolanması sonucunda, uygulanan durultma işleminin farklılığına göre değişmekle birlikte %84–88 oranında bir kayıp saptanmıştır.

Çizelge 4.29 Farklı durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklıklarda depolanması sonucunda saptanan antosiyanin miktarları

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarı* (mg kg ⁻¹)	
			Spektrofotometrik	HPLC
<i>Durultulmamış</i>	-20	0	620	571
		240	590 (%5)	567
	4	0	620	571
		120	130 (%63)	154 (%74)
	10	0	620	571
		120	80 (%71)	97 (%83)
	20	0	620	571
		60	76 (%88)	71 (%88)
	-20	0	426	436
		210	412 (%3)	437
<i>Doğal sedimentasyon</i>	4	0	426	436
		120	95 (%66)	118 (%73)
	10	0	426	436
		120	52 (%81)	88 (%80)
	20	0	426	436
		60	52 (%94)	52 (%88)
<i>Jelatin</i>	-20	0	516	356
		240	493 (% 4)	366
	4	0	516	356
		120	87 (%67)	105 (%71)
	10	0	516	356
		120	43 (%84)	78 (%78)
	20	0	516	356
		60	28 (%95)	54 (%85)
<i>Kitosan</i>	-20	0	529	415
		240	509 (%4)	434
	4	0	529	415
		120	103 (%81)	118 (%72)
	10	0	529	415
		120	47 (%91)	75 (%82)
	20	0	529	415
		60	51 (%90)	57 (%86)

Çizelge 4.29 Farklı durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklıklarda depolanması sonucunda saptanan antosiyanin miktarları (devam)

<i>Albümin</i>	-20	0	499	465
		240	487 (%2)	435 (%6)
	4	0	499	465
		120	84 (%71)	108 (%77)
	10	0	499	465
		120	43 (%87)	83 (%82)
<i>Kazein</i>	-20	0	411	362
		240	429	364
	4	0	411	362
		120	87 (%71)	106 (%67)
	10	0	411	362
		120	44 (%83)	74 (%77)
<i>Ksantan gam</i>	-20	0	468	452
		240	474	467
	4	0	468	452
		120	87 (%68)	106 (%77)
	10	0	468	452
		120	43 (%82)	72 (%84)
	20	0	468	452
		60	29 (%94)	59 (%87)

*: siyanidin-3-O-glikozit cinsinden

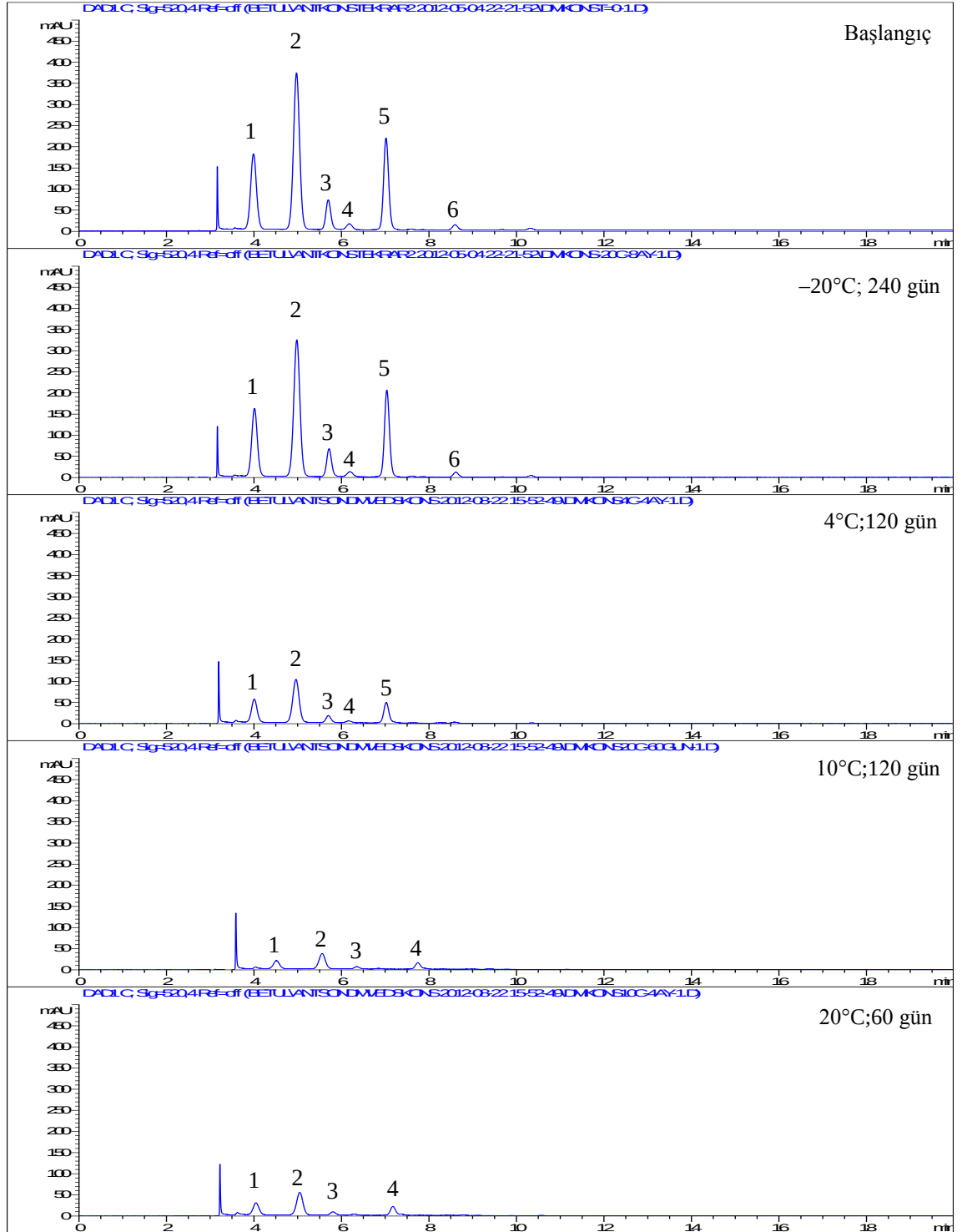
** Parantez içindeki değerler depolama sonundaki “% antosiyanin kaybı” nı göstermektedir.

Literatürde antosiyanin kaybının depolama sıcaklığına bağlı olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur. Örneğin, Withy vd. (1993), ahududu suyu konsantrelerinde antosiyanin kaybının depolama sıcaklığına bağlı olduğunu göstermişlerdir. Siyah havuç suyu konsantrelerinin -23°C’de yaklaşık 1 yıl süreyle depolanması sonunda toplam antosiyanin miktarında önemli bir değişim gözlenmezken, aynı örneğin 30°C’de üstelik 53 gün gibi kısa bir süre depolanması sonunda, %63 oranında bir kayıp saptanmıştır (Türkyılmaz ve Özkan 2012). Benzer şekilde, vişne suyu konsantrelerinin (70°Briks) -18°C’de 6 ay ve 20°C’de ise, 44 gün depolanması sonunda sırasıyla %4 ve %59 oranında antosiyanin kaybı olduğu gözlemlenmiştir (Asefi 1995). Aynı araştırmacının nar suyu konsantrelerinde yaptığı bir çalışmada -18°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinde (70°Briks) 6 ay depolama sonunda antosiyanin kaybı %11 düzeyinde

gerçekleşirken, 20°C’de 27 gün depolama sonunda %65 kayıp olduğu saptanmıştır. Laboratuvarımızda Turfan vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada da, durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin –23°C sıcaklıkta yaklaşık 1 yıl süreyle depolanması sonucunda toplam antosiyanin miktarı %7 azalırken, 20°C’de 73 gün depolama sonunda bu kaybın %83 olduğu gözlenmiştir.

Nar suyu konsantrelerinin antosiyanin kompozisyonları; her bir depolama sıcaklığında (–20°, 4°, 10° ve 20°C) depolama başlangıcında ve sonunda elde edilen EK 6; Şekil 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7’deki kromatogramlarda verilmiştir. Bununla birlikte durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelere ait kromatogramlar Şekil 4.25’te verilmiştir. Kromatogramlarda 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 olarak gösterilmiş olan pikler sırasıyla; Dp-3,5-diglu, Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu, Cy-3-glu ve Pg-3-glu olarak tanımlanmıştır.

Durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanmış ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklık ve sürelerde depolanması süresince HPLC ile belirlenen antosiyanin kompozisyonları Çizelge 4.30’da belirtilmiştir. Antosiyaninler arasında kıyaslama yapılırken, nar suyu konsantresinde bulunan ve toplam antosiyanin içeriğinin yaklaşık %86’sını oluşturan Cy-3,5-diglu (%38–43), Cy-3-glu (%22–25) ve Dp-3,5-diglu (%20–25) dikkate alınmıştır. Çizelge 4.30’da görüldüğü gibi 4°C’de uygulanan durultma işlemine göre değişmekle birlikte Cy-3,5-diglu’de %74–81, Cy-3-glu’de %70–77 ve Dp-3,5-diglu’de ise, %60–70 düzeyinde azalma saptanmıştır. 10°C’de ise Cy-3,5-diglu’de %84–90, Cy-3-glu’de %77–84 azalma meydana gelirken, Dp-3,5-diglu’de %69–79 düzeyinde azalma olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, 20°C’de 60 gün depolama sonucunda da Cy-3,5-diglu’de %92–95, Cy-3-glu’de %81–86 ve Dp-3,5-diglu’de ise, %77–83 arasında azalma görülmüştür. Görüldüğü gibi, depolama boyunca bu 3 başat antosiyaninin stabilitelerinin genel olarak Dp-3,5-diglu > Cy-3-glu > Cy-3,5-diglu olarak sıralandığı saptanmıştır.



Şekil 4.25 Durultulmamış nar sularından elde edilen ve farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları

Çizelge 4.30 Nar suyu konsantrelerinde saptanan antosiyanin miktarları

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarları (mg kg ⁻¹)					
			Dp-3,5-diglu*	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
<i>Durultulmamış</i>	4	0	144.5	219.7	39.1	15.2	125.5	26.4
		120	43.7 (%70)	50.1(%77)	11.4 (%71)	6.5 (%57)	36.1 (%71)	5.8 (%78)
	10	0	144.5	219.7	39.1	15.2	125.5	26.4
		120	29.7 (%79)	26.9 (%88)	7.3 (%81)	5.5 (%64)	23.2 (%81)	4.2 (%84)
	20	0	144.5	219.7	39.1	15.2	125.5	26.4
		60	24.1 (%83)	15.9 (%93)	5.9 (%85)	4.9 (%68)	19.1 (%85)	0.2 (%99)
<i>Doğal sedimantasyon</i>	4	0	87.3	182.7	25.5	15.2	102.9	22.5
		120	31.2 (%64)	41.4 (%77)	7.3 (%71)	6.5 (%57)	27.6 (%73)	3.9 (%83)
	10	0	87.3	182.7	25.5	15.2	102.9	22.5
		120	25.6 (%71)	27.0 (%85)	5.9 (%77)	5.4 (%64)	21.9 (%79)	2.3 (%90)
	20	0	87.3	182.7	25.5	15.2	102.9	22.5
		60	18.0 (%79)	9.9 (%95)	4.5 (%82)	4.4 (%71)	15.4 (%85)	0.2 (%99)
<i>Jelatin</i>	4	0	76.5	140.9	22.7	14.5	83.4	17.7
		120	29.1 (%62)	35.0 (%75)	6.8 (%70)	6.0 (%59)	24.7 (%70)	3.6 (%80)
	10	0	76.5	140.9	22.7	14.5	83.4	17.7
		120	23.7 (%69)	23.2 (%84)	5.7 (%75)	5.3 (%63)	19.4 (%77)	0.2 (%99)
	20	0	76.5	140.9	22.7	14.5	83.4	17.7
		60	17.9 (%77)	10.7 (%92)	4.5 (%80)	4.6 (%68)	15.6 (%81)	0.2 (%99)

Çizelge 4.30 Nar suyu konsantrelerinde saptanan antosiyanin miktarları (devam)

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarları (mg kg ⁻¹)					
			Dp-3,5-diglu*	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
<i>Kitosan</i>	4	0	87.3	162.4	26.7	13.5	102.2	22.5
		120	33.7 (%61)	41.6 (%74)	7.7 (%71)	6.4 (%53)	24.9 (%76)	3.2 (%86)
	10	0	87.3	162.4	26.7	13.5	102.2	22.5
		120	23.9 (%73)	22.8 (%86)	5.3 (%80)	5.3 (%61)	17.1 (%83)	0.2 (%99)
	20	0	87.3	162.4	26.7	13.5	102.2	22.5
		60	19.5 (%78)	13.1 (%92)	4.5 (%83)	4.6 (%66)	15.4 (%85)	0.2 (%99)
<i>Albümin</i>	4	0	96.3	198.9	24.9	16.8	104.5	23.4
		120	29.4 (%69)	37.8 (%81)	6.5 (%74)	6.2 (%63)	25.0 (%76)	3.4 (%85)
	10	0	96.3	198.9	24.9	16.8	104.5	23.4
		120	26.5 (%72)	24.4 (%88)	5.1 (%80)	5.5 (%67)	19.1 (%82)	2.2 (%91)
	20	0	96.3	198.9	24.9	16.8	104.5	23.4
		60	19.6 (%80)	14.1 (%93)	4.4 (%82)	4.8 (%71)	15.7 (%85)	0.2 (%99)
<i>Kazein</i>	4	0	76.2	156.2	19.0	13.4	80.7	16.4
		120	30.1 (%60)	38.8 (%75)	5.9 (%69)	6.2 (%54)	22.6 (%72)	2.6 (%84)
	10	0	76.2	156.2	19.0	13.4	80.7	16.4
		120	23.5 (%69)	23.4 (%85)	4.6 (%76)	5.3 (%60)	16.8 (%79)	0.2 (%99)
	20	0	76.2	156.2	19.0	13.4	80.7	16.4
		60	17.7 (%77)	10.1 (%94)	4.0 (%79)	4.4 (%67)	13.6 (%83)	0.2 (%99)

Çizelge 4.30 Nar suyu konsantrelerinde saptanan antosiyanin miktarları (devam)

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarları (mg kg ⁻¹)					
			Dp-3,5-diglu*	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
<i>Ksantan gam</i>	4	0	89.3	191.5	25.6	15.9	105.9	23.5
		120	28.9 (%68)	36.7 (%81)	6.5 (%75)	6.1 (%62)	24.8 (%77)	3.3 (%86)
	10	0	89.3	191.5	25.6	15.9	105.9	23.5
		120	21.7 (%76)	19.8 (%90)	4.8 (%81)	4.9 (%69)	17.1 (%84)	3.6 (%85)
	20	0	89.3	191.5	25.6	15.9	105.9	23.5
		60	18.6 (%79)	12.2 (%94)	4.4 (%83)	4.5 (%72)	15.1 (%86)	0.2 (%99)

* Delfinidin-3,5-diglikozit'in miktarı, siyanidin-3-glikozit cinsinden hesaplanmıştır.

Yüksek sıcaklıklarda depolanan örneklerde kısa sürede çok hızlı bir antosiyanin kaybı meydana gelirken, depolama sıcaklığı düştükçe antosiyaninlerin stabilitesi artmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalardan birinde çilek reçellerinin (63°Bx) 20°, 30° ve 37°C sıcaklıklarda depolanması sonucunda çilek antosiyaninlerinin daha düşük sıcaklıklarda daha yüksek stabilite gösterdikleri saptanmıştır (García-Viguera vd. 1999). Rommel vd. (1990) tarafından yapılan bir çalışmada, ahududu şaraplarının 6 ay süreyle 2° ve 20°C sıcaklıklarda depolanması sonucunda antosiyanin içeriğinde sırasıyla %13 ve %43

şaraplarında %22 ve %100 düzeyinde olduğunu saptanmıştır (vd. 1992). Laboratuvarımızda yapılan çalışmalar in 5°, 12° ve 20°C’de ve siyah havuç suyu konsantrelerinin 5°, 20° ve 30°C’de depolanmasında, 10°C’lik sıcaklık artışının, antosiyaninin degradasyon hızını sırasıyla yaklaşık 3.5 ve 3.3 kat arttırdığı saptanmıştır (Turfan vd. 2012, Türkyılmaz ve Özkan 2012).

7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının antosiyanin miktarlarının, konsantreye işleme aşamasından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 23), “durultma x örnek” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya örneğin, nar suyu veya konsantreden seyreltilmiş olmasının antosiyanin miktarı üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksiyonun önemli olması, durultma uygulamasının, antosiyanin miktarı üzerine etkisinin örneğe göre değiştiğini ve aynı şekilde örneğin, antosiyanin miktarı üzerine etkisinin durultma göre değiştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.31); 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının antosiyanin miktarlarının, konsantreye işleme aşamasından farklı etkilendiği görülmektedir ($p<0.05$). Nar sularının konsantreye işlenmesi aşamasında antosiyanin miktarında, uygulanan durultma yöntemine göre değişmekle birlikte, %8–34 arasında kayıp meydana geldiği saptanmıştır. Konsantrasyon işlemi sırasında gözlenen monomerik antosiyanin kayıplarının; evaporasyon sıcaklığının (40°C) etkisiyle

antosiyeninlerin polimerizasyonu ve polimerik antosiyenin-tanen kompleksinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.31 Konsantrasyon işleminin nar sularının antosiyenin miktarı¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Örnek		
Durultma yöntemi	Nar suyu (mg L ⁻¹)	Başlangıç konsantresi (nar suyu briksinde) (mg kg ⁻¹)
Durultulmamış	180±2.83 Aa	155±1.75 Ab
Doğal sedimantasyon	162±2.12 Ba	107±1.53 Eb
Jelatin	145±1.41 Ca	129±0.43 BCb
Kitosan	159±4.95 Ba	132±1.29 Bb
Albümin	136±0.71 Da	125±5.47 Cb
Kazein	131±1.41 Da	102±1.72 Eb
Ksantan gam	160±1.41 Ba	136±2.72 Db

¹ Antosiyenin miktarları, siyanidin-3-glikozit cinsinden aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. A-E: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05). a-b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

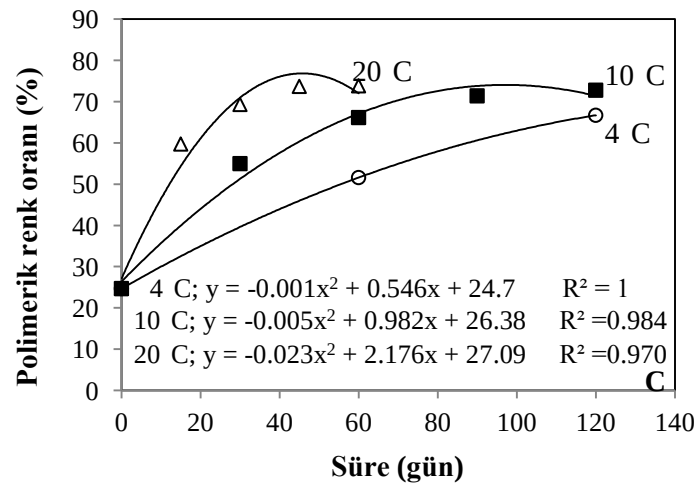
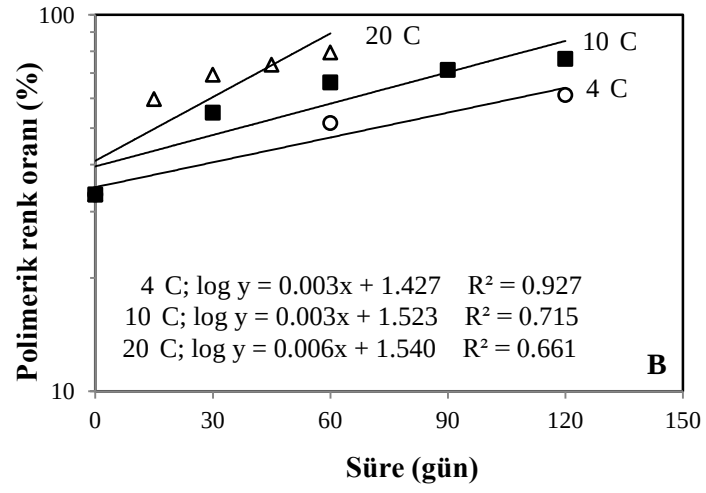
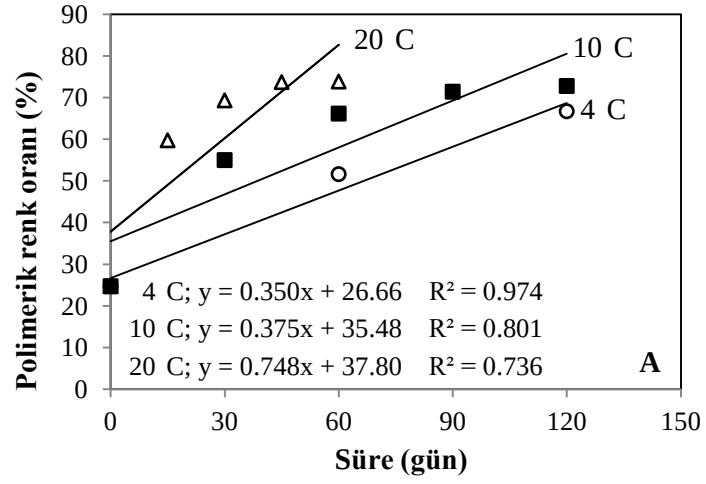
Konsantrasyon işleminden antosiyenin miktarı bakımından en az etkilenen örneğin albüminle durultulan; en fazla etkilenenin ise doğal sedimantasyon uygulanan nar sularından elde edilen konsantreler olduğu saptanmıştır. Doğal sedimantasyon ve kazein uygulanan; jelatin ve kitosan uygulanan ve jelatin ve albümin uygulanan konsantrelerin de depolamanın başlangıç aşamasındaki antosiyenin miktarları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmadığı saptanmıştır (p>0.05).

Wang ve Xu (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; durultulmuş böğürtlen suyunun (8.9°Bx) konsantreye işlenmesiyle (65°Bx) antosiyenin miktarında yaklaşık %5 kayıp meydana gelirken, Garzon ve Wrolstad (2002) tarafından yapılan çalışmada da; durultulmuş çilek suyunun (8°Bx) konsantreye işlenmesi (65°Bx) sırasında antosiyenin miktarında %21.5 azalma meydana geldiği saptanmıştır.

4.14 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Polimerik Renk Oranındaki Değişimler

Polimerik renk oranıyla ilgili öncelikle, nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki artışın uygun olduğu kinetik modelin ortaya konması amacıyla; polimerik renk oranına ilişkin orijinal deney verileri herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan hem aritmetik bir grafik kağıdının "y" eksenine ve hem de 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli "y" eksenine, süreler ise aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenerek doğrusal eğriler elde edilmiştir (Şekil 4.26). Söz konusu eğrilerin determinasyon katsayıları (R^2) karşılaştırıldığında sıfıncı derece kinetik modele ait grafiklerde daha yüksek R^2 değerlerinin elde edildiği görülmeye karşın her iki kinetik model için de; 4°C sıcaklıkta depolanan nar suyu konsantrelerinin dışında 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanan konsantrelerde R^2 değerlerinin düşük olduğu görülmektedir. Nitekim sıfıncı derece reaksiyon kinetiğine uygun olarak gelişen reaksiyonlarda reaksiyon hızı reaktan konsantrasyonundan bağımsızdır. Bu durumda reaksiyon hızının reaktan konsantrasyonu azaldıkça azalmaması beklenir. Ancak grafiklerin elde edilmesinde kullanılan ve grafik üzerinde noktalar olarak gösterilen veriler incelendiğinde 4°C’de yaklaşık 80 (60. gün ile 120. gün arasında örnek alınmamıştır), 10°C’de 60, 20°C’de ise 30 gün depolama sonrasında polimerik renk oranı artışının yavaşladığı görülmektedir. Polimerik renk oranı oluşum hızının, reaktan konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak yavaşladığı düşünülmektedir (Ochoa vd. 1999). Bu durum nar suyu konsantrelerinin 4°, 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanması süresince, polimerik renk oluşumunun doğrusal olmayan (non-linear) kinetik modele uygun olarak geliştiğini göstermektedir. Farklı depolama sıcaklıklarında, nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranlarındaki artışa ilişkin veriler EK 3; Şekil 1’de verilen grafiklerde gösterilmiştir.

Literatürde polimerik renk oluşumunun doğrusal olmayan modellerle tanımlandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Ochoa vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada; ahududu (raspberry) pulpunun 4°, 20° ve 37°C’lerde depolanması süresince renkte meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışmada, renkteki değişimi ortaya koymak için ΔE değeri kullanılmış ve ΔE değerinin depolama süresince değişimi non-lineer gerçekleşmiştir.



Şekil 4.26 Durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler
 A: Linear B: Logaritmik C: Doğrusal olmayan (non-linear)

Laboratuvarımızda Turfan (2008) tarafından yapılan çalışmada nar suyu konsantrelerinde 5°, 12° ve 20°C ve Türkyılmaz (2009) tarafından yapılan çalışmada siyah havuç suyu konsantrelerinde 5°, 20° ve 30°C sıcaklıklarda depolama süresince antosiyaninlerin polimerik renk oranındaki değişimin hem sıfırıncı hem de birinci derece kinetik modele uyduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte; polimerik renk oluşumuna ilişkin kinetik veriler, determinasyon katsayılarının dikkate alınmasıyla, nar suyu konsantrelerinde birinci dereceden; siyah havuç suyu konsantrelerinde ise, sıfırıncı dereceden kinetik model esas alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.32’de gösterilen, farklı depolama sıcaklıklarında, nar suyu konsantrelerinin renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk oranlarına ilişkin veriler incelendiğinde, durultma işlemlerinin polimerik renk oranında artışa neden olduğu görülmektedir. Örneğin; 4°, 10° ve 20°C’de depolanan durultulmamış konsantrelerde polimerik renk oranları sırasıyla %67, %73 ve %74 iken, farklı uygulamalarla durultulmuş konsantrelerde sırasıyla %71–75, %76–80 ve %77–83 arasındadır. Ancak durultma işleminin polimerik renk oranını ne şekilde arttırdığı anlaşılamamıştır. Çalışmamızda elde edilen verilerden farklı olarak; 6 ay süreyle 25°C’de karanlık bir ortamda depolanan yaban mersini (blueberry) sularında depolama sonunda polimerik renk, durultulmamış meyve sularında %10’dan %25’e; durultulmuş olanlarda ise %8’den %17’ye yükselmiştir (Brownmiller vd. 2008).

Çalışmamızda polimerik renk oranına ilişkin veriler incelendiğinde, yine depolama sıcaklığı arttıkça polimerik renk oranının arttığı görülmektedir. Nar suyu konsantrelerinin depolanması süresince polimerik renk oluşumundaki artış birçok nedenden kaynaklanabilmektedir. Nar suyu konsantrelerinin depolanması sırasında polimerik renk oluşumuna ilişkin en muhtemel reaksiyon antosiyaninlerin parçalanması olmakla beraber daha önce de değinildiği gibi reaksiyonun hızı sıcaklık arttıkça artmaktadır. Adams (1973); antosiyaninlerin parçalanma reaksiyonundaki ilk aşamanın, antosiyaninlerin yapısındaki şekerin hidrolizi sonucunda aglikon oluşumu olduğunu bildirmiştir (Patras vd. 2010). Aynı araştırmacı aynı zamanda, sıcaklıkla birlikte antosiyaninin yapısındaki prilyum halkasının açıldığını ve çalkon formunun oluştuğunu belirtmiştir. Markakis (1974), Jackman ve Smith (1992) ve Seeram vd. (2001),

antosiyenin parçalanması sonucu çalkon ve kumarik asit glikozit veya aldehit ve benzoik asit türevlerinin oluştuğunu öne sürmüşlerdir (Sadilova vd. 2006).

Çizelge 4.32 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk oranı¹ oluşumuna ilişkin veriler

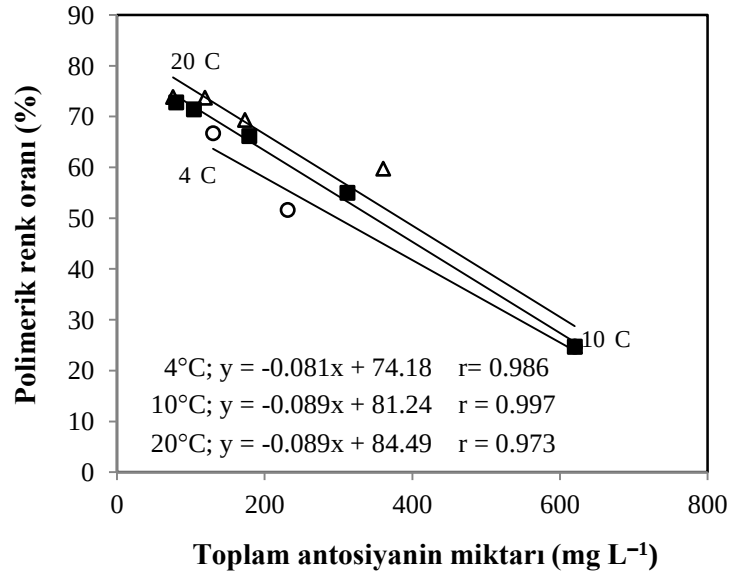
Durultma Uygulaması	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
<i>Durultulmamış</i>	-20	0	10.67±0.08	2.64±0.07	24.7±0.80
		240	9.87±0.08	2.42±0.00	24.5±0.23
	4	0	10.67±0.08	2.64±0.07	24.7±0.80
		120	7.32±0.96	4.88±0.62	66.7±0.29
	10	0	10.67±0.08	2.64±0.07	24.7±0.80
		120	9.59±0.27	6.98±0.18	72.8±0.18
	20	0	10.67±0.08	2.64±0.07	24.7±0.80
		60	9.58±1.48	7.07±1.11	73.8±0.18
	Doğal sedimantasyon	0	9.38±0.05	3.56±0.05	37.9±0.79
		210	7.09±0.65	2.85±0.25	40.2±0.03
<i>Jelatin</i>	-20	0	9.38±0.05	3.56±0.05	37.9±0.79
		120	8.73±0.10	6.20±0.07	71.0±0.05
	4	0	9.38±0.05	3.56±0.05	37.9±0.79
		120	8.82±0.06	6.67±0.07	75.6±1.24
	10	0	9.38±0.05	3.56±0.05	37.9±0.79
		120	8.82±0.06	6.67±0.07	75.6±1.24
	20	0	9.38±0.05	3.56±0.05	37.9±0.79
		60	8.81±0.72	6.99±0.56	79.3±0.08
	Doğal sedimantasyon	0	9.38±0.05	3.56±0.05	37.9±0.79
		210	7.09±0.65	2.85±0.25	40.2±0.03
<i>Kitosan</i>	-20	0	9.99±0.32	3.19±0.10	31.9±0.06
		240	9.22±0.31	2.94±0.00	31.9±1.07
	4	0	9.99±0.32	3.19±0.10	31.9±0.06
		120	7.83±0.09	5.70±0.06	72.8±0.07
	10	0	9.99±0.32	3.19±0.10	31.9±0.06
		120	8.17±0.00	6.41±0.00	78.5±0.00
	20	0	9.99±0.32	3.19±0.10	31.9±0.06
		60	8.22±0.17	6.50±0.18	79.1±0.47
	Doğal sedimantasyon	0	9.99±0.32	3.19±0.10	31.9±0.06
		210	8.17±0.00	6.41±0.00	78.5±0.00

Çizelge 4.32 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama süresince renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk oranı¹ oluşumuna ilişkin veriler (devam)

<i>Albümin</i>	-20	0	8.86±0.10	3.01±0.10	34.0±0.69
		210	9.39±0.16	3.08±0.00	32.8±0.54
	4	0	8.86±0.10	3.01±0.10	34.0±0.69
		120	8.42±0.10	6.23±0.04	73.9±0.45
	10	0	8.86±0.10	3.01±0.10	34.0±0.69
		120	8.43±0.19	6.65±0.22	78.9±0.83
<i>Kazein</i>	20	0	8.86±0.10	3.01±0.10	34.0±0.69
		60	8.75±0.13	6.75±0.03	79.9±0.14
	-20	0	8.41±0.15	3.65±0.06	43.3±0.06
		210	8.89±0.16	3.80±0.03	42.7±0.40
	4	0	8.41±0.15	3.65±0.06	43.3±0.06
		120	8.27±0.26	6.16±0.25	74.5±0.77
	10	0	8.41±0.15	3.65±0.06	43.3±0.06
		120	8.65±0.13	6.89±0.19	79.7±1.01
	20	0	8.41±0.15	3.65±0.06	43.3±0.06
		60	10.06±0.99	8.32±0.77	82.8±0.46
<i>Ksantan gam</i>	-20	0	9.27±0.05	3.36±0.03	36.3±0.58
		210	9.44±0.03	3.37±0.03	35.7±0.21
	4	0	9.27±0.05	3.36±0.03	36.3±0.58
		120	8.34±0.10	6.12±0.06	73.4±0.07
	10	0	9.27±0.05	3.36±0.03	36.3±0.58
		120	8.80±0.03	7.05±0.16	80.1±2.10
	20	0	9.27±0.05	3.36±0.03	36.3±0.58
		60	8.61±0.12	6.85±0.06	79.6±0.43

¹ Renk yoğunluğu, polimerik renk ve polimerik renk oranı değerleri aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Çalışmamızda da polimerik rengin en önemli kaynaklarından birinin antosiyanin parçalanması olduğu, farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarında meydana gelen kayıpla polimerik renk oluşumu arasında saptanan yüksek korelasyonla ortaya konulmuştur. Örnek olarak Şekil 4.27’de; 4°, 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanan durultulmamış nar suyu konsantrelerinde bu iki parametre arasındaki negatif korelasyon (sırasıyla $r = -0.986$, $r = -0.997$ ve $r = -0.973$) gösterilmiştir.



Şekil 4.27 Nar suyu konsantrelerinde meydana gelen antosiyanin kaybıyla polimerik renk oluşumu arasındaki doğrusal ilişki

Yüksel ve Koca (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da çalışmamızdakine benzer şekilde, böğürtlen nektarlarının 4° ve 20°C sıcaklıklarda depolanması sonucunda antosiyanin miktarında meydana gelen azalmayla polimerik renk oranı artışı arasında negatif korelasyon ($r = -0.771$) olduğu saptanmıştır. Polimerik renk; antosiyaninlerin parçalanmasından (degradasyonundan) başka antosiyaninlerin polimerizasyonu ve polimerik antosiyanin-tanen kompleksinin oluşumundan da kaynaklanabilmektedir. Depolama süresince nar suyu konsantrelerinin kondense olabilen fenolik miktarında 4°C’de %13–50, 10°C’de %9–36, 20°C’de de %5–26 arasında artış meydana gelmesi depolama sırasında antosiyanin-tanen kompleksinin oluştuğunu destekler niteliktedir.

4°, 10° ve 20°C’de 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 24), “durultma x sıcaklık x süre” üçlü interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). Bu sonuç; durultma uygulamaları arasında polimerik renk oranı üzerine etki bakımından farklılığın, sıcaklık ve süreye göre değiştiğini göstermektedir. Aynı şekilde bu interaksiyon, uygulanan depolama sıcaklıkları arasında polimerik renk oranı üzerine etki bakımından farklılığın durultma uygulaması ve süreye göre değiştiğini gösterdiği gibi;

uygulanan depolama süreleri arasında polimerik renk oranı üzerine etki bakımından farklılığın durultma uygulaması ve sıcaklığa göre değiştiğini de göstermektedir. Ancak son iki ifadede yer alan, polimerik renk oranı üzerine sıcaklık ve sürenin etkisi kinetik olarak incelenip yukarıda yorumlanmıştır. Bu nedenle; sıcaklık ve sürenin etkisi istatistik olarak incelenmemiştir. Bununla birlikte; nar suyu konsantrelerinde durultma uygulaması, sıcaklık ve süre polimerik renk oranı üzerinde birlikte etkili olduğu için; durultma x sıcaklık, durultma x süre, sıcaklık x süre ikili interaksiyonları ile durultma, sıcaklık ve sürenin antosiyanin miktarı üzerine tek tek esas etkileri araştırılmamıştır.

Elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 25, 26 ve 27); durultulmamış ve 6 farklı uygulama ile durultulmuş nar sularının konsantreye işlenmesi sonucu konsantrelerin polimerik renk oranları arasında istatistik olarak önemli farklar olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Nar suyu konsantrelerinin 4°, 10° ve 20°C’de depolanması süresince polimerik renk oranlarında 60 gün sonra meydana gelen değişimler üzerine durultma uygulamasının etki ettiği görülmektedir ($p<0.05$). Bunun yanı sıra; 4°C’de depolama süresince, albümin ve ksantan gam uygulanmış nar suyu konsantreleri ve jelatin ve kitosan uygulanmış konsantrelerde meydana gelen değişim arasında istatistik olarak fark görülmemiştir ($p>0.05$). Bu sonuç; antosiyanin miktarında elde edilen sonuçla paralellik göstermektedir.

Literatürde çeşitli meyve suyu konsantrelerinin depolanması süresince polimerik renk düzeyindeki değişimle ilgili bazı verilere rastlanmıştır. Bilindiği gibi, polimerik rengin artması esmer pigmentlerin artışı ifade etmektedir. Işık (1993) tarafından yapılan bir çalışmada, vişne suyu konsantrelerinin (71°Briks) 5° ve 20°C’lerde 130 gün depolanması sonunda polimerik renk 1.94’ten sırasıyla 2.03 ve 4.37’ye yükselmiştir. Benzer bir çalışmada da, vişne suyu konsantrelerinde depolama sıcaklık ve süresine bağlı olarak polimerik rengin arttığı saptanmıştır (Asefi 1995). Aynı araştırmacı, nar suyu konsantrelerinde de depolama süresince polimerik renk değerlerinde artış olduğunu saptamıştır. Bununla birlikte bu çalışmada, bu artışın sıcaklık derecesine bağlı olmaksızın gerçekleştiği gözlenmiştir. Örneğin 37°C’de depolamada polimerik renkteki artışın, 5° ve 20°C’lerde olduğundan daha az gerçekleştiği bulunmuştur. Turfan vd.

(2012) tarafından elde edilen bulgular ise, nar suyu konsantrelerinde polimerik rengin depolama süresince sıcaklığa bağlı olarak arttığını göstermiştir. Ochoa vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada; ahududu (raspberry) pulpunun 4°, 20° ve 37°C’lerde depolanması süresince renkte meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışmada 4°C’de yaklaşık 60 gün depolanan pulpların polimerik renk oranlarında değişim saptanmazken; 20°C’de 40 gün ve 37°C’de 50 gün depolanan örneklerde polimerik rengin %10’dan sırasıyla yaklaşık %25 ve %60’a çıktığı belirlenmiştir.

Diğer yandan 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının polimerik renk oranlarının, konsantreye işleme aşamasından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 28), “durultma x örnek” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya örneğin, nar suyu veya konsantreden seyreltilmiş olmasının polimerik renk oranı üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksiyonun önemli olması, durultma uygulamasının polimerik renk oranı üzerine etkisinin örneğe göre değiştiğini ve aynı şekilde örneğin, polimerik renk oranı üzerine etkisinin durultma uygulamasına göre değiştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.33); 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının polimerik renk oranlarının, konsantreye işleme aşamasından farklı etkilendiği görülmektedir ($p<0.05$). Nar sularının polimerik renk oranları; uygulanan durultma yöntemine göre değişmekle birlikte, %22–31 arasında iken konsantreye işlemeyle birlikte %25–43 arasına yükselmiştir. Konsantrasyon işlemi sonrasında polimerik renk oranında en az artışın durultulmamış; en fazla artışın ise doğal sedimentasyon uygulanan nar sularından elde edilen konsantrelerde olduğu saptanmıştır. Depolamanın başlangıç aşamasında, tüm konsantrelerin polimerik renk oranları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Garzon ve Wrolstad (2002) tarafından yapılan çalışmada da; durultulmuş çilek suyunun (8°Bx) konsantreye işlenmesi (65°Bx) sırasında polimerik renk oranının %13.4’ten %30.8’e yükseldiği saptanmıştır.

Çizelge 4.33 Konsantrasyon işleminin nar sularının polimerik renk oranı¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Örnek	
	Nar suyu (%)	Başlangıç konsantresi (nar suyu briksinde) (%)
Durultulmamış	22±0.51 Ea	25±0.80 Ab
Doğal sedimantasyon	23±0.19 Da	38±0.79 Bb
Jelatin	26±0.30 BCa	32±0.06 Cb
Kitosan	27±0.25 Ba	30±1.15 Db
Albümin	24±0.00 Da	34±0.69 Eb
Kazein	31±0.00 Aa	43±0.06 Fb
Ksantan gam	26±0.00 Ca	36±0.58 Gb

¹ Polimerik renk oranları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

4.15 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler

Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince renklerinde oluşan değişimler, materyalin renginin reflektans spektrofotometresi kullanılarak CIE L*, a*, b*, C* (kroma) ve h° (hue) değerlerinin ölçülmesi ile izlenmiştir. Bu ölçümlere ilişkin veriler Çizelge 4.34'te verilmiştir. Renk ölçümleri, nar suyu konsantreleri damıtık suyla doğal nar suyu briksine seyreldikten sonra yapılmıştır.

Çizelge 4.34'te görüldüğü gibi, durultulduktan sonra konsantre edilen örneklerin L* değerlerinde durultulmadan konsantre edilen örneklere göre yaklaşık 5–15 birimlik bir azalma gözlenmişken, sadece ksantan gamla durultulduktan sonra konsantreye işlenen örneklerin L* değerlerinin durultulmadan konsantre edilen örneklerle aynı olduğu belirlenmiştir. Benzer azalışlar, a*, b*, C* ve h° değerlerinde de saptanmıştır. Durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin h° değerlerinde yaklaşık 2–4°'lik düşüşler saptanmıştır.

Yapılan spektrofotometrik analizler, her üç sıcaklıkta da depolama süresinin antosiyaninlerin parçalanmasına neden olduğunu ve artan depolama sıcaklığının antosiyaninlerin parçalanmasını hızlandırdığını göstermiştir. Bu nedenle depolanan

örneklerde antosiyaninlerin parçalanması, daha çok a^* değerindeki azalma ve b^* değerindeki artışla izlenmiştir. Depolama süresince -20°C 'de depolanan örneklerin reflektans renk değerlerinde bir değişim gözlenmemiştir. Buna karşın 4°C 'de 120 gün depolanan örneklerin h° değerlerinde 13–27; 10°C 'de 120 gün depolananlarda 22–30 ve 20°C 'de 60 gün gibi kısa bir süre depolanan örneklerde bile yaklaşık 23–32 birimlik artışlar saptanmıştır. Kırmızılığın diğer bir ölçüsü olan a^* değerlerinde ise, depolama sonunda 4°C 'de 14–22, 10°C 'de 16–30, 20°C 'de 19–28 birim arasında azalmalar bulunmuştur. Bu sonuçlar, en hızlı antosiyanin parçalanmasının, yani kırmızı-viole renk kaybının 20°C 'de depolanan konsantrelerde olduğunu göstermiştir. b^* değerlerinde de yine 1–14 birim arasında artışlar saptanmıştır. Konsantre örnekleri arasında her üç sıcaklıkta da; a^* değerlerindeki en büyük değişim ksantan gamla durultulan nar suyundan elde edilen konsantrelerde gözlenirken, b^* değerlerindeki en büyük değişim kazeinle durultulan nar suyundan elde edilen konsantrelerde gözlenmiştir.

Çizelge 4.34 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde belirlenen reflektans renk değerleri

Durultma Uygulaması	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Depolama süresi (gün)	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
<i>Durultulmamış</i>	-20	0	30.31 $\pm$ 1.76	50.13 $\pm$ 0.30	33.25 $\pm$ 2.43	60.18 $\pm$ 1.09	33.54 $\pm$ 2.09
		240	31.53 $\pm$ 0.56	54.01 $\pm$ 0.85	38.16 $\pm$ 0.75	66.13 $\pm$ 1.13	35.24 $\pm$ 0.11
	4	0	30.31 $\pm$ 1.76	50.13 $\pm$ 0.30	33.25 $\pm$ 2.43	60.18 $\pm$ 1.09	33.54 $\pm$ 2.09
		120	40.87 $\pm$ 1.25	33.02 $\pm$ 1.34	34.93 $\pm$ 1.09	48.07 $\pm$ 1.71	46.61 $\pm$ 0.27
	10	0	30.31 $\pm$ 1.76	50.13 $\pm$ 0.30	33.25 $\pm$ 2.43	60.18 $\pm$ 1.09	33.54 $\pm$ 2.09
		120	42.28 $\pm$ 2.62	27.29 $\pm$ 1.06	39.26 $\pm$ 0.49	47.82 $\pm$ 0.20	55.20 $\pm$ 1.38
	20	0	30.31 $\pm$ 1.76	50.13 $\pm$ 0.30	33.25 $\pm$ 2.43	60.18 $\pm$ 1.09	33.54 $\pm$ 2.09
		60	39.43 $\pm$ 0.73	24.98 $\pm$ 0.62	37.70 $\pm$ 1.37	45.22 $\pm$ 1.48	56.46 $\pm$ 0.30
	-20	0	19.03 $\pm$ 0.08	33.92 $\pm$ 0.02	20.28 $\pm$ 0.03	39.52 $\pm$ 0.00	30.88 $\pm$ 0.05
		210	31.53 $\pm$ 0.56	54.01 $\pm$ 0.85	38.16 $\pm$ 0.75	66.13 $\pm$ 1.13	35.24 $\pm$ 0.11
	4	0	19.03 $\pm$ 0.08	33.92 $\pm$ 0.02	20.28 $\pm$ 0.03	39.52 $\pm$ 0.00	30.88 $\pm$ 0.05
		120	24.62 $\pm$ 0.27	19.46 $\pm$ 0.50	23.65 $\pm$ 0.02	30.63 $\pm$ 0.33	50.55 $\pm$ 0.70
<i>Doğal sedimentasyon</i>	10	0	19.03 $\pm$ 0.08	33.92 $\pm$ 0.02	20.28 $\pm$ 0.03	39.52 $\pm$ 0.00	30.88 $\pm$ 0.05
		120	23.26 $\pm$ 1.18	14.68 $\pm$ 0.41	23.76 $\pm$ 0.41	27.92 $\pm$ 0.56	58.29 $\pm$ 0.28
	20	0	19.03 $\pm$ 0.08	33.92 $\pm$ 0.02	20.28 $\pm$ 0.03	39.52 $\pm$ 0.00	30.88 $\pm$ 0.05
		60	24.26 $\pm$ 1.08	14.62 $\pm$ 0.81	26.69 $\pm$ 1.29	30.43 $\pm$ 1.52	61.30 $\pm$ 0.18
<i>Jelatin</i>	-20	0	24.73 $\pm$ 0.30	42.07 $\pm$ 0.16	25.84 $\pm$ 0.35	49.38 $\pm$ 0.32	31.56 $\pm$ 0.25
		240	25.47 $\pm$ 0.56	41.67 $\pm$ 0.14	24.85 $\pm$ 0.16	48.52 $\pm$ 0.04	30.80 $\pm$ 0.25
	4	0	24.73 $\pm$ 0.30	42.07 $\pm$ 0.16	25.84 $\pm$ 0.35	49.38 $\pm$ 0.32	31.56 $\pm$ 0.25
		120	33.56 $\pm$ 0.48	21.55 $\pm$ 0.08	28.41 $\pm$ 0.25	35.66 $\pm$ 0.25	52.83 $\pm$ 0.15
	10	0	24.73 $\pm$ 0.30	42.07 $\pm$ 0.16	25.84 $\pm$ 0.35	49.38 $\pm$ 0.32	31.56 $\pm$ 0.25
		120	35.09 $\pm$ 1.23	17.86 $\pm$ 1.10	32.87 $\pm$ 1.33	37.41 $\pm$ 1.69	61.49 $\pm$ 0.51

Çizelge 4.34 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde belirlenen reflektans renk değerleri (devam)

<i>Kitosan</i>	20	0	24.73±0.30	42.07±0.16	25.84±0.35	49.38±0.32	31.56±0.25
		60	31.67±0.18	16.81±0.27	31.37±0.87	35.59±0.90	61.81±0.28
	-20	0	15.30±0.05	31.68±0.03	18.14±0.58	36.51±0.32	29.78±0.77
		240	15.19±1.70	32.41±2.06	18.12±1.57	37.14±2.53	29.19±0.60
	4	0	15.30±0.05	31.68±0.03	18.14±0.58	36.51±0.32	29.78±0.77
		120	23.45±3.10	17.33±0.24	23.56±1.81	29.25±1.60	53.62±1.72
	10	0	15.30±0.05	31.68±0.03	18.14±0.58	36.51±0.32	29.78±0.77
		120	23.65±0.33	15.40±0.65	25.23±0.55	29.56±0.13	58.59±1.64
	20	0	15.30±0.05	31.68±0.03	18.14±0.58	36.51±0.32	29.78±0.77
		60	17.96±0.40	12.54±0.62	22.08±0.79	25.40±0.38	60.39±2.09
<i>Albümin</i>	-20	0	21.58±0.29	39.16±0.53	25.95±0.68	46.97±0.82	33.52±0.34
		210	24.03±0.60	40.36±0.08	23.85±0.36	46.88±0.12	30.57±0.43
	4	0	21.58±0.29	39.16±0.53	25.95±0.68	46.97±0.82	33.52±0.34
		120	30.77±0.80	20.29±1.97	28.80±0.77	35.24±1.76	54.89±1.89
	10	0	21.58±0.29	39.16±0.53	25.95±0.68	46.97±0.82	33.52±0.34
		120	38.08±0.42	18.01±0.45	35.66±1.48	39.96±1.12	63.18±1.54
	20	0	21.58±0.29	39.16±0.53	25.95±0.68	46.97±0.82	33.52±0.34
		60	32.88±0.34	18.64±0.36	35.12±0.22	39.76±0.36	62.04±0.31
	-20	0	25.36±0.10	37.57±0.39	23.16±0.95	44.14±0.83	31.65±0.78
		210	25.00±0.03	39.83±0.05	24.33±0.06	46.68±0.01	31.42±0.09
<i>Kazein</i>	4	0	25.36±0.10	37.57±0.39	23.16±0.95	44.14±0.83	31.65±0.78
		120	33.59±0.60	20.26±1.28	33.51±0.66	39.17±1.23	58.86±1.11
	10	0	25.36±0.10	37.57±0.39	23.16±0.95	44.14±0.83	31.65±0.78
		120	35.63±4.22	20.24±4.61	37.01±3.00	42.22±4.84	61.53±3.56
	20	0	25.36±0.10	37.57±0.39	23.16±0.95	44.14±0.83	31.65±0.78
		60	32.09±0.66	17.75±0.39	36.69±1.72	40.75±1.72	64.17±0.55
	-20	0	30.04±1.30	47.87±1.32	34.37±2.64	58.94±2.61	35.64±1.34
		210	29.53±0.13	47.55±0.00	30.02±0.01	56.24±0.01	32.26±0.01
	4	0	30.04±1.30	47.87±1.32	34.37±2.64	58.94±2.61	35.64±1.34
		120	40.41±0.21	25.61±1.31	36.50±0.88	44.59±1.48	54.95±0.72
<i>Ksantan gam</i>	10	0	30.04±1.30	47.87±1.32	34.37±2.64	58.94±2.61	35.64±1.34
		120	37.00±2.91	17.10±2.36	35.26±0.09	39.22±1.11	64.17±3.05
	20	0	30.04±1.30	47.87±1.32	34.37±2.64	58.94±2.61	35.64±1.34
		60	37.27±0.40	20.09±0.19	38.63±0.31	43.54±0.19	62.52±0.41

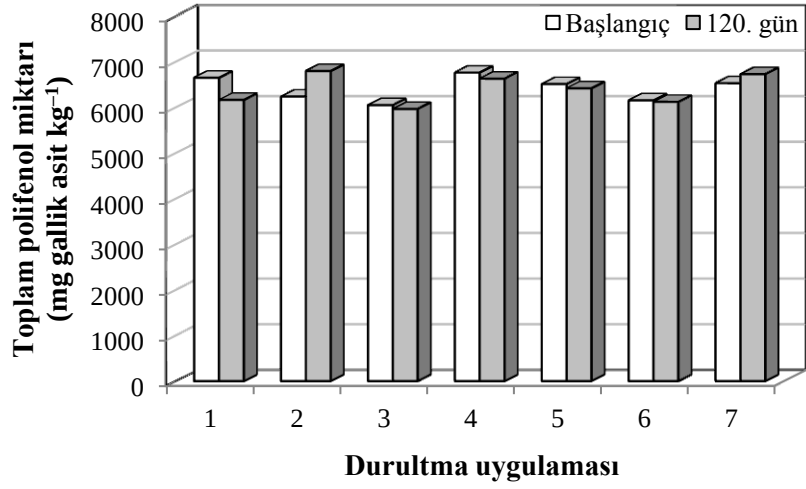
¹ Reflektans renk değerleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Maskan (2006) yaptığı bir çalışmada; nar suyunun değişik yöntemlerle konsantreye (60.5°Bx) işlenmesi sonucunda antosiyanin miktarında meydana gelen değişimleri belirlemiştir. Çalışmada daneden elde edilen nar suları 1 gece 4°C sıcaklıkta bekletildikten sonra filtre edilip mikrodalga, vakum altında evaporasyon ve atmosferik basınçta evaporasyon yöntemleriyle konsantreye işlenmiştir. Sonuç olarak; L*, a* ve b* değerlerinin azaldığı, vakum altında evaporasyon yönteminde diğer iki yöntemle göre daha fazla renk kaybı olduğu saptanmıştır. Alighourchi ve Barzegar (2009); nar suyu

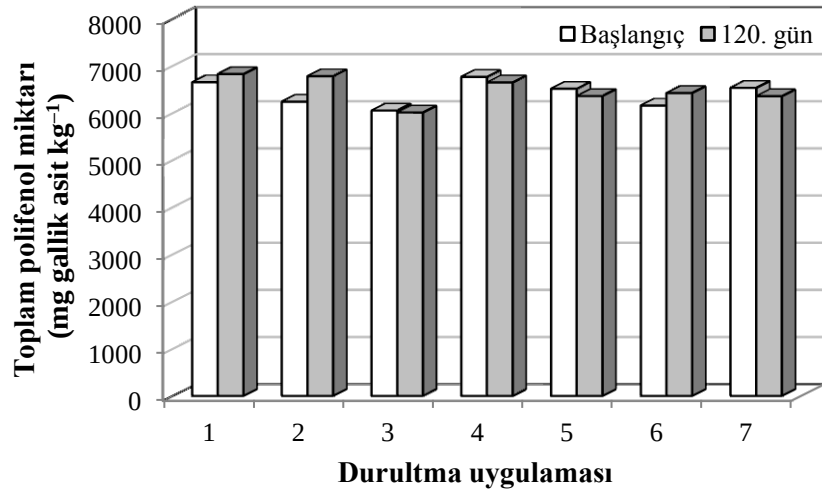
konsantrelerini meyve suyu briksine seyrelttikten sonra pastörize etmiş ve elde ettikleri pastörize nar sularını (13.7°Bx) 4°, 20° ve 37°C sıcaklıklarda 210 gün süreyle depolamışlardır. Çalışmada 4°C’de depolama sonunda, 20° ve 37°C’lerde depolamaya göre daha yüksek L*, a* ve b* değerleri elde edilmiştir. 20° ve 37°C sıcaklıklarda depolanan nar sularının L* ve b* değerlerinde az da olsa bir azalma saptanırken, 4°C’de depolananlarda ise, sınırlı bir artış saptanmıştır. Bunun aksine tüm örneklerin a* değerlerinde önemli bir değişim olduğu ortaya konmuştur. a* ve L* değerlerinde meydana gelen azalmanın antosiyaninlerin parçalanması veya polimerizasyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir.

4.16 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Toplam Polifenol Miktarındaki Değişimler

Polifenoller, nar suyunun antioksidan aktivitesinin temel kaynağı olup nar suyunun rengi, burukluğu ve oksidasyona duyarlılığı ile de yakından ilişkili olması nedeniyle önem taşımaktadır. Ayrıca; meyve suyu ve konsantrelerinin depolanmaları süresince bulanıklık ve tortu oluşumunda polifenoller önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle nar suyu konsantresi örneklerinin 4° ve 10°C’de 120 gün ve 20°C’de 60 gün depolanması süresince toplam polifenol içeriğinde meydana gelen değişimler incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.28, 4.29 ve 4.30’da verilen histogram grafiklerde gösterilmiştir. Şekil 4.28, 4.29 ve 4.30’da görüldüğü gibi, örneğin, 4° ve 20°C’de depolama süresince jelatin, kitosan, albümin, kazein ve ksantan gamla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin toplam polifenol içeriğinde önemli bir değişim gözlenmezken; durultulmamış ve doğal sedimentasyon uygulanan nar sularından elde edilen konsantrelerin toplam polifenol içeriğinde sınırlı da olsa bir değişim belirlenmiştir. 10°C’de depolanan konsantrelerde ise, doğal sedimentasyon uygulanan ve kazeinle durultulan örneklerin dışındaki tüm konsantrelerin toplam polifenol içeriğinde depolama süresince önemli bir değişim saptanmamıştır. Ayrıca; -20°C’de 8 ay depolanan durultulmamış, jelatinle ve kitosanla durultulmuş nar suyu konsantresi örneklerinde ve 7 ay depolanan doğal sedimentasyon uygulanmış, kazeinle, albüminle ve ksantan gamla durultulmuş nar suyu konsantresi örneklerinde ise polifenol miktarındaki değişim çok sınırlıdır.



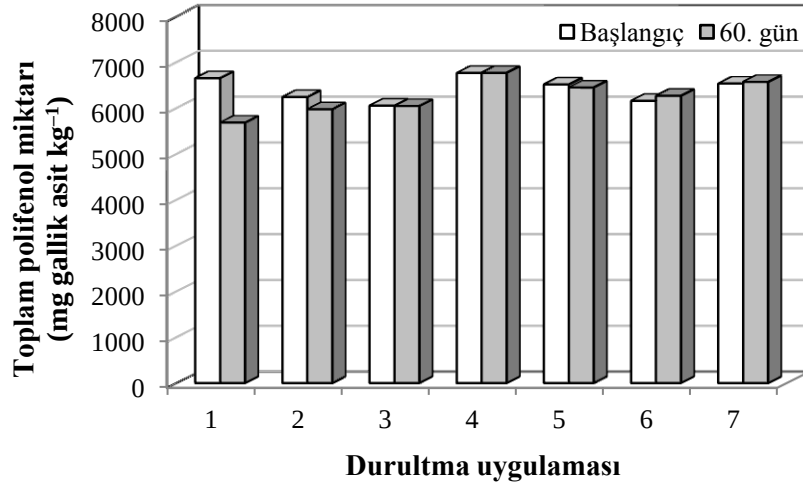
Şekil 4.28 4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama sonucunda polifenol miktarında meydana gelen değişim
1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam



Şekil 4.29 10°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama sonucunda polifenol miktarında meydana gelen değişim
1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam

Toplam polifenol miktarları tüm örneklerde her üç sıcaklıkta (4°, 10° ve 20°C) da depolama başlangıcı ve sonunda belirlendiği ve söz konusu sıcaklıklarda depolama aynı sürede sonlandırılmadığı başka bir deyişle aynı zamanlarda örnek alınmadığı için polifenol miktarlarının sıcaklığa göre değişimi istatistik olarak değerlendirilememiştir.

Ancak her üç sıcaklıkta ayrı ayrı olmak üzere polifenol miktarının farklı durultma uygulamalarında süreye göre değişimi istatistik olarak incelenebilmiştir. 4°, 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin toplam polifenol miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 29, 31 ve 33), “durultma x süre” ikili interaksyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya depolama süresinin polifenol miktarı üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksyonun önemli olması, durultma uygulamasının polifenol miktarı üzerine etkisinin süreye göre değiştiğini ve aynı şekilde depolama süresinin polifenol miktarı üzerine etkisinin durultma uygulamasına göre değiştiğini göstermektedir.



Şekil 4.30 20°C sıcaklıkta 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama sonucunda polifenol miktarında meydana gelen değişim
1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimantasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam

Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 30, 32 ve 34); durultulmamış ve farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polifenol miktarlarında düzenli bir artış veya azalış olmadığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Örneğin; 4°C’de 120 gün ve 20°C’de 60 gün depolanan durultulmamış ve doğal sedimantasyon uygulanan konsantrelerde depolama başlangıcı ve sonundaki toplam polifenol miktarı ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanırken ($p<0.05$); 10°C’de 120 gün depolanan konsantrelerden ise doğal sedimantasyon uygulanmış ve kazeinle durultulmuş olanların toplam polifenol

miktarı ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Örneğin; durultulmamış örneklerde polifenol miktarında 4°C’de 120 gün depolama sonunda %7.3 azalma gözlenirken, doğal sedimentasyon uygulanan örneklerde %8.9 artış saptanmıştır.

Piljac-Zegarac vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada; kuş üzümü (black currant) (25°Bx), cranberry (30°Bx), yaban mersini (blueberry) (42°Bx), nar (12°Bx), çilek (40°Bx) ve vişne (40°Bx) nektarları 4°C sıcaklıkta 29 gün süreyle depolanmış ve depolama süresince periyodik olarak alınan örneklerde polifenol miktarları belirlenmiştir. Sonuç olarak tüm nektar örneklerinde, çalışmamızdakine benzer şekilde, polifenol miktarı bazen artış bazen azalışlar göstermiş ve depolama sonunda nar suyunun polifenol miktarı 1317 mg L⁻¹’den 1596 mg L⁻¹’ye (%21 artış) yükselmiştir. Zor (2007) tarafından yapılan bir çalışmada; ayva reçeli 4° ve 20°C sıcaklıklarda cam ve plastik ambalajlarda 6 ay süreyle depolanmış ve yine her iki sıcaklıkta da depolama süresi boyunca polifenol miktarı dalgalanmalar göstermiştir. Ancak depolama sonunda tüm örneklerin toplam polifenol miktarlarında %25–33 arasında azalma gözlenmiştir. Bir başka çalışmada da; durultulmamış, “bentonit” ve “jelatin + bentonit” kombinasyonu ile durultulmuş muz suları 4°, 25° ve 37°C’de 24 hafta süreyle depolanmış ve uygulanan durultma yöntemleriyle depolama sıcaklık ve süresinin toplam polifenol miktarına etkisi incelenmiştir (Lee vd. 2007). Hem durultmanın hem de depolama sıcaklığının ve süresinin toplam polifenol miktarında önemli düzeyde azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Her üç depolama sıcaklığında da polifenol miktarında durultulmamış örneklerde durultulmuşlara göre daha çok azalma meydana geldiği, polifenol miktarındaki en büyük düşüşün 37°C’de depolanan örneklerde gözlemlendiği belirtilmiştir. Sıcaklık artışıyla polifenol miktarının azalması; sıcaklık yükseldikçe protein ve polifenol molekülleri arasında moleküler mobilitenin artması sonucu söz konusu moleküller arasında interaksiyon oluşmasıyla açıklanmıştır. Bunun yanı sıra; Spanos ve Wrolstad (1990), yüksek sıcaklıklarda kimyasal oksidasyon sonucu bulanıklık oluşumundaki artışın toplam polifenol içeriğinde büyük azalmalara neden olabileceğini belirtmişlerdir. Klimczak vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada portakal sularının 18°, 28° ve 38°C sıcaklıklarda 6 ay süreyle depolanması süresince toplam polifenol miktarında meydana gelen değişim incelenmiştir. Araştırmacılar;

Çalışmada depolama başladıktan 4 ay sonra 18°, 28° ve 38°C’lerde polifenol miktarlarının sırasıyla %7, %11 ve %20 azaldığını ancak 6. ay sonunda polifenol miktarında belirgin bir artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Polifenol miktarındaki bu değışimlerin Folin-Ciocalteu reaktifi ile reaksiyona giren başka bileşiklerin oluşumundan kaynaklanabileceğı belirtilmiştir.

7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının polifenol miktarlarının, konsantreye işleme aşamasından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 35), “durultma x örnek” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya örneğın, nar suyu veya konsantreden seyreltilmiş olmasının polifenol miktarı üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksiyonun önemli olması, durultma uygulamasının polifenol miktarı üzerine etkisinin örneğre göre değıştiğini ve aynı şekilde örneğın polifenol miktarı üzerine etkisinin durultma uygulamasına göre değıştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.35); 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının polifenol miktarlarının, konsantreye işleme aşamasından farklı etkilendiğı görölmektedir ($p<0.05$). Nar sularının konsantreye işlenmesi aşamasında polifenol miktarında, uygulanan durultma yöntemine göre değışmekle birlikte, %8–23 arasında kayıp meydana geldiğı saptanmıştır. Konsantrasyon işleminden polifenol miktarı bakımından en az etkilenen örneğın jelatinle durultulan; en fazla etkilenenin ise durultulmamış nar sularından elde edilen konsantreler olduğu saptanmıştır. Depolamanın başlangıç aşamasında, durultulmamış ve kitosanla durultulmuş konsantreler; durultulmamış, albümin ve ksantan gamla durultulmuş konsantreler ve doğal sedimantasyon, jelatin ve kazein uygulanan konsantrelerin de depolamanın başlangıç aşamasındaki polifenol miktarları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Çizelge 4.35 Konsantrasyon işleminin nar sularının polifenol miktarı¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Örnek		
Durultma yöntemi	Nar suyu (mg L ⁻¹)	Başlangıç konsantresi (nar suyu briksinde) (mg kg ⁻¹)
Durultulmamış	2163±19.64 Aa	1663±33.52 ABb
Doğal sedimantasyon	1990±31.43 Ba	1560±23.00 Cb
Jelatin	1649±3.93 Ea	1513±41.25 Cb
Kitosan	1999±11.79 Ba	1691±31.31 Ab
Albümin	1847±1.96 Ca	1628±25.55 Bb
Kazein	1739±5.89 Da	1539±24.98 Cb
Ksantan gam	1992±13.75 Ba	1633±4.52 Bb

¹ Polifenol miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a-b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Wang ve Xu (2007) tarafından yapılan çalışmada; çalışmamızın aksine durultulmuş böğürtlen suyunun (8.9°Bx) konsantreye işlenmesiyle (65°Bx) toplam polifenol miktarında bir değişim gözlenmemiştir.

4.17 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Hidrolize Olabilen Tanen Miktarındaki Değişimler

Nar suyu konsantresi örneklerinde depolama sıcaklığının ve süresinin hidrolize olabilen tanen miktarındaki değişime etkisini gözlemleyebilmek amacıyla 4°C’de 120 gün ve 20°C’de 60 gün depolanma sonucunda hidrolize olabilen tanen miktarları HPLC ile belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.36’da gösterilmiştir. Nar suyu konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen içeriklerine ait HPLC kromatogramları EK 7; Şekil 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7’de verilmiş olup örnek olarak durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelere ait kromatogramlar Şekil 4.31’de verilmiştir. “4.9 Nar Sularının Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Üzerine Durultma İşleminin Etkisi” bölümünde belirtildiği gibi kromatogramlarda 1 ve 2 olarak gösterilmiş olan piklerin her ikisinin de punikalajın olduğu saptanmıştır.

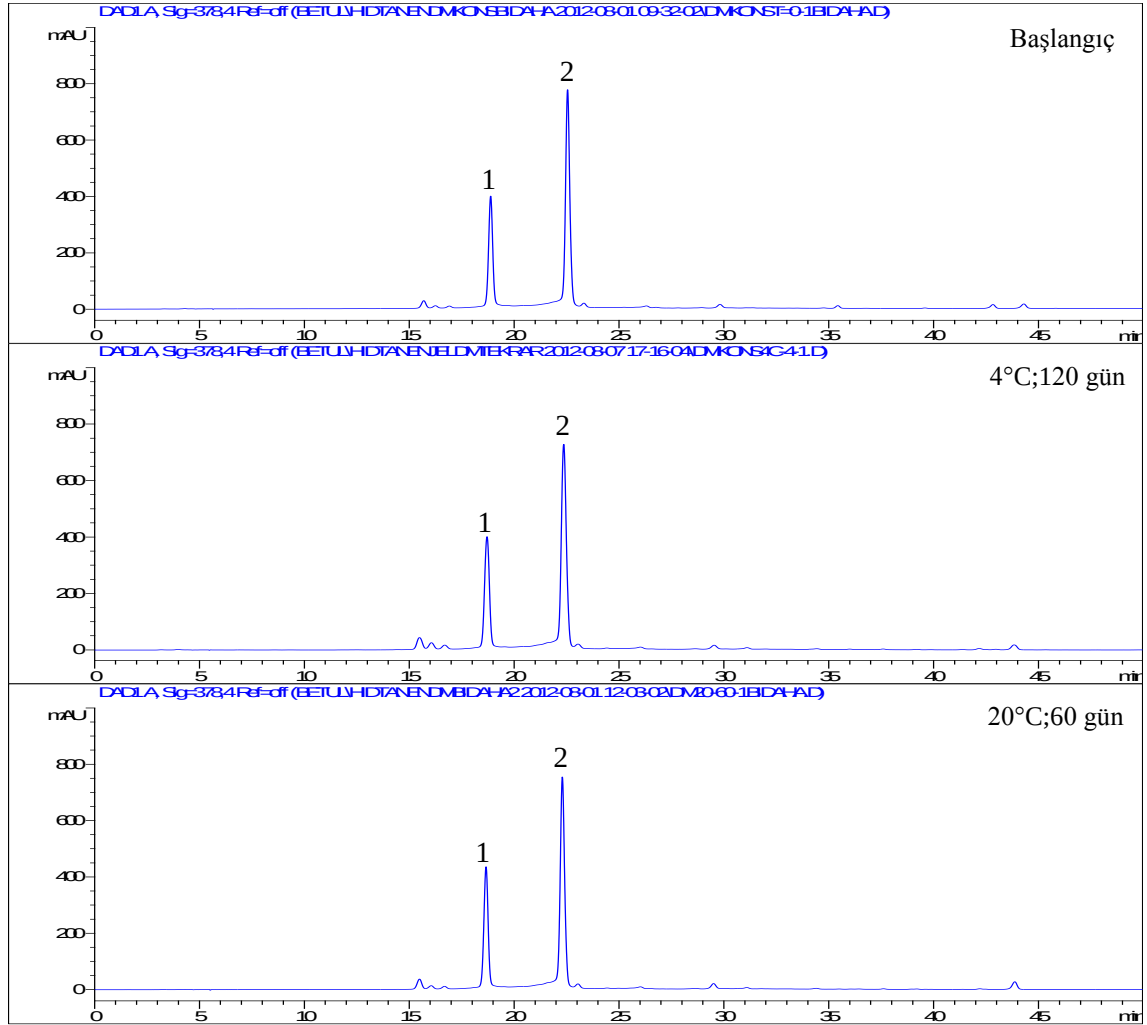
Çizelge 4.36 Farklı durultma uygulamalarıyla durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin farklı sıcaklıklarda depolanması sonucunda saptanan hidrolize olabilen tanen miktarları

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Hidrolize olabilen tanen miktarı* (mg kg ⁻¹)
<i>Durultulmamış</i>	4	0	5708
		120	6162
	20	0	5708
		60	6000
<i>Doğal sedimantasyon</i>	4	0	5248
		120	5058
	20	0	5248
		60	5331
<i>Jelatin</i>	4	0	4820
		120	4779
	20	0	4820
		60	4532
<i>Kitosan</i>	4	0	5084
		120	5370
	20	0	5084
		60	5373
<i>Albümin</i>	4	0	4600
		120	4446
	20	0	4600
		60	4713
<i>Kazein</i>	4	0	4961
		120	4839
	20	0	4961
		60	4329
<i>Ksantan gam</i>	4	0	5362
		120	5184
	20	0	5362
		60	5386

*: punikalajin cinsinden

Hidrolize olabilen tanen miktarları tüm örneklerde her iki sıcaklıkta (4° ve 20°C) da depolama başlangıcı ve sonunda belirlendiği ve söz konusu sıcaklıklarda depolama aynı sürede sonlandırılmadığı başka bir deyişle aynı zamanlarda örnek alınmadığı için

hidrolize olabilen tanen miktarlarının sıcaklığa göre değişimi istatistik olarak değerlendirilememiştir. Ancak her iki sıcaklıkta ayrı ayrı olmak üzere hidrolize olabilen tanen miktarının farklı durultma uygulamalarında süreye göre değişimi istatistik olarak incelenebilmiştir.



Şekil 4.31 Durultulmamış nar sularından elde edilen ve farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları

4° ve 20°C sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin toplam hidrolize olabilen tanen miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 36 ve 38), “durultma x süre” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olmadığını göstermiştir ($p>0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya depolama süresinin hidrolize

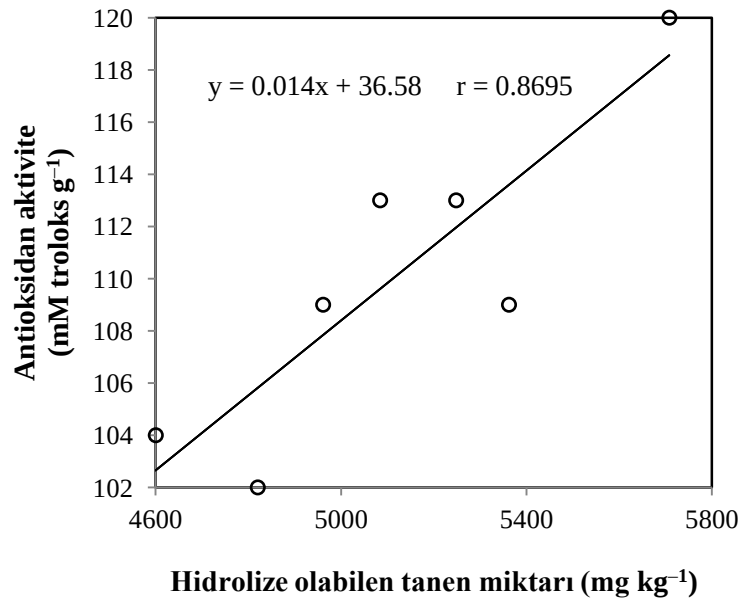
olabilen tanen miktarı üzerine tek tek esas etkileri incelenmiştir. EK 1; Çizelge 36 ve 38’de görüldüğü gibi depolama süresinin hidrolize olabilen tanen miktarına etkisinin istatistik olarak önemli olmadığı başka bir ifadeyle nar suyu konsantresi örneklerinin hidrolize olabilen tanen miktarlarının depolama süresince değişmediği saptanmıştır ($p>0.05$). Bu yüzden; nar suyu konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen miktarlarına sadece durultma uygulamasının etkisi incelenmiştir.

Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 37 ve 39); 4°C’de depolanan durultulmamış, kitosanla ve ksantan gamla durultulmuş örneklerin hidrolize olabilen tanen miktarı ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanırken; 20°C’de depolanan konsantrelerden durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanmış, kitosanla ve ksantan gamla durultulmuş olanların hidrolize olabilen tanen ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

Lu vd. (2011) tarafından saf punikalajinin çeşitli koşullardaki stabilitesi üzerine yapılan bir çalışmada; 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonda punikalajin içeren çözeltiler 30°–80°C arasında değişen sıcaklıklardaki su banyolarında 1 h süreyle ısıtılmış ve bu süre sonundaki punikalajin konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemle 260 nm dalga boyunda direkt ölçümle absorbans olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda; 80°C sıcaklıkta 1 h ısıtma sonucunda punikalajin miktarında %8.6 azalma saptanırken, 30°C’de hiç parçalanma görülmemiştir. Bunun yanı sıra çalışmada; 30 dak. direkt irradyasyona maruz kalmış çözeltideki punikalajin miktarında %16.4 parçalanma gözlenmiştir. Çalışmamızdaki aksine sonuçlanan bir çalışmada; durultulmamış ve durultulmuş böğürtlün sularının 25°C sıcaklıkta 6 ay depolanması sonucunda elajitanen miktarlarında sırasıyla yaklaşık %43 ve %26 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Hager vd. 2010).

Narların meyve suyuna işlenmesi sırasında uygulanan presleme sonucunda kabukta fazla miktarda bulunan suda çözünür özellikteki antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin meyve suyuna geçtiğinden daha önce de bahsedilmişti. Çalışmamızda nar suyu konsantrelerinde bulunan bu bileşiklerden hidrolize olabilen tanen miktarı ile

antioksidan aktivite düzeyi arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Şekil 4.32’de görüldüğü gibi; durultulmamış, doğal sedimantasyon uygulanan ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin hidrolize olabilen tanen miktarları ile antioksidan aktiviteleri arasındaki korelasyonun $r = 0.8695$ olduğu belirlenmiştir. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada da; nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında yine bir korelasyon olduğu ($r = 0.969$) ortaya konmuştur (Güzel 2010).



Şekil 4.32 Nar suyu konsantrelerinde hidrolize olabilen tanen miktarı ile antioksidan aktivite arasındaki doğrusal ilişki

Diğer yandan 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarlarının, konsantreye işleme aşamasından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 40), “durultma x örnek” ikili interaksyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya örneğin, nar suyu veya konsantreden seyreltilmiş olmasının hidrolize olabilen tanen miktarı üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksyonun önemli olması, durultma uygulamasının hidrolize olabilen tanen miktarı üzerine etkisinin örneğe göre değiştiğini ve aynı şekilde örneğin hidrolize

olabilen tanen miktarı üzerine etkisinin durultma uygulamasına göre değiştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.37); 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarlarının, konsantreye işleme aşamasından farklı etkilendiği görülmektedir ($p<0.05$). Nar sularının konsantreye işlenmesi aşamasında hidrolize olabilen tanen miktarında, uygulanan durultma yöntemine göre değişmekle birlikte, artışlar meydana geldiği saptanmıştır. Konsantrasyon işleminden hidrolize olabilen miktarı bakımından en az etkilenen örneğin durultulmamış; en fazla etkilenenin ise albüminle durultulmuş nar sularından elde edilen konsantreler olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.37 Konsantrasyon işleminin nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarı¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

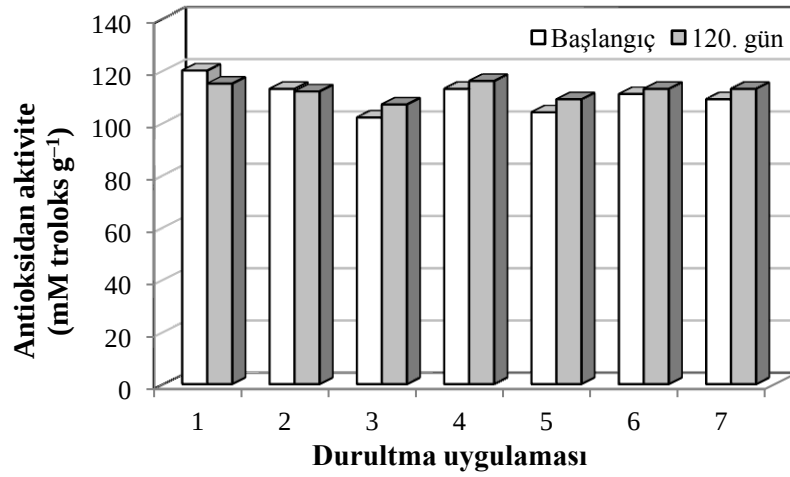
Örnek		
Durultma yöntemi	Nar suyu (mg L^{-1})	Başlangıç konsantresi (nar suyu briksinde) (mg kg^{-1})
Durultulmamış	1159±138.31 Aa	1427±647.23 Ab
Doğal sedimantasyon	252±6.36 Ba	1312±381.90 ABb
Jelatin	109±1.61 Ba	1205±608.83 ABb
Kitosan	180±14.32 Ba	1271±568.47 ABb
Albümin	102±4.97 Ba	1150±345.38 Bb
Kazein	195±17.72 Ba	1240±181.70 ABb
Ksantan gam	210±9.04 Ba	1341±531.59 ABb

¹ Hidrolize olabilen tanen miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. A–B: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$). a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

4.18 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Antioksidan Aktivite Düzeyindeki Değişimler

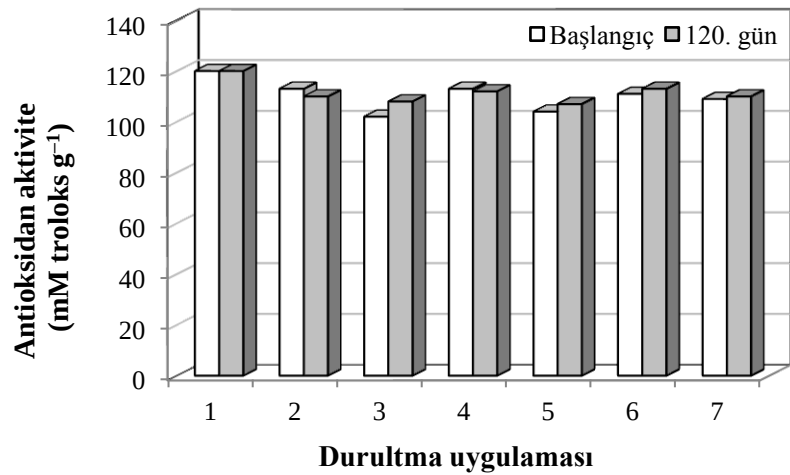
Nar suyu konsantresi örneklerinin 4° ve 10°C’de 120 gün ve 20°C’de 60 gün depolanması süresince antioksidan aktivite düzeyinde meydana gelen değişimler sırasıyla Şekil 4.33, 4.34 ve 4.35’te verilen histogram grafiklerde gösterilmiştir. Şekil

4.33, 4.34 ve 4.35'te görüldüğü gibi, depolama süresince konsantrelerin antioksidan aktivite düzeylerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Ayrıca; -20°C 'de 8 ay depolanan durultulmamış, jelatinle ve kitosanla durultulmuş nar suyu konsantresi örneklerinde ve 7 ay depolanan doğal sedimentasyon uygulanmış, kazeinle, albüminle ve ksantan gamla durultulmuş nar suyu konsantresi örneklerinde ise antioksidan aktivite düzeyindeki değişim çok sınırlıdır (%0–%6).



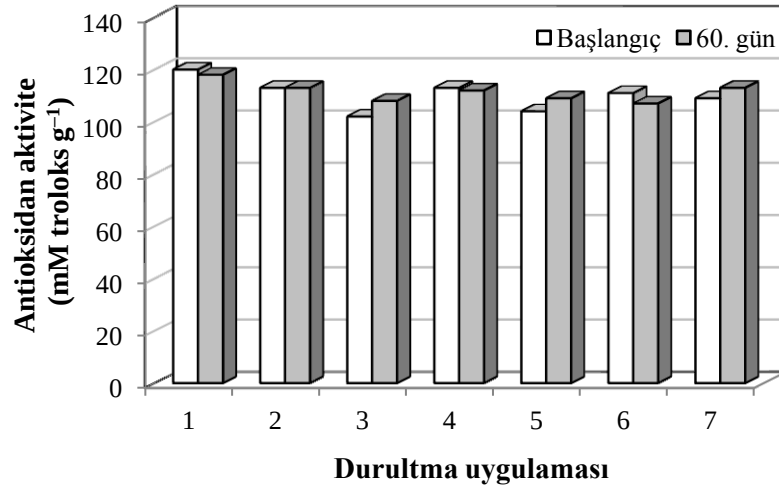
Şekil 4.33 4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama sonunda antioksidan aktivitede meydana gelen değişim

1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimentasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam



Şekil 4.34 10°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama sonunda antioksidan aktivitede meydana gelen değişim

1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimentasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam



Şekil 4.35 20°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinde depolama sonunda antioksidan aktivitede meydana gelen değişim

1: Durultulmamış, 2: Doğal sedimentasyon, 3: Jelatin, 4: Kitosan, 5: Albümin, 6: Kazein, 7: Ksantan gam

Antioksidan aktivite düzeyi tüm örneklerde her üç sıcaklıkta (4°, 10° ve 20°C) da depolama başlangıcı ve sonunda belirlendiği ve depolama aynı sürede sonlandırılmadığı başka bir deyişle her üç sıcaklıkta aynı zamanlarda örnek alınmadığı için antioksidan aktivite düzeylerinin sıcaklığa göre değişimi istatistik olarak değerlendirilememiştir. Ancak her üç sıcaklıkta ayrı ayrı olmak üzere antioksidan aktivite düzeylerinin farklı durultma uygulamalarında süreye göre değişimi istatistik olarak incelenebilmiştir.

4°, 10° ve 20°C sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin antioksidan aktivite düzeyleri için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 41, 43 ve 45), “durultma x süre” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p < 0.05$). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya depolama süresinin antioksidan aktivite düzeyi üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksiyonun önemli olması, durultma uygulamasının antioksidan aktivite üzerine etkisinin süreye göre değiştiğini ve aynı şekilde depolama süresinin antioksidan aktivite üzerine etkisinin durultma uygulamasına göre değiştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 42, 44 ve 46); durultulmamış ve farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda

aynı sürelerde depolanması süresince antioksidan aktivite düzeylerinde düzenli bir artış veya azalış olmadığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Örneğin; 4°C’de 120 gün depolanan doğal sedimentasyon ve kazein uygulanan konsantreler dışındaki tüm örneklerde depolama başlangıç ve sonunda antioksidan aktivite düzeyi ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanırken; 10°C’de 120 gün depolanan konsantrelerden ise sadece jelatinle durultulmuş olanın başlangıç ve depolama sonundaki antioksidan aktivite düzeyi ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). 20°C’de 60 gün depolanan konsantreler arasında ise jelatin, albümin, kazein ve ksantan gamla durultulmuş olanların antioksidan aktivite düzeyi ortalamaları arasındaki farkın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). Bahsedilen örnekler arasında antioksidan aktivite düzeyleri arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunduyorsa da değişim çok sınırlıdır. Örneğin; durultulmamış örneklerin antioksidan aktivite düzeyinde 4°C’de 120 gün depolama sonunda %4.2 azalma gözlenirken, 20°C’de 60 gün depolanan kazeinle durultulan örneklerin antioksidan aktivite düzeyindeki azalma %3.6 olarak saptanmıştır.

Hager vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada; durultulmamış ve durultulmuş böğürtlen suları 25°C sıcaklıkta 6 ay süreyle karanlık ortamda depolanmış ve her iki meyve suyunun da antioksidan aktiviteyi ifade eden ORAC (**O**xxygen **R**adical **A**bsorbance **C**apacity) değerlerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Piljac-Zegarac vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada ise; nar nektarı (12°Bx) 4°C sıcaklıkta 29 gün süreyle depolanmış ve nar suyunun antioksidan aktivitesinde önce artış görülmüş fakat depolama sonunda düşüş gözlenmiştir. Pinelo vd. (2004), ilk etapta antioksidan aktivitede görülen artışın polifenollerin polimerizasyona uğrama eğilimleri sonucunda oluşan oligomerlerin yük değişimi için daha geniş yüzey alanına sahip olmalarından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Fakat daha sonra polimerizasyon derecesi kritik bir değere ulaştığında, artan moleküler karmaşıklık ve sterik engelin DPPH radikalleriyle reaksiyona girebilecek hidroksil gruplarında ve dolayısıyla antiradikal kapasitede azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Zor (2007) tarafından yapılan çalışmada; 4° ve 20°C sıcaklıklarda cam ve plastik ambalajlarda 6 ay süreyle depolanmış ayva reçellerinin antioksidan aktivite düzeyleri depolama süresince sürekli azalma göstermiş ve depolama sonunda %2.7–4.3 azalma meydana gelmiştir. Bir başka

çalışmada da; şeker konsantrasyonları (şeker içeriği yüksek; 515 g kg⁻¹, şeker içeriği düşük; 295 g kg⁻¹ ve şekersiz) ve suda çözünür kuru madde oranları (şeker içeriği yüksek; 60°Briks, şeker içeriği düşük; 38°Briks ve şekersiz; 8.6°Briks) farklı yabanmersini (blueberry) reçelleri 6° ve 22°C sıcaklıklarda 6 ay süreyle depolanmış ve polifenol miktarları ve antioksidan aktivite düzeylerindeki değişim incelenmiştir (Ścibisz ve Mitek 2009). Sonuçta; 6°C’de depolanan reçellerin depolama sonunda polifenol miktarları ile antioksidan aktivitelerinin 22°C’de depolananlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. 6°C’de depolanan reçellerin polifenol miktarında %2–6; 22°C’de depolananlarınkine ise %18–27 azalma meydana gelmiştir. Bir başka çalışmada; 18°, 28° ve 38°C sıcaklıklarda 6 ay süreyle depolanan portakal sularında depolama sonunda toplam polifenol ve askorbik asit miktarı ile antioksidan aktivite düzeyindeki değişimler belirlenmiştir (Klimczak vd. 2007). 18°, 28° ve 38°C sıcaklıklarda 6 ay süreyle depolama sonunda, antioksidan aktivitede sırasıyla %18, %45 ve %84; askorbik asit içeriğinde sırasıyla %20, %32 ve %81 düzeyinde azalma saptanırken, Folin-Ciocalteu yöntemiyle yapılan toplam polifenol miktarında ise, ancak %3, %9 ve %17 düzeyinde bir azalma saptanmıştır. Bu sonuçlar, portakal suyunun antioksidan aktivitesinin askorbik asitten kaynaklandığını ve depolama süresince antioksidan aktivite düzeyindeki azalmanın başlıca nedeninin askorbik asit miktarındaki azalma olduğunu göstermiştir.

7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının antioksidan aktivite düzeylerinin, konsantreye işleme aşamasından nasıl etkilendiğini ortaya koymak için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1; Çizelge 47), “durultma x örnek” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir (p<0.05). Bu nedenle; durultma uygulamasının veya örneğin, nar suyu veya konsantreden seyreltilmiş olmasının antioksidan aktivite düzeyi üzerine tek tek esas etkileri incelenmemiştir. İkili interaksiyonun önemli olması, durultma uygulamasının antioksidan aktivite düzeyi üzerine etkisinin örneğe göre değiştiğini ve aynı şekilde örneğin antioksidan aktivite düzeyi üzerine etkisinin durultma uygulamasına göre değiştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (Çizelge 4.38); 7 farklı uygulama sonucu konsantreye işlenen nar sularının antioksidan aktivite düzeylerinin, konsantreye işleme aşamasından

farklı etkilendiği görülmektedir ($p<0.05$). Nar sularının konsantreye işlenmesi aşamasında antioksidan aktivite düzeyinde, uygulanan durultma yöntemine göre değişmekle birlikte, %5–21 arasında değişim meydana geldiği saptanmıştır. Durultulmamış ve doğal sedimantasyon uygulanan nar sularından elde edilmiş örneklerin antioksidan aktivite düzeylerinde herhangi bir değişim olmadığı, bir başka deyişle bu iki örneğin antioksidan aktivitelerinin nar suyunun konsantreye işlenmesinden etkilenmediği gözlenmiştir ($p>0.05$). Konsantrasyon işleminden antioksidan aktivite düzeyi bakımından en az etkilenen örneğin albüminle durultulan; en fazla etkilenenin ise kazeinle durultulan nar sularından elde edilen konsantreler olduğu saptanmıştır. Depolamanın başlangıç aşamasında, doğal sedimantasyon ve kitosan uygulanan konsantreler; jelatin ve albümin uygulanan konsantreler, ve kazein ve ksantan gam uygulanan konsantrelerin de depolamanın başlangıç aşamasındaki antioksidan aktivite düzeyleri arasındaki farkın istatistik olarak önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Çizelge 4.38 Konsantrasyon işleminin nar sularının antioksidan aktivite düzeyi¹ üzerine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Örnek	
	Nar suyu	Başlangıç konsantresi (nar suyu briksinde)
Durultulmamış	29.94±0.22 Aa	30.05±0.45 Aa
Doğal sedimantasyon	27.95±0.21 Ba	28.19±0.01 Ba
Jelatin	23.56±0.59 Ca	25.59±0.38 Db
Kitosan	30.69±0.05 Da	28.22±0.24 Bb
Albümin	24.78±0.10 Ea	25.95±0.37 Db
Kazein	22.54±0.14 Fa	27.15±0.31 Cb
Ksantan gam	28.65±0.07 Ga	27.13±0.25 Cb

¹ Antioksidan aktivite düzeyleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

4.19 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Bazı Analitik Özelliklerindeki Değişimler

Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin depolama başlangıç ve sonundaki briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.39’da verilmiştir. Depolama süresince, nar suyu konsantrelerinin briks ve pH değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiş, titrasyon asitliğinde ise, az da olsa bir düşüş gözlenmiştir. Örneğin, 4°C’de 120 gün depolama sonunda, durultulmamış nar suyu konsantrelerinin titrasyon asitliği değerleri 6.92 mg 100 g⁻¹’dan 6.65’e, jelatinle durultulmuş olanları 7.06 mg 100 g⁻¹’dan 6.89’a, kazeinle durultulmuş olanları ise 7.81 mg 100 g⁻¹’dan 7.14’e düşmüştür. Kazeinle durultulan nar suyundan elde edilen konsantrelerin pH’sının ve titrasyon asitliği değerinin diğer tüm örneklerle göre daha yüksek olmasının; nar sularının durultulmasında kullanılan kazeinin, %1’lik sodyum karbonat çözeltisi içinde çözündürülerek hazırlanmasından kaynaklandığına daha önce değinilmişti.

Çizelge 4.39 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde briks, pH ve titrasyon asitliği ölçümleri

Durultma Uygulaması	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Briks (%)	pH	Titrasyon asitliği* (mg 100g ⁻¹)
<i>Durultulmamış</i>	-20	0	64.42±0.00	3.15±0.00	6.92±0.00
		240	63.23±0.41	3.16±0.01	6.84±0.02
	4	0	64.42±0.00	3.15±0.00	6.92±0.00
		120	64.13±0.08	3.17±0.01	6.65±0.20
	10	0	64.42±0.00	3.15±0.00	6.92±0.00
		120	64.26±0.33	3.17±0.00	6.76±0.15
	20	0	64.42±0.00	3.15±0.00	6.92±0.00
		60	64.08±0.46	3.17±0.01	6.74±0.07
	<i>Doğal sedimentasyon</i>	0	65.89±0.37	3.15±0.00	7.13±0.03
		210	65.18±0.01	3.18±0.01	6.92±0.03
<i>Doğal sedimentasyon</i>	4	0	65.89±0.37	3.15±0.00	7.13±0.03
		120	63.52±0.21	3.16±0.00	6.90±0.15
	10	0	65.89±0.37	3.15±0.00	7.13±0.03
		120	63.34±0.23	3.17±0.00	6.69±0.00
	20	0	65.89±0.37	3.15±0.00	7.13±0.03
		60	64.84±0.40	3.18±0.00	6.80±0.05
<i>Jelatin</i>	-20	0	65.25±0.00	3.15±0.00	7.06±0.05
		240	64.29±0.34	3.15±0.01	6.98±0.05

Çizelge 4.39 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde briks, pH ve titrasyon asitliği ölçümleri (devam)

<i>Kitosan</i>	4	0	65.25±0.00	3.15±0.00	7.06±0.05
		120	64.97±0.34	3.15±0.00	6.89±0.02
	10	0	65.25±0.00	3.15±0.00	7.06±0.05
		120	63.96±0.06	3.14±0.00	6.88±0.02
	20	0	65.25±0.00	3.15±0.00	7.06±0.05
		60	65.07±0.04	3.15±0.01	6.73±0.18
	-20	0	64.60±0.00	3.15±0.00	6.92±0.11
		240	63.52±0.10	3.15±0.00	6.80±0.03
	4	0	64.60±0.00	3.15±0.00	6.92±0.11
		120	64.49±0.03	3.16±0.00	6.94±0.14
<i>Albümin</i>	10	0	64.60±0.00	3.15±0.00	6.92±0.11
		120	64.22±0.48	3.16±0.00	6.73±0.08
	20	0	64.60±0.00	3.15±0.00	6.92±0.11
		60	64.61±0.09	3.17±0.00	6.88±0.10
	-20	0	63.56±1.96	3.18±0.02	6.73±0.08
		210	63.79±0.32	3.16±0.00	6.89±0.03
	4	0	63.56±1.96	3.18±0.02	6.73±0.08
		120	63.61±0.75	3.17±0.01	6.90±0.01
	10	0	63.56±1.96	3.18±0.02	6.73±0.08
		120	63.01±0.80	3.17±0.01	6.60±0.08
<i>Kazein</i>	20	0	63.56±1.96	3.18±0.02	6.73±0.08
		60	64.22±0.08	3.18±0.00	6.67±0.01
	-20	0	65.29±0.06	3.26±0.00	7.81±0.02
		210	63.35±0.13	3.25±0.01	6.90±0.02
	4	0	65.29±0.06	3.26±0.00	7.81±0.02
		120	64.56±0.11	3.27±0.00	7.14±0.01
	10	0	65.29±0.06	3.26±0.00	7.81±0.02
		120	64.73±0.06	3.22±0.07	7.23±0.18
	20	0	65.29±0.06	3.26±0.00	7.81±0.02
		60	65.30±0.09	3.27±0.00	7.09±0.10
<i>Ksantan gam</i>	-20	0	64.54±0.27	3.15±0.00	6.92±0.11
		210	62.94±0.16	3.16±0.00	7.00±0.09
	4	0	64.54±0.27	3.15±0.00	6.92±0.11
		120	63.01±0.27	3.17±0.00	6.93±0.05
	10	0	64.54±0.27	3.15±0.00	6.92±0.11
		120	64.01±0.17	3.22±0.07	6.89±0.01
	20	0	64.54±0.27	3.15±0.00	6.92±0.11
		60	64.10±0.17	3.17±0.00	6.95±0.04

¹ Briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*susuz sitrik asit cinsinden

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen başlıca sonuçlar, aşağıda maddeler halinde sunulmuştur.

1. Durultulmamış nar suyunun 534 NTU olan bulanıklık değeri; doğal sedimentasyon yöntemi uygulanan nar sularında 32 NTU, jelatin (0.375 g L^{-1}), kitosan (0.500 g L^{-1}), kazein (0.375 g L^{-1}), albümin (0.125 g L^{-1}) ve ksantan gam (0.075 g L^{-1}) ile durultulanlarda ise sırasıyla 6.04, 10.30, 6.53, 10.10 ve 20 NTU'ya düşmüştür. Ancak nar sularının durultulmasında durultma yardımcı maddesi olarak kullanılan ksantan gamın aslında nar suyunun durultulmasında herhangi bir işlevinin olmadığı veya çok az etkinlik gösterdiği, ksantan gam eklenen nar suyunun tıpkı doğal sedimentasyona bırakılan örneklerdeki gibi kendi kendine durulduğu sonucuna varılmıştır.
2. “Soğuk durultma” tekniği uygulanarak durultulan nar sularında, durultma yardımcı maddelerinden antosiyanin kaybına en az neden olanlar; ksantan gam (%11.1) ve kitosan (%11.6); en fazla neden olan ise, kazeindir (%27).
3. Hicaznar çeşidi kullanılarak elde edilen nar sularında 6 farklı antosiyanin tanımlanmış ve başat antosiyaninin, Cy-3,5-diglu (%42.9) olduğu belirlenmiştir. Bu antosiyanini sırasıyla; Dp-3,5-diglu (%22.5), Cy-3-glu (%20.9), Dp-3-glu (%5.9), Pg-3-glu (%5.1) ve Pg-3,5-diglu (%2.9)'in izlediği belirlenmiştir.
4. Nar suyundaki 3 başat antosiyaninden durultmaya karşı en stabil olanın Cy-3,5-diglu olduğu bulunmuştur.
5. Tüm durultma uygulamaları, nar suyunun polimerik renk oranında artışa neden olmuştur. Durultma sırasında oluşan polimerik rengin daha çok oksidatif bir enzim olan polifenoloksidaz (PPO) aktivitesi ile oluştuğu düşünülmektedir. Nar sularının durultulmasında kullanılan durultma yardımcı maddelerinden nar suyunun polimerik renk oranındaki en büyük artışa, kazein (%30.8) neden olmuştur.

6. Nar sularının durultulmasında kullanılan durultma yardımcı maddelerinden polifenol miktarında en az kayba ksantan gam (%7.9) ve kitosan (%7.6); en fazla kayba ise, jelatin (%23.7) neden olmuştur. Kitosan ve ksantan gamla durultulan nar sularında durultmayla polifenol miktarında meydana gelen kayıp, “hiçbir durultma yardımcı maddesi kullanılmadan” doğal sedimentasyona tabi tutulan nar suyundakiyle aynıdır. Nar suyu antosiyaninleri ile polifenolleri, durultma uygulamalarından benzer şekilde etkilenmiştir ($r = 0.8666$).
7. Nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarında en fazla azalmaya neden olan durultma yardımcı maddesi kazein (%91.2) iken, hidrolize olabilen tanen miktarına en az etki eden uygulamanın doğal sedimentasyon (%78.3) olduğu gözlenmiştir.
8. Nar sularında 2 başat hidrolize olabilen tanen piki saptanmıştır. Bu piklerin sırasıyla punikalajinin iki anomeri olan; α -punikalajin ve β -punikalajin olduğu sonucuna varılmıştır.
9. Nar sularının antioksidan aktivite düzeyinde en fazla azalmaya neden olan durultma yardımcı maddesi kazeindir (%24.7). Doğal sedimentasyon yöntemi ve durultma yardımcı maddeleri arasında antioksidan aktiviteye en az etki edenin ksantan gam (%4.3) olduğu gözlenmiştir. Tüm durultma uygulamalarının aksine; kitosan, nar sularının antioksidan aktivitesinde %2.4 gibi sınırlı da olsa bir artış sağlamıştır.
10. Doğal sedimentasyon ve farklı durultma yardımcı maddeleriyle durultma sonucunda, nar suyu polifenollerinde meydana gelen değişim antioksidan aktivitede meydana gelen değişimle yüksek bir korelasyon ($r = 0.9055$) göstermiştir. Benzer şekilde, antosiyanin miktarı ile antioksidan aktivite arasında da iyi bir korelasyon ($r = 0.8687$) olduğu gözlenmiştir.
11. Nar sularının konsantreye işlenmesiyle bulanıklık düzeyinde artış meydana gelmiş, ancak farklı durultma yardımcı maddeleri ile durultulan nar sularından elde edilen tüm konsantrelerin depolama süresince bulanıklık düzeyi stabil kalmıştır. Ayrıca

depolama sıcaklığının bulanıklık oluşumu üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır. Durultma uygulamalarından depolama sonucunda en düşük bulanıklık düzeyi jelatinle (25 NTU) durultulan konsantrelerde gözlenirken, en yüksek bulanıklık değeri ise, doğal sedimantasyon uygulanan (72 NTU) örneklerde belirlenmiştir.

12. Nar suyu konsantrelerinde antosiyanin miktarının farklı durultma uygulamalarına göre değişmekle birlikte 4°C’de 120 gün depolama sonunda %78–83, 10°C’de 120 gün depolama sonunda %87–92 ve 20°C’de 60 gün depolama sonunda %88–95 oranında azaldığı saptanmıştır.
13. Depolama sıcaklığının artışına paralel olarak, antosiyanin miktarındaki kaybın arttığı belirlenmiştir. Beklendiği gibi antosiyanin miktarlarında en fazla kayıp 20°C’de depolanan konsantre örneklerinde gerçekleşirken, en az kayıp ise, –20°C’de depolanan örneklerde gerçekleşmiştir. Elde edilen veriler, nar suyu konsantrelerinin dondurularak depolanması gerektiğini göstermektedir.
14. Nar suyu konsantrelerinin depolanması boyunca nar suyundaki 3 başat antosiyaninin stabilitelerinin genel olarak en fazladan en aza doğru; Dp-3,5-diglu □ Cy-3-glu □ Cy-3,5-diglu olarak sıralandığı saptanmıştır.
15. Nar sularının konsantreye işlenmesi aşamasında antosiyanin miktarında, uygulanan durultma yöntemine göre değişmekle birlikte, %8–34 arasında kayıp meydana geldiği saptanmıştır. Konsantrasyon işlemi sırasında gözlenen monomerik antosiyanin kayıplarının; evaporasyon sıcaklığının (40°C) etkisiyle antosiyaninlerin yapısındaki şekerin hidrolizi ve aglikon oluşumunun yanısıra antosiyaninlerin polimerizasyonu ve polimerik antosiyanin-tanen kompleksinin oluşumundan kaynaklandığı düşünülmektedir.
16. Nar suyu konsantrelerinde polimerik renk oranına ilişkin hesaplanan “reaksiyon hız sabiti (k)” değerleri kıyaslandığında, depolama süresince polimerik renk oluşumunun en yavaş gerçekleştiği örnek kazeinle durultulmuş nar sularından elde edilen

konsantreler iken, en hızlı gerçekleştiği örnek durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerdir.

17. Depolama sıcaklık ve süresi arttıķa, antosiyanin kaybı artarken polimerik renk oranının da arttığı belirlenmiştir. Bu oranın artması, monomerik antosiyaninlerin parçalandığını ve esmer pigmentlerin oluştuğunu, yani doğal rengin bozulduğunu göstermektedir. Farklı uygulamalarla durultulmuş nar sularından elde edilen nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranında depolama sonunda durultulmuş örneklere kıyasla daha fazla artış saptanmıştır. Ancak durultma işleminin polimerik renk oranını ne şekilde arttırdığı anlaşılamamıştır.
18. Durultulmamış ve farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polifenol miktarlarında düzenli bir artış veya azalış olmadığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Ayrıca; nar sularının konsantreye işlenmesi aşamasında polifenol miktarında, uygulanan durultma yöntemine göre değişmekle birlikte, %8–23 arasında kayıp meydana geldiği saptanmıştır. Konsantrasyon işleminde polifenol miktarı bakımından en az etkilenen örneğin jelatinle durultulan; en fazla etkilenenin ise, durultulmamış nar sularından elde edilen konsantreler olduğu saptanmıştır.
19. Nar suyu konsantresi örneklerinin hidrolize olabilen tanen miktarlarının depolama süresince değişmediği saptanmıştır ($p > 0.05$). Nar suyu konsantrelerinde bulunan hidrolize olabilen tanen miktarı ile antioksidan aktivite düzeyi arasında doğrusal bir ilişki ($r = 0.8695$) olduğu belirlenmiştir.
20. Durultulmamış ve farklı durultma uygulamaları ile durultulmuş nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda aynı sürelerde depolanması süresince antioksidan aktivite düzeylerinde düzenli bir artış veya azalış olmadığı belirlenmiştir ($p < 0.05$).

Sonuç olarak elde edilen veriler ışığında 3 farklı alternatif önerilmektedir:

- a.** Nar sularının hem antosiyanin hem de polifenol içeriğinde en az kayba neden olan durultma uygulamalarının, doğal sedimantasyon yöntemi ile ksantan gam ve kitosanla durultma olduğu saptanmıştır. Ksantan gamın aslında nar suyunun durultulmasında herhangi bir işlevinin olmadığı veya çok az etkinlik göstermiş olduğu; doğal sedimantasyon yöntemi ve kitosanın ise bulanıklığa etki bakımından da iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Nitekim doğal sedimantasyon İspanya’da da endüstriyel anlamda kullanılan bir yöntemdir. Tüm bunlar göz önüne alındığında, doğal sedimantasyon veya kitosan kullanılarak “Soğuk durultma” yöntemi ile durultulan nar sularının endüstriyel koşullarda iyi bir filtrasyona tabi tutulmasıyla mükemmel berraklıkta nar suyu eldesi mümkündür. Bu durumda eğer nar suyu, üretim sonrası hemen şişelenip pazara sunulacaksa, nar suyunun “soğuk durultma” yöntemi kullanılarak durultulmasında geleneksel olarak kullanılan jelatine alternatif olarak doğal sedimantasyon yöntemi veya kitosan kullanımı önerilmektedir.
- b.** Nar suyu konsantrelerinin depolanması sonucu elde edilen bulanıklık değerleri, antosiyanin miktarları ve polimerik renk oranlarına ilişkin veriler incelendiğinde ise; depolama sonucunda en düşük bulanıklık düzeyi, jelatinle durultulan nar sularından elde edilmiş konsantrelerde belirlenmiş ve farklı durultma uygulamalarının, antosiyanin miktarındaki kayıplar ve polimerik renk oluşumlarında çok sınırlı bir fark oluşturduğu saptanmıştır. Bu nedenle; eğer nar suyu durultulduktan sonra konsantreye işlenerek depolanacaksa nar sularının “Soğuk durultma” yöntemi ile durultulmasında jelatin kullanımı önerilmektedir.
- c.** Bu bulguların yanı sıra, çalışmamızda elde edilen veriler ve kazanılan tecrübeler ışığında; nar sularının, herhangi bir durultma işlemi yapılmadan konsantreye işlenmesi ve hem antosiyanin kaybını hem de polimerik renk oluşumunu en aza indirmek için düşük sıcaklıklarda (4°C ve altında) hatta mümkünse –20°C’de muhafaza edilmesi gerektiği saptanmıştır. Depolanan konsantrelerin, piyasaya

sunulmak üzere şişelenmeden önce nar suyu briksine getirilerek durultulması; durultma işleminde ise ulaşılan berraklık düzeyleri yakın olmakla birlikte antosiyanin miktarında jelatine (%19.4) kıyasla daha az kayba neden olan kitosanın (%11.7) kullanılması önerilmektedir.

Ancak bilindiği gibi endüstride, elde edilen ürünün kalitesi kadar maliyeti de son derece önem taşımakta; düşük maliyetle kaliteli ürün elde etme yolları aranmaktadır. Yapılan piyasa araştırması sonucunda kitosanın kilogram fiyatının jelatininkinin 8 katı olduğu görülmüştür. Bu durumda; üretici firma, elde edilen ürünün, kalitesiyle pazarda nasıl bir yer edineceğini göz önünde bulundurarak bu iki durultma yardımcı maddesi arasında bir seçim yapmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Aal, E.S. and Hucl, P. 2003. Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2174–2180.
- Adams, J.B. 1973. Colour stability of red fruits. *Food Manufacture*, 48, 19–20.
- 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, 179–185.
- Alper, N., Onsekizoğlu, P. and Acar, J. 2011. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and organic acid compositions of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 313–319.
- Andersen, Ø.M. 1989. Anthocyanins in fruits of *Vaccinium oxycoccus* L. (small cranberry). *Journal of Food Science*, 54, 383–384.
- Andersen, Ø. M. and Jordheim, M. 2006. The anthocyanins. In: *Flavonoids*. Andersen, Ø.M. & Markham, K.R. (eds.), Chemistry, Biochemistry and Applications, pp. 452–471. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Anonim. 2006. <http://www.cu.edu.tr/merkezler/tyhm/2006-05.html>. Çukurova Üniversitesi Tarımsal Yayım, Haberleşme, Araştırma ve Uygulama Merkezi. Erişim tarihi: 21.10.2012.
- Anonim. 2007a. MEYED (Meyve Suyu Endüstrisi Derneği). Web sitesi. <http://www.meyed.org.tr/> Erişim tarihi: 20.10.2012.
- Anonim. 2007b. <http://www.indiamart.com/indiaseafoods>. Erişim tarihi: 02.03.2010.
- Anonim. 2009a. http://www.tarimmerkezi.com/haber_detay.php?hid=12979. Ege İnternet Yayıncılık Merkezi. Erişim tarihi: 21.10.2012.
- Anonim. 2009b. <http://www.batem.gov.tr/html>. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Erişim tarihi: 20.10.2012.
- Anonim. 2009c. <http://www.tuik.gov.tr>. Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim tarihi: 08.09.2012.
- Anonim. 2009d. <http://www.akib.org.tr>. Akdeniz İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği. Erişim tarihi: 24.10.2012.
- Anonim. 2010. <ftp://ftp.fao.org>. Food and Agriculture Organization. Erişim tarihi: 22.10.2012.

- Anonim. 2011. <http://www.malatyasonsoz.com.tr>. Malatya Sonsöz Gazetesi. Erişim tarihi: 10.09.2012.
- Anonim. 2012. <http://www.tarimziraat.com.tr>. Erişim tarihi: 11.09.2012.
- Anonymous. 1968. Analysen. Nr: 3 (Determination of titratable acidity). Internationale Fruchtsaft Union (IFU). Juris Verlag, Zurich.
- Apaydın, E. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antioksidan aktivitedeki değişimler. Yüksek Lisans tezi. Ankara Üniversitesi, 39 s., Ankara.
- Arts, M.J.T.J., Haenen, G.R.M.M., Voss, H.P. and Bast, A. 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. Food and Chemical Toxicology, 39, 787–791.
- Asefi, N. 1995. Meyve sularında antosiyaninlerin degradasyonu üzerine araştırmalar. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, 92 s., Ankara.
- Asen, S., Steawart, R.N. and Norris, K.H. 1972. Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effect on color. Phytochemistry, 11, 1139–1144.
- Asen, S. 1976. Known factors responsible for infinitive flower color variation. Acta Horticulturae, 63, 217–223.
- Aseri, G.K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A.V. and Meghwal, P.R. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. Scientia Horticulturae, 117, 130–135.
- Attoe, E.L. and Von Elbe, J.H. 1981. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. Journal of Food Science, 46, 1934–1937.
- Barón, R., Mayen, M., Merida, J. and Medina, M. 1997. Changes in phenolic compounds and colour in pale Sherry wines subjected to fining treatments. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A, 205, 474–478.
- Benk, E. 1971. Zur Kenntnis tropischer and subtropischer Früchte und Fruchtsäfte. Flüssiges Obst, 38, 210–220.
- Borochoy-Neori, H., Judeinstein, S., Harari, M., Bar-Ya'akov, I., S. Patil, B., Lurie, S. and Holland, D. 2011. Climate effects on anthocyanin accumulation and composition in the pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit arils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 5325–5334.
- Bridle, P. and Timberlake, C.F. 1996. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food Chemistry, 58, 103–109.

- Broennum-Hansen, K. and Flink, J.M. 1985. Anthocyanin colorants from elderberry (*Sambucus nigra* L.). 3. Storage stability of the freeze dried product. *Journal of Food Technology*, 20, 725–733.
- Brouillard, R. 1982. Chemical structure of anthocyanins. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.), Academic Press Inc., pp.1–38, New York, NY.
- Brownmiller, C., Howard, L.R. and Prior, R.L. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *Journal of Food Science*, 73, 72–79.
- Bruneton, J. 1995. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants. Tec & Doc-Lavoisier, Paris.
- Cabrita, L. 1999. Analysis and stability of anthocyanins. [dissertation]. University of Bergen, Department of Chemistry, Bergen.
- Cabrita, L., Fossen, T. and Anderson, O.M. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Journal of Food Science*, 68, 101–107.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, L., Páez-Hernández, E., Rodríguez, J.A. and Galán-Vidal, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113, 859–871.
- Castillo-Sánchez, J.X., García-Falcón, M.S., Martínez-Carballo, E., Martins-Dias, L.R. and Mejuto, X.C. 2008. Phenolic compounds and colour stability of Vinhão wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chemistry*, 106, 18–26.
- Cemeroğlu, B. 1977. *Nar Suyu Üretim Teknolojisi Üzerinde Araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, No: 664, 71 s. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Artık, N. ve Yüncüler, O. 1988. Nar suyu üzerinde araştırmalar. *Doğa, Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 12, 322–334.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S., Erbaş, S., Ünal, Ç. ve Yıldız, O. 1994a. Vişne ve nar sularının kimyasal tanı değerlerinin saptanması üzerinde araştırmalar. TUBİTAK projesi, Proje No: TBGAG-29/A, 49 s., Ankara.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S. and Işık, S. 1994b. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59, 1216–1217.
- Cemeroğlu, B. ve Karedeniz, F. 2009. Meyve suyu üretim teknolojisi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 391–692, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 38, Bizim Grup Basımevi, Ankara.

- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2009. Meyve ve sebzelerin bileşimi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, Cemeroğlu B (ed.), 3. baskı, s. 1–236, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 38, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B. 2010. Gıda analizlerinde genel yöntemler. *Gıda Analizleri*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 1–87, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 34, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R.E. 2004. Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *Journal of Food Science*, 69, 73–83.
- Chatterjee, S., Chatterjee, S., Chatterjee, B.P. and Guha, A.K. 2004. Clarification of fruit juice with chitosan. *Process Biochemistry*, 39, 2229–2232.
- Cilliers, J.J.L. and Singleton, V.L. 1991. Characterization of the products of nonenzymic autoxidative phenolic reactions in a caffeic acid model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 1298–1303.
- Clarke, R.J. and Bakker, J. 2004. *Wine Flavour Chemistry*, Blackwell Publishing, Oxford, 324, U.K.
- Cosme, F., Ricardo-da-Silva, J.M. and Laureano, O. 2008. Interactions between protein fining agents and proanthocyanidins in white wine. *Food Chemistry*, 106, 536–544.
- Çam, M., Hışıl, Y. and Durmaz, G. 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioksidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112, 721–726.
- Dao, L.T., Takeoka, G.R., Edwards, R.H. and Berrios, J.D.J. 1998. Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3564–3569.
- Daravingas, G. and Cain, R.F. 1968. Thermal degradation of black raspberry anthocyanin pigments in model systems. *Journal of Food Science*, 33, 138–142.
- Darmadji, P. and Izumimoto, M. 1994. Effects of chitosan in meat preservation. *Meat Science*, 38, 243–254.
- De Ancos, B., Gonzalez, E. and Cano, M.P. 1999a. Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. *Food Research and Technology*, 208, 33–38.
- De Ancos, B., Cano, M.P., Hernandez, A. and Monreal, M. 1999b. Effects of microwave heating on pigment composition and color of fruit purees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 663–670.

- Debicki-Pospisil, J., Lovric, T., Trinajstić, N. and Sabljic, A. 1983. Anthocyanin degradation in the presence of furfural and 5-hydroxymethylfurfural. *Journal of Food Science*, 48, 411–416.
- Dekazos Elias, D. 1970. Anthocyanin pigments in red tart cherries. *Journal of Food Science*, 35, 237–241.
- Dereli, U. 2010. Siyah havuç suyu konsantresi üretimi ve depolanması sürecinde fenolik maddelerdeki değişimler ve bu değişimlerin antioksidan aktivite ile ilişkisi. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, 69 s., Ankara.
- Due, C.T., Wang, P.L. and Francis, F.J. 1975. Anthocyanins of pomegranate, *Punica granatum*. *Journal of Food Science*, 40, 417–418.
- Fan-Chiang, H.J. and Wrolstad, R.E. 2005. Anthocyanin pigment composition of blackberries. *Journal of Food Science*, 70, 198–202.
- Fang, Z., Zhang, M., Du, W. and Sun, J. 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, 113–119.
- Fang, Z., Zhang, Y., Lu, Y., Ma, G., Chen, J., Liu, D. and Ye, X. 2009. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chemistry*, 113, 884–888.
- Fleschhut, J., Kratzer, F., Rechkemmer, G. and Kulling, S.E. 2006. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins *in vitro*. *European Journal of Nutrition*, 45, 7–18.
- Fossen, T., Cabrita, L. and Andersen, Ø.M. 1998. Color and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. *Food Chemistry*, 63, 435–440.
- Francis, F.J. 1989. Food colorants: anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28, 273–314.
- Frankel, E.N. 1999. Natural phenolic antioxidants and their impact on health. *Antioxidant Food Supplements in Human Health*, pp. 385–392, Academic Press, London.
- 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, 72–77.
- Fuleki, T. 1969. The anthocyanins of strawberry, rhubarb, radish and onion. *Journal of Food Science*, 34, 365–369.

- Furtado, P., Figueiredo, P., Chaves das Neves, H. and Pina, F. 1993. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *Journal of Photochemistry and Photobiology, A*, 75, 113–118.
- Furusaki, E., Ueno, Y., Sakairi, N., Nishi, N. and Tokura, S. 1996. Facile preparation and inclusion ability of a chitosan derivative bearing carboxymethyl- β -cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 29, 29–34.
- García-Viguera, C., Zafrilla, P., Romero, P., 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, 243–247.
- Garzon, G.A. and Wrolstad, R.E. 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 67, 1288–1299.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, 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, 4581–4589.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 1996. Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for Maraschino cherries. *Journal of Food Science*, 61, 688–694.
- 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.), John Wiley & Sons, pp. 1–13, New York, NY.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14, 217–225.
- Gordon, M.H. 2000. The development of oxidative rancidity in foods. In: *Antioxidants in Food*. Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. (eds), CRC Pres LCC, pp. 7–22.
- Gorinstein, S., Cvikrova, M., Machackova, I., Haruenkit, R., Park, Y.S., Jung, S.T., Yamamoto, K., Ayala, A.L.M., Katrich, E. and Trakhtenberg, S. 2004. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. *Food Chemistry*, 84, 503–504.
- Güzel, N. 2010. Nar suyu konsantresi üretim aşamalarında prosiyanidinlerdeki değişimler. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, 87 s., Ankara.

- 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, 689–695.
- Hager, T.J., Howard, L.R. and Prior, R.L. 2010. Processing and storage effects on the ellagitannin composition of processed blackberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 11749–11754.
- Harborne, J.B. 1967. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*, New York, NY.
- 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, 39–42.
- Imeri, A.G and Knorr, D. 1988. Effects of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. *Journal of Food Science*, 53, 1707–1709.
- Işık, Ş. 1993. Vişne suyu konsantratlarının depolanmalarında renk ve berraklık stabilitesi üzerinde araştırma. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, 49 s., Ankara.
- Jackman, R.L., Yada, R.Y., Tung, M.A. and Speers, R.A. 1987. Anthocyanins as food colorants- A review. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 201–247.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. and Madhavi, D.L. 1996. Lipid oxidation in biological and food systems. In: *Food Antioxidant*. Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. (eds), Marcel Dekker, Inc., pp. 5–65, New York, NY.
- Jo, C., Lee, J.W., Lee, K.H. and Byun, M.W. 2001. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science*, 59, 369–75.
- Kader, F., Rovel, B., Girardin, M., and Metche, M. 1997. Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). Partial purification and characterization of blueberry polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73, 513–516.
- Kader, F., Irmouli, M., Zitouni, N., Nicolas, J. and Metche, M. 1999. Degradation of cyanidin 3-glucoside by caffeic acid o-quinone. Determination of the stoichiometry and characterization of the degradation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4625–4630.
- Kader, F., Irmouli, M., Nicolas, J.P. and Metche, M. 2001. Proposed mechanism for the degradation of pelargonidin 3-glucoside by caffeic acid o-quinone. *Food Chemistry*, 75, 139–144.

- Kader, F., Irmouli, M., Nicolas, J.P. and Metche, M. 2002. Involvement of blueberry peroxidase in the mechanisms of anthocyanin degradation in blueberry juice. *Journal of Food Science*, 67, 910–915.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I. and Heinonen, M. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4076–4082.
- Kalkan-Yıldırım, H. 2011. Effects of fining agents on antioxidant capacity of red wines. *Journal of the Institute of Brewing*, 117, 55–60.
- Kammerer, D.R., Schillmöller, 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, 667–679.
- Katzbauer, B. 1998. Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability*, 59, 81–84.
- Kearsley, M.W. and Rodriguez, N. 1981. The stability and use of natural colors in foods: anthocyanin, β -carotene and riboflavin. *Journal of Food Technology*, 16, 421–431.
- Kechinski, C.P., Guimarães, P.V.R., Nareña, C.P.Z., Tessaro, I.C. and Marczak, L.D.F. 2010. Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *Journal of Food Science*, 75, 173–176.
- Kırca, A. and Cemeroğlu, B. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chemistry*, 81, 583–587.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, 109 s., Ankara.
- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2006. Stability of black carrot anthocyanins in various juices and nectars. *Food Chemistry*, 97, 598–605.
- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2007. Effect of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*, 101, 212–218.
- Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M. and Gliszczynska-Swiglo, A. 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 313–322.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2005. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda*, 30, 229–236.
- Konczak, I. and Zhang, W. 2004. Anthocyanins-more than nature's colours. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 239–240.

- Kong, J., Chia, L., Goh, N., Chia, T. and Brouillard, R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923–933.
- Kulkarni, A.P. and Aradhya, S.M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319–324.
- Kulkarni, A.P., Mahal, H.S., Kapoor, S. and Aradhya, S.M. 2007. In vitro studies on the binding, antioxidant and cytotoxic actions of punicalagin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1491–1500.
- Landete, J.M. 2011. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International*, 44, 1150–1160.
- 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, 1660–1667.
- Lee, J. and Wrolstad, R.E. 2004. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste. *Journal of Food Science*, 69, 564–573.
- Lee, W.C., Yusof, S., Hamid, N.S.A. and Baharin, B.S. 2007. Effects of fining treatment and storage temperature on the quality of clarified banana juice. *Swiss Society of Food Science and Technology*, 40, 1755–1764.
- Lee, J., Rennaker, C. and Wrolstad, R.E. 2008. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 110, 782–786.
- Leon, A., Robertson, A., Robinson, R. and Seshadri, T.R. 1931. Synthesis of anthocyanins. VII. The four isomeric β -glucosides of pelargonidin chloride. *Journal of The Chemical Society*, 2672–2701.
- Lu, J., Ding, K. and Yuan, Q. 2008. Determination of punicalagin isomers in pomegranate husk. *Chromatographia*, 68, 303–306.
- Lu, J., Ding, K. and Yuan, Q. 2011. One-step purification of punicalagin by preparative HPLC and stability study on punicalagin. *Separation Science and Technology*, 46, 147–154.
- 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, 476–489.
- 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.

- Marti, N., Perz-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, 217–221.
- Maskan, M. 2006. Production of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate by various heating methods: Colour degradation and kinetics. *Journal of Food Engineering*, 72, 218–224.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D.A., Bartual, J., Saura, D. and Marti, 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, 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, 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, 331–337.
- Mirdehghan, S.H. and Rahemi, M. 2007. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111, 120–127.
- Miskin, M. and Saguy, I. 1982. Thermal stability of pomegranate juice. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A (European Food Research and Technology)*, 206, 294–296.
- Morris, J.R. and Main, G.L. 1995. Fining agents for wine. *Proc. 14th NM Conf.* 1995.
- Murthy, K.N.C., Jayaprakasha, G.K. and Singh, R.P. 2002. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4791–4795.
- Nicoli, M.C., Anese, M. and Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Science and Technology*, 10, 94–100.
- No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *Journal of Food Science*, 72, 87–100.
- Nyman, N.A. and Kumpulainen, J.T. 2001. Determination of anthocyanidins in berries and red wine by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4183–4187.

- Ochoa, M.R., Kessler, A.G., Vullioud, M.B. and Lozano, J.E. 1999. Physical and chemical characteristics of raspberry pulp: Storage effect on composition and color. *Lebensmitteluntersuchung und Technology*, 32, 149–153.
- Onur, C. 1982. Akdeniz Bölgesi Narlarının Seleksiyonu. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma ve Eğitim Merkezi Yayını, No: 121, Mersin.
- Oren-Shamir, M. 2009. Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? *Plant Science*, 177, 310–316.
- Osawa, Y. 1982. Copigmentation of anthocyanins. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.), Academic Press Inc., pp. 41–65, New York, NY.
- Oszmiański, J., Sapis, J.C. and Macheix, J.J. 1985. Changes in grape seed phenols as affected by enzymic and chemical oxidation *in vitro*. *Journal of Food Science*, 50, 1505–1506.
- 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, 755–762.
- 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, 703–706.
- Özkan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry*, 78, 499–504.
- 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, 525–529.
- Özkan, M., Türkyılmaz, M., Güzel, N. ve Dereli, U. 2009. Ülkemizde yetiştirilen başlıca nar çeşitlerinin bazı kimyasal nitelikleri. Proje Numarası: 08H4343004, 52 s., Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Ankara.
- Özkan, M., Cemeroğlu, B. ve Toklucu, A.K. 2010a. *Gıda Mühendisliğinde Reaksiyon Kinetiği*, 174 s, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 42, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2010b. 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.
- Palaniraj, A. and Jayaraman, V. 2011. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. *Journal of Food Engineering*, 106, 1–12.

- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C. and Tiwari, B.K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 3–11.
- Pereira, V., Câmara, J.S., Cacho, J. and Marques, J.C. 2010. HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. *Journal of Separation Science*, 33, 1204–1215.
- Pifferi, P.G. and Cultrera, R. 1974. Enzymic degradation of anthocyanins. Role of sweet cherry polyphenol oxidase. *Journal of Food Science*, 39, 786–791.
- Piljac-Zegarac, J., Valek, L., Martinez, S. and Belščak, A. 2009. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry*, 113, 394–400.
- Pinelo, M., Manzocco, L., Núñez, M.J. and Nicoli, M.C. 2004. Interaction among phenols in food fortification: Negative synergism on antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1177–1180.
- Poei-Langston, M.S. and Wrolstad, R.E. 1981. Color degradation in an ascorbic acid-anthocyanin-flavanol model system. *Journal of Food Science*, 46, 1218–1236.
- Rao, L., Hayat, K., Lu, Y., Karangwa, E., Xia, S., Jia, C., Zhong, F. and Zhang, X. 2011. Effect of ultrafiltration and fining adsorbents on the clarification of green tea. *Journal of Food Engineering*, 102, 321–326.
- Ratnam, V.D., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K. and Kumar, R.M.N.V. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113, 189–207.
- Reddy, M.K., Gupta, S.K., Jacob, M.R., Khan, S.I. and Ferreira, D. 2007. Antioxidant, antimalarial and antimicrobial activities of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta Medica*, 73, 461–467.
- Rein, M. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (academic dissertation). University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, 87 p., Helsinki.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 2006. Clarification and stabilization treatments: Fining fine. In: *Handbook of Enology*, Volume II, Rychlewski, C. (ed.), pp. 301–331. John Wiley & Sons Ltd. The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933–956.

- Rieger, M. 2006. Mark's fruit crops. Web sitesi. <http://www.uga.edu/fruit/pomegran.html>. Erişim tarihi: 21.05.2008.
- Rodriguez-Saona, L. E., Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 1999. Color and pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. *Journal of Food Science*, 64, 451–456.
- Rommel, A., Heatherbell, D.A. and Wrolstad, R.E. 1990. Red raspberry juice and wine: effect of processing and storage on anthocyanin pigment composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 55, 1011–1017.
- Rommel, A., Wrolstad, R.E. and Heatherbell, D.A. 1992. Blackberry juice and wine: processing and storage effects on anthocyanin composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 57, 385–391.
- Rungsardthong, V., Wongvuttanakul, N., Kongpien, N. and Chotiwaranon, P. 2006. Application of fungal chitosan for clarification of apple juice. *Process Biochemistry*, 41, 589–593.
- Sadilova, E., Stintzing, E.C. and Carle, R. 2006. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. *Journal of Food Science*, 71, 504–512.
- Sapers, G.M. 1992. Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. *Journal of Food Science*, 57, 1192–1193.
- Sarni, P., Fulcrand, H., Souillol, V., Souquet, J.M. and Cheynier, V. 1995. Mechanisms of anthocyanin degradation in grape must-like model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69, 385–391.
- Scheffeldt, P. and Hrazdina, G. 1978. Co-pigmentation of anthocyanins under physiological conditions. *Journal of Food Science*, 43, 517–520.
- Ścibisz, I. and Mitek, M. 2009. Effect of processing and storage conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of highbush blueberry jams. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59, 45–52.
- Seeram, N., Lee, R., Hardy, M. and Heber, D. 2005a. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and Purification Technology*, 41, 49–55.
- Seeram, N.P., Adams, L.S., Hennig, S.M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M.G. and Heber, D. 2005b. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, 360–367.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. and Jeon, Y. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 37–51.

- Siebert, K.J. 1999a. Protein–polyphenol haze in beverages. *Food Technology*, 53, 54–57.
- Siebert, K.J. 1999b. Effect of protein–polyphenol interactions on beverage haze, stabilization and analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 353–362.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–153.
- Skrede, G., Wrolstad, R.E., Lea, P. and Enersen, G. 1992. Color stability of strawberry and black currant syrups. *Journal of Food Science*, 57, 172–177.
- 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, 357–364.
- Soto-Peralta, N.V., Müller, H. and Knorr, D. 1989. Effects of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. *Journal of Food Science*, 54, 495–496.
- Spagna, G., Pifferi, P.G., Rangoni, C., Mattivi, F., Nicolini, G. and Palmonari, R. 1996. The stabilization of white wines by adsorption of phenolic compounds on chitin and chitosan. *Food Research International*, 29, 241–248.
- Spagna, G., Barbagallo, R.N. and Pifferi, P.G. 2000. Fining treatments of white wines by means of polymeric adjuvants for their stabilization against browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4619–4627.
- Spanos, G.A and Wrolstad, R.E. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson Seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1565–1571.
- Starr, M.S. and Francis, F.J. 1968. Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food Technology*, 22, 1293–1295.
- 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, 1043–1046.
- Stintzing, F.C., Stintzing, A.S., Carle, R., Frei, B. and Wrolstad, R.E. 2002. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6172–6181.
- Tajchakavit, S., Boye, J.I., Belanger, D. and Couture, R. 2001. Kinetics of haze formation and factors influencing the development of haze in clarified apple juice. *Food Research International*, 34, 431–440.

- Tezcan, F., Gültekin-Özgüven, M., Diken, T., Özçelik, B. and Erim, F.B. 2009. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry*, 115, 873–877.
- Tian, Q., Giusti, M.M., Stoner, G.D. and Schwartz, S.J. 2006. Characterization of a new anthocyanin in black raspberries (*Rubus occidentalis*) by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 94, 465–468.
- Turfan, Ö. 2008. Nar suyu konsantresi üretim ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler. Yüksek lisans tezi. Ankara Üniversitesi, 140 s., Ankara.
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2011. Anthocyanin and colour during processing of pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) juice from sacs and whole fruit. *Food Chemistry*, 129, 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, 272–282.
- Türkyılmaz, M. 2009. Siyah havuç suyu konsantresi üretimi ve depolama sürecinde renkteki değişimler. Doktora hazırlık çalışması. Ankara Üniversitesi, 119 s., Ankara.
- Türkyılmaz, M. and Özkan, M. 2012. Kinetics of anthocyanin degradation and polymeric colour formation in black carrot juice concentrates during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 1–9.
- 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, 1052–1058.
- Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M. and Amir, R. 2007. Antioxidant activity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9559–9570.
- Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M. and Zamani, Z. 2011. Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coating pomegranate (*Punica granatum* L. Cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 130, 267–272.
- Vardin, H. and Fenercioğlu, H. 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: Clarification of pomegranate juice. *Nahrung/Food*, 47, 300–303.
- Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J. 1996. Colorants. In: *Food Chemistry*, Fennema, O.R. (ed.), 3rd ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY.

- Wang, W. and Xu, S. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82, 271–275.
- 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, 66–68.
- Wilska-Jeszka, J. and Korzuchowska, A. 1996. Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation. Influence on the color of strawberry and chokeberry juices. *Food Research and Technology*, 203, 38–42.
- Withy, L.M., Nguyen, T.T., Wrolstad, R.E. and Heatherbell, D.A. 1993. Storage changes in anthocyanin content of red raspberry juice concentrate. *Journal of Food Science*, 58, 190–192.
- Wrolstad, R.E., Skrede, G., Lea, P. and Enersen, G. 1990. Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science*, 55, 1064–1072.
- Wrolstad, R.E. 2004. Anthocyanin pigments-bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*, 69, 419–421.
- Xie, W., Xu, P. and Liu, Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 11, 1699–1701.
- Yazıcı, K. and Şahin, A. 2010. Narın dünya ve Türkiye’deki yeri ve önemi. www.batem.gov.tr/haber/haftalar/nar_dunya_tur.pdf. Erişim tarihi: 01.05.2010.
- 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.
- Yüksel, S. and Koca, İ. 2008. Color stability of blackberry nectars during storage. *Journal of Food Technology*, 6, 166–169.
- Zhang, Z., Kou, X., Fugal, K. and McLaughlin, J. 2004. Comparison of HPLC for determination of anthocyanins and anthocyanidins in bilberry extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 688–691.
- Zor, M. 2007. Depolamanın ayva reçelinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile antioksidan aktivitesi üzerine etkisi. Yüksek lisans tezi. Atatürk Üniversitesi, 63 s., Erzurum.

EKLER

EK 1 Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

EK 2 Farklı Depolama Sıcaklıklarında, Nar Suyu Konsantrelerinin Antosiyanin Miktarlarındaki Azalmaya İlişkin Grafikler

EK 3 Farklı Depolama Sıcaklıklarında, Nar Suyu Konsantrelerinin Polimerik Renk Oranlarındaki Artışa İlişkin Grafikler

EK 4 Arrhenius Grafikleri İçin Gerekli Veriler

EK 5 Arrhenius Grafikleri

EK 6 Nar Suyu Konsantrelerinde Antosiyaninlere Ait HPLC Kromatogramları

EK 7 Nar Suyu Konsantrelerinde Hidrolize Olabilen Tanenlere Ait HPLC Kromatogramları

EK 1 Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Çizelge 1 Nar sularının durultulmasıyla antosiyanin miktarlarında meydana gelen azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	3469.43	578.24	93.05	0.000*
Hata	7	43.50	6.21		
Genel toplam	13	3512.93			

* : $p < 0.05$

Çizelge 2 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının monomerik antosiyanin içerikleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Toplam monomerik antosiyanin miktarı (mg L^{-1})*
Durultulmamış	180±2.83 A
Doğal sedimantasyon	162±2.12 B
Jelatin	145±1.41 C
Kitosan	159±4.95 B
Kazein	131±1.41 D
Albümin	136±0.71 E
Ksantan gam	160±1.41 B

*: pH diferansiyel metoduyla tayin edilen toplam monomerik antosiyanin miktarı

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

Çizelge 3 Nar sularının durultulmasıyla polimerik renk oranında meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	109.664	18.277	328.06	0.000*
Hata	7	0.390	0.056		
Genel toplam	13	110.054			

* : $p < 0.05$

Çizelge 4 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının polimerik renk oranları üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Polimerik renk oranı (%)
Durultulmamış	21.5±0.495 A
Doğal sedimantasyon	23.1±0.141 B
Jelatin	26.4±0.283 C
Kitosan	26.8±0.212 C
Kazein	30.8±0.000 D
Albümin	24.1±0.000 E
Ksantan gam	25.5±0.000 F

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

Çizelge 5 Nar sularının durultulmasıyla polifenol miktarında meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	372 463	62 077	248.17	0.000*
Hata	7	1 751	250		
Genel toplam	13	374 214			

* : p<0.05

Çizelge 6 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının polifenol miktarları üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Toplam polifenol miktarı (mg L ⁻¹)*
Durultulmamış	2163±19.10 A
Doğal sedimantasyon	1991±31.80 B
Jelatin	1649±3.54 C
Kitosan	1999±12.00 B
Kazein	1739±5.66 D
Albümin	1848±2.12 E
Ksantan gam	1992±13.40 B

*Toplam polifenol miktarları, gallik asit cinsinden aritmetik ortalama olarak verilmiştir.

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

Çizelge 7 Nar sularının durultulmasıyla hidrolize olabilen tanen miktarında meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	1696273	282712	99.95	0.000*
Hata	7	19800	2829		
Genel toplam	13	1716073			

* : p<0.05

Çizelge 8 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının hidrolize olabilen tanen miktarları üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Hidrolize olabilen tanen miktarı (mg L ⁻¹)
Durultulmamış	1159±138.31 A
Doğal sedimantasyon	252±6.36 B
Jelatin	109±1.61 C
Kitosan	180±14.32 BC
Kazein	102±4.97 C
Albümin	195±17.72 BC
Ksantan gam	210±9.04 BC

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

Çizelge 9 Nar sularının durultulmasıyla antioksidan aktivitede meydana gelen değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	124.7127	20.7854	301.18	0.000*
Hata	7	0.4831	0.0690		
Genel toplam	13	125.1958			

* : p<0.05

Çizelge 10 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının antioksidan aktivite düzeyleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Antioksidan aktivite (mM troloks mL ⁻¹ nar suyu)
Durultulmamış	29.94±0.219 A
Doğal sedimantasyon	27.95±0.212 B
Jelatin	23.56±0.594 C
Kitosan	30.69±0.049 D
Kazein	22.54±0.141 E
Albümin	24.78±0.099 F
Ksantan gam	28.65±0.071 G

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

Çizelge 11 Nar sularının briks değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	1.3159	0.2193	139.57	0.000*
Hata	7	0.0110	0.0016		
Genel toplam	13	1.3269			

*: p<0.05

Çizelge 12 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının briksi üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Briks (%)
Durultulmamış	16.0±0.007 A
Doğal sedimantasyon	16.1±0.007 A
Jelatin	15.3±0.042 B
Kitosan	15.4±0.085 C
Kazein	15.4±0.007 C
Albümin	15.9±0.007 D
Ksantan gam	15.8±0.042 E

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

Çizelge 13 Nar sularının pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	0.0222	0.0037	19.96	0.000*
Hata	7	0.0013	0.0002		
Genel toplam	13	0.0235			

*: $p < 0.05$

Çizelge 14 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının pH değerleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	pH
Durultulmamış	3.15±0.028 A
Doğal sedimantasyon	3.17±0.007 A
Jelatin	3.17±0.021 A
Kitosan	3.18±0.000 A
Kazein	3.28±0.000 B
Albümin	3.18±0.000 A
Ksantan gam	3.18±0.000 A

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

Çizelge 15 Nar sularının titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	0.0309	0.0052	6.18	0.015*
Hata	7	0.0059	0.0008		
Genel toplam	13	0.0368			

*: $p < 0.05$

Çizelge 16 Farklı durultma uygulamalarının, nar sularının titrasyon asitliği değerleri üzerine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Titrasyon asitliği (g 100 mL ⁻¹)*
Durultulmamış	1.92±0.035 AB
Doğal sedimantasyon	1.99±0.035 A
Jelatin	1.88±0.021 BC
Kitosan	1.92±0.014 AB
Kazein	1.83±0.007 C
Albümin	1.95±0.014 AB
Ksantan gam	1.92±0.049 AB

*: Susuz sitrik asit cinsinden

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

Çizelge 17 Nar suyu konsantrelerinin bulanıklık düzeyinin değişimine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	3070762	511794	7999.75	0.000
Sıcaklık	2	32	16	0.25	0.782
Süre	1	5186	5186	81.06	0.000
Durultma x sıcaklık	12	364	30	0.47	0.918
Durultma x süre	6	25686	4281	66.92	0.000*
Sıcaklık x süre	2	32	16	0.25	0.782
Durultma x sıcaklık x süre	12	364	30	0.47	0.918
Hata	42	2687	64		
Genel toplam	83	3105113			

* : p<0.05

Çizelge 18 Nar suyu konsantrelerinin 4°C’de depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin bulanıklık düzeyine¹ (NTU) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)		
	0	60	120
Durultulmamış	643±7.07 Aa	553±16.26 Ba	544±33.94 Ba
Doğal sedimantasyon	82±0.28 Ab	81±1.56 Ab	72±1.70 Ab
Jelatin	29±1.20 Ad	25±0.14 Ad	25±0.57 Ad
Kitosan	45±1.77 Acd	40±2.26 Ad	39±0.78 Acd
Albümin	38±2.90 Ad	39±3.04 Ad	39±1.34 Acd
Kazein	42±1.06 Ad	31±0.57 Ad	34±0.49 Ad
Ksantan gam	61±0.92 Ac	62±2.97 Ac	55±1.63 Ac

¹ Bulanıklık düzeyleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

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

Çizelge 19 Nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	175380	29230	488.72	0.000
Sıcaklık	2	58595	29298	489.85	0.000
Süre	1	3339232	3339232	5831.11	0.000
Durultma x sıcaklık	12	2103	175	2.93	0.005
Durultma x süre	6	36960	6160	102.99	0.000
Sıcaklık x süre	2	58595	29298	489.85	0.000
Durultma x sıcaklık x süre	12	2103	175	2.93	0.005*
Hata	42	2512	60		
Genel toplam	83	3675481			

* : p<0.05

Çizelge 20 Nar suyu konsantrelerinin 4°C’de depolanması süresince durultma x süre faktörünün antosiyanin miktarları¹ (mg kg⁻¹) üzerindeki etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	620±7.01 Aa	231±7.92 Ab
Doğal sedimantasyon	426±6.11 Ba	146±2.67 Bb
Jelatin	516±1.71 Ca	171±5.42 Cb
Kitosan	529±5.15 Ca	180±4.75 Cb
Albümin	499±21.88 Da	144±3.63 Bb
Kazein	411±6.88 Ba	120±0.54 Db
Ksantan gam	468±10.88 Ea	151±2.59 Bb

¹ Antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 21 Nar suyu konsantrelerinin 10°C’de depolanması süresince durultma x süre faktörünün antosiyanin miktarları¹ (mg kg⁻¹) üzerindeki etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	620±7.01 Aa	179±4.79 Ab
Doğal sedimantasyon	426±6.11 Ba	81±2.15 BCDb
Jelatin	516±1.71 Ca	82±1.11 BCb
Kitosan	529±5.15 Ca	92±2.59 Bb
Albümin	499±21.88 Da	65±0.50 Db
Kazein	411±6.88 Ba	68±0.47 CDb
Ksantan gam	468±10.88 Ea	84±2.62 BCb

¹ Antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 22 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince durultma x süre faktörünün antosiyanin miktarları¹ (mg kg⁻¹) üzerindeki etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	620±7.01 Aa	76±2.10 Ab
Doğal sedimantasyon	426±6.11 Ba	27±0.50 Bb
Jelatin	516±1.71 Ca	28±0.04 Bb
Kitosan	529±5.15 Ca	34±1.09 Bb
Albümin	499±21.88 Da	24±0.50 Bb
Kazein	411±6.88 Ba	22±0.50 Bb
Ksantan gam	468±10.88 Ea	29±0.54 Bb

¹ Antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 23 Nar suyu konsantrelerinin konsantrasyon işlemi sırasında antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	5762.4	960.4	149.39	0.000
Örnek**	1	5887.0	5887.0	915.76	0.000
Durultma x örnek	6	1383.5	230.6	35.87	0.000*
Hata	14	90.0	6.4		
Genel toplam	27	13122.9			

* : p<0.05

** : nar suyu veya nar suyu briksine getirilmiş başlangıç konsantresi

Çizelge 24 Nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranındaki artışa ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	1717.90	286.32	693.50	0.000
Sıcaklık	2	909.09	454.54	1100.97	0.000
Süre	1	29546.25	29546.25	71565.32	0.000
Durultma x sıcaklık	12	38.98	3.25	7.87	0.000
Durultma x süre	6	156.23	26.04	63.07	0.000
Sıcaklık x süre	2	909.09	454.54	1100.97	0.000
Durultma x sıcaklık x süre	12	38.98	3.25	7.87	0.000*
Hata	42	17.34	0.41		
Genel toplam	83	33333.87			

* : p<0.05

Çizelge 25 Nar suyu konsantrelerinin 4°C’de depolanması süresince durultma x süre faktörünün polimerik renk oranları¹ (%) üzerindeki etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	25±0.80 Aa	52±0.16 Eb
Doğal sedimantasyon	38±0.79 Ba	65±1.40 Cb
Jelatin	32±0.06 Ca	61±0.06 Db
Kitosan	30±1.15 Da	60±0.29 Db
Albümin	34±0.69 Ea	67±1.05 Bb
Kazein	43±0.06 Fa	70±0.91 Ab
Ksantan gam	36±0.58 Ga	66±0.63 Bb

¹ Polimerik renk oranları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 26 Nar suyu konsantrelerinin 10°C’de depolanması süresince durultma x süre faktörünün polimerik renk oranları¹ (%) üzerindeki etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	25±0.80 Aa	66±0.25 Eb
Doğal sedimantasyon	38±0.79 Ba	73±0.37 Cb
Jelatin	32±0.06 Ca	73±0.49 Cb
Kitosan	30±1.15 Da	71±0.31 Db
Albümin	34±0.69 Ea	76±0.73 Ab
Kazein	43±0.06 Fa	76±0.18 Ab
Ksantan gam	36±0.58 Ga	75±0.28 Bb

¹ Polimerik renk oranları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 27 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince durultma x süre faktörünün polimerik renk oranları¹ (%) üzerindeki etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	25±0.80 Aa	74±0.18 Db
Doğal sedimantasyon	38±0.79 Ba	79±0.08 Bb
Jelatin	32±0.06 Ca	79±0.47 Bb
Kitosan	30±1.15 Da	77±0.48 Cb
Albümin	34±0.69 Ea	80±0.14 Bb
Kazein	43±0.06 Fa	83±0.46 Ab
Ksantan gam	36±0.58 Ga	80±0.43 Bb

¹ Polimerik renk oranları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 28 Nar suyu konsantrelerinin konsantrasyon işlemi sırasında polimerik renk oranındaki artışa ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	404.357	67.393	238.26	0.000
Örnek**	1	510.863	510.863	1806.08	0.000
Durultma x örnek	6	137.137	22.856	80.80	0.000*
Hata	14	3.960	0.283		
Genel toplam	27	1056.317			

* : p<0.05

** : nar suyu veya nar suyu briksine getirilmiş başlangıç konsantresi

Çizelge 29 4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin polifenol miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	1524088	254015	17.28	0.000
Süre	1	613	613	0.041	0.841
Durultma x süre	6	623251	103875	7.07	0.001*
Hata	14	205792	14699		
Genel toplam	27	2353744			

* : p<0.05

Çizelge 30 Nar suyu konsantrelerinin 4°C’de 120 gün depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin polifenol miktarına¹ (mg kg⁻¹) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	120
Durultulmamış	6651±134.07 Aa	6165±194.37 CDb
Doğal sedimantasyon	6238±92.01 Ba	6799±28.09 Ab
Jelatin	6051±164.99 Ba	5967±20.79 Da
Kitosan	6764±125.24 Aa	6632±156.98 Aba
Albümin	6512±102.19 Aa	6421±90.52 BCa
Kazein	6155±99.90 Ba	6122±201.04 Da
Ksantan gam	6532±18.07 Aa	6729±64.28 Aa

¹ Polifenol miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 31 10°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin polifenol miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Durultma	6	1415992	235999	16.10	0.000
Süre	1	34862	34862	2.38	0.145
Durultma x süre	6	428405	71401	4.87	0.007*
Hata	14	205193	14657		
Genel toplam	27	2084453			

* : p<0.05

Çizelge 32 Nar suyu konsantrelerinin 10°C’de 120 gün depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin polifenol miktarına¹ (mg kg⁻¹) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	120
Durultulmamış	6651±7.07 Aa	6824±94.23 Aa
Doğal sedimentasyon	6238±0.28 Ba	6779±74.33 Ab
Jelatin	6051±1.20 Ba	6010±147.03 Da
Kitosan	6764±1.77 Aa	6647±15.77 Aba
Albümin	6512±2.90 Aa	6358±158.47 Ca
Kazein	6155±1.06 Ba	6422±207.99 BCb
Ksantan gam	6532±0.92 Aa	6356±105.69 Ca

¹ Polifenol miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 33 20°C sıcaklıkta 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin polifenol miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	1728128	288021	22.61	0.000
Süre	1	192560	192560	15.12	0.002
Durultma x süre	6	837004	139501	10.95	0.000*
Hata	14	178309	12736		
Genel toplam	27	2936001			

* : p<0.05

Çizelge 34 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de 60 gün depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin polifenol miktarına¹ (mg kg⁻¹) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	6651±7.07 Aa	5681±51.42 Fb
Doğal sedimentasyon	6238±0.28 Ba	5972±168.33 Eb
Jelatin	6051±1.20 Ba	6043±38.35 DEa
Kitosan	6764±1.77 Aa	6767±222.44 Aa
Albümin	6512±2.90 Aa	6447±41.61 BCa
Kazein	6155±1.06 Ba	6265±19.35 CDa
Ksantan gam	6532±0.92 Aa	6568±64.37 Aba

¹ Polifenol miktarları, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 35 Nar suyu konsantrelerinin konsantrasyon işlemi sırasında polifenol miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	322810	53802	101.48	0.000
Örnek**	1	661894	661894	248.44	0.000
Durultma x örnek	6	103622	17270	32.57	0.000*
Hata	14	7423	530		
Genel toplam	27	1095749			

* : p<0.05

** : nar suyu veya nar suyu briksine getirilmiş başlangıç konsantresi

Çizelge 36 4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	4830719	805120	3.79	0.019*
Süre	1	417	417	0.00	0.965
Durultma x süre	6	396252	66042	0.31	0.921
Hata	14	2972055	212290		
Genel toplam	27	8199442			

* : p<0.05

Çizelge 37 Nar suyu konsantrelerinin 4°C'de 120 gün depolanması süresince durultma uygulamasının hidrolize olabilen tanen miktarına (mg kg⁻¹) etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Hidrolize olabilen tanen miktarı (mg kg ⁻¹)
Durultulmamış	6162±218 A
Doğal sedimentasyon	5058±91 B
Jelatin	4779±685 B
Kitosan	5370±45 AB
Albümin	4446±549 B
Kazein	4839±261 B
Ksantan gam	5184±549 AB

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

Çizelge 38 20°C sıcaklıkta 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	5116046	852674	3.00	0.042*
Süre	1	2074	2074	0.01	0.933
Durultma x süre	6	669464	111577	0.39	0.872
Hata	14	3980346	284310		
Genel toplam	27	9767930			

* : p<0.05

Çizelge 39 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de 60 gün depolanması süresince durultma uygulamasının hidrolize olabilen tanen miktarına (mg kg⁻¹) etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Hidrolize olabilen tanen miktarı (mg kg ⁻¹)
Durultulmamış	6000±540 A
Doğal sedimantasyon	5331±530 AB
Jelatin	4532±297 B
Kitosan	5373±549 AB
Albümin	4713±829 B
Kazein	4329±419 B
Ksantan gam	5386±617 AB

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

Çizelge 40 Nar suyu konsantrelerinin konsantrasyon işlemi sırasında hidrolize olabilen tanen miktarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	1227745	204624	21.99	0.000
Örnek**	1	6487732	6487732	697.18	0.000
Durultma x örnek	6	569481	94913	10.20	0.000*
Hata	14	130280	9306		
Genel toplam	27	8415238			

* : p<0.05

** : nar suyu veya nar suyu briksine getirilmiş başlangıç konsantresi

Çizelge 41 4°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin antioksidan aktivite düzeyindeki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	502.214	83.702	50.95	0.000
Süre	1	24.143	24.143	14.70	0.002
Durultma x süre	6	79.357	13.226	8.05	0.001*
Hata	14	23.000	1.643		
Genel toplam	27	628.714			

* : p<0.05

Çizelge 42 Nar suyu konsantrelerinin 4°C’de 120 gün depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin antioksidan aktivite düzeyine¹ (mM troloks kg⁻¹) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	120
Durultulmamış	120±1.79 Aa	115±1.81 ABb
Doğal sedimantasyon	113±0.03 Ba	112±0.05 Ca
Jelatin	102±1.49 Da	107±1.28 Db
Kitosan	113±0.94 Ba	116±0.92 ABb
Albümin	104±1.46 Da	109±0.11 Db
Kazein	109±1.25 Ca	111±2.25 Ca
Ksantan gam	109±1.02 Ca	113±1.70 BCb

¹ Antioksidan aktivite düzeyleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 43 10°C sıcaklıkta 120 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin antioksidan aktivite düzeyindeki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Durultma	6	594.429	99.071	42.68	0.000
Süre	1	15.750	15.750	6.78	0.021
Durultma x süre	6	62.000	10.333	4.45	0.010*
Hata	14	32.500	2.321		
Genel toplam	27	704.679			

* : p<0.05

Çizelge 44 Nar suyu konsantrelerinin 10°C’de 120 gün depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin antioksidan aktivite düzeyine¹ (mM troloks kg⁻¹) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	120
Durultulmamış	120±1.79 Aa	120±0.12 Aa
Doğal sedimantasyon	113±0.03 Ba	110±0.26 BCa
Jelatin	102±1.49 Da	108±2.85 Cb
Kitosan	113±0.94 Ba	112±0.48 Ba
Albümin	104±1.46 Da	107±1.24 Ca
Kazein	109±1.25 Ca	113±3.77 Ba
Ksantan gam	109±1.02 Ca	110±1.45 BCa

¹ Antioksidan aktivite düzeyleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çizelge 45 20°C sıcaklıkta 60 gün depolanan nar suyu konsantrelerinin antioksidan aktivite düzeyindeki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler Ortalaması	F	P
Durultma	6	514.857	85.810	49.03	0.000
Süre	1	18.893	18.893	10.80	0.005
Durultma x süre	6	75.857	12.643	7.22	0.001*
Hata	14	24.500	1.750		
Genel toplam	27	634.107			

* : p<0.05

Çizelge 46 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de 60 gün depolanması süresince durultma uygulamasının ve depolama süresinin antioksidan aktivite düzeyine¹ (mM troloks kg⁻¹) birlikte etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma yöntemi	Süre (gün)	
	0	60
Durultulmamış	120±1.79 Aa	118±1.51 Aa
Doğal sedimantasyon	113±0.03 Ba	113±1.36 Ba
Jelatin	102±1.49 Da	108±1.56 Cb
Kitosan	113±0.94 Ba	112±0.21 Ba
Albümin	104±1.46 Da	109±2.18 Cb
Kazein	109±1.25 Ca	108±1.33 Cb
Ksantan gam	109±1.02 Ca	113±1.07 Bb

¹ Antioksidan aktivite düzeyleri, aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

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

a–b: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

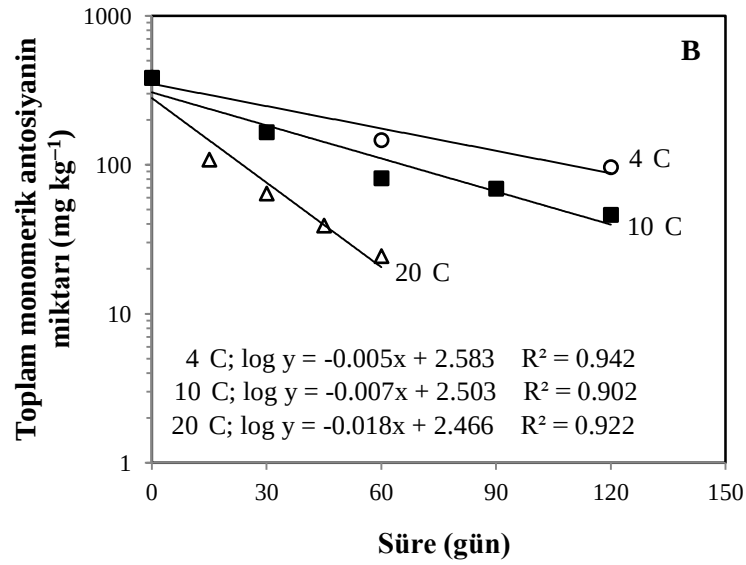
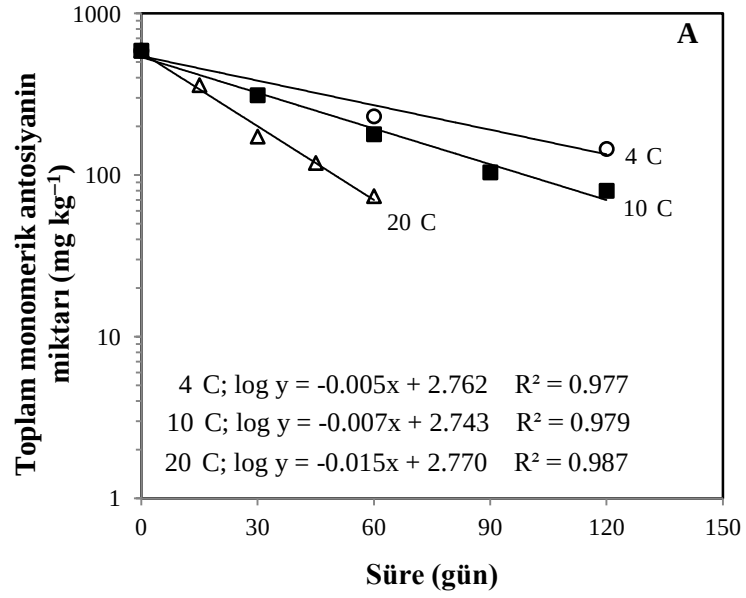
Çizelge 47 Nar suyu konsantrelerinin konsantrasyon işlemi sırasında antioksidan aktivite düzeyindeki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

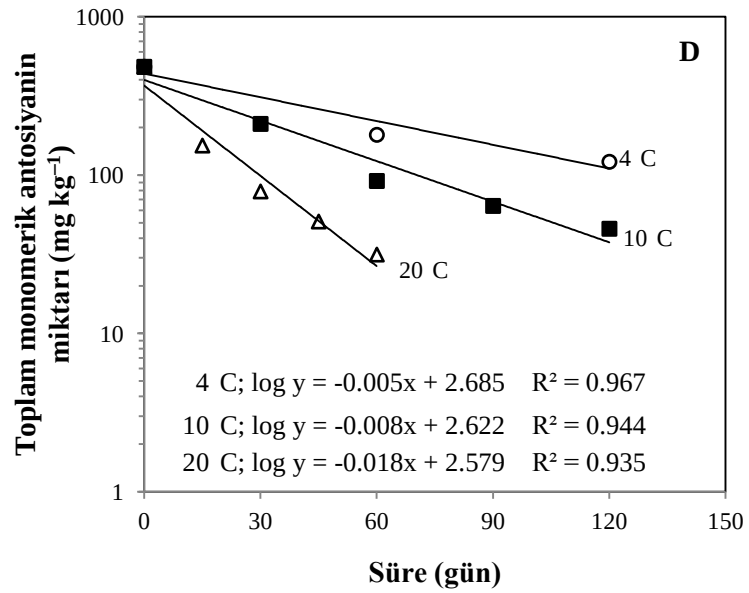
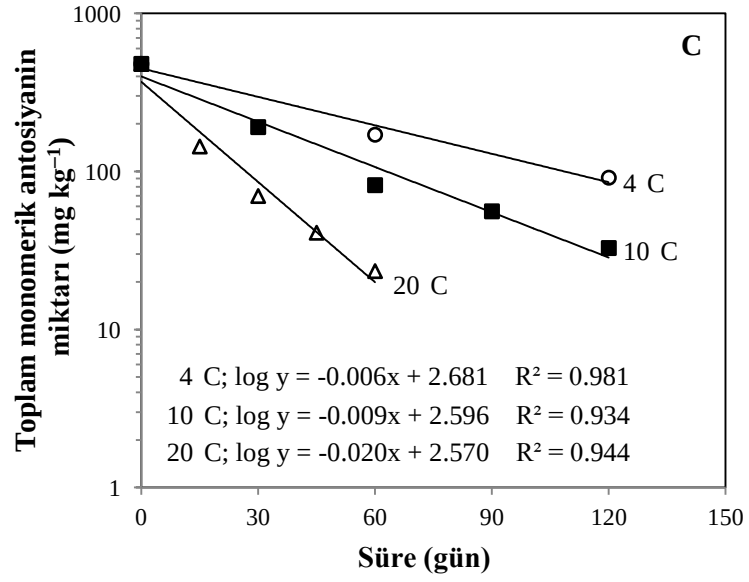
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	6	119.662	19.944	231.30	0.000
Örnek**	1	2.599	2.599	30.14	0.000
Durultma x örnek	6	32.554	5.426	62.92	0.000*
Hata	14	1.207	0.086		
Genel toplam	27	156.022			

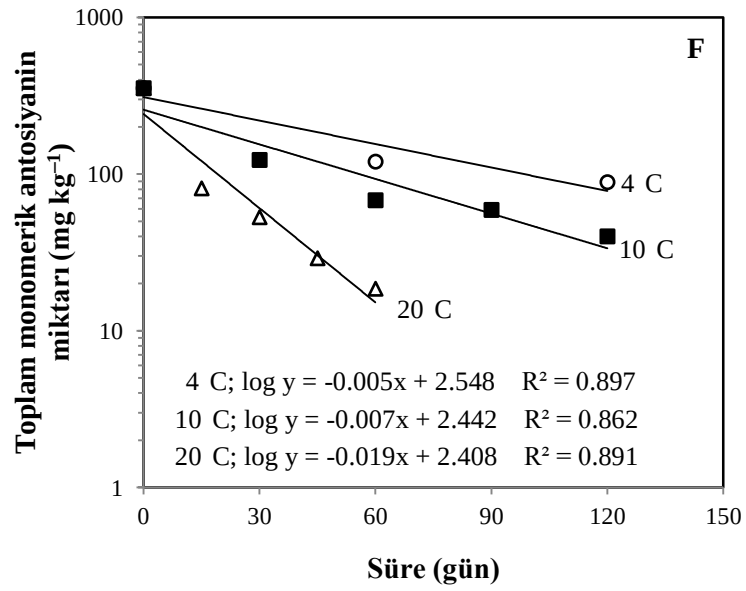
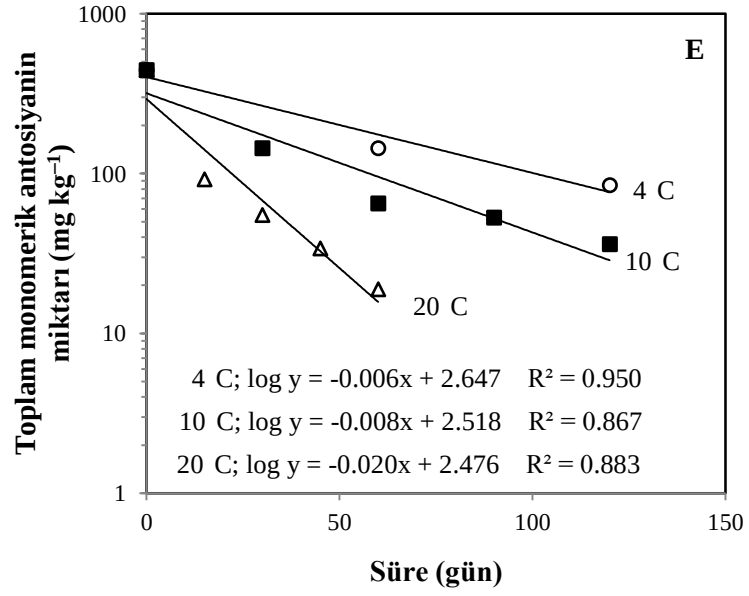
* : $p < 0.05$

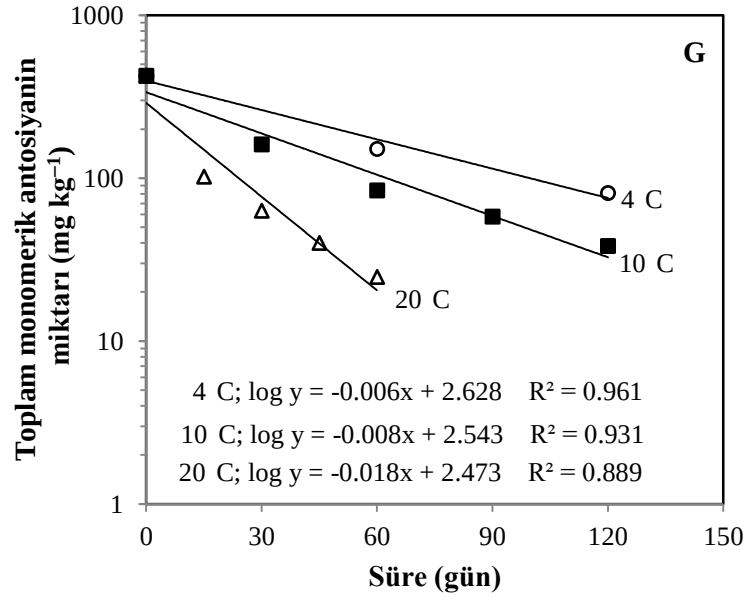
** : nar suyu veya nar suyu briksine getirilmiş başlangıç konsantresi

EK 2 Farklı Depolama Sıcaklıklarında, Nar Suyu Konsantrelerinin Antosiyanin Miktarlarındaki Azalmaya İlişkin Grafikler



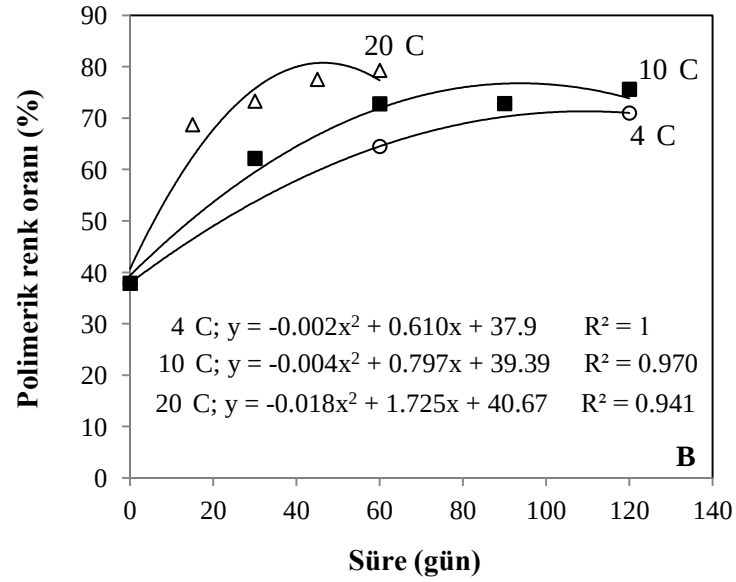
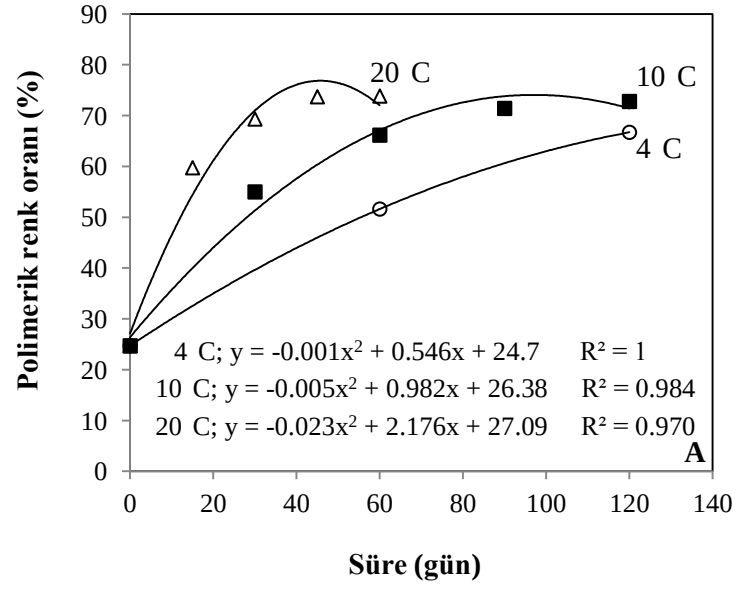


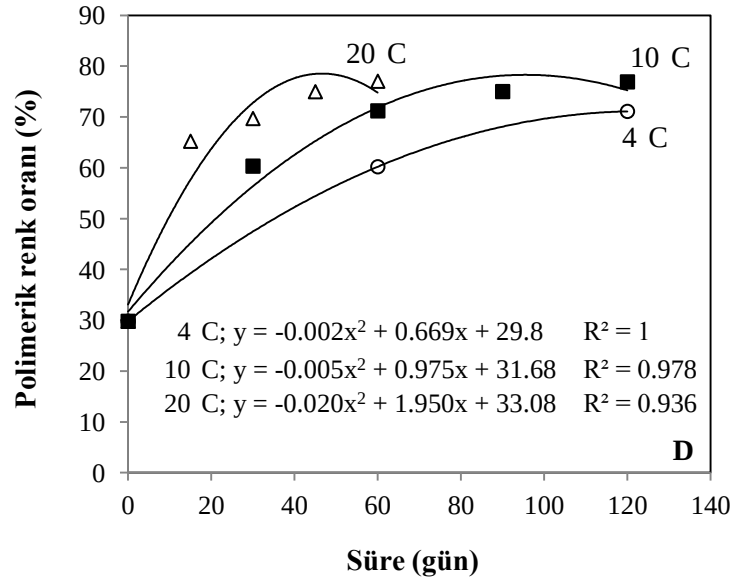
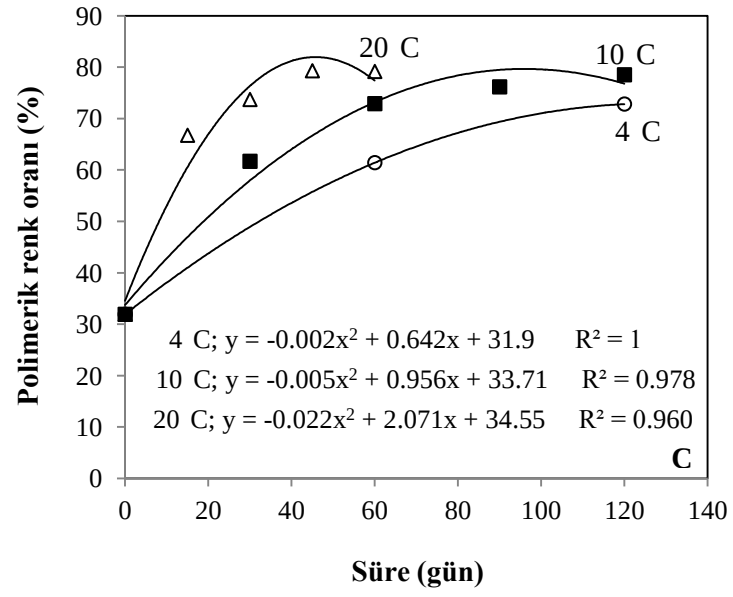


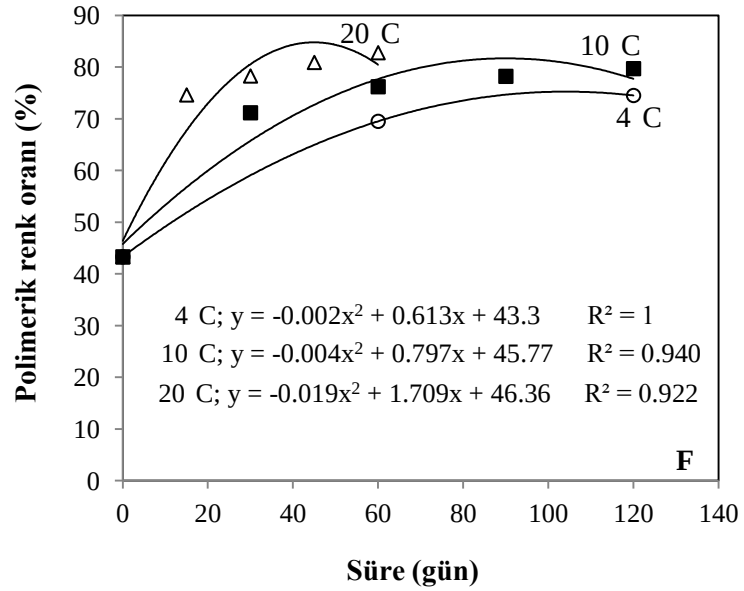
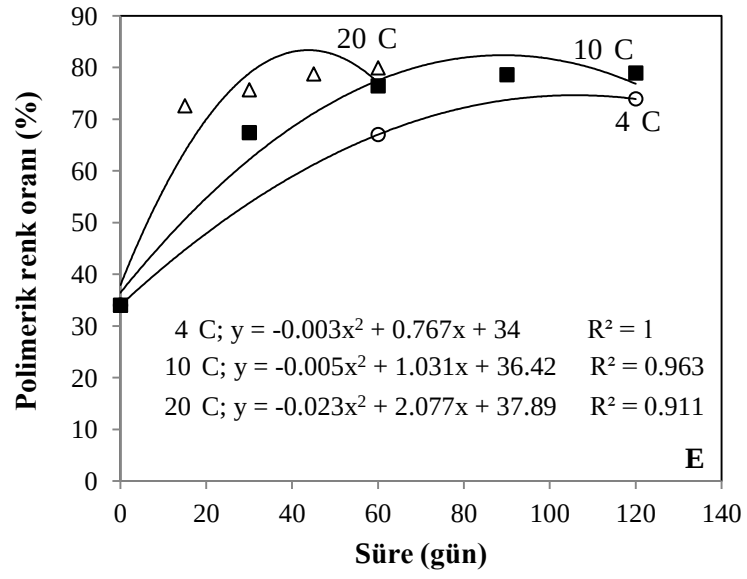


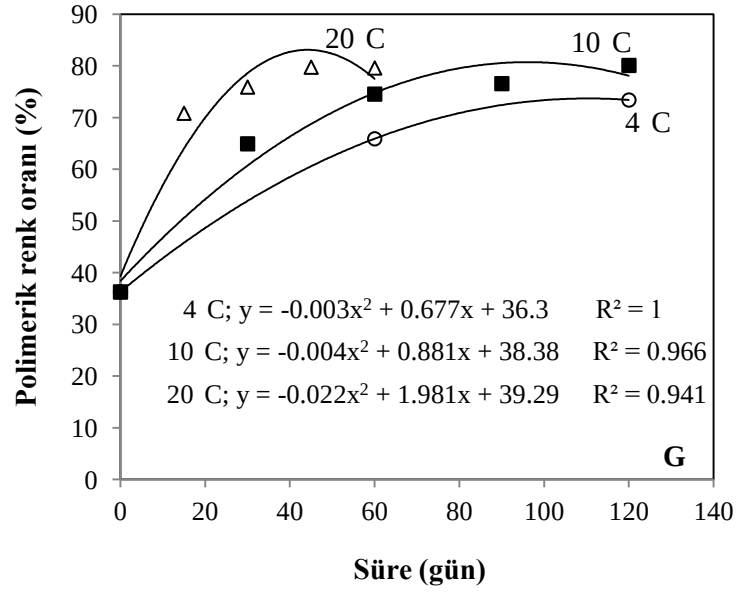
Şekil 1 Nar suyu konsantresi örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam monomerik antosiyanin miktarındaki azalmalar
A: Durultulmamış, **B:** Doğal sedimantasyon, **C:** Jelatin, **D:** Kitosan, **E:** Albümin, **F:** Kazein, **G:** Ksantan gam

EK 3 Farklı Depolama Sıcaklıklarında, Nar Suyu Konsantrelerinin Polimerik Renk Oranlarındaki Artışa İlişkin Grafikler









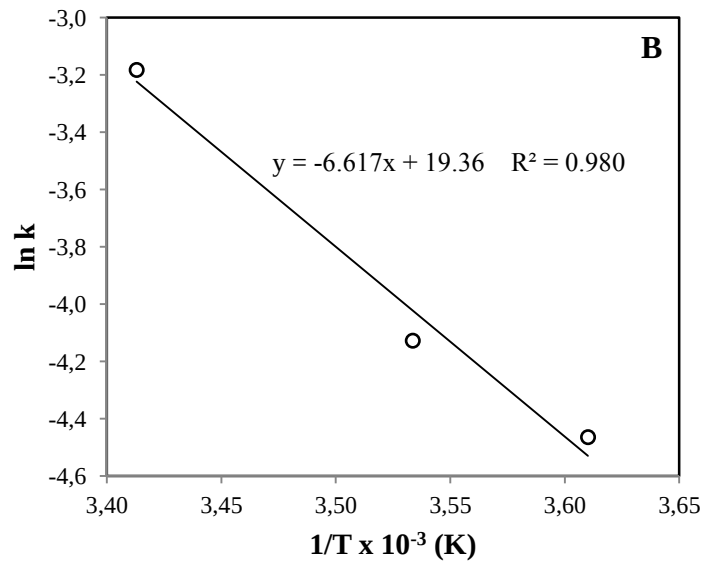
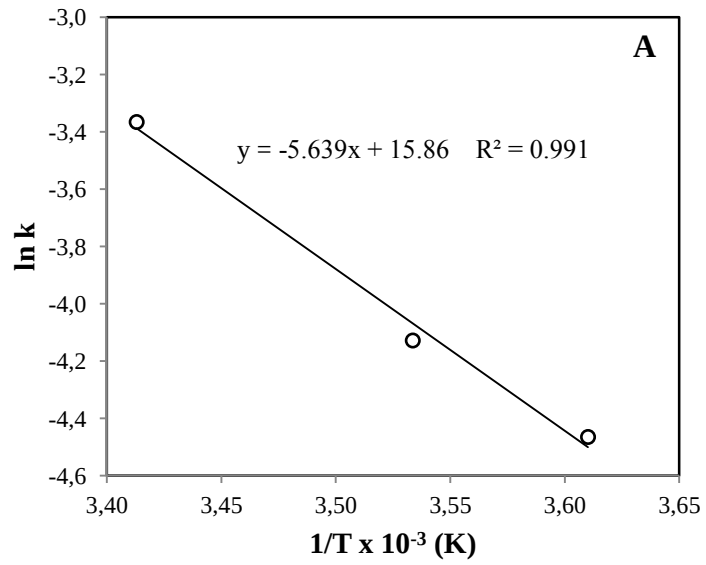
Şekil 1 Nar suyu konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki artışlar
A: Durultulmamış, **B:** Doğal sedimantasyon, **C:** Jelatin, **D:** Kitosan, **E:** Albümin, **F:** Kazein, **G:** Ksantan gam

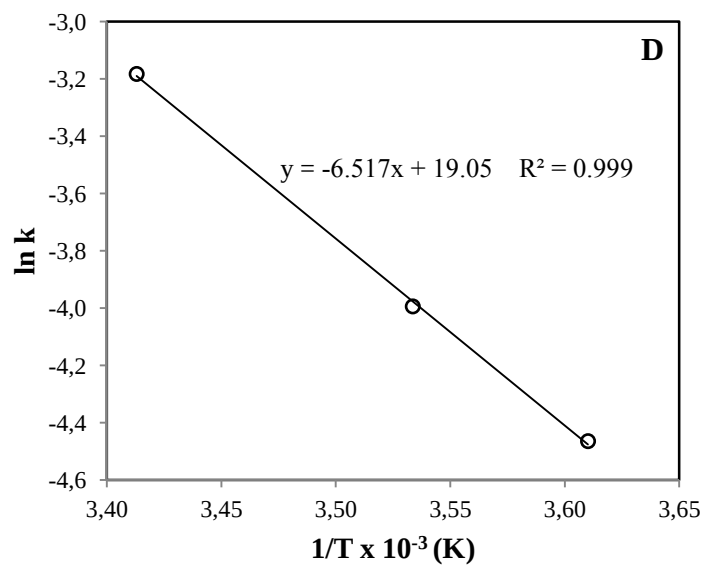
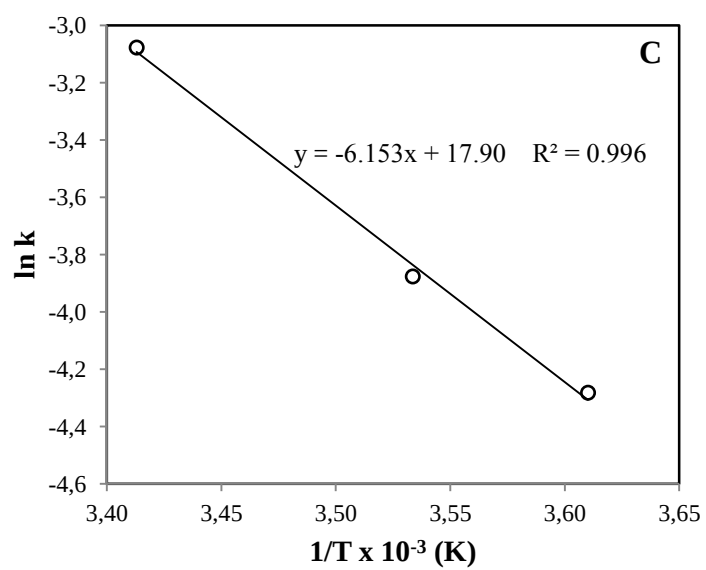
EK 4 Arrhenius Grafikleri İçin Gerekli Veriler

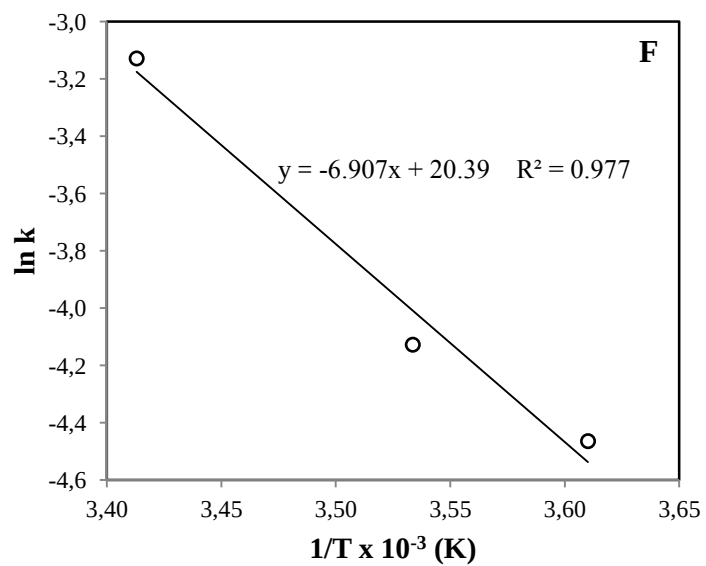
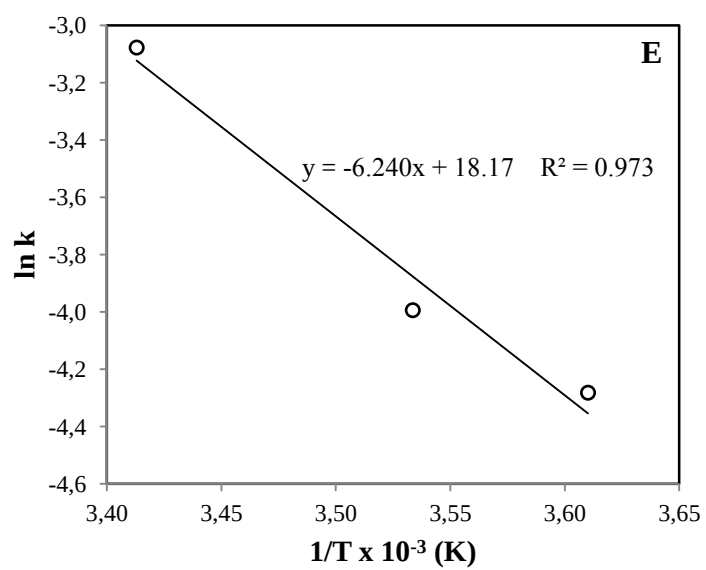
Çizelge 1 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki değişime ilişkin Arrhenius grafiği için gerekli veriler

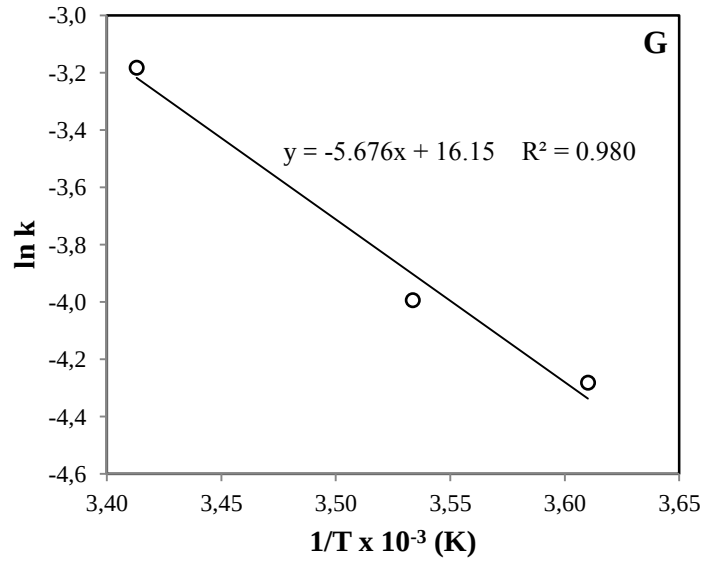
Durultma uygulaması	Sıcaklık		$1/T \times 10^{-3}$ (K)	K (gün ⁻¹)	-lnk
	(°C)	(K)			
Durultulmamış	4	277	3.61	0.0115 (0.977)	4.464
	10	283	3.53	0.0161 (0.979)	4.128
	20	293	3.41	0.0345 (0.987)	3.365
Doğal sedimantasyon	4	277	3.61	0.0115 (0.942)	4.464
	10	283	3.53	0.0161 (0.902)	4.128
	20	293	3.41	0.0415 (0.922)	3.183
Jelatin	4	277	3.61	0.0138 (0.981)	4.282
	10	283	3.53	0.0207 (0.934)	3.876
	20	293	3.41	0.0461 (0.944)	3.078
Kitosan	4	277	3.61	0.0115 (0.967)	4.464
	10	283	3.53	0.0184 (0.944)	3.994
	20	293	3.41	0.0415 (0.935)	3.183
Albümin	4	277	3.61	0.0138 (0.950)	4.282
	10	283	3.53	0.0184 (0.867)	3.994
	20	293	3.41	0.0461 (0.883)	3.078
Kazein	4	277	3.61	0.0115 (0.897)	4.464
	10	283	3.53	0.0161 (0.862)	4.128
	20	293	3.41	0.0438 (0.891)	3.129
Ksantan gam	4	277	3.61	0.0138 (0.961)	4.282
	10	283	3.53	0.0184 (0.931)	3.994
	20	293	3.41	0.0415 (0.889)	3.183

EK 5 Arrhenius Grafikleri



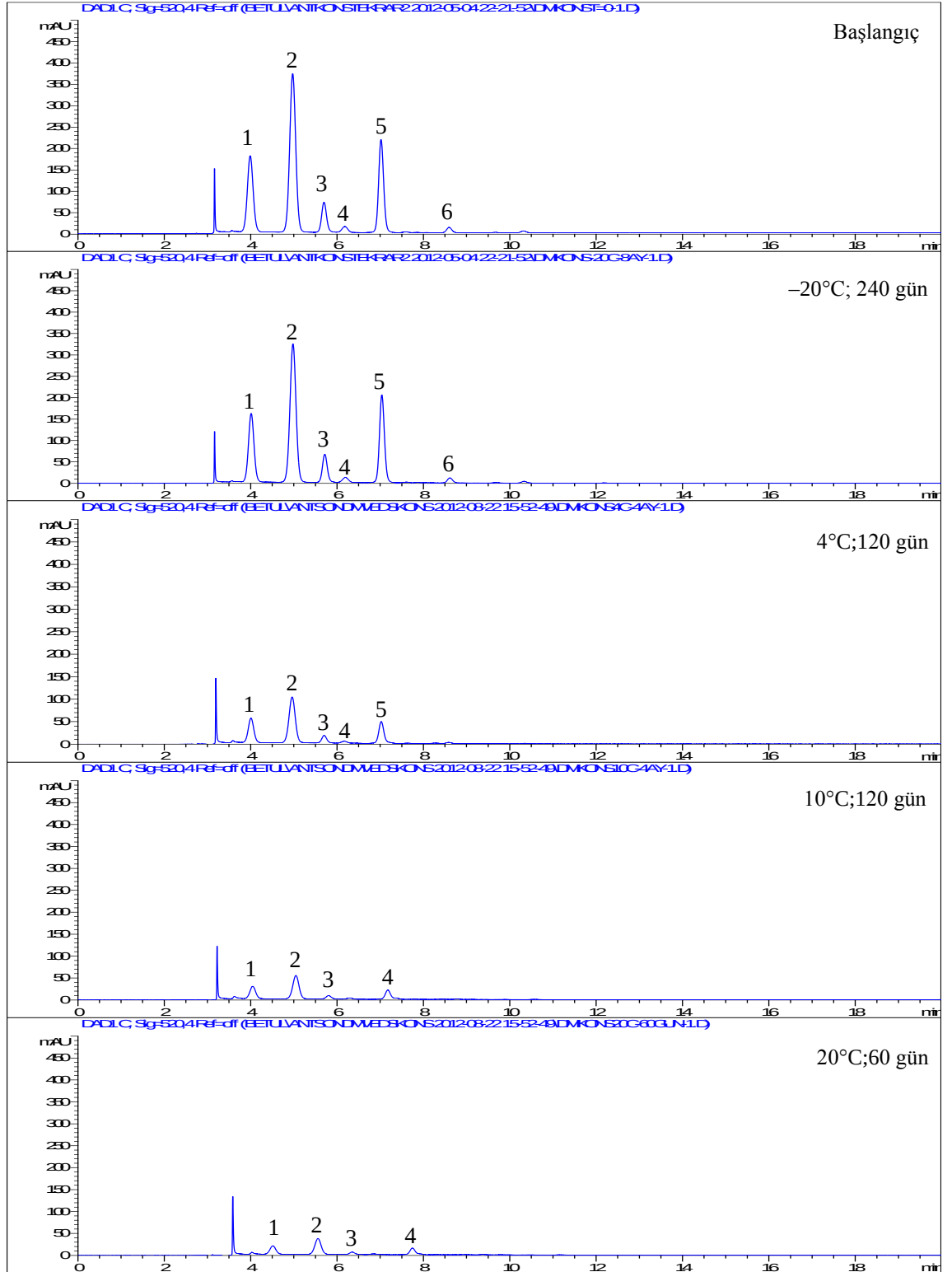




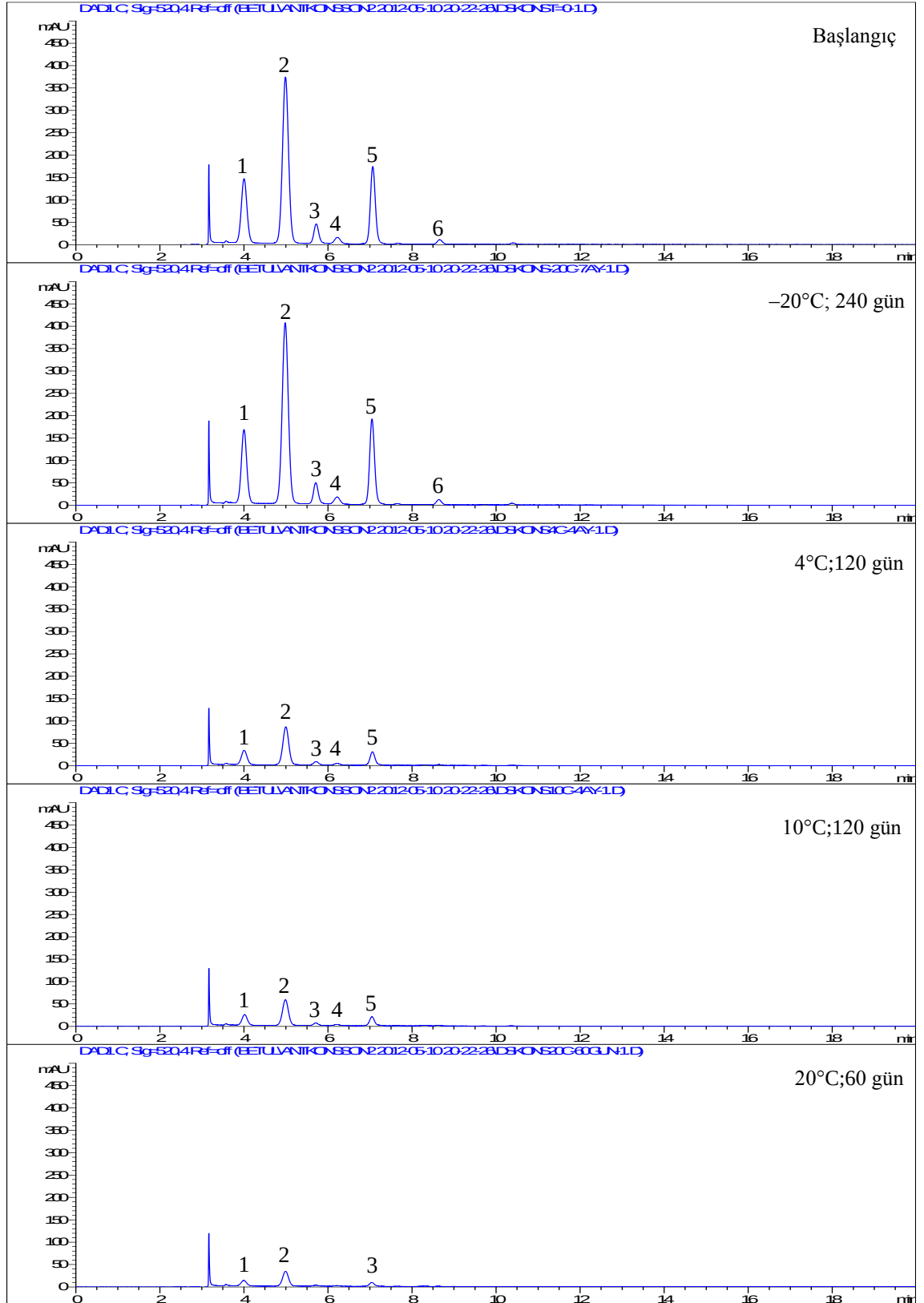


Şekil 1 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin Arrhenius grafiği
A: Durultulmamış, **B:** Doğal sedimantasyon, **C:** Jelatin, **D:** Kitosan, **E:** Albümin, **F:** Kazein, **G:** Ksantan gam

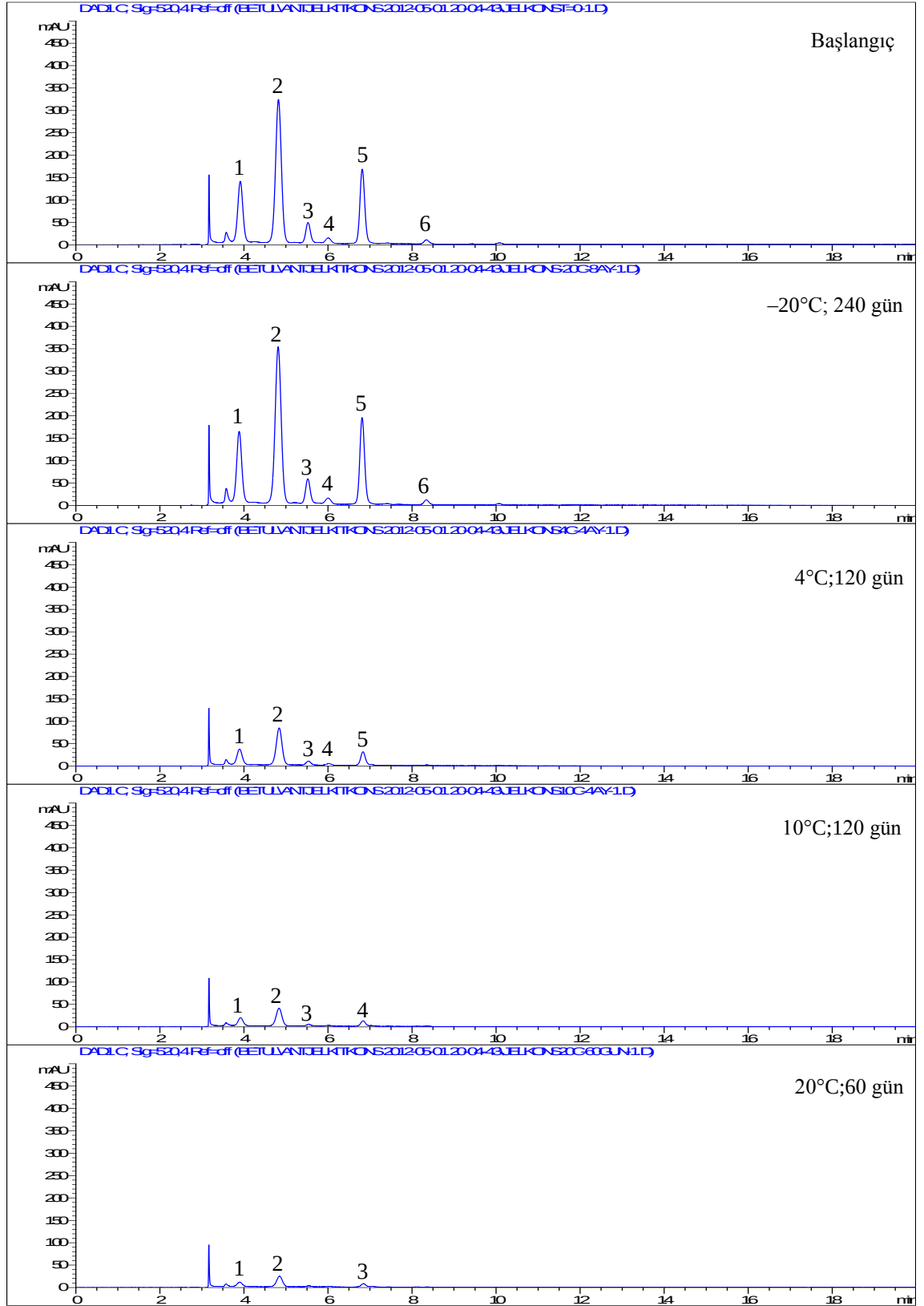
EK 6 Nar Suyu Konsantrelerinde Antosiyaninlere Ait HPLC Kromatogramları



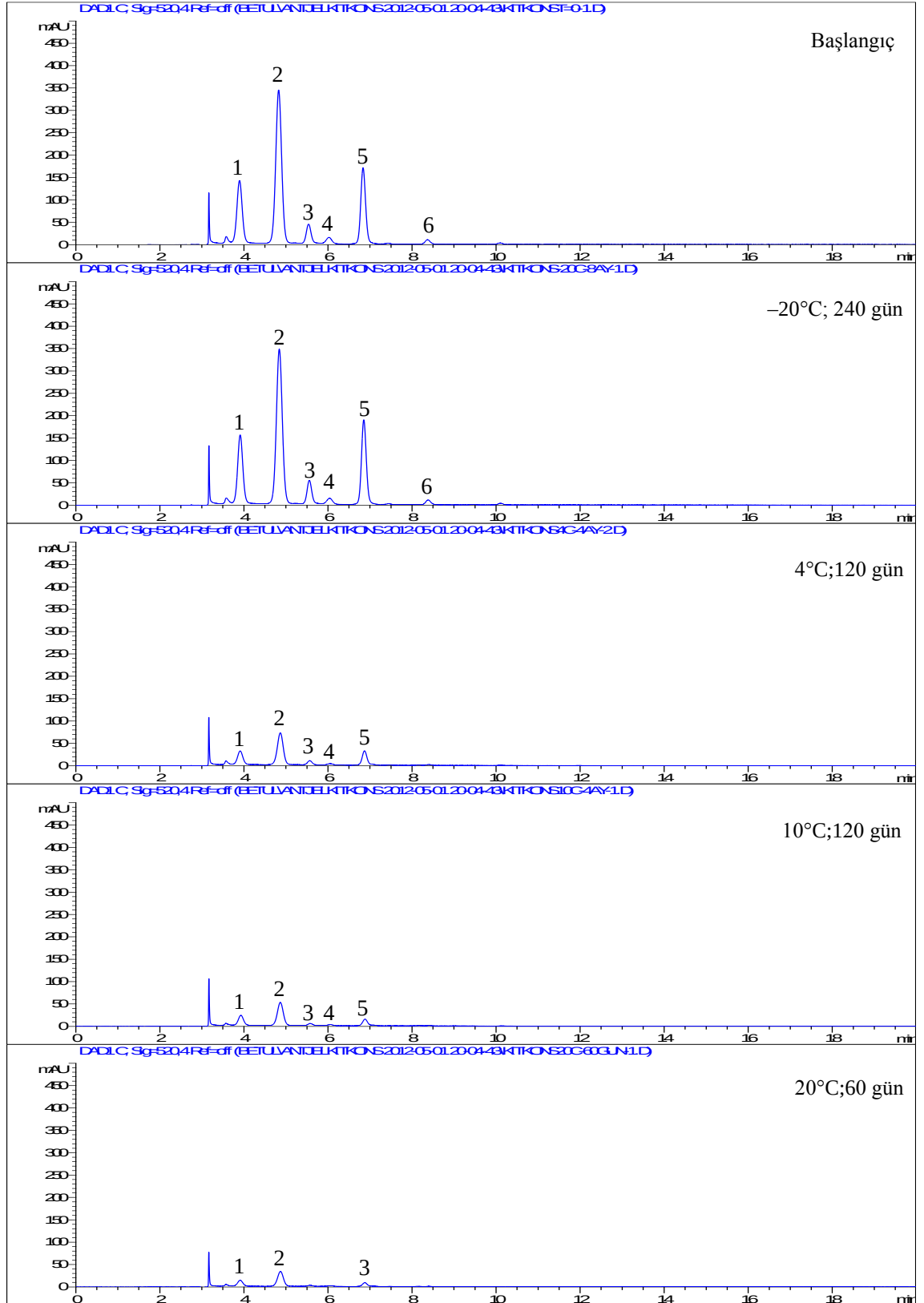
Şekil 1 Durultulmamış nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları



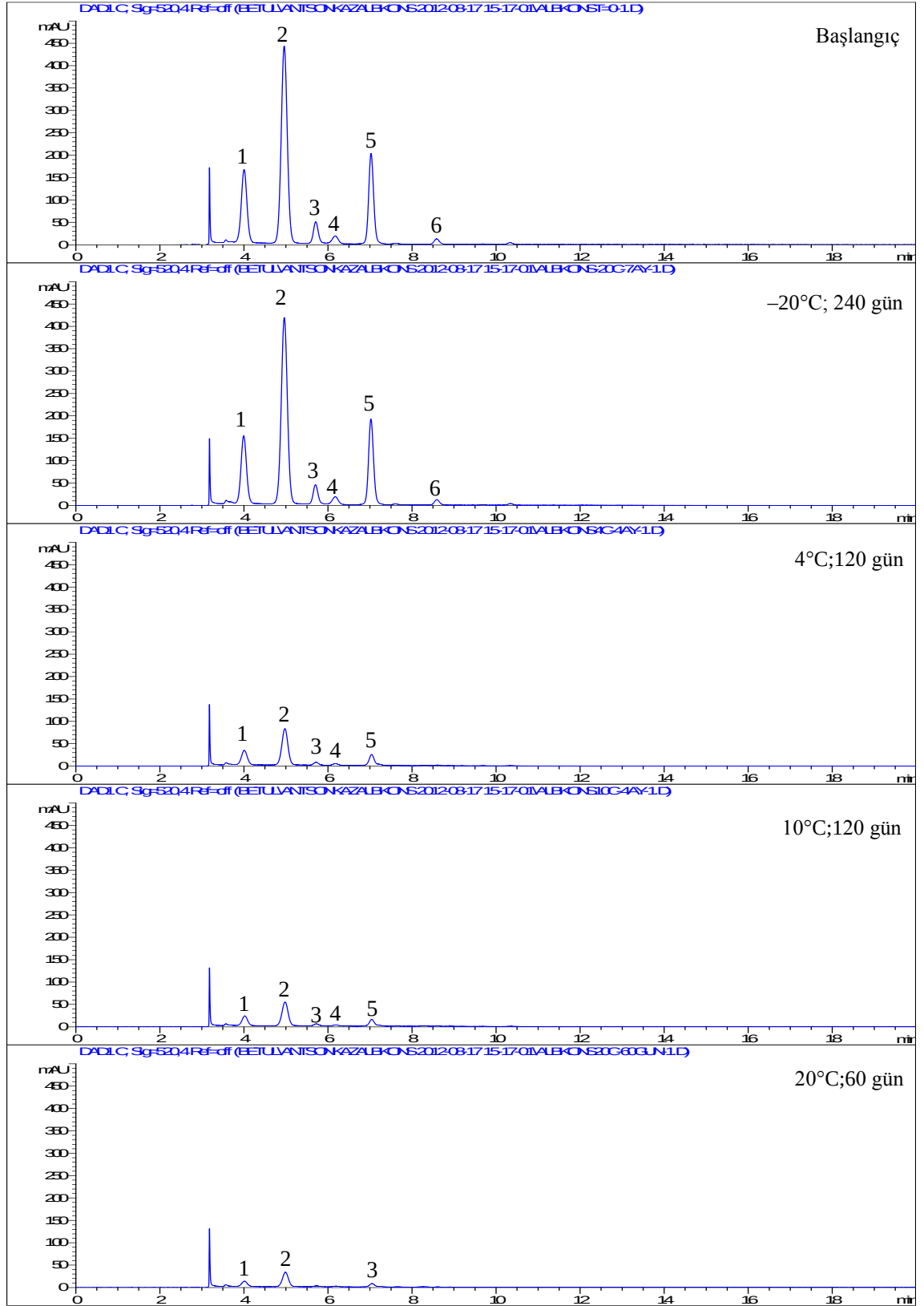
Şekil 2 Doğal sedimantasyon uygulanan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları



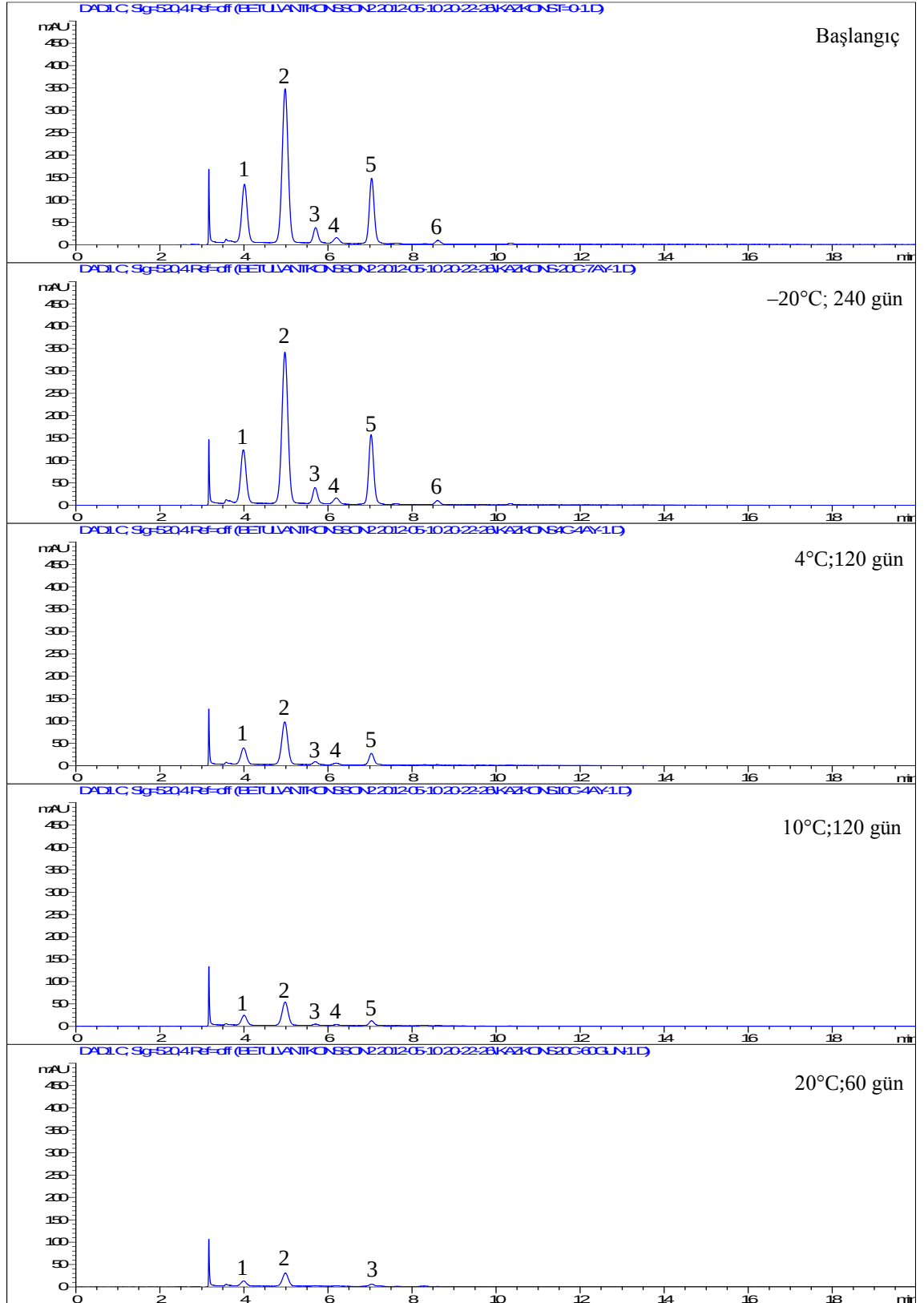
Şekil 3 Jelatinle durultulmuş nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları



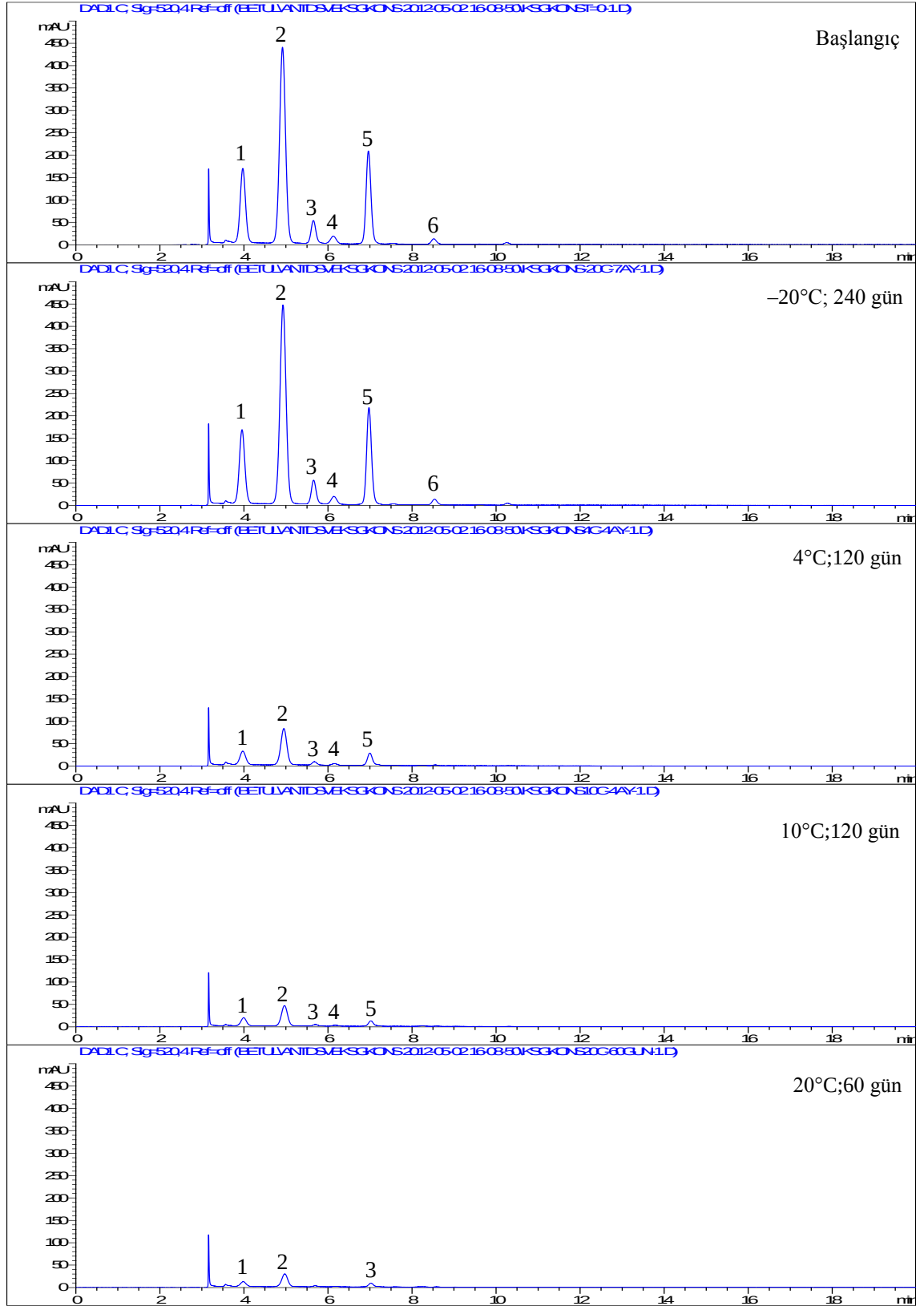
Şekil 4 Kitosarla durultulmuş nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları



Şekil 5 Albüminle durutulmuş nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları

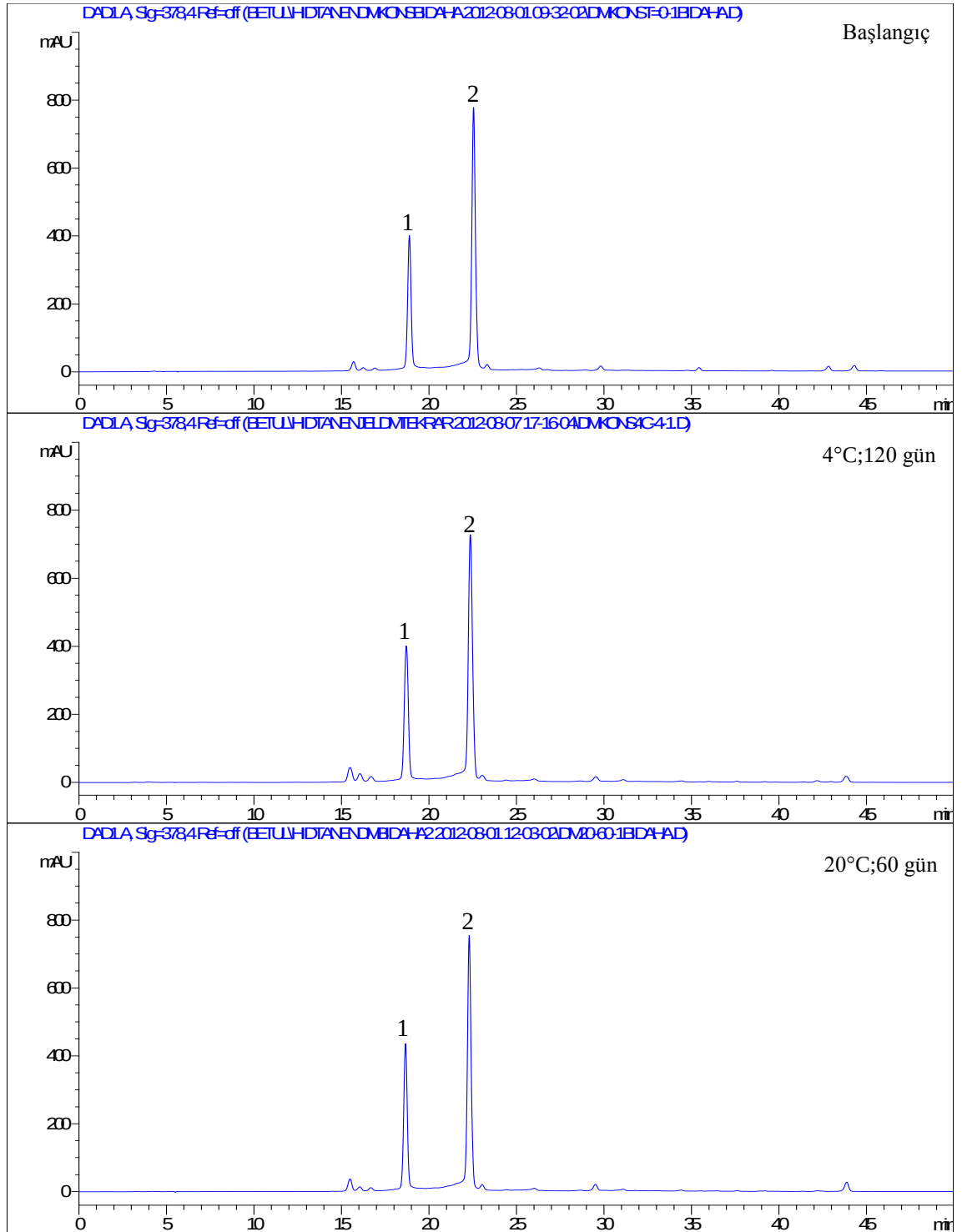


Şekil 6 Kazeinle durultulmuş nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları

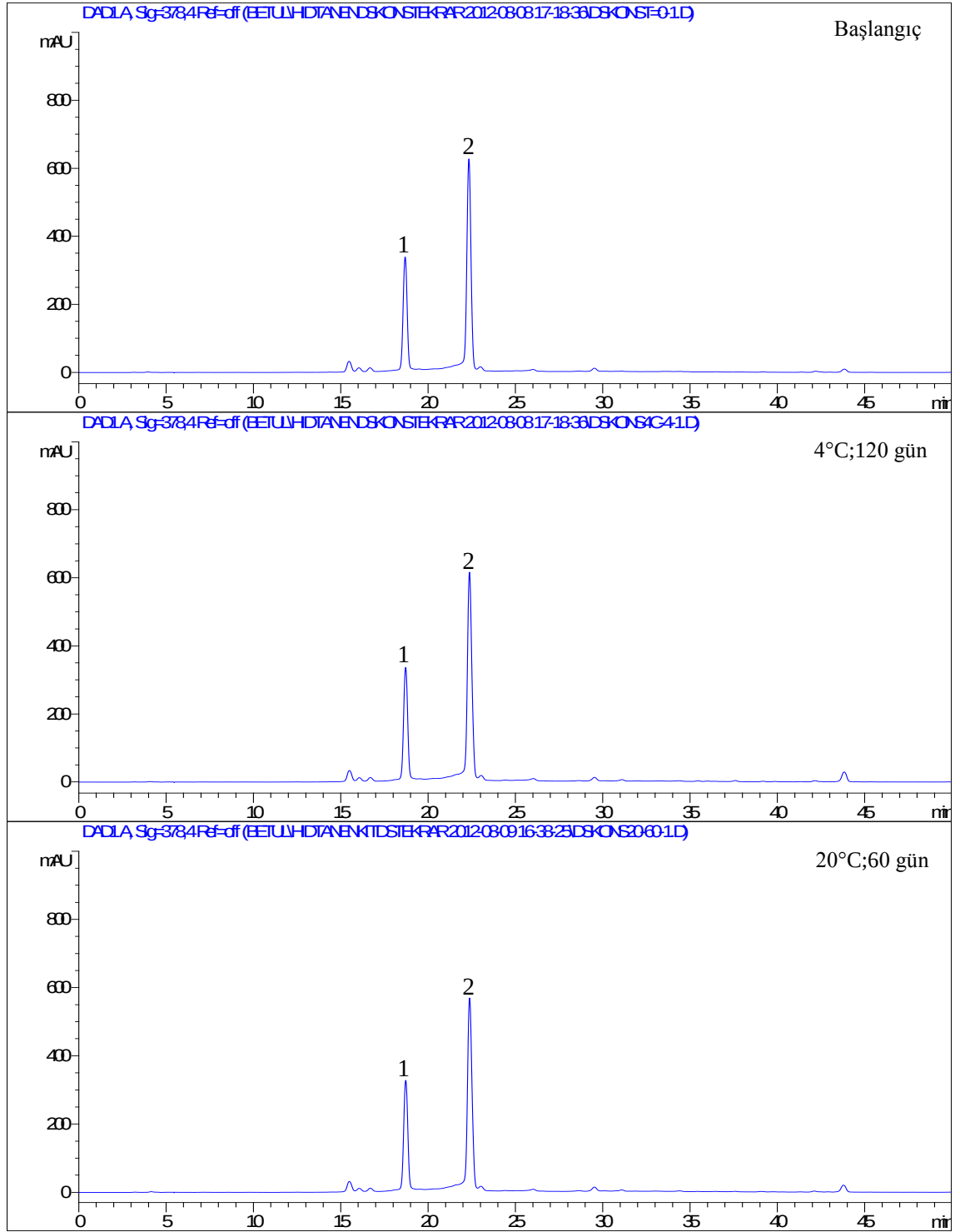


Şekil 7 Ksantan gamla durultulmuş nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde antosiyaninlere ait HPLC kromatogramları

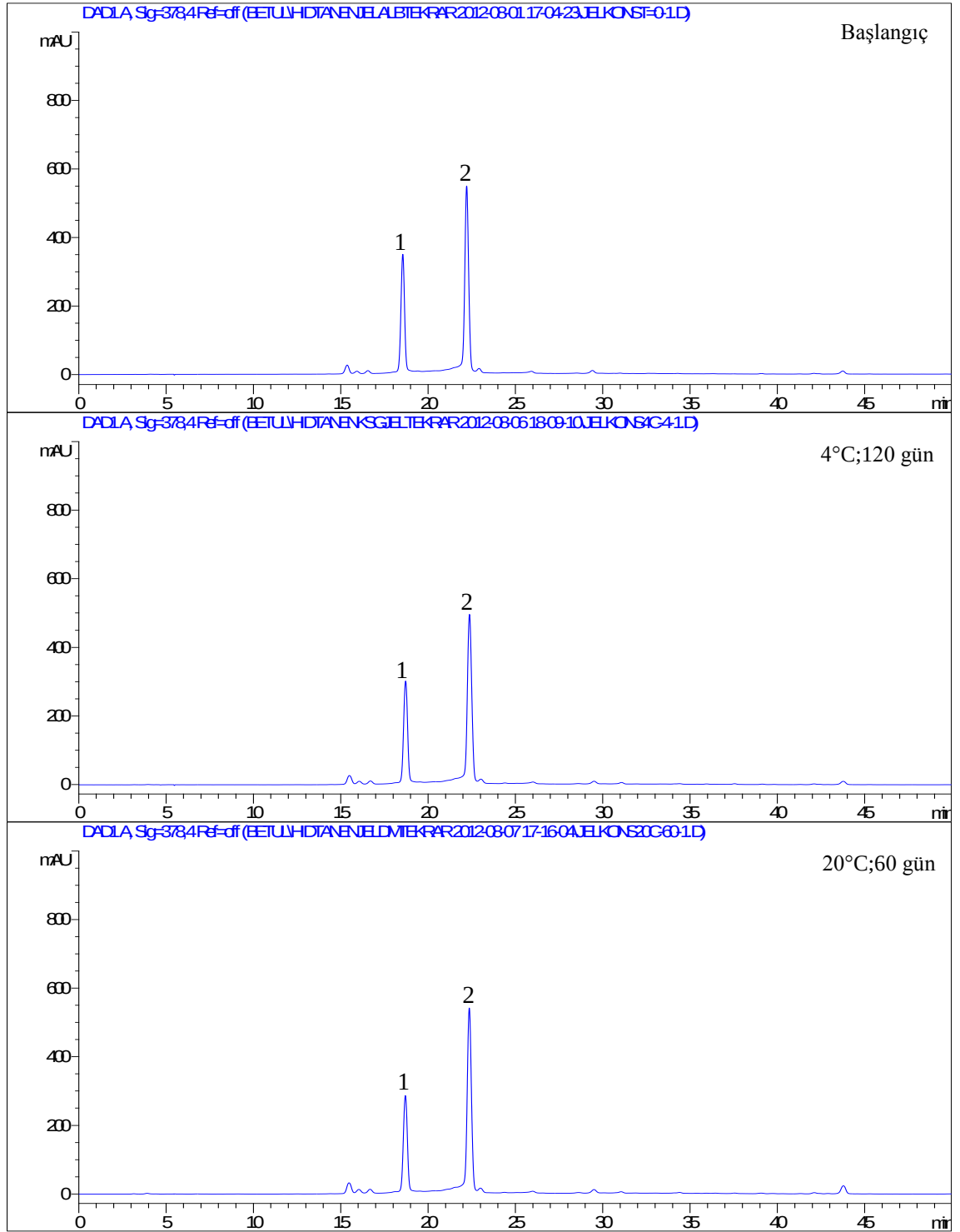
EK 7 Nar Suyu Konsantrelerinde Hidrolize Olabilen Tanenlere Ait HPLC Kromatogramları



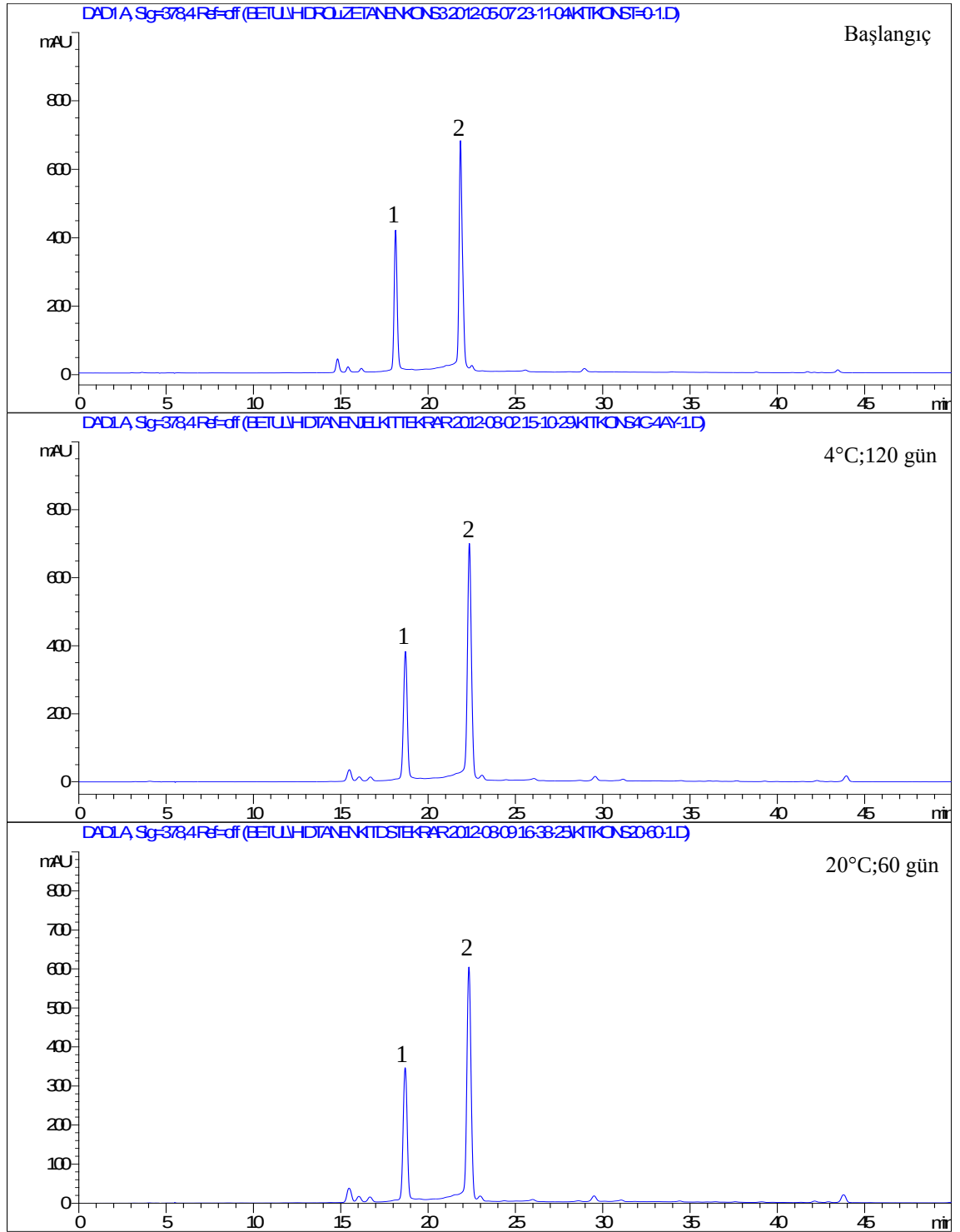
Şekil 1 Durultulmamış nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları



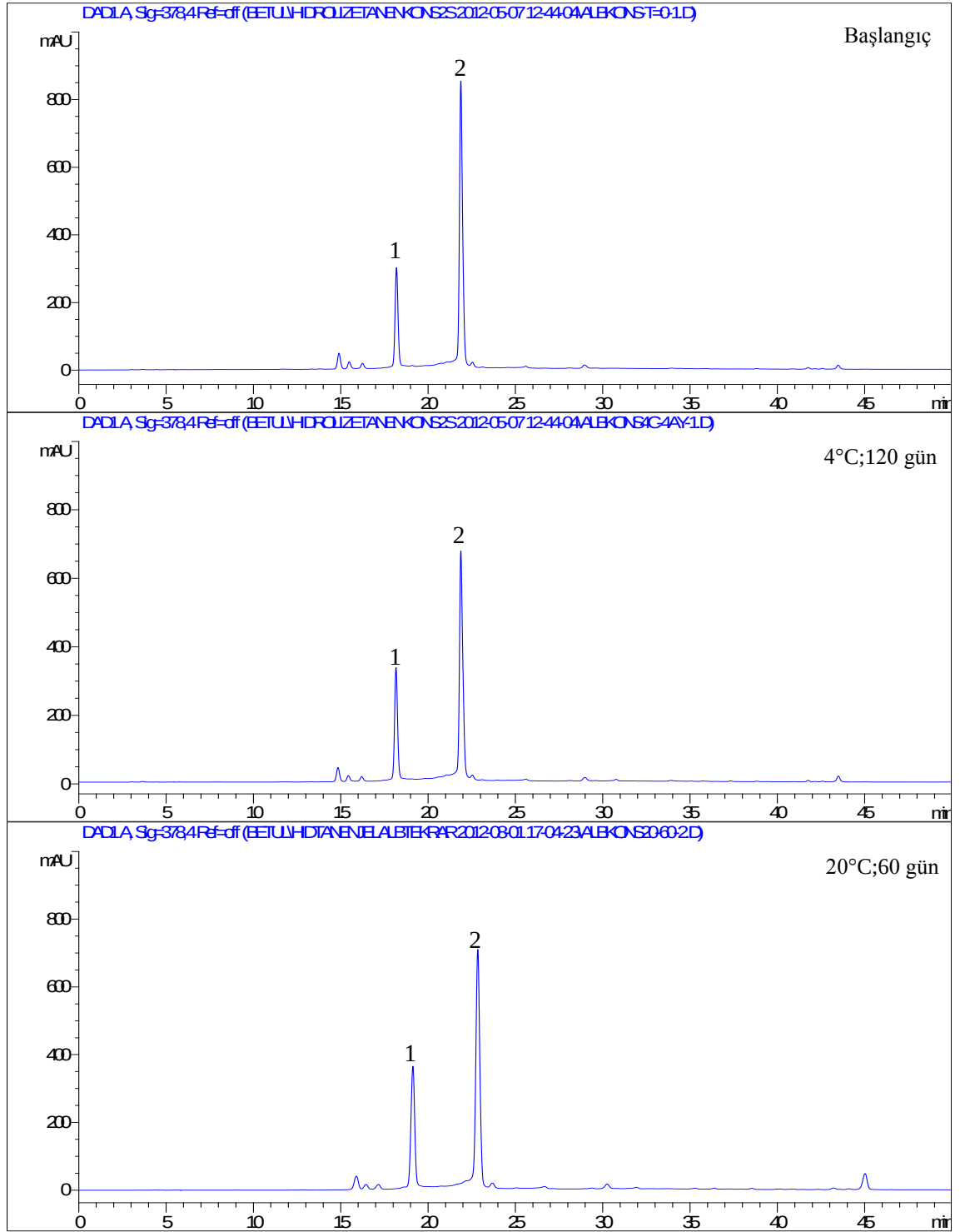
Şekil 2 Doğal sedimantasyon uygulanan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları



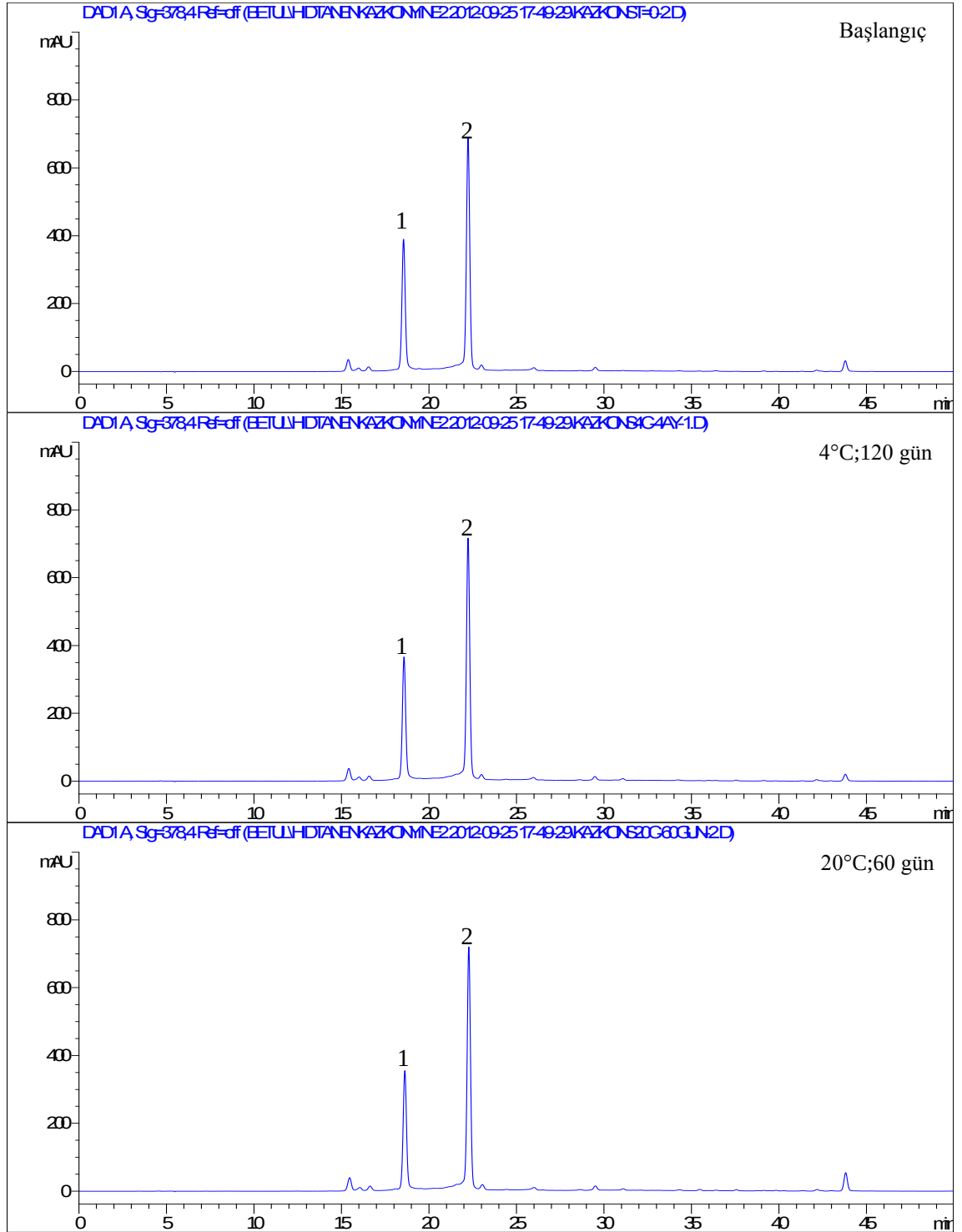
Şekil 3 Jelatinle durultulan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları



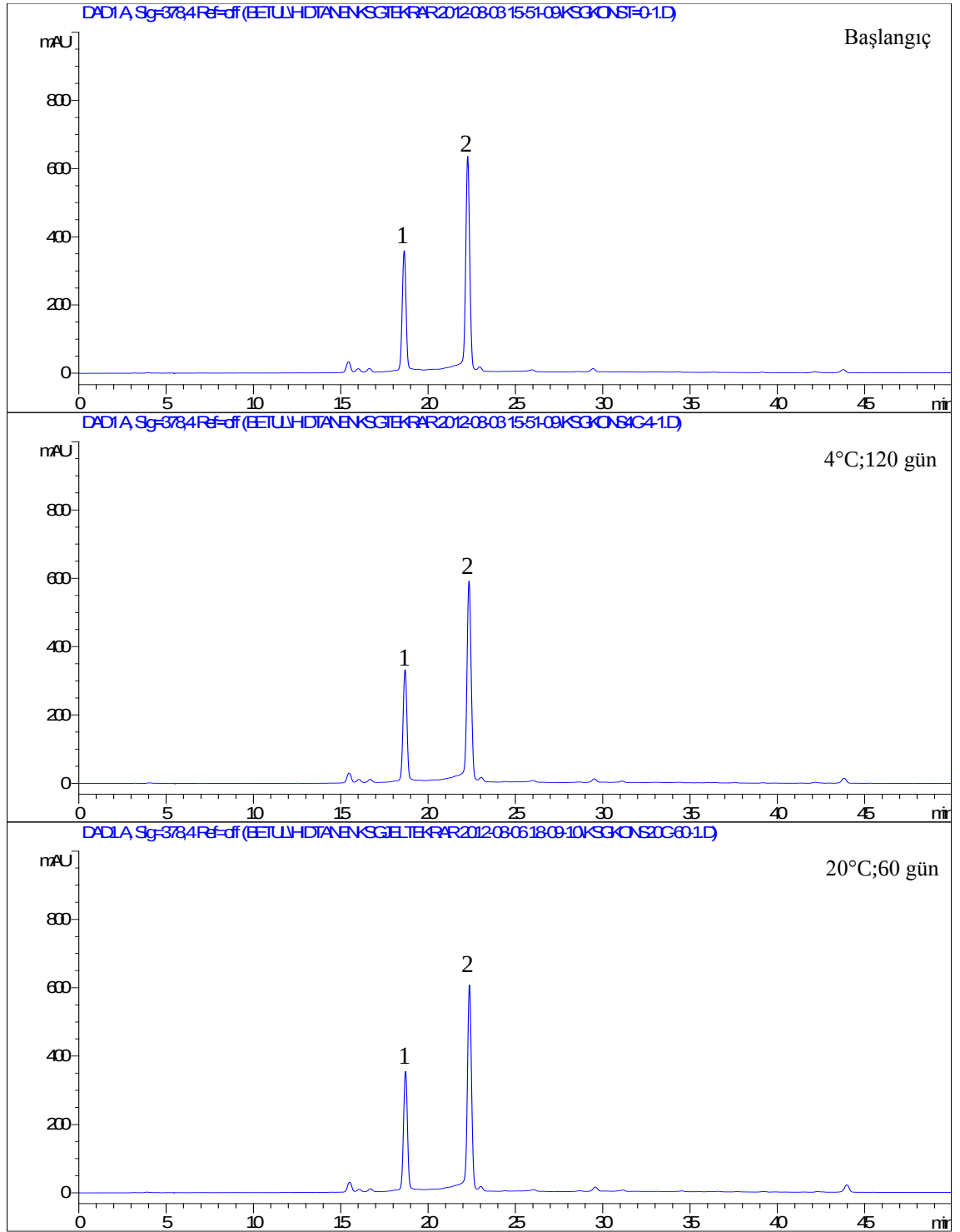
Şekil 4 Kitosanla durultulan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları



Şekil 5 Albüminle durultulan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları



Şekil 6 Kazeinle durultulan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları



Şekil 7 Ksantan gamla durultulan nar sularından elde edilen farklı sıcaklıklarda depolanan konsantre örneklerinde hidrolize olabilen tanenlere ait HPLC kromatogramları

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Betül ERKAN KOÇ

Doğum Yeri : Gaziantep

Doğum Tarihi : 1985

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu:

Lise : Gaziantep Kolej Vakfı Özel Okulları (Y.D.A.) (2000-2004)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
(2004–2009)

Birleştirilmiş Doktora : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı (2009–2013)

Çalıştığı Kurumlar:

Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara (2012–...)

Yayınları:

- ✓ **Erkan Koç, B.**, Türkyılmaz, M., Apaydın, E., Turfan, Ö., Yemiş, O. and Özkan, M. Comparison of various characteristics of pomegranate juices produced from whole fruits and arils. 16th IFU Congress, Bridging juice with science, health and technology, May 2–8, 2010, İstanbul (**Mehmet Özkan** tarafından **sözlü** olarak sunulmuştur).
- ✓ Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., **Erkan Koç, B.** and Özkan M. Stability of pomegranate anthocyanins during processing and storage. 6th International Congress on Pigments in Foods, J Deli (ed.), p. 52–55, June 20–24, 2010, Budapest, Hungary (**Mehmet Özkan** tarafından **sözlü** olarak sunulmuştur).
- ✓ **Erkan Koç, B.** and Özkan, M. Applications of chitosan in foods. Türkiye 1. Uluslar arası Gıda Kongresi, s. 325, 03–06 Kasım 2010, Antalya (**Betül Erkan Koç** tarafından **poster** olarak sunulmuştur).
- ✓ **Erkan Koç, B.** and Özkan, M. Effects of two different clarification treatments on chemical composition of pomegranate juice. International Food Congress, Novel Approaches in Food Industry, p. 941, May 26–29, 2011, Çeşme, İzmir (**Betül Erkan Koç** tarafından **poster** olarak sunulmuştur).
- ✓ **Erkan Koç, B.** and Özkan M. 2011. Gıda endüstrisinde kitosanın kullanımı. Gıda, 36, 161–168.
- ✓ **Erkan Koç, B.** and Özkan, M. 2012. Siyah havuç suyu konsantresinin akide şekerlerinde renklendirici olarak kullanılması ve monomerik antosiyaninlerin depolama stabilitesinin belirlenmesi. Akademik Gıda, 10, 30–39.
- ✓ Coşkun, A.L., Türkyılmaz, M., Turfan Aksu, Ö., **Erkan Koç, B.**, Yemiş, O. and Özkan, M. 2013. Effects of various sulphuring methods and storage temperatures on the physical and chemical quality of dried apricots. Food Chemistry, 141, 3670–3680.