

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR SUYU KONSANTRESİ ÜRETİM AŞAMALARINDA
PROSİYANİDİNLERDEKİ DEĞİŞİMLER**

Nihal GÜZEL

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2010**

Her hakkı saklıdır ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NAR SUYU KONSANTRESİ ÜRETİM AŞAMALARINDA PROSİYANİDİNLERDEKİ DEĞİŞİMLER

Nihal GÜZEL

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

Bu çalışmada, durultma, pastörizasyon ve konsantrasyon işlemlerinin nar suyunun prosiyanidin içeriği üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca, nar suyu konsantrelerinin üretim aşamaları sırasında antioksidan aktivite ve prosiyanidin içeriğindeki değişimler de gözlenmiştir. Prosiyanidinler, Sephadex LH-20 kolon kromatografisi tekniği ile saflaştırıldıktan sonra HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. Nar sularının toplam prosiyanidin içerikleri üç temel prosiyanidin piki üzerinden gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite, ABTS yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar “TEAC (troloks eşdeğer antioksidan kapasite) eşdeğeri” olarak verilmiştir. Kondense olabilen fenolik ve toplam fenolik bileşik içeriği ise, spektrofotometrik olarak ölçülmüş, sonuçlar sırası ile “kateşin eşdeğeri” ve “gallik asit eşdeğeri” olarak ifade edilmiştir.

Narlar, meyve suyuna iki farklı yöntemle işlenmiştir. Birinci yöntemde, nar daneleri laboratuvar koşullarında preslenmiştir. Bu şekilde elde edilen nar suları, “daneden elde edilen nar suları” olarak tanımlanmıştır. Diğer yöntemde ise, narlar kabuklarıyla birlikte dört parçaya bölündükten sonra paketli preste preslenmiştir. Bu şekilde elde edilmiş nar sularına ise, “bütün meyveden elde edilen nar suları” olarak tanımlanmıştır. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen bulanık nar suları iki gruba bölünmüştür. Bir kısım nar suyu sadece jelatin kullanılarak 5°C’de (soğuk durultma) durultulurken, geri kalan kısım durultulmamıştır. Hem durultulmuş hem de durultulmamış nar suyu örnekleri iki gruba bölünmüştür. Bu nar sularının da bir bölümü 95°C’de 10 dak. pastörize edilirken, geri kalan kısmı pastörize edilmemiştir. Nar suyu konsantreleri, durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilmiştir.

Presleme işleminden hemen sonra, bütün meyveden elde edilen nar sularının, danelerden elde edilen nar sularından %84 daha fazla prosiyanidin içerdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, bütün meyveden elde edilen nar suyu %34 oranında daha fazla toplam fenolik madde, %54 daha fazla kondense olabilen fenolik ve %22 daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Durultma işlemi nar sularının prosiyanidin içeriklerini %73 oranında azaltırken, pastörizasyon işlemi prosiyanidin içeriğini %46 oranında artırmıştır. Ayrıca, durultma işlemi sonucunda toplam fenolik bileşiklerde %23-38 kondense olabilen fenoliklerde %15-33, antioksidan aktivitede %32-36 oranlarında azalma belirlenmiştir. Pastörizasyon işlemi sonucunda toplam fenolik maddelerde %17 artış olurken, kondense olabilen fenolik maddelerde %29, antioksidan aktivitede %7 oranında bir azalış belirlenmiştir. Konsantrasyon işlemi sonucunda ise, durultulmamış nar sularında durultulmuş nar sularına kıyasla %32 daha fazla fenolik madde, %29 daha fazla prosiyanidin, %28 daha yüksek antioksidan aktivite ve %46 daha fazla kondense olabilen fenolik madde saptanmıştır.

Bu çalışma ile, bütün meyveden elde edilen nar sularının 970 mg GAE/L (GAE, gallik asit eşdeğeri) düzeyinde prosiyanidin içerdiği belirlenirken, danelerden elde edilen nar sularının sadece 160 mg GAE/L düzeyinde prosiyanidin içerdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, prosiyanidinlerin nar kabuğunda daha yoğun olarak bulunduğunu açıkça göstermektedir. Buna ilaveten, nar sularının prosiyanidin içeriği ve antioksidan aktivite arasında yüksek düzeyde bir korelasyon ($r=0.969$) saptanmıştır. Bu sonuçlar, yüksek antioksidan aktivite için narların kabuklarıyla preslenmesi gerektiğini göstermektedir. Diğer yandan, prosiyanidinlerin sebep oldukları bulanıklık ve buruk tad nedeniyle, tüketici beğenisi ve teknolojik açıdan bir kısım prosiyanidinin uzaklaştırılması gerekmektedir.

Temmuz 2010, 87 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nar suyu, nar suyu konsantresi, durultma, pastörizasyon, prosiyanidinler, antioksidan aktivite

ABSTRACT

Ma¹ Thesis

CHANGES IN PROCYANIDIN CONTENTS OF POMEGRANATE JUICE CONCENTRATE DURING PRODUCTION

Nihal GÜZEL

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

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

This study was conducted to determine the effects of clarification, pasteurization and concentration on the procyanidin content of pomegranate juice. Moreover, the changes in the antioxidant activity were also monitored during the processing of pomegranate juice concentrate. Procyanidins were purified with Sephadex LH-20 gel chromatography and then analyzed by HPLC. The total procyanidin content of pomegranate juice was calculated as “gallic acid equivalents” from the three major procyanidin peaks. Antioxidant activity was determined by the ABTS method and the results were expressed as “TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity).” Condensable phenolic and total phenolic contents were measured spectrophotometrically and the results were expressed as “catechin equivalents” and “gallic acid (GA) equivalents,” respectively.

Pomegranates were processed into juice by two methods. In the first method, pomegranate arils were separated from the rind and hand-pressed in the laboratory. The resulting juice was called as “juice from arils.” In the second method, pomegranates were cut into four pieces with their rinds and pressed on a rack and cloth press in the pilot plant. The resulting juice was called as “juice from whole fruits.” The cloudy juices from arils and whole fruits were divided into two parts. Halves were cold-clarified at 5°C using only gelatin. The remaining juices from arils and whole fruits were not clarified. Clarified and non-clarified juices from arils and whole fruits were again divided into two parts. Halves were pasteurized at 95°C for 10 min. The remaining juices from arils and whole fruits were not pasteurized. Pomegranate juice concentrates were obtained from both clarified and non-clarified juices.

Right after pressing, pomegranate juice obtained from whole fruits had 84% more procyanidin content than the juice obtained from arils. Similarly, the juice obtained from whole fruits had also 34% more phenolics, 54% more condensable phenolics and 22% antioxidant activity. Clarification decreased the procyanidin content of pomegranate juice by 73% but pasteurization increased by 46%. Clarification also caused the 23–38% reduction in total phenolic, 12–53% in condensable phenolic and 32–36% in antioxidant activity. Although pasteurization caused the increase in total phenolic content by 17% and the decrease in condensable phenolic content by 29%, and antioxidant activity by 7%. The concentrates obtained from non-clarified pomegranate juices had 32% more phenolics, 29% more procyanidins, 28% higher antioxidant activities and 46% more condensable phenolics than those obtained from clarified juices.

The juice obtained from whole fruits had 970 mg GA equivalent/L procyanidin content, whereas the juice obtained from arils had only 160 mg GA equivalent/L procyanidin content. These results clearly show that most of the procyanidins were located in the rinds of the pomegranates. The procyanidin content in pomegranate juice also closely correlates ($r=0.969$) with their antioxidant activity. These results demonstrated, for the higher antioxidant activity pomegranates should be pressed with their rinds. On the other hand, since the procyanidins cause turbidity and contribute the astringent taste, some removal of procyanidins is necessary for technological as well as consumption reasons.

July 2010, 87 pages

Key Words: Pomegranate juice, concentrate, clarification, pasteurization, procyanidin, antioxidant activity

TEŞEKKÜR

ii

Yüksek lisans tez çalışmamın hazırlanması ve yürütülmesinde, çalışmalarımın her aşamasında çok değerli bilgileri ve önerileri ile beni yönlendiren ve her konuda bana destek olup yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a, prosiyanidin analizinde yardımcı olan Dr. Şeref TAĞI'ya, HPLC kullanımında bilgilerini benimle paylaşan Dr. Oktay YEMİŞ'e ve çalışmalarım süresince yardım ve desteklerini gördüğüm her zaman yanımda olan çok değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Nihal GÜZEL

Ankara, Temmuz 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	25
3.1 Materyal.....	25
3.1.1 Nar.....	25
3.1.2 Kimyasallar.....	25
3.2 Yöntem.....	26
3.2.1 Narın Meyve Suyuna İşlenmesi.....	26
3.2.2 Nar Ham Suyunun Durultulması.....	27
3.2.3 Nar Sularının Konsantreye İşlenmesi.....	28
3.2.4 Nar Suyunun Pastörizasyonu.....	29
3.2.5 Fiziksel Analizler.....	29
3.2.5.1 Suda Çözünür Kuru Madde Tayini.....	29
3.2.5.2 pH tayini.....	29
3.2.5.3 Bulanıklık Düzeyinin Ölçülmesi.....	30
3.2.6 Kimyasal Analizler.....	30
3.2.6.1 Titrasyon Asitliği Tayini.....	30
3.2.6.2 Toplam Fenolik Bileşiklerin Tayini.....	30
3.2.6.3 Kondense Olabilir Fenoliklerin Tayini.....	32
3.2.6.4 Antioksidan Aktivite Tayini.....	33
3.2.6.5 Prosiyanidin Dağılımının Belirlenmesi.....	36
3.2.7 İstatistik Değerlendirme.....	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	39

4.1 Nar Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi.....	39
4.2 Nar Ham Suyunun Durultulması.....	40
4.3 Nar Suyu Ve Konsantrelerinin Toplam Fenolik Madde, Kondense Olabilen Fenolik Madde Ve Prosiyanidin İçerikleriyle Antioksidan Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesinden Kullanılan Standart Eğriler.....	41
4.4 Nar Sularının Toplam Fenolik Madde İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi.....	44
4.5 Nar Sularının Kondense Olabilen Fenolik Madde İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi.....	48
4.6 Nar Sularının Prosiyanidin İçerikleri Üzerine Durultma Ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi.....	49
4.7 Nar Sularının Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Durultma Ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi.....	55
4.8 Nar Suyu Konsantrelerinin Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	60
4.9 Nar Suyu Konsantrelerinin Toplam Fenolik Madde Ve Kondense Olabilen Fenolik Madde İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	61
4.10 Nar Suyu Konsantrelerinin Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	62
4.11 Nar Suyu Konsantrelerinin Prosiyanidin İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi.....	62
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	64
KAYNAKLAR.....	67
EKLER.....	76
EK 1 İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI.....	77
EK 2 NAR SUYU VE KONSANTRELERİNİN PROSİYANİDİN KROMATOGRAMLARI.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	87

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ROS	Reaktif oksijen formları (R eactive O xygen S pecies)
DNA	Deoksiribonükleik asit (D eoxyribonucleic a cid)
L*	Lipit radikali (Lipid radical)
ROO*	Peroksi radikali (Peroxy radical)
RO*	Alkoksi radikali (Alkoxy radical)
*OH	Hidroksi radikali (Hydroxy radical)
SOD	Süperoksit dismutaz (S uperoxide d ismutase)
GPx	Glutatiyon peroksidaz (G lutathione p eroxidase)
UV	Ultraviole (U ltraviyolet)
TEAC	Troloks eşdeğer antioksidan kapasite (T rolox E quivalent A ntioxidant C apacity)
R*	Alkil radikali (Alkyl radical)
O ₂ *	Süperoksit radikali
O ₂	Moleküler oksijen
ROOH	Peroksit
HO ₂ *	Hidroperoksili
LO ₂ *	Lipit peroksil radikali
LO*	Lipit alkoksil radikali
H ₂ O ₂	Hidrojenperoksit
PDA	Foto diyoderay dedektörü (P hoto D iyoteray D edector)
LOOH	Lipit hidroperoksit
Fe=O	Demir-oksijen kompleksi

TUİK	Türkiye istatistik kurumu
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein (L ow d ensity lipoprotein)
ORAC	Oksijen radikal absorbans kapasitesi (O xygen R adical A bsorbance C apacity)
PVPP	Polivinilpolipropilen
ABTS	2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Ferrik iyon indirgeme antioksidan parametresi (F erric ion R educing)
DMPD	N,N-dimetil- <i>p</i> -fenilendiamin (N,N-dimethyl- <i>p</i> -phenylenediamine)
AAPH	2,2'-azobis (2-amidinopropan) dihidroklorür
ABAP	2,2-azo-bis-2-amidinopropan hidroklorit
ABTS ^{•+}	ABTS radikali
PET	Polietilen terafitalat (P olyethylene teraphthalate)
NTU	Nephelometric Turbidity Unit
Briks	Suda çözünür kuru madde
IFU	Uluslararası Meyve Suyu Federasyonu (I nternational F ruit J uice U nion)
PBS	Fosfat tamponu (P hosphate B uffer S aline)
BHT	Bütillenmiş hidroksi tolueen (B utilated H ydroxy T oluen)
HMF	Hidroksimetil furfural (5-Hydroxymethyl-2-furfural)
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
SO ₂	Kükürt dioksit
C	Kateşin
EC	Epikateşin
GC	Gallokateşin

EGC	Epigallokateşin
EGCG	Epigallokateşin-3-O-gallat
I3C	İndol-3-karbinol
CAT	Katalaz
CoQ ₁₀	Koenzim Q ₁₀
MA	Molekül ağırlığı
LOA,LOOA	Peroksi-antioksidan bileşikleri
LTLT	Düşük sıcaklıkta uzun süre (L ow t emperature l ong t ime)
GAE	Gallik asit eşdeğeri
h	Saat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Proantosiyanidin yapıları.....	8
Şekil 2.2	Proantosiyanidin bağlanma tipleri	9
Şekil 2.3	Proantosiyanidinlerin alt grupları	10
Şekil 4.1	Gallik asit standart eğrisi	42
Şekil 4.2	Kateşin standart eğrisi.....	42
Şekil 4.3	Gallik asit standart eğrisi (HPLC ile belirlenmiş).....	43
Şekil 4.4	Troloks standart eğrisi.....	43
Şekil 4.5	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının toplam fenolik madde miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri.....	47
Şekil 4.6	Danelerden elde edilen nar sularının toplam fenolik madde miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri.....	47
Şekil 4.7	Bütün meyvenin preslenmesiyle ve daneden elde edilen durultulmamış nar sularındaki prosiyanidinlerin HPLC kromatogramları	51
Şekil 4.8	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının toplam prosiyanidin miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri	54
Şekil 4.9	Danelerden elde edilen nar sularının toplam prosiyanidin miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri.....	55
Şekil 4.10	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antioksidan aktiviteleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri	57
Şekil 4.11	Danelerden elde edilen nar sularının antioksidan aktiviteleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri.....	57
Şekil 4.12	Dane ve bütün meyvenin prelenmesiyle elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları arasındaki doğrusal ilişki.....	59
Şekil 4.13	Bütün meyvenin prelenmesiyle elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları arasındaki doğrusal ilişki	59
Şekil 4.14	Daneden elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları arasındaki doğrusal ilişki.....	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Ülkemizde nar üretiminin son beş yıldaki değişimi.....	5
Çizelge 2.2	Nar suyunun bileşimi	6
Çizelge 2.3	Reaktif oksijen türleri	13
Çizelge 2.4	Bazı antioksidanlar ve etki mekanizmaları.....	15
Çizelge 2.5	Bazı prosiyanidinlerin kaynakları ve etki mekanizmaları	16
Çizelge 2.6	Bazı proantosiyandinlerin ve flavan-3-ol monomerlerinin koruyucu etkileri.....	21
Çizelge 3.1	Prosiyanidinler için uygulanacak elüsyon profili	37
Çizelge 4.1	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri	40
Çizelge 4.2	Danelerden elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri	40
Çizelge 4.3	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham sularına (500mL) uygulanmış jelatin ön deneme sonuçları	41
Çizelge 4.4	Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen toplam fenolik madde miktarları	44
Çizelge 4.5	Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen kondense olabilen fenolik madde miktarları.....	48
Çizelge 4.6	Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen prosiyanidin miktarları	50
Çizelge 4.7	Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen toplam prosiyanidin miktarları	52
Çizelge 4.8	Danelerden ve bütün meyveden elde edilen nar sularının antioksidan aktivite düzeyine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkisi.....	56
Çizelge 4.9	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar suyu konsantrelerinin briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	61

1. GİRİŞ

Son 20 yılda yapılan çalışmalarda, fenolik bileşiklerce zengin diyetin; birçok kronik hastalığın önlenmesinde ve bunun sonucunda sağlığın korunması üzerinde olumlu etkilerinin bulunduğu ortaya konulmuştur. Fenolik bileşiklerin sahip oldukları antioksidan özellikleri sayesinde, kalp ve damar hastalıkları ile kanser gibi pek çok kronik hastalığa yakalanma riskini azaltıcı, yaşlanmayı ve yaşa bağlı dejeneratif hastalıkları geciktirici etkiye sahip oldukları düşünülmektedir. İşte bu olumlu etkilerden dolayı fenolik bileşiklerce çok zengin bir meyve olan nara (*Punica granatum* L.) ve bu değerli üründen elde edilen meyve suyuna olan ilgi son yıllarda oldukça artmıştır. Artan bu ilgiye paralel olarak da ülkemizde nar yetiştiriciliği hızla yayılmaktadır.

Nar, genellikle taze olarak tüketilmesinin yanısıra meyve suyu, konsantre, nar pekmezi (nar ekşisi), sirke, dondurma, jöle, şekerleme, şarap ve likör yapımında da kullanılmaktadır. Ayrıca, çeşitli içkilerde ve meşrubatlarda ferahlatıcı etkisi nedeniyle katkı maddesi olarak kullanımı da tercih edilmektedir. Nar daneleri pasta, tatlı ve salatalarda, çekirdekleri ise kozmetik ve ilaç sanayinde, bitkisel yağ ve hayvan yemlerinde kullanılmaktadır. Bunların dışında, nar ağacının kabukları, çiçekleri, tohumları ve meyve kabuklarının da ilaç olarak kullanılabileceği bilinmektedir.

Nar suyunun sahip olduğu antioksidan ve antimikrobiyel etkinin kaynağı olan fenolik bileşiklerin bir kısmı doğal olarak segmentler içerisindeki nar danelerinin suyunda bulunmaktadır. Önemli bir kısmı da presleme sırasında uygulanan basınçla göre özellikle meyve kabuğu ve kısmen de dilim zarları ile zedelenmiş çekirdeklerinden meyve suyuna geçmektedir. Nar suyunun endüstriyel üretimi üzerine yapılan araştırmalarda presleme boyunca kabuk ve bölmeler arası dokudan meyve suyuna yüksek miktarda fenolik bileşik geçtiğini göstermiştir. Bu fenolik bileşikler, özellikle de prosiyanidinler, berrak nar suyunun ya da nar suyu konsantrelerinin depolanması sırasında bulanıklık ve tortu oluşumunda büyük rol oynamaktadırlar. Prosiyanidinler ayrıca, meyve sularının tadlarındaki burukluktan da sorumlu olan bileşiklerdir.

Prosiyanidinlerin, fenolik bileşikler arasında, en fazla antioksidan etkiye sahip oldukları son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Ayrıca, prosiyanidinlerin antioksidan aktivitelerinin yanı sıra antibakteriyel, antiviral, antikarsinojenik ve antialerjik aktivitelerinin de bulunduğu saptanmıştır. Prosiyanidinler, ortamda bulunan serbest radikallerle reaksiyona girerek onların serbest yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan zincir reaksiyonlara girmelerini önlemektedirler. Ayrıca, ortamda bulunan bakır ve demir gibi metallerle kelat oluşturarak metallerin katalize ettiği lipit oksidasyonunu önlemektedirler. Bunların dışında, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunda önemli rol oynayan lipoksigenaz enzimini de inhibe etmektedirler.

Prosiyanidinler; kırmızı şarapta, elmada, çayda, kakaoda, çikolatada, üzüm sü meyvelerde ve üzümde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu ürünler arasında en fazla prosiyanidini kakao ve kakaodan yapılmış çikolata ve onu takiben elma suyu, kırmızı şarap ve cranberry (*Vaccinium oxycoccus* L.) suyu içermektedir. Ancak nar suyunun prosiyanidin içeriği üzerine literatürde bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı, nar suyunun durultulması ve konsantreye işlenmesi aşamalarında prosiyanidin içeriğindeki değişimlerin belirlenmesinin yanında, nar suyunun konsantreye işlenmesi sürecinde prosiyanidin miktarı ile antioksidan aktivite arasındaki ilişkinin de belirlenmesidir. Bu araştırma ile nar suyu konsantrelerinde görsel kalite kaybına neden olan ve bu değerli ürünün antioksidan aktivite gibi insan sağlığı ve teknolojik açıdan önem arz eden niteliklerini etkilediği düşünülen mekanizmaların daha iyi anlaşılacağı, kontrol altına alınabileceği ve önlemlerin geliştirilebileceği umulmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

Nar (*Punica granatum* L.), Punicaceae familyasına ait ekonomik değeri yüksek bir meyvedir (Aseri vd. 2008). Bilinen en eski meyvelerden biri olan nar, tropik ve subtropik iklime sahip pek çok ülkede yetişebilmektedir (Kulkarni ve Aradhya 2005, Sarkhosh vd. 2006). Aynı zamanda, sert kışları ve kuraklığı tolere edebilmekte ve çöl koşullarında bile üretilebilmektedir (Aseri vd. 2008).

Anavatanı İran'dan Himalayalar'a kadar uzanan bu meyve; Afganistan, Hindistan, ve Akdeniz ülkelerinde (Tunus, Türkiye, Mısır, Suriye, İspanya, Fas) antik çağlardan beri yetiştirilmektedir (Sarkhosh vd. 2006, Al-Said vd. 2009). Ayrıca, A.B.D.'nin Kaliforniya eyaletinde, Arjantin, Çin, Japonya ve Rusya'da da yetişebilmektedir (Kingsly vd. 2006). Hindistan, İran, Çin, Türkiye, Afganistan, İspanya, Mısır, İsrail ve Tunus aynı zamanda nar ihraç eden ülkeler arasında yer almaktadır. Bu ülkelerde ticari olarak yetiştirilen bazı önemli nar çeşitleri ise; Wonderful (Kaliforniya, A.B.D. ve İsrail), Mollar ve Tendral (İspanya), Schahvar ve Robab (İran), Hicaznar (Türkiye), Zehri ve Gabsi (Tunus), Alandi ve Ganesh (Hindistan) çeşitleridir (<http://batem.gov.tr>, 2009).

Ülkemizde nar üretimi Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde düzenli plantasyonlar şeklinde yapılmaktadır. Buna ilaveten diğer bölgelerde de sınır ağacı veya tek ağaçlar şeklinde yetiştirilmektedir (<http://www.cu.edu.tr>, 2009). Nar hasadı, çeşitlere ve bölgelere göre değişse de meyveler genellikle tam olgunluğa eriştikten sonra, kabukları sarıdan parlak kırmızıya doğru bir renk aldığındadır yapılmaktadır (Kulkarni ve Aradhya 2005, Mirdehghan vd. 2007). Genellikle Ağustos sonunda başlayıp Kasım ortalarına kadar devam eden nar hasadı, narların çiçeklenmelerinin farklı zamanlarda olmaları nedeniyle, hasat dönemi içinde 2–3 defada yapılmaktadır (<http://www.batem.gov.tr>, 2009).

Ülkemizde nar üretimi 1998 yılında 55 000 ton iken 2008 yılı nar üretimi 128 000 tona ulaşmıştır (<http://www.tuik.gov.tr>, 2009). Nar üretiminde son beş yıldaki artış Çizelge

2.1’ de gösterilmiştir. Yaş meyve ihracatımızda; nar, 2008 yılında 4 282 153 kg ve 2009 yılında 5 813 898 kg ile 6. sırada yer almaktadır (<http://www.akib.org.tr>, 2009). En fazla nar ihraç ettiğimiz ülkeler arasında Almanya, Rusya Federasyonu, Hollanda, Ukrayna ve Yunanistan bulunmaktadır.

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. Burada yer alan bilgilere göre, 2005-2006 yılları arasında İran’ın nar üretiminin 705 bin ton civarında olduğu belirtilmektedir. Aynı dönemde, tüm dünyadaki nar üretiminin ise 1.5 milyon ton civarında olduğu ve İran’ın bu üretimin % 47’sini karşıladığı belirlenmiştir. İran nar üretiminin yanısıra nar ihracatında da en fazla paya sahip olarak birinci sırada yer almaktadır. Nar üretimi İran’dan sonra Hindistan, Türkiye, Afganistan, Pakistan, İspanya ve Çin 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 (<ftp://ftp.fao.org>, 2010). Bu konuda yayınlanmış diğer istatistiki bilgilere ise Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü internet sayfasından ulaşılmıştır (<http://www.batem.gov.tr>, 2009). Yazıcı ve Şahin (2010) tarafından yayınlanan çalışmada, 2004–2006 yılları arasında üretici ülkelerin farklı yıllarda da olsa, 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 (<http://www.tarimmerkezi.com>, 2009). Nar üretiminde Antalya’yı İçel, Aydın, Denizli, Hatay ve Siirt takip etmektedir (<http://www.batem.gov.tr>, 2009).

Ülkemizde birçok nar çeşidi yetiştirilmektedir. Ülkemizde yetiştirilen nar çeşitlerinin bazı kimyasal niteliklerinin belirlenmesi üzerine en kapsamlı çalışma, Cemeroğlu ve ark. (1994) tarafından yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada, farklı yörelerden temin edilen 120 örneğin 86’sı tatlı-mayhoş 34’ü ise ekşi çeşit olarak belirlenmiştir.

Onur (1982) tarafından Akdeniz Bölgesi narları üzerine yapılan bir çalışmada ise, 72 tip nar belirlenmiştir. Ancak, bu 72 tip nar içerisinde 5'i tatlı, 7'si mayhoş ve 7'si ekşi olmak üzere toplam 19 çeşidin nar suyu üretim teknolojisine uygun olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2.1 Ülkemizde nar üretiminin son beş yıldaki değişimi (<http://www.tuik.gov.tr>, 2009)

Yıl	Nar üretimi (ton)
2004	73 000
2005	80 000
2006	90 737
2007	106 560
2008	127 760

Narların kimyasal bileşimleri; bölge, iklim, çeşit, olgunluk düzeyi ve depolamaya bağlı olarak değişmektedir. Olgunlaşmış narlar genellikle, kabuk rengi, meyve suyu rengi ve asitliklerine göre değerlendirilmektedirler (Al-Said vd.. 2009). Nar kabuğunun kırmızı rengi albeni açısından, danelerinin koyu kırmızı renkleri de nar suyunun rengi açısından önemlidir. Narın yenebilen kısmı, yani daneleri, bütün meyvenin %52'sini oluşturmaktadır. Danenin ise %78'ini meyve eti, %22'sini çekirdekler oluşturmaktadır (Kulkarni ve Aradhya 2005). Narın bileşim unsurlarının bir çoğunun geniş bir değişim aralığı bulunmaktadır (Çizelge 2.2). Bu geniş değişim aralığına sahip bileşim unsurları arasında en belirgin olanlardan birisi de titrasyon asitliğidir. Asit miktarı ve bununla ilişkili olarak da “şeker:asit” dengesi meyve suyu teknolojisi ve tüketici beğenisi açısından oldukça önem taşımaktadır (Cemeroğlu vd.. 1994).

Nar suları titrasyon asitliği değerlerine göre; %1'den az olanlar “tatlı narlar”, %1–2 olanlar “mayhoş narlar”, %2'den fazla olanlar “ekşi narlar” olarak gruplandırılmaktadır (Onur vd. 1999). Cemeroğlu vd. (1994) tarafından yapılan bir çalışmada ise narlar, “asitçe zengin” ve “asitçe fakir” olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Bu gruplandırma ise “ratio değeri” (Briks/titrasyon asitliği, %) temel alınarak yapılmıştır. Ratio değeri 15:1'in üstünde olanlar “asitçe fakir” (tatlı-mayhoş), altında olanlar ise “asitçe zengin” (ekşi) olarak nitelendirilmektedir. Tatlı mayhoş grupta olan çeşitlerin titrasyon asitliği

değerleri 2.0–7.9 g/L ve suda çözünür kuru maddeleri 13.2–18.7 °Bx arasında iken, ekşi çeşitlerde bu değerler sırası ile 11.1–55.1 g/L ile 13.6–18.6 °Bx arasında değişmektedir.

Çizelge 2.2 Nar suyunun bileşimi (Cemeroğlu vd. 1994)

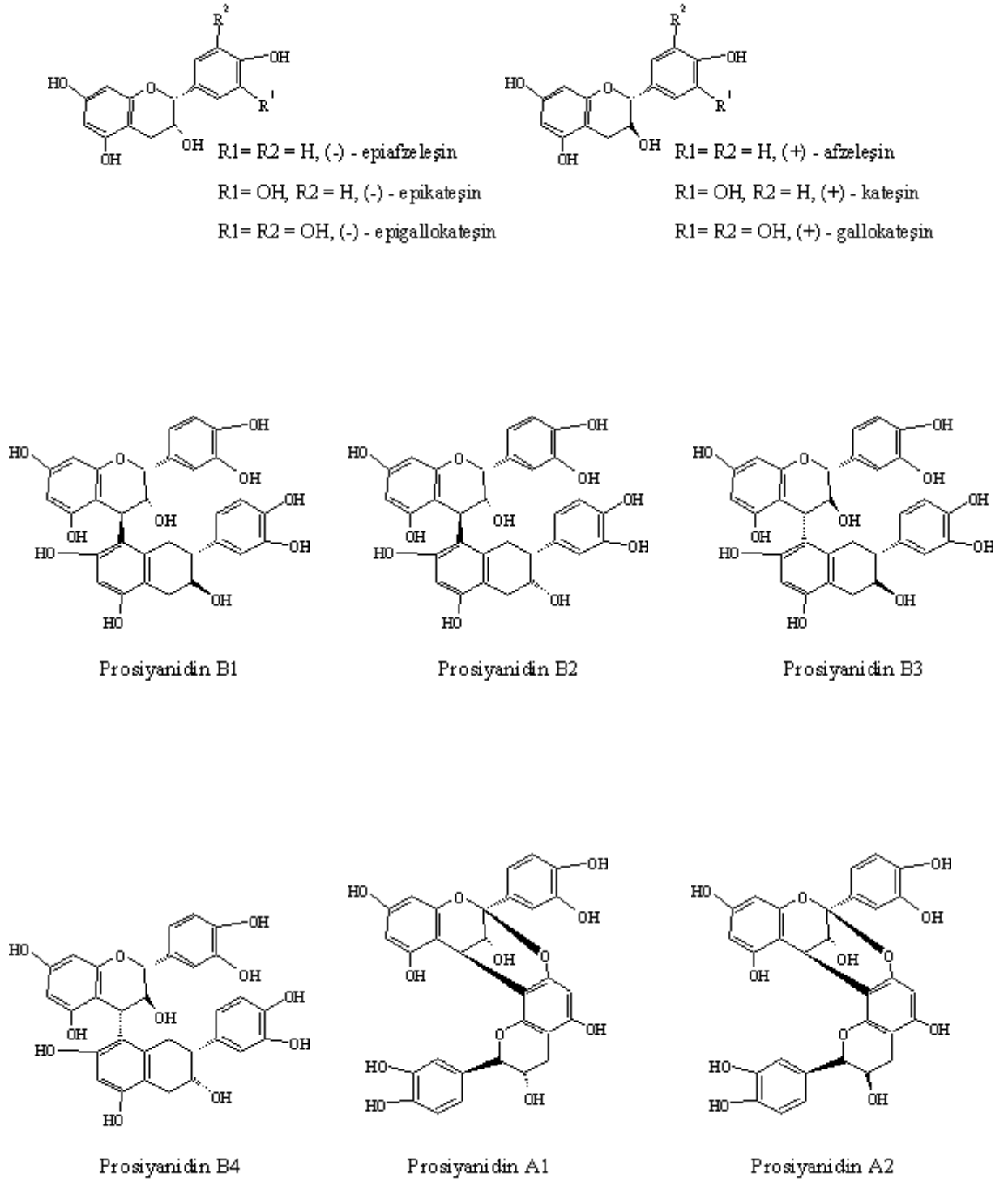
Bileşim öğeleri	Brim	Minumum	Maksimum	Ortalama
Bağıl yoğunluk (20°/20°C)		1.054	1.079	1.068
Briks	g/100g	13.20	18.70	16.30
Titrasyon asitliği (sitrik)	g/L	2.0	55.20	8.58
Sitrik asit	g/L	0.09	32.80	5.39
L- Malik asit	g/L	0.00	2.83	0.87
D- İzositrik asit	mg/L	13.90	186	54.90
Ph Değeri		2.40	4.41	3.58
Kül	g/L	2.370	6.110	3.907
Glukoz	g/L	47.10	82.70	64.80
Fruktoz	g/L	51.70	97.80	71.50
İndirgen şeker	g/L	110.40	194.20	153.20

Nitelikli bir nar suyunun fazla buruk olmayan, uygun şeker asit dengesine sahip ve koyu renkli olması gerekmektedir. Bu nedenle meyve suyuna koyu renkli ve mayhoş çeşitlerin işlenmesi, presleme sırasında meyvenin içindeki mezokarp uzantılarının uzaklaştırılması ve aşırı basınç uygulamasından kaçınılması önerilmektedir (Cemeroğlu 2004). Nar suyu üretiminde randıman %54'e ulaşabilmektedir. Ancak aşırı basınç uygulanarak üretilen nar suyu, içerdiği fenolik bileşikler nedeniyle oldukça buruk bir tada sahip olmaktadır (Vardin ve Fenercioğlu 2003). Nar suyu üretiminde gösterilecek bütün titizliğe rağmen, meyve suyu kendine özgü buruk bir lezzet taşımaktadır. Bu buruk lezzet ise özellikle tanen niteliğindeki, yani proteinleri çöktürme özelliği gösteren polifenollerden kaynaklanmaktadır (Cemeroğlu 2004).

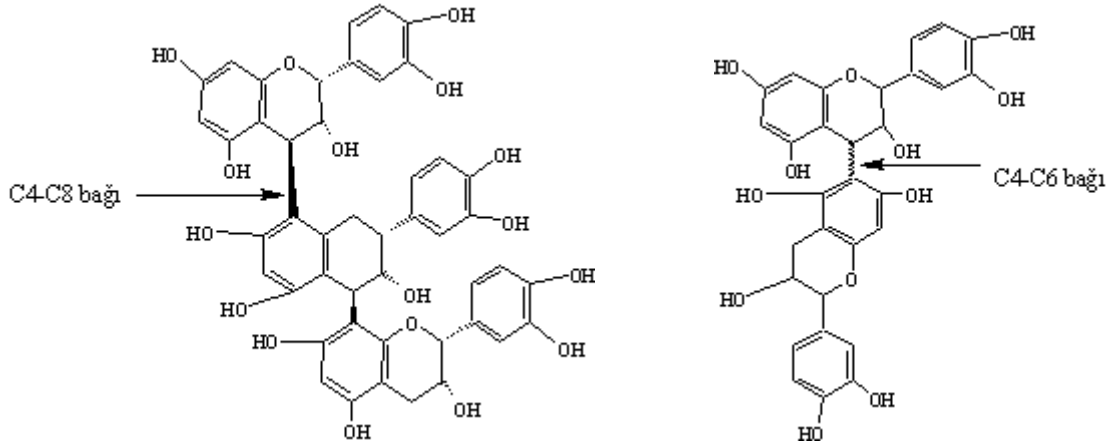
Yüksek molekül ağırlığına sahip polifenoller (tanenler); kondense tanenler (proantosiyanidinler) ve hidroliz olabilen tanenler (ellajitanenler ve gallotanenler)

olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır (Seeram vd. 2005a). Proantosiyantinler, diğer adıyla kondense tanenler, doğada yaygın olarak bulunan kompleks yapıdaki fenolik bileşiklerdir. Kondense tanenler, daha çok meyve yüzeyi ve kabukta bulunurken kısmen de meyve etinde bulunmaktadır (Shahidi ve Naczk 1995). Bu bileşikler, başlıca yapıtaşı (+)-kateşin ve (-)-epikateşin olan monomerik flavan-3-ol ünitelerinden oluşmaktadır (Ling vd. 2005). Proantosiyantinler, 2 ile 50 veya daha fazla flavonoid ünitesinin (Şekil 2.1) karbon-karbon bağıyla bağlanmasıyla oluşmaktadır (Bors vd. 2002). Flavan üniteleri arasındaki bu bağlar, temelde C4–C8 tipi bağlanmalar olsa da C4–C6 tipi bağlanmalar da mevcuttur ve bu bağlanmalar polimerin dallanma derecesini arttırmaktadır (Haslam vd. 1998). C4–C8 ve C4–C6 tipi bağlanmalar şekil 2.2’de gösterilmektedir. Xie vd. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, flavan-3-ol ünitelerinin C4 “üst” ve C8 “alt” ya da C6 “başlatıcı” üniteleri arasındaki tekli bağlarla genişlemesi ile oluşan polimer ya da oligomerler B tipi proantosiyantinler olarak tanımlanmaktadır. Alt ünitenin A halkasındaki bir hidroksil grubuyla üst üniteye C-2 arasındaki ikincil eter bağına sahip olanlar ise A tipi proantosiyantinler olarak adlandırılmaktadır.

Bazı gıdalar, sadece monomerik flavan-3-ol [(-)-epikateşinin baskın olduğu] ve dimerik proantosiyantinleri içerirken, pek çok gıda polimerizasyon derecesi 1 ile 10 arasında ya da daha fazla olan oligomerleri içermektedir (Aron vd. 2008). Çözünabilir proantosiyantin polimerlerinin ortalama molekül ağırlıklarının genellikle 1000–6000 Da arasında olduğu belirlenmiştir (Dixon vd. 2005). Meyvelerden izole edilen proantosiyantinlerin ortalama molekül ağırlıkları ise, 2000–4000 Da arasında değişmektedir (Shahidi ve Naczk 1995). Bununla birlikte bazı bitkisel dokularda, molekül ağırlıkları 20000 Da’a ulaşan proantosiyantinler bulunmakta ve bu büyüklükteki proantosiyantinler yaklaşık 40 flavan-3-ol ünitesinden oluşmaktadır (Haslam vd. 1998). Peleg vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, molekül ağırlığının flavonoidlerin duyu özellikleri olan acılık ve burukluk üzerine etkili temel faktör olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.1 Proantosiyantin yapıları (Dixon vd. 2004)



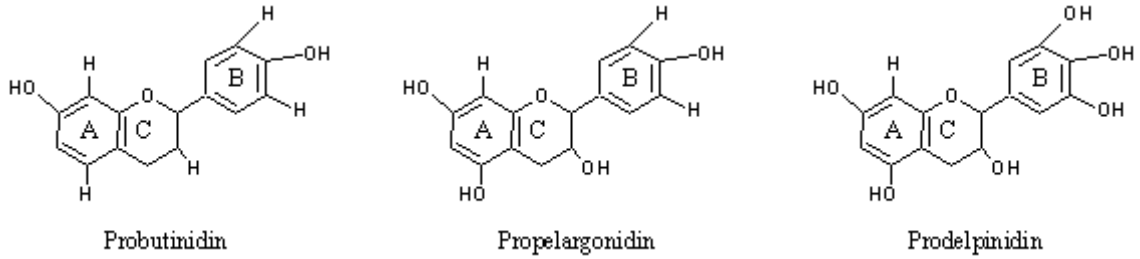
Şekil 2.2 Proantosiyanidin bağlanma tipleri (Aron ve Kennedy 2008)

Molekül ağırlığı arttıkça acılığın azaldığı, buna karşın burukluğun arttığı bildirilmektedir. Monomer yapıdaki proantosiyanidinlerde acılık burukluktan daha baskınken, trimer yapılarda ise burukluk daha baskın olarak algılanmaktadır (Peleg vd. 1999). Acılık ve burukluğa ilaveten, prosiyanidinler; bira, meyve suyu ve meyve suyu konsantrelerinde bulanıklık oluşumunda da etkili olmaktadır. Nitekim, birada şerbetçi otu ve malt prosiyanidinleri, özellikle de prosiyanidin B3 ve B4 dimerleri bulanıklık oluşumu üzerine önemli oranda etkili olmaktadır (Shahidi ve Naczki 1995).

Proantosiyanidinler hidroksilasyon düzenlerine göre çeşitli alt gruplara ayrılmaktadır. Bu gruplar; propelargonidin, prosiyanidin, prodelfinidin, proguibourtinidin, profisetinidin, prorobinetinidin, proteracacidin (sadece sentetik), promelacacidin, proapigeninidin ve proluteolinidin olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca, bu gruplara ilaveten procassinidin, protricetinidin, prodistenidin, propeltogynidin ve promopanidin alt grupları da bulunmaktadır (Şekil 2.3). Tüm bu proantosiyanin grupları içerisinde en yaygın olarak bulunan grup ise prosiyanidinlerdir (Bruyne vd. 1999, Xie vd. 2005).

Prosiyanidinler, genellikle C4→C8 ve/veya C4→C6 bağları ile bir araya gelen (+)-kateşin ve/veya (-)-epikateşin ünitelerinden oluşan oligomer veya polimerlerdir (Gu vd. 2002). Monomerik üniteleri birleştiren bağlar, acılık ve burukluk gibi iki duyuşal özellik

üzerine etkili olmaktadır (Peleg vd. 1999). Örneğin, 4→6 bağı ile bağlanmış kateşin-kateşin dimeri, kateşin-(4→8)-kateşin ve kateşin-(4→8)-epikateşin dimerlerinden daha acıdır ve kateşin-(4→8)-kateşin dimerleri, kateşin-(4→6)-kateşin ya da kateşin-(4→8)-epikateşin dimerlerinden daha az buruktur (Peleg vd. 1999).



Şekil 2.3 Proantosiyandinlerin alt grupları (Aron ve Kennedy 2008)

Prosiyanidinler kırmızı şarap (Alen-Ruiz vd. 2009), elma (Khanizadeh vd. 2008), çay (Kuroda vd. 1999, Luximon-Ramma vd. 2005), kakao (Adamson vd. 1999, Gu vd. 2006), çikolata (Counet ve Collin 2003, Gu vd. 2006), üzüksü meyveler (Riihnen vd. 2005) ve üzümde (Spanos ve Wrolstad 1990) yaygın olarak bulunmaktadır. Bu ürünler arasında en fazla prosiyanidini kakao ve kakaodan yapılmış çikolata (3.8–4.9 g/kg) içermektedir. Bunu elma suyu (0.5–1 g/L), kırmızı şarap (0.2 g/L) ve cranberry suyu (0.1 g/L) izlemektedir (Counet and Collin 2003). Ayrıca, prosiyanidinler kırmızı şaraplarda 42–55 mg/L (Alen-Ruiz vd. 2009), siyah çayda 25–74 g/kg kuru ağırlık (Luximon-Ramma vd. 2005), yeşil çayda 3 mg/L (Kuroda vd. 1999), elmada (kabuksuz) 119–300 mg/kg ve elma kabuğunda 452–920 mg/kg düzeyinde bulunmaktadır (Khanizadeh vd. 2008). Bazı kaynaklarda Cranberry turna yemişi, blueberry mavi yemiş, lingonberry kekre yemiş ve bilberry çoban üzümü olarak adlandırılrsa da pek çok kaynakta tüm bu türler Türkçeye “yaban mersini” olarak çevrilmiştir. Çalışmamızda, herhangi bir yanlış anlaşılmaya yol açmamak için, çeviriden kaçınılmış ve üzüksü meyvelerin orijinal İngilizce adları kullanılmıştır.

Gu vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada dondurarak kurutulmuş kakao, darı kepeği ve yaban mersinlerinin polimerizasyon düzeylerine göre prosiyanidin miktarları

belirlenmiş ve toplam prosiyanidin miktarları; lowbush blueberryde 20 g/kg, cranberryde 33 g/kg, kahverengi darı kepeğinde 47 g/kg ve kakaoda 98 g/kg olarak bulunmuştur. Sütli çikolatada toplam prosiyanidin içeriği 0.7 g/kg iken siyah çikolatada 1.7 g/kg, çikolata liköründe ise 15.8 g/kg düzeyinde belirlenmiştir (Adamson vd. 1999). Buna karşın, Gu vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da toplam prosiyanidin içerikleri sütli çikolatada 3.1 g/kg, siyah çikolatada 20 g/kg, tatlandırılmamış çikolatada ise 25 g/kg düzeyinde belirlenmiştir. Üzümlerde yapılan bir çalışmada ise, beyaz üzüm çeşitleri arasında Seyval, Niagara ve Vincent çeşitleri en fazla prosiyanidin içeriğine sahipken, Elvira ve Chardonnay çeşitlerinin en fazla kateşin içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir (Fuleki vd. 2003).

Polifenollerin önemli bir bölümü, çeşitli analiz yöntemleriyle belirlenebilecek güçlü antioksidan aktiviteye sahiplerdir (Bors vd. 2002). Polifenoller arasında en fazla antioksidan aktiviteye sahip bileşikler ise prosiyanidinlerdir (Puiggros vd. 2005). Bu özelliklerinin yanı sıra antibakteriyel, antiviral, antikarsinojenik, antiinflamatuvar (iltihap önleyici) ve antiallerjik özelliklere de sahip oldukları düşünülmektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonunu, kılcal damar geçirgenliğini ve trombosit birikimini engelleyebilmektedirler. Buna ilaveten fosfolipaz A2, lipoksigenaz ve siklooksijenaz enzimlerinin aktivitelerini de sınırlandırabildikleri bildirilmektedir (Fine 2000). Bu aktiviteler içinde prosiyanidinlerin en önemli özelliği antioksidan aktivite olup, prosiyanidinler hücrede, protein ve lipid oksidasyonunu önleyerek kalp hastalıkları ve kanser gibi kronik hastalıklara yakalanma riskini azaltmaktadırlar (Faria vd. 2006).

Lipitlerin oksidasyonu; başlama (initiation), gelişme (propagation) ve sonuç (termination) olarak adlandırılan üç aşamada gerçekleşmektedir. Başlama aşamasında alkil (2.1), alkoksi (2.2) ve peroksi (2.3) radikalleri oluşmaktadır (Jadhav vd. 1996). Oksidasyonun gelişme aşamasında, oksijen moleküler formda bağlanarak aktif peroksi radikaller (2.4) ve hidrojen atomu uzaklaştırılarak peroksitler (2.5) oluşmaktadır (Gordon 2000). Sonuç aşamasında ise, doymamış yağların miktarındaki azalış ile radikaller birbirlerine bağlanarak radikal olmayan stabil ürünler (2.6, 2.7, 2.8) oluşmaktadır (Jadhav vd. 1996).



Lipit oksidasyonlarını serbest radikallerin yanı sıra Fe, Cu ve Co gibi geçiş metalleri de katalizlemektedir. Bu metal iyonları elektron vericisi gibi davranarak alkoksi (2.9) ve alkil (2.10) radikallerin oluşumunda görev almaktadır (Gordon 2000).



Oksidasyon, temel hücresel faaliyetlerin gerçekleşebilmesi için gerekli olan enerjinin sağlandığı metabolik bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Ancak bu süreç sonucunda kanser ve kalp damar hastalıkları gibi birçok kronik hastalığın başlamasına neden olan serbest radikaller de oluşmaktadır (Murthy vd. 2002). Serbest radikaller ayrıca yaşlanma, diyabet, bağışıklık sistemi bozukluğu (otoimmün) ve parkinson, alzheimer gibi sinir sistemine yönelik hastalıkların oluşumunda da etkili olmaktadır (Ratnam vd. 2006). Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmeyen elektronla bağımsız bir grup oluşturmakta ve hızlı bir şekilde reaksiyona girmektedirler (Altıniğne 2002). Yapısında oksijen bulunan bu serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS, **Reactive Oxygen Species**) olarak adlandırılmaktadır (Murthy vd. 2002). Reaktif oksijen türleri terimi, hem oksijen radikallerini hem de oksijenin radikal olmayan türevlerini kapsamaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Reaktif oksijen türlerinin çoğu hücrede mitokondriyel solunum zinciri tarafından üretilmektedir (Robert vd. 2009). Reaktif

oksijen türleri içerisinde; peroksitler , moleküler oksijen ve ozon radikal olmayan reaktif oksijen türleri arasında yer alırken süperoksit anyonu, hidroksi, peroksi, alkoksi ve hidroperoksi bileşikleri radikal grupta yer almaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Gerek radikal gerekse radikal olmayan reaktif oksijen türleri Çizelge 2.3’de verilmiştir.

Çizelge 2.3 Reaktif oksijen türleri (Yanishlieva 2000, Cemeroğlu vd. 2009).

Radikal bileşikler		Radikal olmayan bileşikler	
O_2^*	süperoksit	H_2O_2	hidrojen peroksit
HO^*	hidroksil radikali	O_2	moleküler oksijen
HO_2^*	hidroperoksili	$LOOH$	lipit hidroperoksit
L^*	lipit radikali	$Fe=O$	demir-oksijen kompleksi
LO_2^*	lipit peroksil radikali	O_3	ozon
LO^*	lipit alkoksil radikali		

Reaktif oksijen türlerinin temelini hücre içinde üretilen süperoksit radikal iyonları oluşturmaktadır (Bartosz 2009). Süperoksit radikalleri ise 2 adet eşleşmemiş elektronu bulunan triplet oksijenden kimyasal veya enzimatik yolla oluşmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Bu radikaller, metal iyonları ve demir-sülfür kompleksleri ile reaksiyona girerek hem indirgen hem de yükseltgen özellik göstermektedirler. Süperoksit ve nitrik oksitin reaksiyonu sonucu güçlü bir oksitleme özelliği olan peroksit oluşmaktadır. Peroksi radikalleri, yağ asitlerinin oksidasyonu sırasında triplet oksijenin alkil radikalle reaksiyonu sonucunda oluşurken, hidroperoksi radikali ise hidrojen peroksitin hidroksi radikali ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). En reaktif tür olan hidroksil radikali ise, H_2O_2 ’in geçiş metal iyonlarıyla (demir özellikle, fenton reaksiyonu) reaksiyonu sonucu oluşmaktadır (Bartosz 2009). Bu serbest radikaller, doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipidlerin peroksidasyonuna, protein ve DNA’nın (Deoksiribonükleik asit, **D**eoxyribonucleic acid) zarar görmesine neden olarak hücrenin inaktivasyonuna neden olmaktadır (Murthy vd. 2002). Bu nedenle hücrelerdeki lipid peroksidasyonunu önleyen doğal antioksidanlar son yıllarda büyük önem kazanmıştır.

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki temel gruba ayrılmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD, **super**oxide **d**ismutase), glutatyon peroksidaz (GPx, **G**lutathione **p**eroxidase) ve katalaz en önemli enzimatik antioksidanlar arasında yer almaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise askorbik asit, vitamin E, CoQ₁₀, karotenoidler ve en büyük grup olarak da polifenoller yer almaktadır. Antioksidanlar, etki mekanizmalarına göre ise birincil (zincir kırıcı) ve ikincil (önleyici) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Rajalakshmi ve Narasimhan 1996). Bazı antioksidanların etki mekanizmaları Çizelge 2.4’de gösterilmiştir.

Birincil antioksidanlar, hidrojen veya elektron vericisi gibi davranarak serbest radikallerin zincir reaksiyonlarını durdurmakta ve onları daha stabil ürünlere dönüştürmektedir (Yanishlieva 2000). Çok düşük konsantrasyonlarda bile etkili olabilen bu antioksidan grubu içerisinde fenolik bileşikler de yer almaktadır. Birincil antioksidanlar, bir serbest yağ radikaliyle (2.11) reaksiyona girerek başlangıç basamağını yavaşlatabilmekte veya önleyebilmektedirler. Reaksiyonun gelişme basamağını ise peroksi (2.12) veya alkoksi (2.13) radikalleriyle reaksiyona girerek ya da peroksi-antioksidan bileşikleri (2.14, 2.15) oluşturarak engelleyebilmektedirler (Rajalakshmi ve Narasimhan 1996).



İkincil ya da bir diğer adıyla önleyici antioksidanlar ise aktif türlerin etkinliğini durdurarak oksidasyon hızını azaltmakta ve serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (Yanishlieva 2000).

Çizelge 2.4 Bazı antioksidanlar ve etki mekanizmaları (Ratnam vd. 2006)

Antioksidan	Etki Mekanizması
SOD	Süperoksitin H_2O_2 'e dönüşümünü engeller
CAT	H_2O_2 ' i su ve moleküler oksijene parçalar
Vitamin C	Süperoksit anyonunu uzaklaştırır
Likopen	Singlet oksijeni bağlar
CoQ ₁₀	Lipit peroksidasyonunu engeller
I3C	Serbest radikal üretimini baskılar
Genistein	H_2O_2 'i uzaklaştırır
Kuersetin	H_2O_2 ' i uzaklaştırır
EGCG	Metallerle kelat oluşturur
	Süperoksit, H_2O_2 , OH, moleküler oksijeni uzaklaştırır
Vitamin E	Süperoksit anyonunu uzaklaştırır
	Lipit peroksidasyonunu engeller

SOD: süperoksit dismutaz, CAT: katalaz, CoQ₁₀: koenzim Q₁₀, I3C: indol-3-karbinol, EGCG: epigallocateşin-3-*O*- gallat

Prosiyanidinler ortamda bulunan serbest radikallerle reaksiyona girerek, onların serbest yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan zincir reaksiyonlarına girmesini engellemektedirler. Ayrıca, ortamda bulunan metallerle (bakır ve demir gibi) kelat oluşturarak metallerin katalize ettikleri lipit oksidasyonlarını da önlemektedirler (Ling vd. 2005). Bazı prosiyanidinler kaynakları ve etki mekanizmalarıyla birlikte Çizelge 2.5' de gösterilmektedir.

Prosiyanidinlerin antioksidan aktiviteleri molekül ağırlıkları ve kompozisyonlarına göre değişmektedir. Molar konsantrasyon ilkesine göre, en fazla antioksidan aktiviteyi polimerik prosiyanidinler ve onu takiben oligomerik prosiyanidinler göstermektedir. Yani kateşinler, oligomer ve polimerlerine göre daha az antioksidan aktivite göstermektedir (Spranger vd. 2008).

Çizelge 2.5 Bazı prosiyanidinlerin kaynakları ve etki mekanizmaları (Aron vd. 2008)

Prosiyanidin kaynağı	Etki mekanizması
Yeşil ve siyah çay	Peroksinitriti uzaklaştırır.
Keçiboynuzu tohum kabuğu	Lipit peroksidasyonunu engeller.
Lingonberry	Lipit peroksidasyonunu engeller.
Kırmızı şarap	Peroksinitriti uzaklaştırır.
Üzüm çekirdeği	Lipit peroksidasyonunun derecesini azaltır. Sertbest radikallere karşı koruyucudur. Oksidatif strese karşı koruyucudur. Demirle kelat oluşturabilir. Peroksinitrit yıkımından korur. H ₂ O ₂ , hidroksil radikal ve süperoksiti uzaklaştırır. Lipit ve protein peroksidasyonunu azaltır.

Counet ve Collin (2003), prosiyanidinlerdeki kateşin ve/veya epikateşin ünitelerinin artmasıyla antioksidan aktivitenin arttığını bildirmektedir. Riihinen vd. (2005) yabani olarak yetişen üzüksü meyvelerde (*Vaccinium*) bulunan monomerik kateşin, dimerik ve trimerik prosiyanidinleri ekstrakte edip, bu bileşenlerin antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. İncelenen 4 farklı üzüksü meyvede oligomerik prosiyanidinler (dimer ve trimer), monomerik kateşinlere göre çok daha fazla miktarlarda bulunmuştur. DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) yöntemiyle yapılan antioksidan aktivite testinde, 3 farklı üzüksü meyvede (lingonberry, cranberry ve bog whortleberry) gerek monomerik kateşinlerin gerekse de oligomerik prosiyanidinlerin yüksek düzeyde serbest radikali tuttuklarını, yani yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterdiklerini saptamışlardır. Araştırmacılar üzüksü meyvelerin antioksidan aktivitesinin monomerik kateşin ve oligomerik prosiyanidinlerden kaynaklandığını belirlemişlerdir.

Counet ve Collin (2003), siyah çikolatadan prosiyanidinleri farklı çözümleri kullanarak ekstrakte edip, tanımlamışlardır. Ekstraksiyonda kullandıkları çözümler arasında, aseton/su/asetik asit karışımının prosiyanidinlerin ekstraksiyonunda en etkili çözümler olduğunu saptamışlardır. Elde ettikleri prosiyanidin fraksiyonlarının antioksidan aktivitelerini ölçmüşler ve en fazla antioksidan aktiviteyi 3 ya da daha fazla kateşin

ve/veya epikateşin içeren prosiyanidin oligomerlerinde saptamışlardır. Araştırmacılar, çikolatada saptadıkları antioksidan aktivitenin önemli bölümünü prosiyanidinlerin oluşturduğunu, bir kısım (%32) antioksidan aktivitenin ise esmerleşme reaksiyonları sonucu oluşan melanoidin pigmentleri ile düşük molekül ağırlıklı (MA<3500) fenolik bileşiklerden kaynaklandığını saptamışlardır.

Faria vd. (2006) üzüm çekirdeklerinden ekstrakte ettikleri 5 farklı prosiyanidin fraksiyonunun antiradikal özellikleri ile indirgenme gücünü belirleyerek, prosiyanidinlerin antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. DPPH ve FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) yöntemleriyle yapılan antioksidan aktivite analizlerinde, bu 5 fraksiyonun da önemli düzeyde antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Prosiyanidin fraksiyonları arasında ise, antioksidan aktivite bakımından önemli farklar bulunmamıştır. Benzer bir çalışmada, üzüm çekirdeğinden elde edilen prosiyanidin ekstraktının da önemli düzeyde antioksidan aktivite içerdiği saptanmıştır (Puiggros vd. 2005). Ling vd. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada Çin’de yetişen lotus bitkisinden ilk kez prosiyanidinler ekstrakte edilmiş ve Sephadex LH-20 kolon kromatografisi kullanılarak, prosiyanidinler saflaştırılmışdır. Bu çalışmada, %0.1 konsantrasyondaki prosiyanidinlerin soya yağında yaygın olarak kullanılan ve yapay bir antioksidan olan BHT (bütillenmiş hidroksi tolue, butylated hydroxy toluen)’den çok daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca, 62.5 µg/mL konsantrasyonda, prosiyanidinlerin soya yağında bulunan ve oksidasyona neden olan lipoksigenaz enziminin aktivitesini %90 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir.

Adamson vd. (1999) kakaoca zengin çikolata ve likörlerde antioksidan aktiviteyi ölçmüşler ve bu ürünlerde antioksidan aktivitenin kaynağının prosiyanidinler olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada, prosiyanidin miktarı arttıkça, antioksidan aktivitenin de doğrusal ($r=0.994$) olarak arttığı saptanmıştır. Kakaodaki prosiyanidin içeriği ile ORAC değerleri arasındaki bu yakın korelasyon, kakaonun antioksidan aktivitesine temel katkının prosiyanidinlerden kaynaklandığını göstermektedir. Gu vd. (2006), kakao ve çikolatadaki prosiyanidin miktarı ile antioksidan aktiviteyi belirlemişlerdir. Bu çalışmaya bağlı olarak doğal kakao, alkali uygulanmış kakao, tatlandırılmamış çikolata ve sütlü çikolatanın prosiyanidin içerikleri sırasıyla; 40.8, 8.9, 22.3 ve 2.7 g/kg

düzeyinde bulunmuştur. Buna karşın, bu ürünlerin antioksidan içeriğini de sırasıyla; 826, 402, 496, 80 µmol troloks eşdeğeri/g olarak saptamışlardır. Bu sonuçlar, kakao ve çikolatadaki antioksidan aktivitenin prosiyanidinlerden kaynaklandığını göstermektedir. Bu ürünlerdeki prosiyanidin içeriği ile antioksidan aktivite arasındaki korelasyon katsayısı, $r=0.92$ olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada kakaoya alkali uygulamasının, prosiyanidin içeriğini ve antioksidan aktivite düzeyini düşürdüğü saptanmıştır.

Prosiyanidinlerin polimerik formları bir çok gıdada, oligomerik formlarından daha fazla miktarda bulunmaktadır (Gu vd. 2002). Polimerik fraksiyonlar, üzümelerde çeşide bağlı olarak çekirdekte %77–85 ve kabukta %91–99 oranında bulunmaktadır (Hammerstone vd. 1999). Toplam prosiyanidin miktarlarındaki monomer ünitelerinin oranı ise Red Delicious ve Granny Smith çeşidi elmalarda yaklaşık %14, McIntosh'da %9 ve Golden Delicious'da %10 olarak belirlenmiştir (Hammerstone vd. 2000). Üzüm çekirdeklerinde bulunan oligomerik prosiyanidinlerin polimerizasyon derecesi 2 ile 18 arasındayken, polimerik prosiyanidinlerin polimerizasyon derecesi 12 ile 37 arasında değişmektedir (Spranger vd. 2008). Abe vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, olgunlaşmamış elmalarda prosiyanidin tetramer ve pentamer yapılarının [epikateşin-(4 β →6)-epikateşin-(4 β →8)-epikateşin-(4 β →8)-epikateşin] ve [epikateşin-(4 β →8)-epikateşin-(4 β →8)-epikateşin-(4 β →8)-epikateşin] şeklinde olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten, aynı polimerizasyon derecesine sahip prosiyanidin oligomerlerinin flavonoid üniteleri arası farklı bağlanma pozisyonlarının fizyolojik fonksiyonlar üzerinde etkili olabileceği bildirilmektedir.

Hammerstone vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, çikolata ve kakaonun 2 ile 10 arasında monomerik ve oligomerik prosiyanidin ünitesi içerdiği saptanmıştır. Üzümsü meyveler içerisinde de hem kültür hem de yabani chokeberrylerde monomerden hekzamere kadar proantosiyandinlerin bulunduğu ve önemli derecede kanserden koruyucu etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (Sueiro vd. 2006). Üzüm çekirdeği prosiyanidinleri, C vitamini gibi iyi bilinen antioksidanlardan daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir ve antioksidan aktiviteleri polimerizasyon derecesiyle doğru orantılı olarak değişmektedir (Spranger vd. 2008). Prosiyaninlerce zengin (%74.3

prosiyanidin) üzüm çekirdeği ekstratı LDL oksidasyonunu azaltmaktadır (Yamakoshi vd. 2002). Aynı şekilde, prosiyaninlerce zengin (5.3 mg/g) çikolata da yüksek düzeyde antioksidan aktivite içermekte ve bu aktivite sonucu lipit oksidasyonu azalmaktadır (Wang vd. 2000). Ayrıca, oligomerik çikolata ve kakao prosiyanidinleri de LDL oksidasyonunu engellemektedir (Pearson vd. 2001).

Paixao vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, toplam fenolik madde bakımından kırmızı, pembe ve beyaz şaraplar karşılaştırılmış ve kırmızı şaraplarda toplam fenolik madde içeriğinin ve buna bağlı olarak da antiradikal aktivitenin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tayland'da meyve suyu ve şarap üretiminde kullanılan Mao bitkisinin çekirdek ve posası çok miktarda polifenol ve proantosiyanidin içermektedir. Bu bitkinin sahip olduğu antioksidan aktivitenin standart troloksdan çok daha yüksek olduğu ve lipit peroksidasyonunu önleme etkisinin de üzüm çekirdeğinkine kadar güçlü olduğu belirlenmiştir (Puangpronpitag vd. 2008).

Üzüm çekirdeği ekstraktının farelere günde iki kere oral yolla 300 mg/kg düzeyinde verildiği çalışmalar sonucunda, monomerik kateşinlerin ve trimer yapılarına kadar proantosiyanidinlerin sindirim sistemi tarafından absorbe edilip kan ve idrara geçtikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada, farelerin beyinlerinde konjuge olmamış kateşin ve epikateşin ünitelerinin biyolojik olarak kullanılabilir olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada, üzüm çekirdeği kateşinlerinin sinir sistemini koruyucu etki yapabileceği düşünülmektedir. Ayrıca üzüm çekirdeği, yaban mersini ve alıç proantosiyanidinlerinin kalp-damar hastalıklarına ve kadınlarda idrar yolu enfeksiyonlarına karşı koruyucu etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (Prasain vd. 2008). Faria vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da kateşin ve bazı prosiyanidin fraksiyonlarının insanlarda meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını engelleyen bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmaya göre, prosiyanidinlerin meme kanserini önleyebileceği ve/veya tedavi edebileceği düşünülmektedir.

Blueberry suyu üretimindeki yan ürünlerin ise kronik kalp hastalıkları, tip II diyabet ve obeziteye karşı koruyucu etki gösteren prosiyanidinler açısından zengin olduğu

belirlenmiştir. Ayrıca, blueberry posasındaki prosiyanidinlerin çoğunun, büyük molekül ağırlıklı olmalarına rağmen daha az absorbe edildiği ve daha küçük molekül ağırlıklı olan monomer ve dimerlerle karşılaştırıldığı zaman daha az biyoetkinlik gösterdikleri belirtilmektedir (Khanal vd. 2009). Lowbush blueberrylerin de sahip oldukları fitosterol, fenolik asit, flavan-3-ol, antosiyanin ve oligomerik proantosiyanidinler gibi bileşikler sayesinde kanseri başlangıç, ilerleme ve ileri aşamalarında da korucuyu etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (Kraft vd. 2005).

Ramma vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, taze çay yapraklarının siyah çaya göre; gerek toplam fenolik madde, flavonoid ve proantosiyanidin miktarlarının gerekse de antioksidan aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna ilaveten sahip oldukları bu antioksidan aktivitenin felç, kronik kalp hastalıkları ve bazı kanser tiplerini engelleyebileceği düşünülmektedir. Ohno vd. (1995) tarafından yapılan çalışmada, çay tüketiminin kadınlarda akciğer kanserini önlemede koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, proantosiyanidinlerin ciltten su kaybını önlemede etkili olduğu (Deters vd. 2001) ve üzüm proantosiyanidinlerinin güneşin zararlı etkilerine karşı koruyucu etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (Bagchi vd. 2000). Bazı proantosiyanidinlerin ve flavan-3-ol monomerlerinin koruyucu etkileri de Çizelge 2.6'da gösterilmiştir.

Oszmianski vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada da Idared ve Champion çeşidi elmalardan elde edilen pürelerde toplam fenolik madde miktarları belirlenmiş, Champion çeşidi elmalardan elde edilen pürede; toplam fenolik madde miktarı (142 mg/100g) ve prosiyanidin B2 konsantrasyonunun (17.3 mg/100g) daha yüksek olduğu ve polimerik prosiyanidinlerin toplam polifenollerin %41'ini oluşturduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda, elma püresinin doğal antioksidanlar, özellikle klorojenik asit ve prosiyanidinlerce zengin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, toplam fenolik miktarının özellikle polimerize prosiyanidin miktarlarının, elma püresi hazırlama metodu ve depolama süresine göre değiştiği ve buna bağlı olarak radikalleri uzaklaştırma aktivitesinin de değişebileceği düşünülmektedir.

Çizelge 2.6 Bazı proantosiyanidinlerin ve flavan-3-ol monomerlerinin koruyucu etkileri
(Dixon vd. 2005, Aron vd. 2008)

Kaynak	Kimyasal bileşik	Etki
Elma	EC, Prosiyanidin B2	Antioksidan
Çikolata	EC	Antioksidan
Yeşilçay	EGCG	Antikanser
Yeşilçay	ECGC	Kolestrol sentezini engeller
Üzüm çekirdeği	GSPE	Antioksidan
Üzüm çekirdeği	GSPE	Damar sertliğini önler
Üzüm çekirdeği	Saf proantosiyanidin	Kalp hastalıklarını iyileştirir
Üzüm	Pro BP1	Böbrek yetmezliğini engeller
Cranberry	C, EC, GC2, EGC2, Oligomer	Antikanser
Cranberry	Polimerik proantosiyanidin	Antioksidan
Cranberry	Pro A	Üriner sistemde bakteri inhibisyonu
Yerfıstığı	Pro A	İç kanamadan korur
Güvercin ağacı kabuğu	Proantosiyanidinler	Antimutajenik etki
Güvercin ağacı kabuğu	Proantosiyanidinler	Ciltten su kaybının önlenmesi

EGCG: epigallokateşin galat, C: kateşin, EC: epikateşin, GC2: gallokateşin dimer, EGC2: epigallokateşin dimer, GSPE: üzüm çekirdeği proantosiyanidini-zengin ekstrakt, Pro A: A tipi proantosiyanidin

Fitzpatrick vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, üzüm çekirdeği prosiyanidinlerin pek çoğunda varolan antioksidan aktiviteye ilaveten EDR aktif (endothelium dependent relaxing) bileşiklerin bulunduğu ve bu bileşiklerin kalp-damar hastalıklarını önlemede faydalı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, bu etkinin prosiyanidinlerin epikateşin içeriği ve polimerizasyon derecesi ile arttığı belirtilmektedir. Üzüm çekirdeği proantosiyanidinleri, kalp-damar hastalıklarının bir işaretçisi sayılan LDL'nin oksidasyon derecesini önemli düzeyde azaltabilmektedir (Vinson vd. 2002). Üzümsü meyveler arasında, lingonberry ve bilberry'den sonra cranberry kateşin ve prosiyanidinleri de yüksek konsantrasyonlardaki LDL oksidasyonunu engellemektedir (Maatta vd. 2005).

Çikolatada bulunan uzun zincirli prosiyanidinlerin, sulu ortamlarda radikallerce indüklenen lipit oksidasyonunun engellenmesinde en iyi etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Counet ve Collin, 2003). Saito vd. (2004) tarafından yapılan bir

çalışmada da prosiyanidin oligomerlerinde zincir uzunlukları arttıkça Maillard reaksiyonlarının inhibisyonunun arttığı ve Maillard reaksiyonlarına karşı en güçlü etkiye prosiyanidin trimerlerinin sahip oldukları belirlenmiştir. Wegrzyn vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, 100 mL yağsız süte 0, 50, 100, 200 mg düzeylerinde elma polifenollerini eklenerek bir model sistem geliştirilmiş ve bu şekilde hazırlanmış sütlerde önemli ölçüde antioksidan kapasite belirlenmiştir. Antioksidan kapasite ısı uygulaması (120 °C, 5 dak.) sırasında değişmeden kalmış, ancak depolama süresince bir miktar azalmıştır. Geliştirilen bu sistemde yüksek polifenol içeren sütler daha yüksek stabilite göstermiştir. Ayrıca, sisteme askorbik asit ilavesiyle antioksidan kapasite artmış ve esmerleşme reaksiyonları yavaşlatılmıştır. Ancak depolama ile askorbik asit konsantrasyonu hızla azalmış, 38 °C’de 2 hafta ya da 20 °C’de 10 haftalık depolama sonucunda sıfıra yaklaşmıştır. Bu çalışmada elde edilen veriler, antioksidan maddelerin, özellikle de polifenollerin, süte ve diğer içeceklere eklenmesinin gerek ısıtma gerekse depolama süresince stabiliteyi artırdığı ve bu amaçla kullanılabileceğini göstermiştir.

Üzüm sularındaki flavan-3-ol konsantrasyonu presleme yöntemi, çeşit, pastörizasyon ve bağ bozumu zamanından etkilenmektedir (Fuleki vd. 2003). Ayrıca, prosiyanidinler üzüm sularının konsantre edilmesi ve şişelenmesi aşamalarında uygulanan ısıya da duyarlılık göstermektedirler (Spanos vd. 1990). Pastörizasyon işlemi sonunda, kateşin konsantrasyonu soğuk preslenmiş meyve sularında artarken sıcak preslenmiş meyve sularında azalmakta, buna karşın prosiyanidin konsantrasyonları da artmaktadır (Fuleki vd. 2003). Spanos ve Wrolstad (1990) SO₂’nin toplam prosiyanidin miktarı üzerine etkilerini incelemiş ve proses sırasında SO₂ eklenmiş üzüm sularında toplam prosiyanidin miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, prosiyanidinlerin oksidasyonunun SO₂ tarafından engellenmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir.

Ortin vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, şaraplarda yillanma sırasında en iyi renk karakteristiği ve stabilitesinin prosiyanidin içeren şaraplarda olduğu belirlenmiştir. Ancak, şarapta 6 aylık bir depolama sonucunda toplam proantosiyandin konsantrasyonunda önemli bir azalış olmaktadır (Cosme vd. 2009). Benzer şekilde,

Spanos vd. (1990) tarafından yapılan bir çalışmada da 25 °C’de 9 aylık depolama sonucunda üzüm sularında bulunan toplam prosiyanidin miktarında kayıpların meydana geldiği bildirilmektedir. Cosme vd. (2008), durultma yardımcı maddelerinin beyaz şarap proantosiyandinleri üzerine etkilerini incelemiş ve monomerik flavanollerin kazein, düşük molekül ağırlıklı jelatin ve balık tutkalı (isinglass) ile önemli oranda azalmakta olduğu, bunun aksine oligomerik bileşiklerin ise balık tutkalı ile azalmadığı belirlenmiştir. Yine bu çalışmada, polimerik proantosiyandinlerin polimerizasyon derecelerinin durultma yardımcı maddelerinin eklenmesinden sonra azaldığı belirlenmiştir. Gu vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da, alkali ile muamele ve ya bir diğer adıyla Dutching işlemi uygulamanın antioksidan kapasite ve prosiyanidin içeriklerinde önemli bir azalışa neden olduğu belirlenmiştir. Dutching; asitliğin düşürülerek kakonun daha iyi çözünebilir, koyu renkli, yumuşak bir tada sahip olması için uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntem ilk kez Hollandalılar tarafından geliştirildiği için Dutching adını almıştır. Nitekim, doğal toz kakaonun toplam prosiyanidin içeriği 48.70 mg/g iken Dutching işlemi uygulanmış kakao da bu değer 10.82 mg/g olarak belirlenmiştir. Whitacre vd.. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada ise kakao tohumlarındaki prosiyanidin içeriğinin, fermantasyon derecesine ve genotipe göre değişiklik gösterdiği bildirilmektedir.

Gıdalardaki proantosiyandinlerin gastrointestinal parazitleri kontrol etmeye de yardımcı olduğu belirlenmiştir (Min vd.. 2003). A.B.D.’de, cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) sularının üriner sistemde patojen bakterilerin tutunmasını önlediği için koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle üriner sistem sağlığı ve prostatı önlemede tavsiye edilmektedir (Foo vd.. 2000). Bununla birlikte, cranberry sularının nektar olarak tüketildiği ve bu nektarlardaki meyve oranının da % 40 düzeyinde olduğu düşünüldüğünde, cranberry nektarlarının tüketilmesiyle antioksidan aktivitenin ne düzeyde olabileceği konusunda kuşku duyulmaktadır. Marvan vd.. (1986) tarafından yapılan bir çalışmada yaban mersinlerinin *Saccharomyces bayanus* ve *Pseudomonas fluorescens* üzerine önemli antimikrobiyel etkiye sahip olduğu, proantosiyandinler ve flavonollerin temel mikrobiyel inhibitörler olduğu bildirilmektedir. Bu çalışma ile benzoik asitler %15.6, flavonollar %18.5’lik inhibisyon sağlarken, proantosiyandinlerin %21.3’lük inhibisyon sağladığı belirlenmiştir. Yine bu

Çalışma ile benzoik asitler pH 4.0’da inhibisyon aktivitesini kaybederken, proantosiyandinlerin pH 5.0 veya daha üzerinde bile inhibisyon etkisini koruduğu belirlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Nar

Araştırmamızda materyal olarak, Akdeniz kuşağında yaygın olarak yetiştirilen yoğun renkli narlar (*Punica granatum* Linn.) kullanılmıştır. Ankara Büyükşehir Belediyesi Toptancı Hal’inden temin edilen bu narların şekilleri yuvarlak, kabuk rengi kırmızı ve danelerinin rengi ise koyu kırmızıdır. Bu materyalin seçilmesindeki temel etken, seyretilmeden içilebilir bir “şeker:asit” dengesine sahip olmasıdır.

Nitelikli bir nar suyunun fazla buruk olmayan, uygun şeker:asit dengesine sahip ve koyu renkli olması gerekmektedir. Aynı zamanda, meyve suyu üretim teknolojisi ve tüketici beğenisi açısından da “şeker:asit” dengesi oldukça önem taşımaktadır. Cemeroğlu vd. (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, suda çözünür kuru maddesi 14°Bx’in altında olan nar sularının sulandırılmış olabileceği veya nar suyu üretiminde olgunlaşmamış narların kullanılmış olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda kullanılacak nar çeşidi seçilirken “ratio değeri” olarak da adlandırılan “şeker:asit” ya da “titrasyon asitliği, %” oranları belirlenmiş ve uygun çeşit saptanmıştır. Bu saptamada, suda çözünür kuru maddenin 14°Bx’in üzerinde ve ratio değerinin 15:1’in altında olmasına dikkat edilmiştir.

3.1.2 Kimyasallar

Antioksidan aktivite tayininde (radikal çözeltinin hazırlanmasında) kullanılmak üzere, 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 gallik asit ile Folin-Ciocalteu ayracı Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Prosiyanidin dağılımının belirlenmesinde, prosiyanidinlerin saflaştırılması aşamasında kullanılacak olan Sephadex LH-20 de yine Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.), mehanol ise Merck (Darmstad, Almanya) firmasından satın alınmıştır. Prosiyanidinlerin HPLC ile analizinde de daima HPLC saflığında (HPLC grade) solventler kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Narın meyve suyuna işlenmesi

Bu çalışmada nar suları iki farklı yöntemle elde edilmiştir. Narların büyük bir kısmı kabukları ile birlikte preslenerek nar suyu elde edilmiştir. Bir kısım nar ise, danelendikten sonra meyve suyuna işlenmiştir.

Narlar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde işlenerek, nar suyu elde edilmiştir. Bu amaçla, narlar öncelikle işletmede etkin bir şekilde yıkanmış ve çiçek evleri keskin bir bıçakla alınmıştır. Bu şekilde, etkin yıkama ve çiçek evlerinin uzaklaştırılması ile mikrobiyel bulaşı olasılığının en aza indirilmesi amaçlanmıştır. Narlar daha sonra 4'e bölünmüş ve paketli preste (Bucher-Guyer, Niederweningen, İsviçre) preslenmiştir. Bu işlemler sırasında kullanılan bıçak, her bir kesim işleminden sonra etil alkole daldırılıp kısmen sterilize edilmiştir.

Nar suyu üretiminde randıman %54'e ulaşabilmektedir. Ancak aşırı basınç uygulanarak üretilen nar suyu, içerdiği fenolikler nedeniyle oldukça buruk bir tada sahip olmaktadır (Vardin ve Fenercioğlu 2003). Bu nedenle, presleme sırasında aşırı basınç uygulamasından kaçınılması önerilmektedir (Cemeroğlu 2004). Çalışmamızda ise randımanın %35–40 düzeyinde olması hedeflenmiş ve bu amaçla pres basıncı kademeli olarak artırılarak maksimum pres basıncına (11,2 kg/cm²) 30 dakikada ulaşılmıştır. Kullanılan nar ve elde edilen nar suyu dikkate alındığında %35.2'lik bir randımana ulaşıldığı belirlenmiştir.

Presleme işleminden sonra elde edilen nar suyu (nar ham suyu) tülbentten süzülerek kabaca filtre edilmiştir. Daha sonra nar sularının bir bölümü durultulmadan 1.5 L'lik PET (Polietilen terafitalat, Polyethylene teraphthalate) şişelere doldurularak konsantrasyon işlemine kadar dondurulmuş olarak –23°C'de muhafaza edilmiştir. Diğer

bir kısım nar suyu ise durultma işlemine kadar 10 L'lık PET şişelerde +5°C'de muhafaza edilmiştir.

Presleme
168.3 kg nar $\longrightarrow$ 59.25 kg nar ham suyu

$$\text{Randıman (\%)} = \frac{59.25 \text{ kg nar ham suyu}}{168.3 \text{ kg nar}} \times 100 = \%35.2$$

Presleme işleminden önce ayrılmış olan bir kısım nar, etkin bir şekilde yıkandıktan sonra çiçek evleri bıçakla uzaklaştırılmış ve ikiye bölünmüştür. Daha sonra daneler elle, kabuk ve dilim zarlarından ayrılmıştır. Tülbent bez içine koyulan daneler elle sıkılarak meyve suyu elde edilmiştir. Elde edilen bu nar sularının bir bölümünde durultulmadan analizler yapılırken, kalan kısmında ise durultma işlemi uygulandıktan sonra analizler yapılmıştır. Bu nar sularının bir bölümü durultulmadan analizlere kadar -23°C'de muhafaza edilirken, geri kalan kısmı ise durultma işlemine kadar +5°C'de kısa bir süre muhafaza edilmiştir.

Daha sonra gerek preslenerek gerekse de daneden elde edilen nar ham sularında genel bileşimini belirlemek için; suda çözünür kuru madde (briks), pH, titrasyon asitliği, toplam fenolik madde miktarı, kondense olabilen fenolik madde miktarı, prosiyanidin miktarı ve antioksidan aktivite içerikleri belirlenmiştir.

3.2.2 Nar ham suyunun durultulması

Nar suyunda iz miktarda pektin bulunduğu için (Vardin ve Fenercioğlu 2003), nar ham sularına depektinizasyon işlemi uygulanmaksızın sadece jelatin kullanılarak soğuk durultma uygulanmıştır. Daha önce laboratuvarımızda yürütülen çalışmalarda 1 L bulanık nar suyuna 50 mL %0.5'lik jelatin çözeltisi eklenerek (250 mg jelatin/L meyve suyu) berrak meyve suyu elde edilmiştir (Özkan vd.. 2002). Çalışmamızda da nar suyunun durultulması için aynı yolun izlenmesi öngörülmüştür. Ancak yine de elde

edilen nar suyunun fenolik madde içeriğinin farklı olabileceği düşüncesiyle ön deneme yapılarak durultmada kullanılacak jelatin miktarı belirlenmiştir. Ön denemelerde kullanılan nar ham suyunun asıl kitleyi temsil edebilmesi amacıyla her bir durultma denemesinde 500 mL nar suyu kullanılmıştır. Durultma, +5°C'ye kadar soğutulmuş nar suyuna gerekli jelatin çözeltisi eklendikten sonra +5°C'de bir gece bekletilmesi şeklinde yapılmıştır. 1 L nar ham suyunun durultulması için bütün meyveden elde edilen nar sularında %1'lik (w/v) jelatin çözeltisinden 100 mL (2 g jelatin/L nar suyu) kullanılırken, danelerden elde edilen nar sularında %0.5'lik (w/v) jelatin çözeltisinden 80 mL (0.4 g jelatin/L nar suyu) kullanılmıştır. Durultulan nar sularının üstteki berrak kısmı kaba filtre kağıdından geçirilerek filtre edilmiş ve türbidimetreyle bulanıklık ölçümleri yapılmıştır. Durultma sonunda bütün meyveden elde edilen nar sularında 1.75 NTU (Nephelometric Turbidity Units), danelerden elde edilen nar sularında ise 2.23 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır. İki farklı yöntemle elde edilen durultulmuş nar sularında bir önceki bölümde verilen ve nar ham sularına uygulanan aynı analizler yapılmıştır.

3.2.3 Nar ham sularının konsantreye işlenmesi

Bütün meyveden elde edilen durultulmuş ve durultulmamış bir kısım nar suyu 69°Briks'e kadar döner (rotary) evaporatörde (Heidolph Laborota 4003, Schwabach, Almanya) vakum altında 50°C'de konsantre edilmiştir. Konsantre örneklerinin muhafaza edileceği kavanozlar boş olarak ve kapakları hafif açık olarak kapatılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Nar suyu konsantreleri, steril kavanozlara doldurulmadan önce döner evaporatörde 70°C'ye ısıtılmıştır. Daha sonra steril kavanozların kapakları bunzen beki yanında açılıp, 70°C'ye ısıtılmış yaklaşık 30–35 g konsantre örnek hızlı bir şekilde kavanozlara doldurulmuş ve kapakları hermetik olarak kapatılmıştır. Daha sonra kavanozlar hızla oda sıcaklığına kadar soğutulmuşlardır.

3.2.4 Nar suyunun pastörizasyonu

Elde edilen durultulmuş ve durultulmamış nar sularına pastörizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla 200 mL hacimli cam şişelere 100 mL nar suyu konulmuş ve şişelerin ağzı hermetik olarak kapatılmıştır. Daha sonra nar suları 95°C’de 15 dakika süreyle kaynar su içerisinde pastörize edilmiştir. Pastörize işlemi sonunda örnekler hızla soğutularak oda sıcaklığına getirilmişlerdir. Pastörize edilen nar suyu örneklerine diğer örneklerle uygulanan analizler yapılmıştır.

3.2.5 Fiziksel analizler

3.2.5.1 Suda çözünür kuru madde tayini

Örneklerde suda çözünür kuru madde (briks), refraktometrik olarak saptanmıştır. Bu amaçla dijital bir refraktometreden (Atago, Rx-7000α, Tokyo, Japonya) yararlanılmıştır. Nar suları ve konsantrelerinin briks ölçümleri 20°C’de yapılmıştır.

3.2.5.2 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (WTW Inolab Level 1, Weilheim, Almanya) kullanılarak saptanmıştır. Bu amaçla, nar suyu örneklerinden bir behere 10 mL alınarak, üzerine 10 mL damıtık su ilave edilip manyetik karıştırıcıda (IKA Genius 3, Staufen, Almanya) karıştırıldıktan sonra pH değeri belirlenmiştir. Nar konsantreleri ise, 1.25 g tartılarak üzerine 20 mL damıtık su ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra pH değeri belirlenmiştir. Nar suyunun tampon niteliği yüksek olduğundan sulandırma oranı fazla bile olsa pH değeri değişmemektedir (Cemeroğlu 2007). pH ölçümleri de 20°C’de yapılmıştır.

3.2.5.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Bu analiz durultma işleminin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla durultulmuş ve kaba filtreden geçirilmiş nar sularına uygulanmıştır. Bulanıklık düzeyi bir türbidimetre (Hach Ratio/XR 43900, Loveland, A.B.D.) yardımıyla belirlenmiş ve NTU (Nephelometric Turbidity Unit) değeri ile ifade edilmiştir. Bulanıklık düzeyi nar sularında doğrudan, konsantrelerde ise doğal nar suyu briksine (16°Briks) seyreltildikten sonra belirlenmiştir. Bu amaçla, 9.05 g nar suyu konsantresi 30 mL damıtık su ilavesiyle seyreltilerek doğal nar suyu briksine getirilmiştir. Türbidimetrenin sıfır ayarı, konsantrenin seyreltilmesinde kullanılan damıtık su ile yapılmıştır.

3.2.6 Kimyasal analizler

3.2.6.1 Titrasyon asitliği tayini

Titrasyon asitliği, pH izlenerek yürütülen elektrometrik titrasyonla saptanmış ve bu amaçla IFU (1968) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. pH tayini için hazırlanmış olan örneklerden 20 mL alınarak, ayarlı 0.1 N NaOH ile pH 8.1'e ulaşıncaya kadar titre edilmiştir. Titrasyon asitliği nar suyu ve konsantrelerinde susuz sitrik asit cinsinden sırasıyla, “g/100 mL” ve “g/100 g” olarak hesaplanmıştır.

3.2.6.2 Toplam fenolik bileşiklerin tayini

Singleton ve Rossi (1965) tarafından önerilen Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu ayıracını indirgeyerek kendilerinin oksitlenmiş forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna ve bu reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayıracın oluşturduğu mavi regin spektrofotometrede 720 nm dalga boyunda şahide karşı okunmasına dayanmaktadır. Örnekte ölçülecek absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart eğrinin denkleminde hesaplanmıştır. Toplam fenolik bileşik miktarı nar suları ve konsantrelerinde sırasıyla, “mg gallik asit/L” ve “mg gallik asit/kg” cinsinden belirlenmiştir.

Analize başlamadan önce, bu analizde kullanılacak doymuş karbonat çözeltisi hazırlanmıştır. Öncelikle, 35 g Na_2CO_3 tartılarak üzerine 100 mL damıtık su eklenmiş ve daha sonra iyice karıştırılarak kendi halinde bir gece bekletilmiştir. Elde edilen doymuş çözeltiye birkaç $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ kristali eklenerek kristalizasyon başlatılmıştır. Kristalizasyon sona erince çözelti cam pamuktan filtre edilerek doymuş karbonat çözeltisi elde edilmiştir.

Nar suyu ve konsantre örnekleri fazla miktarda fenolik bileşik içermeleri nedeniyle seyreltilerek analize hazırlanmıştır. 1 mL nar suyu 5 mL'lik ölçü balonunda damıtık su ile seyreltilirken, yaklaşık 1 g nar suyu konsantresi 25 mL'lik ölçü balonunda damıtık suyla seyreltilmiştir. 100 mL'lik ölçü balonuna konulan 75 mL damıtık su üzerine 1 mL seyreltilmiş nar suyu veya konsantresinden eklenmiştir. Daha sonra, balon içeriği üzerine 5 mL Folin-Ciocalteu ayracı eklenerek balon iyice çalkalanmıştır. 3 dakika kendi haline bırakıldıktan sonra, üzerine 10 mL doymuş sodyum karbonat çözeltisi eklenip balon damıtık su ile işaretine tamamlanmış ve bir kez daha iyice çalkalanmıştır. Balon içeriği kendi halinde 60 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede aynı şekilde hazırlanmış şahide karşı 720 nm'de absorbanı saptanmıştır.

Nar suyu ve konsantrelerindeki fenolik madde içeriği gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla 250 mg gallik asit 250 mL absölü etil alkolde çözüldürülerek 1000 mg/L konsantrasyonda gallik asit stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL alınarak her biri 5 mL'lik ölçü balonlarına aktarılmış, balonlar absölü etil alkol ile çizgisine tamamlanmıştır. Bu şekilde sırasıyla 100, 200, 400, 600 ve 800 mg gallik asit/L konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler ile 1000 mg/L konsantrasyonda hazırlanan stok çözeltiye nar suyu ve konsantresi örneklerine uygulanan analiz aşamaları uygulanmış ve yine 720 nm dalga boyunda bu 6 çözeltinin absorban değerleri saptanmıştır. Bu absorban değerleri gallik asit konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen verilere linear regresyon analizi uygulanarak gallik asit standart eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Örneklerin absorbans değerleri gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı standart eğriyi tanımlayan eşitlik yardımıyla bulunmuştur. Regresyon eşitliğinden bulunan konsantrasyon değerleri uygulanan seyreltme oranları ile çarpılarak örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.

3.2.6.3 Kondense olabilir fenoliklerin tayini

Tanner ve Brunner (1979) tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır. Bu yöntemin ilkesi, düşük moleküllü monomerik kateşin ve löykoantosiyanınların tayin edilmesine dayanmaktadır. Vanilin; kateşinler ve löykoantosiyanınların 6. ve 8. pozisyonlarıyla kırmızı bir renk oluşturarak reaksiyona girmekte ve bu renk 500 nm’de ölçülmektedir. Analize başlamadan önce, bu analizde kullanılacak %70’lik sülfirik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanmış olan sülfirik asit çözeltisi içerisinde 1g vanilin çözündürülerek vanilin çözeltisi hazırlanmıştır.

Nar suyu ve konsantre örnekleri fazla miktarda fenolik bileşik içermeleri nedeniyle seyreltilerek analize hazırlanmıştır. Seyreltme, spektrofotometrede okunan absorbans değeri 0.200-0.600 arasında olacak şekilde yapılmıştır. Bu amaçla, 1 mL nar suyu 50 mL’lik ölçü balonunda damıtık su ile seyreltilirken, yaklaşık 1 g nar suyu konsantresi 250 mL’lik ölçü balonunda damıtık suyla seyreltilmiştir. Daha sonra her bir seyreltilmiş örnek için A, B ve C tüpü olmak üzere 3’er deney tüpü alınmıştır. A tüpü, 2.0 mL seyreltilmiş örnek 4.0 mL vanilin çözeltisi; B tüpü, 2.0 mL seyreltilmiş örnek ve 4.0 mL sülfirik asit çözeltisi (%70, v/v); C tüpü ise 2.0 mL damıtık su ve 4.0 mL vanilin çözeltisi (şahit tüpü) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Tüp içerikleri hazırlandıktan sonra 15 dak. beklenmiş ve spektrofotometrede damıtık suya karşı 500 nm’de absorbanları saptanmıştır.

Nar suyu ve konsantrelerindeki kondense olabilen fenolik madde içeriği kateşin kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla, 25 mg kateşin 50 mL etil alkolde çözündürülerek 500 mg/L konsantrasyonda kateşin içeren stok kateşin çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra bu stok çözeltiden 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL alınarak

her biri 100 mL'lik ölçü balonlarına aktarılmış, balonlar damıtık su ile çizgisine tamamlanmıştır. Böylece, sırası ile 5, 10, 15, 20, 25 mg kateşin/L konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltilere nar suyu ve konsantresi örneklerine uygulanan analiz aşamaları uygulanmış ve yine 500 nm dalga boyunda bu 5 çözeltinin absorbens değerleri saptanmıştır. Bu absorbens değerleri kateşin konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen verilere lineer regresyon analizi uygulanarak kateşin standart eğrisi ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Örneklerin net absorbens değerleri, A tüpüne ait absorbens değerinden aynı örneklere ait B ve C tüplerinde okunmuş absorbens değerleri çıkarılarak hesaplanmıştır. Bu absorbens değerleri standart eğri için hesaplanan doğrusal regresyon denkleminde yerine konularak, seyreltilmiş örnekteki kondense olabilir fenolik bileşiklerin miktarı hesaplanmıştır. Regresyon eşitliğinden bulunan kondense olabilen fenolik bileşiklerin kateşin cinsinden eşdeğeri olan konsantrasyon değerleri uygulanan seyreltme oranları ile çarpılarak örneklerdeki kondense olabilen fenolik madde miktarı hesaplanmıştır.

3.2.6.4 Antioksidan aktivite tayini

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

Antioksidan aktivite tayini analizinde öncelikle 2.45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM'lık ABTS çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, 20°C'ye ayarlı bir inkübatörde (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) 12–16 saat arasında bekletilerek, ABTS^{•+} radikal çözeltinin oluşması sağlanmıştır. Daha sonra bu radikal çözeltisinin, örneklerin ve

troloks standardının seyreltilmesinde kullanılacak olan PBS (fosfat tamponu; **Phosphate Buffer Saline**) çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla, öncelikle 0.1 M fosfat tamponu hazırlanmış ve üzerine 8.77 g NaCl eklenerek 1 L'ye damıtık suyla tamamlanmıştır. Böylece pH'sı 7.4 olan PBS çözeltisi elde edilmiştir.

Nar suyu ve konsantreleri 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, kavanoz içeriği karıştırılmadan yüzeye yakın kısımdan yaklaşık 1 g örnek alınarak, 250 mL hacme PBS ile seyreltilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (PBS) aynı anda konulabildiği çift huzmeli (double beam) spektrofotometre (ThermoSpectronic Helios- α , Cambridge, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Küvetlerin bulunduğu bölümün sıcaklığı sirkülasyonlu su banyosu (PolyScience 9106, Niles, IL, A.B.D.) ile 30°C'de sabit tutulmuştur. Absorbans ölçümleri 734 nm'de 2 mL hacimde 1 cm ışık yolu uzunluğunda tek kullanımlık mikro küvetlerde yapılmıştır. Analize başlamadan önce ABTS^{•+} radikal çözeltisi PBS çözeltisi ile 734 nm'de absorbans değeri 0.700±0.02 olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ABTS^{•+} radikal çözeltisinden 1 mL mikro küvete alınmış, PBS çözeltisine karşı okuma yapmak üzere spektrofotometreye yerleştirilmiş ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. Mikro küvet içindeki radikal çözeltisi üzerine örnekten 10 μ L eklenir eklenmez kronometre çalıştırılmıştır. 6 dakika boyunca, her bir dakikada absorbans ölçümü yapılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Nar suyu örneklerinde bulunan antioksidan bileşikler, radikal çözeltisinin rengini gittikçe açarak 6 dakikalık süreçte absorbans değerleri zamana bağlı olarak düşmüştür. 6. dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) hesaplanmıştır.

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

10 μ L örnek alınarak yapılan bu işlemler en az 3 kez tekrarlanmış ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalaması alınmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilerek 20, 30 ve 40 μ L hacimlerde aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ortalama yüzde

inhibisyon değerleri örnek hacimlerine (10, 20, 30 ve 40 μ L) karşı bir grafiğe aktarılmış ve bu verilere lineer regresyon analizi uygulanarak örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır.

Nar suyu ve konsantrelerinin antioksidan aktiviteleri troloks kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla, 62.57 mg troloks (MW=250.29) tartılıp kayıpsız olarak 100 mL'lik bir ölçü balonuna aktarılarak PBS 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 zeltisi ile hacme tamamlanarak standart çözeltiler elde edilmiştir. Böylece, bu standart zeltilerden 10 μ L alınıp mikro küvet içerisindeki 1 mL radikal çözeltisine eklendiğinde mikro küvet içerisinde sırasıyla 5, 10, 15 ve 20 μ M konsantrasyonlarda troloks olması sağlanmıştır. Örneklere uygulanan spektrofotometrik uygulamalar troloks standartlarına da uygulanmış, ortalama inhibisyon değerleri hesaplanarak troloks konsantrasyonuna karşı grafiğe işlenmiştir. Elde edilen verilere lineer regresyon analizi uygulanmak suretiyle, troloks standart eğrisine 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 örneklere antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir.

3.2.6.5 Prosiyanidin dağılımının belirlenmesi

Spanos ve Wrolstad (1990) ile Skrede vd. (2000) tarafından önerilen yöntemlere göre prosiyanidinler 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, peristaltik pompa (H.R. Flow Inducer, Watson-Marlow Limited, Cornwall, İngiltere) yardımıyla ayarlanmıştır. Elde edilen polimer yatak 5 mL damıtık su ile yıkandıktan sonra, 2 mL örnek kolona yüklenmiştir. Kolondan, önce 30 mL %20’lik metanol ile akışı kolaylaştıracak hafif bir vakum altında safsızlık unsurları uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, kolon tekrar 15 mL, ancak bu defa %100 metanol ile yıkanarak kolonda tutunmuş olan prosiyanidinler toplanmıştır. Sephadex LH-20 ile hazırlanan kolon metanol ile yıkanırken ortamdan öncelikle şekerler ve fenolik asitler, onları takiben flavonol ve antosiyaninler uzaklaşmaktadır. Son olarak yapılan %100’lük metanol ile yapılan yıkama sonucunda ise prosiyanidinlerin saf olarak elde edildiği belirlenmiştir (Prior vd.. 2001). Spanos ve Wrolstad (1990) tarafından yapılan bir çalışmada da bu yöntemle prosiyanidinlerin geri kazanım (recovery) oranının %92.3 olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen ekstrakt, 35°C’de vakum altında kurutulmuş ve kalıntı 2 mL suda (HPLC grade) çözündürülmüştür. Bu ekstrakt 0.22 µm’lik membran filtreden (Sartorius AG, Goettingen, Almanya) süzülerek HPLC’nin oto-örnekleme ünitesinde kullanılan amber renkli 2mL’lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC’ye enjekte edilmiştir.

Tanımlama ve hesaplama

Prosiyanidinlerin 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 diyoteray dedector), +4°C’ye inebilen soğutma sistemine sahip oto-örnekleyci (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, 4 µm) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Koruyucu kolon:** C₁₈ koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Akış hızı** : 1 mL dak.⁻¹
- **Elüsyon süresi** : 60 dak.
- **Enjeksiyon hacmi** : 50 µL
- **Dalga boyu** : 280 ve 320 nm
- **Hareketli faz (mobile phase)** : 0.07 M KH₂PO₄ (pH 2.5) (A) ile metanol (B) karışımı. Gradyent akış söz konusu olup aşağıda verilen elüsyon profili uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Prosiyanidinler için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	% A	% B
0	90	10
5	90	10
10	80	20
20	80	20
30	75	25
40	60	40
60	60	40

Kromatogramlarda elde edilen prosiyanidin pikleri prosiyanidin B1, prosiyanidin B2, epikateşin ve kateşin standart maddelerinin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spekturumları ile karşılaştırılmıştır. Ancak, bu karşılaştırma sonucunda prosiyanidin pikleri tanımlanamamıştır. Bu nedenle, nar suyu ve konsantrlerinin prosiyanidin miktarları gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Nitekim, Kantz ve Singleton (1990, 1991) tarafından yapılan çalışmalarda da prosiyanidin miktarları gallik asit cinsiden hesaplanmıştır. Bu amaçla, 250 mg gallik asit 250 mL absölu etil alkolde çözündürülerek 1000 mg/L konsantrasyonda gallik asit stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden de 5, 100, 250 ve 500 mg gallik asit/L konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltilere nar

suyu ve konsantresi örneklerine uygulanan analiz aşamaları uygulanmıştır. Elde edilen piklerin alanları hesaplanarak gallik asit konsantrasyonuna karşı grafiğe işlenmiştir. Elde edilen verilere lineer regresyon analizi uygulanmak suretiyle, gallik asit eğrisine ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneklerdeki prosiyanidin miktarı, gallik asit ile oluşturulan standart eğriden hesaplanmıştır.

3.2.7 İstatistik değerlendirme

Nar sularının bütün meyve ve daneden elde edilmesiyle durultma ve pastörizasyonun, toplam fenolik madde miktarı, kondense olabilen fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları üzerine etkilerini belirlemek için durultulmuş ve durultulmamış olan hem dane hem de bütün meyveden elde edilen veriler iki tekerrürlü faktöriyel düzende varyans analiz tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, prosiyanidin miktarı ve antioksidan aktivite arasındaki ilişkide belirlenmiştir. 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

Çalışmamızda materyal olarak kullandığımız narların bir bölümü dörde bölündükten sonra kabukları ile bir bölümü ise, danelendikten sonra preslenmiştir. Elde edilen nar ham sularının da bir bölümüne durultma uygulanmış, diğer bölümüne ise uygulanmamıştır. Aynı şekilde durultulmuş ve durultulmamış nar sularının bir bölümüne pastörizasyon uygulanırken, geri kalan bölümüne ise pastörizasyon işlemi

uygulanmamıştır. Bir bölüm durultulmuş ve durultulmamış nar suyuna ise, konsantrasyon işlemi uygulanmıştır.

Endüstride uygulanan yönteme paralel olarak kabuklarıyla preslenen narlardan elde edilen nar suları, “bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar suyu” ve bu nar sularından elde edilen konsantreler ise, “bütün meyveden üretilen nar suyu konsantresi” olarak tanımlanmıştır. Diğer taraftan, durultulmamış nar sularının konsantre edilmesiyle elde edilen örnekler “durultulmamış nar suyu konsantresi”, durultulmuş nar sularının konsantre edilmesiyle elde edilen örnekler ise “durultulmuş nar suyu konsantresi” olarak tanımlanmıştır.

4.1 Nar Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Durultma ve pastörizasyon işlemleri uygulanmış ve uygulanmamış nar sularında briks, pH ve titrasyon asitliği gibi bazı nitelikler belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1 ve 4.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar, durultma ve pastörizasyon işlemlerinin, gerek bütün meyvenin gerekse de danelerin preslenmesiyle elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği üzerine önemli bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

Çizelge 4.1 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri

Nar suyu	Briks (g/100g)	pH Değeri	Titrasyon asitliği* (g 100 mL ⁻¹)
Durultulmamış	16.39	3.35	1.10
Durultulmuş	16.45	3.37	1.10
Durultulmamış (P)**	16.40	3.37	1.10

Durultulmuş (P)	16.38	3.38	1.10
-----------------	-------	------	------

*susuz sitrik asit cinsinden
** P: pastörize edilmiş

Çizelge 4.2 Danelerden elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri

Nar suyu	Briks(g/100g)	pH Değeri	Titrasyon asitliği* (g 100 mL ⁻¹)
Durultulmamış	16.46	3.39	1.10
Durultulmuş	16.44	3.39	1.09
Durultulmamış (P)**	16.39	3.40	1.09
Durultulmuş (P)	16.28	3.38	1.09

*susuz sitrik asit cinsinden

** P: pastörize edilmiş

Nar Ham Suyunun Durultulması

Nar suyunda iz miktarda pektin bulunduğu için (Vardin ve Fenercioğlu 2003), nar ham sularına depektinizasyon işlemi uygulanmaksızın sadece jelatin kullanılarak “soğuk durultma” uygulanmıştır. Meyve sularının az miktarda fenolik bileşik içermesi durumunda jelatin ve kizelsolün birlikte kullanılması gerekirken, yüksek miktarda fenolik madde içeren meyve sularının durultulmasında soğuk durultma uygulanması durumunda kizelsolün kullanılmasına gerek olmadığı bildirilmektedir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Bu nedenle, nar sularının durultulması sırasında kizelsol kullanılmamıştır. Daha önce “3.2.2 Nar ham suyunun durultulması” bölümünde de belirtildiği gibi durultma ön denemeleri yapılarak uygun jelatin miktarı belirlenmiştir. Bu amaçla, nar sularına 0.125 g, 0.250 g, 0.375 g, 0.500 g, 0.750 g ve 1.000 g/L konsantrasyonunda 6 ayrı dozda, daneden elde edilen nar sularına ise 0.400 g/L jelatin içerecek miktarlarda jelatin çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra yine “3.2.2 Nar ham suyunun durultulması” bölümünde belirtildiği şekilde durulma işlemi uygulanmıştır. Jelatin ön denemelerinin sonuçları Çizelge 4.3’te verilmiştir.

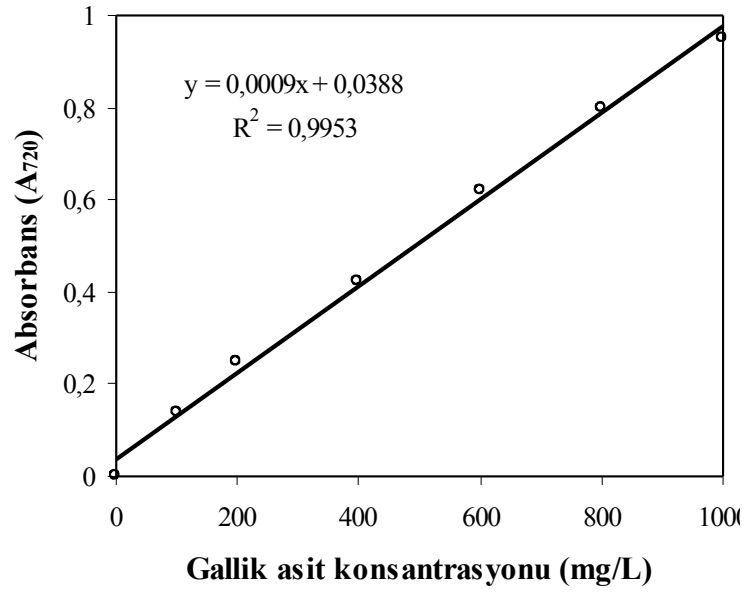
Çizelge 4.3 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham sularına (500 mL) uygulanmış jelatin ön deneme sonuçları

Jelatin çözeltisi (%1, w/v)	NTU
6.25 mL	46.5
12.50 mL	22.0
18.75 mL	17.7
25.00 mL	10.8
37.50 mL	6.5
50.00 mL	4.4

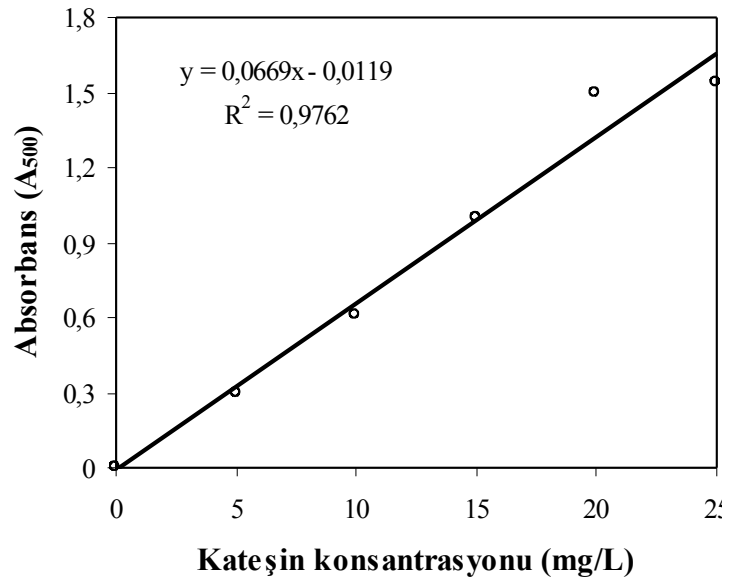
Yapılan ön denemeden elde edilen sonuçlara göre, 500 mL nar ham suyuna %1'lik jelatin çözeltisinden 50 mL (1 g jelatin) ilavesi ile en düşük NTU değerine, diğer bir deyişle arzu edilen maksimum berraklığa ulaşılmıştır. Bütün halde meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham suları, belirlenen bu jelatin dozajı kullanılarak durultulmuştur. Danelerden elde edilen nar ham suları ise %0.5'lik jelatin çözeltisinden 1 L'ye 80 mL (0.4 g/L) ilave edilerek durultulmuştur. Durultma sonunda bütün meyveden elde edilen nar sularında 1.75 NTU, danelerden elde edilen nar sularında ise 2.23 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

Nar Suyu ve Konsantrelerinin Toplam Fenolik Madde, Kondense Olabilen Fenolik Madde ve Prosiyanidin İçerikleri ile Antioksidan Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler

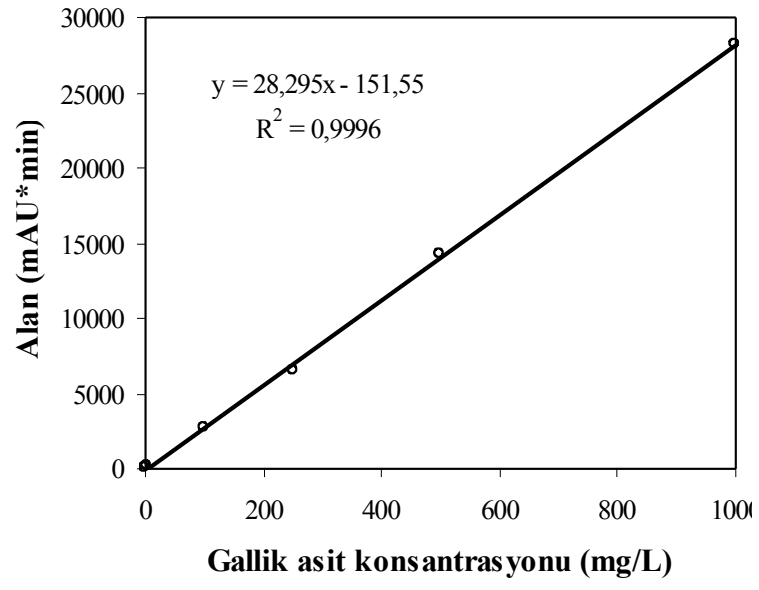
Nar suyu ve konsantrelerinde toplam fenolik madde, kondense olabilir fenolik madde ve prosiyanidin miktarı ile antioksidan aktivite tayininde gerekli olan sırası ile gallik asit, kateşin, gallik asit (HPLC ile belirlenmiş) ve troloks standart eğrileri hazırlanmış ve bu eğriler sırasıyla Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'te verilmiştir. Standart eğrilerin oluşturulmasında analizde elde edilen verilere, doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve eğrileri tanımlayan eşitlikler belirlenmiştir. Bu eşitlikler yardımıyla nar suyu ve konsantrelerinin toplam fenolik madde, kondense olabilen fenolik madde, prosiyanidin ve antioksidan aktivite miktarları hesaplanmıştır.



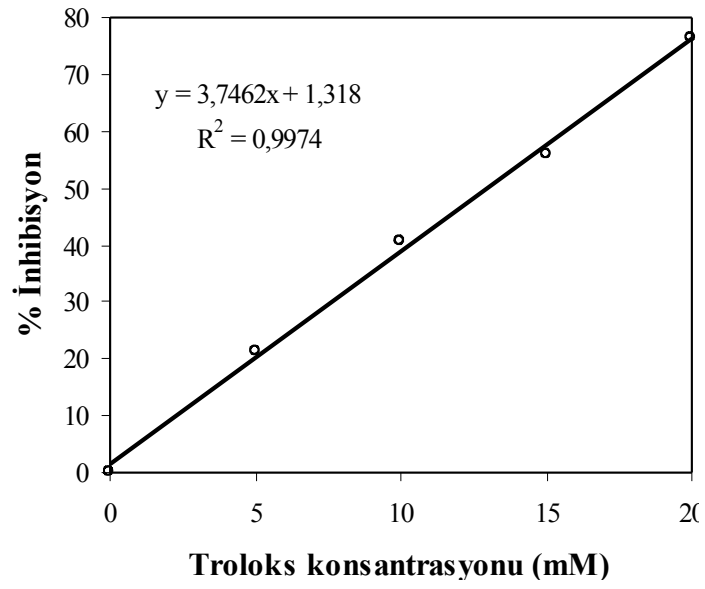
Şekil 4.1 Gallik asit standart eğrisi



Şekil 4.2 Kateşin standart eğrisi



Şekil 4.3 Gallik asit standart eğrisi



Şekil 4.4 Troloks standart eğrisi

Nar Sularının Toplam Fenolik Madde İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

İçilebilir nitelikteki bir nar suyunun fazla buruk olmaması gerekmektedir. Ancak, gerek kabuktan gerekse meyvenin içindeki kabuk uzantılarında bulunan fenolik maddeler uygulanan meyve suyu üretim yöntemine göre az ya da çok miktarlarda meyve suyuna geçerek tadı buruklaştırmaktadırlar. Bu nedenle, narlarda meyve suyu randımanı %55'e ulaşabilecekken %35'i geçmemesine özen gösterilmiştir. Aynı zamanda, nar sularının bir kısmına filtrasyonunu kolaylaştırmak, sonradan bulanmayı önlemek ve lezzeti düzeltmek için durultma işlemi uygulanmıştır. Durultma amacıyla jelatin kullanılmıştır. Nardan meyve suyu elde edilirken, bir yandan presleme basıncı ve süresi ayarlanırken diğer yandan da durultma yapılarak meyve suyuna geçen fenolik madde miktarı sınırlandırılmaktadır. Çalışmamızda da kabuktan meyve suyuna geçen fenolik madde miktarı ile durultmanın fenolik madde miktarı üzerine etkisini göstermek için danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında fenolik madde miktarları durultma yapılmadan ve durultma yapıldıktan sonra belirlenmiştir. Ayrıca durultulmamış ve durultulmuş nar suları pastörize edilerek pastörizasyonun toplam fenolik madde üzerine etkisi de ortaya konulmuştur. Bütün meyveden ve danelerden elde edilen nar sularında toplam fenolik madde miktarları saptanmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen toplam fenolik madde miktarları

Nar suyu	Toplam fenolik madde miktarı (mg L ⁻¹)**	
	Bütün meyveden	Daneden
Durultulmamış	2773±31	2073±8
Durultulmuş	1726±2	1590±20
Durultulmamış (P)*	3023±35	2393±14
Durultulmuş (P)	2023±12	1740±16

* P: pastörize edilmiş

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

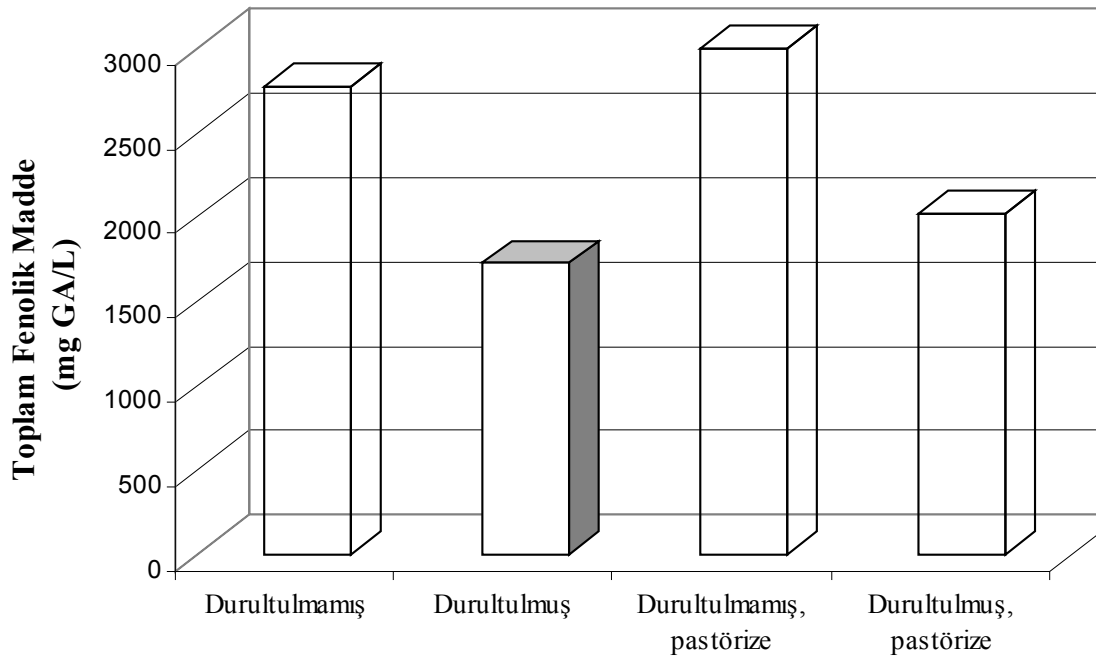
Çizelge 4.4'de görüldüğü üzere, daneden elde edilen nar sularında 2073 mg L⁻¹ düzeyinde fenolik madde bulunurken, bütün meyveden elde edilen nar sularında 2773 mg L⁻¹ düzeyinde fenolik madde bulunmuştur. Narların kabukları ile preslenmesiyle

fenolik madde miktarında %34 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Böylece, kabuktan geçen toplam fenolik madde miktarının önemli olduğu sonucuna varılmıştır ($p<0.01$). Durultma işlemi sonucunda ise bütün meyveden elde edilen nar sularında bulunan fenolik madde miktarında %38'lik bir azalış sağlanmışken, daneden elde edilen nar sularındaki azalış %23 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, durultma işleminin nar suyundaki fenolik bileşiklerin miktarı üzerine önemli etkisinin olduğunu göstermektedir ($p<0.01$). Gil vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Bu çalışmada, danelerden elde edilen nar sularında 2117 mg L^{-1} , bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında ise, 2566 mg L^{-1} düzeyinde fenolik madde bulunmuştur. Diğer bir deyişle, narların kabukları ile preslenmesiyle fenolik madde miktarında %21 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Bu sonuçlara paralel bulguların elde edildiği bir diğer çalışma da Vardin ve Fenercioğlu (2003) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada, durultma amacıyla 1 g/L konsantrasyonda jelatin ve PVPP kullanılmıştır. Durultma sonucunda, jelatin ile durultulmuş nar sularındaki fenolik madde miktarı %18.2'lik bir azalış gösterirken, PVPP ile durultulmuş nar sularında bu değer %7.2 olarak tespit edilmiştir.

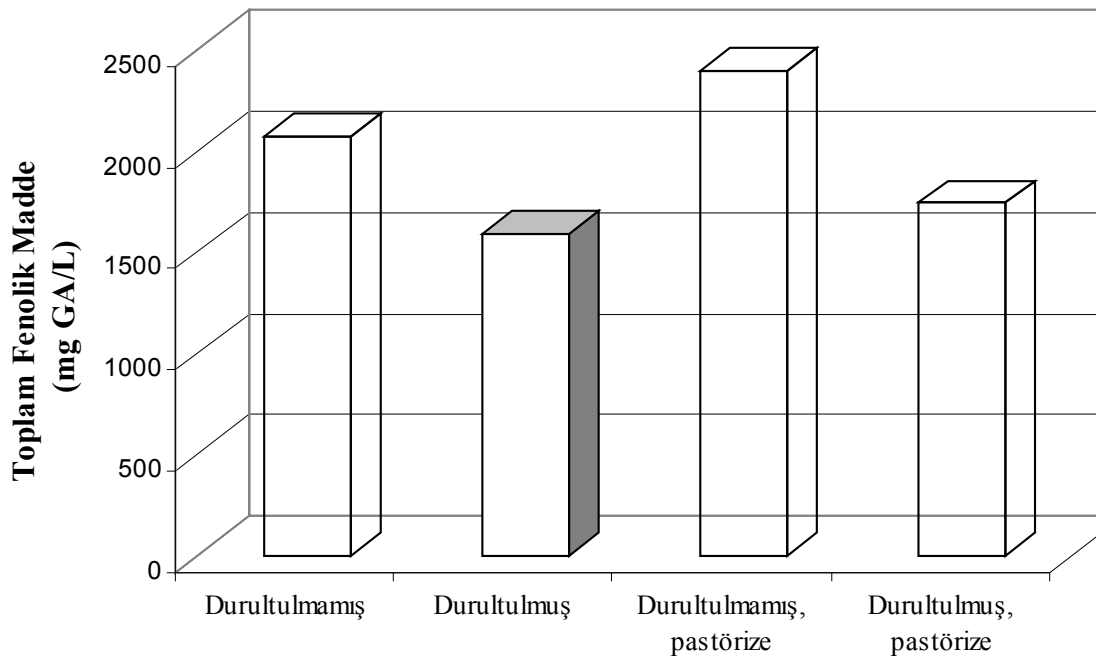
Pastörizasyon işlemi ile de fenolik madde miktarında %9-17 oranlarında artış belirlenmiştir. Örneğin pastörizasyon işlemi sonunda, bütün meyveden elde edilen ve durultulmamış nar sularının fenolik madde içeriğinde %9, durultulmuş örneklerde ise %17 düzeyinde artış gözlenmiştir. Toplam fenolik miktarında belirlenen bu artış istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Kim vd.(2006) tarafından yapılan bir çalışmada, üzüm çekirdeği ekstraktındaki toplam fenolik madde miktarının ısı uygulamasıyla önemli oranda arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Örneğin bu çalışmada, toplam fenolik madde miktarının 100°C 'de 10 dakikalık ısı uygulaması ile %46, 100°C 'de 60 dakikalık bir uygulama ile %37 ve 150°C 'de 40 dakikalık bir uygulama ile de %51 oranında arttığı bulunmuştur. Benzer şekilde Jeong vd. (2004) ve Lee vd. (2006) tarafından yapılan çalışmalarda, narınciye ve yerfıstığı kabuğunda da toplam fenolik madde miktarının ısı uygulamalarıyla arttığı bildirilmektedir. Yapılan pek çok çalışmada toplam fenolik maddelerdeki bu artışın nedeni olarak kabuk ve çekirdekte bulunan fenolik maddelerin ısı etkisiyle serbest hale geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Jeong vd. 2004, Lee vd. 2006, Kim vd. 2006, Francisco ve

Resurreccion 2009). Fenolik bileşiklerin stabil olmadıkları, yani gerek oksidasyon gerekse de polimerizasyon ile çeşitli değişikliklere uğrayabildiği ve proteinlerle kompleks yapılar oluşturabildiği bilinmektedir (Cemeroğlu vd. 2009). Nitekim, tarafımızdan yapılan çalışmada pastörizasyon işlemi ile fenolik bileşiklerin miktarının artışına, ısı uygulaması sonucunda proteinlere bağlı formda bulunan fenoliklerin serbest hale geçişinin neden olabileceği düşünülmektedir. Danelerden ve bütün meyveden preslenerek elde edilen nar sularındaki toplam fenolik madde miktarına durultma ve pastörizasyonun etkisini daha açık bir şekilde göstermek için sonuçlar sırasıyla Şekil 4.5 ve 4.6’da histogram olarak verilmiştir.

Nar sularının toplam fenolik madde miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1, Çizelge 1) “ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon” üçlü interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). İstatistik değerlendirmelerde kullanılan “ekstraksiyon” terimi, nar suyunun bütün meyvenin kabukları ile preslenerek elde edilmesi veya daneden elde edilmesini ifade eden “meyve suyu ekstraksiyon yöntemi” nin kısaltılmış ifadesidir. Analiz sonuçları, durultma ve ekstraksiyon işlemlerinin birlikte etkisinin pastörizasyon işlemi ile değiştiğini, durultma işleminin pastörizasyon ile birlikte etkisinin ekstraksiyon işlemine göre değiştiğini ve aynı şekilde pastörizasyon ve ekstraksiyon işlemlerinin birlikte etkisinin durultma işlemine göre değiştiğini ifade etmektedir. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için elde edilen verilere Duncan testi uygulanmıştır (EK 1, Çizelge 2,3,4). Duncan testi sonuçları incelendiğinde ise elde edilen tüm değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0.01$).



Şekil 4.5 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının toplam fenolik madde miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri



Şekil 4.6 Danelerden elde edilen nar sularının toplam fenolik madde miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri

4.5 Nar Sularının Kondense Olabilen Fenolik Madde İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Kondense olabilen fenolik madde miktarı, danelerden ve bütün meyveden elde edilmiş nar sularına durultma ve pastörizasyon işlemlerinin uygulanmasından önce ve sonra saptanmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.5’te verilmiştir.

Danelerin preslenmesiyle elde edilen nar sularında, kondense olabilen fenolik madde miktarı bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularına göre %53 daha az bulunmuştur. Bu durum, kondense olabilen fenolik maddelerin; nar kabuklarında yoğun olarak bulunduğu ve suda çözünür nitelikleri nedeniyle presleme sonucunda meyve suyuna geçmeleri ile açıklanabilir. Durultma işlemi sonucunda, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında kondense olabilen fenolik madde miktarında %15 oranında bir azalış saptanmıştır. Buna karşın, daneden elde edilen nar sularında bu oran %33 olarak belirlenmiştir. Böylece, durultma işlemi ile beklendiği gibi kondense olabilen fenolik madde miktarında önemli oranda bir azalış olduğu sonucuna varılmıştır ($p<0.01$).

Çizelge 4.5 Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen kondense olabilen fenolik madde miktarları

Nar suyu	Kondense olabilen fenolik madde miktarı (mg L^{-1})**	
	Bütün meyveden	Daneden
Durultulmamış	127±6	60±2
Durultulmuş	108±3	40±1
Durultulmamış (P)*	90±1	52±1
Durultulmuş (P)	39±1	35±6

* P: pastörize edilmiş

**Kondense olabilen fenolik madde miktarları, kateşin cinsinden aritmetik ortalama olarak verilmiştir.

Pastörizasyon işlemi sonucunda ise bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında daneden elde edilen nar sularına kıyasla daha belirgin bir azalış saptanmıştır. Örneğin, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen durultulmamış nar sularında %29’luk bir azalış belirlenirken daneden elde edilen durultulmuş nar sularında bu oran %13 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, her iki yöntemle de elde edilmiş nar sularında

pastörizasyon işleminin kondense olabilen fenolik madde miktarı üzerine etkisinin önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.01$).

Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının kondense olabilen fenolik madde miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1, Çizelge 5), “ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon” üçlü interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.05$). Üçlü interaksiyon önemli olduğu için ikili interaksiyonların incelenmesi gerekli görülmemiştir. Üçlü interaksiyonun önemli olması; ekstraksiyonun durultma işlemi ile birlikte etkisinin pastörizasyon işlemi uygulanıp uygulanmamasına göre değiştiğini, ekstraksiyonun pastörizasyon işlemi ile birlikte etkisinin durultma işlemi uygulanıp uygulanmamasına göre değiştiğini ve durultma ile pastörizasyon işlemlerinin birlikte etkisinin ekstraksiyon işlemi uygulanıp uygulanmamasına göre değiştiğini göstermektedir. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için elde edilen verilere Duncan testi uygulanmıştır (EK 1, Çizelge 6,7,8). Duncan testi sonuçları incelendiğinde ise bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen durultulmuş ve durultulmamış nar sularında pastörizasyon işleminin etkisinin istatistiksel olarak önemli bulunurken daneden elde edilen durultulmuş ve durultulmamış nar sularında pastörizasyon işleminin etkisinin istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($p<0.05$). Ayrıca, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında pastörizasyon öncesi ve sonrası durultma işleminin etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$).

4.6 Nar Sularının Prosiyanidin İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Gerek dane gerekse de bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş nar sularının prosiyanidin içerikleri HPLC ile belirlenmiştir. Ancak, bu prosiyanidinlerin tanımlanabilmesi için kütle spektrofotometresine ihtiyaç bulunmaktadır. HPLC ile prosiyanidin miktarı belirlenirken, materyale ait kromatogramdaki başat 3 pikin her birinin alanı gallik asit standart eğrisine göre hesaplanmış ve sonuçlar gallik asit cinsinden toplam prosiyanidin olarak verilmiştir. Hem dane ve hem de bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında belirlenen her 3 pikin alanı için ayrı ayrı

hesaplanan prosiyanidin miktarları Çizelge 4.6’da verilmiştir. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının prosiyanidin kompozisyonları ise; Şekil 4.7 ve EK 2’de verilen kromatogramlarda gösterilmiştir.

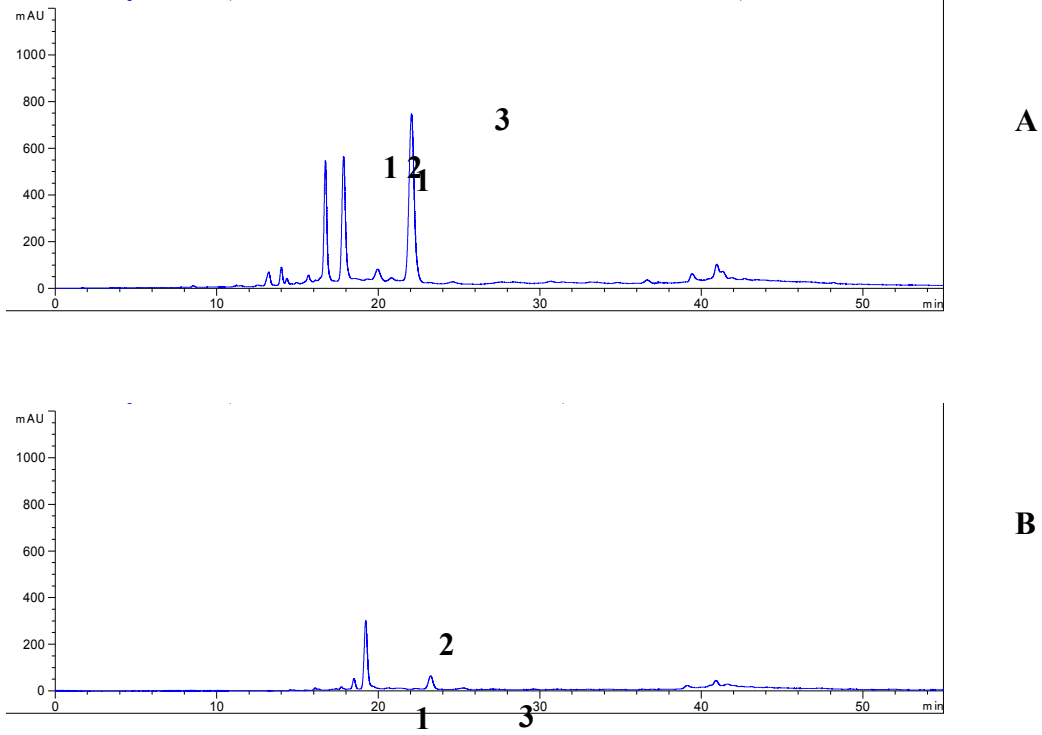
Çizelge 4.6 Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen prosiyanidin miktarları

Nar suyu	Prosiyanidin miktarı (mg L ⁻¹)		
	Pik I*	Pik II*	Pik III*
Bütün meyveden			
Durultulmamış	222±20	272±29	476±39
Durultulmuş	73±8	59±10	129±11
Durultulmamış (P)**	183±17	230±1	470±1
Durultulmuş (P)	94±11	66±6	173±0
Daneden			
Durultulmamış	19±1	110±3	32±1
Durultulmuş	14±0.4	24±0.4	18±2
Durultulmamış (P)**	35±4	169±31	30±11
Durultulmuş (P)	17±0.6	33±1	23±0

* Prosiyanidin miktarları, gallik asit cinsinden aritmetik ortalama olarak verilmiştir.

** P: pastörize edilmiş

Elde edilen bu sonuçlara göre, danelerden elde edilen nar sularındaki prosiyanidinlerin %64’ünü 2 numaralı pik oluştururken, %20’sini 3 numaralı pik ve % 16’sını 1 numaralı pik oluşturmaktadır. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularındaki prosiyanidinlerin ise; %51’ini 3 numaralı pik oluştururken, %26’sını 2 ve % 23’ünü 1 numaralı pik oluşturmaktadır. Diğer bir deyişle, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında 3 numaralı prosiyanidin pikinin alanı en fazla iken, danelerden elde edilen narsularında başat pik 2 numaralı pik olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Bütün meyvenin preslenmesiyle ve daneden elde edilen durultulmamış nar sularındaki prosiyanidinlerin HPLC kromatogramları A: Bütün meyveden elde edilen durultulmamış, B: Danelerden elde edilen durultulmamış

Danelerden ve bütün meyveden elde edilen nar sularında toplam prosiyanidin miktarı durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanmıştır (Çizelge 4.7). Elde edilen verilerden de görüleceği üzere, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında prosiyanidin miktarı 970 mg/L olarak belirlenirken daneden elde edilen nar sularında bu miktar 160 mg/L olarak belirlenmiştir. Nar sularında belirlenmiş bu sonuçlara göre, narların kabukları ile preslenmesiyle toplam prosiyanidin miktarında %84'lük bir artış görülmektedir. Bu artış, istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Bu sonuçlar, nar sularının gerek sonradan bulanmasından gerekse antioksidan aktivitesinden sorumlu prosiyanidinlerin kaynağının kabuk olduğunu açıkça göstermiştir.

Çizelge 4.7 Bütün meyvenin preslenmesiyle ve danelerden elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen toplam prosiyanidin miktarları

Nar suyu	Toplam prosiyanidin miktarı (mg L ⁻¹)**	
	Bütün meyveden	Daneden

Durultulmamış	970±124	160±8
Durultulmuş	262±41	56±3
Durultulmamış (P)*	884±28	235±35
Durultulmuş (P)	333±24	73±2

* P: pastörize edilmiş

**Prosiyanidin miktarları, gallik asit cinsinden aritmetik ortalama olarak verilmiştir.

Khanizadeh vd.. (2008) tarafından yapılan sekiz farklı çeşit elmanın kabuk ve meyve etinde bulunan prosiyanidin miktarlarının belirlendiği bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Örneğin, bu çalışmada “Gala” çeşidi elmaların kabuklarında bulunan toplam prosiyanidin miktarının meyve etinde bulunan miktara oranla % 81 daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tüm çeşitlerin içerdiği toplam prosiyanidin miktarı ortalamasına bakıldığında ise kabukta bulunan miktarın %68 oranında daha fazla olduğu saptanmıştır. Kantz ve Singleton (1990) tarafından dört farklı üzüm çeşidiyle yapılan bir çalışmada, üzümlerde bulunan polimerik (prosiyanidin) ve monomerik flavan-3-ollerin konsantrasyonları belirlenmiştir. Gerek bu çalışmada gerekse diğer çalışmalarda, prosiyanidinlerin seperasyonu Sephadex LH-20 kolon kromatografisi kullanılarak yapılmaktadır. Üzüm çekirdeğinde bulunan prosiyanidin konsantrasyonları gallik asit cinsinden 20 000 ile 30 000 mg/kg (toplam fenolik madde içeriğinin %60–70’i) olarak belirlenirken, kabukta bu değer 100 ile 5 000 mg/kg (toplam fenolik madde içeriğinin %6–43’ü) olarak saptanmıştır. Kantz ve Singleton (1991) tarafından yapılan bir başka çalışmada, “Chardonnay” çeşidi üzüm kabuğunda bulunan polimerik fenolikler 3 660 mg/L düzeyinde belirlenirken bu üzümünden elde edilen ve 5 gün posasıyla birlikte bekletilerek yapılan şaraplarda bu değer 109 mg/L olarak belirlenmiştir. Posasıyla bekletilmeden yapılan şaraplarda ise, sadece 2 mg/L olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, üzümlerde de prosiyanidinlerin kabukta yoğunlaştığını göstermektedir.

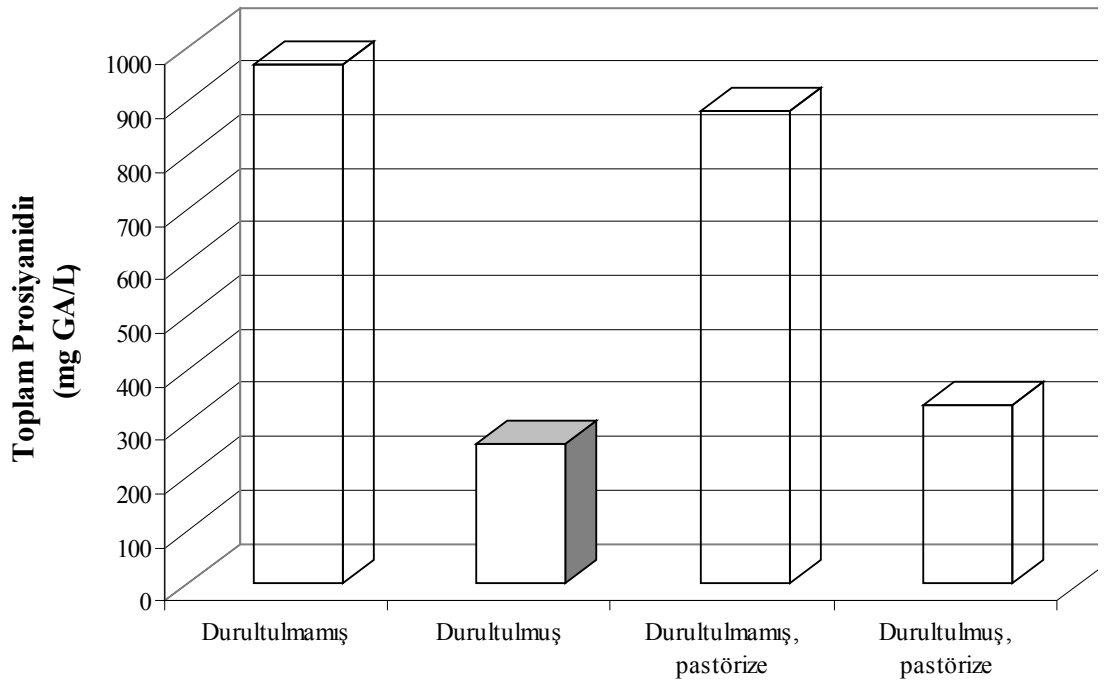
Dört farklı üzüm çeşidi (Chardonnay, Elvira, Seyval ve Niagara) ile yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar alınmıştır. Üzüm suları elde edilirken kabukları ile 18 ve 30 h bekletilerek, soğuk maserasyon işlemi uygulanmıştır. Bu işlem sonucunda, kabukları ile daha uzun süre bekletilen üzüm sularında, prosiyanidin B1 ve B2’de yaklaşık %55, prosiyanidin B3 ve B4’de %60 oranında bir artış gözlenmiştir (Fuleki ve Silva 2003). Thorngate ve Singleton (1994) tarafından üzüm çekirdeğinde yapılan bir çalışmada ise monomerik flavan-3-ollerin çekirdek kabuğunun dış yüzeyi ve

endospermde bulunduğu belirlenirken, prosiyanidinlerin üzüm çekirdeğinin kahverengi kabuğunda bulunduğu belirlenmiştir.

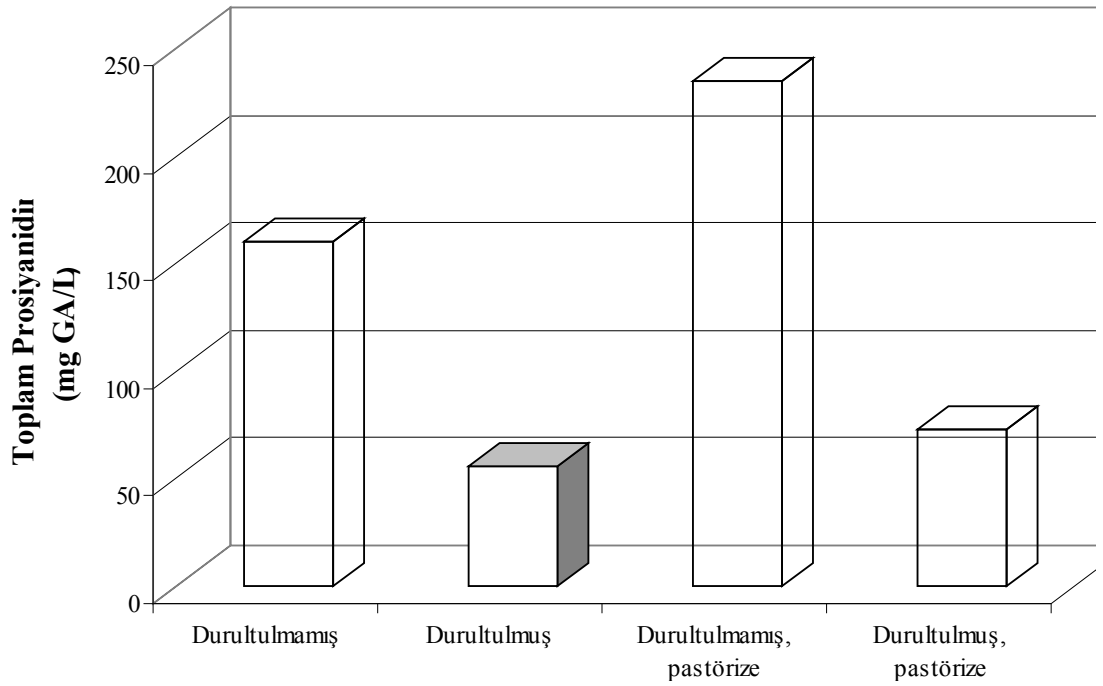
Durultma işleminin sonucunda ise bütün meyveden elde edilen nar sularında bulunan prosiyanidin miktarında %73'lik bir azalış belirlenmiştir. Benzer şekilde, daneden elde edilen nar sularında da %65 oranında bir azalış saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar, durultma işleminin nar suyundaki prosiyanidinler üzerine önemli etkisinin olduğunu göstermektedir ($p<0.01$). Jelatinin tek başına durultma ajanı olarak kullanıldığı durumda en iyi sonucun soğuk durultma tekniğı ile alındığı bilinmektedir. Ancak, meyve suyunun yeterince fenolik madde i ermediğı durumlarda soğutma uyulanmış olsa bile floklaşma sağlanamamaktadır. Jelatin ile soğuk durultma tekniğinde iyi sonuçlara ulaşabilmek için meyve suyunun fenolik madde içeriğinin yüksek olmasının yanısıra fenolik maddelerin molekül ağırlıklarının da yüksek olması gerekmektedir. Nitekim, jelatinin fenolik maddeleri uzaklaştırma etkisi molekül ağırlıklarına göre değışim göstermekte, fenolik maddelerin polimerizasyon dereceleri arttıkça jelatin ile uzaklaşan fenolik oranı da artmaktadır. İşte bu nedenle jelatinle yüksek molekül ağırlığına sahip fenoliklerde önemli düzeyde azalma sağlanmaktadır (Cemeroğlu vd. 2009). Bu durumda da, jelatinin, fenolik maddeler arasında molekül ağırlıkları 1 000-20 000 arasında değışim gösteren prosiyanidinlere daha kolay bağlanması da beklenen bir durumdur. Cosme vd.. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da beyaz şaraplar jelatin ile durultulmuş, ve durultma sonunda dimer ve trimer yapıdaki prosiyanidinlerin miktarında önemli düzeyde azalmalar saptanmıştır ($p<0.05$). Pastörizasyon işleminin sonunda, hem daneden hem de bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş nar sularında prosiyanidin miktarında sırasıyla %27 ve %46 oranında bir artış gözlenmektedir. Ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.01$). Her ne kadar bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamış olsa da bu durumun nedeni olarak, daha önce de a ıklanıldığı üzere bir kısım prosiyanidinin proteinlere bağılı formda bulunduğu ve ısı etkisiyle bu bağı parçalanarak prosiyanidinlerin serbest hale geçişi olabileceğı düşünülmektedir.

Benzer şekilde, Fuleki ve Silva (2003) tarafından yapılan bir çalışmada da pastörizasyon işleminin sonucunda, hem farklı s relerde (30, 60 ve 90 dak.) uygulanan

sıcak presleme hem de soğuk preslenerek 18 h maserasyon uygulanmış üzümelerde prosiyanidin miktarlarında artış gözlenmiştir. Ancak, sadece soğuk preslenerek elde edilen üzüm sularında pastörizasyon işleminin prosiyanidin miktarına etkisinin negatif olduğu belirlenmiştir. Danelerden ve bütün meyveden preslenerek elde edilen nar sularındaki toplam prosiyanidin miktarına durultma ve pastörizasyonun etkisini daha açık bir şekilde göstermek için sonuçlar sırasıyla Şekil 4.8 ve 4.9’da histogram olarak verilmiştir.



Şekil 4.8 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının toplam prosiyanidin miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri



Şekil 4.9 Danelerden elde edilen nar sularının toplam prosiyanidin miktarları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri

Varyans analiz sonuçları (EK 1, Çizelge 9), “ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon” üçlü interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermiştir ($p>0.01$). Üçlü interaksiyon önemli olmadığı için ikili interaksiyonlar incelenmiş “ekstraksiyon x durultma” ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için elde edilen verilere Duncan testi uygulanmıştır (EK 1, Çizelge 10). Analiz sonuçları, prosiyanidin içerikleri üzerine ekstraksiyon ve durultma işlemlerinin önemli etkisinin olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

4.7 Nar Sularının Antioksidan Aktivite Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında antioksidan aktivite düzeyi, durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.8’de verilmiştir. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antioksidan aktivitesi 26.81 mM trokloks/mL olarak belirlenirken, danelerden elde edilen nar sularında bu değer 21.99 mM trokloks/mL olarak

bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre, narların kabukları ile preslenmesiyle antioksidan aktivite düzeyinde %22'lik bir artış saptanmıştır.

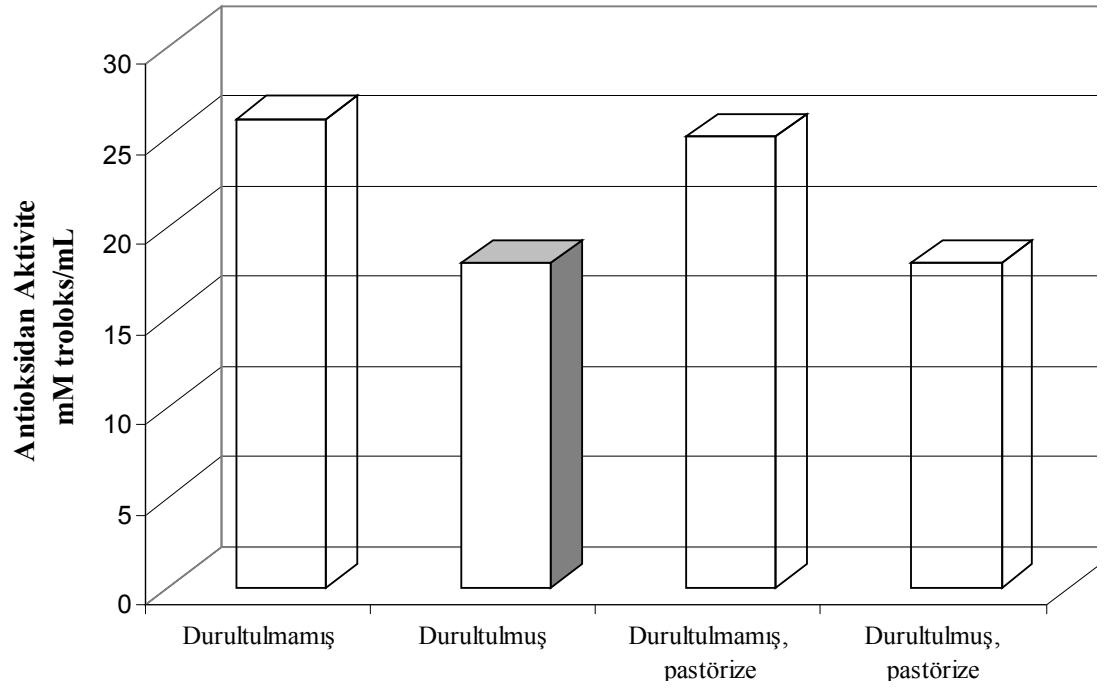
Çizelge 4.8 Danelerden ve bütün meyveden elde edilen nar sularının antioksidan aktivite düzeyine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkisi

Nar suyu	Antioksidan aktivite (mM troloks/mL nar suyu)	
	Bütün meyveden	Daneden
Durultulmamış	26.81±0.01	21.99±0.24
Durultulmuş	18.16±0.15	14.06±0.39
Durultulmamış (P)*	25.02±0.21	19.91±0.23
Durultulmuş (P)	18.15±0.14	15.07±0.47

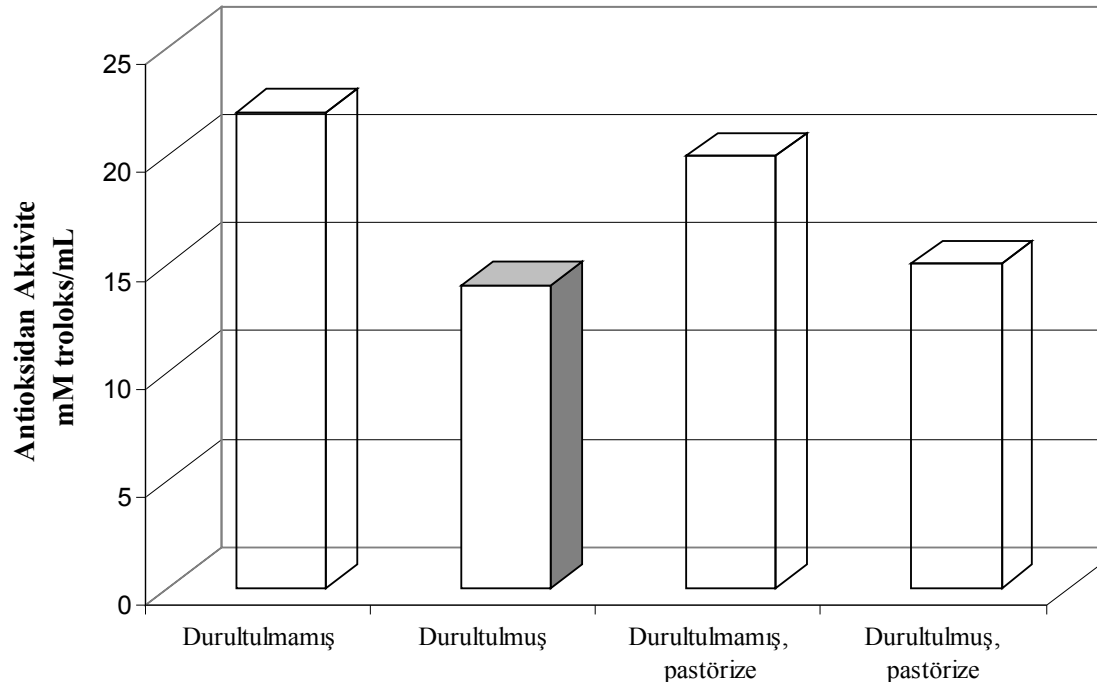
* P: pastörize edilmiş

Gerek daneden gerekse bütün meyveden elde edilen nar sularında durultma ($p<0.01$) ve pastörizasyon ($p<0.05$) işlemlerinin antioksidan aktivite düzeyi üzerine önemli etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Örneğin bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş nar sularında durultma işlemi sonucunda antioksidan aktivite düzeyinde %32'lik bir azalış belirlenmişken, pastörizasyon işlemi sonucunda %7 düzeyinde daha sınırlı bir azalış saptanmıştır. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite düzeyine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkisini daha açık bir şekilde gösterebilmek için sonuçlar sırasıyla Şekil 4.10 ve 4.11'de histogram olarak verilmiştir.

Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş durultulmamış nar sularında, toplam fenolik madde miktarı 2773 mg GA/L olarak belirlenirken, prosiyanidin miktarı 970 mg GA/L olarak belirlenmiştir. Ancak, daneden elde edilen nar sularında toplam fenolik madde miktarı 2073 mg GA/L olarak belirlenirken, prosiyanidin miktarı 160 mg GA/L olarak belirlenmiştir. Bir diğer değişle kabuklarıyla preslenen nar sularında bulunan fenolik maddelerin % 35'i prosiyanidinler kaynaklanırken daneden elde edilen nar sularında bu değer %8'dir.



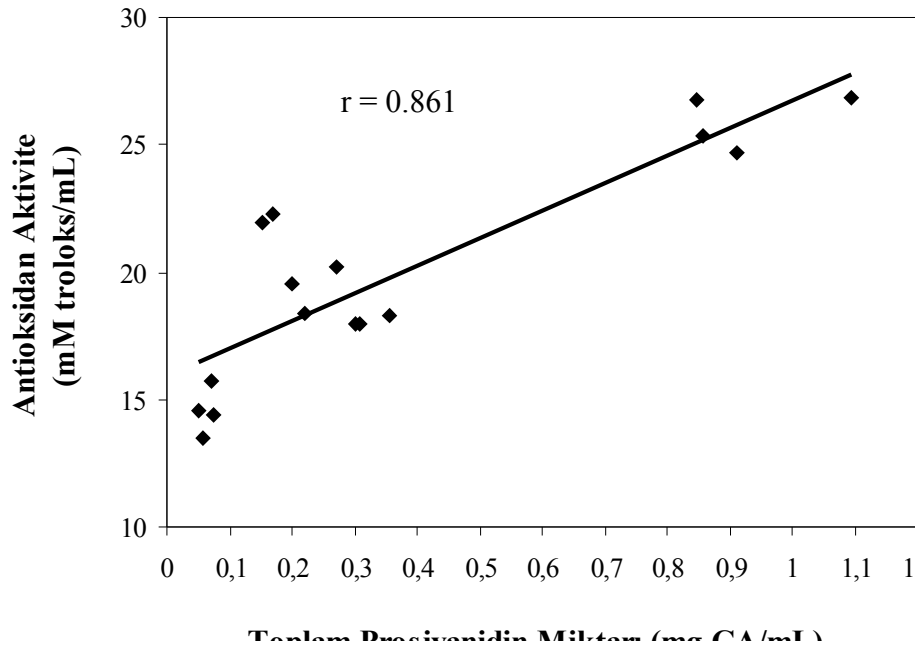
Şekil 4.10 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antioksidan aktiviteleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri



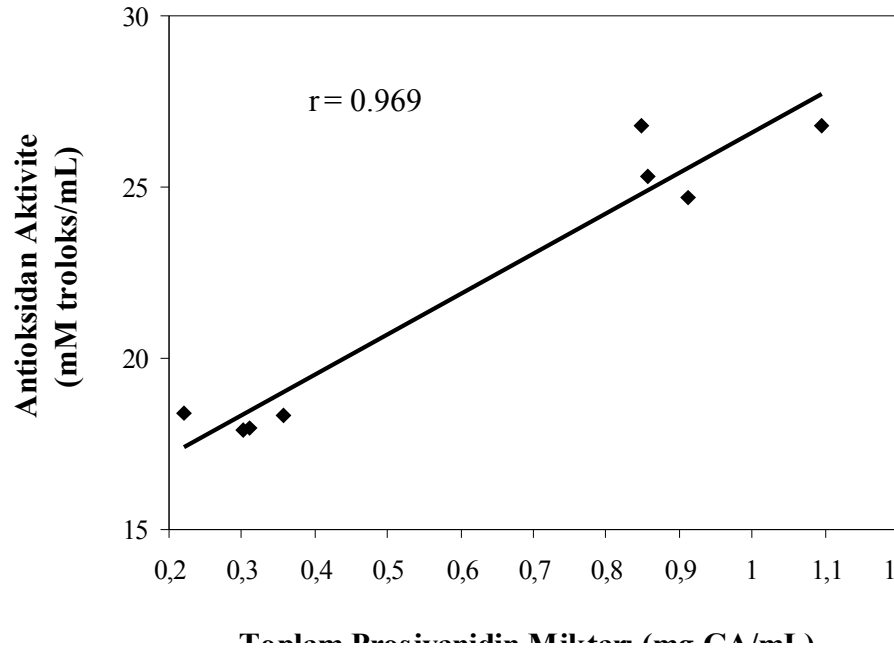
Şekil 4.11 Danelerden elde edilen nar sularının antioksidan aktiviteleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin etkileri

Bu sonuçlar, prosiyanidinlerin kabukta daha yoğun olarak bulunan fenolikler olduğunu ve aynı zamanda kabuktan meyve suyuna geçerek antioksidan aktiviteyi önemli oranda artırdıklarını bir kez daha göstermektedir. Gil vd.. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada da bütün meyveden elde edilen nar sularında danelerden elde edilen nar sularından daha fazla antioksidan aktivite bulunmuştur. Araştırmacılar bu farklılığı, narın preslenmesi sırasında kabukta yoğun olarak bulunan antioksidan bileşiklerin meyve suyuna geçişine bağlamışlardır. Genel olarak bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar suyunun antioksidan aktivitesinin büyük oranda hidrolize olabilen fenoliklerden, ellajik asitten, antosiyaninlerden (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin glikozitlerden) ve diğer flavonoid bileşiklerden (kuersetin, kamferol ve luteolin glikozitler) kaynaklandığı belirtilmektedir (Seeram vd. 2005b). Gil vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada da narda bulunan fenolik bileşikler içinde, punikalajinin en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve bunu da gallik asit ve ellajik asidin izlediği saptanmıştır.

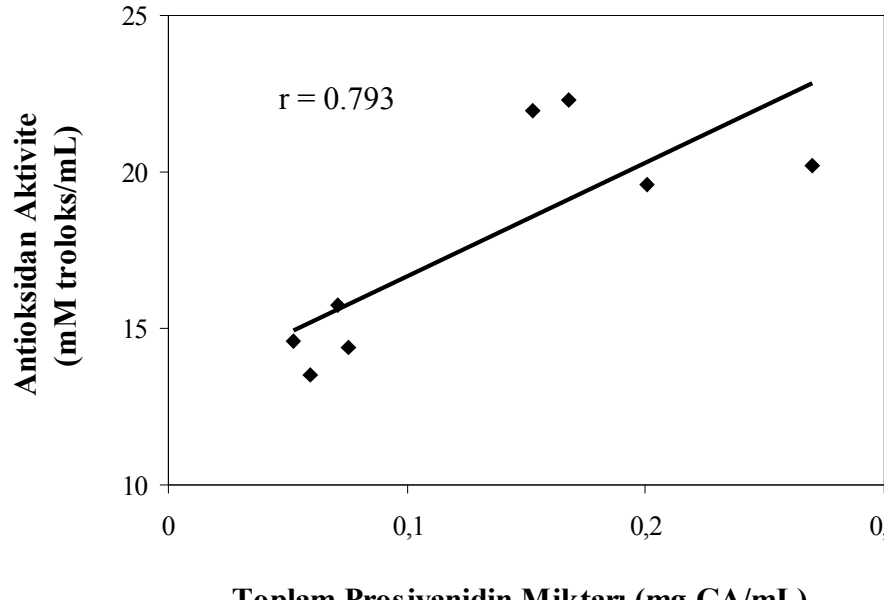
Ancak, Puiggros vd.. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada da fenolik bileşikler arasında, antioksidan aktiviteye sahip en önemli grubun prosiyanidinler olduğu bildirilmektedir. Bu durum; çikolatada (Counet ve Collin 2003), kakaoca zengin çikolata ve likörlerde (Adamson vd. 1999) yapılan çalışmalarda da belirlenmiş, prosiyanidin miktarı arttıkça antioksidan aktivitenin de doğrusal ($r=0.994$) olarak arttığı saptanmıştır. Çalışmamızda da benzer bir korelasyon saptanmıştır. Hem daneden hem de bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında prosiyanidin miktarları ve antioksidan aktivite arasında yüksek bir korelasyon olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12 ve 4.13). Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında korelasyon katsayısı $r=0.969$ (Şekil 4.13) iken, daneden elde edilen nar sularında bu değer $r=0.793$ (Şekil 4.14) olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, nar sularındaki antioksidan aktivitenin prosiyanidinlerden kaynaklandığını açıkça göstermiştir. Varyans analiz sonuçları (EK 1, Çizelge 11) gerek danelerden gerekse de bütün meyveden elde edilen nar sularının antioksidan aktivite düzeylerinde önemli azalmalar olduğunu göstermiştir ($p<0.01$).



Şekil 4.12 Dane ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları arasındaki doğrusal ilişki



Şekil 4.13 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları arasındaki doğrusal ilişki



Şekil 4.14 Daneden elde edilen nar sularındaki antioksidan aktivite ve prosiyanidin miktarları arasındaki doğrusal ilişki

Nar sularının antioksidan aktivite düzeyleri için yapılan varyans analizi sonuçları (EK 1, Çizelge 11) “ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon” üçlü interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olmadığını göstermiştir ($p>0.01$). Üçlü interaksiyon önemli olmadığı için ikili interaksiyonlar incelenmiş, “ekstraksiyon × durultma” ve “durultma × pastörizasyon” ikili interaksiyonlarının istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$, $p<0.01$). Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için elde edilen verilere Duncan testi uygulanmıştır (EK 1, Çizelge 12, 13). Duncan testi sonuçları incelendiğinde ise elde edilen tüm değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0.01$).

4.8 Nar Suyu Konsantrelerinin Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının bir kısmı durultulmadan, bir kısmı da durultulduktan sonra konsantre edilmişler ve bu örneklerde briks, pH ve titrasyon asitliği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9’de verilmiştir.

Durultma işleminin nar suyu konsantrelerinin briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerine önemli bir etkisin bulunmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.9 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar suyu konsantrelerinin briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri

Nar suyu	Briks (g/100g)	pH	Titrasyon asitliği* (g /100 mg)
Durultulmamış	64.31	3.36	4.54
Durultulmuş	65.47	3.37	4.56

*susuz sitrik asit cinsinden

4.9 Nar Suyu Konsantrelerinin Toplam Fenolik Madde ve Kondense Olabilen Fenolik Madde İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Nar suyu konsantrelerinin toplam fenolik madde ile kondense olabilen fenolik madde miktarları durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiştir. Durultulmamış nar sularının konsantre edilmesiyle elde edilen örneklerde toplam fenolik madde miktarı 12 061 mg GA/L düzeyinde belirlenirken durultularak konsantre edilmiş örneklerde bu değer 8 256 mg GA/L olarak saptanmıştır. Kondense olabilen fenolik madde miktarı ise durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelerde 395 mg kateşin/L olarak belirlenirken durultulmamış nar sularından elde edilmiş konsantrelerde 213 mg kateşin/L düzeyinde bulunmuştur.

Elde edilen bu sonuçlara göre, durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin, durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelere göre %32 daha fazla fenolik madde ve %46 daha fazla kondense olabilen fenolik madde içerdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde laboratuvarımızda Apaydın (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin, durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelere kıyasla %39 daha fazla toplam fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Spanos ve Wrolstad (1990) tarafından yapılan bir çalışmada, çekirdeksiz üzümlerden elde edilen meyve suları durultma işlemi uygulanarak ve uygulanmaksızın konsantre edilmiş ve içerdikleri toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir.

Durultulmuş üzüm suyu konsantrelerinin, durultulmamış konsantrelerden %13 daha az fenolik madde içerdikleri saptanmıştır.

4.10 Nar Suyu Konsantrelerinin Antioksidan Aktiviteleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Antioksidan aktivite düzeyi, durultma işleminden önce ve sonra konsantre edilmiş nar suyu konsantrelerinde saptanmış ve durultulmadan konsantre edilmiş örneklerin antioksidan aktivitesi 117.79 mM trokloks/mL olarak belirlenmiştir. Durultularak konsantre edilmiş örneklerde ise bu değer 84.06 mM trokloks/mL olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre, antioksidan aktivite düzeyinde durultmadan sonra konsantre edilmiş örneklerde durultmadan önce konsantre edilen örneklerle kıyasla %28 düzeyinde bir azalış belirlenmiştir. Benzer şekilde laboratuvarımızda Apaydın (2008) tarafından yapılan bir çalışmada da durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin, durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelere kıyasla %25 daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır.

4.11 Nar Suyu Konsantrelerinin Prosiyanidin İçerikleri Üzerine Durultma İşleminin Etkisi

Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş nar suyu konsantrelerinde durultma işleminin toplam prosiyanidin içeriği üzerine etkisini belirlemek için, nar suları durultma işlemi uygulanmadan ve uygulandıktan sonra konsantre edilmiştir. Durultma işlemi uygulanmamış nar suyu konsantrelerinde toplam prosiyanidin miktarı 1640 mg GA/L düzeyinde belirlenirken durultularak konsantre edilmiş nar suyu konsantrelerinde 1267 mg GA/L olarak bulunmuştur. Diğer bir deyişle, durultularak konsantre edilen nar sularında toplam prosiyanidin miktarında %23'lük bir azalış belirlenmiştir. Spanos ve Wrolstad (1990) tarafından yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlara ulaşılarak durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin, durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelere kıyasla %30 daha fazla toplam prosiyanidin içerdiği saptanmıştır. Bu çalışmada, durultma işlemiyle birlikte çekirdeksiz üzüm sularından elde edilen konsantrelerde prosiyanidin B3 miktarında %33'lük, B1 miktarında %26'luk

bir azalış belirlenmiştir. Ayrıca, prosiyanidin B4 miktarında değişim gözlenmezken, prosiyanidin B2 miktarında ise %100'lük bir kayıp gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, prosiyanidinlerin konsantrasyon ve şişeleme sırasında maruz kalınan ısıya duyarlılık gösterdikleri belirlenmiştir. Aynı çalışmada SO₂'nin prosiyanidinler üzerine etkisi incelenmiş ve 70 ppm düzeyinde SO₂ eklenen konsantrelerde, durultma işlemi sonunda toplam prosiyanidin miktarında %10'luk bir artış saptanmıştır. Bu durumun, prosiyanidinlerin oksidasyonunun SO₂ tarafından engellenmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmada ulaşılan başlıca sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenerek sunulmuştur.

1. Nar ham suyu depektinize edilmeden, sadece jelatin ile “soğuk durultma” tekniği kullanılarak mükemmel düzeyde durultulabilmektedir.
2. Durultma ve pastörizasyon işlemlerinin, nar sularının pH, titrasyon asitliği ve briks değerleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.
3. Narların kabukları ile preslenmesiyle “toplam fenolik madde” miktarında %34 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Böylece, kabuktan meyve suyuna önemli düzeyde fenolik madde geçtiği sonucuna ulaşılmıştır.
4. Durultmada kullanılan jelatinin, nar sularından önemli düzeyde fenolik maddeyi uzaklaştırdığı saptanmıştır.
5. Danelerin preslenmesiyle elde edilen nar sularında, kondense olabilen fenolik madde miktarı bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularına göre %53 daha az bulunmuştur. Bu durum, kondense olabilen fenolik maddelerin; nar kabuklarında yoğun olarak bulunduğu ve suda çözünür nitelikleri nedeniyle presleme sonucunda meyve suyuna geçmeleri ile açıklanmıştır.
6. Durultma işlemi sonucunda, hem bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında ve hem de daneden elde edilen nar sularında kondense olabilen fenolik madde miktarı önemli düzeyde bir azalış belirlenmiştir.

7. Pastörizasyon işlemi sonucunda ise bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında daneden elde edilen nar sularına kıyasla daha belirgin bir azalış saptanmıştır. Böylece, her iki yöntemle de elde edilmiş nar sularında pastörizasyon işleminin kondense olabilen fenolik madde miktarı üzerine etkisinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır.
8. Nar sularındaki prosiyanidinlerin ayırma işlemleri kromotagrafi tekniği ile başarılı bir şekilde yapılmıştır. Nar sularında 3 tane temel prosiyanidin piki saptanmış ve gallik asit cinsinden toplam prosiyanidin miktarı belirlenmiştir. Bu prosiyanidinlerin tanımlanabilmesi için kütle spektrofotometresine ihtiyaç bulunmaktadır.
9. Daneden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının sırasıyla 160 ve 970 mg/L düzeyinde prosiyanidin içerdikleri belirlenmiştir. Narların kabukları ile preslenmesiyle toplam prosiyanidin miktarında %84'lük bir artış görülmektedir. Bu sonuç, prosiyanidinlerin nar kabuklarında yoğunlaştığını ve suda çözünmeleri nedeniyle, preslemeyle meyve suyuna geçtiğini göstermiştir.
10. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında bulunan toplam fenolik maddenin % 35'inin prosiyanidinlerden kaynaklandığı, daneden elde edilen nar sularında ise bu oranın % 8 olduğu belirlenmiştir.
11. Durultma işlemi ile nar sularının ve konsatrelerinin içerdiği prosiyanidin miktarı önemli oranda azalmaktadır. Durultma işlemi sonucunda bütün meyveden elde edilen nar sularında bulunan prosiyanidin miktarında %73'lük bir azalış belirlenmiştir. Benzer şekilde, daneden elde edilen nar sularında da %65 oranında bir azalış saptanmıştır. Bu sonuçlar, durultmada kullanılan jelatinin, nar sularında gerek sonradan bulanmaya neden olan gerekse de burukluğa neden olan prosiyanidinleri önemli düzeyde uzaklaştırdığını ortaya koymuştur.

12. Durultma işleminin aksine pastörizasyon işlemi sonucunda, her iki yöntemle de elde edilmiş nar sularında bulunan gerek toplam fenolik madde gerekse de prosiyanidin miktarında önemli düzeyde artış gözlenmiştir.
13. Narların kabukları ile preslenmesiyle antioksidan aktivite düzeyinde %22'lik bir artış saptanmıştır. Böylece, nar suyunun antioksidan aktivitesinin büyük bir kısmının nar kabuğunda bulunduğu saptanmıştır. Yüksek antioksidan aktivite istenildiği durumlarda, narlar mutlaka kabuklarıyla preslenmelidir.
14. Nar sularındaki prosiyanidin madde miktarı ile antioksidan aktivite arasında yüksek düzeyde bir korelasyon saptanmıştır. Buna göre, nar sularında prosiyanidin miktarı arttıkça, antioksidan madde miktarı da artmıştır. Bütün meyvenin ve danelerin preslenmesiyle elde edilmiş nar sularında, prosiyanidin miktarı ile antioksidant aktivite arasındaki korelasyon katsayıları sıra ile $r=0.969$ ve $r=0.793$ olarak saptanmıştır.
15. Durultma işleminin nar suyu konsantrelerinin briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı gözlenmiştir.
16. Durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin, durultulmuş nar sularından elde edilen konsantrelere göre %32 daha fazla fenolik madde, %29 daha fazla prosiyanidin, %46 daha fazla kondense olabilen fenolik madde ve %28 daha fazla antioksidan aktivite içerdiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- Abe, Y., Shoji, T., Kawahara, N., Hiroyuki, K., Kanda, T., Goda, Y. And Ozeki Y. 2008. Structural characterization of a procyanidin tetramer and pentamer from the apple by low-temperature NMR analysis. *Tetrahedron Letters*, 49: 6413–641.
- Adamson, G.E., Lazarus, S.A., Mitchell, A.E., Prior, R.L., Cao, G., Jacobs, P.H., Kremers, B.G., Hammerstone, J.F., Rucker, R.B., Ritter, K.A. and Schmitz, H.H. 1999. HPLC method for the quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioksidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4184-4188.
- Al-Said, F.A., Opara, L.U. and Al-Yahyai, R.A.2009. Physico-chemical and textural quality attributes of pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) grown in the Sultanate of Oman. *Journal of Food Engineering*, 90: 129–134.
- Alen-Ruiz, F., Garcia-Falkon, M.S., Perez-Lamela, M.C., Martinez-Carballo, E. And Simal-Gandara, J. 2009. Influence of major polyphenols on antioxidant activity in Mencia and Brancellao red wines. *Food Chemistry*. 113: 53-60.
- Altınığne N. Beslenmede serbest radikaller ve antioksidanların etki mekanizmaları. Gıda Teknolojisi Derneği, Türkiye 7. Gıda Kongresi. 22-24 Mayıs, 2002., s. 646, Ankara.
- Anonim. 2009. <http://www.batem.gov.tr>. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Araştırma Müdürlüğü. Erişim Tarihi 06.10.2009.
- Anonim. 2009 <http://www.cukurova.edu.tr/merkezler/tyhm/2006-05.html>. Çukurova Üniversitesi Tarımsal Yayım, Haberleşme, Araştırma ve Uygulama Merkezi. Erişim Tarihi 06.10.2009.
- Anonim. 2009 <http://www.akib.org.tr/akib.php?HID=1012>. Akdeniz İhracatçı Birlikleri. Erişim Tarihi 08.10.2009.
- Anonim. 2009 http://www.tarimmerkezi.com/haber_detay.php?hid=12979. Ege İnternet Yayıncılık Merkezi. Erişim Tarihi 06.10.2009.
- Anonim. 2009 http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=1078. Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim Tarihi 08.10.2009.
- Apaydın, E. 2008. Nar Suyu Konsantresi Üretim ve Depolama Sürecinde Antioksidan Aktivitedeki Değişimler. Yüksek Lisans tezi. Ankara Üniversitesi, s.39, Ankara.
- Aron, P.M. and Kennedy, J.A. 2008. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological Activity. *Molcular Nutrition and Food Resarch*, 52: 79 – 104.

- 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.
- 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.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S.J. and Das, D.K. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148: 187-197.
- Bartosz, G. 2009. Reactive oxygen species: Destroyers on messengers?. *Biochemical pharmacology*. 77: 1303-1315.
- Bors, W. and Michel, C. 2002. Chemistry of antioxidant effect of polyphenols. *Annals New York Academy Of Sciences*, 957: 57-69.
- Bruyne, T.D., Pieters, L., Deelstra, H. and Vlietinck, A. 1999. Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 445-459.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S., Erbaş, S., Ünal, Ç. ve Yıldız, O. 1994. Vişne ve nar sularının kimyasal tanı değerlerinin saptanması üzerine araştırmalar. TBGAG-29/A nolu Tübitak Projesi.
- Cemeroğlu, B. ve Karadeniz, F. 2009. Meyve suyu üretim teknolojisi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt I, Cemeroğlu B (ed), 3. baskı, 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. 2007. Gıda analizlerinde genel yöntemler, *Gıda Analizleri*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 45-128, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cosme, F., Ricardo-da-Silva, J.M. and Laureano, O. 2008. Interactions between protein fining agents and proanthocyanidins in white wine. *Journal of Food Chemistry*, 106: 536–544.
- Cosme, F., Ricardo-Da-Silva, J.M. and Laureano O. 2009. Tannin profiles of *Vitis vinifera* L. cv. red grapes growing in Lisbon and from their monovarietal wines. *Journal of Food Chemistry*, 112 : 197–204.

- Counet, C. and Collin, S. 2003. Effect of the number of flavanol units on the antioxidant activity of procyanidin fractions isolated from chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6816-6822.
- Deters, A., Dauer, A., Schnets, E., Fartasch, M. and Hensel, A. 2001. High molecular weight compounds (polysaccharides and proanthocyanidins) from *Hammamelis virginiana* bark: influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence on irritated skin. *Phytochemistry*, 58: 949-958.
- Dixon, R., Xie, D.Y., and Sharma, S.B. 2005. Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, 165: 9–28.
- FAO. Web sitesi: <http://www.fao.org>. Erişim Tarihi: 01.05.2010.
- Faria, A., Calhau, C., Freitas, V.D. and Mateus, B. 2006. Procyanidins as antioxidants and tumor cell growth modulators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 2392-2397.
- Fine, M.A. 2000. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Alternative Medicine Review*, Vol: 5, Number:2.
- Fitzpatrick, D.F., Bing, B., Maggi, D.A., Fleming, R.C. and Omalley, R.M. 2002. Vasodilating procyanidins derivate from grape seeds. *New York Academy of Science*, 957:78-89.
- Foo, L.Y., Lu, Y., Howell, A.B. and Vorsa, N. 2000. The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry*, 19: 173-181.
- Fuleki, T. and Ricardo-da-Silva, J.M. 2003. Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 640-646.
- Francisco, M.L.L.D. and Resurreccion, A.V.A. 2009. Total phenolics and antioxidant capacity of heat-treated peanut skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22 :16–24.
- Gil, M.I., Tomas- Barberan, F.A., Hes-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.
- Gordon, M.H. 2000. The development of oxidative rancidity in foods. Antioxidants in food, Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M (ed), S. 7-22, CRC Pres LCC, USA.
- Gu, L., Kelm, M., Hammerstone, J.F., Beecher, G., Cunningham, D., Vannozzi, S. and Prior, R.L. 2002. Fractionation of polymeric procyanidins from lowbush

- blueberry and quantification of procyanidins in selected foods with an optimized normal-phase HPLC-MS fluorescent detection method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4852-4860.
- Gu, L., House, S.E., Wu, X., Ou, B. and Prior, R.L. 2006. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa chocolate products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4057- 4061.
- Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., Mitchell, A.E., Rucker, R. and Schmitz, H.H. 1999. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47:490-496.
- Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., Schmitz, H.H. 2000. Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *Journal of Nutrition*, 130: 2086-2092.
- Haslam, E. 1998. Practical polyphenols: from structure to molecular recognition and physiological action. *Cambridge university pres.*
- IFU. 1968. Analysen. Nr: 3 (Determination of titratable acidity). Internationale Fruchtsaft Union Juris Verlag Zurich, İsviçre.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. and Madhavi, D.L.1996. Lipid oxidation in biological and food systems. Food Antioxidant, Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK (ed), s. 5-65, Marcel Deccer, Inc. New York,
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C. and Ahn, D.U. 2004. Effect of heat treatment on antioxidant activity of citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3389–3393.
- Kantz, K. and Singleton, V.L. 1990. Isolation and determination of polymeric polyphenols using sephadex LH-20 and analysis of grape tissue extracts. *Am. J. Enol. Vitic.* Vol:41 No:3.
- Kantz, K. and Singleton, V.L. 1991. Isolation and determination of polymeric polyphenols in wines using sephadex LH-20. *Am. J. Enol. Vitic.* Vol:42 No:4.
- Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T. and Rupasinghe, H.P.V. 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 396-401.
- Khanal, R.C., Howard, L.R., Brownmiller, C.R. and Prior, R.L. 2009. Influence of extrusion processing on procyanidin composition and total anthocyanin contents of Blueberry Pomace. *Journal of Food Science*, Vol. 74, Nr. 2.

- Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chemistry*, 97: 472–479.
- Kingsly, A.R.P., Singh, D.B., Manikantan, M.R. and Jain, R.K. 2006. Moisture dependent physical properties of dried pomegranate seeds. *Journal of Food Engineering*, 75: 492–496.
- Kraft, T.F.B., Schmidt, B.M., Yousef, G.G., Knight, C.T.G., Cuendet, Y.H., Pezzuto, J.M., Seigler, D.S. and Lila, M.A. 2005. Chemopreventive potential of wild lowbush blueberry fruits in multiple stages of carcinogenesis. *Journal of Food Science*, Vol. 70, Nr. 3.
- Kulkarni, A.P. and Aradhya, S.M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93: 319–324.
- Kuroda, Y. and Hara, Y. 1999. Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutation Research*, 436: 69-97.
- Lee, S.C., Jeong, S.M., Kim, S.Y., Park, H.R., Nam, K.C. and Ahn, D. 2006. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extract from peanut hulls. *Food Chemistry*, 94: 489–493.
- Ling, Z.Q., Xie, B.J., Yang, E.L. 2005. Isolation, characterization, and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2441-2445.
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K.P., Dexter, D.T. and Auroma, O.I. 2005. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International*, 38: 357-367.
- Maatta, R.K.R., Kahkonen, M.P., Torronen, A.R. and Heinonen, I.M. 2005. Catechins and procyanidins in berries of *Vaccinium* species and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 53: 8485-8491.
- Marvan, A. and Nagel, C.W. 1986. Microbial Inhibitors of Cranberries. *Journal of food science*, Volume 51, No. 4.
- 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.
- Min, B.R. and Hart, S.P. 2003. Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science*, 81: 102-109.

- Mirdehghan, S.H. and Rahemi, M. 2007. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111: 120–12.
- 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.
- Ohno, Y., Wakai, K., Genka, K., Ohmine, K., Kawamura, T., Tamakoshi, A., Aoki, R., Senda, M., Hayashi, Y., Nagao, K., Fukutna, S. and Aoki, K. 1995. Tea consumption and lung cancer risk: A case control study in okinawa, Japan. *Jpn. J. Cancer Res*, 86: 1027-1034.
- Onur, C. 1982. Akdeniz Bölgesi Narların Seleksiyonu. Web sitesi: http://www.alata.gov.tr/turkce/arastirmalar/Proje_depo/subtropik1abstrak.html. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü. Erişim Tarihi 06.10.2009.
- Onur, C., Tibet, H. And Ataseven, Işık, E. 1999. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. S: 58-61. 14-17 Eylül, Ankara.
- Ortin-Batistuta, A.B., Fernandez, J.I.F., Roca, J.M.L. and Plaza, E.G. 2007. The effects of enological practices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grape characteristics. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 546-552.
- Oszmianski J., Wolniak, M., Wojdyło, A. and Wawer, I. 2007. Influence of apple puree preparation and storage on polyphenol contents and antioxidant activity. *Journal of Food Chemistry*, 107 :1473–1484.
- 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.
- Paixao, N., Perestrelo, R., Marques, J.C. and Camara, J.S. 2007. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wine. *Food Chemistry*, 105: 204–214.
- Pearson, D.A., Paglieroni, T.G., Rein, D. and Wun, T. 2001. Effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex vivo platelet function. *Thrombosis research*, 106:191-197.
- Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. 1999. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1123- 1128.
- Poudel, R.P., Tamura, H., Kataoka, I. and Mochioka, R. 2008. Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wildgrapes and two hybrids native to Japan. *Journal of Food Composition and Analysis* , 21 : 622–625.

- Prasain, J.K., Peng, N., Dai, Y., Moore, R., Arabshahi, A., Wilson, L., Barnes, S., Wyss, J.M., Kim, H. and Watts, R.L. 2008. Liquid chromatography tandem mass spectrometry identification of proanthocyanidins in rat plasma after oral administration of grape seed extract. *Phytomedicine* , 10: 1016.
- Prior, R.L., Lazarus, S.A., Cao, G., Muccitelli, H. and Hammerstone, J.F. 2001. Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinum Spp.*) using high-performance liquid chromatography/ mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1270-1276.
- Puangpronpitag, D., Areejitransorn, P., Boonsiri, P., Suttajit, M. and Yongvanit, P. 2008. Antioxidant activities of polyphenolic compounds isolated from *Antidesma thwaitesianum* Müll. Arg. seeds and marcs. *Journal of food science*, Vol. 73, Nr. 9.
- Puiggorros, F., Lopiz, L., Ardevol, A., Blade, C., Arola, L. Salvado, M.J. 2005. Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6080-6086.
- Rajalakshmi, D. and Narasimhan, S. 1996. Food Antioxidants: Sources and methods of evaluation. Food antioxidants, Madhavi DH, Deshpande SS, Salunkhe DK (ed), s.65-.157, Marcel Dekker, Inc. USA.
- Rama, A.L., Bahorun, T., Crozier, A., Zbarsky, V., Datla, K.P., Dexter, D.T. and Aruoma, O.I. 2005. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International* 38: 357–367.
- 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.
- Riihnen-Maatta, K.R., Kahkonene, M.P., Törrönen, A.R., Heinonen, I.M. 2005. Catechins and procyanidins in berries of *Vaccinium* species and their antioksidan activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8485-8491.
- Robert, O.P., Ball, K.A. and Castello, P.R. 2009. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends in endocrinology and metabolism*. Vol:20 No:7.
- Saito, A., Do, Y., Tanaka, A., Matsuura, N., Ubukate, M. and Nakajima, N. Systematic. 2004.Synthesis of four epicatechin series procyanidin trimers and their inhibitory activity on the Maillard reaction and antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* ,12:4783–4790.

- Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., Ebadi, A. 2006. RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Scientia Horticulturae*, 111: 24–29.
- 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. and Naczk, M. 1995. Phenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Phenolics*. s. 97-98, Technomic Publishing Company, Pennsylvania, U.S.A.
- Shahidi, F. and Naczk, M. 1995. Phenolic compounds of beverages. *Food Phenolics*. s. 136, Technomic Publishing Company, Pennsylvania, U.S.A.
- 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. 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.
- Smith, M.A.L., Marley, K.A., Seigler, D., Singletary, K.W. and Meline, B. 2000. Bioactive Properties of Wild Blueberry Fruits. *Journal of Food Science*, Vol. 65, No. 2, 2000.
- 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.
- Spanos, G.A., Wrolstad, R.E., Heatherbell, D.A. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 1572–1579
- Spranger, I., Sun, B., Mateus, A.M., Freitas, V., Ricardo da Silva, J.M. 2008. Chemical characterization and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. *Journal of Food Chemistry*, 108: 519-532.
- Sueiro, L., Yousef, G.G., Seigler, D., Demejia, E.G., Grace, M.H. and Lila, M.A. 2006. Chemopreventive Potential of Flavonoid Extracts from Plantation-Bred and Wild *Aronia melanocarpa* (Black Chokeberry) Fruits. *Journal Food Chemistry and Toxicology*, Vol. 71, Nr. 8.

- Taner, H. and Brunner, H.R. 1979. *Gentranke-Analytik*. Germany:Verlag Heller Chemie und Verwaltungsgesellschaft mbH, pp. 206.
- Thorngate, J.H. and Singleton, V.L. 1994. Localization of procyanidins in grape seeds. *Am. J. Enol. Vitic.* Vol:45 No:2.
- Vardin, H. and Fenercioğlu, H. 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: clarification of pomegranate juice. *Nahrung/Food*, 47: 300-303.
- Verstraeten, S.V., Hammerstone, J.F., Keen, C.L., Fraga, C.G. and Oteiza, P.I. 2005. Antioxidant and membrane effects of procyanidin dimers and trimers isolated from peanut and cocoa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 5041-5048.
- Vinson, J.A., Mandarano, M.A., Shuta, D.L., Bagchi, M. and Bagchi, D. 2002. Beneficial effect of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract and a niasin-bound chromium in a hamster atherosclerosis model. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 240:99-103.
- Wang, Y., McAllister, T.A., Xu, Z.J., Gruber, Y.M., Skadhauge, Jende-Strid, B., Cheng, K.J. 2000. Effects of proanthocyanidins, dehulling and removal of pericarp on digestion of barley grain by ruminal micro-organisms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 929-938.
- Wegrzyn, T.F., Farr, J.M., Hunter, DC., Au, J., Wohlers, M.W., Skinner, M.A., Stanley, R.A., Sun- Waterhous, D. 2008. Stability of antioxidants in an apple polyphenol–milk model system. *Journal of Food Chemistry*, 109 :310–318.
- Whitacre, E., Oliver, J., Broek, V., Engelen, P., Kremers, B., Horst, B., Stewart, M. and Beuvink, J.A. 2003. Predictive Analysis of Cocoa Procyanidins Using Near-Infrared Spectroscopy Techniques. *Journal of Food Science*-Vol. 68, Nr. 9.
- Xie, D.Y., Dixon, R.A. 2005. Proanthocyanidin biosynthesis-still more questions than answers?. *Journal of Phytochemistry*, 66: 2127- 2144.
- Yamakoshi, J., Saito, M., Kataoka, S. and Kikuchi, M. 2002. Safety eveluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food chem.Toxicol.*40:599-607.
- Yanislieva, M.N.V. 2000. Inhibiting oxidation. Antioxidants in food, Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M (ed), S. 22-71, CRC Pres LCC, USA.
- Yazıcı, K. ve Şahin, A. Narın dünya ve Türkiye’deki yeri ve önemi. www.batem.gov.tr/haber/haftalar/nar_dunya_tur.pdf. Erişim tarihi: 01.05.2010

EKLER

EK 1 İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

EK 2 Nar suyu ve Konsantrelerinin Prosiyanidin Kromotogramları

EK 1 İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

Çizelge 1 Bütün meyveden ve daneden elde edilen nar sularının toplam fenolik madde miktarlarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Ekstraksiyon*	1	766063	766063	469.20	0.000
Durultma	1	2532077	2532077	1550.86	0.000
Pastörizasyon	1	258318	258318	158.22	0.000
Ekstraksiyon x durultma	1	207708	207708	127.22	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	3691	3691	2.26	0.171
Ekstraksiyon x pastörizasyon	1	1502	1502	0.92	0.366
Ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon	1	11827	11827	7.24	0.027**
Hata	8	13062	1633		
Genel toplam	15	3794245			

* : Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi

** : $p<0.05$

Çizelge 2 Durultma ve meyve suyu ekstraksiyon yönteminin nar sularının toplam fenolik madde miktarına birlikte etkilerinin pastörizasyon işlemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Meyve suyu	Pastörizasyon	
	ekstraksiyon yöntemi	P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	Danelerden	1590±39.6Bd	1740±31.1Ad
	Bütün meyveden	1726±4.2Bc	2023.5±23.3Ac
Durultulmamış	Danelerden	2073±15.6Bb	2392.5±27.6Ab
	Bütün meyveden	2773±62.9Ba	3023±70.7Aa

A–B: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.01$).

a–d: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p<0.01$).

Çizelge 3 Durultma ve pastörizasyon işlemlerinin nar sularının toplam fenolik madde miktarına birlikte etkisinin meyve suyu ekstraksiyon yöntemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	
		Danelerden	Bütün meyveden
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	1590±39.6Bd	1726±4.24Ad
	Pastörize edilmiş	1740±31.1Bc	2023.5±23.3Ac
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	2073±62.9Bb	2773.5±15.6Ab
	Pastörize edilmiş	2392.5±27.6Ba	3023±70.7Aa

A–B: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

a–d: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

Çizelge 4 Pastörizasyon ve meyve suyu ekstraksiyon yönteminin nar sularının toplam fenolik madde miktarına birlikte etkilerinin durultma işlemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	Danelerden	1590±39.6Bc	2073±15.6Ad
	Bütün meyveden	1726.65±4.24Bb	2773±62.9Ab
Pastörize edilmiş	Danelerden	1740±31.1Bb	2392.5±27.6Ac
	Bütün meyveden	2023.5±23.3Ba	3023±70.7Aa

A–B: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

a–d: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

Çizelge 5 Bütün meyveden ve daneden elde edilen nar sularının kondense olabilen fenolik madde miktarlarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Ekstraksiyon*	1	7876.6	7876.6	174.31	0.000
Durultma	1	2782.6	2782.6	61.58	0.000
Pastörizasyon	1	3510.6	3510.6	77.69	0.000
Ekstraksiyon x durultma	1	280.6	280.6	6.21	0.037
Durultma x pastörizasyon	1	2139.1	2139.1	47.34	0.000
Ekstraksiyon x pastörizasyon	1	217.6	217.6	4.81	0.060
Ekstraksiyonx durultma x Pastörizasyon	1	280.6	280.6	6.21	0.037**
Hata	8	361.5	45.2		
Genel toplam	15	17448.9			

* : Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi

** : p<0.05

Çizelge 6 Durultma ve meyve suyu ekstraksiyon yönteminin nar sularının kondense olabilen fenolik madde miktarına birlikte etkilerinin pastörizasyon işlemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

	Durultma	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	Danelerden	40.5±2.1Ab	35±12.73Ac
	Bütün meyveden	108±7 Aa	39.5±0.7Bc
Durultulmamış	Danelerden	59.5±3.54Ab	52±1.4Ab
	Bütün meyveden	127±11Aa	90±1.4Ba

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

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

Çizelge 7 Durultma ve pastörizasyon işlemlerinin nar sularının kondense olabilen fenolik madde miktarına birlikte etkisinin meyve suyu ekstraksiyon yöntemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	
		Danelerden	Bütün meyveden
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	40.5±2.1Bb	108±7 Aa
	Pastörize edilmiş	35±12.73Ab	39.5±0.7Ac
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	59.5±3.54Ba	127±11Aa
	Pastörize edilmiş	52±1.4Ba	90±1.4Ab

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

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

Çizelge 8 Pastörizasyon ve meyve suyu ekstraksiyon yönteminin nar sularının kondense olabilen fenolik madde miktarına birlikte etkilerinin durultma işlemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	Danelerden	40.5±2.1Bb	59.5±3.54Bc
	Bütün meyveden	108±7 Aa	127±11Aa
Pastörize edilmiş	Danelerden	35±12.73Bb	52±1.4Ac
	Bütün meyveden	39.5±0.7Bb	90±1.4Ab

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

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

Çizelge 9 Bütün meyveden ve daneden elde edilen nar sularının prosiyanidin miktarlarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Ekstraksiyon*	1	927369	927369	189.02	0.000
Durultma	1	581406	581406	118.50	0.000
Pastörizasyon	1	1521	1521	0.31	0.593
Ekstraksiyon x durultma	1	246512	246512	50.24	0.000**
Durultma x pastörizasyon	1	2550	2550	0.52	0.491
Ekstraksiyon x pastörizasyon	1	2916	2916	0.59	0.463
Ekstraksiyonx durultma x pastörizasyon	1	11556	11556	2.36	0.163
Hata	8	39250	4906		
Genel toplam	15	1813081			

*: Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi

* *: $p < 0.01$

Çizelge 10 Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi ve durultma işleminin nar sularının prosiyanidin içeriğine etkilerinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Meyve suyu		
ekstraksiyon yöntemi	D. öncesi	Durultma D. sonrası
Danelerden	197.5±52.3Ab	64.5±10.97Bb
Bütün meyveden	927.3±114.8Aa	297.8±56.8Ba

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

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

Çizelge 11 Bütün meyveden ve daneden elde edilen nar sularının antioksidan aktivite miktarlarındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Ekstraksiyon*	1	73,274	73,274	258,92	0,000
Durultma	1	200,081	200,081	707,00	0,000
Pastörizasyon	1	2,074	2,074	7,33	0,027
Ekstraksiyon x durultma	1	1,918	1,918	6,78	0,031***
Durultma x pastörizasyon	1	5,929	5,929	20,95	0,002**
Ekstraksiyon x pastörizasyon	1	0,130	0,130	0,46	0,518
Ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon	1	0,429	0,429	1,52	0,253
Hata	8	2,264	0,283		
Genel toplam	15	286,098			

* : Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi

** : p<0.01

*** : p<0.05

Çizelge 12 Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi ve durultma işleminin nar sularının antioksidan aktivite düzeyine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Meyve suyu		
ekstraksiyon yöntemi	D. öncesi	Durultma D. sonrası
Danelerden	20.9±1.2Ab	14.5±0.9Bb
Bütün meyveden	25.9±1.06Aa	18.15±0.2Ba

A-B: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

a-b: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

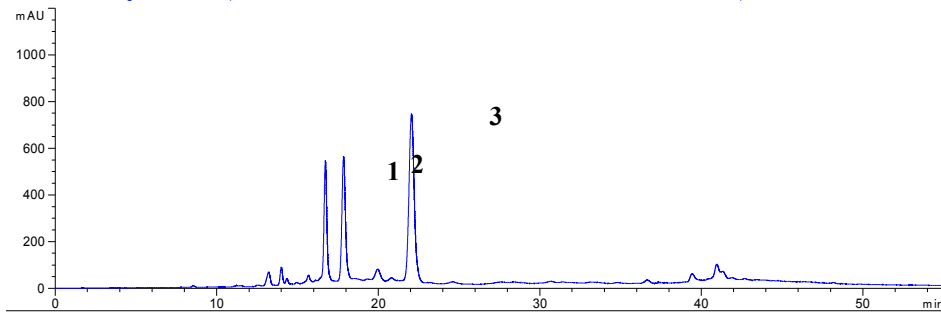
Çizelge 13 Pastörizasyon ve durultma işleminin nar sularının antioksidan aktivite düzeyine etkisinin Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon		
	D. öncesi	Durultma D. sonrası
P. öncesi	24.4±2.8Aa	22.4±2.9Ba
P. sonrası	16.1±2.4Ab	16.6±1.8Ab

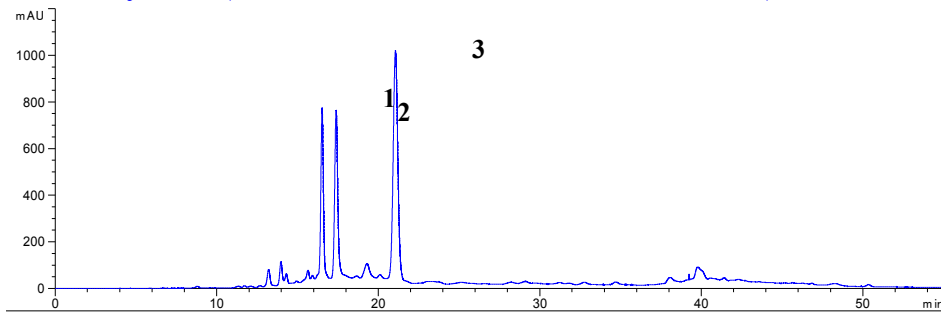
A-B: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

a-b: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

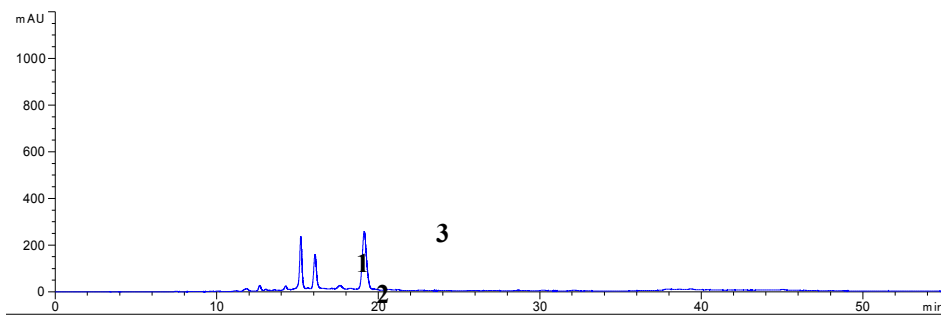
EK 2 Nar Suyu ve Konsantrelerinin Prosiyanidin Kromotogramları



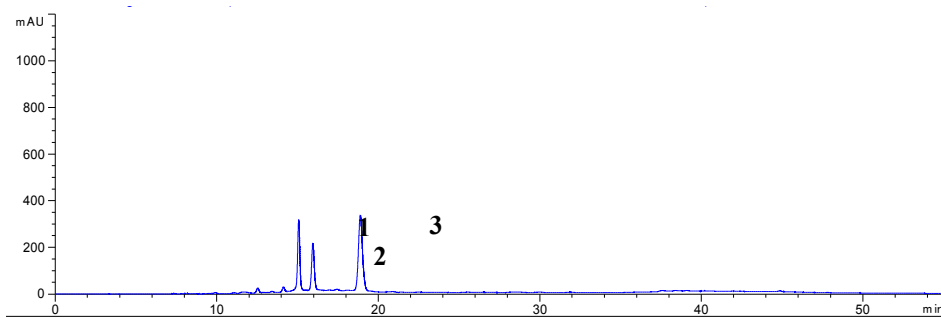
A



A

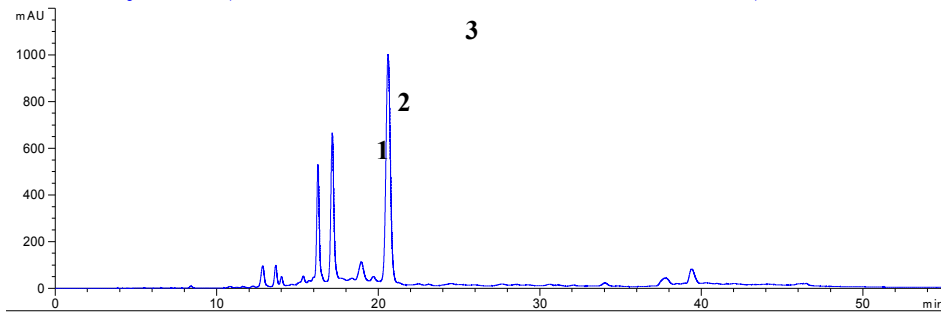


B

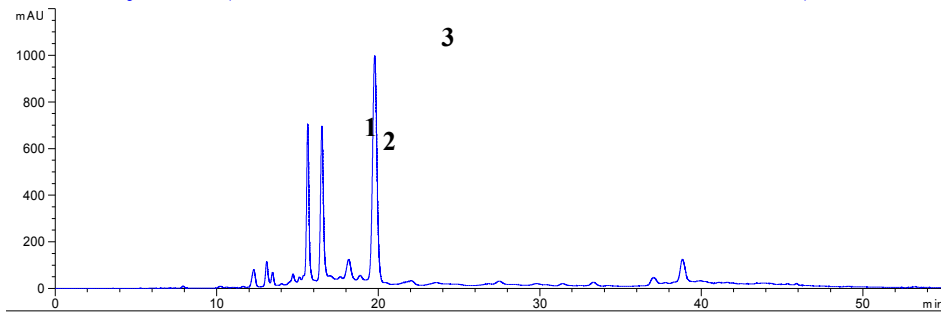


B

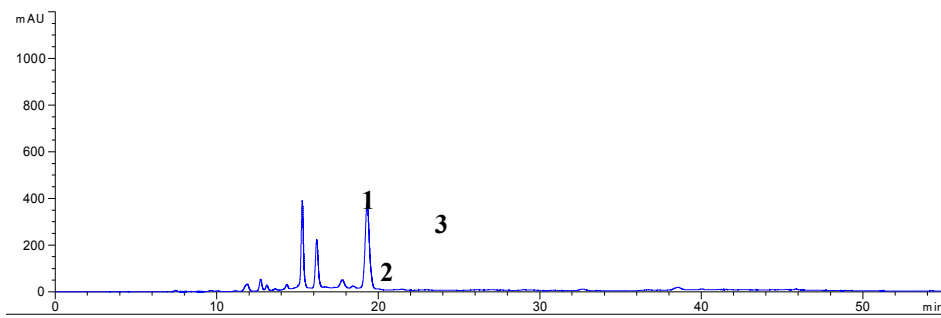
Şekil 1 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş durultulmuş ve durultulmamış nar sularındaki prosiyanidinlerin HPLC kromatogramları A: Durultulmamış, B: Durultulmuş



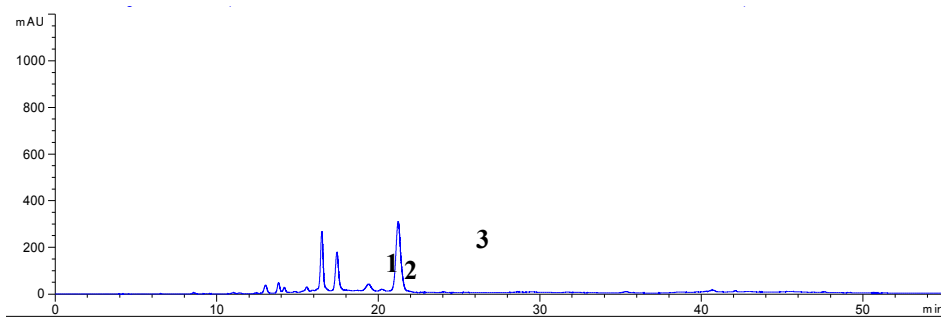
C



C

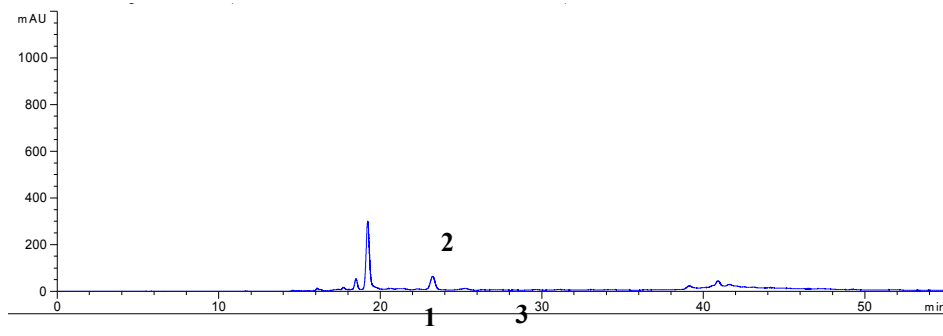


D

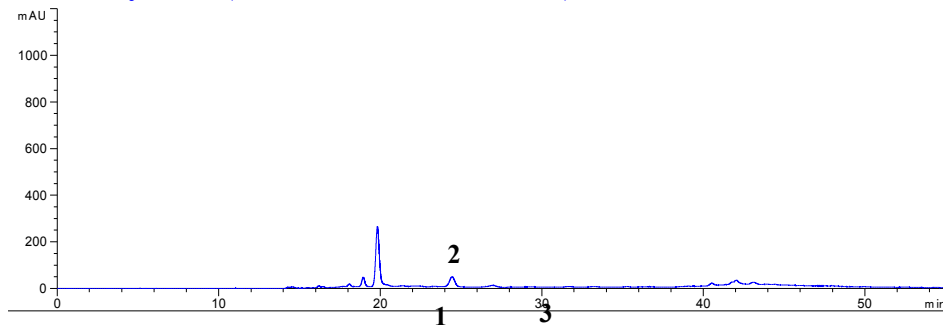


D

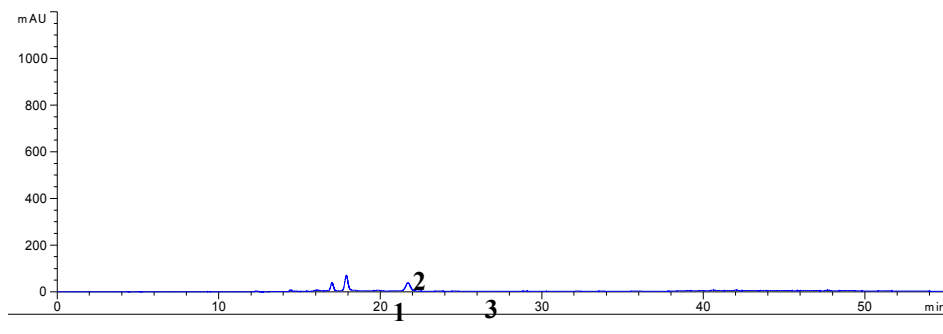
Şekil 2 Bütün meyvenin preslemesiyle elde edilen pastörize edilmiş nar sularındaki prosiyanidinlerin HPLC kromatogramları C: Durultulmadan pastörize edilmiş, D: Durultulup pastörize edilmiş



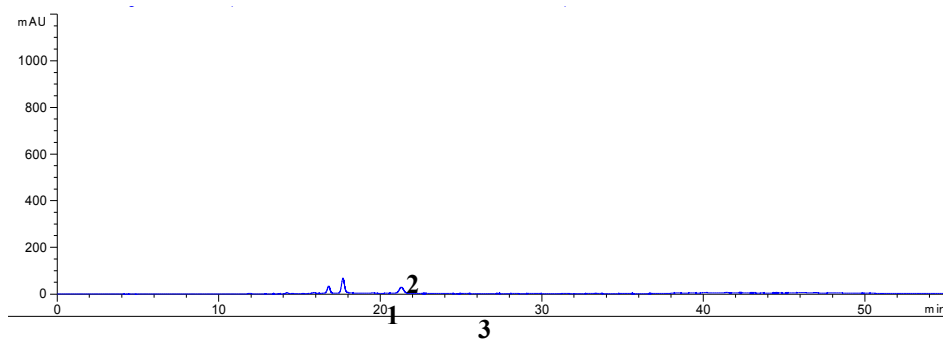
A



A

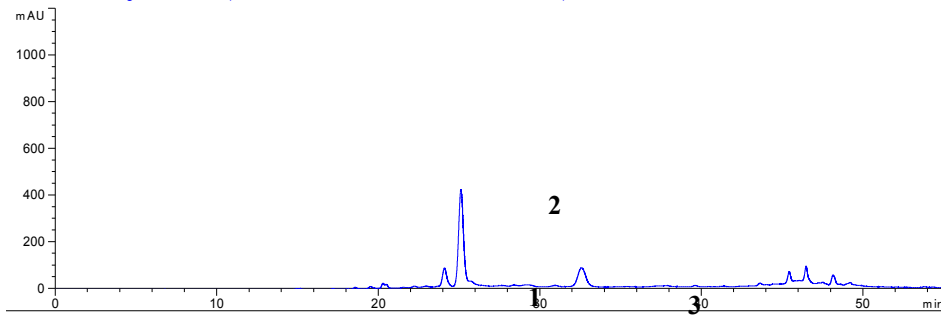


B

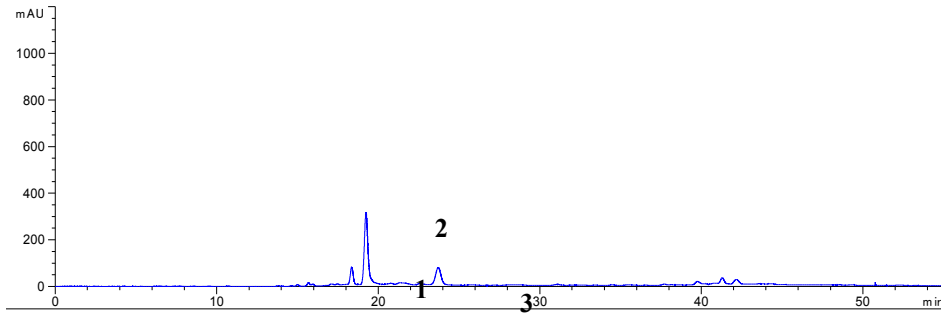


B

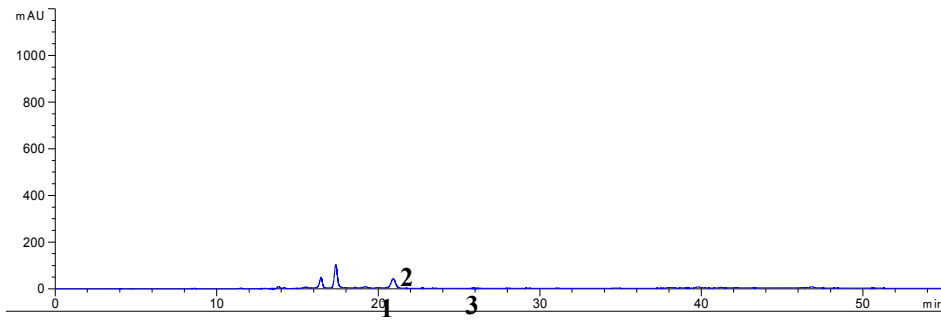
Şekil 3 Danelerden elde edilmiş durultulmuş ve durultulmamış nar sularındaki prosiyanidinlerin HPLC kromatogramları A: Durultulmamış, B: Durultulmuş



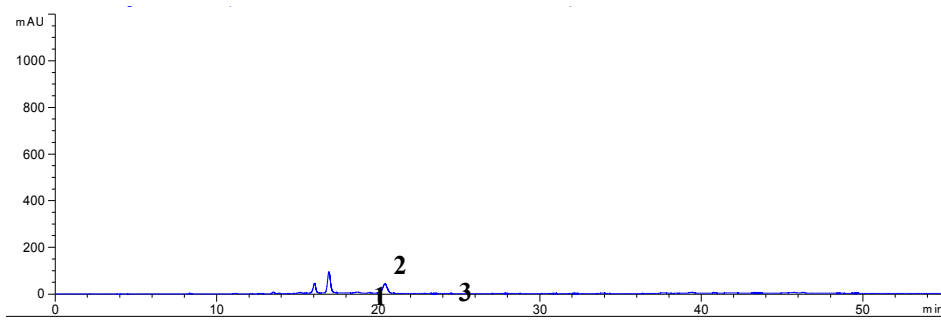
C



C



D



D

Şekil 4 Danelerden elde edilen pastörize edilmiş nar sularındaki prosiyanidinlerin HPLC kromatogramları C: Durultulmadan pastörize edilmiş, D: Durultulup pastörize edilmiş

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nihal GÜZEL

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 1983

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce, İtalyanca (Temel düzeyde)

Eğitim Durumu:

Lise : Kalaba Lisesi (1997–2000)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği
Bölümü (2002–2007)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı (Şubat 2008 – Temmuz 2010)