

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR SUYU KONSANTRESİ ÜRETİM VE DEPOLAMA SÜRECİNDE
ANTOSİYANİNLERDEKİ DEĞİŞİMLER**

Özge TURFAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2008**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Özge TURFAN tarafından hazırlanan "Nar Suyu Konsantresi Üretim ve Depolama Sürecinde Antosiyaninlerdeki Değişimler" adlı tez çalışması 09/07/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç Dr. Mehmet ÖZKAN

Jüri Üyeleri :

**Başkan: Doç Dr. Mehmet ÖZKAN, Ankara Üniversitesi
Gıda Mühendisliği A.B.D.**

**Üye : Prof.Dr. Feryal KARADENİZ, Ankara Üniversitesi
Gıda Mühendisliği A.B.D.**

**Üye : Prof. Dr. Alev BAYINDIRLI, Orta Doğu Teknik Üniversitesi
Gıda Mühendisliği A.B.D.**

Yukarıdaki sonucu onaylarım

**Prof. Dr. Orhan ATAKOL
Enstitü Müdürü**

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NAR SUYU KONSANTRESİ ÜRETİM VE DEPOLAMA SÜRECİNDE ANTOSİYANİNLERDEKİ DEĞİŞİMLER

Özge TURFAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Mehmet ÖZKAN

Antosiyanin içeren gıdaların gerek işlenmesi gerekse depolanması süresince meydana gelen renk bozunmaları, monomerik antosiyaninlerin parçalanması ve esmer pigmentlerin oluşumundan kaynaklanmaktadır. Nardan elde edilen ve aralarında nar suyu ve konsantrelerinin de bulunduğu ürünlerin çekici ve stabil kırmızı-viole renkleri tüketiciler için önemli bir kalite kriteridir. Bu çalışmada, durultma ve pastörizasyon işlemlerinin nar suyunun antosiyanin içeriği ve rengi üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca, -23°C, 5°C, 12°C ve 20°C sıcaklıklarda sırasıyla 334, 167, 101 ve 73 gün depolama süresince, nar suyu konsantrelerinin antosiyanin içeriği ve rengindeki değişimler de gözlenmiştir. Nar suyu ve konsantrelerin proses (ısıtma) ve depolama boyunca renklerindeki değişimi belirlemek için kullanılan başlıca renk kriterleri; monomerik antosiyanin miktarı, antosiyanin kompozisyonu, polimerik renk ve reflektans renk değerleridir.

Narlar, meyve suyuna iki farklı yöntemle işlenmiştir. Birinci yöntemde, narlar danelenmiş ve preslenmiştir. Diğer yöntemde ise, narlar kabuklarıyla birlikte pilot işletmede paketli preste preslenmiştir. Elde edilen bulanık nar suları ikiye bölünmüştür. Bir kısım nar suyu, sadece jelatin kullanılarak 5°C’de durultulurken (soğuk durultma), geri kalan kısım durultulmamıştır. Hem durultulmuş hem de durultulmamış nar suyu örnekleri ikiye bölünmüştür. Bu nar sularının da bir bölümü pastörize edilirken, geri kalan kısmı pastörize edilmemiştir. Nar suyu konsantreleri ise, durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilmiştir.

Durultma ve pastörizasyon işlemleri, nar sularının antosiyanin içeriğinde sırasıyla %4-19 ve %8-14 azalmaya neden olmuştur. Siyanidin-3,5-diglukozit (%56) nar sularının başat antosiyaninidir. Nar suyundaki diğer antosiyaninlerin, en yüksekten başlayarak düşüğe doğru sırasıyla: siyanidin-3-glukozit (%25), delfinidin-3,5-diglukozit (%9), delfinidin-3-glukozit (%4), pelargonidin-3,5-diglukozit (%3) ve pelargonidin-3-glukozit (%2) olduğu saptanmıştır. Diğer meyve suları ile ilgili olarak literatürde verilen değerlere kıyasla çok daha fazla polimerik renk değerine sahip olan nar sularının, presleme işleminden hemen sonra polimerik renk oranının %25–29 arasında olduğu saptanmıştır. Durultma ve pastörizasyon işlemleri polimerik renk oluşumunun artmasına neden olmuştur. Nar suyu örneklerinin L* değerindeki artış esmer pigmentlerin uzaklaştığını, h° değerindeki artış ise antosiyanin kaybını göstermektedir.

Veriler, nar suyu konsantrelerinin (68°–69°Bx) depolanması boyunca hem monomerik antosiyaninlerin parçalanmasının hem de polimerik renk oluşumunun birinci derece kinetik modelle tanımlanabileceğini göstermiştir. Beklendiği gibi, yüksek depolama sıcaklıkları nar suyu konsantrelerinde gerek antosiyaninlerin parçalanma gerekse de esmer pigment oluşum hızlarını artırmıştır. Örneğin; durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerde antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarılama süreleri 5°C, 12°C ve 20°C sıcaklıklarda sırasıyla 215, 79 ve 29 gün olarak saptanmıştır. Benzer şekilde, aynı örneklerin polimerik renk oranlarına ilişkin reaksiyon hız sabitleri 5°C, 12°C ve 20°C sıcaklıklarda sırasıyla 0.00115, 0.00276 ve 0.00622 gün⁻¹ olarak saptanmıştır.

Reflektans renk ölçüm sonuçları, nar suyu konsantrelerinin -23°C’de 334 gün depolanması boyunca renklerinin değişmediğini göstermiştir. Buna karşın, 20°C’de depolanan konsantre örneklerinde çok hızlı renk bozunması meydana gelmiştir. Örneğin; durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantrelerin 73 gün depolanması sonunda monomerik antosiyanin miktarında %80’in üzerinde kayıp ve polimerik renk oranında ise %60 artış (%38’den %61’e) gözlenmiştir. Durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin depolama boyunca hem antosiyanin parçalanma hem de polimerik renk oluşum hızlarının durultulmuş konsantrelere kıyasla daha yavaş olduğu belirlenmiştir. Nar suyu konsantrelerinde, antosiyaninlerin parçalanması ve polimerik renk oluşumu için aktivasyon enerjileri 5°C–20°C sıcaklık aralığında sırasıyla 77–90 kJ mol⁻¹ ve 62–76 kJ mol⁻¹ arasında bulunmuştur.

Bu sonuçlar, karakteristik kırmızı-viole rengi korumak için, nar suyu konsantrelerinin dondurularak muhafaza edilmesi gerektiğini göstermiştir. Nar sularının durultulması için soğuk durultma tekniği kullanılmalıdır. Bununla birlikte, jelatinin antosiyaninler üzerine olumsuz etkisi nedeniyle, durultmada kullanılacak jelatin miktarı duyarlı bir şekilde belirlenmelidir.

Temmuz 2008, 140 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antosiyaninler, renk, stabilite, nar suyu, nar suyu konsantresi, durultma, pastörizasyon, depolama

ABSTRACT

Master Thesis

CHANGES IN ANTHOCYANINS OF POMEGRANATE JUICE CONCENTRATE DURING PRODUCTION AND STORAGE

Özge TURFAN

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

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN

During processing and storage, the color deterioration in anthocyanin containing products occurs as a result of both monomeric anthocyanin degradation and brown pigment formation. An attractive and stable violet-red color of pomegranate products including juice and concentrates is the indication of high quality for consumers. This study was conducted to determine the effects of clarification and pasteurization on the anthocyanins and color of pomegranate juice. Moreover, the changes in anthocyanins and color of pomegranate juice concentrates were monitored during storage at -23°C , 5°C , 12°C and 20°C for 334, 167, 101 and 73 days, respectively. Monomeric anthocyanin contents, anthocyanin composition, polymeric color and reflectance color values were the primary color indices used to determine the color changes in pomegranate juice and concentrates during processing and storage.

Pomegranates were processed into juice by two methods. In the first method, pomegranate arils were hand pressed. In the second method, pomegranates with rinds were pressed on a rack and cloth press in the pilot plant. The resulting cloudy juices from each processing method were divided into two parts. Halves were clarified at 5°C using only gelatin (cold clarification). The remaining juices were not clarified. Clarified and non-clarified juices from each treatment were again divided into two parts. Halves were pasteurized. The remaining juices were not pasteurized. Pomegranate juice concentrates were obtained from both clarified and non-clarified juices.

Clarification and pasteurization resulted in 4–19% and 8–14% losses in anthocyanin content of pomegranate juices, respectively. Cyanidine-3,5-diglucoside (56%) was the major anthocyanin in pomegranate juice. The other anthocyanins in pomegranate juice were in descending order: Cyanidine-3-glucoside (25%), delphinidine-3,5-diglucoside (9%), delphinidine-3-glucoside (4%), pelargonidine-3,5-diglucoside (3%) and pelargonidine-3-glucoside (2%). Right after pressing, the polymeric color ratio of pomegranate juice was between 25–29%, which was much higher than those cited for other fruit juices in the literature. Clarification and pasteurization resulted in higher levels of the polymeric color. L^* and h° values of juice samples increased after clarification, indicating the removal of brown pigments and the loss of anthocyanins, respectively.

Analysis of data suggested first-order models for monomeric anthocyanin degradation as well as polymeric color ratio during the storage of pomegranate juice concentrates (68° – 69°Bx). As expected, higher storage temperatures increased the rate of anthocyanin degradation and formation of brown color in pomegranate juice concentrates. For example half-life period for anthocyanin degradation in pomegranate juice concentrates obtained from non-clarified juices was 215, 79 and 29 days at 5° , 12° and 20°C , respectively. Similarly, the reaction rate constants for polymeric color ratio in the same samples were 0.00115, 0.00276 and 0.00622 days at 5° , 12° and 20°C , respectively.

Results from extensive color measurements revealed that the color of pomegranate juice concentrate stored at -23°C almost unchanged during 334 days of storage. On the contrary, very fast color deterioration occurred in concentrate samples stored at 20°C . For example, over 80% loss in monomeric anthocyanin content and 60% increase in polymeric color ratio (from 38% to 61%) were observed in concentrates obtained from non-clarified juices after 73 days of storage. The rate of both anthocyanin degradation and polymeric color formation was slower in concentrate samples obtained from non-clarified pomegranate juices during storage, as compared to the concentrates obtained from clarified juice. Activation energies for the degradation of anthocyanins and the formation of polymeric color in pomegranate juice concentrates ranged from 77 to 90 kJ mol^{-1} and 62 to 76 kJ mol^{-1} at 5° to 20°C , respectively.

These results suggest that pomegranate juice concentrate should be frozen-stored to preserve the characteristic violet-red color. Cold clarification of pomegranate juice was recommended. However, due to the adverse effects on anthocyanins, gelatin should be used with great care during clarification.

July 2008, 140 pages

Key Words: Anthocyanins, color, stability, pomegranates, juice, concentrate, clarification, pasteurization, storage

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen yakın ilgi ve desteğini gördüğüm danışman hocam Sayın Doç.Dr. Mehmet ÖZKAN'a, antosiyanin dağılımı analizlerinin yapılmasında ve HPLC kullanımında bilgilerini benimle paylaşarak yardımcı olan Dr.Oktay YEMİŞ'e, nar suyu konsantresi üretim aşamalarında sık sık bilgilerine başvurduğum emekli hocamız Prof.Dr.Bekir CEMEROĞLU'na, istatistik analizlerinde engin bilgisiyle bana yardımcı olan Prof.Dr. Zahide KOCABAŞ'a ve çalışmalarım süresince yardım ve desteklerini gördüğüm her zaman yanımda olan sevgili aileme ve arkadaşım Simel BAĞDER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özge TURFAN

Ankara, Temmuz 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ	3
3. MATERYAL ve YÖNTEM	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Nar	20
3.1.2 Kimyasallar	21
3.2 Yöntem	21
3.2.1 Narın meyve suyuna işlenmesi	21
3.2.2 Nar ham suyunun durultulması	23
3.2.3 Nar sularının konsantreye işlenmesi	23
3.2.4 Nar suyu ve konsantrelerinin pastörizasyonu	24
3.2.5 Nar suyu ve konsantrelerinin depolanması	24
3.2.6 Fiziksel analizler	25
3.2.6.1 Suda çözünür kuru madde tayini	25
3.2.6.2 pH tayini	25
3.2.6.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi	25
3.2.6.4 Reflektans renk tayini	26
3.2.7 Kimyasal analizler	27
3.2.7.1 Titrasyon asitliği	27
3.2.7.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini	27
3.2.7.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi	29
3.2.7.4 Recovery (geri kazanım) Testi	32
3.2.7.5 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi	34
3.2.8 Kinetik katsayıların hesaplanması	36
3.2.9 İstatistik değerlendirme	39
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	40
4.1 Nar Sularının Bazı Analitik Özellikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi	40
4.2 Nar Ham Suyunun durultulması	41
4.3 Nar Suyu ve Konsantrelerinin Antosiyanin İçeriklerinin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler	43
4.4 Nar Sularının Antosiyanin İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi	45

4.5 Nar Sularında Oluşan Polimerik Renk Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi	54
4.6 Nar Sularının Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler	56
4.7 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Antosiyaninlerdeki Değişimler	58
4.8 Recovery (geri kazanım) Testi	80
4.9 Nar Suyu Konsantrelerinin Polimerik Renk Oranındaki Değişimler.....	81
4.10 Nar Suyu Konsantrelerinin Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler	91
4.11 Nar Suyu Konsantrelerinin pH, Briks ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler	93
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	95
KAYNAKLAR	100
EKLER	106
EK 1 DUNCAN ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİ SONUÇLARI	107
EK 2 ARRHENIUS GRAFİĞİ İÇİN GEREKLİ VERİLER	117
EK 3 ARRHENIUS GRAFİKLERİ	119
EK 4 NAR SUYU KONSANTRELERİNİN ANTOSİYANİN KROMATOGRAMLARI	123
EK 5 KİMYASAL MALZEME LİSTESİ	139
ÖZGEÇMİŞ	140

SİMGELER DİZİNİ

Briks	Suda çözünür kuru madde
DNA	Deoksiribonükleik asit (D eoxyribonucleic a cid)
k	Reaksiyon hız sabiti
$t_{1/2}$	Yarılanma süresi
D	Desimal azalma süresi
E_a	Aktivasyon enerjisi
Q_{10}	Sıcaklığın 10°C arttırılmasıyla reaksiyon hızının artış katsayısı
MeOH	Metanol
UV	Ultraviole (U ltravio l et)
PPO	Polifenol oksidaz
NTU	N ephelometric T urbidity U nit
PTFE	P olytetra f loroetilen
DİE	D evlet İ statistik E nstitüsü
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
a.g	Analitik saflıkta (a.g, analytical grade)
*OH	Hidroksi radikali (Hydroxy radical)
dak.	Dakika
h	Saat (h our)
HTST	Yüksek sıcaklıkta kısa süre (H igh T emperatura S hort T ime)
LTLT	Düşük sıcaklıkta uzun süre (L ow T emperature L ong T ime)
MEYED	Meyve Suyu Endüstrisi Derneği
ROS	Reaktif oksijen formları (R eactive O xygen S pecies)
IFU	Uluslararası Meyve Suyu Federasyonu (I nternational F ruit J uice U nion)
HMF	Hidroksimetil furfural (5- H ydroxymethyl-2-furfural)
PVDF	Poliviniliden florür (P olyvinylidene f luoride)
POD	Peroksidaz
PTFE	Politetrafloretilen (P olytetra f loroetilen)
PVPP	Polivinilpolipirrolidone
PET	Polietilen terafitalat (P olyethylene teraphthalate)
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit

PVPP	Polivinilpolipropilen
$O_2^{\cdot -}$	Superoksit
HOO	Perhidroksi anyonu
PDA	Foto diyoderay dedektörü (P hoto d iyoderay d edector)
SO ₂	Kükürt dioksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Flavilium katyonu	7
Şekil 2.2	Siyanidin-3-glukozit.....	9
Şekil 2.3	Ortam pH'sının antosiyaninlerin rengi üzerine etkisi	16
Şekil 4.1	Siyanidin-3,5-diglukozit standart eğrisi.....	43
Şekil 4.2	Delfinidin-3-glukozit standart eğrisi.....	43
Şekil 4.3	Pelargonidin-3,5-diglukozit standart eğrisi.....	44
Şekil 4.4	Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi.....	44
Şekil 4.5	Pelargonidin-3-glukozit standart eğrisi.....	44
Şekil 4.6	Danelerden elde edilmiş nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları	50
Şekil 4.7	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	51
Şekil 4.8	Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar.....	60
Şekil 4.9	Durultulmuş nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar.....	60
Şekil 4.10	Durultulmamış nar suyundan elde edilip pastörize edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar.....	61
Şekil 4.11	Durultulmuş nar suyundan elde edilip pastörize edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar.....	61
Şekil 4.12	Farklı sıcaklıklarda 74 gün süreyle depolanan nar suyu konsantrelerinde antosiyanin miktarındaki azalmalar.....	62
Şekil 4.13	5°C, 12°C ve 20°C'de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	72
Şekil 4.14	5°C, 12°C ve 20°C'de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	73
Şekil 4.15	5°C, 12°C ve 20°C'de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	74

Şekil 4.16	5°C, 12°C ve 20°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	75
Şekil 4.17	–23°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları...	76
Şekil 4.18	–23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları...	76
Şekil 4.19	–23°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	77
Şekil 4.20	–23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları.....	77
Şekil 4.21	Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler	82
Şekil 4.22	Durultulmuş nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler.....	83
Şekil 4.23	Durultulmamış nar suyundan elde edilmiş ve pastörize edilmiş konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler	84
Şekil 4.24	Durultulmuş nar suyundan elde edilmiş ve pastörize edilmiş konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler	85

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları.....	8
Çizelge 2.2	Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler.....	10
Çizelge 3.1	Antosiyaninler için uygulanan elüsyon profili.....	32
Çizelge 4.1	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	41
Çizelge 4.2	Danelerden elde edilen nar sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	41
Çizelge 4.3	Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham sularına uygulanmış jelatin deneme sonuçları.....	42
Çizelge 4.4	Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen toplam monomerik antosiyanin miktarları	45
Çizelge 4.5	Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarlarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	47
Çizelge 4.6	Durultma ve pastörizasyon işlemi uygulanmış ve uygulanmamış nar sularının toplam monomerik antosiyanin içerikleri.....	48
Çizelge 4.7	Nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanan antosiyaninlerin miktarları.....	52
Çizelge 4.8	Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında polimerik renk oranları	54
Çizelge 4.9	Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarlarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	56
Çizelge 4.10	Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra ölçülen reflektans renk değerleri	57
Çizelge 4.11	Durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin pastörizasyondan önce ve sonra farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik parametreler.....	66
Çizelge 4.12	Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	68
Çizelge 4.13	Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz	68

	çizelgesi.....	
Çizelge 4.14	Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	69
Çizelge 4.15	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanan antosiyanin miktarları.....	71
Çizelge 4.16	Bütün meyveden elde edilen nar suyu konsantrelerinde pastörizasyon işleminden önce saptanan antosiyanin miktarları.....	78
Çizelge 4.17	Bütün meyveden elde edilen nar suyu konsantrelerinde pastörizasyon işleminden sonra saptanan antosiyanin miktarları.....	79
Çizelge 4.18	Nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin geri kazanımları....	80
Çizelge 4.19	Durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin pastörizasyondan önce ve sonra farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında polimerik renk oranına ilişkin kinetik parametreler.....	86
Çizelge 4.20	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanan parçalanma ölçütlerindeki değişimler.....	88
Çizelge 4.21	Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	89
Çizelge 4.22	Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	89
Çizelge 4.23	Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi.....	90
Çizelge 4.24	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin reflektans renk değerleri	92
Çizelge 4.25	Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	94

1. GİRİŞ

Son yıllarda yapılan araştırmalar, bitkisel ürünlerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri nedeniyle sağlık açısından çok yararlı bileşikler olduğunu göstermiştir. Fenolik bileşiklerin antioksidatif etkileri nedeniyle, aralarında kalp ve damar hastalıkları ile kanser gibi hastalıkların da bulunduğu pek çok hastalığı önleyici etki gösterdiği ve yaşlanmayı geciktirme gibi olumlu etkiler yarattığı düşünülmektedir. İşte bu nedenlerden dolayı fenolik bileşiklerce çok zengin bir meyve olan nara (*Punica granatum* Linn.) ve bu değerli üründen elde edilen meyve suyu ve konsantrelerine olan ilgi son yıllarda oldukça artmıştır. Nitekim, ülkemizde nar yetiştiriciliğinin hızla yayılması da bunu doğrular niteliktedir. Ülkemizden ihraç edilen meyve suyu konsantresinin önemli bölümünü elma suyu konsantresi oluşturmakla birlikte, son yıllarda önemli miktarlarda nar suyu konsantresi ihraç edilmeye başlanmıştır.

Nar suyunda kırmızı-viole renk, önemli bir kalite kriteridir. Bu ürünün karakteristik kırmızı-viole rengi antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte nar suyu ve konsantrelerinin gözle algılanan renkleri, antosiyaninler yanında esmerleşme reaksiyonları sonucu oluşan esmer pigmentlerden de kaynaklanmaktadır. Nar suyu konsantreleri; antosiyaninleri, esmerleşme reaksiyonlarının substratı olan fenolik bileşikleri, şekerleri ve amino asitleri yoğun olarak içermesi nedeniyle, bir taraftan antosiyaninlerin parçalanma reaksiyonlarına diğer taraftan da esmerleşme reaksiyonlarına son derece eğilimlidirler. Bu reaksiyonların hızları da özellikle depolama sıcaklık ve süresine bağlı olarak artma eğilimi göstermektedir.

Antosiyaninlerin, narlara sadece renk yönünden çekicilik kazandırmadığı ayrıca, beslenme ve sağlık üzerine de yararlı etkileri olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Antosiyaninler; başta yüksek sıcaklık (gerek ısıl işlem ve gerekse de depolamada) olmak üzere, oksijen, pH, hidrojen peroksit, askorbik asit ve şekerler gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle, özellikle meyve bazlı ürünlerde işleme ve depolama aşamalarında antosiyaninlerin parçalanıp

kaybolmamasına özen gösterilmekte ve antosiyaninlerin bu ürünlerdeki stabilitesi giderek önem kazanmaktadır.

Meyvelerin hasat dönemlerinin sınırlı olması nedeniyle, meyve suyu üretimi belli bir dönemde yapılmakta ve üretilen meyve suları konsantreye işlenerek muhafaza edilmektedir. Yıl boyunca meyve suyu üretimi, ancak sezonunda üretilmiş bu meyve suyu konsantrelerinden mümkün olabilmektedir. Bunun yanında, meyve suyu konsantrelerinin meyve sularına göre gerek taşıma ve gerekse de depolama kolaylığı bulunmaktadır. Meyve suyu konsantrelerinin belli bir süre depolanma zorunluluğu nedeniyle, bunların depolanmaları süresince kalitelerinde meydana gelen değişimler üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Nar suyu konsantrelerinin depolanma stabilitesi üzerine ise, literatürde sadece bir araştırmaya rastlanmıştır. Bu çalışmada nar suyu konsantrelerinin en önemli kalite kriteri olan renkteki değişimler sınırlı düzeyde yapılan analizlerle belirlenmiştir.

Literatürde, nar suyunun rengindeki değişimlerin depolama süresince izlenmiş olduğu bazı çalışmalara rastlanmıştır. Bununla birlikte, çalışmamızda, renkteki değişimler öncelikle nar suyunda değil, nar suyu konsantresinde araştırılmıştır. Çünkü yukarıda değinildiği gibi endüstriyel üretimde nar suyunun doğal haliyle değil, konsantre edildikten sonra depolanması zorunludur. Ayrıca, nar suyu konsantresinin rengindeki değişimler HPLC yönteminden yararlanılarak kapsamlı olarak araştırılmıştır. Bu amaçla, toplam monomerik antosiyanin içeriği, HPLC yöntemi ile antosiyanin kompozisyonu, polimerik renk ve reflektans renk değerleri belirlenmiş ve böylece gerek nar suyu konsantresi üretim aşamalarında ve gerekse de üretilmiş konsantrenin depolanması süresince renkte ve antosiyaninlerdeki değişimler ayrıntılı olarak belirlenmiştir.

Bu araştırmanın amaçları; nar suyunun preslemeden başlayarak, durultulma, pastörizasyon ve konsantreye işlenmesi süresince rengindeki değişimlerin saptanması ve ayrıca çeşitli depolama sıcaklıklarında (-23°C , 5°C , 12°C ve 20°C) konsantrenin rengindeki değişimlerin belirlenmesidir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

Nar (*Punica granatum* Linn.), tropik ve sub-tropik iklim kuşağında yetişen bir meyvedir. Meyvenin olgunlaşması için sıcak ve uzun bir yaz mevsimi gereklidir. Meyveler tam olgunluğa ulaştıktan sonra hasat edilirler (Kulkarni and Aradhya 2005). Yetişkin bir nar ağacından yılda ortalama 150 kg ürün alınmaktadır. Kısa sürede yetişen nar ağacından, fidan dikiminden 3 yıl sonra ürün alınmaya başlanır.

Narın anavatanı Güneybatı Asya olup, özellikle Akdeniz havzasında ve Güney Amerika'da yaygın olarak yetiştirilmektedir (Cemeroğlu 1988). Dünyada; A.B.D.'nin Kaliforniya bölgesinde ve İsrail'de *wonderful*, İspanya'da *mollar* ve *tendral*, İran'da *schahvar* ve *robab*, Türkiye'de *hicaznar* ve *beynar* ve Tunus'ta ise, *zehri* ve *gabsi* nar çeşitleri ticari olarak üretilmektedir (Pekmezci and Erkan 2003). Ülkemizde en fazla yetiştirilen ve ihraç edilen nar çeşidi, *hicaznar*'dır. Bu nar çeşidinin kabukları kırmızı, daneleri kırmızı-viole ve tadı ise tatlı-mayhoştur. Bu özellikleri nedeniyle, gerek sofralık tüketimde ve gerekse meyve suyu endüstrisinde tercih edilen bir çeşittir.

Daha önceleri, ülkemizde nar düzenli plantasyonlarda sınırlı düzeyde yetiştirilen, buna karşın daha çok bahçeleri birbirinden ayırmak için sınır bitkisi olarak yetiştirilen bir üründü. Ancak son yıllarda nara gittikçe artan ilgi nedeniyle ülkemizde modern nar plantasyonları oluşturulmuş ve halen de oluşturulmaya devam edilmektedir. Ülkemizde nar hasadı Ağustos sonunda başlayıp, Kasım ortalarına kadar sürmektedir.

Nar üretimi ile ilgili düzenli bir istatistiksel veriye ulaşamamıştır. Bununla birlikte dünyada yılda 1 000 000 ton nar üretildiği bildirilmektedir (<http://www.batem.gov.tr> 2008). Ülkemizin nar üreten ülkeler arasındaki konumu ile ilgili olarak çelişkili veriler bulunmakla birlikte, dünya nar üretiminde önemli bir yere sahip olduğumuz birçok kaynakta vurgulanmaktadır. Son yıllarda yayınlanan istatistiksel verilere göre, ülkemiz; İran'dan sonra en fazla nar üreten 2. ülke konumunda olup, ülkemizi Pakistan, Azerbaycan, Hindistan ve İspanya izlemektedir (<http://www.tarimmerkezi.com> 2006). Diğer bir kaynakta, ülkemizin; İran ve Pakistan'dan sonra en fazla nar üreten 3. ülke

olduğu bildirilmektedir (<http://www.batem.gov.tr> 2008). Başka bir kaynakta ise, ülkemizin dünyada en fazla nar üreten ülke olduğu ve ülkemizi İran, Irak ve Suriye'nin izlediği belirtilmektedir (<http://www.cu.edu.tr> 2006).

Son yıllarda ülkemizde nar üretiminde önemli artışlar olmuştur. 1998 yılında 55 000 ton olan yıllık nar üretimimiz, 2005 yılında 80 000 tona, 2006 yılında 91 000 tona ve 2007 yılında ise 102 000 tona ulaşmıştır (<http://www.tarimmerkezi.com> 2006, <http://www.batem.gov.tr> 2008). Son yıllarda nar plantasyonlarındaki artışla birlikte birkaç yıl içinde nar üretimimizin 500 000 tona ulaşacağı tahmin edilmektedir (<http://www.tarimmerkezi.com> 2006). Ülkemizde, nar Anadolu'nun hemen her bölgesinde yetişmekle birlikte, başlıca üretim bölgeleri; Akdeniz (%62) ve Ege (%23) bölgelerinin sahil şeridi ile Güneydoğu Anadolu (%9) bölgesidir (<http://www.batem.gov.tr> 2008). Yaklaşık 80 ilimizde nar yetiştirilebilmesine karşın, üretimimizin %85'i 9 ilimizde, en çok da Antalya'da (%38) gerçekleştirilmektedir (Gültekin vd. 2007). Narın en fazla üretildiği diğer iller ise; İçel (%11), Aydın (%9), Denizli (%8), Hatay (%6) ve Siirt (%4)'tir. 2004 yılı verilerine göre, ülkemizden 11 760 ton nar ihraç edilmiş olup, bu ihracatın 4247 tonu Rusya Federasyonu'na, 2355 tonu Almanya'ya ve 1245 tonu ise, Ukrayna'ya gerçekleştirilmiştir (İGEME 2005). İhracatımızın neredeyse tamamı Antalya'dan yapılmaktadır (Gültekin vd. 2007).

Ülkemizde birçok farklı nar çeşidi yetiştirilmektedir. Bölümümüzde yürütülen bir projede, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Menemen, İzmir), Alata Bahçe Kùltürleri Enstitüsü (Erdemli, Mersin) ve Alanya Meyvecilik Üretim İstasyonu'nun (Alanya, Antalya) koleksiyon bahçelerinden sağlanan 120 nar numunesinin kimyasal tanı değerleri (RSK değerleri) belirlenmiştir (Cemeroğlu vd. 1994). Akdeniz narlarının seleksiyonuna ilişkin yapılan bir araştırmada, 72 tip nar çeşidi belirlenmiştir (Onur 1982). Bu çalışmalar ülkemizde çok fazla nar çeşidi bulunduğunu göstermektedir. Üretilen bu nar çeşitlerinden ancak belli bir bölümü meyve suyu üretimine elverişlidir. Nitekim, Onur (1982) tarafından yapılan bir araştırmada suda çözünür kuru madde, titrasyon asitliği, renk yoğunluğu ve fenolik madde miktarı başlıca kriter alınarak yapılan bir değerlendirmede, 72 nar çeşidi arasından toplam 23 çeşidin meyve suyu

üretimine elverişli olduğu saptanmış ve daha sonra söz konusu çeşitler 8'e indirilmiştir (Cemeroğlu vd. 1988).

Akdeniz ülkelerinde genelde narlar taze meyve olarak tüketilirken; ayrıca meyve suyu, salata sosu (nar ekşisi), likör ve şaraba da işlenmektedir (Cemeroğlu 1977). Dünyada olduğu gibi, ülkemizde de son yıllarda nar suyuna ve konsantresine talep oldukça artmıştır. Nitekim, nar suyu konsantresinin diğer meyve suyu konsantrelerine kıyasla oldukça yüksek bir fiyata alıcı bulması da bu talebi doğrular niteliktedir. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği verilerine göre, ülkemizde 2005 yılında 17 600 ton, 2006 yılında ise 46 600 ton nar, meyve suyuna işlenmiştir (MEYED 2005). Elde edilen nar suyundan ise, 2005 yılında 2800 ton, 2006 yılında ise, 6900 ton nar suyu konsantresi (65°Briks) üretilmiştir. Nar suyu konsantresi ihracatı ile ilgili olarak herhangi bir istatistiksel veriye ulaşılamamıştır.

Narın yenebilen kısmı, yani daneleri, meyvenin %52'sini oluşturmakta ve danelerin de; %78'i meyve eti, %22'si ise, çekirdekten oluşmaktadır (Kulkarni and Aradhya 2005). Nar danelerinin 100 g'ında; %79 su, %18 karbonhidrat, %1.1 protein ve %0.9 yağ olduğu ve danelerin 100 g'ının 70 kcal/100 g enerji verdiği bildirilmektedir (Rieger 2006).

Tüm meyvenin (kabuklar dahil), yaklaşık %45–65'ini meyve suyu oluştursa da, üretilen nar suyunun içilebilir nitelikte olmasına, yani fazla buruk olmamasına özen gösterilmelidir. Bunun için, endüstriyel nar suyu üretiminde randımanın %40'ı geçmemesi önerilmektedir (Cemeroğlu 1977). Vardin and Fenercioğlu (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, nar suyu randımasının %54'e ulaşabildiği, ancak bu denli yüksek randımanda üretilen nar suyunun tadının, içerdiği fazla miktardaki fenolikler nedeniyle aşırı buruk olduğu saptanmıştır.

Narların kimyasal kompozisyonu; yetiştirme bölgesine, iklime, olgunluğa, kültürel uygulamalara ve depolamaya bağlı olarak değişmektedir. Narın bileşimine yönelik yapılan en kapsamlı araştırma, Cemeroğlu vd. (2004) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu

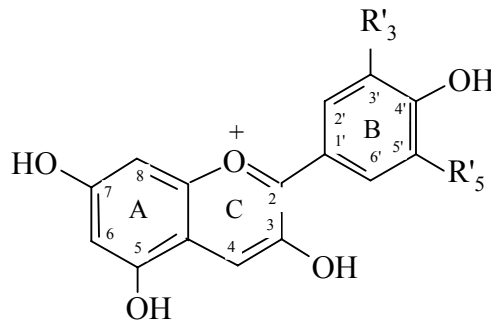
araştırmada, değişik yörelerden temin edilen 120 farklı nar örneğinden, kabukları ile preslenerek elde edilen nar sularında bazı bileşim öğeleri belirlenmiştir. Bu çalışmada narların bileşim öğelerinin örnekler arasında çok geniş aralıklarda değiştiği saptanmıştır. Örneęin, bazı örneklerde titrasyon asitliği 2 g/L gibi dūřuk bir değer iken, yani elma suyundan bile daha az iken, bazı örneklerde bu değerin 55.2 g/L'ye kadar ulaştığı, yani limon suyunun titrasyon asitliği değerine yakın bir değer olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada bulunan diğer ilginç sonuç ise, nar sularında sorbitol dūzeyinin nadiren 0.5 g/L dūzeyine çıkmasıdır. Nar sularında sorbitol dūzeyinin 0.3 g/L'den fazla olması, nar suyuna başka bir meyve suyunun, örneğin vişne suyu, eklenerek tahşiş yapıldığı kuşkusunu doğurabileceği vurgulanmıştır. Son yıllarda sorbitol dūzeyi nar sularına yapılan tahşişin kontrolūnde önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır.

Ülkemizde yetiştirilen 13 farklı nar çeşidi ile yapılan araştırmada, nar sularında 6 tane organik asit tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir (Poyrazoęlu *et al.* 2002). Çeřitler arasında organik asit dağılımları arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Elde edilen kromatogramlardaki pik ayırımlarının yeterli olmamasına karşın, nar sularındaki başat organik asidin sitrik asit olduğu, bunu da malik ve tartarik asidin izlediği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir araştırmada, nar suyunun önemli miktarda fenolik madde içerdiği ve bu oranın çeşide bağlı olarak %0.2–1.0 arasında değişebildiği saptanmıştır (Heftaman and Bennett 1966). Suda zūnen bu fenolik maddelerin önemli blūmūnū antosiyaninler (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin glikozitleri), kateşinler, ellajitanenler, gallik ve ellajik asit oluşturmaktadır (Aviram *et al.* 2000).

Narın karakteristik parlak kırmızı-viole rengi antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. Narın ve bu deęerli rūnden elde edilen meyve suyu konsantresinin ticari deęerini belirleyen en önemli kriter, yapısında doęal olarak bulunan monomerik antosiyanin içerięidir. Renk maddesi olarak gıdalara çekici bir renk kazandırmasının yanında, gösterdikleri antioksidan etki nedeniyle antosiyaninlerin birçok kronik hastalıęı önleyici etki gösterdięi ortaya konulmuřtur (Gil *et al.* 2000). Canlıların yařamsal faaliyetlerini sūrdūrebilmeleri için enerjiye ihtiyaçları bulunmaktadır. Bu enerji de, glukoz ve yaę asitleri gibi molekūllerin oksidasyonu ile elde edilmektedir. Ancak bu maddelerin

oksidasyonu sonucunda bir yandan enerji açığa çıkarken, diğer yandan da reaktif oksijen formları (ROS, reactive oxygen species) olarak adlandırılan ve yapısında oksijen içeren serbest radikaller oluşmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller, başta kalp ve damar hastalıkları ile kanser olmak üzere birçok kronik hastalığın başlamasına neden olmaktadır. Antioksidatif etki sonucunda, antosiyaninler canlı hücrelerde oluşan ve doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan serbest radikaller ile reaksiyona girerek bu bileşiklerin oksidasyonunu önlemektedirler. Noda *et al.* (2002), narda bulunan başlıca üç antosiyanidin (siyanidin, delfinidin ve pelargonidin) *in vitro* koşullarda, lipid peroksidasyonunu önlemede ve serbest radikalleri (hidroksi, HO* ve superoksit, O₂*) inhibe etmede etkili olduklarını belirlemişlerdir.

Antosiyaninler; klorofil ve karotenoidlerden sonra bitkiler aleminde en yaygın bulunan doğal renk maddeleridir. Meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki renkleri antosiyaninlerden kaynaklanmaktadır. (Cemeroğlu vd. 2004). Antosiyaninler, bir yandan bitkiyi zararlı UV radyasyonundan, diğer yandan da anti-viral ve anti-mikrobiyel aktivite göstererek mikroorganizmalara karşı korurlar (Wrolstad 2004). Kimyasal olarak antosiyaninler, antosiyanidinlerin şekerlerle esterleşmiş formlarıdır. Antosiyanidinlerin, dolayısı ile antosiyaninlerin, temel yapıtaşı flavilium katyonudur (2-fenilbenzopirillium). Şekil 2.1’de flavilium katyonunun kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Flavilium katyonu

Flavilium katyonunun $C_6C_3C_6$ karbon iskeleti ile karakterize edilen yapısının, fenolik bileşiklerin bir alt grubu olan flavanoidlerle aynı olması nedeniyle, temel yapı taşı flavilium katyonu olan antosiyaninler de flavonoid grubunda yer alan fenolik bileşiklerdendir (Cemeroğlu vd. 2004). Bununla birlikte, diğer flavonoidlerden farklı olarak, antosiyaninler görünür bölgedeki ışığı absorbe ederler.

Doğada 20 civarında antosiyanidin olduğu bilinmektedir. Bu antosiyanidinlerden 6 tanesi meyve ve sebzelerin yapısında yaygın olarak bulunmaktadır. Bu 6 antosiyanidin yapısı Çizelge 2.1’de gösterilmiştir. Bu yaygın 6 antosiyanidin birbirinden farkı, B halkasına bağlanan hidroksil (OH), metoksil (OCH_3) ve hidrojen (H) gruplarının gerek sayısı ve gerekse de bağlanma yerlerinin farklı olmasıdır (Mazza and Miniati 1993).

Çizelge 2.1 Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları (Cabrita *et al.* 2000)

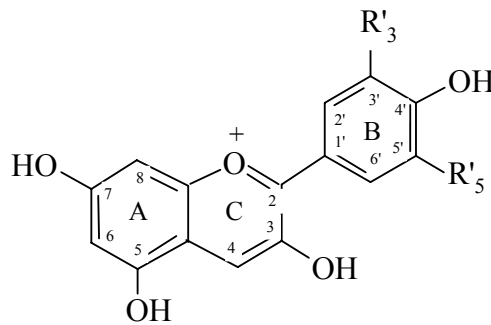
Antosiyanidin	R_3'	R_5'	Rengi
Siyanidin (Cy)	OH	H	Turuncu-kırmızı
Pelargonidin (Pg)	H	H	Turuncu
Peonidin (Pn)	OCH_3	H	Turuncu-kırmızı
Delfinidin (Dp)	OH	OH	Mavi-kırmızı
Petunidin (Pt)	OCH_3	OH	Mavi-kırmızı
Malvidin (Mv)	OCH_3	OCH_3	Mavi-kırmızı

Antosiyanidinler, doğada serbest olarak bulunmazlar, her zaman bir şekerle esterleşmiş halde, yani antosiyanin halinde bulunurlar. Antosiyanin molekülüne bağlanan şeker molekülleri bazı istisnalar dışında daima 3. pozisyonadaki karbon atomuna bağlanır. Bunun yanında, birden fazla şeker molekülünün bağlandığı durumlarda, şeker moleküllerinin birisi mutlaka 3. pozisyona bağlanmış olmakla birlikte, diğerleri çoğunlukla 5. pozisyona ve nadiren de 7. pozisyona bağlanmış olabilir. Antosiyanidinlere yaygın olarak bağlanan şekerler, bulunuş sıklığına göre sırasıyla; glukoz, ramnoz, galaktoz, ksiloz ve arabinozdur (Jackman *et al.* 1987). Daha az sıklıkla olmakla birlikte, bazen antosiyanidinlere bu monosakkaritlerden oluşan di- veya tri-

sakkaritler de glukozit bağı ile bağlanmaktadır. Antosiyanidin glukozitlerinin doğada en yaygın olanı 3-glukozitler olup, bu glukozit formu 3,5-diglukozitlerden yaklaşık 2.5 kat daha fazla bulunmaktadır (Kırca 2004).

Antosiyaninlerin yapısında, şekerler dışında bazen üçüncü bir bileşen de yer almaktadır. Bunlar çoğunlukla fenolik asitlerden bir ya da birkaçı (*p*-kumarik, ferulik, kafeik, sinapik, gallik veya *p*-hidroksibenzoik asit) ya da daha az sıklıkla olmakla birlikte organik asitlerden (malonik, okzalik, malik, süksinik veya asetik asit) birisidir. Bu asitler 3. karbon atomundaki şeker molekülünün çoğunlukla 6–OH ya da daha az sıklıkla 4–OH grubuna açillenerek bağlanmıştır (Guisti and Wrolstad 2003).

Antosiyaninler arasındaki farklar, moleküldeki hidroksil gruplarının sayısı, bu hidroksil gruplarının metilasyon derecesi, moleküle bağlanmış şekerlerin türü ve sayısı ve bu şekerlere bağlanmış fenolik ve organik asitlerin yapı ve sayısı gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (Mazza and Brouillard 1990). Bu farklı grupların bağlanmasıyla, yaklaşık 600 farklı antosiyanin molekülü teşhis edilmiştir (Wrolstad 2004). Çizelge 2.2’de bazı meyvelerde bulunan başlıca antosiyaninler verilmiştir. Doğada en yaygın olarak bulunan antosiyanin; siyanidin-3-glukozit olup, bu antosiyaninin kimyasal yapısı Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Siyanidin-3-glukozit

Çizelge 2.2 Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler

Meyve	Çeşit	Antosiyaninler ^{1, 2}	Kaynak
Yaban mersini (Blueberry)	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. cv. Rubel	Malvinidin (%51), delfinidin (%26) ve petunidin (%20) glukozitler	Lee <i>et al.</i> (2002)
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. cv. Rubel	Malvinidin-3-gal (%27.8), malvinidin-3-glu (%13.9), malvinidin-3-ara (%13.0), delfinidin-3-gal (%12.8), delfinidin-3-ara (%8.4), petunidin-3-gal (%5.3), petunidin-3-glu (%4.8), petunidin-3-ara (%4.6), delfinidin-3-glu (%4.4), siyanidin-3-gal (%2.0), siyanidin-ara (%1.1), peonidin-3-gal (%1.0), siyanidin-3-glu (%0.9)	Lee and Wrolstad (2004)
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.	Malvinidin (%44), delfinidin (%30) ve petunidin (%23) glukozitler	Skrede <i>et al.</i> (2000)
Cranberry	<i>Vaccinium oxycoccus</i> L. (küçük, Norveç)	Peonidin-3-glu (%42), siyanidin-3-glu (%38)	Andersen (1989)
Ahududu (Raspberry)	<i>Rubus idaeus</i> L.	Siyanidin-3-sop (%40.5), siyanidin-3-glru (%44.9), siyanidin-3-glu (%0.6), pelargonidin-3-sop, siyanidin-3-rut, pelargonidin-3-glru	Withy <i>et al.</i> (1993)
Black raspberry	<i>Rubus occidentalis</i>	siyanidin-3-rut (%51.8), siyanidin-3-ksilrutinozit (%36.8), siyanidin-3-glu (%7.1), siyanidin-3-sambubioside (%3.5), pelargonidin-3-rut (%0.8)	Tian <i>et al.</i> (2006)
Çilek (Strawberry)	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	Pelargonidin-3-glu (%23), siyanidin-3-glu (%14)	Fuleki (1969)
	<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	Pelargonidin-3-glu (%72.1), pelargonidin-3-glu-mal (%17.1), siyanidin-3-glu (%10.3), pelargonidin-3-glu-succ (%0.5)	Kammerer <i>et al.</i> (2007)

Çizelge 2.2 Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler (devam)

Meyve	Çeşit	Antosiyaninler ^{1, 2}	Kaynak
Böğürtlen (Blackberry)	<i>Rubus laciniatus</i> Willd., cv. Evergreen	Siyanidin-3-rut (%25), açillenmiş siyanidin türevleri (%24), siyanidin-3-glu (%19), ksiloz-siyanidin türevi (%9), siyanidin (%1)	Rommel (1992)
	<i>Rubus laciniatus</i> , cv. Evergreen	Siyanidin-3-glu (%69.7), siyanidin-3-rut (%26.5), siyanidin-3-xly siyanidin-3-malglu (%1.1) siyanidin-3-oxlglu (%2.7)	Fan-Chiang and Wrolstad (2005)
Siyah havuç (Black carrot)	<i>Daucus carota</i> ssp. <i>sativus</i> , cv. <i>atrorubens</i> Alef.	Siyanidin-3-xyl-glu-gal-fer (%51.8), siyanidin-3-xly-gal (%17.6), siyanidin-3-xyl-glu-gal-coum (%15.8), siyanidin-3-xly-glu-gal (%7.6), siyanidin-3-xyl-glu-gal-sin (%7.2)	Kammerer <i>et al.</i> (2007)
Mürver yemişi (Elderberry)	<i>Sambucus nigra</i> L.	Siyanidin-3-sam (%44.2), siyanidin-3-sam-5-glu (%36.4), siyanidin-3-glu (%15.7), siyanidin-3,5-diglu (%3.7)	Kammerer <i>et al.</i> (2007)
Kırmızı patates (Red-fleshed potato)	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Pelargonidin-3-sophoroz-5-glu (mono-açillenmiş pelargonidin türevi) (%80)	Rodriguez-Saona <i>et al.</i> (1999)
<i>Vişne</i> (Sour cherry)	<i>Prunus cerasus</i> L., cv. Montmorency	Siyanidin ve Peonidin glukozitler	Dekazos (1970)
Kiraz (Sweet cherry)	<i>Prunus avium</i> L., cv. Royal Ann	Siyanidin (%94) ve pelargonidin (%6) glukozitler	Chaovanalikit and Wrolstad (2004)
	<i>Prunus avium</i> L., cv. Bing	Siyanidin (%98), pelargonidin (%0.9) ve peonidin (%1.3) glukozitler	Chaovanalikit and Wrolstad (2004)
	<i>Prunus avium</i> L., cv. Rainier	Siyanidin (%97), pelargonidin (%2) ve peonidin (%1) glukozitler	Chaovanalikit and Wrolstad (2004)

Çizelge 2.2 Bazı meyvelerin içerdikleri antosiyaninler (devam)

Meyve	Çeşit	Antosiyaninler ^{1, 2}	Kaynak
Nar (<i>Pomegranate</i>)	<i>Punica granatum</i> L.	Siyanidin-3-glu, delfinidin-3-glu, siyanidin-3,5-diglu, delfinidin-3,5-diglu, pelargonidin-3-glu, pelargonidin-3,5-diglu	Du et al. (1975)
	<i>Punica granatum</i> L. cv. Wonderful (A.B.D.)	Siyanidin-3-glu (%42), delfinidin-3-glu (%25), siyanidin-3,5-diglu (%17), delfinidin-3,5-diglu (%14), pelargonidin-3-glu (%2)	Gil et al. (2000)
	<i>Punica granatum</i> L. cv. Mollar (İspanya)	Siyanidin-3-glu (%40), siyanidin-3,5-diglu (%38), pelargonidin-3-glu (%7), delfinidin-3,5-diglu (%6), pelargonidin-3,5-diglu (%4), delfinidin-3-glu (%4)	Marti et al. (2001)
Kırmızı turp (Red radish)	<i>Raphanus sativus</i> L.	Pelargonidin-5-glu,3-sop (kafeik asit), pelargonidin-5-glu,3-sop (ferulik asit), pelargonidin-5-glu,3-sop (kafeik asit), pelargonidin-5-glu,3-sop (p-kum + fer + kaf), pelargonidin-5-glu,3-sop, pelargonidin glukozit, pelargonidin-5-glu,3-sop (p-kum + fer)	Fuleki (1969)
	<i>Raphanus sativus</i> L.	Pelargonidin türevleri; pg-3-soph-5-glu (p-kumarik asit yada ferulik asit), pg-3-soph-5-glu, pg-3-soph-5-glu (malonik + p-kumarik asit), pg-3-soph-5-glu (malonik + ferulik asit)	Rodriguez-Saona et al. (1999)
Kırmızı soğan (Red onion)	<i>Allium cepa</i> L.	Siyanidin ve peonidin glukozitler	Fuleki (1969)

¹Antosiyanidinler en fazladan başlanarak gittikçe azalış sırasına göre verilmiştir.

²glu, glukozit; gal, galaktozit; ara, arabinozit; rut, rutinozit; malglu, malonylglukozit; glru, glukorutinozit; sop, sophorozit; xyl, ksiloz; mal, malonik asit; fer, ferulik asit; sam, sambubioz; sin, sinapik asit; succ, sükinik asit; kum, kumarik asit; kaf, kafeik asit.

Hidroksil grupları ve metoksil gruplarının antosiyaninlerin rengi üzerine önemli bir etkisi bulunmaktadır. Moleküldeki hidroksil grubu sayısının artması, rengin pembeden maviye doğru değişmesine neden olur. Çizelge 2.1’de görüldüğü gibi, yapısında daha fazla hidroksil grubu içeren delfinidin, siyanidine göre daha maviyken, siyanidin de pelargonidine göre daha mavidir (Jackman *et al.* 1987). Moleküldeki metoksil sayısının artışı ise, rengin maviden pembeye doğru değişmesine neden olur. Hidroksil ve metoksil gruplarının sayısına göre antosiyaninlerin renginde gözlenen bu değişim, stabiliteyi de etkilemektedir. Nitekim moleküldeki metoksil ve özellikle de açıl gruplarının artması antosiyaninlerin stabilitesini artırmaktadır (Mazza and Miniati 1993). Örneğin, kükürtle renkleri ağartılan kokteyl kirazlar, kırmızı turptan (red radish) elde edilen ekstraktla boyanmış ve bu işlemin sonunda yüksek renk ve pigment stabilitesine ulaşılmıştır (Guisti and Wrolstad 1996). Bu sonuç, kırmızı turpta bulunan pelargonidin-3-soforit-5-glukozit’in *p*-kumarik, ferulik ve malonik asitle açillenmesinden kaynaklanmasıyla açıklanmaktadır.

Benzer şekilde, 3. karbondaki glukozilasyon da antosiyaninlerin stabilitesini artırmakta ve aynı zamanda bu bağlanma ile antosiyaninlerin sudaki çözünürlüğü de artmaktadır (Jackman *et al.* 1987). Buna karşın, 5. karbondaki glukozilasyon antosiyaninlerin stabilitesini azaltmaktadır. Diglukozilasyonun da, monoglukozilasyona göre antosiyaninlerin stabilitesini artırdığı bildirilmektedir (Mazza and Miniati 1993). Bu konuda yapılan bir çalışmada; siyah havuç, kırmızı lahana, patates, çilekçillerden mürver yemişi (elderberry) ve böğürtlendeki (blackberry) siyanidinlerin sinamik asitle yaptıkları açillenmenin antosiyaninlerin stabilitesini artırdığı, buna karşın 5. karbon grubundaki glukozilasyonun ise antosiyaninlerin stabilitesini azalttığı saptanmıştır (Stinzing *et al.* 2002).

Antosiyaninlerin stabilitesini artıran diğer bir etken de, flavonoidlerle yaptıkları kopigmentasyondur. Bilindiği gibi, flavonoidler renksizdirler. Ancak antosiyaninlerle kompleks oluşturdıklarında, onların renklerini stabilize ederler. Flavonoidler dışında, alkaloidler, amino asitler, nükleotidler ve hatta bizzat antosiyaninler de kopigment olarak antosiyaninlerle kompleks oluşturabilirler (Cemeroğlu vd. 2004). Kopigmentasyon hem renk yoğunluğunu artırır (hyperchromic effect) hem de

antosiyeninlerin görünür bölgedeki maksimum absorbans gösterdikleri dalga boyunun ($\lambda_{\max}$) artmasına neden olur (bathochromic effect, 'blueing' effect). Antosiyeninler kopigment oluşturarak, birçok meyvenin bulunduğu pH derecelerinde (3–5) renksiz hemiketal formunun oluşumunu önlerler ve böylece bu pH derecelerinde bile antosiyeninlerin yoğun renk içermesini sağlarlar.

Birçok gıda bileşeninde gözlemlendiği gibi antosiyeninler de çeşitli faktörlerin etkisiyle parçalanarak kendilerine özgü pembe–mavi renklerini kaybetmektedirler. Bu durum antosiyeninlerin yapıtaşı olan flavilium katyonunun C halkasının doymamış yapıda olması ve dolayısı ile reaktivitesinin çok fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Bunun sonucunda, antosiyeninler kolaylıkla reaksiyona girerek, parçalanmaktadırlar. Antosiyeninlerin stabilitesi üzerine birçok faktör etkilidir. Bu faktörlerin başlıcaları; sıcaklık, oksijen, pH, askorbik asit, hidrojen peroksit, kükürt dioksit, enzimler, şeker ve parçalanma ürünleri, metal iyonları ve ışıktır.

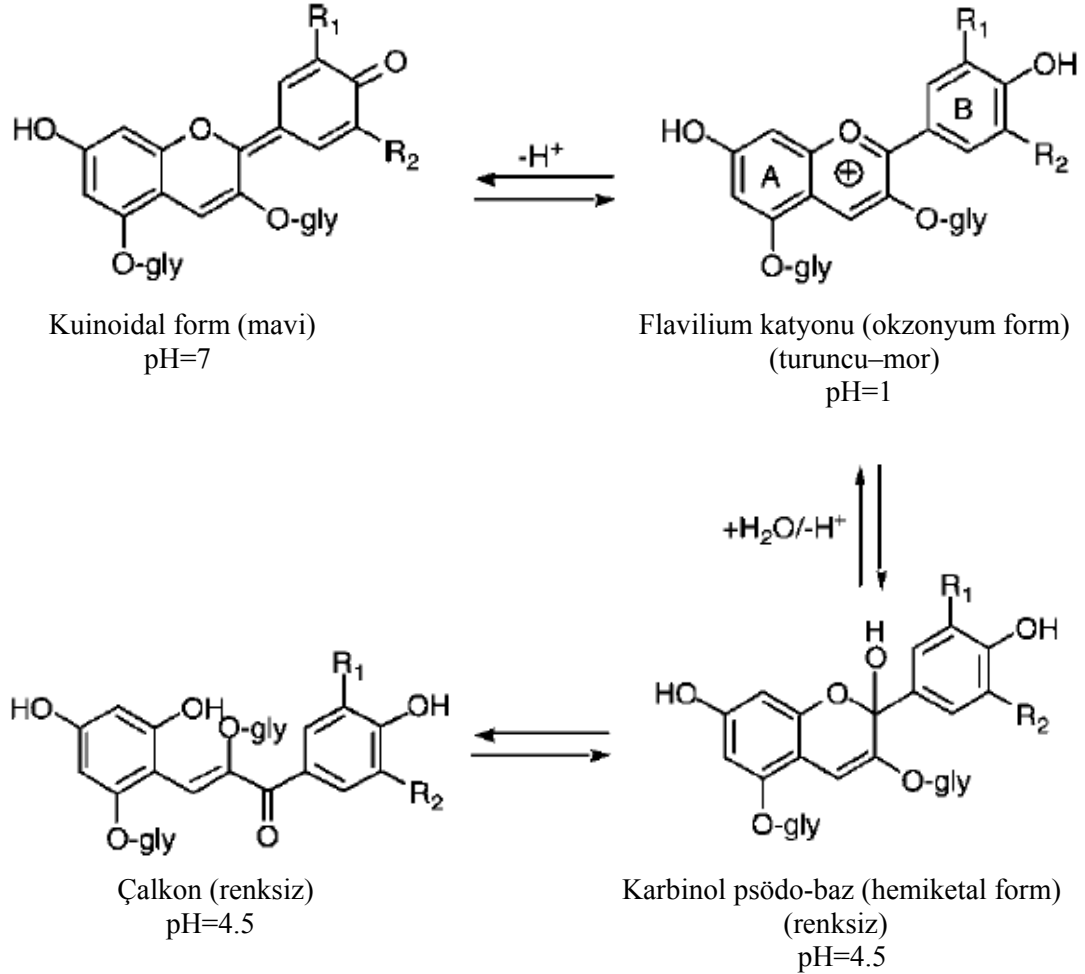
Antosiyeninlerin parçalanmasına neden olan en önemli faktör, sıcaklıktır. Gerek ürünün işlenmesi gerekse de depolanması süresince uygulanan yüksek sıcaklık, antosiyeninlerde mutlaka parçalanmaya neden olmaktadır. Özellikle meyve bazlı ürünlerin ısıtılması ve depolanması sırasında sıcaklığın antosiyeninler üzerine olumsuz etkisi yapılan birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Antosiyeninlerin termal degradasyonu (parçalanması); vişne suyu ve konsantrelerinde (Cemeroğlu *et al.* 1994), ve kan portakalı suyu ve konsantrelerinde (Kırca and Cemeroğlu 2003) ortaya konulmuştur. Bu ürünlerde, proses sıcaklığındaki her 10°C'lik artış, antosiyeninlerin parçalanma hızını 1.3–2.8 kat artırmıştır. Antosiyeninlerin depolama süresince parçalanması; vişne suyu konsantrelerinde (Işık 1993, Asefi 1995), ahududu (raspberry) suyu konsantrelerinde (Withy *et al.* 1993), nar suyu konsantrelerinde (Asefi 1995), kan portakalı konsantrelerinde (Kırca and Cemeroğlu 2003) ve siyah havuç suyu konsantrelerinde (Kırca *et al.* 2007) ortaya konulmuştur. Yapılan bu çalışmalar, depolama sıcaklığındaki her 10°C artışın, antosiyeninlerin parçalanma hızını 2–3 misli artırdığını göstermektedir.

Sıcaklığın antosiyaninler üzerine etkisi, ahududu suyu konsantrelerinin iki farklı sıcaklıkta depolanması sırasında ortaya konulmuştur (Withy *et al.* 1993). Bu çalışmada, ahududu suyu konsantreleri -20°C ve $+20^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklarda 3 ay süreyle depolanmış ve bu süre sonunda toplam monomerik antosiyanin içeriğinde sırasıyla %3.1 ve %80.4 düzeyinde kayıp saptanmıştır. Depolama başlangıcında çok düşük düzeyde (%0.6) bulunan siyanidin-3-glukozit, 20°C 'de 3 ay depolama sonunda %71.2 düzeyine ulaşmıştır. Araştırmacılar, siyanidin-3-glukozit'in diğer antosiyaninlere göre çok daha reaktif olduğunu ve bu nedenle de bu antosiyaninin depolama süresince hızlı bir şekilde polimerize olarak ürünün renginin hızla bozulabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Antosiyaninlerin parçalanması üzerine sıcaklıktan sonra en fazla etki eden faktör, ortamdaki oksijen konsantrasyonudur. Oksijen, antosiyaninleri doğrudan reaksiyona girerek parçalayabileceği gibi, indirekt olarak, yani antosiyanin dışındaki maddeleri okside ederek oluşturduğu oksitlenmiş ürünlerin, antosiyaninlerle reaksiyonu sonucu onların parçalanmasına da neden olabilmektedir. Oksijen, doğrudan antosiyaninlerin C halkasındaki doymamış yapı ile reaksiyonu girerek renksiz çalkon oluşumuna neden olmaktadır. Bunun dışında, antosiyaninler askorbik asidin oksidasyonu sonucu oluşan (Sondheimer and Kertesz 1952) veya ambalaj materyalinin sterilizasyonu sonucu ortamda kalan (Özkan *et al.* 2002) hidrojen peroksit eşliğinde de okside olabilirler. Ayrıca, enzimatik esmerleşme reaksiyonlarında polifenol oksidaz enziminin katalizörlüğünde fenolik bileşiklerin oksidasyonu sonucu oluşan *o*-kinonlar da antosiyaninlerle reaksiyona girerek onların dolaylı olarak parçalanmasına neden olabilmektedirler (Von Elbe and Schwartz 1996).

Ortamin pH'sındaki değişimle birlikte antosiyaninler, yapısal değişime uğramakta ve bu değişimler rengin değişimine neden olmaktadır. pH'nın antosiyaninler üzerine etkisi Şekil 2.3'de gösterilmiştir. Buna göre, düşük pH derecelerinde ($\text{pH} < 2$) ortamda rengi kırmızı olan okzonyum iyonu baskın olarak bulunmaktadır. pH arttıkça, hemiketal form artarken, okzonyum formunun miktarı azalmaktadır. Hemiketal formu renksiz olup, pH 4–5 arasında maksimum konsantrasyona ulaşır. Hemiketal formun oluşumunda, su molekülleri antosiyanin molekülünün C halkasında bulunan 2. karbon atomuna nükleofilik bir atak yaparak halkanın açılmasına neden olur. Aynı pH aralığında (4–5),

hemiketal form renksiz veya açık sarı renkli çalkon formuyla da denge halinde bulunmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004). Ortam pH'sı 5'in üzerine çıktığında, kuinoidal form oluşmaya başlar ve pH 7–8 arasında bu form baskın form olarak bulunur. Kuinoidal formun rengi mavidir. pH 8'in üzerinde, ortamda yeniden renksiz hemiketal form oluşmaya başlar.



Şekil 2.3 Ortam pH'sının antosiyaninlerin rengi üzerine etkisi (Wrolstad 2004)

Askorbik asit bulunan ortamlarda antosiyaninlerin daha hızlı parçalandığı birçok araştırmacı tarafından gözlenmiştir. Nitekim, nar sularına zenginleştirme amacıyla eklenen askorbik asit, antosiyaninlerin kaybını hızlandırmıştır (Marti *et al.* 2001). Aynı şekilde, hidrojen peroksit eklenen meyve sularında, askorbik asit konsantrasyonu 60 mg L⁻¹'den 80 mg L⁻¹'ye çıkarıldığında, antosiyaninlerin parçalanma hızında önemli artışlar

saptanmıştır (Özkan 2002). Bu etki vişne suyunda, nar suyuna göre daha belirgin olarak gözlenmiştir. Örneğin, askorbik asit konsantrasyonu 60 mg L⁻¹'den 80 mg L⁻¹'ye yükseldiğinde, antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı-ömür süreleri sırasıyla vişne suyunda 450 dak.'dan 9 dak'ya, nar suyunda ise 456 dak.'dan 418 dak'ya düşmüştür. Askorbik asidin bu etkisi çilek sularında da ortaya konulmuş (Sondheimer and Kertesz 1952) ve araştırmacılar askorbik asidin doğrudan antosiyaninleri parçalamadığını, ancak askorbik asidin parçalanma ürünlerinin antosiyaninleri parçaladığını ileri sürmüşlerdir. Nitekim, Meschter (1953) askorbik asidin parçalanma ürünlerinden dehidroaskorbik asit, furfural ve H₂O₂'in antosiyaninleri parçaladığını saptamıştır. Askorbik asidin, bakır veya demirle reaksiyonu sonucu hidrojen peroksit oluşmaktadır (Davidek *et al.* 1990).

Frenk üzümü (black currant) nektarlarında antosiyaninlerin parçalanma hızlarının askorbik asidin parçalanma hızından 3–4 misli daha fazla olduğu saptanmıştır (Iversen 1999). Bu durumun, askorbik asidin oksidasyonu sonucu oluşan askorbik asit radikalinin ortamda bulunan antosiyaninlerle reaksiyona girerek yeniden askorbik aside indirgenmesinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Böylece askorbik asit, ortamda bulunan antosiyaninler tarafından korunmakta, antosiyaninler ise bu reaksiyon sonunda parçalanmaktadır. Buna karşın, Marti *et al.* (2001) nar sularına eklenen askorbik asidin 4 gün gibi kısa süre depolama sonunda hızla parçalandığını saptamışlar ve nar sularına zenginleştirmek amacıyla askorbik asit ilavesinin amacı karşılayamayacağı sonucuna ulaşmışlardır.

Hidrojen peroksitin antosiyaninler üzerine olan olumsuz etkisi uzun süreden beri bilinmektedir. Bu etki ilk kez Sondheimer and Kertesz (1952, 1953) tarafından çilek sularında ve çileğin başat antosiyanini olan pelargonidin-3-glukozit'i içeren model sistemlerde ortaya konulmuştur. Araştırmacılar ortama eklenen H₂O₂'in antosiyaninleri parçaladığı gibi, çilekte yoğun olarak bulunan askorbik asidin oksidasyonu sırasında oluşan H₂O₂'in de antosiyaninlerin parçalanmasına katkıda bulunduğunu saptamışlardır. Yaban mersini (blueberry) sularına H₂O₂ eklendiğinde, hem antosiyaninlerin parçalanma hızı hem de esmer renk oluşum hızı artmıştır (Kader *et al.* 2002). De *et al.* (1999) hidrojen peroksitin sulu çözeltilerde kolaylıkla perhidroksi anyonuna (HOO) ve

hidroksi radikaline (HO*) parçalandığını ve bu ürünlerin de fenolik bileşiklerin yapıtaşı olan benzen halkasını parçalayarak CO₂ ve H₂O'a dönüştürebildiklerini göstermişlerdir. Kükürt dioksit (SO₂) düşük konsantrasyonlarda (<2000 mg kg⁻¹) "antosiyenin-bisülfid" kompleksi oluşturarak antosiyeninleri stabilize etmektedir (Jackman *et al.* 1987). Daha önceleri SO₂, antosiyenin içeren meyvelerin işlenmeden önce muhafaza edilmesinde kullanılmaktaydı. Ancak gerek SO₂'in solunum yolu hastalıklarını tetiklemesi gerekse de dondurarak muhafaza tekniğinin yaygınlaşması ile günümüzde artık bu amaçla SO₂ kullanılmamaktadır. Buna karşın, SO₂ üzüm posasından antosiyeninlerin ekstraksiyonunda halen kullanılmaktadır. SO₂'in antosiyeninler üzerine etkisi uygulandığı konsantrasyona bağlı olarak geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olabilmektedir (Cemeroğlu vd. 2004). SO₂ miktarı 2000 mg kg⁻¹'in altındaysa, desülfirizasyon işlemi (asitlendirme + ısıtma) ile SO₂ yapıdan uzaklaştırılarak antosiyeninlerin orijinal rengini alması sağlanır. Yüksek konsantrasyonda (>10 000 mg kg⁻¹) SO₂, antosiyeninleri geri dönüşsüz olarak parçalamaktadır. SO₂'in bu özelliğinden dekoratif amaçla kullanılan kirazların renginin ağartılmasında yararlanılmaktadır.

Antosiyeninlerin parçalanmasına neden olan diğer bir etken de ortamda bulunan enzimlerdir. Özellikle β -glukozidaz, β -galaktozidaz ve α -arabinozidaz enzimleri antosiyeninleri; antosiyenidin ve şekerlere parçalamakta ve oluşan antosiyenidinin stabilitesi antosiyeninlere göre çok daha düşük olduğu için kısa sürede antosiyenidinden renksiz bileşikler oluşmaktadır. Mayşe maserasyonunda kullanılan enzim preparatlarının bu enzimleri de içermesi, antosiyeninlerce zengin ürünlerde göz önüne alınması gereken önemli bir husustur. Bu enzimler dışında enzimatik esmerleşmeyi katalize eden polifenol oksidaz (PPO) enzimi de dolaylı olarak antosiyeninlerin parçalanmasına katkıda bulunmaktadır (Sistrunk and Cash 1974). Daha önce de değinildiği gibi, PPO enziminin katalizörlüğünde fenolik maddelerin oksidasyonu sonucu oluşan *o*-kinonlar antosiyeninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. Peroksidaz (POD) enziminin de antosiyeninleri dolaylı olarak parçaladığı saptanmıştır (Kader *et al.* 2002). POD enzimi aktivite gösterebilmek için mutlaka H₂O₂'e gereksinim duymakta ve sağlıklı bir bitkisel hücrede H₂O₂ konsantrasyonu düşük olduğu için antosiyeninlerin POD enzimi ile parçalanma reaksiyonu gerçekleşmemektedir. Ancak çeşitli nedenlerle ortama H₂O₂ eklendiğinde, POD enzimi

de fenolik maddeleri okside ederek *o*-kinonları oluşturmakta ve oluşan *o*-kinonlar da antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. Ortama klorojenik asit gibi reaktivitesi yüksek bir fenolik madde ilave edildiğinde ise, POD enzimi H_2O_2 'i elektron kaynağı olarak kullanarak klorojenik asitten *o*-kinonları oluşturmakta ve sonuçta hem antosiyaninler parçalanmakta hem de esmerleşme hızı artmaktadır.

Ortamda bulunan şekerler ve parçalanma ürünlerinin de antosiyaninlerin parçalanma hızlarını artırdığı saptanmıştır. Özellikle şekerlerin parçalanması ile oluşan furfural ve HMF'in antosiyaninlerin parçalanmasında önemli rolleri olduğu bildirilmektedir (Adams 1973).

Ortamda bulunan metal iyonlarının bir kısmı antosiyaninlerin renginin değişmesine neden olurken, bir kısmı da antosiyaninlerin parçalanmasına neden olmaktadır. Antosiyaninler; demir, bakır, alüminyum gibi metal iyonları ile kompleks oluşturabilmekte ve bunun sonucunda renkleri, kırmızıdan stabil bir mavi veya violeye dönüşerek yeni bir yapı kazanabilmektedir (Cemeroğlu vd. 2004). Antosiyaninlerin metallerle reaksiyona girerek parçalanmasıyla renksiz bileşiklerin oluşumu özellikle konserve ürünlerde görülmektedir. Nitekim, kalay içeren konserve kutularda, antosiyaninler anodik veya katodik depolarizer olarak davranabilmekte ve bunun sonucunda da antosiyaninler orijinal renklerini kaybetmektedirler (Adams 1973). Anodik depolarizer olarak kalaylı tenekelerde, B halkasında serbest *o*-dihidroksi grup içeren antosiyaninler, korozyon sonucu serbest hale geçen kalayla reaksiyona girerek viole renkli bileşiklerin oluşumuna neden olurlar. Kalayın antosiyaninlerle kompleks oluşturması, konserve içinde bulunan asitlerin antosiyaninlerin hidroliz hızını artırmaktadır. Diğer taraftan antosiyaninler, katodik depolarizer olarak da davranabilmekte ve korozyon sonucu oluşan hidrojen iyonları ile reaksiyona girerek de parçalanabilmektedirler (Adams 1973).

Işık, bitkilerde antosiyanin sentezinde önemli rol oynamaktadır. Ancak bitkisel ürünlerin gerek depolanması gerekse de yeni ürünlere işlenmesi sonucu elde edilen ürünlerin ışığa maruz kalması antosiyaninlerin parçalanma hızlarını artırmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Nar

Araştırmada materyal olarak, Ankara Büyükşehir Belediyesi Toptancı Hali'nden sağlanan Antalya bölgesine ait narlar (*Punica granatum* Linn.) kullanılmıştır. Bu narlar, yuvarlak şekilli, kabuk rengi kırmızı ve daneleri koyu kırmızı renklidir. Bu materyalin seçilmesinde, seyreltilmeden içilebilir bir "şeker:asit" dengesine sahip, yoğun renkli bir meyve suyu vermesi temel alınmıştır.

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

3.1.2 Kimyasallar

Antosiyaninlerin HPLC ile tanımlanmasında kullanılan standartlardan "siyanidin 3-*O*-glukozit" ile "siyanidin 3,5-*O*-diglukozit" ve "pelargonidin 3-*O*-glukozit" ile "pelargonidin 3,5-*O*-diglukozit" Fluka firmasından (Seelze, Almanya.), "delfinidin-3-*O*-glukozit" ise Polyphenols Laboratories AS (Sandnes, Norveç), firmasından satın alınmıştır. Antosiyaninlerin saflaştırılmasında kullanılan C₁₈-Sep-Pak kartujları (kolonları) Waters firmasından (Milford, MA, A.B.D.) temin edilmiştir. Antosiyaninlerin ekstraksiyonunda, saflaştırılmasında ve HPLC ile analizinde, kloroform dışında daima HPLC saflığında (HPLC grade) solventler kullanılmıştır. Kloroform ise, analitik saflıkta (a.g, analytical grade) olup, antosiyaninlerin ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Diğer analizlerde; Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilen, ya analitik saflıkta ya da yüksek saflıkta (extra pure) kimyasallar 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 suyuna, kalan kısmı ise danelendikten sonra laboratuvar koşullarında meyve suyuna işlenmiştir.

Narlar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi "Meyve Suyu Pilot İşletmesi'nde" meyve suyuna işlenmiştir. Bu amaçla etkin bir şekilde yıkanan narların çiçek evleri keskin bir bıçakla alınıp, 4'e bölünmüştür. Etkin bir yıkama uygulamakla ve çiçek evlerinin uzaklaştırılması ile, narların meyve suyuna işlenmesi sırasında, mikrobiyel bulaşı olasılığı minimize edilmiştir. Bu işlemler sırasında kullanılan bıçak, her bir kesim işleminden sonra etil alkole daldırılıp, kısmen sterilize edilmiştir. Daha sonra 4'e bölünen narlar, paketli preste (Bucher-Guyer, Niederweningen, İsviçre) preslenmiş ve nar ham suyu elde edilmiştir (Cemeroğlu vd. 1988). Preslemede, pres basıncı kademeli

olarak artırılmış ve maksimum pres basıncına 30 dakikada ulaşılmıştır (Cemeroğlu 1977). Preslemede randımanın %35–40 düzeyinde olması hedeflenmiş (Cemeroğlu 1977) ve kullanılan bu materyalde %35.2'lik bir randımana ulaşılmıştır.

Elde edilen nar ham suyu tülbentten süzülerek kaba partiküllerinden ayrılmıştır. Daha sonra nar sularının bir bölümü durultulmadan 2 L'lik PET şişelere doldurularak, konsantrasyon işlemine kadar dondurulmuş olarak –25°C'de muhafaza edilmiştir. Bir kısım nar ham suyu ise, 10 L'lik PET şişelere konularak, durultma uygulanana kadar kısa bir süre +5°C'de muhafaza edilmiştir.

$$\begin{array}{c} 168.3 \text{ kg nar} \\ \downarrow \text{Presleme} \\ 59.25 \text{ kg nar ham suyu} \end{array}$$
$$\text{Randıman (\%)} = \frac{59.25 \text{ kg nar ham suyu}}{168.3 \text{ kg nar}} \times 100 = \%35.2$$

Presleme işleminden önce ayrılmış olan bir kısım nar ise, etkin bir şekilde yıkandıktan sonra çiçek evleri bıçakla uzaklaştırılmış ve ikiye bölünmüştür. Daha sonra daneler elle, kabuk ve dilim zarlarından ayrılmıştır. Tülbent bezi içine koyulan daneler elle sıkılarak meyve suyu elde edilmiştir. Laboratuvar koşullarında elde edilen bu nar sularının bir kısmına direkt, preslenerek elde edilen nar suyuna yapılan analizler yapılmış, diğer kısmına ise, durultma işlemi uygulandıktan sonra aynı analizler yapılmıştır.

Gerek preslenerek ve gerekse de daneden elde edilen nar ham sularında suda çözünür kuru madde (briks), pH, titrasyon asitliği, bulanıklık, reflektans renk ölçümü, toplam antosiyanin, antosiyanin parçalanma ölçütleri ve antosiyanin dağılımı belirlenmiştir.

3.2.2 Nar ham suyunun durultulması

Nar suyunda pektin bulunmadığı için (Cemeroğlu 1977), depektinizasyon işlemine gerek olmadığından durultma, sadece jelatinle yapılmıştır. Daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda, 1 L bulanık nar suyuna 50 mL %0.5'lik jelatin çözeltisi eklenerek (250 mg jelatin/L meyve suyu) mükemmel berraklıkta meyve suyu elde edilmişti (Özkan *et al.* 2002). Bu çalışmada ise, elde edilen nar ham suyunun fenolik madde içeriğinin farklı olabileceği düşüncesiyle, bir ön deneme yapılarak gerekli jelatin miktarı belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar "Araştırma Bulguları" bölümünde verilmiştir. Durultma denemelerinde kullanılacak nar ham suyunun asıl kitleyi yansıtabilmesi için büyük hacimlerde çalışmaya özen gösterilmiştir. Bu amaçla her bir durultma denemesinde 500 mL meyve suyu kullanılmıştır. Durultma, +5°C'ye kadar soğutulmuş nar suyuna uygulanmış olup, bu amaçla nar suyu gerekli jelatin çözeltisi eklendikten sonra +5°C'de 1 gece bekletilmiştir. Preslemede elde edilen nar sularının durultulmasında %1'lik (w/v) jelatin çözeltisi kullanılırken, danelerden elde edilen nar sularının durultulmasında %0.5'lik jelatin çözeltisi kullanılmıştır. Daha sonra üstteki berrak kısım kaba filtre kağıdından filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetre yardımıyla bulanıklık düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca, elde edilen durultulmuş nar sularında bir önceki bölümde verilen ve nar ham suyunda yapılmış aynı analizler yapılmıştır.

3.2.3 Nar sularının konsantreye işlenmesi

Elde edilen nar ham sularının bir bölümü doğrudan, diğer bölümü ise, durultulduktan sonra 69°Brix kadar vakum altında 40°C'de döner (rotary) evaporatörde (Heidolph Laborota 4003, Schwabach, Almanya) konsantre edilmiştir. Nar suyunda pektin bulunmadığı için, depektinizasyon işlemi uygulanmaksızın konsantre edilmesinde herhangi bir sorunla karşılaşılmamaktadır (Cemeroğlu 1977).

3.2.4 Nar suyu ve konsantrelerinin pastörizasyonu

Konsantre örneklerinin muhafaza edileceği kavanozlar boş olarak ve kapakları hafif aralı olarak kapatılarak otoklavda 121°C’de 15 dak. süreyle sterilize edilmiştir. Nar suyu konsantreleri, steril kavanozlara doldurulmadan önce döner evaporatörde 70°C’ye ısıtılmış ve bu sıcaklıkta 15 dak. tutulmuştur. Daha sonra steril kavanozların kapakları bunzen beki yanında açılıp 70°C’ye ısıtılmış, yaklaşık 30-35 g konsantre örneği hızlı bir şekilde kavanozlara doldurulmuş ve kapakları hermetik olarak kapatılmıştır. Bunu izleyerek kavanozlar hızla oda sıcaklığına kadar soğutulmuşlardır. Bu şekilde nar suyu konsantrelerinin steril koşullarda saklanma önlemleri alınmasına rağmen depolama süresince meydana gelebilecek muhtemel mikrobiyel gelişmenin önlenmesi amacıyla, depolanacak örneklerin bir kısmına ayrıca pastörizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla kavanozlara aynı miktarda nar suyu konsantresi (70°C) konulmuş ve kavanozların ağzı hermetik olarak kapatıldıktan sonra, 95°C’de 15 dak. süreyle kaynar su içerisinde pastörize edilmiştir. Pastörize işlemi sonunda örnekler hızla soğutularak oda sıcaklığına getirilmişlerdir.

3.2.5 Nar suyu konsantrelerinin depolanması

Pastörize edilen konsantre örnekleri ile kavanozlara aseptik koşullarda doldurulmuş konsantre örnekleri depolamanın yapılacağı sıcaklık kontrollü inkübatörlere yerleştirilmiştir. +5°C ve 20°C’deki depolama deneyleri 253 L’lik inkübatörlerde (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) yapılırken, 12°C’deki deneyler için 153 L’lik inkübatör (Sanyo MIR 153, Gunma, Japonya) kullanılmıştır. Bir kısım nar suyu konsantresi ise, -25°C’de depolanmıştır.

Depolama süresince, uygulanan sıcaklığa bağlı olarak farklı aralıklarda örnek alınmıştır. Depolama süresi, uygulanan sıcaklığa bağlı olarak; -25°C’de 334 gün, +5°C’de 167 gün, 12°C’de 101 gün ve 20°C’de 73 gün arasında değişmiştir. 12°C ve 20°C’lerde depolanan konsantrelerden 1 ay aralıklarla, +5°C’de depolanan konsantrelerde 2 ay aralıklarla ve -25°C’de dondurularak depolanan örneklerde ise, 4 ay aralıklarla örnek

alınmıştır. Periyodik olarak alınan bu örneklerde, doğal ve durultulmuş nar sularında da uygulanmış bulunan aşağıda belirtilen fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır.

3.2.6 Fiziksel analizler

3.2.6.1 Suda çözünür kuru madde tayini

Örneklerde suda çözünür kuru madde (briks) dijital bir refraktometre (Atago Rx-7000α, Tokyo, Japonya) kullanılarak saptanmıştır. Nar suları önce, kaba bir filtre kağıdından filtre edildikten sonra briksleri ölçülmüştür. Bulanıklık, briksin olduğundan daha yüksek okunmasına neden olmakta ve bu nedenle de bulanık meyve sularının brikslerinin mutlaka filtre edildikten sonra ölçülmesi önerilmektedir (Cemeroğlu 2007). Briks ölçümleri, 20°C’de yapılmıştır.

3.2.6.2 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (WTW Inolab Level 1, Weilheim, Almanya) ile saptanmıştır. Bu amaçla, bulanık ve berrak nar suyu örneklerinden bir behere 10 mL alınarak üzerine, 10 mL damıtık su ilave edildikten sonra pH değeri belirlenmiştir. Konsantre örneklerinde ise, 1.25 g konsantre örneği üzerine 20 mL damıtık su ilave edildikten ve iyice karıştırıldıktan sonra elde edilen homojen sıvıda pH değeri belirlenmiştir. Nar suları gibi tampon niteliği yüksek olan gıdalarda sulandırma oranı fazla olsa bile, pH değeri değişmemektedir (Cemeroğlu 2007). pH ölçümleri, 20°C’de yapılmıştır.

3.2.6.3 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Durultulmuş ve kaba filtreden geçirilmiş nar suyu örneklerinin bulanıklık düzeyi, bir türbidimetre (HACH Ratio/XR 43900, Loveland, A.B.D.) yardımıyla belirlenmiştir. Bulanıklık düzeyi "NTU (Nephelometric Turbidity Unit)" değeri ile ifade edilmiştir. Bulanıklık düzeyi, nar sularında doğrudan, konsantrelerde ise, doğal nar suyu briksine

(16°Briks) kadar seyreltildikten sonra belirlenmiştir. Bu amaçla, 9.05 g nar suyu konsantresine, 30 mL damıtık su ilavesiyle seyreltilerek doğal nar suyu briksine getirilmiştir. Türbidimetrenin sıfır ayarı, konsantrelerin seyreltilmesinde kullanılan damıtık su ile yapılmıştır.

3.2.6.4 Reflektans renk tayini

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

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

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

Spektrofotometre, beyaz seramik plakaya karşı her kullanımdan önce standardize edilmiştir. Renk ölçümünde, 1 cm tabaka kalınlığı olan 10 mL hacimdeki quartz küvet kullanılmıştır. Işık kaynağı olarak CIE tarafından belirlenen C ışıttıcısından (Illuminant C) yararlanılmıştır. Nar sularında renk ölçümü doğrudan yapılırken, konsantreler damıtık su ilavesiyle briksleri doğal nar suyu briksine getirildikten sonra yapılmıştır. Renk ölçümlerinde "Minolta CM-S100w SpectraMagic NX" 1.22 versiyonu bilgisayar programı kullanılmıştır.

3.2.7 Kimyasal analizler

3.2.7.1 Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği, pH ile izlenerek yürütülen elektrometrik titrasyonla saptanmış olup, analizde IFU (1968) tarafından önerilen işlemler uygulanmıştır. Bu amaçla, pH tayini için hazırlanmış olan bulanık ve berrak nar sularından 20 mL alınarak ayarlı 0.1 *N* NaOH çözeltisi ile ve pH metre yardımıyla, pH 8.1' e ulaşınca kadar titre edilmiştir. Nar suyu ve konsantre örneklerinin titrasyon asitliği, susuz sitrik asit cinsinden sırasıyla, "g/100 mL veya g/100 g" olarak hesaplanmıştır.

3.2.7.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Bu amaçla, Fuleki and Francis (1968) tarafından önerilen, ve Giusti and Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH diferansiyel metodu kullanılmıştır. Bu metodun ilkesi, monomerik antosiyaninlerin pH 1.0'da renkli oksonium formunun, pH 4.5'de ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortam pH 1.0 ve 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan antosiyanin konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır. Absorbans okumaları nar suyu antosiyaninlerinin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda ($\lambda_{vis-maks}$), pus (haze) halindeki bulanıklığın belirlenmesi için ise; 700 nm'de yapılmıştır. Nar suyu ve konsantrelerinde antosiyaninlerin 512 nm'de maksimum absorbans verdiği saptanmıştır.

Bulanık ve berrak nar suları seyreltilmeden, konsantreler ise, 2.5 g konsantrenin 10 mL'lik bir ölçü balonuna tartılıp, balonun damıtık suyla çizgisine kadar tamamlanmasıyla seyreltilerek analize hazırlanmıştır. Konsantrelerin seyreltilmesiyle hazırlanmış örnekler daha sonra 8000 x g'de 10 dak. süreyle santrifüj (Sigma 3K 15, Postfach, Almanya) edilip, bulanıklık oluşturacak tortularından ayrılmıştır. Seyreltilmiş örnekler, potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) ile bir kez daha seyreltilerek, nar suyunda bulunan antosiyaninlerin $\lambda_{vis-maks}$ dalga boyu olan 512 nm'de absorbans değeri 1.0 civarına getirilmiştir. Tüm depolama süresince, konsantre örnekleri aynı seyreltme

oranlarına uyularak seyreltilmiş ve böylece analizler birçok spektrofotometrenin linear sınırı olan 1.2 absorbans değerinin (Özkan vd. 2007) altında yürütülmüştür. Potasyum klorür çözeltisi (pH 1.0) ile belirlenen bu seyreltme oranı, hem potasyum klorür ve hem de sodyum asetat tampon çözeltisi (pH 4.5) ile uygulanmış ve elde edilen seyreltikler, 15 dak. süreyle denge oluşması için kendi halinde bırakılmışlardır. Bekleme süresi sonunda, seyreltikler 0.45 µm gözenek çapındaki PVDF (polyvinylidene fluoride) filtreden (Millipore, Bedford, MA, A.B.D.) filtre edildikten sonra, örneklerin absorbans değerleri, örnek ve şahidin (damıtık su) aynı anda koyulabildiği çift huzmeli (double-beam) spektrofotometre (ThermoSpectronic Helios-α, Cambridge, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Absorbans ölçümleri, damıtık suya karşı, nar antosiyaninlerinin $\lambda_{vis-maks}$ dalga boyu olan 512 nm’de ve ayrıca düşük düzeydeki bulanıklığın belirlenmesi için 700 nm’de 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık küvetlerde yapılmıştır. Monomerik antosiyanin miktarı, nar suyunda baskın bulunan siyanidin-3-glukozid cinsinden (Gil *et al.* 2000) aşağıda verilen 3.3 No’lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

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

Burada:

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

MW : Baz olarak alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı,

S_f : Seyreltme faktörü,

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı,

L : Spektrofotometre küvetinin tabaka kalınlığı (cm).

Siyanidin-3-glukozidin molar absorbans değeri $\epsilon=26\ 900$ ve molekül ağırlığı ise, MW=449.2 (Giusti and Wrolstad 2001) alınarak hesaplama yapılmıştır.

3.2.7.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi

Nar suyu ve konsantrelerinde antosiyanin kompozisyonu, HPLC yöntemiyle üç aşamadan (ekstraksiyon, saflaştırma, tanımlama ve hesaplama) oluşan bir uygulama sonunda belirlenmiş olup, bu aşamalar aşağıda kısaca açıklanmıştır.

Ekstraksiyon

Bu amaçla, Lee and Wrolstad (2004) tarafından ortaya konulan yöntem kullanılmıştır. Nar sularından ekstraksiyon için 5 mL nar suyu 10 mL %100'lük aseton ile yüksek devirli bir homojenizatörde (Heidolph SilentCrusher M, Schwabach, Almanya) 9500 rpm'de 2 dak. süreyle homojenize edilmiştir. Nar suyu, konsantre örneklerinde ise, önce plastik bir tüpe 1.25 g konsantre tartılmış ve üzerine 10 mL %70'lik aseton (aseton:damıtık su, 70:30, v/v) ilave edildikten sonra kısa bir süre tüp karıştırıcıda (CAT, VM2, Staufen, Almanya) karıştırıldıktan sonra 9500 rpm'de 2 dak. süreyle homojenize edilmiştir. Her iki şekilde de elde edilmiş homojenizata aşağıdaki işlemler uygulanmıştır.

Homojen sıvı, Buchner hunisinden whatman 1 no'lu filtre kağıdından vakum altında filtre edilmiştir. Homojenizatör bıçağında kalan antosiyaninlerin çözündürülmesi için bıçak önce 10 mL %100'lik aseton ile, daha sonra 10 mL %70'lik aseton ile yıkanmış, yıkantılar Buchner hunisine aktarılmış ve vakum altında filtre edilmiştir. Filtre kağıdı üzerinde oluşmuş filtre keki renksiz kılınıncaya kadar 10 mL %70'lik aseton ile birkaç kez (2 kez) daha yıkanmıştır. Bu yıkama sırasında, başlangıçta vakum pompası çalıştırılmadan, filtre keki yukarıda verilen hacim ve konsantrasyondaki aseton içinde bir süre bekletilmiş ve daha sonra vakum uygulanarak filtre edilmiştir. Filtrat bir ayırma hunisinde bulunan 100 mL kloroform üzerine aktarılmış ve böylece aseton:kloroform oranı, 1:2 (v/v) düzeyine erişmiştir. Emzikli erlenmayerdeki ekstraktın tümünün kayıpsız olarak alınması için erlenmayer 3–5 mL %70'lik aseton ile yıkanmış ve yıkantı kloroformun üzerine aktarılmıştır. Ayırma hunisi dairesel hareketlerle hafifçe karıştırılmış, +5°C'de bir gece bekletilerek faz ayrımı sağlanmıştır.

Bu ayırım sağlandıktan sonra, altta bulunan kloroform fazı dikkatle uzaklaştırılmış ve antosiyaninleri içeren üstteki renkli faz, ayırma hunisinin çeperleri 3–5 mL %70'lik asetonla yıkanarak kayıpsız bir şekilde bir rotary evaporatör balonuna alınmıştır. Renkli fazdaki aseton ve az miktardaki kloroform, 40°C'de rotary evaporatörde vakum altında 20 dakikada uzaklaştırılmıştır. Kalan sulu ekstrakt, %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş su ile 10 mL'lik ölçü balonuna yıkanarak hacmine tamamlanmıştır. Balondaki çözelti 0.45 µm gözenek çaplı PVDF filtreden (Millipore, Bedford, MA, A.B.D.) filtre edilmiş ve böylece bundan sonra yapılacak saflaştırma işleminin etkinliği artırılmıştır. Işığın bileşenler üzerindeki olumsuz etkisini azaltmak için, ekstraktlar amber renkli şişelere aktarılmıştır.

Saflaştırma

Elde edilen ekstraktan; şeker ve organik asit gibi unsurların uzaklaştırılması amacıyla saflaştırma işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla Skrede *et al.* (2000) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Saflaştırma işleminin ilk aşamasında C-18 Sep-Pak kolonlarındaki dolgu maddesinin (sorbentin, 100 mg) antosiyaninlerle reaksiyona girebilmesini sağlamak için şartlandırılma (conditioning) işlemi yapılmıştır. Bu işlemde kolondan sırasıyla; 5 mL etil asetat, 5 mL metanol (MeOH, %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş) ve son olarak da 2 mL %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş su geçirilmiştir. Ekstraksiyona hazır hale getirilen kolona, saflaştırılacak bileşeni içeren 1 mL ekstrakt yüklenmiş ve daha sonra 2 mL asitlendirilmiş suyla elüe edilmiştir. Böylece bu elüsyon ile organik asitler, şekerler ve suda çözünür nitelikteki diğer bileşikler gibi analizi interfere eden bileşikler uzaklaştırılırken, antosiyaninler ve diğer polifenolik bileşikler kolon üzerinde sorbente bağlanmıştır. Eşdüze bir saflaştırma işlemi için saflaştırma düzeneğinden (manifold) (Waters, Milford, MA, A.B.D.) yararlanılmıştır.

C-18 Sep-Pak kolonu, 3 dak. süresince N₂ gazı akımında tutularak kalıntının kuruması sağlanmış ve kurutulmuş kolon önce, 5 mL etil asetat ile yıkanarak fenolik bileşikler elüe edilmiştir. Daha sonra 2 mL %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş MeOH ile yıkanarak antosiyaninleri içeren ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen antosiyanin

fraksiyonu bir evaporasyon tüpüne alınmış ve $35^{\circ}\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosuna (Memmert WB 14, Schwabach, Almanya) yerleştirilerek, asitlendirilmiş MeOH, N_2 gazı altında kurutulmuştur. Daha sonra evaporasyon tüpündeki kalıntı üzerine 2 mL asitlendirilmiş su eklenerek yeniden çözündürülmüştür. Antosiyaninleri içeren bu çözelti $0.22\ \mu\text{m}$ gözenek çapındaki teflon (PTFE, polytetrafloroetilen) filtreden (Sartorius AG, Goettingen, Almanya) filtre edilerek, HPLC'nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 2 mL'lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Tanımlama ve hesaplama

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

Kromatografi koşulları :

- **Kolon :** Ters faz (reverse phase) C_{18} kolonu ($250 \times 4.6\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Koruyucu kolon:** C_{18} koruyucu kolonu ($4 \times 3\ \text{mm}$, $5\ \mu\text{m}$) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Akış hızı :** $1\ \text{mL dak.}^{-1}$
- **Elüsyon süresi :** 30 dak.
- **Enjeksiyon hacmi :** $50\ \mu\text{L}$
- **Dalga boyu :** 520 nm
- **Hareketli faz (mobile phase) :** Asetonitril (%100) (A) ile *O*-fosforik asit:asetik asit:asetonitril:su (1:10:5:84; v/v/v/v) (B) karışımı. Gradyent akış söz

konusu olup, Skrede *et al.* (2000) tarafından önerilen elüsyon profili tarafımızdan modifiye edilerek uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Antosiyaninler için uygulanan elüsyon profili

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

Kromatogramlarda elde edilen antosiyanin pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Örnekteki antosiyaninlerin miktarı; "siyanidin 3-*O*-glukozit, siyanidin 3,5-*O*-diglukozit, delfinidin 3-*O*-glukozit, pelargonidin 3-*O*-glukozit ve pelargonidin 3,5-*O*-diglukozit" standart maddelerinin her biri için oluşturulan en az 7 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğrilerden hesaplanmıştır. Nar suyu ve konsantrelerindeki antosiyanin miktarları ise, seyreltme oranı dikkate alınarak hesaplanmıştır. HPLC ile toplam antosiyanin miktarının belirlenmesi, materyaldeki standardı olmayan piklerin alanları hesaplandıktan sonra, başat pike ait standart eğri esas alınmak suretiyle yapılması önerilmektedir (Yemiş ve Özkan 2007). Nar sularında başat antosiyaninin, "siyanidin 3,5-*O*-diglukozit" olduğunun saptanmasına karşın, spektrofotometrik yöntemle toplam antosiyanin miktarının "siyanidin 3-*O*-glukozit" cinsinden hesaplanması nedeniyle, HPLC yöntemi ile toplam antosiyanin miktarı da "siyanidin 3-*O*-glukozit" cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.7.4 Recovery (geri kazanım) testi

Antosiyaninlerin analiz sürecindeki kayıp düzeyini belirlemek amacıyla recovery (geri kazanım) testi yürütülmüştür. Bu amaçla Yemiş ve Özkan (2007) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Recovery deneyinden önce, deneyin yapılacağı nar suyu

konsantresinde, her bir antosiyanin bileşeninin miktarı HPLC ile ayrı ayrı belirlenmiştir. Orijinal örnekteki antosiyanin miktarı göz önüne alınarak, ekstraksiyon için aynı kitleden tartılmış örnekler üzerine Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu, Cy-3-glu ve Pg-3-glu standart çözeltilerinden, aşağıda belirtilen miktarlarda ilave edilmiştir. Böylece recovery deneyinin, analizin başlangıç aşaması olan ekstraksiyon işlemini kapsamaması da sağlanmıştır.

Bu test için, üç ayrı tüpe 1'er g (± 0.001 g) nar suyu konsantresi tartılmıştır. Tüplerden bir tanesinde, antosiyanin standart çözeltilerinden eklemekten ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Buna karşın, ikinci tüpe 100 mg kg⁻¹ düzeyinde, üçüncü tüpe ise 50 mg kg⁻¹ düzeyinde Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu, Cy-3-glu ve Pg-3-glu içeren standartlardan **"4 ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA"** bölümü altında verilen **"4.8 Recovery (geri kazanım) Testi"** bölümündeki Çizelge 4.18'de verilen miktarlarda eklenmiş ve tüp içerikleri iyice karıştırılmıştır. Daha sonra hem standart eklenmemiş hem de eklenmiş örneklere **"3.2.7.3 Antosiyanin dağılımının HPLC yöntemiyle belirlenmesi"** bölümünde ayrıntıları verilen ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktlar 0.22 µm gözenek çapındaki teflon filtrelerden filtre edildikten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir. Saptanan kromatogramlarda elde edilen antosiyanin piklerinin alanları hesaplanmış ve antosiyanin standart maddelerinin her biri için oluşturulan standart eğrilerden (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5) bu alanların eşdeğeri olan konsantrasyonlar saptanmıştır. Saptanmış standart madde miktarlarından yararlanılarak aşağıda verilen 3.4 ve 3.5 No'lu eşitlikler yardımıyla "recovery" ve "tekrarlanabilirlik" (reproducibility, varyasyon katsayısı) değerleri hesaplanmıştır.

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

Burada :

A₁ : Standart eklenmemiş materyaldeki bileşen miktarı,

A₂ : Standart eklenmiş materyaldeki bileşen miktarı,

A₃ : Eklenen standart miktarı.

$$\text{Varyasyon katsayısı, CV (\%)} = \frac{\text{Recovery testinin standart sapması}}{\text{Recovery değerlerinin ortalaması}} \times 100 \quad (3.5)$$

3.2.7.5 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi

Giusti and Wrolstad (2001) tarafından önerilen yöntem kullanılarak; antosiyaninlerin parçalanma ölçütleri olarak kabul edilen "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" gibi üç nitelik belirlenmiştir. Bu amaçla, konsantre örnekleri 0.025 M potasyum klorür tamponu (pH 1.0) ile seyreltilerek, nar suyu antosiyaninlerinin maksimum absorbans verdiği dalga boyundaki ($\lambda_{\text{vis-maks}}$) absorbans değerinin spektrofotometrenin linear sınırı olan 1.2' nin altına getirilmesi sağlanmıştır.

Bulanık ve berrak nar suları seyreltilmeden; buna karşın, konsantre örnekleri su ile 1:4 (w/v) oranında seyreltilerek analize hazırlanmıştır. Toplam monomerik antosiyanin miktarı tayininde olduğu gibi, 0.025 M potasyum klorür tampon çözeltisi (pH 1.0) kullanılarak uygun bir seyreltme oranı saptanmıştır. Bu seyreltme oranına göre, örnekler bu defa damıtık suyla seyreltilmiş ve böylece ortamın, materyalin doğal pH derecesinde kalması sağlanmıştır. Ortamdaki bulanıklık yapan unsurları uzaklaştırmak için, örnekler 0.45 μm gözenek çaplı PVDF filtreden (Millipore, Bedford, MA, A.B.D.) filtre edilmiştir.

İki ayrı 1 cm tabaka kalınlığındaki tek kullanımlık spektrofotometre küvetinin her birine bu seyreltikten 2.8 mL alınıp, küvetlerden birindeki seyreltik üzerine 0.2 mL bisülfite (%20, w/v, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) çözeltisi eklenerek, örnekteki monomerik antosiyaninlerin renksiz "sulfonik asit kompleksi" oluşturması sağlanmıştır. Buna karşın, "polimerik antosiyanin-tanen" kompleksleri ve "melanoidin" pigmentleri ise, bisülfite karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Bu esmer renkli pigmentlerin ortamdaki konsantrasyonu arttıkça, 420 nm'de okunan absorbans değerleri yükselmektedir.

Diğer küvete ise, bisülfite çözeltisi yerine 0.2 mL damıtık su eklenerek her iki küvet 15 dak. süreyle denge oluşumu için kendi haline bırakılmışlardır. Bu süre sonunda, her iki

küvetteki çözeltilerin absorbens değerleri 420 nm, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ (512 nm) ve 700 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Ölçümler damıtık suya karşı yapılmıştır. Ölçüm sonuçları aşağıda belirtildiği gibi "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk oranı" olarak değerlendirilmiştir.

Renk yoğunluğu

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

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

Burada:

S_f : seyreltme faktörü

Polimerik renk

Bu değer, "bisülfid uygulanmış küvette bulunan örneğin, $\lambda_{\text{vis-maks}}$ ve 420 nm dalga boylarındaki absorbensları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.7 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti and Wrolstad 2001):

$$\text{Polimerik renk} = [(A_{\lambda_{\text{maks}}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times S_f \quad (3.7)$$

Polimerik renk oranı

Polimerik renk oranı; polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı olarak tanımlanmaktadır. Hiçbir işlem görmemiş taze meyve ve sebze sularında bu oranın genellikle %10'un altında olduğu bildirilmektedir (Guisti and Wrolstad 2001). Bu değer arttıkça, monomerik antosiyaninlerin parçalandığı ve esmer renkli pigmentlerin arttığı,

kısaca doğal rengin bozulduğu anlaşılır. Bu değer, aşağıda verilen 3.8 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır (Guisti and Wrolstad 2001):

$$\text{Polimerik renk oranı (\%)} = \frac{\text{Polimerik renk}}{\text{Renk yoğunluğu}} \times 100 \quad (3.8)$$

3.2.8 Kinetik katsayıların hesaplanması

Bu çalışmada, nar suyu ve nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin kendi doğal ortamında farklı sıcaklıklarda depolanması sırasındaki parçalanma kinetiği incelenmiştir. İncelenen tüm sıcaklıklarda antosiyanin degradasyonunun (parçalanma) birinci derece kinetik modele uygun olarak geliştiği, polimerik renk oranının ise, hem sıfırıncı ve hem de birinci derece kinetik modele uygun olarak geliştiği belirlenmiştir. Bu nedenle sıfırıncı ve birinci derece kinetik modelleri tanımlayan 3.9 ve 3.10 No'lu diferansiyel eşitliklerin integrali alınarak elde edilen 3.11 (sıfırıncı derece) ve 3.12 (birinci derece) No' lu eşitlikler kullanılmıştır.

$$-\frac{dC}{dt} = k [C]^0 \text{ (uzaklaşma)} \quad (3.9)$$

$$-\frac{dC}{dt} = k_1 C \text{ (uzaklaşma)} \quad (3.10)$$

$$C = C_0 - k_0 t \text{ (uzaklaşma)} \quad (3.11)$$

$$\ln C = \ln C_1 - k_1 t \text{ (uzaklaşma)} \quad (3.12)$$

Burada :

- C_0 : İncelenen bileşenin başlangıç konsantrasyonu ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$),
- C : İncelenen bileşenin t süre sonundaki konsantrasyonu ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$),
- k : Reaksiyon hız sabiti (h^{-1}),
- t : Süre (h).

Reaksiyon hız sabitleri ile diğer tüm kinetik parametrelerin hesaplanmasında Özkan ve Cemeroğlu (2005) tarafından verilen hesaplama yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması

Uygulanan her bir sıcaklık için antosiyanin kaybına ve polimerik renk oranındaki artışa ilişkin değerlerin doğrudan "y" eksenine, sürelerin ise, doğrudan "x" eksenine yerleştirilmesiyle, aritmetik ölçekli bir grafikte doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Aynı şekilde, bu kez incelenen kalite kriterinin konsantrasyonuna ilişkin orijinal deney verileri herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli "y" eksenine, süreler ise aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenerek doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Elde edilen bu eğrilere doğrusal regresyon analizi uygulanarak eğrilerin eşitliği hesaplanmış ve bu eşitliklerin eğim değerleri kullanılarak aşağıda verilen 3.13 ve 3.14 No'lu eşitliklere göre reaksiyon hız sabitleri (k) hesaplanmıştır. Sıfırıncı derece reaksiyonlar için eğim değerleri 3.13. No'lu eşitlikte de görüldüğü gibi doğrudan reaksiyon hız sabitini (k) vermektedir.

$$k = \text{eğim} \quad (\text{Sıfırıncı derece için}) \quad (3.13)$$

$$k = (\text{eğim}) \times 2.303 \quad (\text{Birinci derece için}) \quad (3.14)$$

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

Yarı ömür süresi, antosiyaninlerin %50'sinin kaybı için gerekli süre olup, birinci derece kinetik modele uyan reaksiyonlar için 3.15 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$t_{1/2} = -\ln(0.5) \times k^{-1} \quad (3.15)$$

Desimal azalma (D) değerinin hesaplanması

"D" değeri, antosiyaninlerin %90 ının kaybı için gerekli süre olup, 3.16 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$D = 2.303 \times k^{-1} \quad (3.16)$$

Aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklık derecesine bağımlılık düzeyi, hem Q₁₀ ve hem de aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanmasıyla belirlenmiştir. E_a değeri, Arrhenius eşitliği yardımıyla 3.17 No'lu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$k = k_0 \exp^{-E_a / RT} \quad (3.17)$$

Hesaplamalarda 3.17 No'lu eşitliğin, 3.18 No'lu eşitlikte gösterilen formu kullanılmıştır:

$$\ln k = \frac{-E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln k_0 \quad (3.18)$$

Burada :

k : Hız sabiti (h⁻¹),

k₀ : Frekans faktörü (h⁻¹),

E_a : Aktivasyon enerjisi (kJ mol⁻¹),

R : Gaz sabiti (8.314 x 10⁻³ kJ mol⁻¹ K⁻¹),

T : Sıcaklık (K).

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

Q₁₀ değerlerinin hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklığa bağımlılığını gösteren diğer bir boyut olan Q₁₀ değeri, sıcaklığın 10°C yükseltilmesinin reaksiyon hızına etkisini gösteren bir kriter olup, 3.19 No'lu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$Q_{10} = (k_2 / k_1)^{10 / (T_2 - T_1)} \quad (3.19)$$

3.2.9 İstatistik değerlendirme

Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda (5°C, 12°C ve 20°C) depolanması durumunda durultma, pastörizasyon ve depolama süresinin toplam monomerik antosiyanin ve antosiyanin parçalanma ölçütleri için her depolama sıcaklığında elde edilen veriler iki tekerrürlü faktöriyel düzende varyans analiz tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre, gerekli olduğu durumda Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak faktörlerin hangi seviyeleri arasındaki farklılığın önemli olduğu araştırılmıştır. İstatistik analizler için "Minitab for Windows (ver. 15.1)" ve "MSTAT" paket programları kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada narların bir bölümü dörde bölündükten sonra kabukları ile, bir bölümü ise, danelendikten sonra preslenerek suyu çıkarılmıştır. Elde edilen doğal bulanık nar sularının da bir bölümü durultulmuş, diğer bölümü ise, durultulmamıştır. Aynı şekilde durultulmuş ve durultulmamış nar sularının bir bölümü pastörize edilmemiş, diğer bir bölümü ise pastörize edilmiştir. Endüstride uygulanan yönteme paralel olarak kabuklarıyla preslenen narlardan elde edilen nar suları, "bütün meyvenin preslenmesiyle 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," bu konsantrelerin pastörize edilmesiyle elde edilen örnekler ise, "durultulmamış nar suyu konsantresi (pastörize edilmiş)" olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde, durultulmuş nar sularının konsantre edilmesiyle elde edilen örnekler "durultulmuş nar suyu konsantresi," bu konsantrelerin pastörize edilmesiyle elde edilen örnekler de, "durultulmuş nar suyu konsantresi (pastörize edilmiş)" olarak tanımlanmıştır.

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

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

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

Nar suyu	Briks (%)	pH	Titrasyon asitliği* (g 100 mL ⁻¹)
Durultulmamış	16.39	3.35	1.11
Durultulmuş	16.45	3.37	1.10
Durultulmamış (P)**	16.40	3.37	1.11
Durultulmuş (P)	16.38	3.38	1.11

* susuz sitrik asit cinsinden

** P: pastörize edilmiş

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

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

* susuz sitrik asit cinsinden

** P: pastörize edilmiş

4.2 Nar Ham Suyunun Durultulması

Nar suyunda pektin bulunmadığı için (Cemeroğlu 1977), depektinizasyon işlemi uygulanmamıştır. Aynı çalışma, nar sularında yoğun olarak bulunan fenolik maddelerin bir yandan zamanla tortu oluşumuna neden olduğu ve bir yandan da meyve suyuna buruk bir lezzet kazandırdığı için nar sularının durultulmaları gerektiğini göstermiştir. Nar sularının durultulmasında, sadece jelatin kullanılmıştır. Nar sularında proteinden kaynaklanan sonradan bulanma sorunu olmadığı için bentonit kullanılmasına gerek görülmemiştir. Yüksek miktarda fenolik madde içeren meyve sularının durultulmasında, soğuk durultma uygulanması durumunda kizelsolün kullanılmasına gerek olmadığı bildirilmektedir (Cemeroğlu ve Karadeniz 2004). Bu nedenle nar sularının durultulmasında kizelsol da kullanılmamıştır.

Paketli preste preslenerek elde edilen bulanık nar suyuna yukarıda değinilen ilkeler ışığında durultma ön denemeleri uygulanarak gerekli jelatin miktarı belirlenmiştir. Her bir durultma denemesinde 500 mL meyve suyu kullanılmıştır. "3.2.2 Nar ham suyunun durultulması" başlığı altında belirtildiği gibi durultma, +5°C'ye kadar soğutulmuş nar suyuna uygulanmıştır. Bu amaçla; nar sularına 0.125 g, 0.250 g, 0.375 g, 0.500 g, 0.750 ve 1.000 g/L miktarlarında 6 ayrı dozda jelatin içerecek miktarlarda jelatin çözeltisi eklenmiş ve +5°C'de 14 h süreyle bekletilmiştir. Danelerden elde edilen nar suyuna ise, 0.400 g/L jelatin içerecek miktarda jelatin çözeltisi eklendikten sonra, aynı sıcaklık ve sürede bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kaba filtrasyona tabi tutulmuş ve türbidimetrede NTU değerleri belirlenmiştir. Jelatin denemelerinin sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

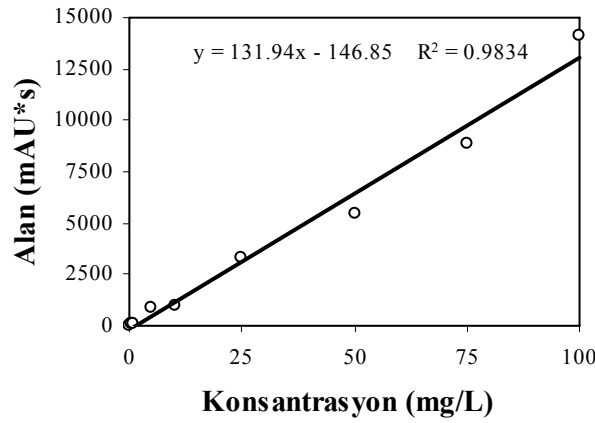
Çizelge 4.3 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham sularına (500 mL) uygulanmış jelatin deneme sonuçları

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

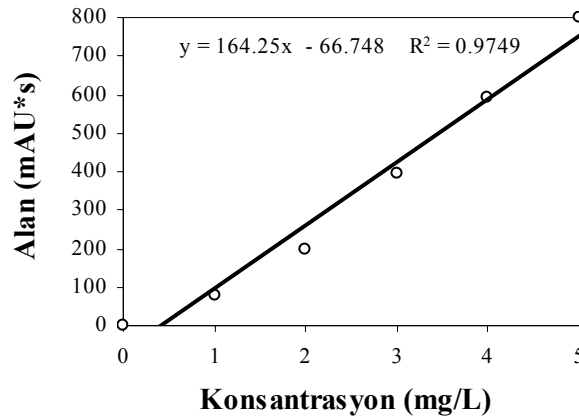
Bu denemeden alınan sonuçlara göre, 500 mL nar ham suyuna %1'lik jelatin çözeltisinden 50 mL (1 g jelatin) uygulamasıyla en düşük NTU değerine, yani maksimum berraklığa ulaşıldığı saptanmıştır. 50 mL jelatin çözeltisinden sonra, daha fazla miktarlarda eklenen jelatin çözeltisi bulanmaya neden olmuştur. Bütün haldeki meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar suları, jelatin için belirlenen bu dozaj dikkate alınarak durultulmuştur. Durultma sonunda 1.75 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır. Danelerden elde edilen 1 L nar suyuna ise, %0.5'lik (w/v) jelatin çözeltisinden 80 mL (0.4 g jelatin) uygulamasıyla 2.23 NTU düzeyinde berraklığa ulaşılmıştır.

4.3 Nar Suyu ve Konsantrelerinin Antosiyanin İçeriklerinin HPLC Yöntemi ile Belirlenmesinde Kullanılan Standart Eğriler

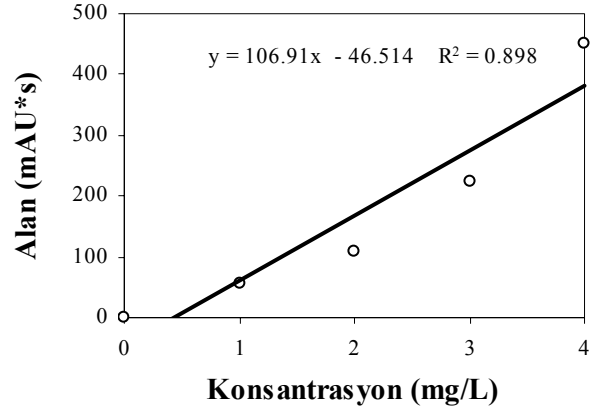
Nar suyu ve konsantrelerinde HPLC yöntemi ile antosiyanin miktarlarının tayininde yapılacak hesaplamalar için gerekli olan siyanidin-3,5-diglukozit (Cy), delfinidin-3-glukozit (Dp), pelargonidin-3,5-diglukozit (Pg), siyanidin-3-glukozit ve pelargonidin-3-glukozit standart eğrileri hazırlanmış ve bu eğriler sırasıyla Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5’de verilmiştir. Standart eğrilerin oluşturulmasında analizlerde elde edilen verilere HPLC programı kullanılarak doğrusal regresyon analizi uygulanmış ve bu eğrileri tanımlayan eşitlikler belirlenmiştir. Bu eşitlikler yardımı ile nar suyu ve konsantrelerinde bulunan her bir antosiyaninin miktarı hesaplanmıştır.



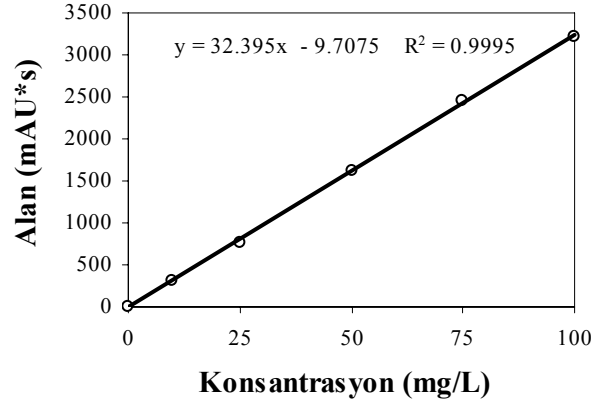
Şekil 4.1 Siyanidin-3,5-diglukozit standart eğrisi



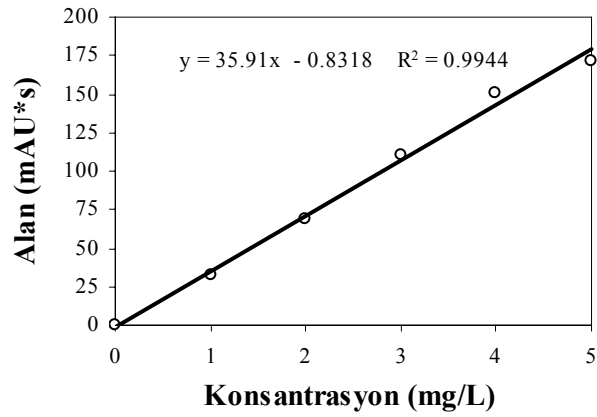
Şekil 4.2 Delfinidin-3-glukozit standart eğrisi



Şekil 4.3 Pelargonidin-3,5-diglukozit standart eğrisi



Şekil 4.4 Siyanidin-3-glukozit standart eğrisi



Şekil 4.5 Pelargonidin-3-glukozit standart eğrisi

4.4 Nar Sularının Antosiyanin İçerikleri Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Durultmanın antosiyaninler üzerine etkisini saptamak üzere, danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında antosiyanin miktarları, durultma işleminden önce ve sonra belirlenmiştir. Ayrıca durultulmamış ve durultulmuş nar sularının antosiyanin miktarları pastörizasyon işleminden önce ve sonra belirlenerek, pastörizasyon işleminin antosiyaninler üzerine etkisi de ortaya konulmuştur. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra toplam monomerik antosiyanin miktarları belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenen toplam monomerik antosiyanin miktarları

Nar suyu	Toplam monomerik antosiyanin miktarı (mg L ⁻¹)*	
	Danelerden	Bütün meyveden
Durultulmamış	364	365
Durultulmuş	349	296
Durultulmamış (P)**	336	316
Durultulmuş (P)	299	269

* siyanidin-3-glukozit cinsinden

** P: Pastörize edilmiş

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi, durultmadan önce danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında aynı miktarda (364 mg L⁻¹) antosiyanin bulunurken, durultmadan sonra danelerden elde edilen nar sularında 349 mg L⁻¹, bütün meyveden elde edilen nar sularında ise 296 mg L⁻¹ düzeyinde antosiyanin bulunmuştur. Durultma işlemi sonunda, antosiyanin miktarlarında danelerden elde edilen nar sularında sınırlı düzeyde bir azalış saptanırken, bütün meyveden elde edilen nar sularında önemli düzeyde azalış saptanmıştır. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham sularında durultma sonunda toplam monomerik antosiyanin miktarında %19 düzeyinde azalış saptanmıştır. Buna karşın, danelerden elde edilen nar ham

sularında, durultma işlemi sonunda antosiyanin miktarında %4 düzeyinde azalma bulunmuştur. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarlarındaki bu farklılığın, bu meyve sularının durultulmasında kullanılan farklı miktarlarda jelatinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bütün haldeki meyvelerden elde edilen nar sularının 1 g/L, danelerden elde edilen nar sularının 0.4 g/L düzeyindeki jealtin dozajları ile durultulmuş olması bunlardaki antosiyanin kaybının nedenini açıklamaya yeterlidir. Bu sonuçlar durultma işleminin nar suyu antosiyaninleri üzerine önemli etkisinin olduğunu göstermiştir. Vardin and Fenercioğlu (2003) tarafından nar sularında yapılan bir çalışmada da, durultulmada kullanılan jelatinin miktarına bağlı olarak toplam monomerik antosiyanin miktarında %5.6–6.2 düzeyinde azalma bulunmuştur. Buna karşın, durultmada PVPP kullanıldığında ise, nar sularının antosiyanin miktarında %16–23 arasında azalma saptanmıştır.

Durultmada olduğu gibi, pastörizasyonda da, nar sularının antosiyanin miktarında azalma gözlenmiştir. İki farklı şekilde üretilen nar sularında, durultma ve pastörizasyon işlemlerinin antosiyaninler üzerine etkisi farklı olmuştur. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarında durultma işlemi sonunda, pastörizasyona göre daha fazla kayıp gözlenmiştir. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar ham sularında pastörizasyon işleminden sonra antosiyanin düzeyinde %13 azalma saptanırken, durultulduktan sonra pastörize edilen örneklerde %9 düzeyinde azalış saptanmıştır. Buna karşın, danelerden elde edilen nar sularında durultmaya göre, pastörizasyon işlemi sonunda daha fazla kayıp saptansa da bu farklılık bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında olduğu kadar belirgin olmamıştır. Danelerden elde edilen nar ham sularında pastörizasyon işleminden sonra antosiyanin miktarında %8 azalma saptanırken, durultulduktan sonra pastörize edilen örneklerde %14 düzeyinde azalış saptanmıştır. Bu sonuçlar, nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinin, antosiyaninler üzerine olumsuz etkilerini açıkça göstermiştir. Bununla birlikte, pastörizasyon işleminin saptanan bu olumsuz etkisi, muhtemelen "düşük sıcaklıkta uzun süre" (LTLT, Low Temperature Long Time) uygulanan pastörizasyon işleminden kaynaklanmıştır. Ambalaj içinde yapılan pastörizasyon işleminde ısı transferindeki sorunlar nedeniyle örnek uzun süre ısı etkisinde kalmıştır. Isı transferinin çok daha iyi olduğu plakalı pastörizatörlerde

uygulanan "yüksek sıcaklıkta kısa süre" (HTST, **H**igh **T**emperature **S**hort **T**ime) pastörizasyon işlemi ile antosiyaninlerdeki parçalanma düzeyi minimize edilebilecektir. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (Çizelge 4.5), "ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon" üçlü interaksyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.01$). İstatistik değerlendirmelerde kullanılan "ekstraksiyon" terimi, nar suyunun; danelerden veya bütün meyvenin kabukları ile preslenerek elde edilmesini ifade eden "meyve suyu ekstraksiyon yöntemi" nin kısaltılmış formudur.

Elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Üçlü interaksyon önemli olduğu için ikili interaksyonları incelemeye gerek duyulmamıştır. Üçlü interaksyonun 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 aynı şekilde durultma işleminin pastörizasyon işlemine göre birlikte etkisinin ekstraksiyona göre değiştiğini göstermektedir. Duncan testi sonuçları (EK 1; Çizelge 1, 2 ve 3); danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin içerikleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin önemli etkisinin olduğunu göstermiştir ($p<0.01$).

Çizelge 4.5 Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarlarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Ekstraksiyon*	1	2626.6	2626.6	341.67	0.000
Durultma	1	7014.1	7014.1	912.40	0.000
Pastörizasyon	1	6123.1	6123.1	796.50	0.000
Ekstraksiyon x durultma	1	1040.1	1040.1	135.29	0.000
Ekstraksiyon x pastörizasyon	1	1.6	1.6	0.20	0.664
Durultma x pastörizasyon	1	0.6	0.6	0.07	0.794
Ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon	1	451.6	451.6	58.74	0.000**
Hata	8	61.5	7.7		
Genel toplam	15	179318.9			

* : Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi

** : $p<0.01$

Nar sularının toplam antosiyanin içerikleri, HPLC ile de belirlenmiştir. HPLC ile toplam antosiyanin miktarı, materyale ait kromatogramdaki her bir antosiyanin pikinin alanının hesaplanmasından sonra, siyanidin-3-glukozit pikine ait standart eğri esas alınmak suretiyle belirlenmiş ve bunların toplamı "toplam antosiyanin" olarak verilmiştir. Her iki yöntemle de elde edilen veriler, Çizelge 4.6'da verilmiştir. Toplam antosiyanin miktarlarının "siyanidin 3-*O*-glukozit" cinsinden hesaplanması nedeniyle, iki yöntem arasında kıyaslama yapılması da mümkün olmuştur.

Çizelge 4.6 Durultma ve pastörizasyon işlemi uygulanmış ve uygulanmamış nar sularının toplam monomerik antosiyanin içerikleri

Durultma işlemi	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	Toplam antosiyanin miktarı (mg L ⁻¹)*	
		Spektrofotometrik	HPLC
Durultulmamış	Danelerden	364	382
	Bütün meyveden	365	291
Durultulmuş	Danelerden	349	355
	Bütün meyveden	296	227
Durultulmamış (P)**	Danelerden	335	363
	Bütün meyveden	316	278
Durultulmuş (P)	Danelerden	299	331
	Bütün meyveden	269	254

* siyanidin-3-glukozit cinsinden

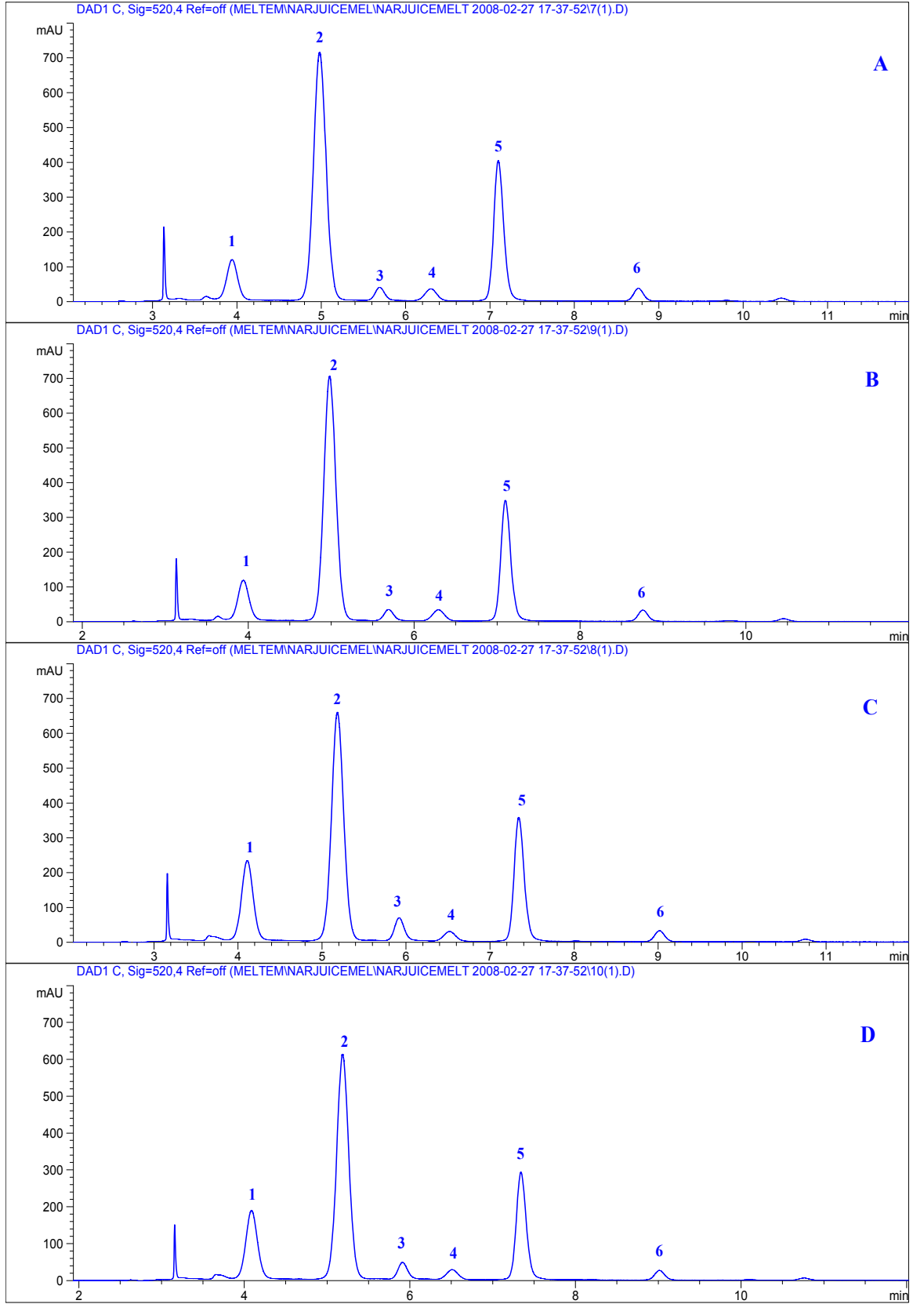
** P: Pastörize edilmiş

Spektrofotometrik ve HPLC ile elde edilen sonuçlar kıyaslandığında, genelde birbirine yakın sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir. Buna karşın, nar sularında yapılan bir çalışmada toplam antosiyanin miktarı hem spektrofotometrik pH-diferansiyel yöntemi hem de HPLC yöntemi ile Cy-3-glu cinsinden hesaplanmış ve HPLC yöntemi ile 5 kat daha fazla toplam antosiyanin bulunmuştur (Lee *et al.* 2008). Buna karşın aynı çalışmada, kıvılcık suyunda her iki yöntemle de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmacılar, her iki yöntemin de duyarlı olduğunu ve HPLC yöntemi ile toplam antosiyanin tayininde literatürdeki araştırmalar arasındaki farklılığın, kullanılan

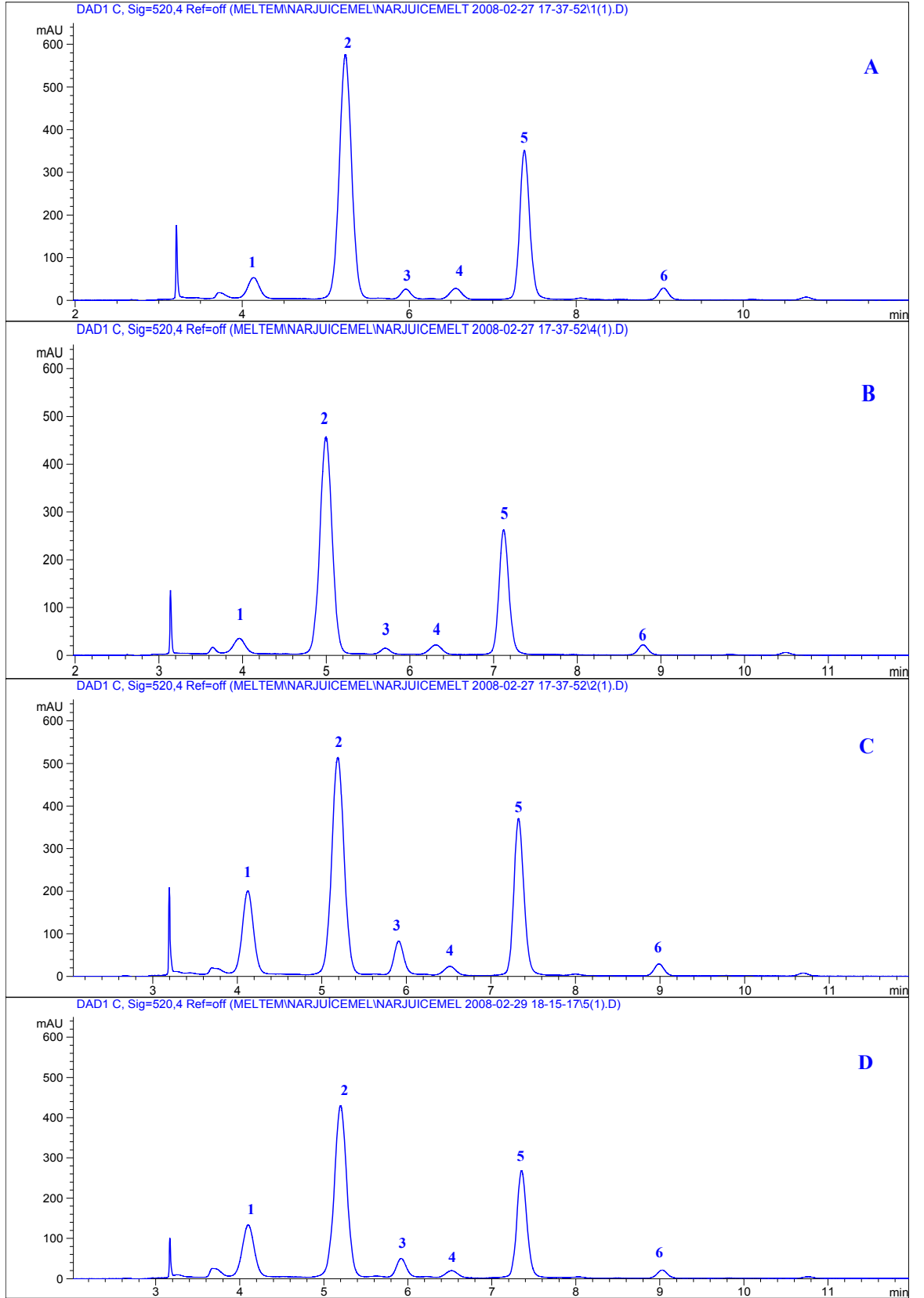
yönteme ve standarda göre farklılık gösterebildiğini vurgulamışlardır. Bu farklılığın diğer bir nedenini de, sertifikalı antosiyanin standartlarının olmamasına bağlamışlardır.

Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin kompozisyonları, sırasıyla Şekil 4.6 ve 4.7’de verilen kromatogramlarda gösterilmiştir. Nar sularında 6 farklı antosiyanin piki saptanmıştır. Kromatogramlarda 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 olarak gösterilmiş olan pikler sırasıyla; Dp-3,5-diglu, Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu, Cy-3-glu ve Pg-3-glu olarak tanımlanmıştır. Dp-3,5-diglu’in ticari olarak üretilen standardı bulunamadığından, bu antosiyanine ait olduğu düşünülen 1 No’lu pikin tanımlanmasında Gil *et al.* (2000) tarafından yapılan çalışmadaki geliş zamanı dikkate alınmıştır.

Nar sularının antosiyanin kompozisyonları, durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.7’de verilmiştir. Nar sularında başat antosiyaninin, Cy-3,5-diglu olduğu belirlenmiştir. Nar suyu antosiyaninleri üzerinde yapılan ilk çalışmada, Dp-3,5-diglu başat antosiyanin olarak bulunmuştur (Harborne 1967). Buna karşın, Du *et al.* (1975) nar danelerinde, başat antosiyaninin Cy-3-glu olduğunu belirlemişlerdir. Marti *et al.* (2001), İspanya’da yetiştirilen "Mollar" nar çeşidinin danelerinden elde ettikleri nar sularındaki antosiyaninlerin %40’ının Cy-3-glu’ten ve %38’inin de Cy-3,5-diglu’ten oluştuğunu saptamışlardır. Gil *et al.* (2002) tarafından yapılan bir çalışmada da, A.B.D.’nin Kaliforniya eyaletinde yetiştirilen "Wonderful" narlardan elde edilen nar suyu örneklerinde antosiyaninlerin yaklaşık %40’ının Cy-3-glu’ten oluştuğu saptanmıştır. Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada ise, narların olgunlaşma döneminde Dp-3,5-diglu’in başat antosiyanin olduğu, ancak meyve olgunlaştıktan sonra Cy-3-glu ile 3,5-diglu’in başat antosiyanin olarak Dp-3,5-diglu’in yerini aldığı belirlenmiştir (Hernandez *et al.* 1999). Bu sonuçlar, nar suyundaki antosiyaninlerin dağılımının, elde edildiği nar çeşidine ve olgunluk düzeyine göre değişebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.6 Danelerden elde edilmiş nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları
A: Durultulmamış, B: Durultulmuş, C: Durultulmadan pastörize edilmiş, D: Durultulup
pastörize edilmiş



Şekil 4.7 Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilmiş nar sularındaki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları A: Durultulmamış, B: Durultulmuş, C: Durultulmadan pastörize edilmiş, D: Durultulup pastörize edilmiş

Çizelge 4.7 Nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanan antosiyaninlerin miktarları

Nar suyu	Antosiyanin miktarları (mg kg ⁻¹)					
	Dp-3,5-diglu*	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
<i>Danelerden</i>						
Durultulmamış	9.5	58.7	4.5	3.5	25.9	1.9
Durultulmuş	9.5	56.6	2.8	3.3	22.4	1.8
Durultulmamış (P)**	16.0	49.5	7.2	2.6	22.8	1.7
Durultulmuş (P)	14.7	47.7	5.5	2.6	19.1	1.4
<i>Bütün meyveden</i>						
Durultulmamış	5.4	44.8	2.6	2.6	21.6	1.4
Durultulmuş	3.6	36.4	1.4	2.2	17.1	1.2
Durultulmamış (P)**	11.5	34.7	7.0	1.6	20.5	1.1
Durultulmuş (P)	10.1	35.2	4.8	1.5	17.7	1.2

* Delfinidin-3,5-diglukozit'in miktarı, siyanidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

** P: Pastörize edil

Danelerden elde edilen nar sularındaki antosiyaninlerin %56'sını Cy-3,5-diglu'in ve %25'ini de Cy-3-glu'in oluşturduğu saptanmıştır. Geri kalan %18'in ise, %9 Dp-3,5-diglu, %4 Dp-3-glu, %3 Pg-3,5-diglu ve %2 Pg-3-glu olarak dağıldığı belirlenmiştir. Nar antosiyaninlerinin belirlenmesine ilişkin yapılan ilk çalışmalardan birinde antosiyaninler, kağıt kromatografisi kullanılarak tanımlanmış ve bu antosiyaninlerin azalan sıra ile Cy-3-glu, Dp-3-glu, Cy-3,5-diglu, Dp-3,5-diglu olduğu, Pg-3-glu ile 3,5-diglu'in ise, çok az miktarlarda bulunduğu saptanmıştır (Du *et al.* 1975). Aynı çalışmada, nar kabuklarında ise, en fazla Cy-3-glu ile 3,5-diglu'in bulunduğu, buna karşın Dp-3-glu ile 3,5-diglu'in bulunmadığı belirlenmiştir. Gil *et al.* (2000) tarafından HPLC tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, danelerden elde edilen nar sularındaki antosiyaninlerin %42'sini Cy-3-glu'in, % 25'ini Dp-3-glu'in, %17'sini Cy-3,5-diglu'in, %14'ünü Dp-3,5-diglu'in ve %2'sini de Pg-3-glu'in oluşturduğu belirlenmiştir.

Bütün meyvenin preselenmesiyle elde edilen nar sularında antosiyaninler daha düşük miktarlarda bulunmuştur. Ancak tanımlanan bu 6 antosiyanin için benzer yüzde dağılım oranları bulunmuştur. Bütün meyvenin preselenmesiyle elde edilen nar sularındaki antosiyaninlerin %57'sini Cy-3,5-diglu'in, %28'ini Cy-3-glu'in, %7'sini Dp-3,5-diglu'in, %3'ünü Dp-3-glu'in, %3'ünü Pg-3,5-diglu'in ve %2'sini de Pg-3-glu'in oluşturduğu saptanmıştır. Gil *et al.* (2000) tarafından yapılan çalışmada ise, bütün meyveden ve danelerden elde edilen nar sularında yaklaşık aynı miktarlarda antosiyanin saptanmıştır. Bu çalışmada sadece başat antosiyanin olan Cy-3-glu'in oranı danelerden elde edilen nar sularında biraz daha fazla bulunmuştur.

Durultulan nar sularında, Cy-3,5-diglu miktarında önemli bir değişim gözlenmemiş, Cy-3-glu miktarında ise, yaklaşık %10'luk bir azalma gözlenmiştir. Buna karşın, hem durultulmuş ve hem de durultulmamış nar sularına pastörizasyon uygulanınca Cy-3,5-diglu'nun %16'sının, Cy-3-glu'nun ise, %12–15'inin kaybolduğu saptanmıştır.

4.5 Nar Sularında Oluşan Polimerik Renk Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Nar sularında polimerik renk oluşumu, durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında polimerik renk oranları

Durultma	Polimerik renk oranı (%)	
	Danelerden	Bütün meyveden
Durultulmamış	25	29
Durultulmuş	30	31
Durultulmamış (P)**	27	29
Durultulmuş (P)	33	33

** P: Pastörize edilmiş

Gerek durultma gerekse de pastörizasyon işlemlerinin nar sularında polimerik renk oluşumunu sınırlı düzeyde de olsa artırdığı gözlenmiştir. Danelerden elde edilen nar suları bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularına göre daha düşük polimerik renk içermesine karşın, bu örneklerde durultma ve pastörizasyon işlemlerinden sonra polimerik renkte daha fazla artış saptanmıştır. Örneğin, danelerden elde edilen ve durultulmamış nar sularında polimerik renk oranı %25 iken, durultulduktan sonra bu değer %30 düzeyine yükselmiştir. Buna karşın, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen ve durultulan nar sularında polimerik renk oranı %29 iken, durultulduktan sonra bu değer %31 düzeyine yükselmiştir.

Pastörizasyon işleminden sonra da, danelerden elde edilen ve durultulmamış örneklerde polimerik renk oranı %27 düzeyinde bulunurken, durultulduktan sonra, bu oran %33'e yükselmiştir. Buna karşın, pastörizasyon işleminden sonra, bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen örneklerde durultma işlemi yapılmadan ve yapıldıktan sonra polimerik renk oranı sırasıyla %29 ve %33 olarak bulunmuştur. Alper *et al.* (2005) tarafından yapılan çalışmada, pastörizasyon işleminden sonra durultulmamış örneklerde polimerik renk oluşumunda %18, durultulmuş örneklerde ise %9 oranında artış olduğu belirlenmiştir. Buna karşın, durultma işlemi ile polimerik renk oluşumunda durultulmamış kontrol örneklerine göre; pastörize edilmiş örneklerde %22, pastörize edilmemiş örneklerde ise %13 oranında bir azalma belirlenmiştir. Değinilen bu çalışmada, polimerik renk oranları %40–68 düzeyinde, yani çok yüksek düzeyde bulunmuştur. Bunun da, ya depolanmış veya bozulmaya başlamış olan narlardan meyve suyu üretilmesinden ya da durultmanın oda sıcaklığında yapılmasından kaynaklanabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Polimerik renk oranı, hiçbir işlem görmemiş taze meyve sularında genellikle %10'un altındadır. Meyve sularının, yüksek sıcaklıklarda uzun süre ısıtılması ve uygun olmayan sıcaklıklarda uzun süre depolanması sonucunda polimerik renk oranında artış görülmekte ve bu oran %30 veya daha da üzerinde de olabilmektedir. Ayrıca uzun süre depolanmış meyvelerden elde edilen meyve sularında, polimerik renk oranının artabileceği de bildirilmektedir. Polimerik renk oranının artması, bir yandan antosiyaninlerin parçalandığını diğer yandan da esmerleşme reaksiyonları sonucunda kahverengi melanoidin pigmentlerinin oluştuğunu göstermektedir (Giusti and Wrolstad 2001). Tarafımızdan yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, durultma ve pastörizasyon işlemlerinin nar sularında polimerik renk oluşumunu artırdığını göstermiştir. Bununla birlikte, durultma sonunda polimerik renk oranındaki artışın neden kaynaklandığı açıklanamamıştır.

Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında polimerik renk oranlarına ilişkin varyans analizi sonuçları (Çizelge 4.9), üçlü ve ikili interaksiyonların istatistik olarak önemsiz olduğunu göstermiştir ($p>0.05$). Bu nedenle, bu verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmamıştır. Ortalamalar arasındaki farklar

tesadüftan ileri gelmiştir. Varyans analizi sonuçları "ekstraksiyon," "durultma" ve "pastörizasyon" faktörlerinin ise, istatistik olarak önemli olduğunu göstermiş ($p<0.01$) ve bu faktörlerin her biri kendi içinde karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.9 Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının antosiyanin miktarlarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Ekstraksiyon	1	14.062	14.062	20.45	0.002**
Durultma	1	60.062	60.062	87.36	0.000**
Pastörizasyon	1	14.063	14.063	20.45	0.002**
Ekstraksiyon x durultma	1	3.062	3.062	4.45	0.068
Ekstraksiyon x pastörizasyon	1	3.063	3.063	4.45	0.068
Durultma x pastörizasyon	1	1.563	1.563	2.27	0.170
Ekstraksiyon x durultma x pastörizasyon	1	0.562	0.562	0.82	0.392
Hata	8	5.500	0.687		
Genel toplam	15	101.937			

** : $p<0.01$

4.6 Nar Sularının Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler

Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra renklerinde oluşan değişimler, materyalin renginin reflektans spektrofotometresi ile CIE L^* , a^* , b^* , C^* (kroma) ve h° (hue) değerlerinin ölçülmesi ile izlenmiştir. Bu ölçümlere ilişkin veriler Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Bilindiği gibi, CIE $L^*a^*b^*$ sisteminde L^* değeri aydınlık derecesi (lightness) olarak tanımlanmakta ve bu değer 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişmektedir. CIE a^* değeri, 0 ile 60 arasında değişmekte olup, pozitif a^* değerleri kırmızı, negatif a^* değerleri ise, yeşil rengi göstermektedir. CIE b^* değerleri de, 0 ile 60 arasında değişmekte; pozitif b^* değerleri sarı, negatif b^* değerleri ise, mavi rengi

göstermektedir. a^* ve b^* değerlerinin 0 olması, cismin renksiz (akromatik) olduğunu göstermektedir. CIE C^* (kroma, chroma) değeri, renk doygunluğu veya renk yoğunluğu (saturation) ile ilgili bir nitelik olup 0 ile 60 arasında değişmekte ve renk düzleminin merkezinde 0 (mat, dull) ve merkezden uzaklaştıkça parlak (vivid) tonlar artmaktadır. h° (hue) değeri ise, renk tonu veya renkle ilgili bir nitelik olup 0° – 360° arasında değişmekte; 0° ve 360° kırmızı, 90° sarı, 180° yeşil ve 270° mavi olarak değerlendirilmektedir.

Çizelge 4.10 Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularında durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra ölçülen reflektans renk değerleri

Nar suyu	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
<i>Danelerden</i>					
Durultulmamış	33.04	60.32	54.91	81.57	42.31
Durultulmuş	38.92	63.52	59.71	87.18	43.23
Durultulmamış (P)*	21.63	47.52	36.56	59.96	37.56
Durultulmuş (P)	38.53	62.35	56.12	83.89	41.99
<i>Bütün meyveden</i>					
Durultulmamış	26.06	55.08	44.46	70.79	38.91
Durultulmuş	36.54	63.06	59.02	86.37	43.10
Durultulmamış (P)*	24.21	52.57	41.15	66.76	38.05
Durultulmuş (P)	34.98	61.70	55.68	83.11	42.07

* P: Pastörize edilmiş

Çizelge 4.10’da görüldüğü gibi, pastörize edilmeden durultulan örneklerin L^* değerlerinde 6–10 birimlik, pastörize edilip durultulanlarda ise, 10–17 birimlik bir artış gözlenmiştir. Bilindiği gibi, L^* değeri gıdalarda esmerleşme indeksi olarak kullanılmaktadır (Aguilera *et al.* 1987, Lozano and Ibarz 1997). Durultma sonunda L^* değerinde gözlenen bu artış, durultma işlemi ile esmer pigmentlerin uzaklaştığını

göstermektedir. Bilindiği gibi, antosiyaninlerce zengin meyve sularının renkleri monomerik antosiyaninler dışında, esmerleşme reaksiyonları sonucu oluşan esmer pigmentler ile antosiyaninlerin parçalanma ürünlerinden meydana gelmektedir. Durultmanın L^* değeri üzerine bu olumlu etkisinin, nar sularında monomerik antosiyaninlerin parlak kırmızı renklerinin daha iyi algılanmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

Durultulan nar sularının h° değerlerinde yaklaşık 1° – 5° 'lik artışlar saptanmıştır. Antosiyanin içeren gıdalarda, h° değerinin artması antosiyaninlerin parçalandığını ve bu parçalanma sonucunda da sarı rengin arttığını göstermektedir. Ancak, durultmada antosiyaninlerin parçalanmasından çok, bir kısım antosiyaninlerin meyve suyundan ya jelatin ile bağlanarak ya da jelatin-fenolik bileşikler arasında oluşan flokla birlikte uzaklaşması şeklinde yorumlanmaktadır. Bu nedenle h° değerindeki bu değişimin, muhtemelen bulanıklık unsurlarının renk ölçümüne olumsuz etkisinden kaynaklandığı sanılmaktadır. Durultulduktan sonra pastörize edilen danelerden elde edilen nar sularının reflektans renk değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Buna karşın pastörizasyon işlemi sonunda, durultulmamış nar sularının reflektans renk değerlerinde önemli azalışlar saptanmıştır. Bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen nar sularının reflektans renk değerlerinde ise, durultma ile önemli artışlar ve pastörizasyon ile de önemli azalışlar saptanmıştır.

4.7 Nar Suyu Konsantrelerinin Farklı Sıcaklıklarda Depolanması Süresince Antosiyaninlerdeki Değişimler

Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinde toplam antosiyanin miktarları hem spektrofotometrik ve hem de HPLC yöntemleri ile belirlenmiş ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.

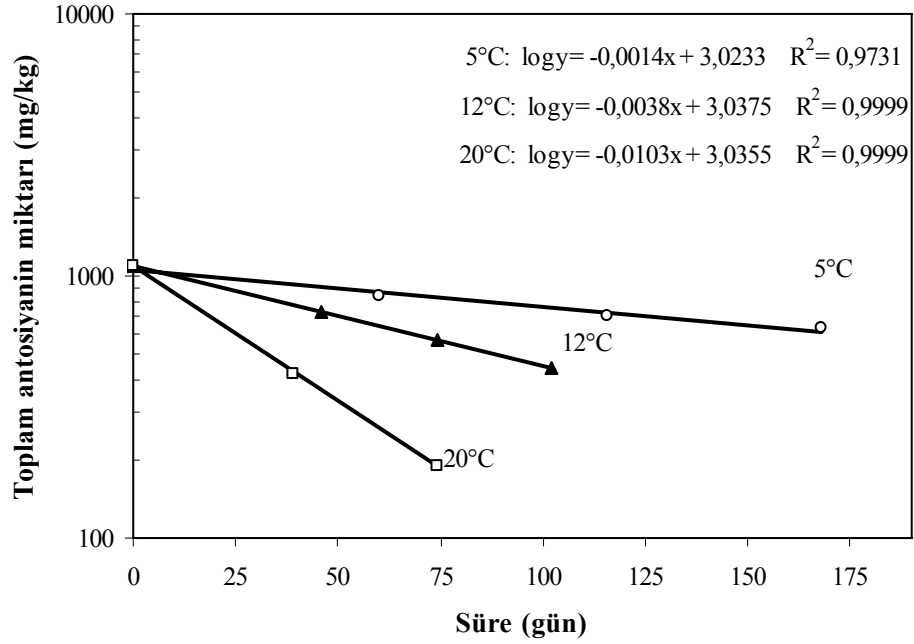
Farklı depolama sıcaklıklarında, nar suyu konsantrelerinin toplam antosiyanin miktarlarındaki azalmaya ilişkin veriler, durultulmamış nar suyu konsantreleri için Şekil 4.8'de, durultulmuşlar için Şekil 4.9'da, durultulmadan pastörize edilenler için Şekil 4.10'da ve durultulup pastörize edilenler için ise, Şekil 4.11'de verilen grafiklerde

gösterilmiştir. Nar suyu konsantrelerindeki antosiyaninlerin depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak parçalandığı gözlenmiştir. Örneğin, durultulmuş nar suyu konsantrelerinde antosiyanin miktarı 5°C’de 167 gün depolama sonunda %51, 12°C’de 101 gün depolama sonunda %63 ve 20°C’de 73 gün depolama sonunda %85 oranında azaldığı saptanmıştır. 20°C’deki depolama süresi 5°C’ye göre 2.5 kat daha az olmasına karşın, %34 daha fazla antosiyanin kaybı gerçekleşmiştir. Bu çalışmada uygulanan 3 farklı depolama sıcaklığının antosiyanin kaybına etki düzeyi Şekil 4.8–4.11’de verilen grafiklerin eğimlerinden kolaylıkla görülebilir. Bu durumu daha iyi açıklayabilmek için, 5°C, 12°C ve 20°C sıcaklıklarda 74 gün depolama sonunda, nar suyu konsantrelerindeki antosiyanin miktarlarının yüzde azalma oranları Şekil 4.12’de verilen histogramda gösterilmiştir. Şekil 4.12’de görüldüğü gibi, nar suyu konsantrelerinin 74 gün depolanması sonunda toplam antosiyanin miktarlarında, durultulmamış nar suyu konsantrelerinde 5°C’de %21, 12°C’de %48 ve 20°C’de %83 düzeyinde azalma saptanırken, aynı sürelerde depolanan durultulmuş nar suyu konsantrelerinde 5°C’de %26, 12°C’de %52 ve 20°C’de %85 düzeyinde azalma saptanmıştır. Durultularak veya durultulmaksızın üretilmiş nar suları konsantrelerinin depolanmaları sırasında antosiyanin kaybı açısından önemli bir fark görülmemektedir.

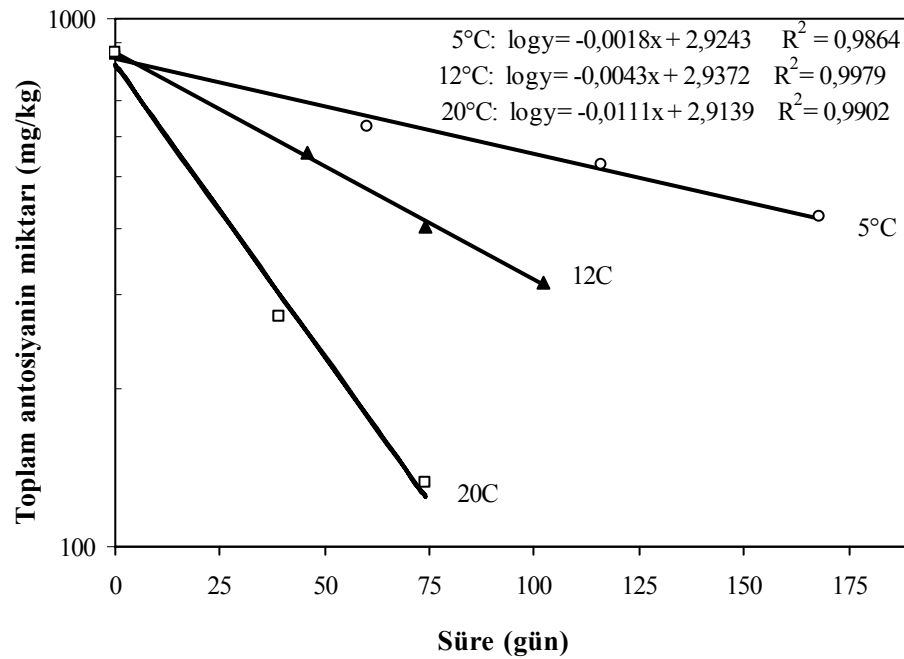
Şekil 4.8–4.11’de, antosiyanin miktarları herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli "y" eksenine, süreler ise aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenerek doğrusal eğriler elde edilmiştir. Bu durum, nar suyu konsantrelerinin 5°C, 12°C ve 20°C sıcaklıklarda depolanması süresince, antosiyaninlerinin degradasyonunun birinci derece kinetik modele uygun olarak geliştiğini göstermektedir.

Literatürde birçok üründe antosiyaninlerin parçalanmasının gerek ısıtma gerekse de depolama süresince birinci dereceden kinetik modelle tanımlandığı görülmektedir. Bu durum, nar sularının 90°C’de ısıtılmasında (Miskin and Saguy 1982) ve nar suyu konsantrelerinin 5°–37°C sıcaklıklarda depolama süresince (Asefi 1995) ortaya konulmuştur. Aynı şekilde, 5°–37°C sıcaklıklarda depolama süresince antosiyaninlerin parçalanması; vişne suyu konsantrelerinde (Işık 1993, Asefi 1995), kan portakalı suyu konsantrelerinde (Kırca and Cemeroğlu 2003) ve siyah havuç suyu konsantrelerinde

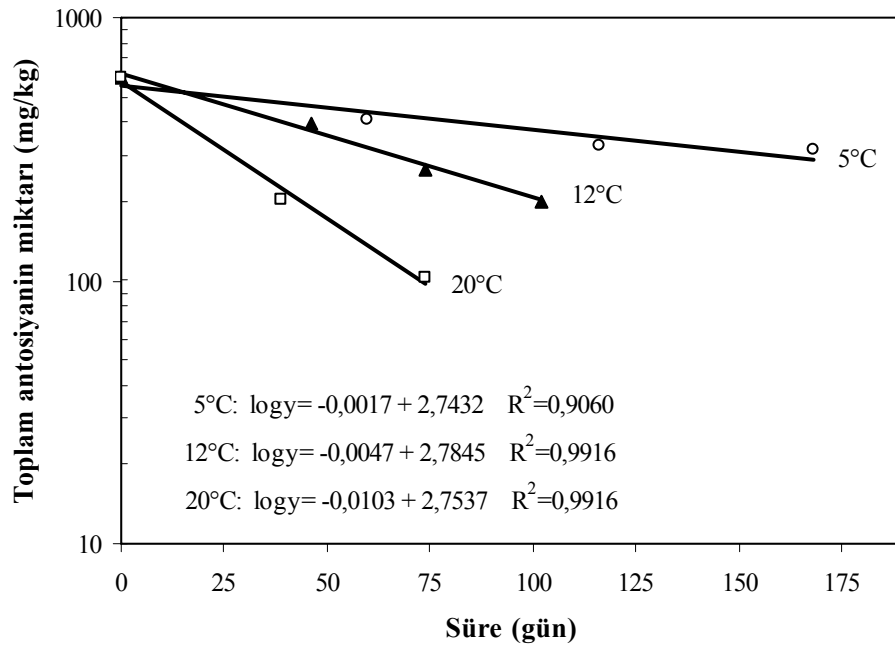
(Kırca *et al.* 2007) birinci dereceden kinetik modelle tanımlanmıştır.



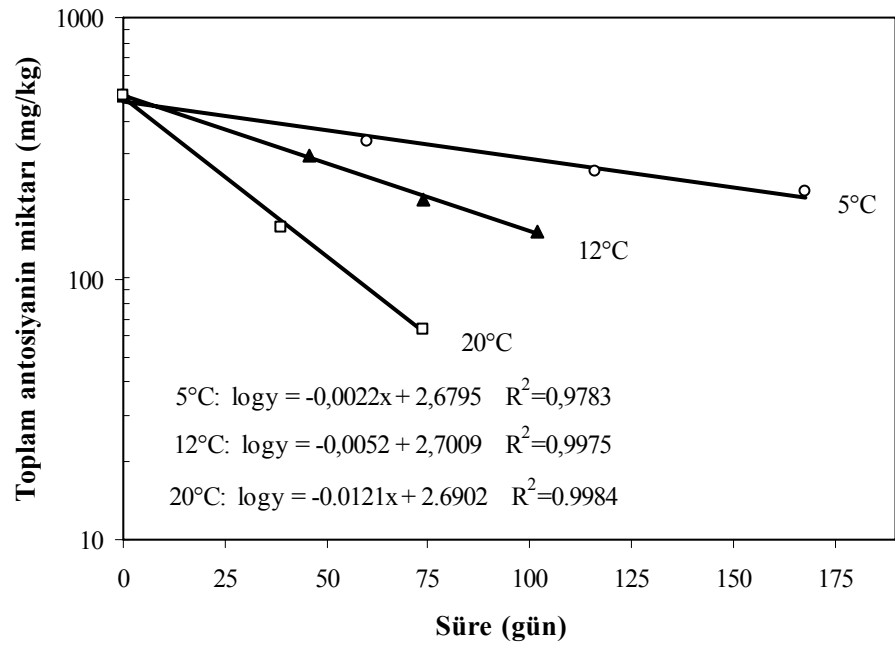
Şekil 4.8 Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar



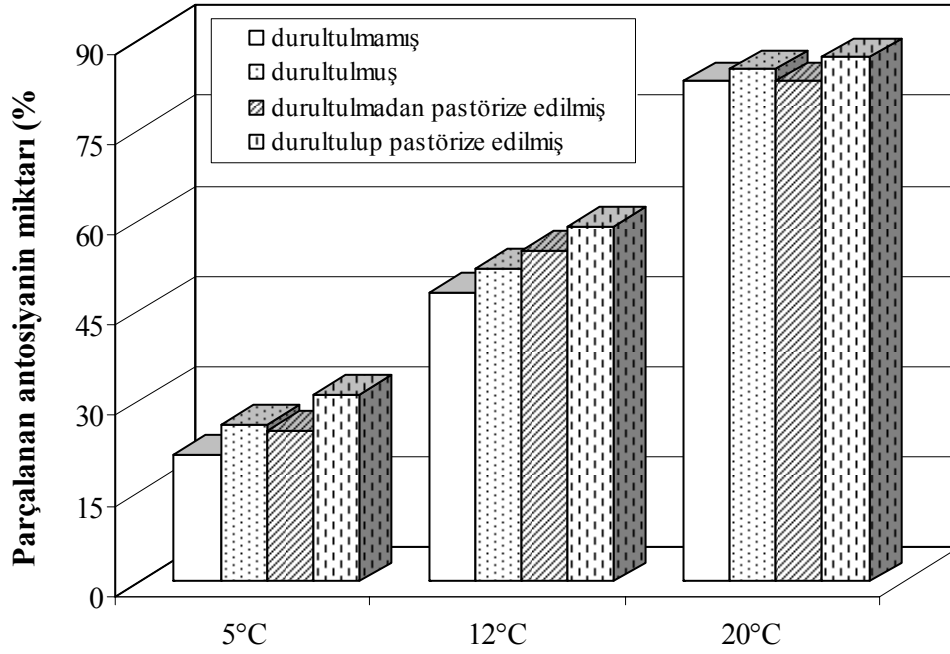
Şekil 4.9 Durultulmuş nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar



Şekil 4.10 Durultulmamış nar suyundan elde edilip pastörize edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar



Şekil 4.11 Durultulmuş nar suyundan elde edilip pastörize edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince toplam antosiyanin miktarındaki azalmalar



Şekil 4.12 Farklı sıcaklıklarda 74 gün süreyle depolanan nar suyu konsantrelerinde antosiyanin miktarındaki azalmalar

Nar suyu konsantrelerinin 5°C, 12°C ve 20°C’lerde depolanması sonucunda antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin reaksiyon hız sabitleri (k) Şekil 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11’den elde edilen eğrilerin eğimlerinin "2.303" değeri ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır. Bu parçalanmaya ilişkin kinetik katsayılar, Çizelge 4.11’de verilmiştir. Kinetik veriler incelenince, beklenildiği gibi depolama sıcaklığı yükseldikçe bütün örneklerde antosiyaninlerin parçalanma hızlarının arttığı görülmektedir. Örneğin, durultulmamış nar suyu konsantrelerinde, yarılanma süresi ($t_{1/2}$) 5°C’de 215 gün olduğu halde, depolama sıcaklığı 12°C’ye yükselince bu süre 79 güne ve 20°C’ye yükselince ise, 29 güne düşmüştür.

Nar sularında ve nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin stabilitesine ilişkin literatürde 3 çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmaların birinde, 5°–25°C sıcaklıklarda depolanan nar sularında antosiyaninlerin parçalanması incelenmiş, ancak elde edilen veriler herhangi kinetik bir modelle tanımlanmamıştır (Marti *et al.* 2001). Miskin and Saguy (1982), nar suyu antosiyaninlerinin 90°C’de parçalanmasına ilişkin yarı ömür süresini 13 h olarak saptamışlardır. Ancak bu çalışmada nar antosiyaninlerinin

depolanma stabilitesi belirlenmemiştir. Bu çalışmalar dışında nar suyu konsantrelerinin depolanması süresince antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin literatürde tek bir çalışmaya rastlanmıştır (Asefi 1995). Bu çalışmada antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı ömür süresi 5°C’de 78 gün ve 20°C’de ise, 32 gün olarak saptanmıştır. 20°C’de benzer yarı ömür süreleri bulunmasına karşın, özellikle 5°C’de saptanan yarı ömür süresi ($t_{1/2} = 78$ gün) çalışmamızda bulunan yarı ömür süresinden ($t_{1/2} = 167$ gün) çok daha düşüktür. Asefi (1995) tarafından yapılan çalışmada toplam antosiyanin tayininde Cy-3-glu için Wrolstad (1976) tarafından önerilen hatalı molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon = 29\ 600$) ve molekül ağırlığı ($M.W = 445.2$) kullanılmış ve bu nedenle toplam antosiyanin miktarları hatalı olarak hesaplanmıştır. Bununla birlikte, depolama süresince antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin elde edilen grafiklerin eğimleri ve bu eğim değerlerinden hesaplanan reaksiyon hız sabiti ve yarı ömür süresi gibi kinetik parametrelerin değerleri değişmeyeceği için hesaplanmış olan kinetik verilerde bir hata bulunmamaktadır.

Antosiyaninlerin sıcaklığa çok duyarlı olduğu düşünülürse, 5°C ve 20°C sıcaklıklarda Asefi (1995) tarafından saptanmış olan yarı ömür süreleri arasındaki farkın çok daha belirgin olması beklenebilirdi. Nitekim bu durum antosiyanin içeren birçok meyve ve sebze suyu konsantresinde ortaya konulmuştur. Örneğin, siyah havuç suyu konsantrelerinin (64°Bx) depolanması süresince, 4°C ve 20°C sıcaklıklarda antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı ömür süreleri birbirinden çok farklı olarak sırasıyla, 215 gün ve 36 gün olarak saptanmıştır (Kırca *et al.* 2007).

Bununla birlikte, Asefi (1995) tarafından yapılan çalışmada nar suyu konsantrelerinin antosiyanin içeriği (yaklaşık 440 mg kg⁻¹), çalışmamızda kullanılan konsantrelerin antosiyanin (yaklaşık 900 mg kg⁻¹) içeriğine göre yarı yarıya daha azdır. Yarı ömür sürelerinde saptanan bu farklılık, 2 çalışmada kullanılan narların antosiyanin kompozisyonlarındaki farklılığa dayandırılabilir. Bilindiği üzere, ülkemizde 200’ün üzerinde nar çeşidi bulunmakta ve bu narların da antosiyanin kompozisyonları daha önce de vurgulandığı gibi, birbirinden çok farklı olabilmektedir. Farklı çeşit meyve veya sebzelerden elde edilen konsantrelerde antosiyaninlerin parçalanma hızları da birbirlerinden çok farklı olabilmektedir. Örneğin, 5°C ve 20°C’de depolanan vişne suyu

konsantrelerinde (71°Bx), antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin yarı ömür süreleri sırasıyla 834 ve 83 gün (Işık 1993), ve 166 ve 36 gün (Asefi 1995) olarak bulunmuştur. İki çalışmada da bir meyve suyu fabrikasından sağlanmış olan vişne suyu konsantresi kullanılmıştır.

Bunun dışında, nar suyu konsantreleri ile ilgili olarak hesaplanmış kinetik veriler, literatürde antosiyanin içeren diğer meyve ve sebze suyu konsantreleri için saptanan kinetik verilerle de kıyaslanmıştır. Diğer meyve ve sebze sularının durultulduktan sonra konsantreye işlendiği göz önüne alınarak, doğru kıyaslama yapabilmek için durutulmuş nar sularından elde edilen nar suyu konsantrelerinin 5°C ve 20°C’de antosiyaninlerinin parçalanmasına ilişkin hesaplanan yarı ömür süreleri (sırasıyla 167 ve 27 gün) dikkate alınmıştır (Çizelge 4.11). 4°C ve 20°C sıcaklıklarda yarı ömür süreleri sırasıyla; siyah havuç suyu konsantresinde (64°Bx) 215 gün ve 36 gün (Kırca *et al.* 2007), vişne suyu konsantresinde (71°Bx) 834 gün ve 83 gün (Işık 1995), ve kan portakalı suyu konsantresinde (69°Bx) 4.8 gün ve 0.74 gün (Kırca and Cemeroğlu 2003) olarak bulunmuştur. Bu değerlerle kıyaslandığında, 4°C ve 20°C’de, nar suyu antosiyaninlerinin; vişne ve siyah havuç antosiyaninlerine göre stabilitesinin daha düşük, kan portakalı antosiyaninlerine göre stabilitesinin çok daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Hem $t_{1/2}$ ve hem de D değerlerinin sıcaklık yükseldikçe azalması, antosiyanin stabilitesinin sıcaklık artışına bağlı olarak azaldığını göstermektedir. Durultulmamış ve durutulmuş nar sularından elde edilen konsantrelere ilişkin kinetik veriler kıyaslandığında, durultulmamış nar suyu konsantrelerinde bulunan antosiyaninlerinin stabilitesinin tüm depolama sıcaklıklarında daha yüksek olduğu görülmektedir. Aynı durum pastörizasyon işleminden sonra da gözlenmiştir. Buna karşın, gerek durultulmamış gerekse de durutulmuş nar suyu konsantrelerinde pastörizasyon işlemi antosiyaninlerin parçalanma hızını artırmıştır.

Elde edilen sonuçlar, nar suyu konsantrelerine uygulanan pastörizasyon işleminin antosiyanin kaybını hızlandırdığını göstermektedir. Ayrıca, gerek pastörize edilmemiş

gerekse de pastörize edilmiş nar sularından elde edilen konsantrelerde, antosiyaninlerin depolama stabiliteleri, durultulmamış örneklerde durultulmuş örneklerle göre daha fazla bulunmuştur.

Nar suyu konsantrelerinde depolama süresince antosiyanin kaybının sıcaklığa bağlılığının saptanması amacıyla aktivasyon enerjisi (E_a) ve Q_{10} değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.11). Arrhenius grafiğinin oluşumuna ilişkin veriler EK 2’de (Çizelge 1), Arrhenius grafiği ise, EK 3’de (Şekil 1 ve 2) verilmiştir. Nar suyu konsantrelerinde 5°C–20°C arasında antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin aktivasyon enerjisi değerleri (E_a), durultulmuş örneklerde 82 kJ mol⁻¹, durultulmamış örneklerde 90 kJ mol⁻¹, durultulup pastörize edilen örneklerde 77 kJ mol⁻¹ ve durultulmadan pastörize edilen örneklerde ise, 81 kJ mol⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.11). E_a değerleri kıyaslandığında, hem pastörizasyondan önce hem de pastörizasyondan sonra durultulmamış nar suyu konsantrelerindeki antosiyaninlerin parçalanma hızlarının, durultulmuş örneklerle göre sıcaklık değişimlerinden az da olsa daha fazla etkilendiği sonucuna ulaşılmıştır. 5°C–20°C arasında hesaplanan yüksek E_a ve Q_{10} değerleri, nar suyu antosiyaninlerinin parçalanma hızlarının sıcaklığa bağlı olduğunu ve bu reaksiyonun sıcaklık artışlarına duyarlı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.11).

Nar suyu konsantrelerinde (68°–69°Bx) 5°C–20°C sıcaklıklarda antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin saptanan aktivasyon enerjisi değerleri ($E_a = 77\text{--}90$ kJ mol⁻¹), 5°C–37°C arasında vişne suyu konsantrelerinde (71°Bx) Işık (1993) ve Asefi (1995) tarafından saptanan değerlere (sırasıyla, $E_a = 93$ kJ mol⁻¹ ve $E_a = 74$ kJ mol⁻¹) ve aynı sıcaklık aralığında kan portakalı konsantrelerinde (69°Bx) saptanan değere ($E_a = 81$ kJ mol⁻¹) yakındır. Buna karşın, Asefi (1995) tarafından nar suyu konsantrelerinde (71°Bx) saptanan aktivasyon enerjisi değeri ($E_a = 64$ kJ mol⁻¹), çalışmamızda bulunan aktivasyon enerjisi değerlerinden daha düşüktür. Işık (1993) ve Asefi (1995) tarafından saptanan reaksiyon hız sabitleri kullanılarak, 5°C–37°C sıcaklıklar arasında aktivasyon enerjisi değerleri tarafımızdan hesaplanmıştır.

5°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (Çizelge 4.12), "durultma × pastörizasyon × süre" üçlü interaksiyonunun istatistik olarak önemsiz olduğunu göstermiştir ($p>0.05$). Bu nedenle, bu verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmamıştır. Varyans analizi sonuçları "durultma × pastörizasyon," "durultma × süre" ve "pastörizasyon × süre" ikili interaksiyonlarının ise, istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir ($p<0.01$).

Çizelge 4.11 Durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin pastörizasyondan önce ve sonra farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında antosiyaninlerin parçalanmasına ilişkin kinetik parametreler

Sıcaklık (°C)	$-k \times 10^3$ (gün ⁻¹)	$t_{1/2}$ (gün)	D (gün)	Q_{10} (5°–20°C)	E_a (kJ mol ⁻¹)
<i>Durultulmamış</i>					
5	3.22 (0.9731)*	215	714		
12	8.75 (0.9999)	79	263	3.79	90
20	23.72 (0.9999)	29	97		
<i>Durultulmuş</i>					
5	4.15 (0.9864)	167	556		
12	9.90 (0.9979)	70	233	3.36	82
20	25.56 (0.9902)	27	90		
<i>Durultulmamış (P)**</i>					
5	3.92 (0.9060)	177	588		
12	10.82 (0.9916)	64	213	3.32	81
20	23.72 (0.9916)	29	97		
<i>Durultulmuş (P)**</i>					
5	5.07 (0.9783)	137	455		
12	11.98 (0.9975)	58	192	3.12	77
20	27.87 (0.9984)	25	83		

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

** P: Pastörize edilmiş

"Durultma × pastörizasyon" ikili interaksiyonu, durultma işleminin ortalamaları arasındaki farkların konsantrelerin pastörize edilip edilmemesine göre değiştiğini

göstermektedir. "Durultma $\times$ süre" ikili interaksyonu, durultma işleminin ortalamaları arasındaki farkların süreler göre değiştiğini göstermektedir. "Pastörizasyon $\times$ süre" ikili interaksyonu, pastörizasyon işleminin ortalamaları arasındaki farkların süreler göre değiştiğini göstermektedir.

Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 4, 5 ve 6); 5°C’de depolanan nar sularının toplam antosiyanin içerikleri arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Ayrıca, bu nar sularının antosiyanin içerikleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin önemli bir etkisinin olduğu ve ortalamalar arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu da belirlenmiştir ($p<0.01$). 12°C ve 20°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinin antosiyanin miktarları için yapılan varyans analizi sonuçları (Çizelge 4.13 ve 4.14), "durultma $\times$ pastörizasyon $\times$ süre" üçlü interaksyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiş (12°C ve 20°C için sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.01$) ve bu verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Üçlü interaksyon önemli çıktığı için ikili interaksyonları incelemeye gerek duyulmamıştır. Üçlü interaksyonun önemli olmasının anlamı, durultma işleminin pastörizasyon işlemi ile birlikte etkisinin süreler göre değiştiği, durultma işleminin süreler göre birlikte etkisinin pastörizasyon işlemine göre değiştiği ve aynı şekilde pastörizasyon işleminin süreler göre birlikte etkisinin durultma işlemine göre değiştiğidir.

Duncan testi sonuçlarına göre (EK 1; Çizelge 7, 8 ve 9); 12°C’de depolanan nar sularının toplam antosiyanin içerikleri arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu ($p<0.05$); yalnızca durultulup pastörize edilen konsantrelerin 73 gün depolama sonundaki antosiyanin içeriği ile durultulmadan pastörize edilen konsantrelerin 101 gün depolama sonundaki antosiyanin içeriği arasındaki farkların ise önemsiz olduğu saptanmıştır ($p>0.05$). Ayrıca, bu nar sularının antosiyanin içerikleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin önemli bir etkisinin olduğu ve ortalamalar arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu da belirlenmiştir ($p<0.01$). EK 1’de verilen Çizelge 10, 11 ve 12’ye göre, 20°C’de depolanan nar sularının toplam antosiyanin içerikleri arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).

Ayrıca, bu nar sularının antosiyanin içerikleri üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin önemli bir etkisinin olduğu ve ortalamalar arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu da belirlenmiştir ($p<0.01$).

Çizelge 4.12 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	170338	170338	1786.64	0.000
Pastörizasyon	1	936861	936861	9826.56	0.000
Süre	3	623163	207721	2178.56	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	28784	28784	301.91	0.000**
Durultma x süre	3	1818	606	6.36	0.005**
Pastörizasyon x süre	3	30100	10033	105.24	0.000**
Durultma x pastörizasyon x süre	3	462	154	1.62	0.225
Hata	16	1525	95		
Genel toplam	31	1793053			

** : $p<0.01$

Çizelge 4.13 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	123094	123094	1058.16	0.000
Pastörizasyon	1	699748	699748	6015.29	0.000
Süre	3	1077645	359215	3087.94	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	18616	18616	160.03	0.000
Durultma x süre	3	5465	1822	15.66	0.000
Pastörizasyon x süre	3	56625	18875	162.26	0.000
Durultma x pastörizasyon x süre	3	1252	417	3.59	0.037*
Hata	16	1861	116		
Genel toplam	31	1984306			

* : $p<0.05$

Çizelge 4.14 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	63287	63287	713.37	0.000
Pastörizasyon	1	305293	305293	3441.27	0.000
Süre	2	1807826	903913	10188.94	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	11367	11367	128.13	0.000
Durultma x süre	2	12516	6258	70.54	0.000
Pastörizasyon x süre	2	133992	66996	755.18	0.000
Durultma x pastörizasyon x süre	2	3742	1871	21.09	0.000**
Hata	12	1065	89		
Genel toplam	23	2339087			

** : p<0.01

Nar suyu konsantrelerinde HPLC ve spektrofotometrik yöntemle Cy-3-glu cinsinden hesaplanan toplam antosiyanin miktarları Çizelge 4.15’de verilmiştir. Spektrofotometrik yöntemle olduğu gibi, HPLC yöntemiyle de hesaplanan toplam antosiyanin miktarları kıyaslandığında, en fazla parçalanma 20°C’de depolanan konsantre örneklerinde gerçekleşirken, en az parçalanma ise, –23°C’de depolanan örneklerde gerçekleşmiştir. Örneğin, durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin –23°C’de yaklaşık 1 yıl süreyle depolanması sonunda toplam antosiyanin miktarında %7 azalma saptanırken, aynı örneğin 20°C’de üstelik 73 gün gibi kısa bir süre depolanması sonunda, %83 oranında bir kayıp saptanmıştır. Benzer şekilde, –18°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinde (70°Bx) 6 ay depolama sonunda antosiyanin kaybı %11 düzeyinde gerçekleşirken, 20°C’de 27 gün depolama sonunda %65 kayıp saptanmıştır (Asefi 1995). Aynı araştırmacı, vişne suyu konsantrelerinin (70°Bx) –18°C’de 6 ay ve 20°C’de ise, 44 gün depolanması sonunda sırasıyla %4 ve %59 oranında antosiyanin kaybı olduğunu gözlemlemiştir.

Ayrıca durultma ve pastörizasyon işlemleri de, antosiyaninlerin parçalanmasını hızlandırmıştır. Örneğin; pastörize işlemi uygulanmayan durultulmamış konsantrelerin antosiyanin miktarlarında 5°C’de 167 gün süreyle depolama sonunda %42, durultulmuş

konsantrelerin aynı sıcaklıkta ve sürede depolanması sonunda ise, %51 oranında kayıp bulunmuştur. Benzer şekilde, pastörizasyon işlemi sonunda da, durultulmamış konsantrelerin antosiyanin miktarlarında, 5°C’de aynı süre depolama sonunda %47, durultulmuş konsantrelerin antosiyanin miktarlarında ise, %57 oranında azalma saptanmıştır (Çizelge 4.15).

Bu sonuçlar, nar suyu konsantrelerinin dondurularak depolanması gerektiğini göstermiştir. Ayrıca gerek durultma gerekse de pastörizasyon işlemlerinin nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin parçalanmasını hızlandırdığı da belirlenmiştir. Bunların dışında, doğal nar sularından farklı olarak, nar suyu konsantrelerinde hem HPLC ve hem de spektrofotometrik yöntemle benzer toplam antosiyanin miktarları saptanmıştır.

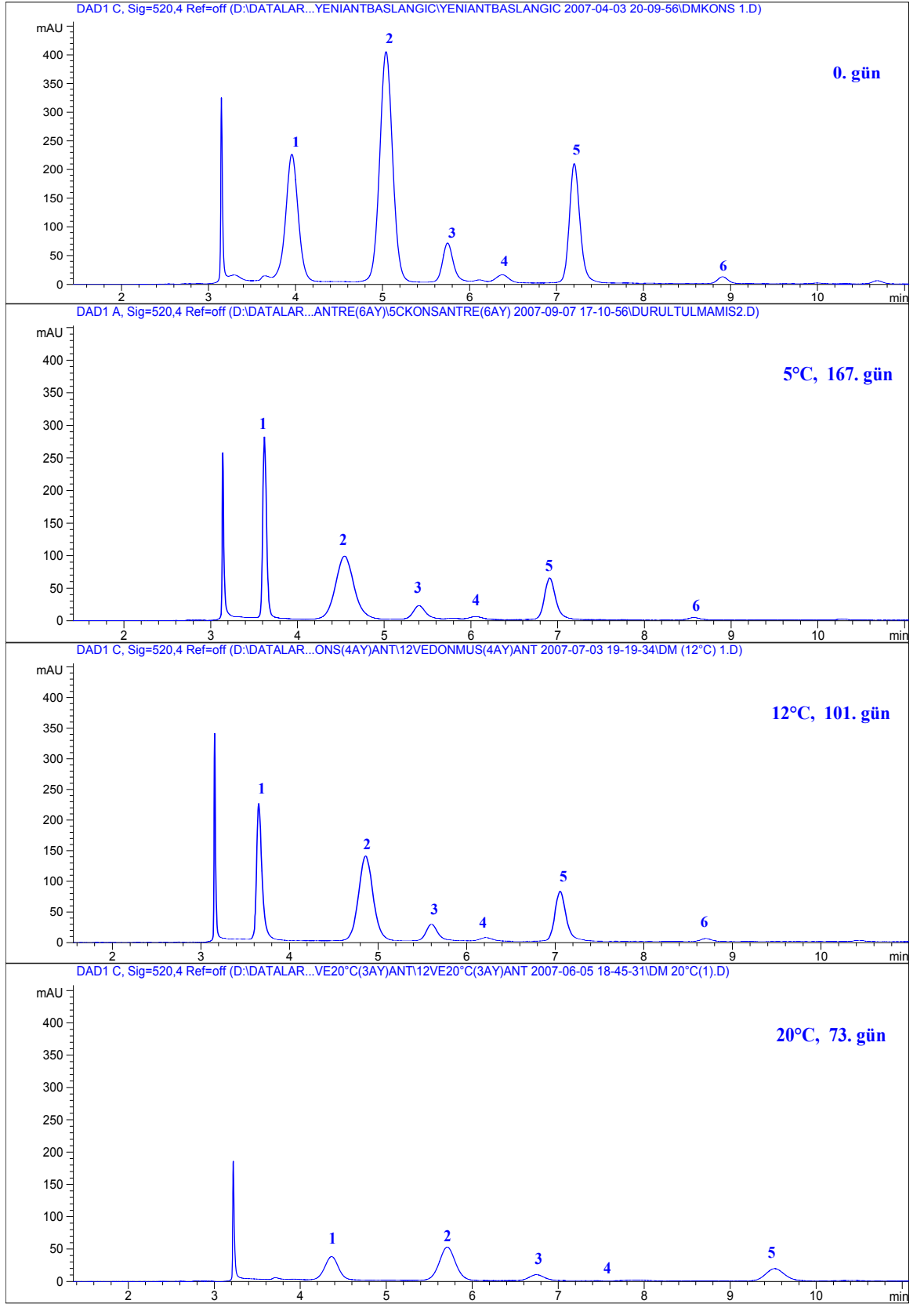
Nar suyu konsantrelerinin antosiyanin kompozisyonları her bir depolama sıcaklığında (5°C, 12°C, 20°C ve -23°C) periyodik aralıklarla belirlenmiş ve sonuçlar EK 4’de verilen kromatogramlarda (Şekil 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ve 16) gösterilmiştir. Bununla birlikte, depolama başlangıcında ve sonunda elde edilen kromatogramlar da Şekil 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17, 4.18, 4.19 ve 4.20’de verilmiştir. Kromatogramlarda 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 olarak gösterilmiş olan pikler sırasıyla; Dp-3,5-diglu, Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Pg-3,5-diglu, Cy-3-glu ve Pg-3-glu olarak tanımlanmıştır.

Farklı yöntemlerle elde edilen nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklık ve sürelerde depolanması süresince HPLC ile belirlenen antosiyanin kompozisyonları Çizelge 4.16 ve 4.17’de belirtilmiştir. Antosiyaninler arasında kıyaslama yapılırken, nar suyu konsantresinde bulunan ve toplam antosiyanin içeriğinin yaklaşık %85’ini oluşturan Cy-3,5-diglu (%47), Cy-3-glu (%20) ve Dp-3,5-diglu (%20) dikkate alınmıştır. Görüldüğü gibi, genel olarak Cy-3,5-diglu ile Cy-3-glu’in depolama boyunca yaklaşık aynı stabiliteyi gösterdikleri saptanmıştır. Dp-3,5-diglu’in ise Cy-3-glu ve 3,5-diglu’e yakın ama biraz daha düşük bir stabilite gösterdiği saptanmıştır.

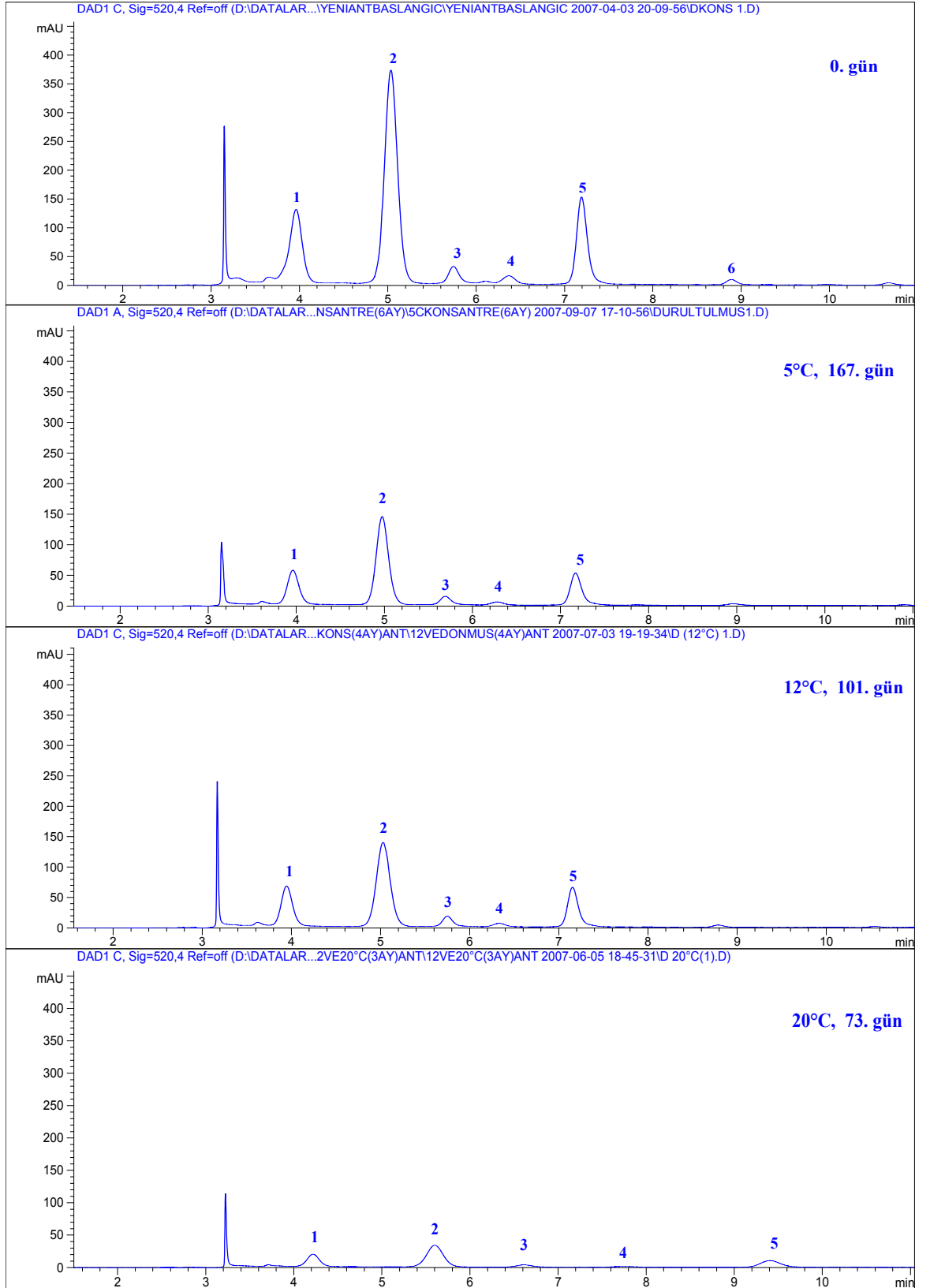
Çizelge 4.15 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanan antosiyanin miktarları

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarı* (mg kg ⁻¹)	
			Spektrofotometrik	HPLC
Durultulmamış	-23	0	1091	1005
		334	1018 (%7)***	1357
	5	0	1091	1005
		167	631 (%42)	399 (%60)
	12	0	1091	1005
		101	445 (%59)	446 (%56)
	20	0	1091	1005
		73	189 (%83)	189 (%81)
Durultulmuş	-23	0	863	839
		334	862	1148
	5	0	863	839
		167	420 (%51)	315 (%63)
	12	0	863	839
		101	317 (%63)	357 (%57)
	20	0	863	839
		73	132 (%85)	130 (%85)
Durultulmamış (P)**	-23	0	593	551
		334	547 (%8)	757
	5	0	593	551
		167	317 (%47)	233 (%58)
	12	0	593	551
		101	202 (%66)	212 (%62)
	20	0	593	551
		73	102 (%83)	86 (%85)
Durultulmuş (P)**	-23	0	501	490
		334	469 (%6)	673
	5	0	501	490
		167	214 (%57)	197 (%60)
	12	0	501	490
		101	152 (%70)	183 (%63)
	20	0	501	490
		73	64 (%87)	102 (%79)

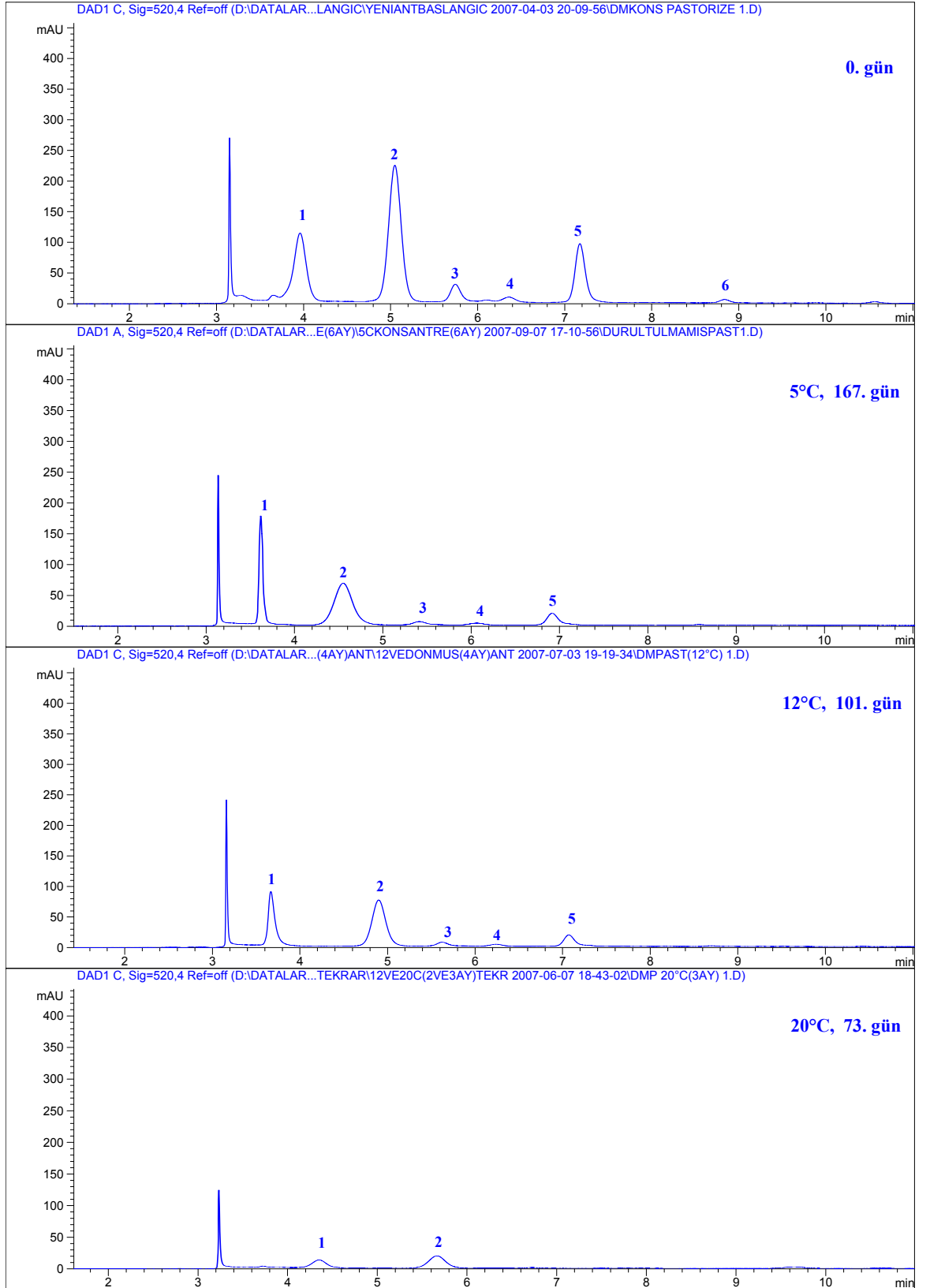
*: siyanidin-3-*O*-glukozit cinsinden; ** P: Pastörize edilmiş; ***: Parantez içindeki değerler depolama sonundaki “% antosiyanin kaybı” nı göstermektedir.



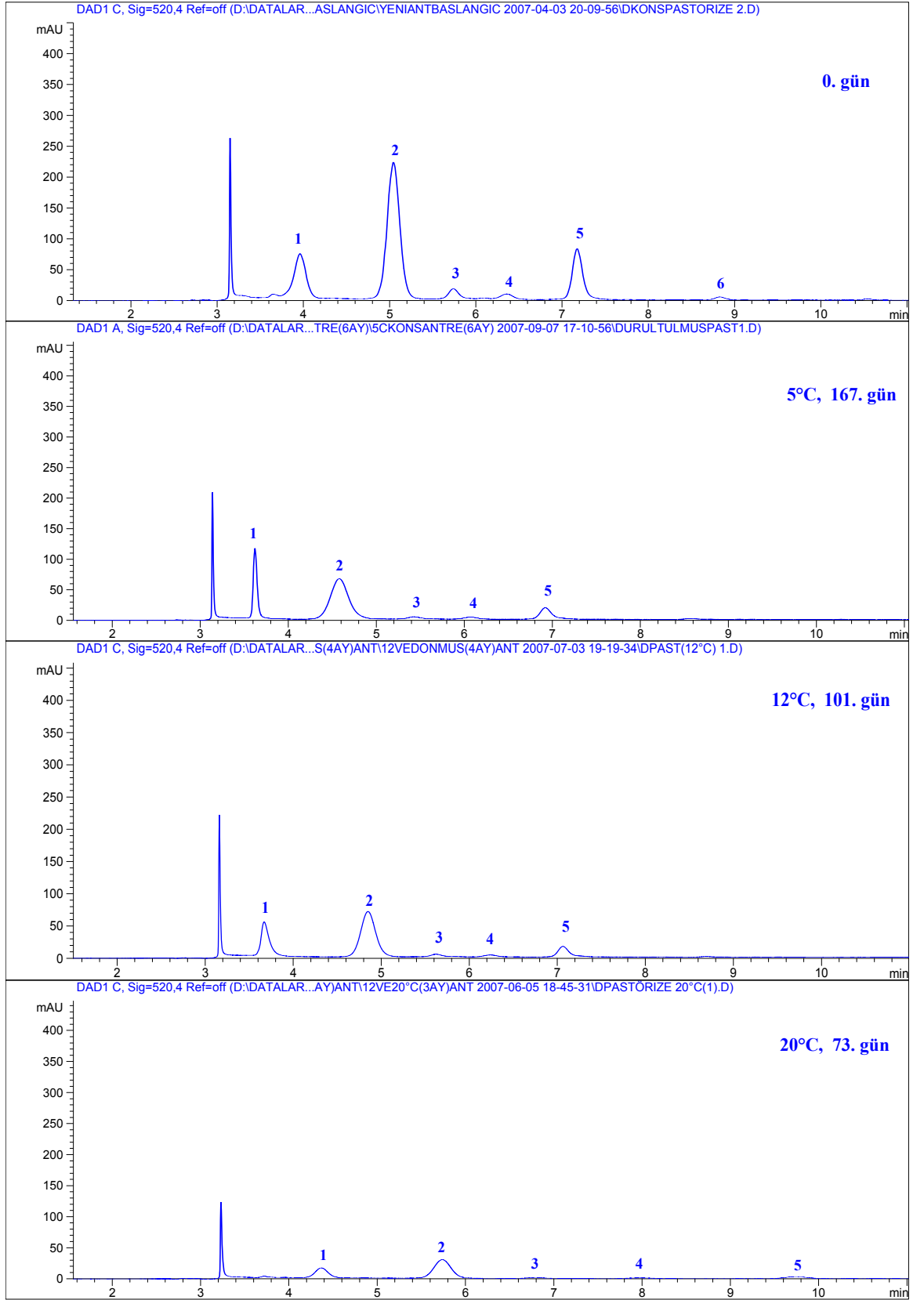
Şekil 4.13 5°C, 12°C ve 20°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



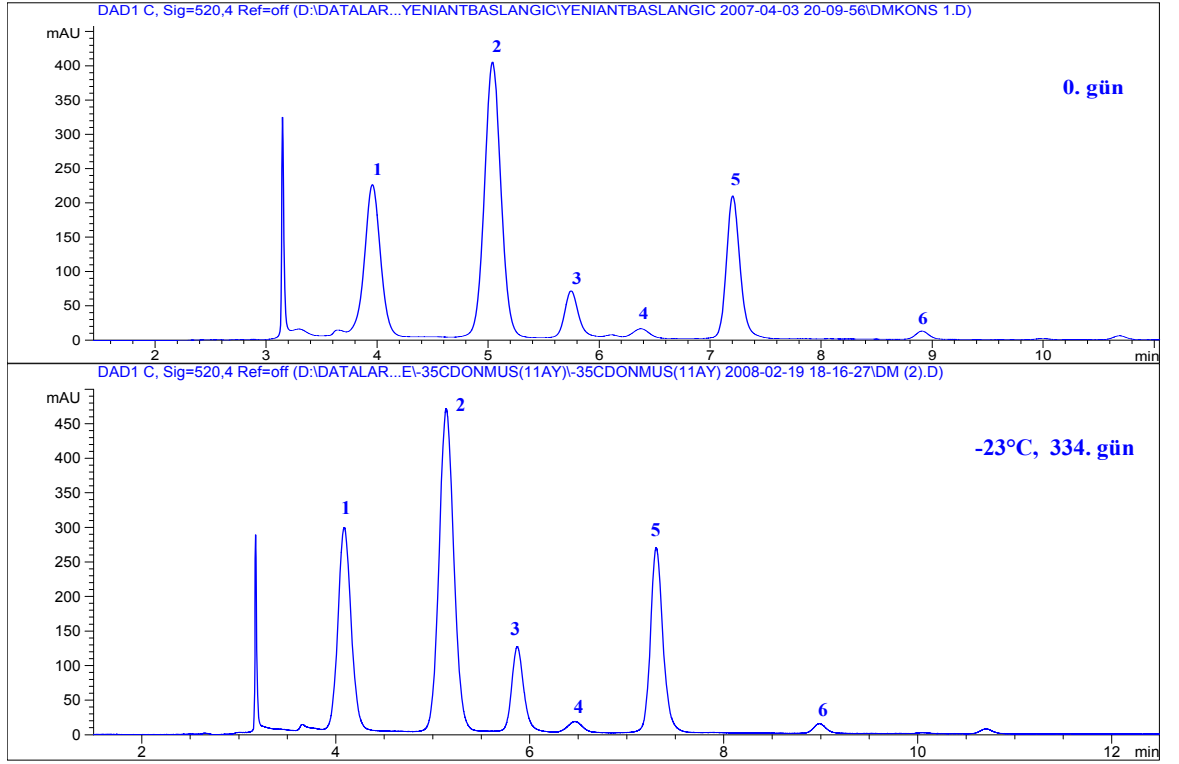
Şekil 4.14 5°C, 12°C ve 20°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyeninlerin HPLC kromatogramları



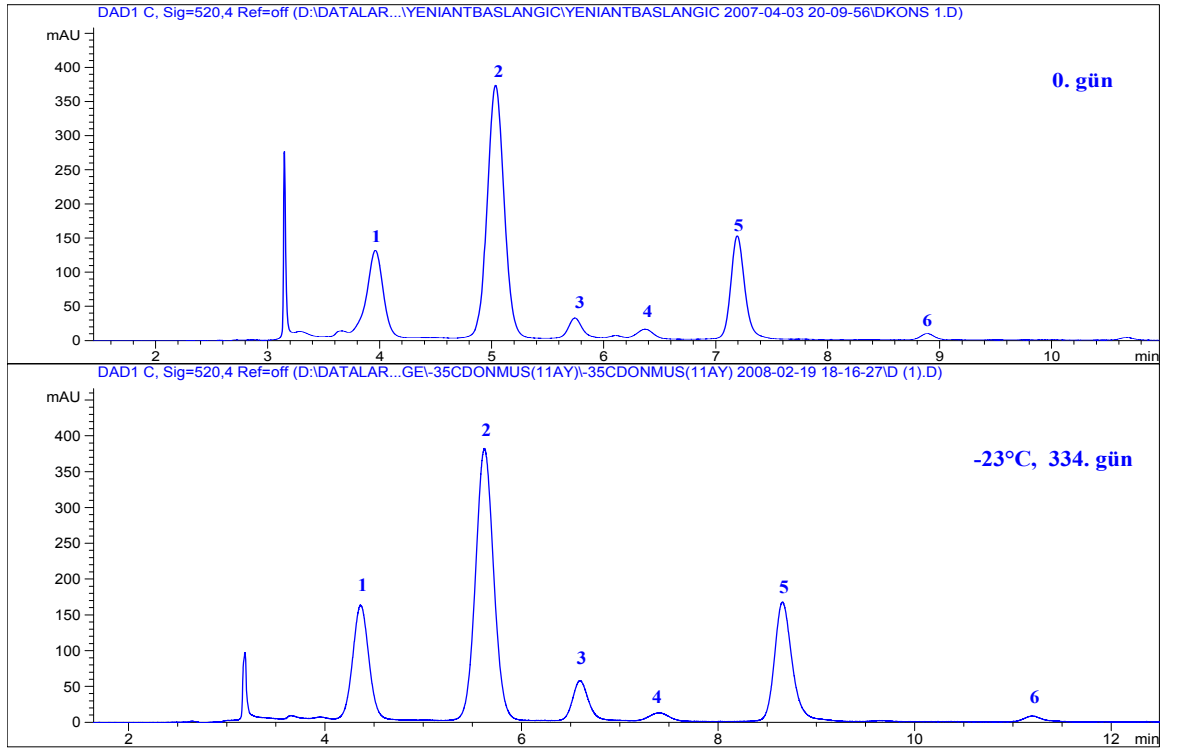
Şekil 4.15 5°C, 12°C ve 20°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



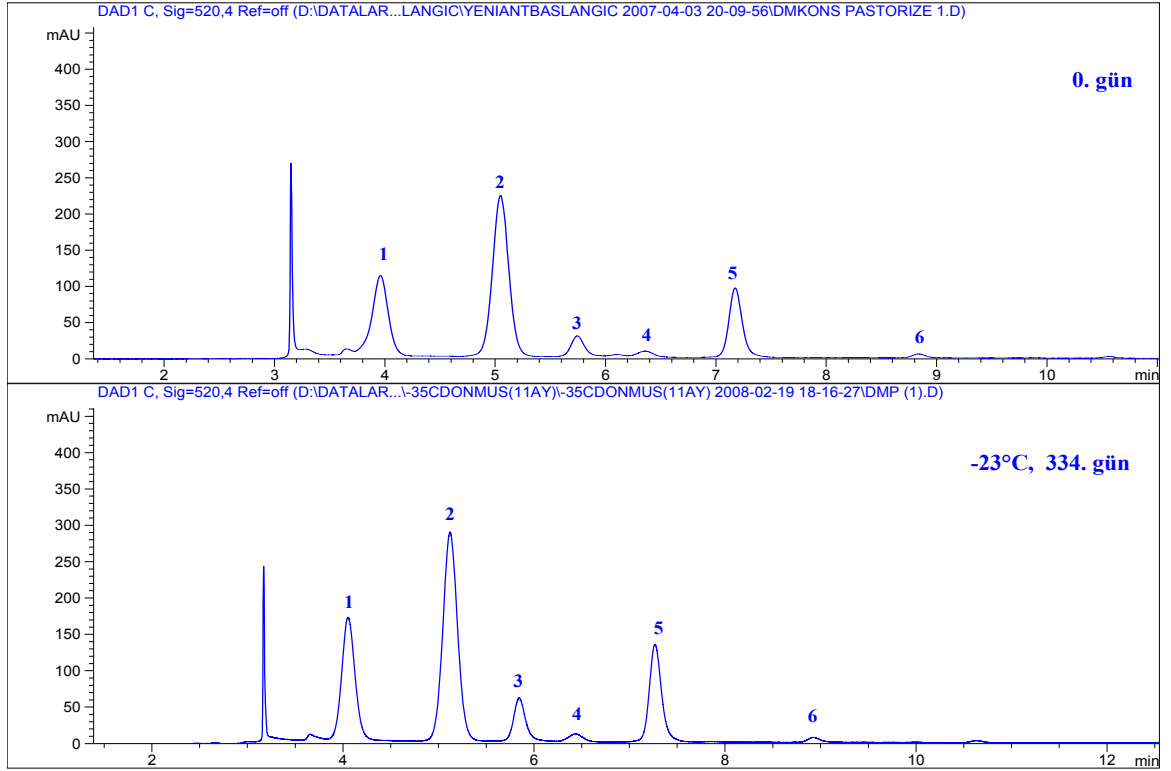
Şekil 4.16 5°C, 12°C ve 20°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



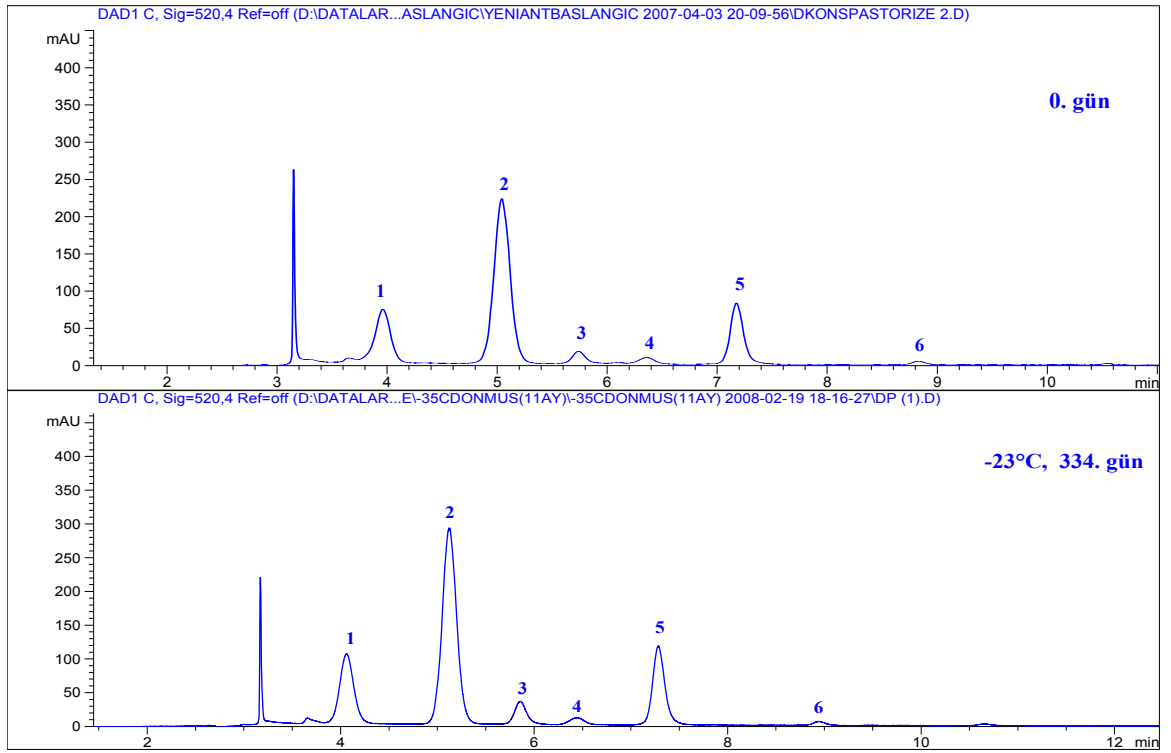
Şekil 4.17 –23°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



Şekil 4.18 –23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



Şekil 4.19 –23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC



Şekil 4.20 –23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC

Çizelge 4.16 Bütün meyveden elde edilen nar suyu konsantrelerinde pastörizasyon işleminden önce saptanan antosiyanin miktarları

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarları (mg kg ⁻¹)*					
			Dp-3,5-diglu**	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
<i>Durultulmamış</i>	5	0	15.8	31.6	7.5	1.2	13.8	1.0
		60	12.8	25.3	5.3	1.1	10.8	0.8
		116	12.3	22.3	5.0	0.5	10.4	0.6
		167	8.1 (%49)	12.9 (%59)	2.8 (%63)	0.4 (%67)	5.5 (%60)	0.2 (%80)
	12	0	15.8	31.6	7.5	1.2	13.8	1.0
		38	12.5	23.4	5.3	1.3	10.4	0.8
		73	8.9	14.6	3.2	0.7	7.5	0.4
		101	8.6 (%46)	13.5 (%57)	3.1 (%59)	0.4 (%67)	6.8 (%51)	0.3 (%70)
	20	0	15.8	31.6	7.5	1.2	13.8	1.0
		38	8.1	13.4	2.9	0.5	6.7	0.5
		73	3.9 (%75)	6.1 (%81)	1.9 (%75)	0.3 (%75)	3.6 (%74)	0 (%100)
<i>Durultulmuş</i>	5	0	10.6	31.3	3.9	1.1	11.2	1.0
		60	9.1	25.7	3.5	1.1	9.1	0
		116	8.0	21.1	3.5	1.2	8.5	0.4
		167	5.2 (%51)	11.4 (%64)	1.7 (%56)	0.5 (%55)	4.8 (%57)	0.2 (%80)
	12	0	10.6	31.3	3.9	1.1	11.2	1.0
		38	8.7	24.2	3.4	0.7	9.2	0
		73	6.0	13.2	2.0	0.6	5.4	0.2
		101	5.7 (%46)	12.5 (%60)	1.9 (%51)	0.6 (%45)	5.4 (%52)	0.4 (%60)
	20	0	10.6	31.3	3.9	1.1	11.2	1.0
		38	5.7	13.2	1.5	0.5	5.3	0
		73	3.1 (%71)	4.7 (%85)	0.6 (%85)	0.2 (%82)	2.8 (%75)	0 (%100)

*: Parantez içindeki değerler depolama sonundaki "% antosiyanin kaybı" nı göstermektedir.

** : Delfinidin-3,5-diglukozit'in miktarı, siyanidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

Çizelge 4.17 Bütün meyveden elde edilen nar suyu konsantrelerinde pastörizasyon işleminden sonra saptanan antosiyanin miktarları

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Antosiyanin miktarları (mg kg ⁻¹)*					
			Dp-3,5-diglu**	Cy-3,5-diglu	Dp-3-glu	Pg-3,5-diglu	Cy-3-glu	Pg-3-glu
<i>Durultulmamış</i>	5	0	9.3	19.2	3.1	0.7	7.4	0.4
		60	6.6	14.8	2.0	0.6	4.6	0.2
		116	7.6	14.0	2.1	0.7	3.9	0
		167	5.5 (%41)	8.6 (%55)	1.1 (%65)	0.4 (%43)	2.6 (%65)	0.1 (%75)
	12	0	9.3	19.2	3.1	0.7	7.4	0.4
		38	7.4	14.0	2.4	0.7	4.9	0.2
		73	5.3	9.3	1.2	0.2	2.9	0
		101	5.1 (%45)	7.8 (%59)	1.0 (%68)	0.3 (%57)	2.6 (%65)	0 (%100)
	20	0	9.3	19.2	3.1	0.7	7.4	0.4
		38	5.9	8.7	1.6	0.3	3.2	0
		73	2.5 (%73)	3.5 (%82)	0.4 (%87)	0.1 (%86)	1.8 (%76)	0 (%100)
<i>Durultulmuş</i>	5	0	6.6	19.1	1.8	0.8	6.8	0.2
		60	5.1	14.7	1.3	0.5	4.2	0.2
		116	5.0	12.3	1.3	0.8	3.8	0
		167	4.0 (%39)	7.8 (%59)	0.8 (%56)	0.6 (%25)	2.7 (%60)	0.1 (%50)
	12	0	6.6	19.1	1.8	0.8	6.8	0.2
		38	5.5	13.8	1.1	0.7	4.2	0.2
		73	3.5	8.2	1.0	0.4	2.5	0
		101	3.9 (%41)	7.6 (%60)	0.6 (%67)	0.3 (%63)	2.5 (%63)	0 (%100)
	20	0	6.6	19.1	1.8	0.8	6.8	0.2
		38	4.2	8.2	0.6	0.3	2.9	0
		73	2.7 (%59)	4.4 (%77)	0.3 (%83)	0.1 (%88)	1.9 (%72)	0 (%100)

*: Parantez içindeki değerler depolama sonundaki "% antosiyanin kaybı" nı göstermektedir.

** : Delfinidin-3,5-diglukozit'in miktarı, siyanidin-3-glukozit cinsinden hesaplanmıştır.

4.8 Recovery (Geri Kazanım) Testi

Nar suyu konsantrelerinde antosiyaninler için yapılan recovery değerleri Çizelge 4.18’de verilmiştir. Çizelge 4.18’de verilen değerler incelendiğinde, nar suyu konsantresinde antosiyaninler için %61–95 arasında recovery değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 4.18 Nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerin geri kazanımları

Antosiyanin standardı	Örnek miktarı (g)	Örnekteki antosiyanin miktarı (mg)	Eklenen antosiyanin miktarı (mg)	Hesaplanan antosiyanin miktarı (mg)	Recovery (%)	Recovery ortalaması (%)*
Cy-3,5-diglu	1.0226	0.604	0.590	1.071	79.2	79.2
	1.0035	0.592	0.295	0.832	81.4	78.8
	1.0035	0.592	0.295	0.817	76.3	
Dp-3-glu	1.0226	0.135	0.132	0.229	71.2	71.2
	1.0035	0.133	0.066	0.195	93.9	84.1
	1.0035	0.133	0.066	0.182	74.2	
Pg-3,5-diglu	1.0226	0.0270	0.0266	0.0465	73.3	73.3
	1.0035	0.0265	0.0133	0.0347	61.7	61.3
	1.0035	0.0265	0.0133	0.0346	60.9	
Cy-3-glu	1.0226	0.244	0.239	0.450	86.2	86.2
	1.0035	0.239	0.119	0.360	101.7	95.4
	1.0035	0.239	0.119	0.345	89.1	
Pg-3-glu	1.0226	0.0119	0.0116	0.0208	76.7	76.7
	1.0035	0.0116	0.0058	0.0166	86.2	81.9
	1.0035	0.0116	0.0058	0.0161	77.6	

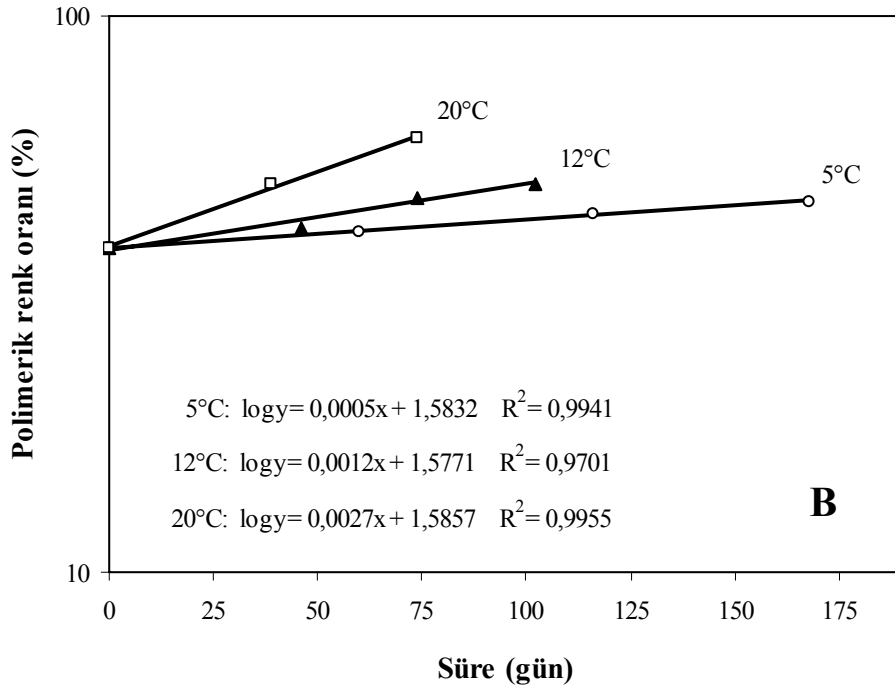
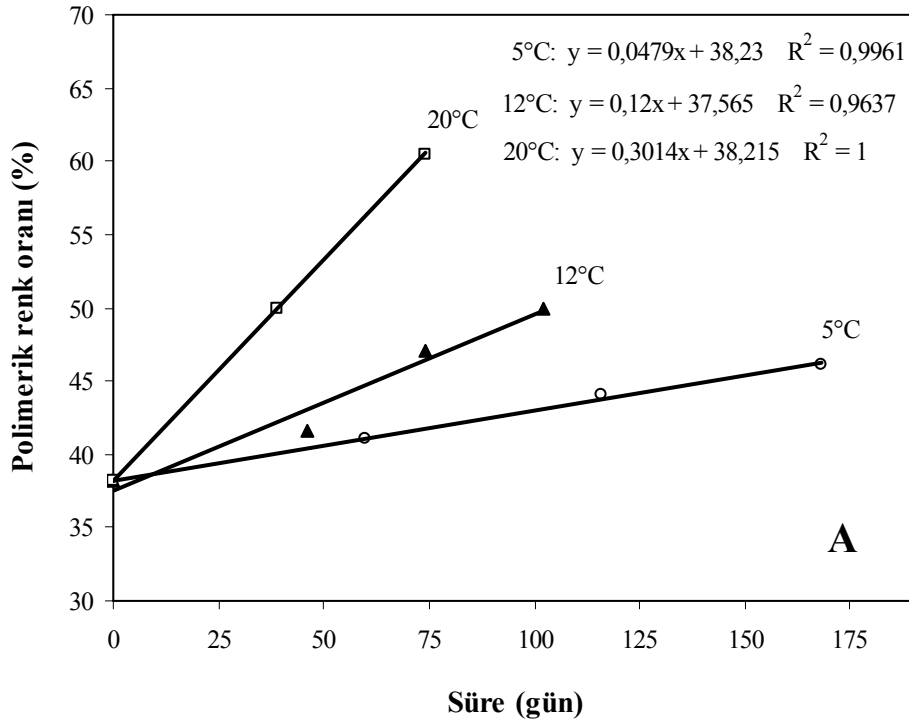
*Recovery değerleri, aritmetik ortalama±varyasyon katsayısı olarak verilmiştir.

Nar suyu konsantrelerinde başat antosiyanin olan Cy-3,5-glu'in her iki konsantrasyonda da yaklaşık %79 oranında geri kazanımının olduğu belirlenmiştir. Bir antosiyanin dışında (Pg-3,5-diglu), %70–95 arasında elde edilen recovery değerleri, antosiyaninlerin analiz sürecindeki kayıplarının kabul edilebilir düzeylerde olduğunu göstermektedir.

4.9 Nar Suyu Konsantrelerinin Polimerik Renk Oranındaki Değişimler

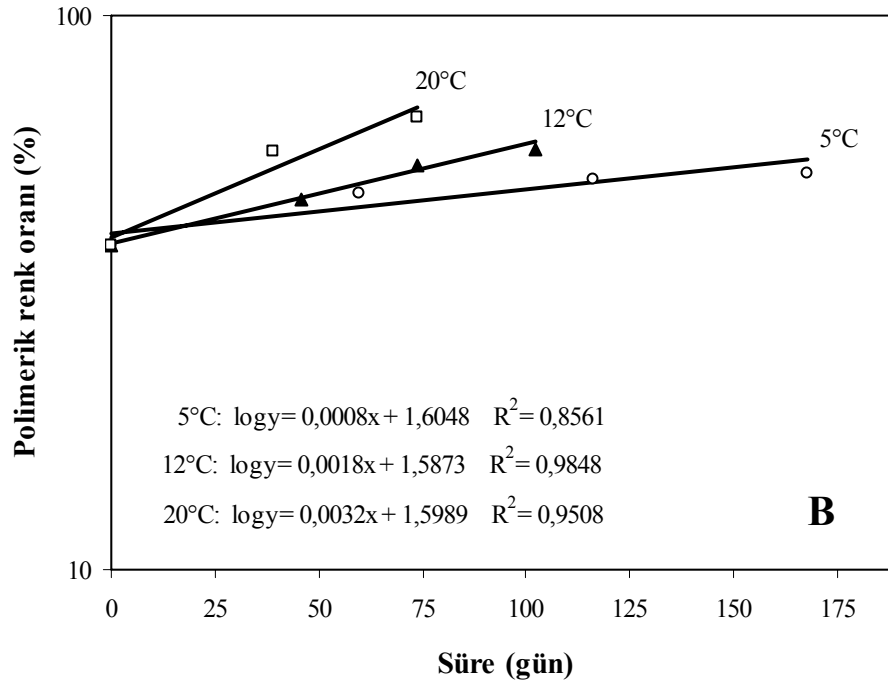
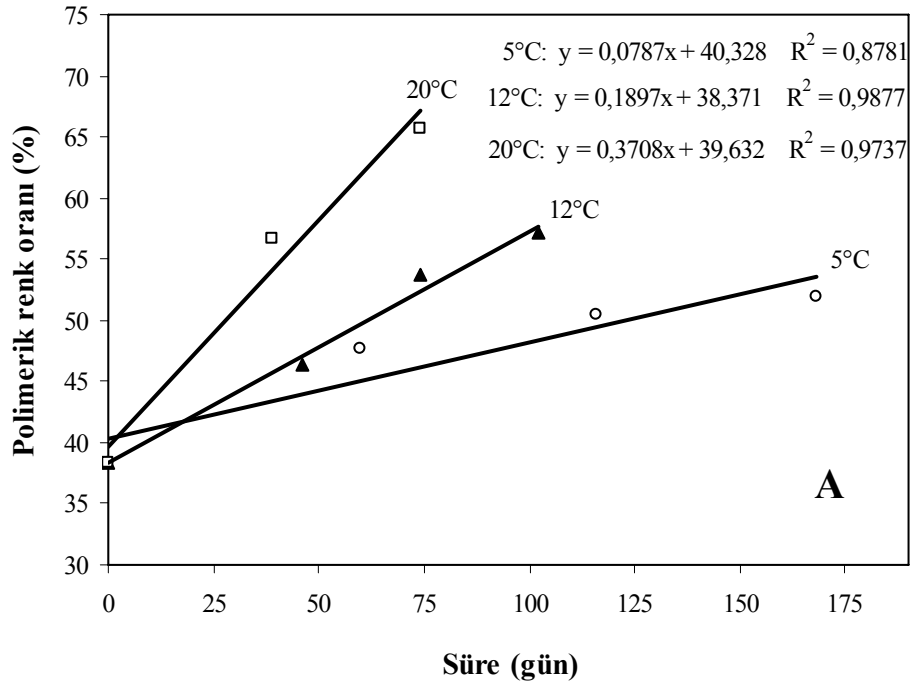
Farklı depolama sıcaklıklarında, nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranındaki değişimlere ilişkin veriler, durultulmamış nar suyu konsantreleri için Şekil 4.21'de, durultulmuşlar için Şekil 4.22'de, durultulmadan pastörize edilmişler için Şekil 4.23'de ve durultulup pastörize edilmişler için ise Şekil 4.24'de verilen grafiklerde gösterilmiştir. Görüldüğü gibi durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilen ve pastörizasyon işlemi uygulanmış veya uygulanmamış konsantrelerin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranına ilişkin orijinal deney verileri herhangi bir transformasyon işlemi yapılmadan doğrudan hem aritmetik bir grafik kağıdının "y" eksenine ve hem de 10 tabanına göre düzenlenmiş yarı-logaritmik bir grafik kağıdının logaritmik ölçekli "y" eksenine, süreler ise doğrudan aritmetik ölçekli "x" eksenine işlenerek her iki grafik kağıdında da doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Bu durum R^2 değerleri karşılaştırıldığında, nar suyu konsantresi antosiyaninlerinin depolama süresince polimerik renk oranındaki değişimin hem sıfıncı ve hem de birinci derece kinetik modele uyduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte, kinetik verilerin hesaplanmasında birinci dereceden kinetik model esas alınmıştır.

Nar suyu konsantrelerinin 5°C, 12°C ve 20°C'lerde depolanması süresince polimerik renk oranındaki artışa ilişkin kinetik parametreler Şekil 4.21–4.24'den elde edilen eğrileri tanımlayan eşitliklerden hesaplanmış ve Çizelge 4.19'da gösterilmiştir. Kinetik veriler incelenince, beklenildiği gibi sıcaklık yükselmesi ile bütün örneklerde monomerik antosiyaninlerin parçalanmasının ve esmer pigmentlerin oluşumunun hızlandığını, yani doğal rengin bozulduğu görülmektedir. Örneğin, durultulmamış nar suyu konsantresi ele alınırsa, 5°C'de polimerik renk oranına ilişkin reaksiyon hız sabiti (k) 0.00115 gün⁻¹ iken, 12°C'de bu değer 0.00276 gün⁻¹'e ve 20°C'de ise 0.00622 gün⁻¹ yükselmiştir.

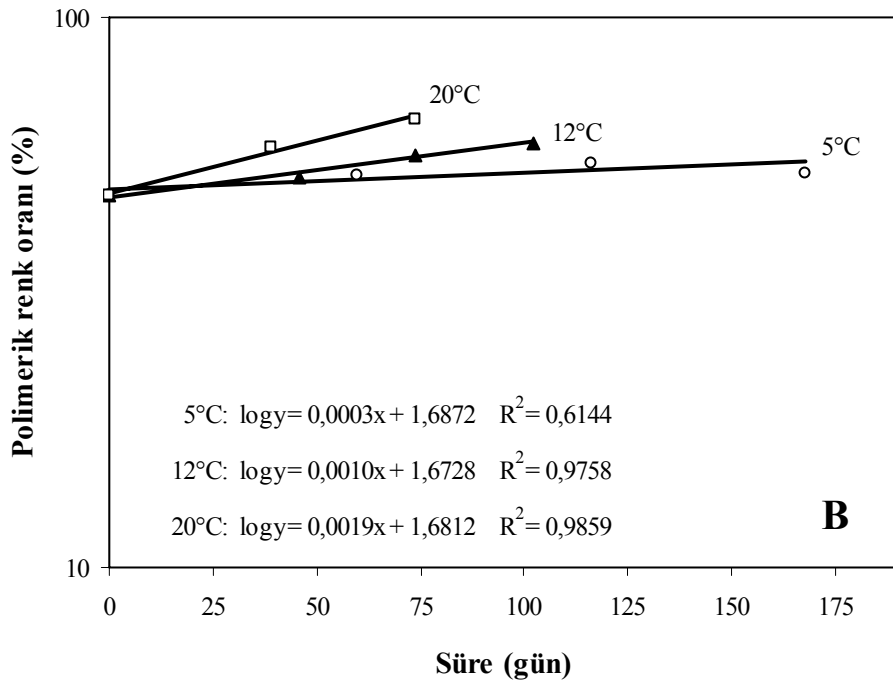
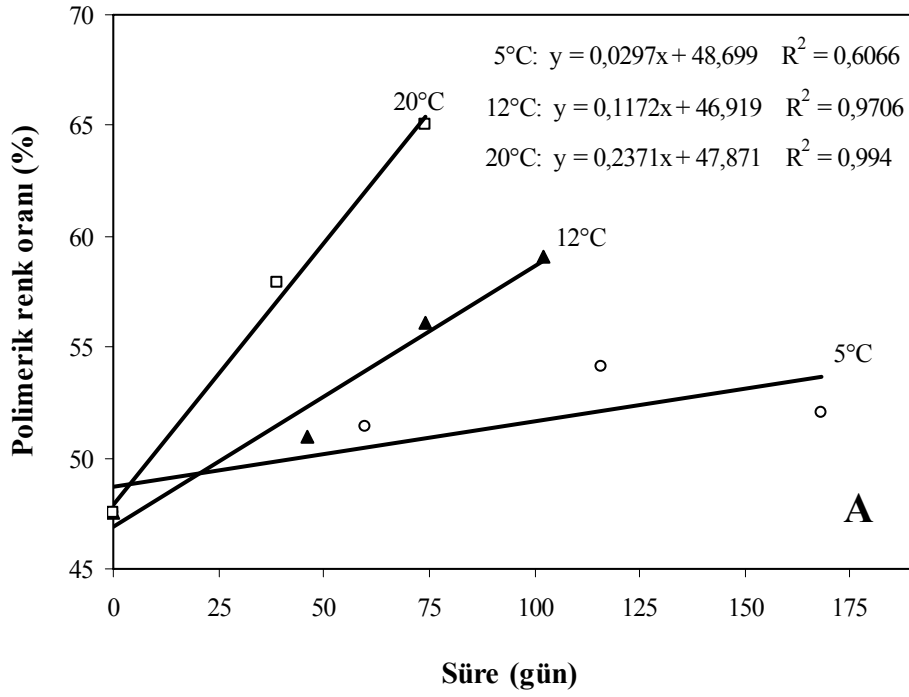


Şekil 4.21 Durultulmamış nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler

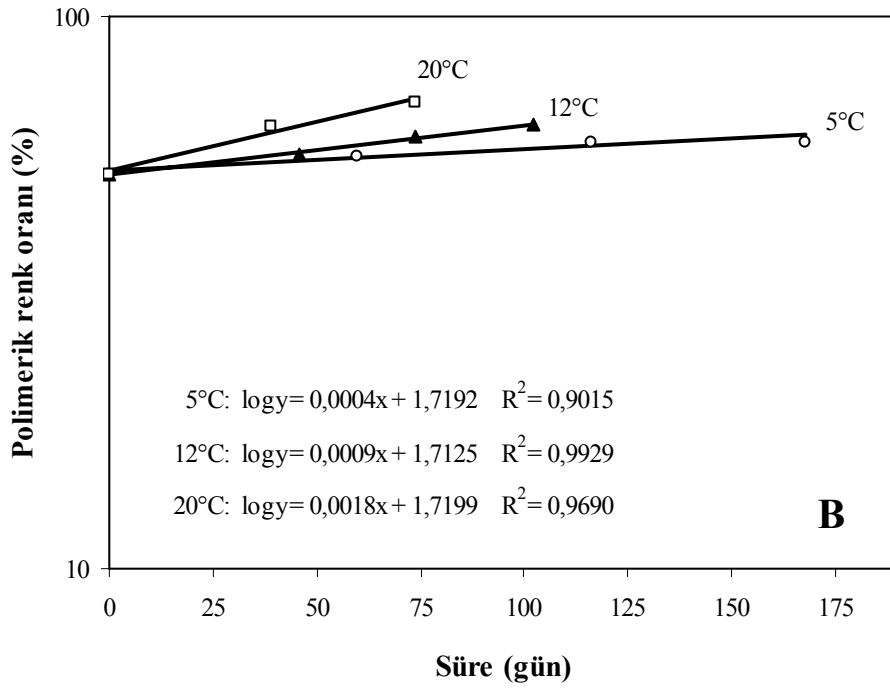
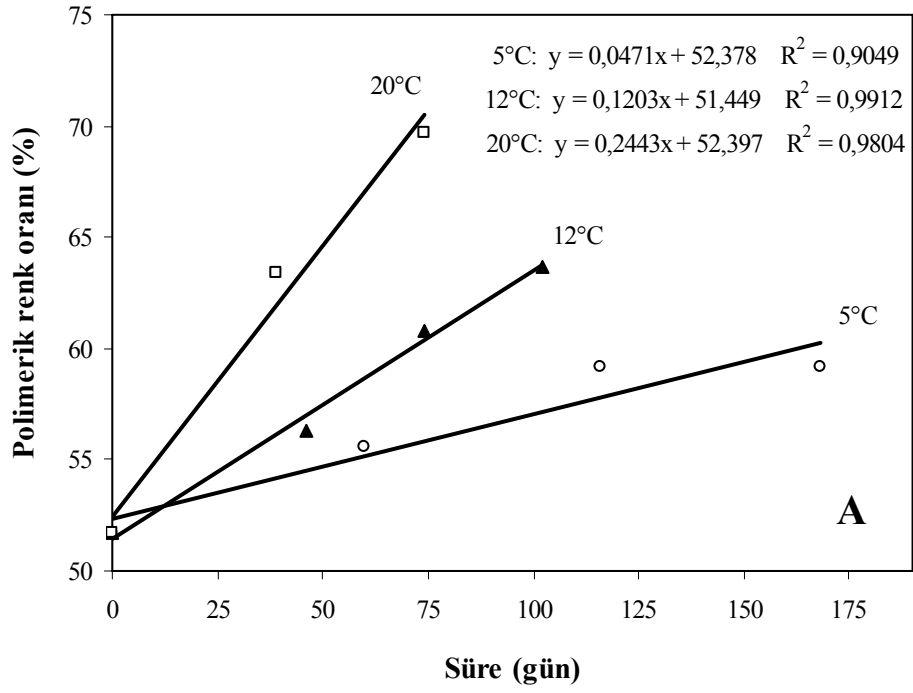
A: Linear **B:** Logaritmik



Şekil 4.22 Durultulmuş nar suyundan elde edilen konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler
A: Linear **B:** Logaritmik



Şekil 4.23 Durultulmamış nar suyundan elde edilmiş ve pastörize edilmiş konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler
A: Linear **B:** Logaritmik



Şekil 4.24 Durultulmuş nar suyundan elde edilmiş ve pastörize edilmiş konsantre örneklerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişimler
A: Linear **B:** Logaritmik

Durultulmuş nar suyu konsantresi ile durultulmamış nar suyu konsantresinde polimerik renk oranı için hesaplanan "k" değerleri kıyaslandığında, depolama süresince durultulmamış nar suyu konsantresinde polimerik renk oluşumunun daha yavaş gerçekleştiği saptanmıştır. Depolama sıcaklık ve süresine bağlı olarak polimerik renk oranındaki artış ile antosiyanin kaybının paralellik gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.19 Durultulmuş ve durultulmamış nar sularından elde edilen konsantrelerin pastörizasyondan önce ve sonra farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında polimerik renk oranına ilişkin kinetik parametreler

Sıcaklık (°C)	–k x 10 ³ (gün ^{–1})	Q ₁₀ (5°–20°C)	E _a (kJ mol ^{–1})
Durultulmamış			
5	1.15 (0.9941)	3.08	76
12	2.76 (0.9701)		
20	6.22 (0.9955)		
Durultulmuş			
5	1.84 (0.8561)	2.52	62
12	4.15 (0.9848)		
20	7.37 (0.9508)		
Durultulmamış (P)*			
5	0.69 (0.6144)	3.43	83
12	2.30 (0.9758)		
20	4.38 (0.9859)		
Durultulmuş (P)*			
5	0.92 (0.9015)	2.73	68
12	2.07 (0.9929)		
20	4.15 (0.9690)		

* P: Pastörize edilmiş

Nar suyu konsantrelerinde depolama süresince polimerik renk oranındaki artışın sıcaklığa bağlılığının saptanması amacıyla aktivasyon enerjisi (E_a) ve Q_{10} değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.19). Arrhenius grafiğinin oluşumuna ilişkin veriler EK 2’de

(Çizelge 2), Arrhenius grafiği ise EK 3’de (Şekil 3 ve 4) verilmiştir. Nar suyu konsantrelerinde, polimerik renk oranındaki artışa ilişkin 5°C–20°C sıcaklık aralığında hesaplanan aktivasyon enerjisi değerleri; durultulmuş örnekler için 62 kJ mol⁻¹, durultulmamış örnekler için bu değer 76, durultulmuş pastörize örnekler için 68 ve durultulmamış pastörize örnekler için ise 83 kJ mol⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.19). Daha büyük E_a ve Q₁₀ değerleri, durultulmamış örneklerde polimerik renk oranındaki artışın durultulmuş örneklerdekine göre sıcaklık değişimlerinden daha fazla etkilendiğini göstermektedir.

Çizelge 4.20’de görüldüğü gibi, durultma ve pastörizasyon işlemleri polimerik renk oranında önemli artışa neden olmuştur. Örneğin, 12°C’de depolanan durultulmamış konsantrelerde polimerik renk oranı %50 iken, durultulmuş konsantrelerde %57, durultulmamış ve pastörize edilmişlerde %59 ve durultulmuş ve pastörize edilmişlerde ise %64 olarak saptanmıştır. Benzer şekilde, depolama sıcaklığı arttıkça polimerik renk oranı da artırmaktadır. Örneğin; 5°C, 12°C ve 20°C’de 73 gün süreyle depolanan durultulmuş konsantrelerde polimerik renk oranı sırasıyla, %46, %52 ve %66 olarak bulunmuştur. Gerek pastörizasyon işleminin gerekse de yüksek sıcaklıklarda depolamanın polimerik renk oranını artırması yüksek sıcaklıklarda, bir yandan antosiyaninlerin daha hızlı parçalanmasına, bir yandan da esmer renk oluşumuna bağlanabilir. Buna karşın, durultma işleminin polimerik renk oranını ne şekilde artırdığı ise anlaşılamamıştır.

5°C, 12°C ve 20°C’de depolanan nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranları için yapılan varyans analizi sonuçları (Çizelge 4.21, 4.22 ve 4.23), "durultma × pastörizasyon × süre" üçlü interaksiyonunun istatistik olarak önemli olduğunu göstermiştir (p<0.05). Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Üçlü interaksiyon önemli olduğu için ikili interaksiyonları incelemeye gerek duyulmamıştır. Üçlü interaksiyonun önemli olması, durultma işleminin pastörizasyon işlemi ile birlikte etkisinin sürelerle göre değiştiğini, durultma işleminin sürelerle göre birlikte etkisinin pastörizasyon işlemine göre değiştiğini ve aynı şekilde pastörizasyon işleminin sürelerle göre birlikte etkisinin durultma işlemine göre değiştiğini göstermektedir. Duncan testi sonuçlarına göre;

Çizelge 4.20 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin durultma ve pastörizasyon işlemlerinden önce ve sonra saptanan parçalanma ölçütlerindeki değişimler

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Renk yoğunluğu	Polimerik renk	Polimerik renk oranı (%)
Durultulmamış	-23	0	17.86	6.82	38
		334	19.03	5.98	31
	5	0	17.86	6.82	38
		167	18.38	8.47	46
	12	0	17.86	6.82	38
		101	16.38	8.15	50
	20	0	17.86	6.82	38
		73	15.48	9.37	61
Durultulmuş	-23	0	17.89	6.89	39
		334	19.26	6.87	37
	5	0	17.89	6.89	39
		167	17.93	9.32	52
	12	0	17.89	6.89	39
		101	15.86	9.06	57
	20	0	17.89	6.89	39
		73	15.03	9.88	66
Durultulmamış (P)*	-23	0	14.96	7.10	48
		334	17.33	7.62	44
	5	0	14.96	7.10	48
		167	19.60	10.19	52
	12	0	14.96	7.10	48
		101	16.09	9.50	59
	20	0	14.96	7.10	48
		73	18.13	11.79	65
Durultulmuş (P)*	-23	0	16.83	8.69	52
		334	17.83	8.55	48
	5	0	16.83	8.69	52
		167	18.57	11.00	59
	12	0	16.83	8.69	52
		101	16.77	10.68	64
	20	0	16.83	8.69	52
		73	17.49	12.18	70

* P: Pastörize edilmiş

5°C (EK 1, Çizelge 13, 14 ve 15), 12°C (EK 1, Çizelge 16, 17 ve 18) ve 20°C’de (EK 1, Çizelge 19, 20 ve 21) depolanmış nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranları arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$). Ayrıca, nar suyu konsantrelerinin polimerik renk oranları üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin önemli bir etkisinin olduğu ve ortalamalar arasındaki farkların istatistik olarak önemli olduğu da belirlenmiştir ($p<0.01$).

Çizelge 4.21 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	193.723	193.723	715.18	0.000
Pastörizasyon	1	659.838	659.838	2435.97	0.000
Süre	3	359.895	359.895	442.88	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	0.514	0.514	1.90	0.187
Durultma x süre	3	21.512	7.171	26.47	0.000
Pastörizasyon x süre	3	22.509	7.503	27.70	0.000
Durultma x pastörizasyon x süre	3	11.352	3.784	13.97	0.000**
Hata	16	4.334	0.271		
Genel toplam	31	1273.677			

** : $p<0.01$

Çizelge 4.22 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	180.69	180.69	286.84	0.000
Pastörizasyon	1	682.74	682.74	1083.79	0.000
Süre	3	858.82	858.82	454.44	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	0.00	0.00	0.00	0.945
Durultma x süre	3	18.33	6.11	9.70	0.001
Pastörizasyon x süre	3	14.94	4.98	7.90	0.002
Durultma x pastörizasyon x süre	3	13.38	4.46	7.08	0.003**
Hata	16	10.08	0.63		
Genel toplam	31	1778.99			

** : $p<0.01$

Çizelge 4.23 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin varyans analiz çizelgesi

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Durultma	1	115.69	115.69	249.83	0.000
Pastörizasyon	1	345.23	345.23	745.50	0.000
Süre	2	1847.66	923.83	1994.95	0.000
Durultma x pastörizasyon	1	0.79	0.79	1.70	0.217
Durultma x süre	2	15.80	7.90	17.06	0.000
Pastörizasyon x süre	2	50.52	25.26	54.55	0.000
Durultma x pastörizasyon x süre	2	7.97	3.99	8.61	0.005**
Hata	12	5.56	0.46		
Genel toplam	23	2389.23			

** : $p < 0.01$

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

4.10 Nar Suyu Konsantrelerinin Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler

Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince renklerinde oluşan değişimler, materyalin renginin reflektans spektrofotometresi ile CIE L^* , a^* , b^* , C^* (kroma) ve h° (hue) değerlerinin ölçülmesi ile izlenmiştir. Bu ölçümlere ilişkin veriler Çizelge 4.24’de verilmiştir.

Renk ölçümleri, nar suyu konsantreleri damıtık suyla doğal nar suyu briksine seyreltildikten sonra yapılmıştır. Çizelge 4.24’de görüldüğü gibi, durultulduktan sonra konsantre edilen örneklerin L^* değerlerinde durultulmadan konsantre edilen örneklerle göre 10 birimlik bir artış gözlenmiştir. Daha önce de değinildiği gibi, L^* değerinde gözlenen bu artış, durultma işlemi ile esmer pigmentlerin uzaklaştığını göstermektedir. Benzer artışlar, a^* , b^* , C^* ve h° değerlerinde de saptanmıştır. Durultulan nar sularından elde edilen konsantrelerin h° değerlerinde yaklaşık 7° ’lik artışlar saptanmıştır. Durultulmuş ve durultulmamış örnekler arasındaki bu farklılığın, muhtemelen durultulmamış örneklerdeki bulanıklık unsurlarının renk ölçümüne olumsuz etkisinden kaynaklandığı sanılmaktadır.

Pastörize edilen konsantre örneklerinin L^* ve h° değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Buna karşın pastörizasyon işlemi sonunda, örneklerin hem a^* ve hem de b^* değerlerinde önemli azalışlar saptanmıştır. a^* ve b^* değerlerinde aynı oranlarda azalış saptandığı için bu değerlerdeki azalışlar h° değerine yansımamıştır. Gerek spektrofotometrik gerekse de HPLC yöntemleri ile yapılan analizler, pastörizasyon işleminin antosiyaninlerin parçalanmasını hızlandırdığını göstermiştir. Bu nedenle pastörize edilen örneklerde antosiyaninlerin parçalanması, h° değerinden çok, a^* değerindeki azalma ve b^* değerindeki artışla izlenmiştir.

Depolama süresince -23°C ’de depolanan örneklerin reflektans renk değerlerinde bir değişim gözlenmemiştir. Buna karşın 20°C ’de, 73 gün gibi kısa bir depolama süresi sonunda bile h° değerlerinde yaklaşık 4 birimlik bir artış saptanmıştır. 5°C ve 12°C ’de depolanan örneklerde ise, h° değerlerinde bir değişim gözlenmezken, kırmızılığın diğer

Çizelge 4.24 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin reflektans renk değerleri

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	L*	a*	b*	C*	h°
Durultulmamış	-23	0	17.37	44.80	29.71	53.76	33.55
		334	16.94	44.83	28.89	53.33	32.80
	5	0	17.37	44.80	29.71	53.76	33.55
		167	17.95	44.88	30.50	54.24	34.20
	12	0	17.37	44.80	29.71	53.76	33.55
		101	17.98	44.00	30.41	53.49	34.65
	20	0	17.37	44.80	29.71	53.76	33.55
		73	19.53	42.59	32.39	53.51	37.25
Durultulmuş	-23	0	28.97	56.20	48.43	74.19	40.75
		334	28.35	56.32	47.49	73.66	40.14
	5	0	28.97	56.20	48.43	74.19	40.75
		167	28.77	53.67	46.63	71.10	40.98
	12	0	28.97	56.20	48.43	74.19	40.75
		101	29.01	52.28	46.25	69.81	41.50
	20	0	28.97	56.20	48.43	74.19	40.75
		73	30.56	47.40	46.51	66.41	44.45
Durultulmamış (P)*	-23	0	16.01	42.07	27.20	50.10	33.88
		334	16.61	43.19	28.19	51.57	33.13
	5	0	16.01	42.07	27.20	50.10	33.88
		167	15.28	40.91	25.91	48.42	32.35
	12	0	16.01	42.07	27.20	50.10	33.88
		101	15.47	40.30	26.18	48.05	33.01
	20	0	16.01	42.07	27.20	50.10	33.88
		73	15.78	38.84	26.53	47.04	34.34
Durultulmuş (P)*	-23	0	27.28	51.86	44.87	68.57	40.86
		334	27.00	52.72	44.39	68.92	40.10
	5	0	27.28	51.86	44.87	68.57	40.86
		167	26.18	49.18	42.42	64.95	40.78
	12	0	27.28	51.86	44.87	68.57	40.86
		101	26.26	47.41	42.50	63.67	41.87
	20	0	27.28	51.86	44.87	68.57	40.86
		73	26.97	44.28	43.42	62.02	44.43

* P: Pastörize edilmiş

bir ölçüsü olan a^* değerlerinde ise, depolama sonunda 1–4 birim arasında azalmalar bulunmuştur. Bu sonuçlar, en hızlı antosiyanin parçalanmasının, yani kırmızı-viole renk kaybının 20°C’de depolanan konsantrelerde olduğunu göstermiştir.

4.11 Nar Suyu Konsantrelerinin Briks, pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler

Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin depolama başlangıç ve sonundaki briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.25’de verilmiştir. Depolama süresince, nar suyu konsantrelerinin briks ve pH değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiş, titrasyon asitliğinde ise az da olsa bir düşüş gözlenmiştir. Örneğin, 5°C’de 167 gün depolama sonunda, durultulmamış nar suyu konsantrelerinin titrasyon asitliği değerleri 6.23 mg 100 g⁻¹’den 6.10’a, durultulmuş olanlar 6.16 mg 100 g⁻¹’den 5.95’e, durultulmamış ve pastörize edilmiş olanlar 6.13 mg 100 g⁻¹’den 6.10’a ve durultulmuş ve pastörize edilmiş olanlar ise, 6.08 mg 100 g⁻¹’den 5.96’a düşmüştür. Depolama sıcaklığı arttıkça, titrasyon asitliği değerlerinde daha fazla azalış saptanmıştır. Nar suyu konsantreleri 20°C’de daha kısa süre depolanmasına karşın titrasyon asitliği değerleri 5° ve 12°C’de depolananlar ile kıyaslandığında, daha fazla düşmüştür.

Çizelge 4.25 Farklı sıcaklıklarda depolanan nar suyu konsantrelerinin briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri

Nar suyu konsantresi	Sıcaklık (°C)	Depolama süresi (gün)	Briks (%)	pH	Titrasyon asitliği* (mg 100 g ⁻¹)
Durultulmamış	-23	0	69.3	3.31	6.23
		334	69.1	3.22	6.18
	5	0	69.3	3.31	6.23
		167	69.3	3.34	6.10
	12	0	69.3	3.31	6.23
		101	69.2	3.35	6.29
	20	0	69.3	3.31	6.23
		73	69.4	3.37	5.86
Durultulmuş	-23	0	68.9	3.32	6.16
		334	69.0	3.23	6.21
	5	0	68.9	3.32	6.16
		167	68.9	3.35	5.95
	12	0	68.9	3.32	6.16
		101	68.9	3.34	6.14
	20	0	68.9	3.32	6.16
		73	68.7	3.35	5.81
Durultulmamış (P)**	-23	0	68.3	3.32	6.13
		334	67.9	3.26	6.05
	5	0	68.3	3.32	6.13
		167	69.2	3.35	6.10
	12	0	68.3	3.32	6.13
		101	69.1	3.36	6.09
	20	0	68.3	3.32	6.13
		73	69.1	3.37	5.95
Durultulmuş (P)**	-23	0	68.7	3.32	6.08
		334	68.5	3.24	6.05
	5	0	68.7	3.32	6.08
		167	68.7	3.36	5.96
	12	0	68.7	3.32	6.08
		101	68.9	3.36	6.17
	20	0	68.7	3.32	6.08
		73	68.8	3.38	5.86

*: susuz sitrik asit cinsinden

** P: Pastörize edilmiş

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmada elde edilen başlıca sonuçlar, rakamsal değerlerden arındırılarak aşağıda maddeler halinde özetle sunulmuştur.

1. Nar ham suyu depektinize edilmeden, sadece jelatin kullanarak "soğuk durultma" tekniği ile mükemmel düzeyde durultulabilmektedir.
2. Durultma ve pastörizasyon işlemlerinin nar sularının pH ve titrasyon asitliği üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.
3. Durultmada kullanılan jelatinin, beklendiği gibi antosiyanin kaybına neden olduğu belirlenmiştir. Danelerden ve bütün meyvenin preslenmesiyle elde edilen durultulmuş nar sularının antosiyanin miktarlarında bir miktar farklılık saptanmış, bu farklılığın da bu meyve sularının durultulmasında kullanılan farklı jelatin dozajından kaynaklandığı sonucuna ulaşılmıştır.
4. Durultmada olduğu gibi, uygulanan pastörizasyon işleminin de, antosiyaninler üzerine olumsuz etkisinin olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, pastörizasyon işleminin antosiyaninler üzerine bu olumsuz etkisinin, denemelerde zorunlu olarak uygulanan "düşük sıcaklıkta uzun süre" (LTLT, Low Temperature Long Time) uygulanan pastörizasyon işlemi ile hızlandığı sanılmaktadır. LTLT işleminin antosiyaninler üzerine olumsuz etkisini sınırlandırmak için, "yüksek sıcaklıkta kısa süre" (HTST, High Temperature Short Time) pastörizasyon işlemi uygulanmalıdır.
5. Spektrofotometre ve HPLC ile yapılan toplam antosiyanin miktarının ölçümlerinde genelde birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir.
6. Nar suyu ve konsantrelerinde HPLC yöntemi ile 6 farklı antosiyanin (Cy-3-glu, Cy-3,5-diglu, Dp-3-glu, Dp-3,5-diglu, Pg-3-glu ve Pg-3,5-diglu) tanımlanmıştır.

7. Nar sularında başat antosiyaninin, Cy-3,5-diglu (%56) olduğu belirlenmiştir. Cy-3,5-diglu dışında, diğer önemli antosiyaninin Cy-3-glu (%25) olduğu saptanmıştır. Geri kalan antosiyaninlerin ise, Dp-3,5-diglu (%9), Dp-3-glu (%4), Pg-3,5-diglu (%3) ve Pg-3-glu'ten (%2) oluştuğu saptanmıştır.
8. Durultulan nar sularında, Cy-3,5-diglu miktarında önemli bir değişim gözlenmemiş, Cy-3-glu miktarında ise, yaklaşık %10'luk bir azalma saptanmıştır. Buna karşın, pastörizasyon sonucunda Cy-3,5-diglu ve Cy-3-glu'in yaklaşık %15'inin kaybolduğu saptanmıştır.
9. Diğer meyve suları ile kıyaslandığında nar sularında çok daha fazla miktarda polimerik renk oluştuğu gözlenmiştir. Bunun da nar sularında gerek monomerik antosiyaninlerin parçalanması ile oluşan ürünlerin polimerize olmasından ve gerekse monomerik antosiyaninlerin diğer fenolik bileşiklerle polimerizasyona uğrayarak esmer pigmentler oluşturmamasından kaynaklanmakta olabileceği sanılmaktadır.
10. Durultma ve pastörizasyon işlemlerinin, nar sularında polimerik renk oluşumunu artırdığı gözlenmiştir. Ancak, durultma sonunda polimerik renk oranındaki artışın neden kaynaklandığı açıklanamamıştır.
11. Durultulan nar suyu örneklerinin L* değerlerinde önemli düzeyde (6–17 birim) artışlar gözlenmiştir. Durultma sonunda L* değerlerinde gözlenen bu artış, durultma işlemi ile esmer pigmentlerin uzaklaştığını göstermektedir. Bilindiği gibi, antosiyaninlerce zengin meyve sularının renkleri; monomerik antosiyaninler dışında, hem esmerleşme reaksiyonları sonucu oluşan esmer pigmentler hem de antosiyaninlerin parçalanma ürünlerinin polimerize olması ile oluşan esmer pigmentlerden meydana gelmektedir. Durultmanın L* değeri üzerine bu olumlu etkisinin, nar sularında monomerik antosiyaninlerin parlak kırmızı-viole renklerinin daha iyi algılanmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

12. Nar sularının h° değerlerinde durultma ile bir miktar ($1^\circ-5^\circ$) artış saptanmıştır. Antosiyanin içeren gıdalarda, h° değerinin artması antosiyaninlerin parçalandığını ve bu parçalanma sonucunda da sarı rengin arttığını göstermektedir. Ancak, durultmada antosiyaninlerin parçalanmasından çok, bir kısım antosiyaninlerin jelatin ile fenolik bileşikler arasında oluşan flokla birlikte meyve suyundan uzaklaşması şeklinde yorumlanmaktadır. Bu nedenle h° değerindeki bu değişimin, muhtemelen bulanıklık unsurlarının renk ölçümüne olumsuz etkisinden kaynaklandığı sanılmaktadır.
13. Nar suyu konsantresi antosiyaninlerinin depolama süresince parçalanmasının beklendiği gibi ve literatürdeki verilere uygun olarak birinci derece kinetik modelle tanımlanabileceği saptanmıştır. $t_{1/2}$ ve D değerlerinin sıcaklık yükseldikçe azalması, antosiyanin stabilitesinin sıcaklık artışına bağlı olarak azaldığını göstermektedir.
14. Beklendiği gibi antosiyanin miktarlarında en fazla kayıp 20°C 'de depolanan konsantre örneklerinde gerçekleşirken, en az kayıp ise, -23°C 'de depolanan örneklerde gerçekleşmiştir. Elde edilen veriler, nar suyu konsantrelerinin dondurularak depolanması gerektiğini göstermektedir.
15. Durultulmamış nar suyu konsantrelerinde antosiyaninlerinin stabilitesinin, durultulmuş konsantrelere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde, konsantrelere uygulanan pastörizasyon işleminin de, antosiyaninlerin parçalanma hızını artırdığı saptanmıştır. Ancak, endüstriyel meyve suyu konsantresi üretiminde, konsantrelere pastörizasyon uygulanmadığı için, pastörizasyonun konsantrelerdeki bu olumsuz etkisi endüstriyel üretimde söz konusu değildir. Bilindiği gibi, endüstride konsantreye işlenecek meyve suyuna, önce ya bir ısıl işlem uygulanmakta ya da aroma tutma işlemi uygulanmaktadır. Aroma tutma işleminde uygulanan ısıtma işlemi sonunda, meyve suyunun mikroorganizma yükü oldukça sınırlanmakta ve böylece elde edilecek konsantrelerin mikrobiyolojik stabilitesi sağlanmaktadır. Bu çalışmada doğal nar suyu üretildikten sonra pastörize edilmeden

doğrudan konsantre edildiği için uzun süreli depolamada mikrobiyolojik bozulma olasılığı göz önüne alınarak, konsantrelere pastörizasyon uygulanmıştır.

16. Aktivasyon enerjisi değerleri kıyaslandığında, antosiyaninlerin parçalanma hızlarının, durultulmamış nar suyu konsantrelerinde durultulmuş örneklerle göre, sıcaklık değişimlerinden sınırlı da olsa daha fazla etkilendiği saptanmıştır.
17. Depolama süresince, Cy-3,5-diglu ile Cy-3-glu'nin yaklaşık aynı stabiliteyi gösterdikleri saptanmıştır. Buna karşın nar suyu konsantrelerindeki antosiyaninlerin %20'sini oluşturan Dp-3,5-diglu'nin stabilitesi ise, Cy-3,5-diglu ile Cy-3-glu'nin stabilitesinden biraz daha düşüktür.
18. Nar suyu konsantrelerinde depolama süresince polimerik renk oranındaki değişimin hem sıfırıncı ve hem de birinci derece kinetik modele uyarlanabileceği saptanmıştır.
19. Depolama sıcaklığı yükseldikçe, polimerik renk oranının arttığı gözlenmiştir. Bu oranın artması, monomerik antosiyaninlerin parçalandığını ve esmer pigmentlerin oluştuğunu, yani doğal rengin bozulduğunu göstermektedir.
20. Depolama süresince durultulmamış nar suyu konsantresinde polimerik renk oluşumu, durultulmuş konsantrelere göre daha yavaş gerçekleşmiştir.
21. Depolama sıcaklık ve süresine bağlı olarak, polimerik renk oranındaki artış ile antosiyanin kaybının paralellik gösterdiği saptanmıştır.
22. 5°C–20°C sıcaklık aralığında saptanan daha yüksek E_a ve Q_{10} değerleri, durultulmamış konsantrelerde polimerik renk oranındaki artışın durultulmuş konsantrelerdekine göre sıcaklık değişimlerinden daha fazla etkilendiğini göstermektedir.

23. Durultulduktan sonra konsantre edilen örneklerin L^* değerleri durultulmadan konsantre edilen örneklerden çok daha fazla bulunmuştur. Durultularak konsantre edilen örneklerin L^* değerinde gözlenen bu artış, durultma işlemi ile esmer pigmentlerin uzaklaştığını göstermektedir. Benzer artışlar, a^* , b^* , C^* ve h° değerlerinde de saptanmıştır. h° değerindeki artış, durultma sonunda antosiyaninlerin kaybını göstermektedir.
24. Pastörize edilen konsantre örneklerinin L^* ve h° değerlerinde önemli bir değişim gözlenmezken, a^* ve b^* değerlerinde önemli azalışlar saptanmıştır. a^* ve b^* değerlerinde aynı oranlarda azalış saptandığı için bu değerlerdeki azalışlar h° değerine yansımamıştır. Pastörize edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin parçalanması, h° değerinden çok, a^* değerindeki azalma ile izlenmiştir.
25. Depolama süresince -23°C 'de depolanan örneklerin reflektans renk değerlerinde bir değişim gözlenmemiştir. Buna karşın 20°C 'de, konsantrelerin kısa süre depolanması sonunda bile h° değerinde önemli artış saptanmıştır. 5°C ve 12°C 'de depolanan örneklerde ise, h° değerlerinde bir değişim gözlenmezken, kırmızılığın diğer bir ölçüsü olan a^* değerlerinde ise, depolama sonunda 1–4 birim arasında azalmalarla karşılaşmıştır. Bu sonuçlar da, en hızlı antosiyanin parçalanmasının, yani kırmızı renk kaybının 20°C 'de depolanan konsantrelerde olduğunu göstermiştir.
26. Sonuç olarak, hem antosiyanin kaybını hem de polimerik renk oluşumunu sınırlandırmak için, nar suyu konsantrelerinin dondurularak muhafaza edilmesi önerilmektedir. Ayrıca, nar sularının durultulmasında soğuk durultma tekniği uygulanmalıdır. Nar sularında pektin olmadığı için depektinizasyon işlemine gerek bulunmamaktadır. Sadece jelatin kullanılarak mükemmel berraklıkta nar suyu üretilmesi mümkündür. Kullanılacak jelatin dozajı dikkatle belirlenmeli ve antosiyanin kaybını azaltmak için minimum miktarda jelatin kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Adams, J.B. 1973. Colour stability of red fruits. Food Manufacture, 48, 19-20, 41.
- Aguilera, J.M., Oppermann, K. and Sanches, F. 1987. Kinetics of browning of Sultana grapes. Journal of Food Science, 52, 990-993, 1025.
- Alper, N., Bahçeci, K.S. and Acar, J. 2005. Influence of processing and pasteurization on color values and total phenolic compounds of pomegranate juice. Journal of Food Processing and Preservation, 29, 357-368.
- Andersen, O.M. 1989. Anthocyanins in fruits of *Vaccinium oxycoccus* L. (small cranberry). Journal of Food Science, 54(2), 383-384, 387.
- Anonim. 2005. MEYED (Meyve Suyu Endüstrisi Derneği). Web sitesi. <http://www.meyed.org.tr/> Erişim tarihi: 02.02.2008.
- Anonim. 2006. <http://www.cu.edu.tr/merkezler/tyhm/2006-05.html>. Çukurova Üniversitesi Tarımsal Yayım, Haberleşme, Araştırma ve Uygulama Merkezi. Erişim tarihi: 21.05.2008.
- Anonim. 2006. http://www.tarimmerkezi.com/haber_detay.php?hid=12979. Ege İnternet Yayıncılık Merkezi. Erişim tarihi: 28.01.2008.
- Anonim. 2008. <http://www.batem.gov.tr/urunler/meyvelerimiz/nar/nar.htm>. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Erişim tarihi: 20.05.2008.
- Asefi, N. 1995. Meyve sularında antosiyaninlerin degradasyonu üzerine araştırmalar. Doktora tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, 92 s., Ankara.
- Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D. and Fuhrman, B. 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. The American Journal of Clinical Nutrition, 71, 1062-1076.
- Cabrita, L., Fossen, T. and Anderson, O.M. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. Journal of Food Science, 68, 101-107.
- Cemeroğlu, B. 1977. *Nar Suyu Üretim Teknolojisi Üzerinde Araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, No: 664, 71s. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Artık, N. ve Yüncüler, O. 1988. Nar suyu üzerinde araştırmalar. Doğa, Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, 12(3), 322-334.

- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S., Erbaş, S., Ünal, Ç. ve Yıldız, O. 1994. Vişne ve nar sularının kimyasal tanı değerlerinin saptanması üzerinde araştırmalar. TUBİTAK projesi, Proje No: TBGAG-29/A, 49 s., Ankara.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S. and Işık, S. 1994. Degradation kinetics of anthocyanins in sour cherry juice and concentrate. *Journal of Food Science*, 59(6), 1216-1218.
- Cemeroğlu, B. ve Karedeniz, F. 2004. Meyve suyu üretim Teknolojisi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 297-654, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2004. Meyve ve sebzelerin bileşimi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, B. Cemeroğlu (ed.), s. 1-188, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu, B. 2007. Gıda analizlerinde genel yöntemler. *Gıda Analizleri*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 45-128, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Chaovanalikit, A. and Wrolstad, R.E. 2004. Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *Journal of Food Science*, 69(1), 73-83.
- Davídek, J., Velisek, J. and Pokorny, J. 1990. *Chemical Changes During Food Processing*. Development in Food Science, 21, Avicenum Czechoslovak Medical Pres, Czechoslovakia.
- De, A.K., Chaudhuri, B. and Bhattacharjee, S. 1999. A kinetic study of the oxidation of phenol, *o*-chlorophenol and catechol by hydrogen peroxide between 298 K and 333 K: the effect of pH, temperature and ratio of oxidant to substrate. *Journal of Chem Technol Biotechnology*, 74(2), 162-168.
- Dekazos, E.D. 1970. Anthocyanin pigments in red tart cherries. *Journal of Food Science*, 35(3), 237-241.
- Due, C.T., Wang P. L. and Francis, F.J. 1975. Anthocyanins of pomegranate, *punica granatum*. *Journal of Food Science*, 40, 417-418.
- Fan-Chiang, Ho-Ju and Wrolstad, R.E. 2005. Anthocyanin pigment composition of blackberries. *Journal of Food Science*, 70(3), 198-202.
- Fuleki, T. 1969. The anthocyanins of strawberry, rhubarb, radish and onion. *Journal of Food Science*, 34, 365-369.
- Fuleki, T. and Francis, F.J. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *Journal of Food Science*, 33, 78-82.

- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 1996. Radish anthocyanin extract as a natural red colorant for Maraschino cherries. *Journal of Food Science*, 61(4), 688-694.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, Wrolstad, R.E. and Schwartz, S.J. (eds.), p. 1-13, John Wiley & Sons, New York, U.S.A.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3), 217-225.
- Gültekin, M., Özçoban, D. ve Karaali, A. 2007. Antioksidan kaynağı bir içecek: nar suyu. *Dünya Gıda*, 12(7), 85-89.
- Harborne, J.B. 1967. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*, New York.
- Heftaman, E. and Bennett, S.T. 1966. Identification of estrone in pomegranate seeds. *Phytochemistry*, 5, 1337-1340.
- Hernandez, F., Melgarejo, P., Tomas-Barberan, F.A. and Artes, A. 1999. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *European Food Research and Technology*, 210, 39-42.
- İGEME. 2005. *Nar Üretimi İhracat Bilgileri*. Ankara.
- IFU. 1968. Analysen. Nr: 3 (Determination of titratable acidity). Internationale Fruchtsaft Union Juris Verlag, Zurich, İsviçre.
- Işık, Ş. 1993. Vişne suyu konsantratlarının depolanmalarında renk ve berraklık stabilitesi üzerinde araştırma. Yüksek lisans tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, 49 s., Ankara.
- Iversen, C.K. 1999. Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *Journal of Food Science*, 64(1), 37-41.
- Jackman, R.L., Yada, R.Y., Tung, M.A. and Speers, R.A. 1987. Anthocyanins as food colorants- A review. *Journal of Food Biochemistry*, 11, 201-247.
- Kader, F., Irmouli, M., Nicolas, J.P. and Metche, M. 2002. Involvement of blueberry peroxidase in the mechanisms of anthocyanin degradation in blueberry juice. *Journal of Food Science*, 67(3), 910-915.

- Kammerer, D.R., Schillmöller, S., Maier, O., Schieber, A. and Carle, R. 2007. Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colourants. *European Food Research and Technology*, 224(6), 667-679.
- Kırca, A. 2004. Siyah havuç antosiyaninlerinin bazı meyve ürünlerinde ısıl stabilitesi. Yüksek lisans tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, 109 s., Ankara.
- Kırca, A. and Cemeroğlu, B. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chemistry*, 81(4), 583-587.
- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2003. Thermal stability of black carrot anthocyanins in blond orange juice. *Journal of Food Quality*, 26(5), 361-366.
- Kırca, A., Özkan, M. and Cemeroğlu, B. 2007. Effect of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry*, 101(1), 212-218.
- Kulkarni, A.P. and Aradhya, S.M. 2005. Chemical changes and antioksidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93, 319-324.
- Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R.E. 2002. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: Comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67(5), 1660-1667.
- Lee, J. and Wrolstad, R.E. 2004. Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry processing waste. *Journal of Food Science*, 69(1), 564-573.
- Lee, J., Rennaker, C. and Wrolstad, R.E. 2008. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 110, 782-786.
- Lozano, J.E. and Ibarz, A. 1997. Colour changes in concentrated fruit pulp during heating of high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 31, 365-373.
- Marti, N., Perz-Vicente, A. and Garcia-Viguera, C. 2001. Influence of storage temperature and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 217-221.
- Mazza, G. and Brouillard, R. 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29(4), 1097-1102.
- Mazza, G. and Miniati, E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A.
- Meschter, E.E. 1953. Fruit color loss: Effects of carbohydrates and other factors on strawberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(8), 574-579.

- Miskin, M. and Saguy, I. 1982. Thermal stability of pomegranate juice. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* (European Food Research and Technology), 206(4), 294-296.
- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A. and Packer, L. 2002. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: Delphinidin, cyanidin and pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 166-171.
- Onur, C. 1982. *Akdeniz Bölgesi Narlarının Seleksiyonu*. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma ve Eğitim Merkezi Yayını, No: 121, Mersin.
- Özkan, M. 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry*, 78(4), 499-504.
- Özkan, M., Yemenicioğlu, A., Asefi, N. and Cemeroğlu, B. 2002. Degradation kinetics of anthocyanins from sour cherry, pomegranate and strawberry juices by hydrogen peroxide. *Journal of Food Science*, 67(2), 525-529.
- Özkan, M. ve Cemeroğlu, B. 2005. Isıl işlem sırasında gıda bileşenlerinin parçalanma kinetiği. *Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 435-490, Başkent Klişe Matbaacılık, Ankara.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeroğlu, B. 2007. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri. *Gıda Analizleri*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 129-186, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Pekmezci, M. and Erkan, M. 2003. Pomegranate. Postharvest Quality Maintenance Guidelines. *Agricultural Handbook Number-66*.
- Poyrazoğlu, E., Gökmen, V. and Artık, N. 2002. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 567-575.
- Rieger, M. 2006. Mark's fruit crops. Web sitesi. <http://www.uga.edu/fruit/pomegran.html>. Erişim tarihi: 21.05.2008.
- Rodriguez-Saona, L. E., Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 1999. Color and pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. *Journal of Food Science*, 64(3), 451-456.
- Rommel, A., Wrolstad, R.E. and Heatherbell, D.A. 1992. Blackberry juice and wine: processing and storage effects on anthocyanin composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 57(2), 385-392.
- Sistrunk, W.A. and Cash, J.N. 1974. Processing factors affecting quality and storage stability of concord grape juice. *Journal of Food Science*, 39, 1120-1123.

- Skrede, G., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65(2), 357-364.
- Sondheimer, E. and Kertesz, Z.I. 1952. The kinetics of the oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. *Food Research*, 17(3), 288-298.
- Sondheimer, E. and Kertesz, Z.I. 1953. Participation of ascorbic acid in the destruction of anthocyanin in strawberry juice and model systems. *Food Research*, 18(5), 475-479.
- Stintzing, F.C., Stintzing, A.S., Carle, R., Frei, B. and Wrolstad, R.E. 2002. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6172-6181.
- Tian, Q., Giusti, M.M., Stoner, G.D. and Schwartz, S.J. 2006. Characterization of a new anthocyanin in black raspberries (*Rubus occidentalis*) by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 94, 465-468.
- Vardin, H. and Fenercioğlu, H. 2003. Study on the development of pomegranate juice processing technology: Clarification of pomegranate juice. *Nahrung/Food*, 47, 300-303.
- Von Elbe, J.H. and Schwartz, S.J. 1996. Colorants. In *Food Chemistry*, Fennema, O.R. (ed.), 3rd ed., Marcel Dekker, Inc., New York, U.S.A.
- Withy, L.M., Nguyen, T.T., Wrolstad, R.E. and Heatherbell, D.A. 1993. Storage changes in anthocyanin content of red raspberry juice concentrate. *Journal of Food Science*, 58(1), 190-192.
- Wrolstad, R.E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. Station Bulletin 624, Agric. Exp. Stn., Oregon State University, Corvallis.
- Wrolstad, R.E. 2004. Anthocyanin pigments-Bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*, 69(5), C419-C421.
- Yemiş, O. ve Özkan, M. 2007. Gıda analizlerinde HPLC yöntemleri. *Gıda Analizleri*, Cemeroğlu, B. (ed.), s. 407-462, Bizim Büro Basımevi, Ankara.

EKLER

EK 1 Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlar

EK 2 Arrhenius Grafiği İçin Gerekli Veriler

EK 3 Arrhenius Grafikleri

EK 4 Nar suyu konsantrelerinin antosiyanin kromatogramları

EK 5 Kimyasal Malzeme Listesi

EK 1 Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlar

Çizelge 1 Nar suyu ekstraksiyon yöntemi ve durultma işleminin antosiyanin miktarı üzerine etkisinin¹ pastörizasyondan önce ve sonra Duncan testi ile karşılaştırılması

Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	Durultma	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Danelerden	Durultulmamış	364±3.50Aa	335±0.00Ba
	Durultulmuş	349±1.00Ab	299±0.00Bc
Bütün meyveden	Durultulmamış	365±2.00Aa	316±1.50Bb
	Durultulmuş	296±3.50Ac	269±1.50Bd

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

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 2 Pastörizasyon ve nar suyu ekstraksiyon yönteminin antosiyanin miktarı üzerine etkisinin¹ durultma yapılmadan ve yapıldıktan sonra Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	Danelerden	349±1.00Ba	365±3.50Aa
	Bütün meyveden	296±3.00Bc	365±2.00Aa
Pastörize edilmiş	Danelerden	299±0.00Bb	335±0.00Ab
	Bütün meyveden	269±1.50Bd	316±1.50Ac

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

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 antosiyanin miktarı üzerine etkisinin¹ nar suyu ekstraksiyon yöntemine göre Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Meyve suyu ekstraksiyon yöntemi	
		Danelerden	Bütün meyveden
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	349±1.00Ab	296±3.00Bc
	Pastörize edilmiş	299±0.00Ad	269±1.50Bd
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	365±3.50Aa	365±2.00Aa
	Pastörize edilmiş	335±0.00Ac	316±1.50Bb

¹ Antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
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 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince durultma ve pastörizasyon işlemlerinin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	
	P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	326±41.5Bb	609±61.8Ab
Durultulmamış	412±41.9Ba	815±66.5Aa

¹ Antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
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 5 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince durultma işleminin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Süre (gün)			
	0	60	116	167
Durultulmuş	682±105.0Db	478±83.1Cb	392±78.9Bb	317±59.5Ab
Durultulmamış	842±144.0Da	624±122.0Ca	514±109.0Ba	474±90.5Aa

¹ Antosiyanin miktarları, aritmetik ortalama±standart hata olarak verilmiştir.
A–D: 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 6 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince pastörizasyon işleminin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Süre (gün)			
	0	60	116	167
Pastörize edilmemiş	977±66.1Da	728±61.5Ca	615±49.9Ba	525±60.8Aa
Pastörize edilmiş	547±27.2Db	374±22.9Cb	291±20.3Bb	266±29.8Ab

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

A–D: 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 7 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince durultma ve pastörizasyon işlemlerinin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Süre (gün)			
		0	38	73	101
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	863±5.87Db	557±6.95Cb	403±2.66Bb	317±2.12Ab
	Pastörize edilmiş	501±9.58Dd	297±4.67Cd	201±3.33Bd	152±1.05Ad
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	1091±14.0Da	727±15.4Ca	567±5.51Ba	445±9.77Aa
	Pastörize edilmiş	593±11.8Dc	395±1.35Cc	266±3.14Bc	201±0.901Ac

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

A–D: 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 8 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince durultma işlemi ve sürenin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Süre (gün)	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	0	863±5.87Ab	501±9.58Bb
	38	557±6.95Ae	297±4.67Bd
	73	403±2.66Ag	201±3.33Bf
	101	317±2.12Ah	152±1.05Bg
Durultulmamış	0	1091±14.0Aa	593±11.8Ba
	38	727±15.4Ac	395±1.35Bc
	73	567±5.51Ad	266±3.14Be
	101	445±9.77Af	201±0.901Bf

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

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

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

Çizelge 9 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince pastörizasyon işlemi ve sürenin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Süre (gün)	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	0	863±5.87Ba	1091±14.0Aa
	38	557±6.95Bb	727±15.4Ab
	73	403±2.66Bd	567±5.51Ad
	101	317±2.12Be	445±9.77Ae
Pastörize edilmiş	0	501±9.58Bc	593±11.8Ac
	38	297±4.67Bf	395±1.35Af
	73	201±3.33Bg	266±3.14Ag
	101	152±1.05Bh	201±0.901Ah

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

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

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

Çizelge 10 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince durultma ve pastörizasyon işlemlerinin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Süre (gün)		
		0	38	73
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	863±5.87Ab	273±5.32Bb	132±1.60Cb
	Pastörize edilmiş	501±9.58Ad	157±2.63Bd	63±0.661Cd
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	1091±14.0Aa	426±4.20Ba	189±0.698BCa
	Pastörize edilmiş	593±11.8Ac	204±3.12Bc	102±2.25Cc

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

A–C: 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 11 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince durultma işlemi ve sürenin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Süre (gün)	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	0	863±5.87Ab	501±9.58Bb
	38	1091±14.0Aa	593±11.8Ba
	73	273±5.32Ad	157±2.63Bd
Durultulmamış	0	426±4.20Ac	204±3.12Bc
	38	132±1.60Af	63±0.661Bf
	73	189±0.698Ae	102±2.25Be

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

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

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

Çizelge 12 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince pastörizasyon işlemi ve sürenin antosiyanin miktarları üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Süre (gün)	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	0	863±5.87Ba	1091±14.0Aa
	38	273±5.32Bc	426±4.20Ac
	73	132±1.60Be	189±0.698Ae
Pastörize edilmiş	0	501±9.58Bb	593±11.8Ab
	38	157±2.63Bd	204±3.12Ad
	73	63±0.661Af	102±2.25Bf

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

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

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

Çizelge 13 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince durultma ve pastörizasyon işlemlerinin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Süre (gün)			
		0	38	73	101
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	38±0.179Dc	48±0.425Cc	50±0.001Bc	52±0.007Ab
	Pastörize edilmiş	52±0.359Ca	56±0.251Ba	59±0.180Aa	59±0.683Aa
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	38±0.971Dc	41±0.197Cd	44±0.099Bd	46±0.00Ac
	Pastörize edilmiş	48±0.171Cb	51±0.00Bb	54±0.361Ab	52±0.336Bb

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

A–D: 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 14 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince durultma işlemi ve sürenin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Süre (gün)	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	0	38±0.179Bg	52±0.359Ad
	38	48±0.425Bc	56±0.251Ab
	73	50±0.001Bb	59±0.180Aa
	101	52±0.007Ba	59±0.683Aa
Durultulmamış	0	38±0.971Bg	48±0.171Af
	38	41±0.197Bf	51±0.00Ae
	73	44±0.098Be	54±0.361Ac
	101	46±0.00Bd	52±0.336Ad

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

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

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

Çizelge 15 Nar suyu konsantrelerinin 5°C’de depolanması süresince pastörizasyon işlemini ve sürenin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Süre (gün)	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	0	38±0.179Af	38±0.971Ah
	38	48±0.425Ae	41±0.197Bg
	73	50±0.001Ad	44±0.098Bf
	101	52±0.007Ac	46±0.00Be
Pastörize edilmiş	0	52±0.359Ac	48±0.171Bd
	38	56±0.251Ab	51±0.00Bc
	73	59±0.180Aa	54±0.361Ba
	101	59±0.683Aa	52±0.336Bb

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

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

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

Çizelge 16 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince durultma ve pastörizasyon işlemlerinin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Süre (gün)			
		0	38	73	101
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	38±0.179Dc	46±1.30Cc	54±0.00Bc	57±0.086Ac
	Pastörize edilmiş	52±0.359Da	56±0.048Ca	61±0.069Ba	64±0.774Aa
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	38±0.971Dc	42±0.750Cd	47±0.356Bd	50±0.001Ad
	Pastörize edilmiş	48±0.171Db	51±0.871Cb	56±0.217Bb	59±0.336Ab

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

A–D: 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 17 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince durultma işlemi ve sürenin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Süre (gün)	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	0	38±0.179Bd	52±0.359Ah
	38	46±1.30Bc	56±0.048Ag
	73	54±0.00Bb	61±0.069Af
	101	57±0.086Ba	64±0.774Ae
Durultulmamış	0	38±0.971Bd	48±0.171Ad
	38	42±0.750Bf	51±0.871Ac
	73	47±0.356Bg	56±0.217Ab
	101	50±0.001Be	59±0.336Aa

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

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

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

Çizelge 18 Nar suyu konsantrelerinin 12°C’de depolanması süresince pastörizasyon işlemi ve sürenin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Süre (gün)	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	0	38±0.179Ah	38±0.971Ah
	38	46±1.30Ag	42±0.750Bg
	73	54±0.00Ae	47±0.356Bf
	101	57±0.086Ac	50±0.001Bd
Pastörize edilmiş	0	52±0.359Af	48±0.171Be
	38	56±0.048Ad	51±0.871Bc
	73	61±0.069Ab	56±0.217Bb
	101	64±0.774Aa	59±0.336Ba

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

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

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

Çizelge 19 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince durultma ve pastörizasyon işlemlerinin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Pastörizasyon	Süre (gün)		
		0	38	73
Durultulmuş	Pastörize edilmemiş	38±0.179Cc	57±0.113Bc	66±0.213Ab
	Pastörize edilmiş	52±0.359Ca	63±0.259Ba	70±0.419Aa
Durultulmamış	Pastörize edilmemiş	38±0.971Cc	50±1.02Bd	61±0.541Ad
	Pastörize edilmiş	48±0.171Cb	58±0.00Bb	63±0.149Ac

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

A–C: 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 20 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince durultma işlemi ve sürenin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Durultma	Süre (gün)	Pastörizasyon	
		P. öncesi	P. sonrası
Durultulmuş	0	38±0.179Be	52±0.359Ae
	38	57±0.113Bc	63±0.259Ac
	73	66±0.213Ba	70±0.419Aa
Durultulmamış	0	38±0.971Be	48±0.171Af
	38	50±1.02Bd	58±0.000Ad
	73	61±0.541Bb	65±0.149Ab

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

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

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

Çizelge 21 Nar suyu konsantrelerinin 20°C’de depolanması süresince pastörizasyon işlemi ve sürenin polimerik renk oranı üzerindeki etkisinin¹ Duncan testi ile karşılaştırılması

Pastörizasyon	Süre (gün)	Durultma	
		Durultulmuş	Durultulmamış
Pastörize edilmemiş	0	38±0.179Af	38±0.971Af
	38	57±0.113Ad	50±1.02Bd
	73	66±0.213Ab	61±0.541Bb
Pastörize edilmiş	0	52±0.359Ae	48±0.171Be
	38	63±0.259Ac	58±0.000Bc
	73	70±0.419Aa	65±0.149Ba

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

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

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

EK 2 Arrhenius Grafiği İçin Gerekli Veriler

Çizelge 1 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması suresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin Arrhenius grafiği için gerekli veriler

Nar suyu	Sıcaklık		1/T x 10 ⁻³ (K)	k (gün ⁻¹)	-lnk
	(°C)	(K)			
Durultulmamış					
	5	278	3.60	0.00322	9.0530
	12	285	3.51	0.00875	8.0545
	20	293	3.41	0.02372	7.0573
Durultulmuş					
	5	278	3.60	0.00415	8.8017
	12	285	3.51	0.00990	7.9309
	20	293	3.41	0.02556	6.9825
Durultulmamış (P)*					
	5	278	3.60	0.00392	8.8589
	12	285	3.51	0.01082	7.8419
	20	293	3.41	0.02372	7.0573
Durultulmuş (P)*					
	5	278	3.60	0.00507	8.6010
	12	285	3.51	0.01198	7.7408
	20	293	3.41	0.02787	6.8963

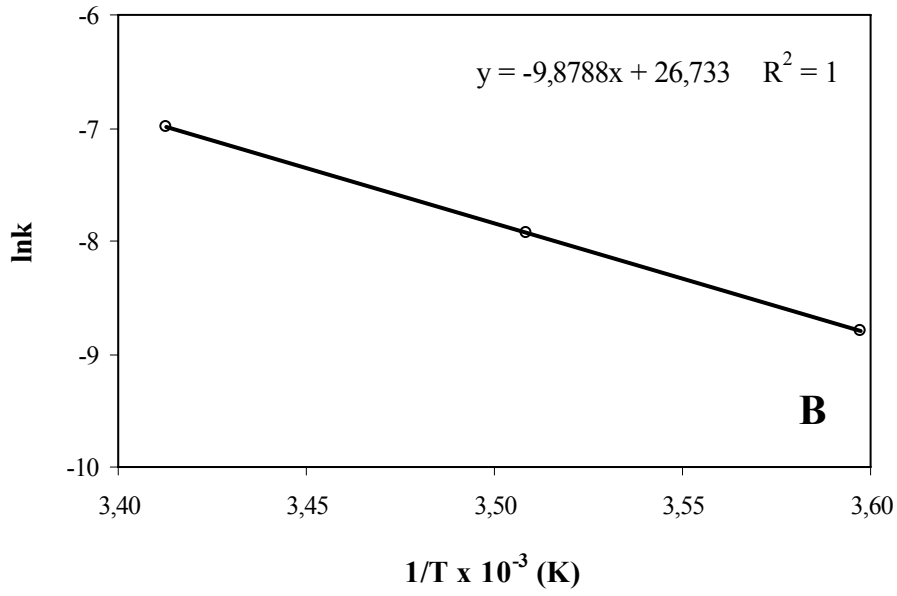
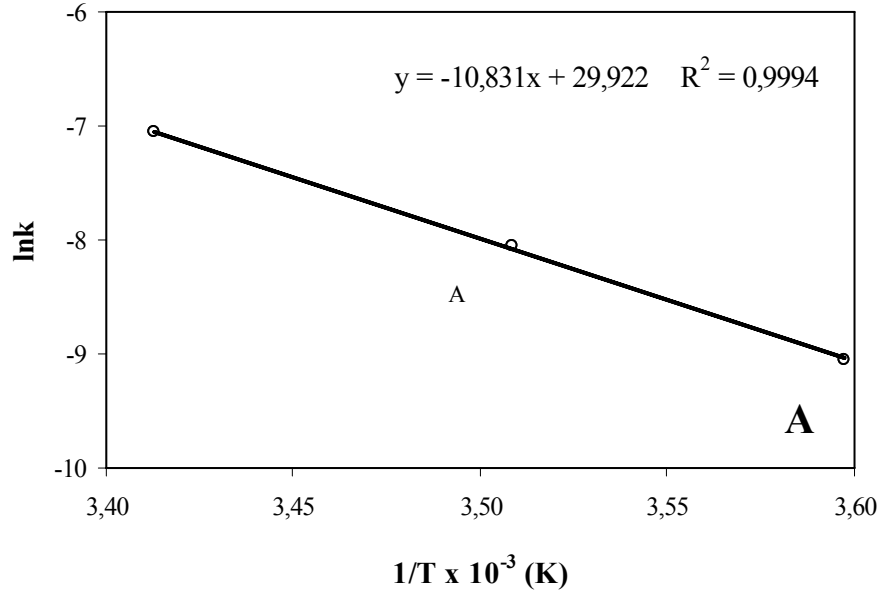
* P: Pastörize edilmiş

Çizelge 2 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin Arrhenius grafiği için gerekli veriler

Nar suyu	Sıcaklık		1/T x 10 ⁻³ (K)	k (gün ⁻¹)	-lnk
	(°C)	(K)			
Durultulmamış					
	5	278	3.60	0.00322	10.9168
	12	285	3.51	0.00875	10.0414
	20	293	3.41	0.02372	9.2304
Durultulmuş					
	5	278	3.60	0.00080	10.4468
	12	285	3.51	0.00180	9.6359
	20	293	3.41	0.00320	9.0605
Durultulmamış (P)*					
	5	278	3.60	0.00392	11.4277
	12	285	3.51	0.01082	10.2237
	20	293	3.41	0.02372	9.5818
Durultulmuş (P)*					
	5	278	3.60	0.00507	11.1400
	12	285	3.51	0.01198	10.3291
	20	293	3.41	0.02787	9.6359

* P: Pastörize edilmiş

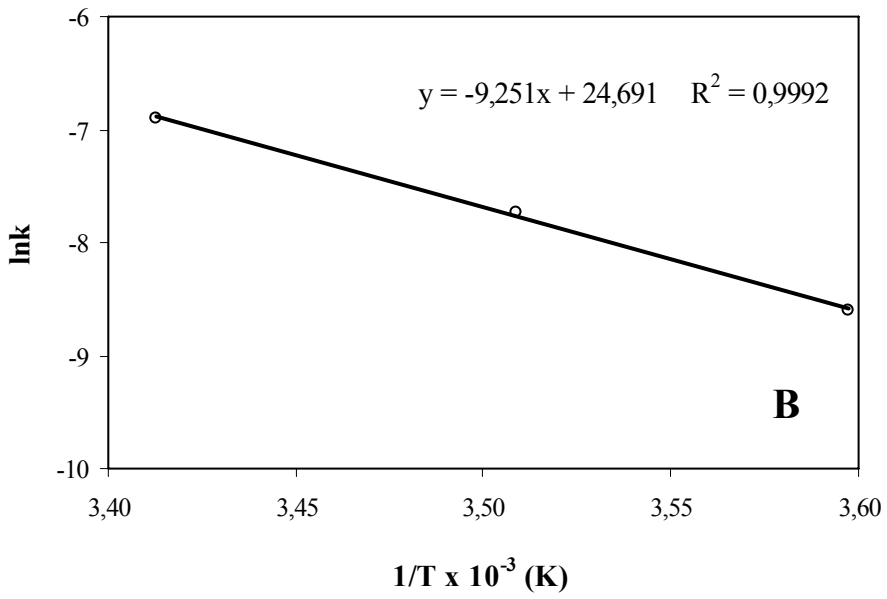
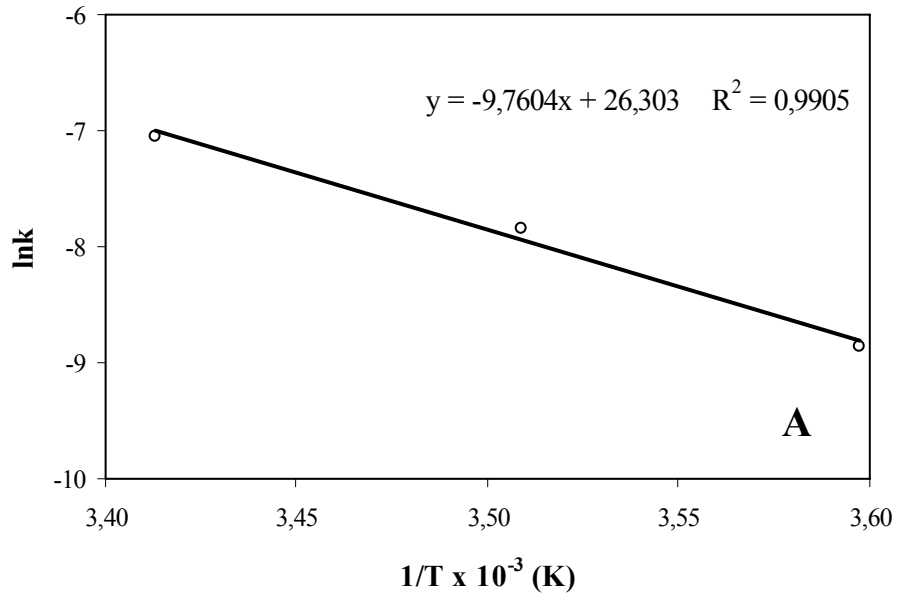
EK 3 Arrhenius Grafikleri



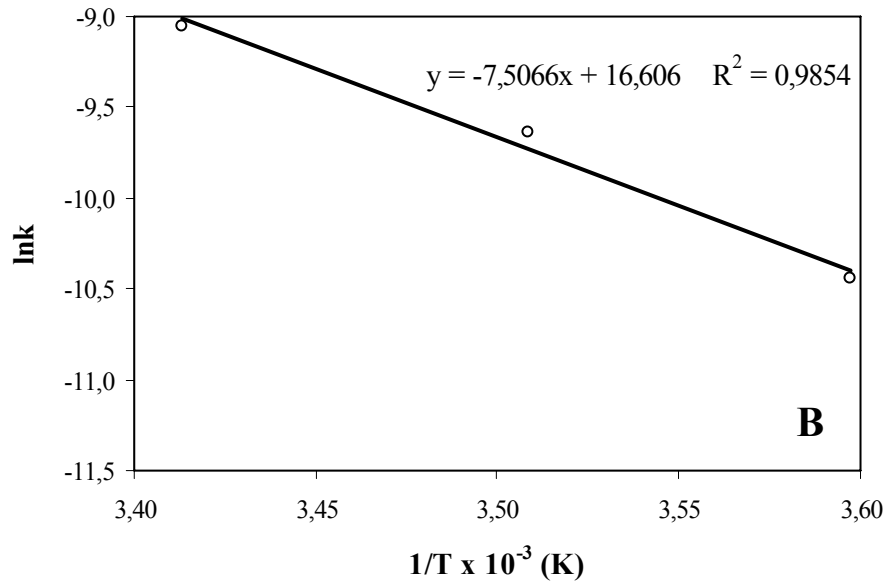
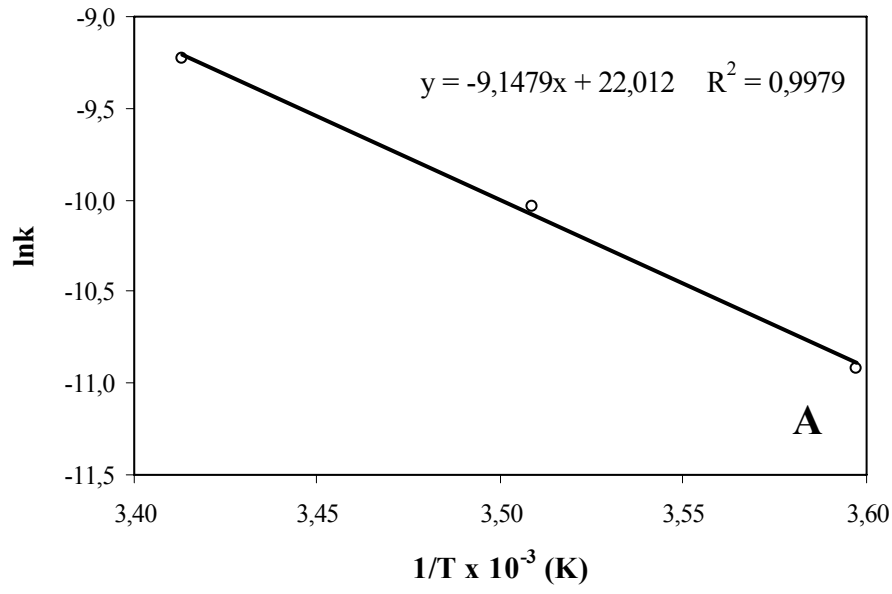
Şekil 1 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin Arrhenius grafiği

A: Durultulmamış nar suyu konsantresi

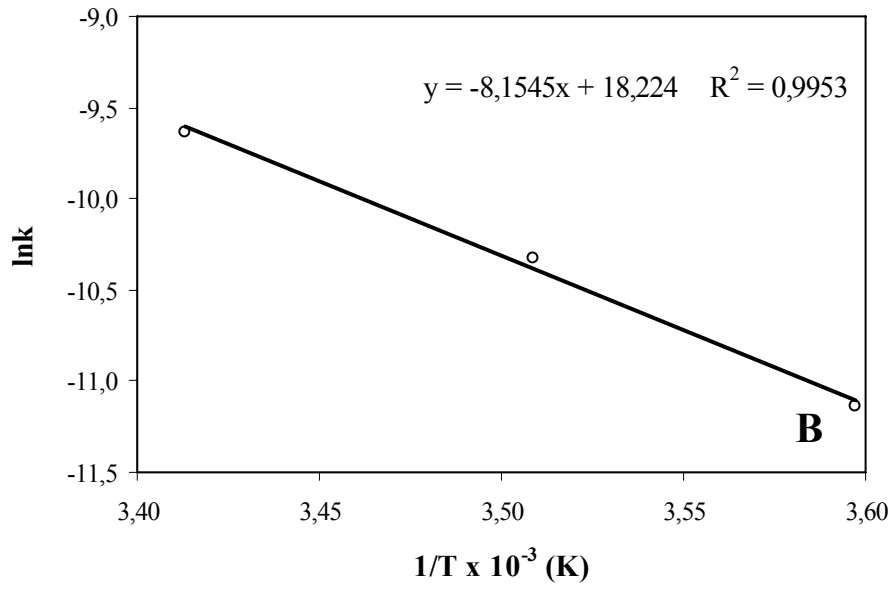
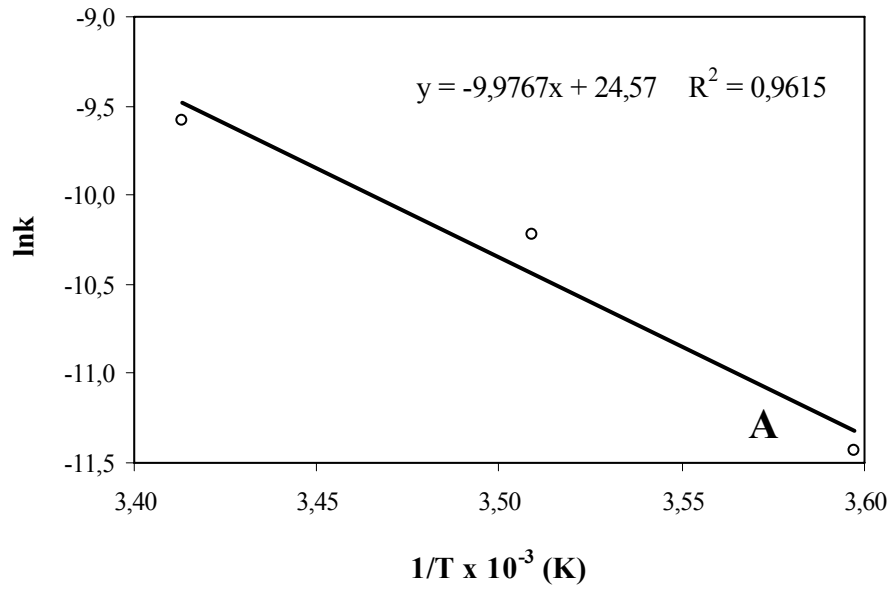
B: Durultulmuş nar suyu konsantresi



Şekil 2 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince antosiyanin miktarındaki azalmaya ilişkin Arrhenius grafiği
A: Durultulmamış ve pastörize edilmiş nar suyu konsantresi
B: Durultulmuş ve pastörize edilmiş nar suyu konsantresi

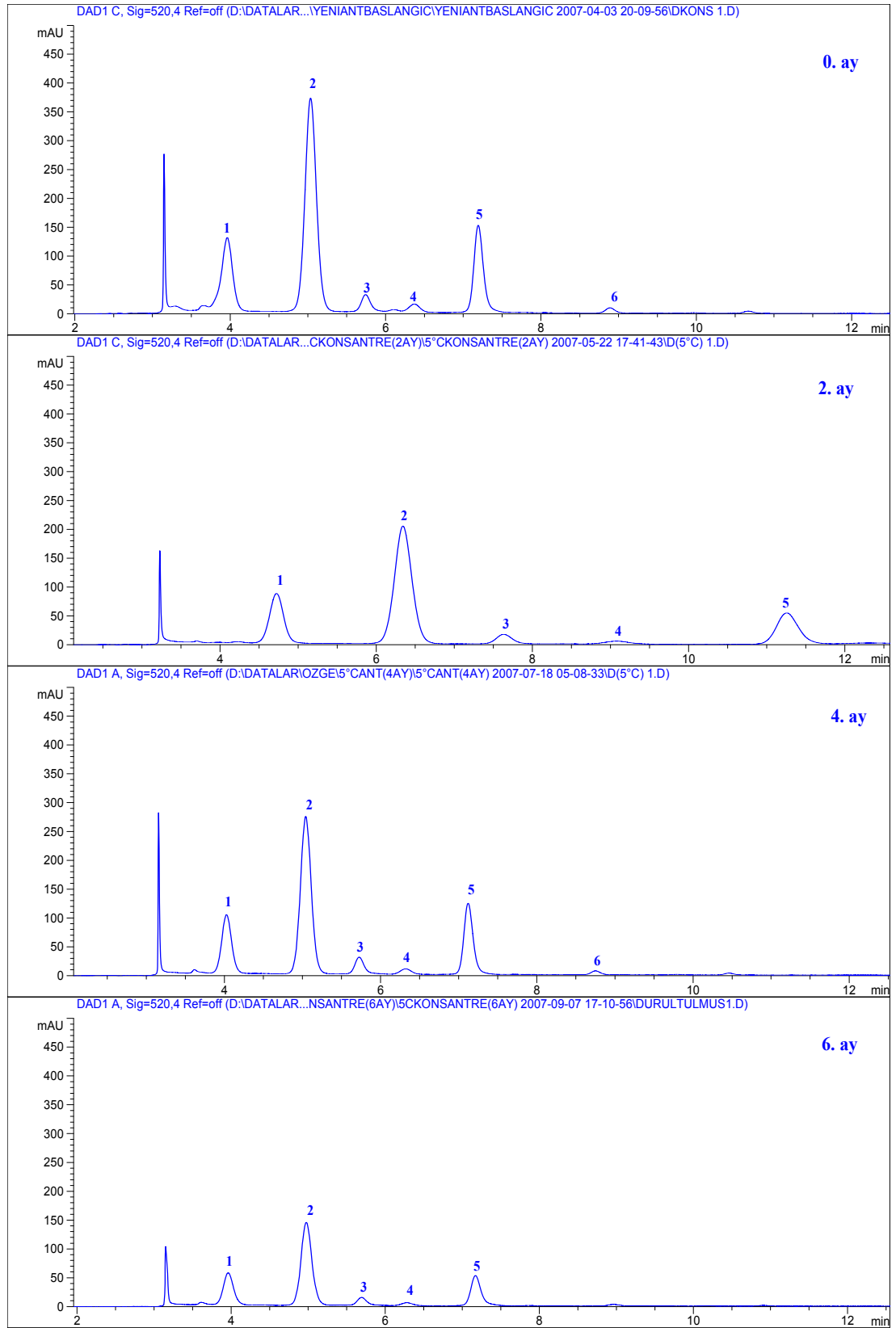


Şekil 3 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin Arrhenius grafiği
A: Durultulmamış nar suyu konsantresi
B: Durultulmuş nar suyu konsantresi

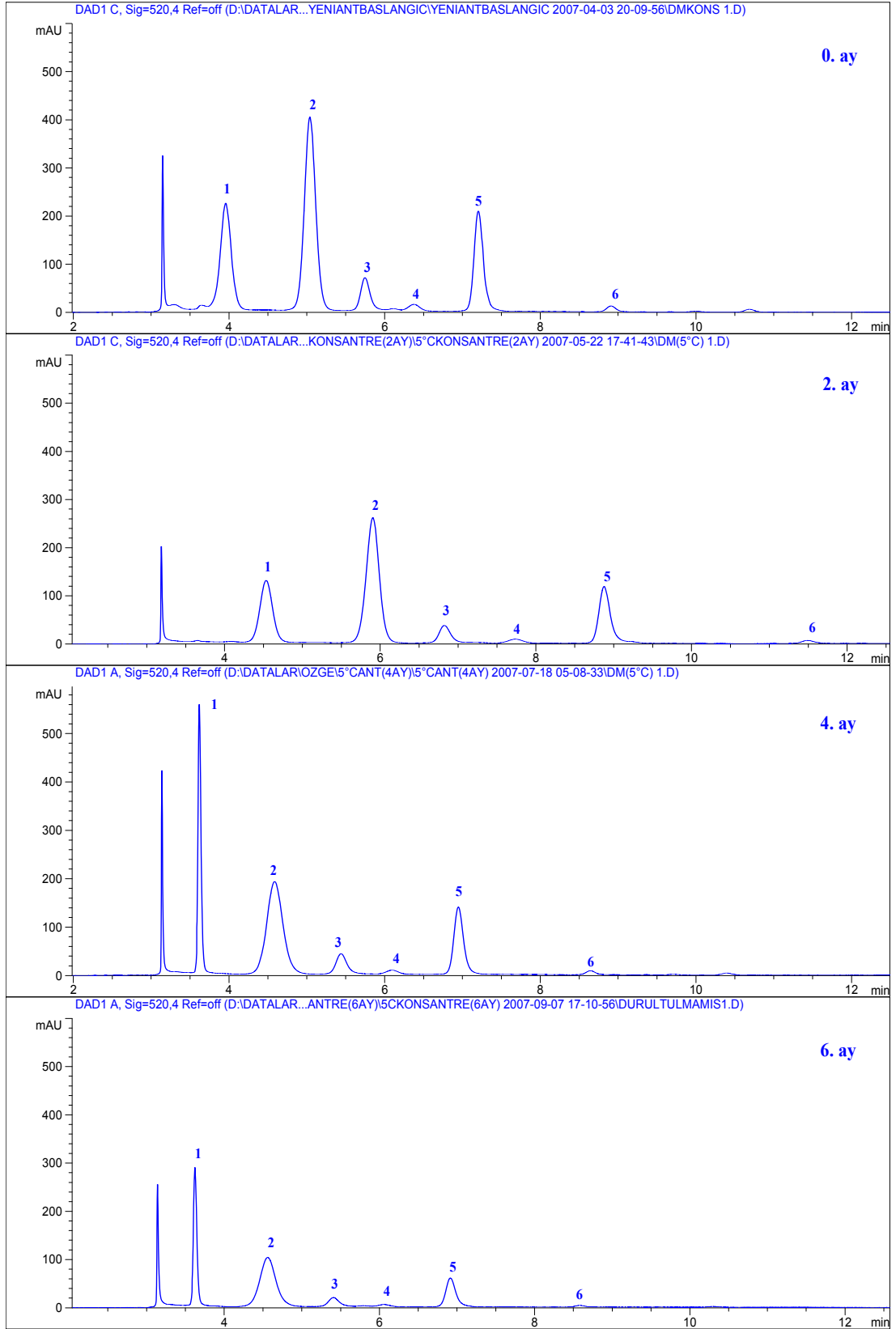


Şekil 4 Nar suyu konsantrelerinin farklı sıcaklıklarda depolanması süresince polimerik renk oranındaki değişime ilişkin Arrhenius grafiği
A: Durultulmamış ve pastörize edilmiş nar suyu konsantresi
B: Durultulmuş ve pastörize edilmiş nar suyu konsantresi

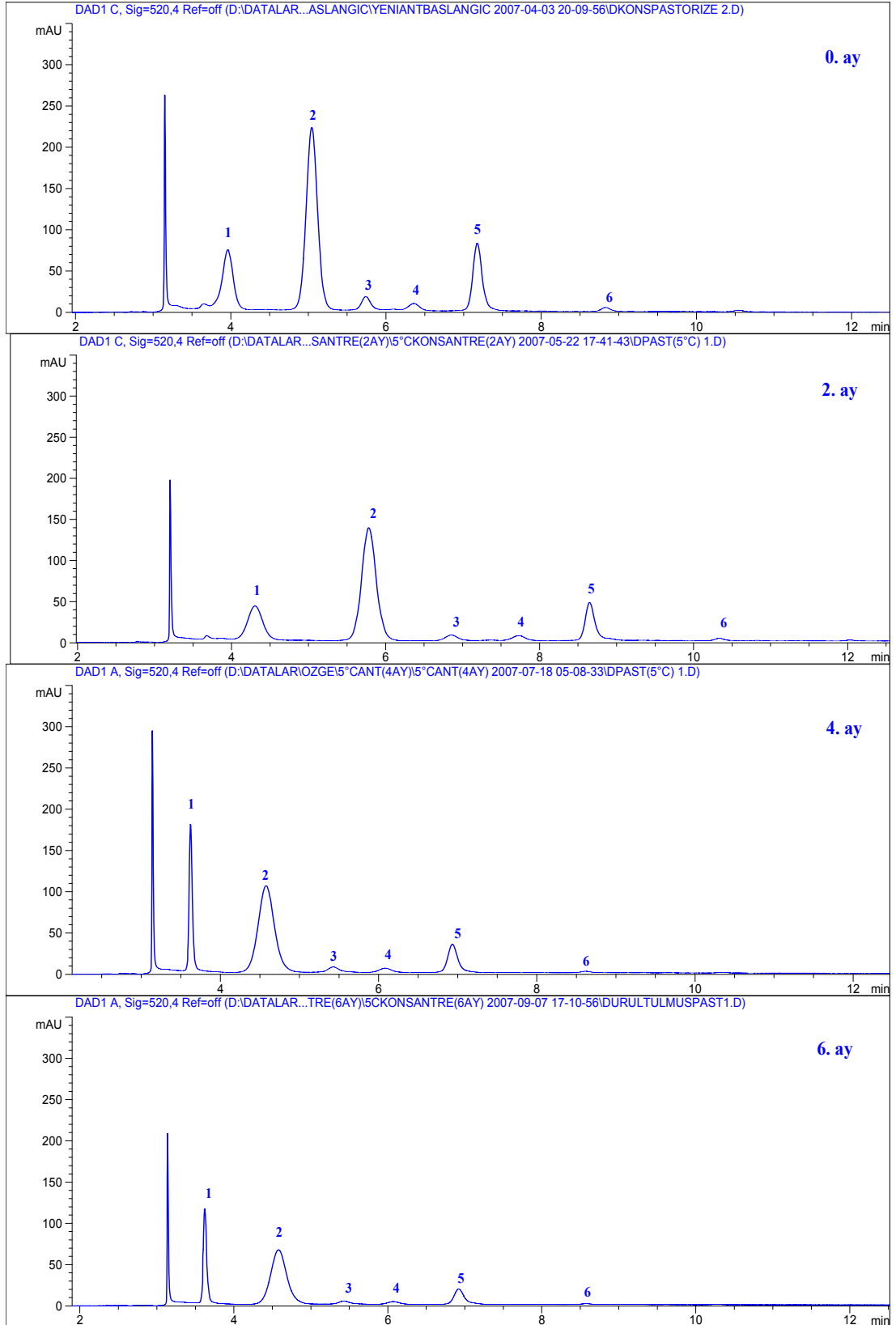
EK 4 Nar suyu konsantrelerinin antosiyanin kromatogramları



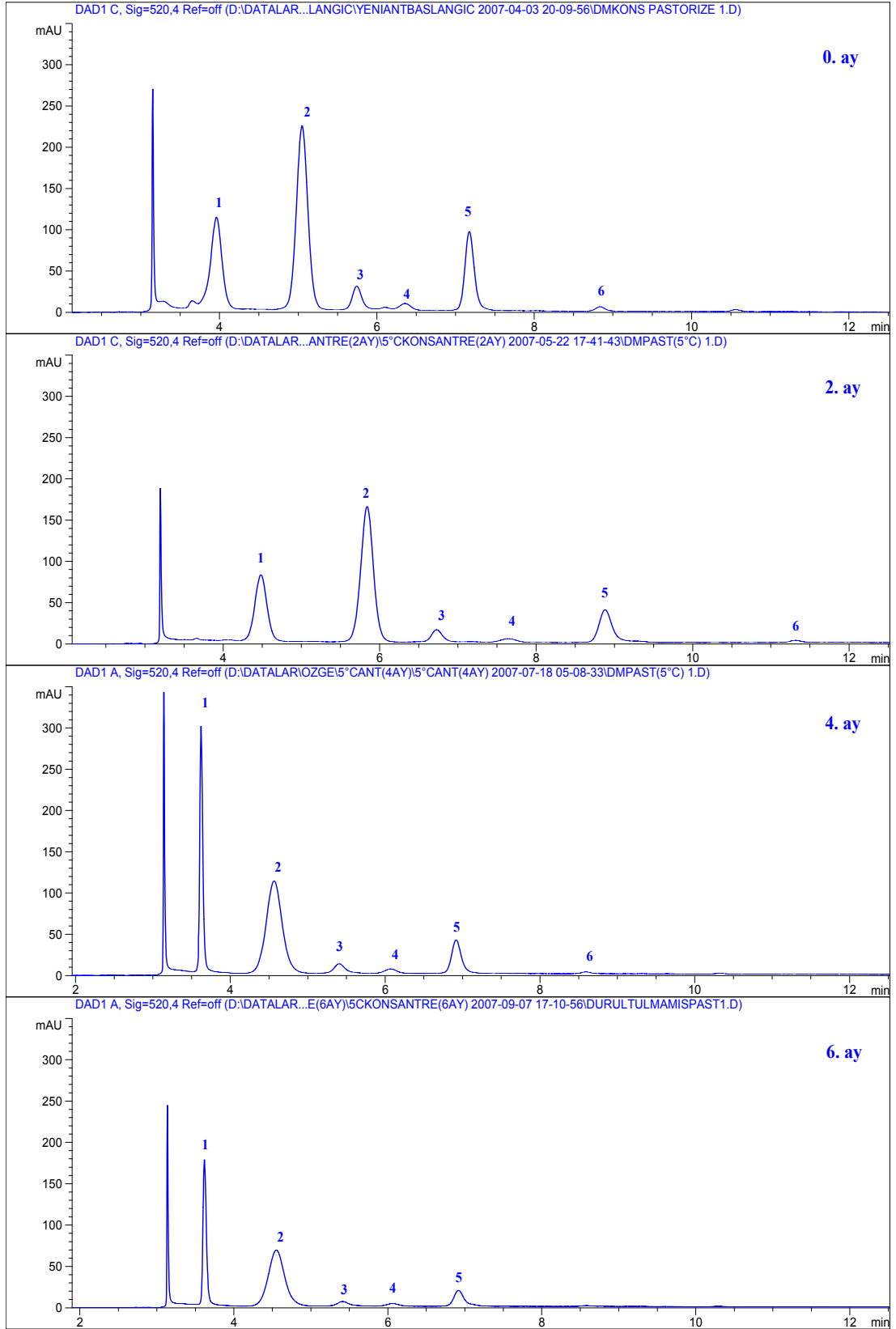
Şekil 1 5°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



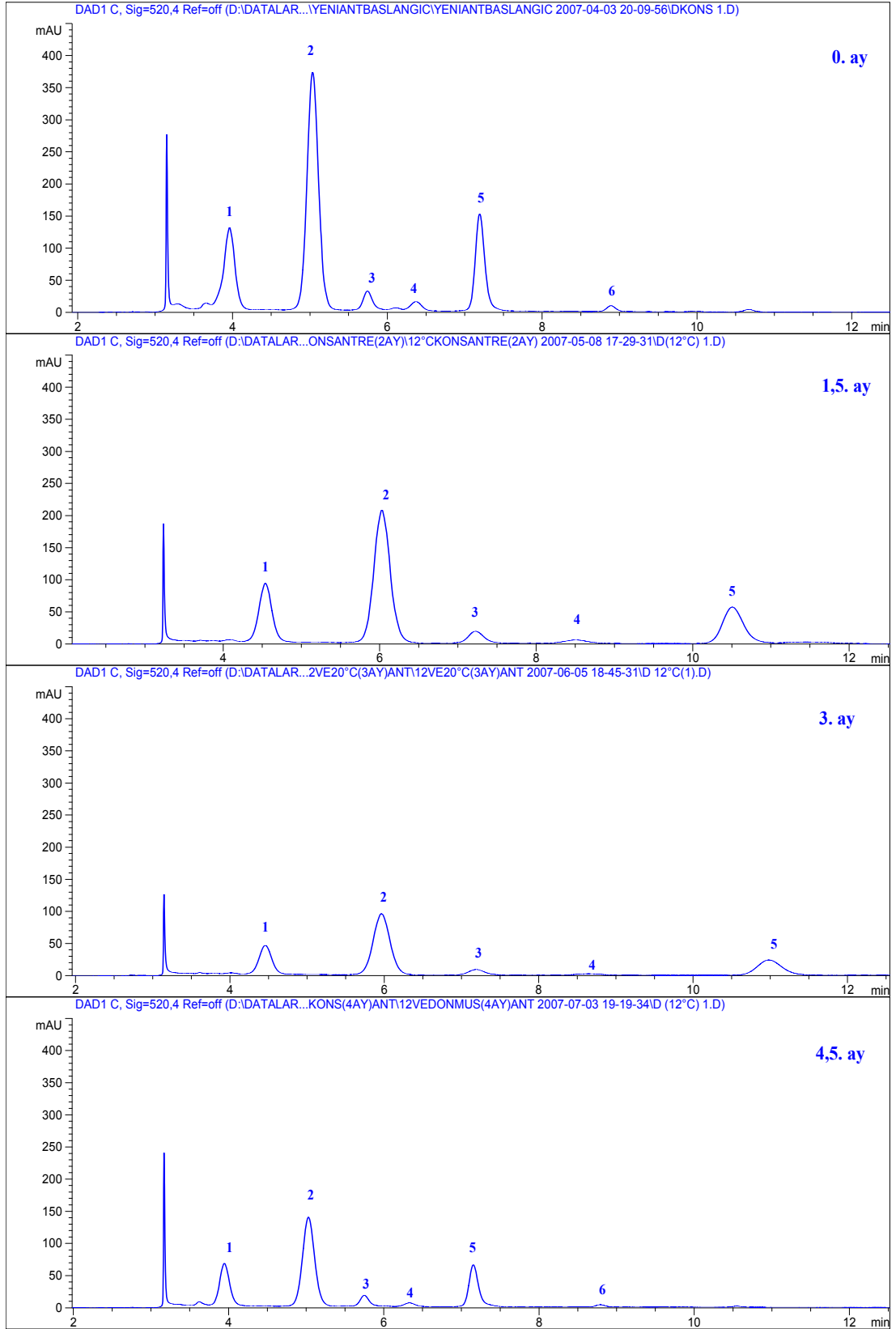
Şekil 2 5°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



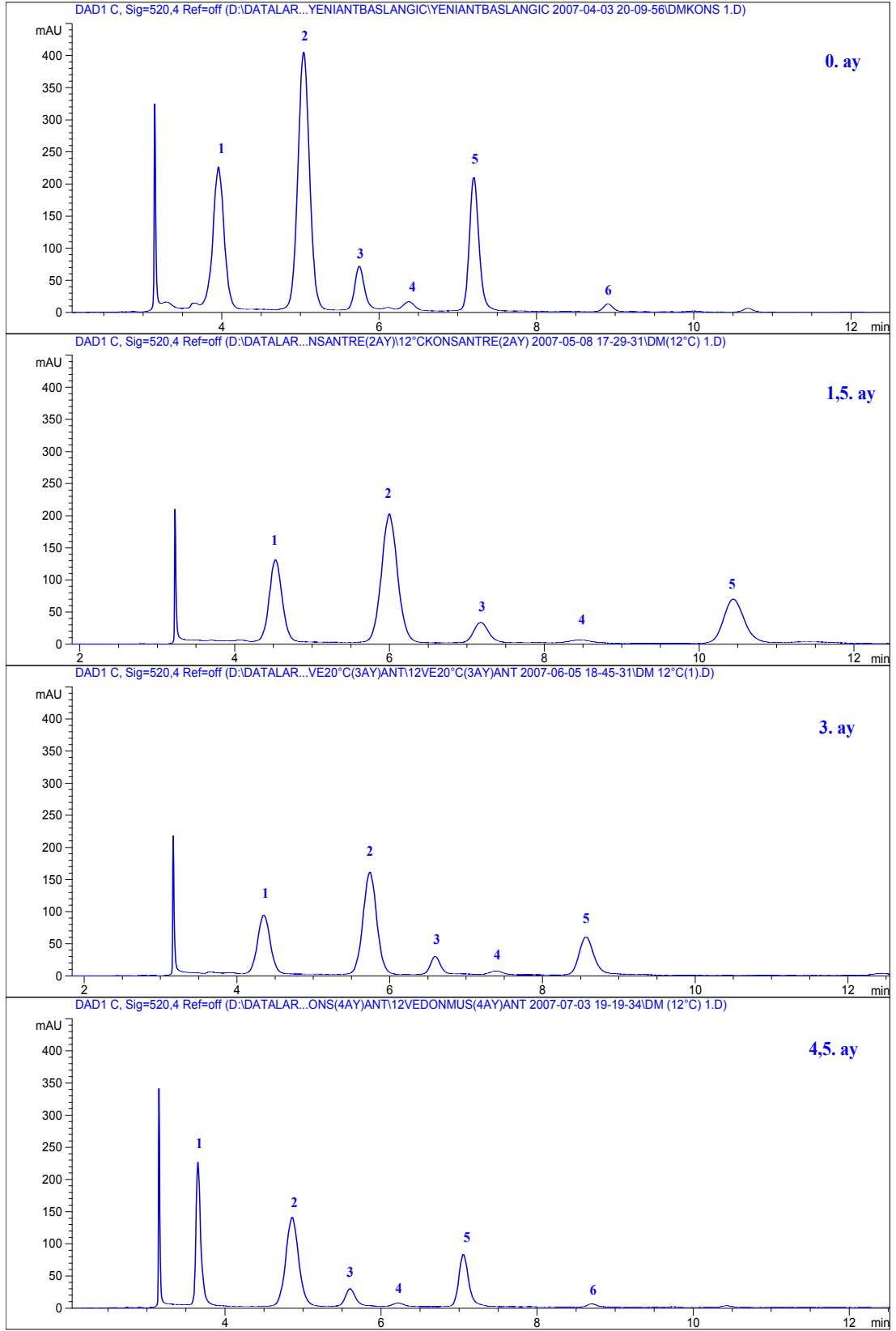
Şekil 3 5°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



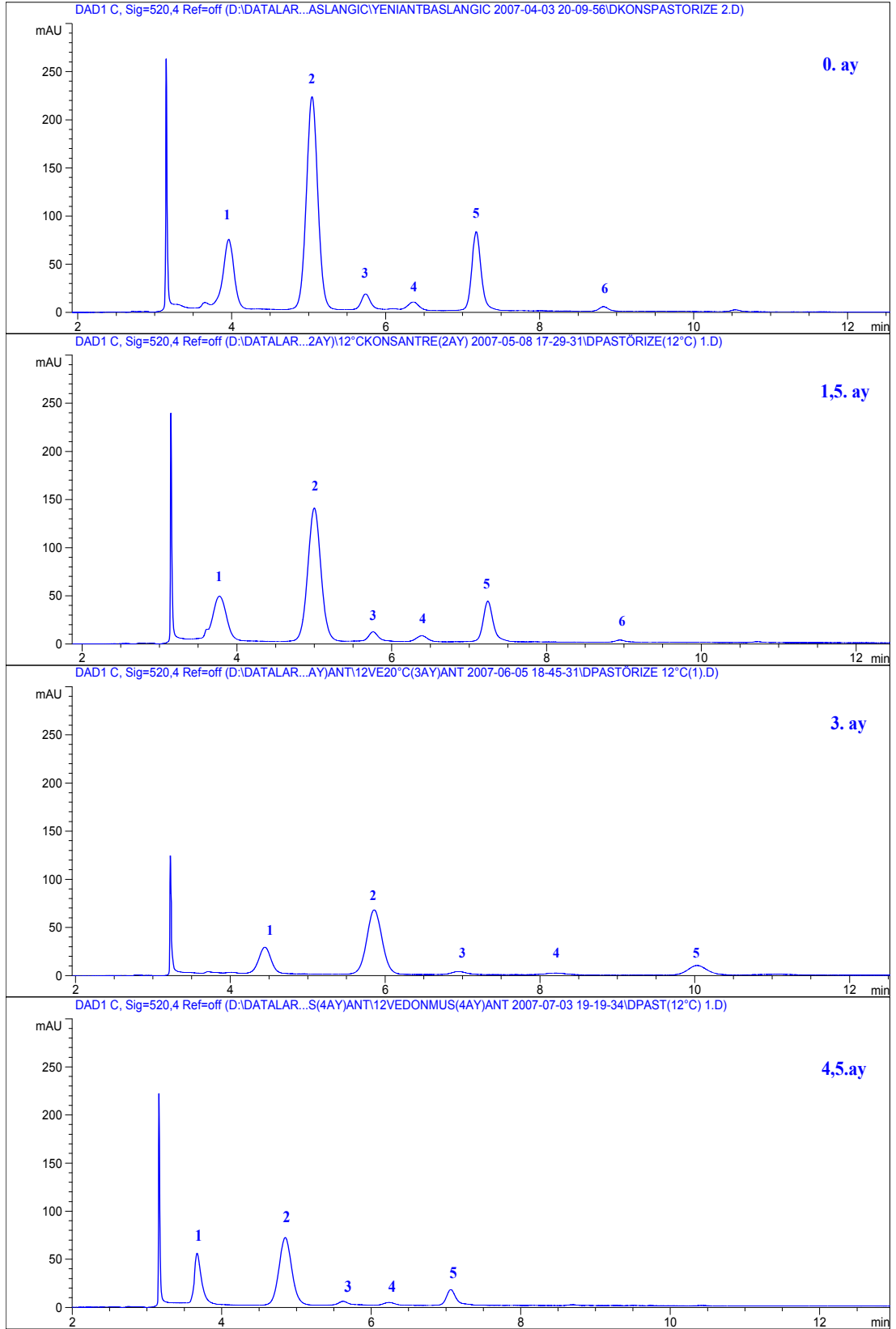
Şekil 4 5°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



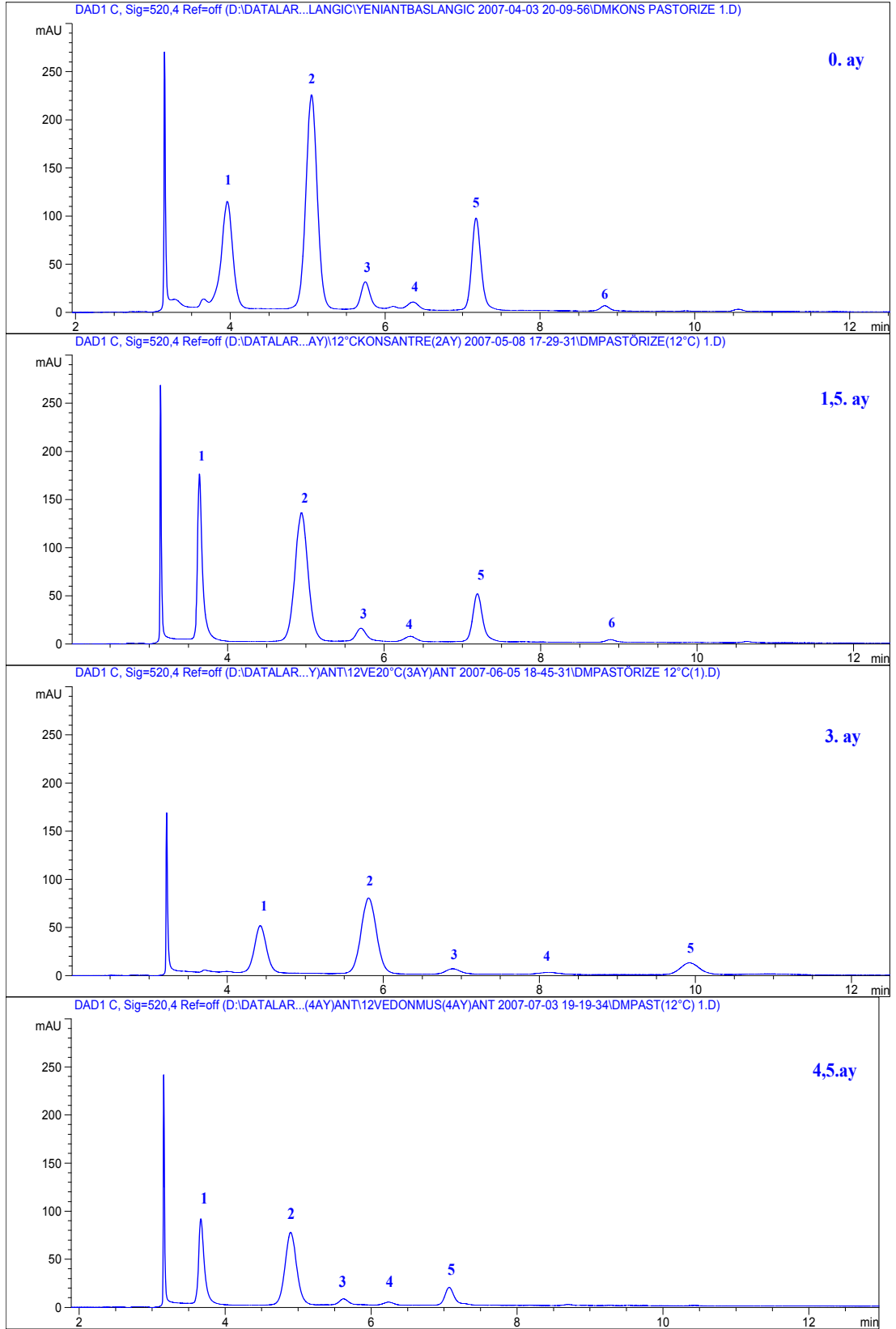
Şekil 5 12°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



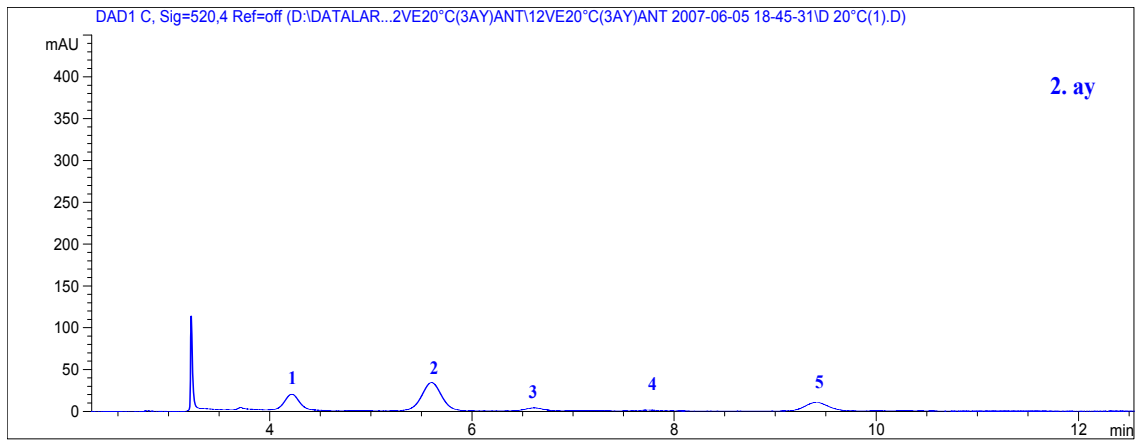
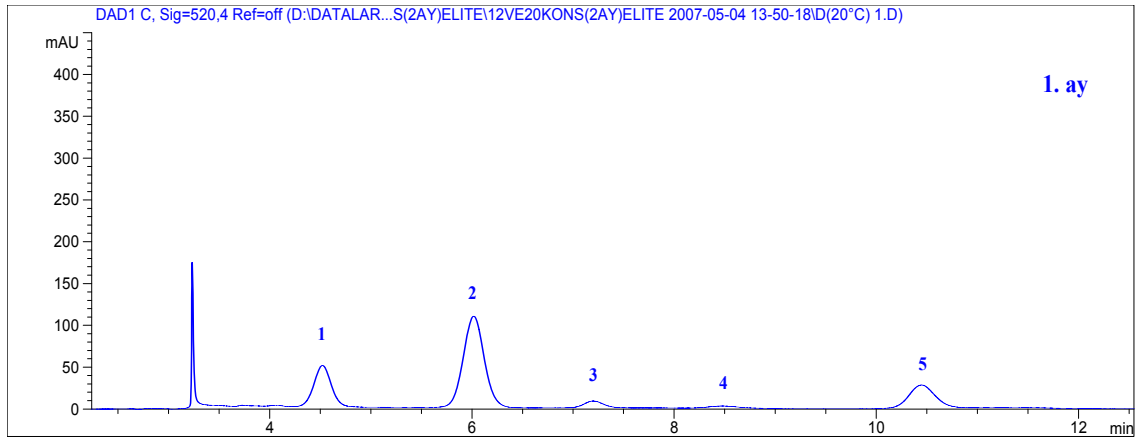
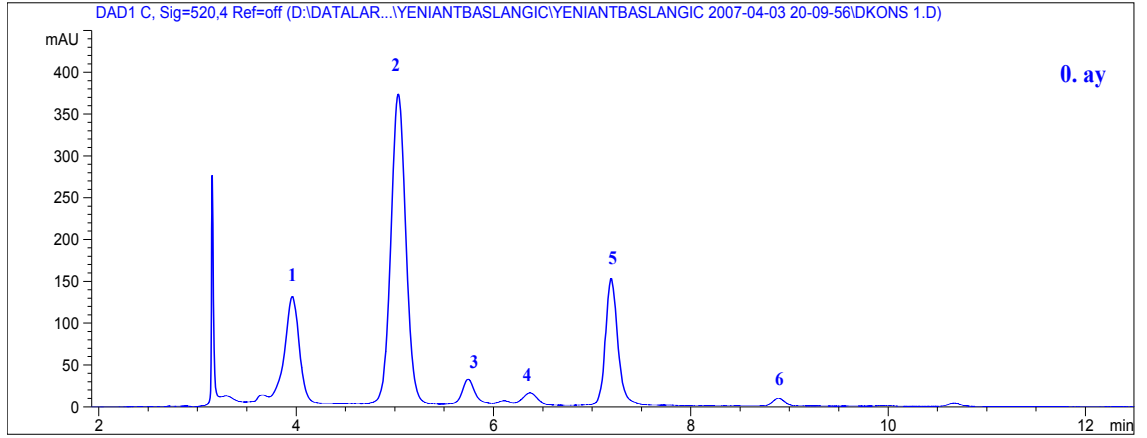
Şekil 6 12°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki HPLC kromatogramları



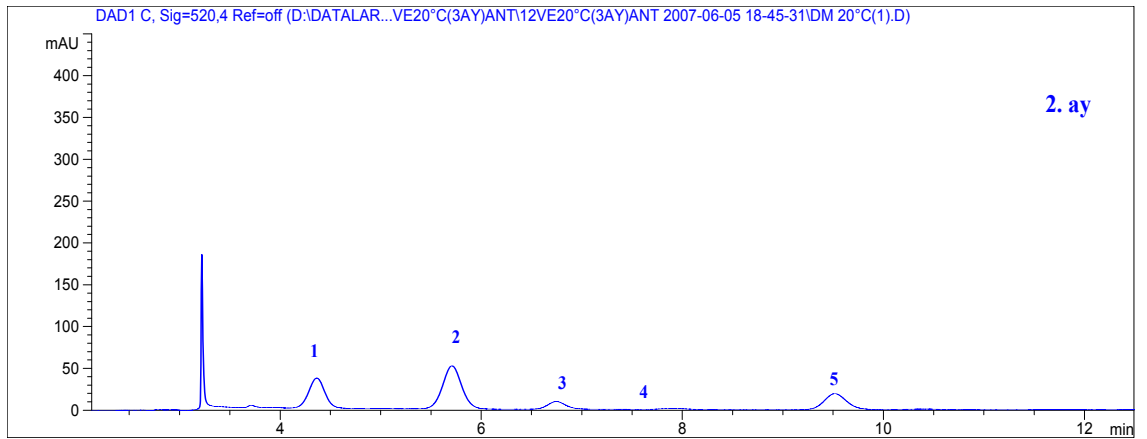
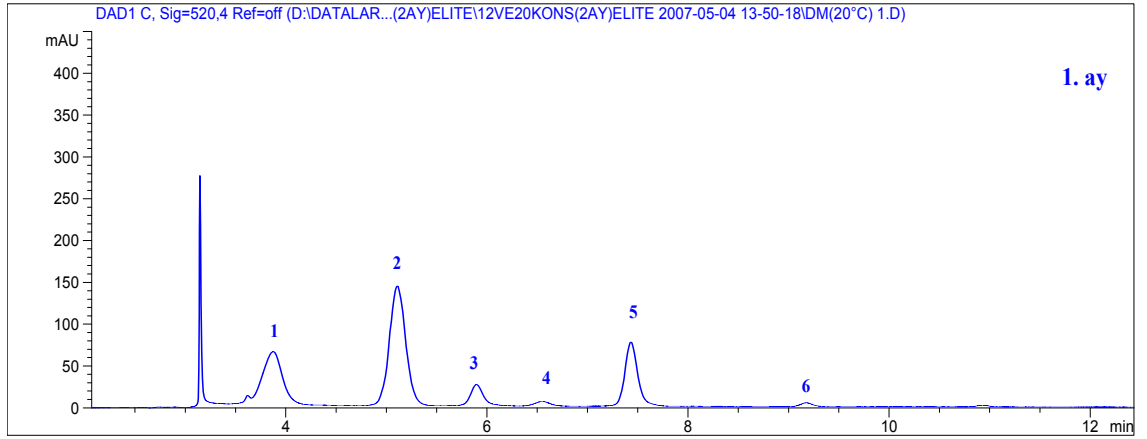
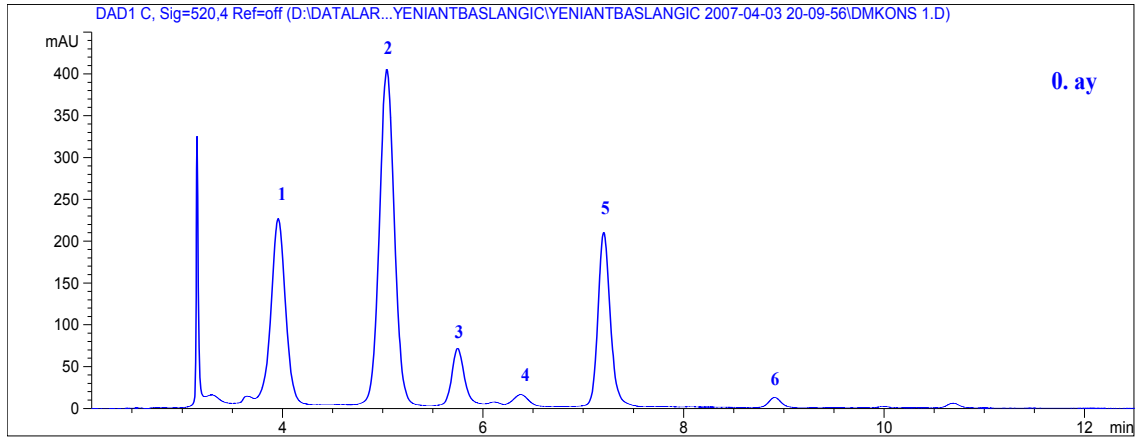
Şekil 7 12°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



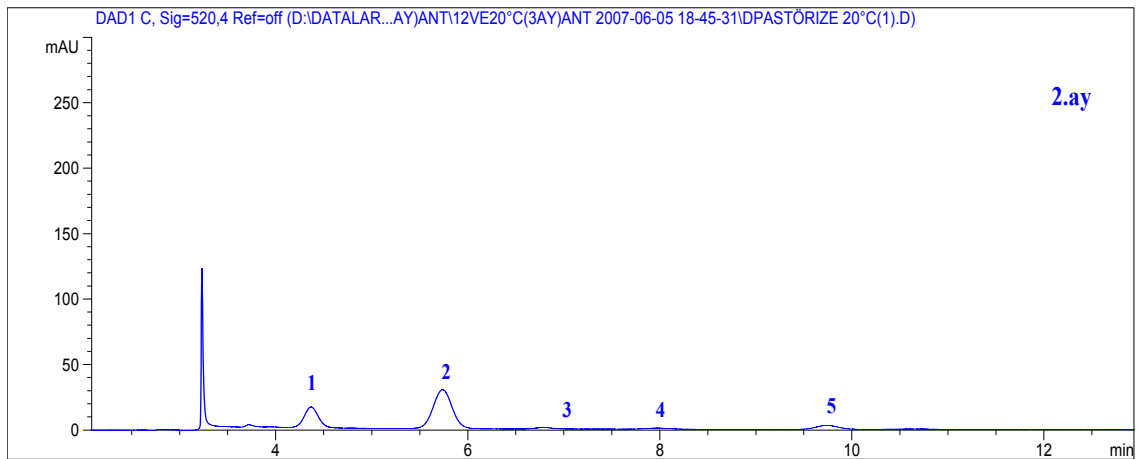
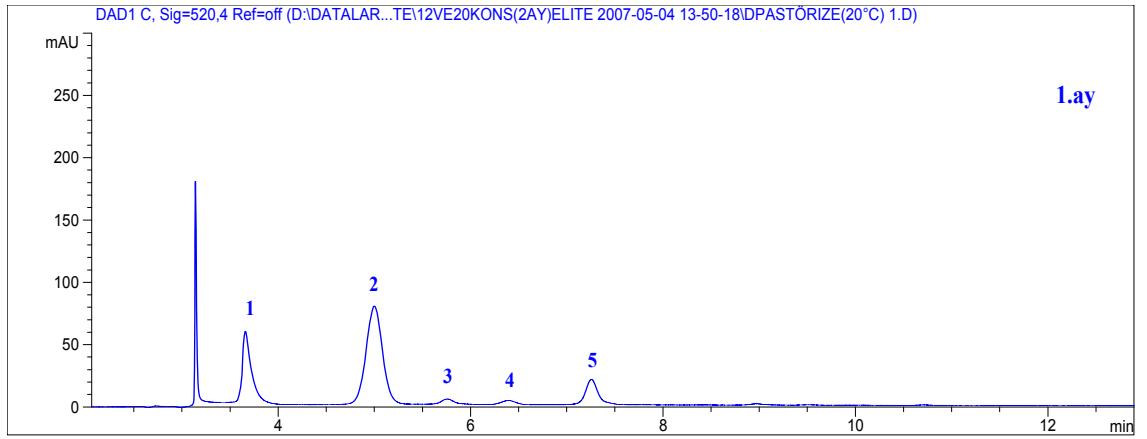
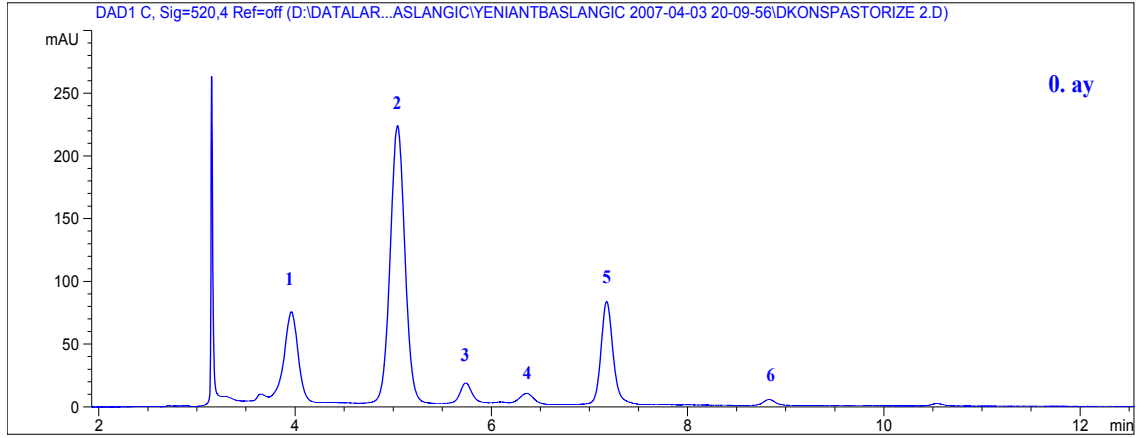
Şekil 8 12°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



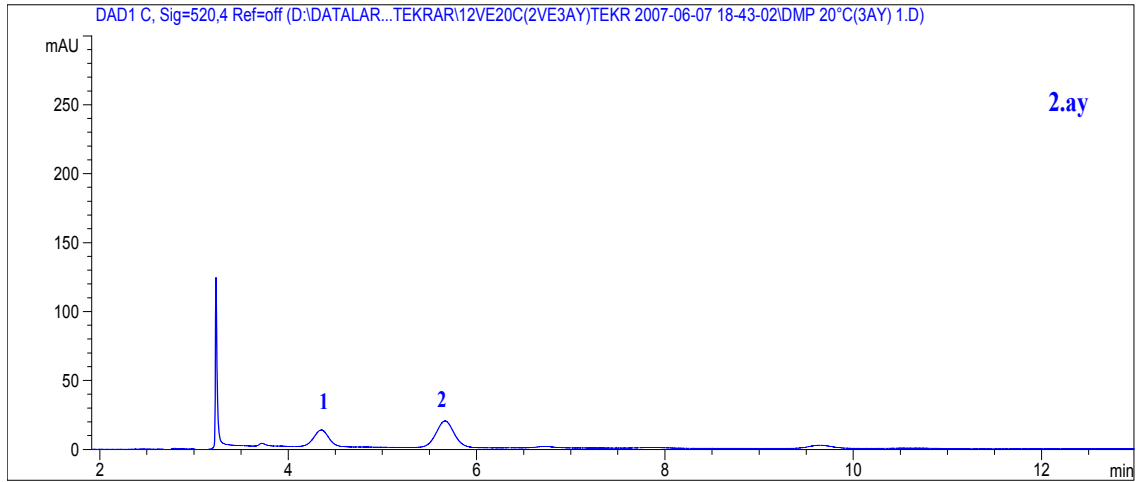
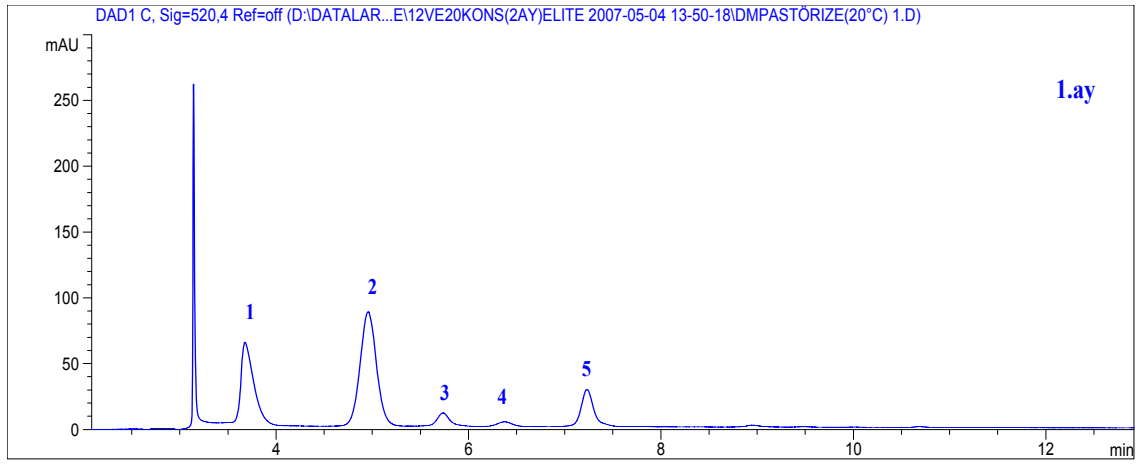
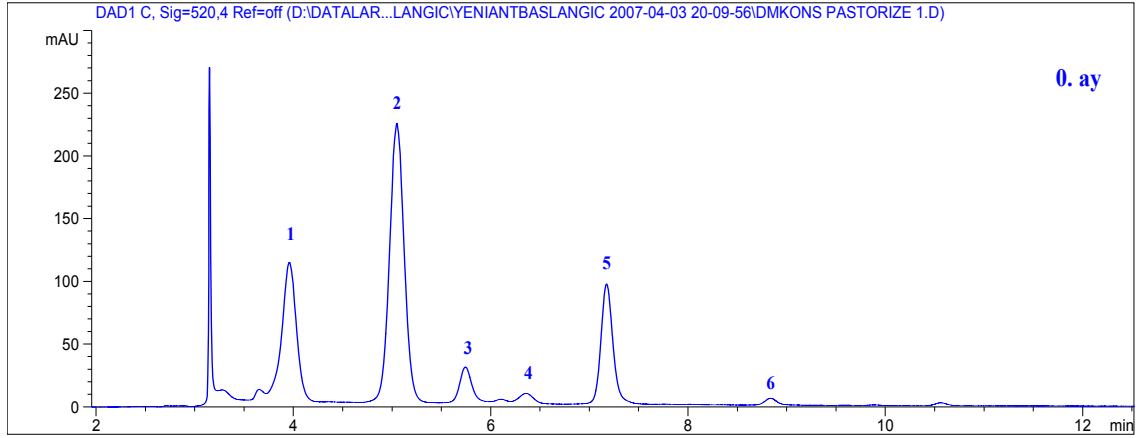
Şekil 9 20°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilmiş konsantre örneklerindeki HPLC kromatogramları



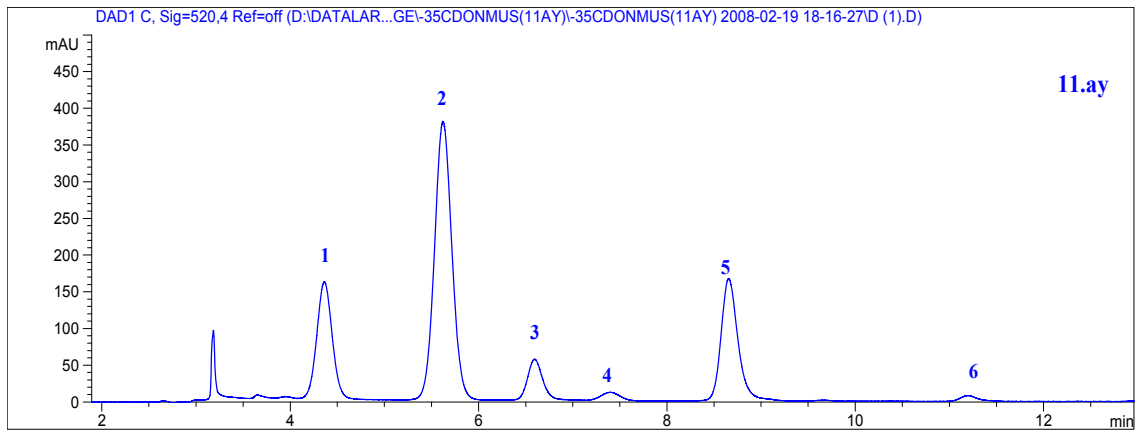
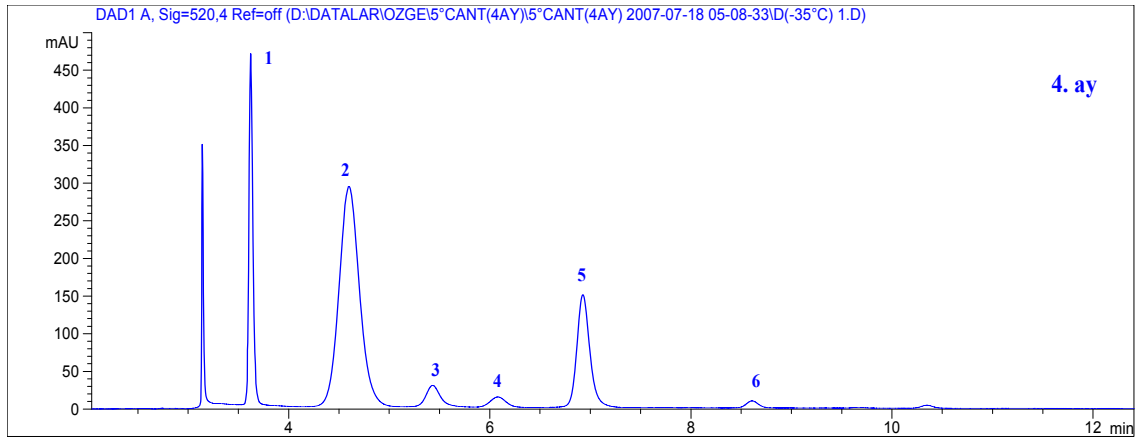
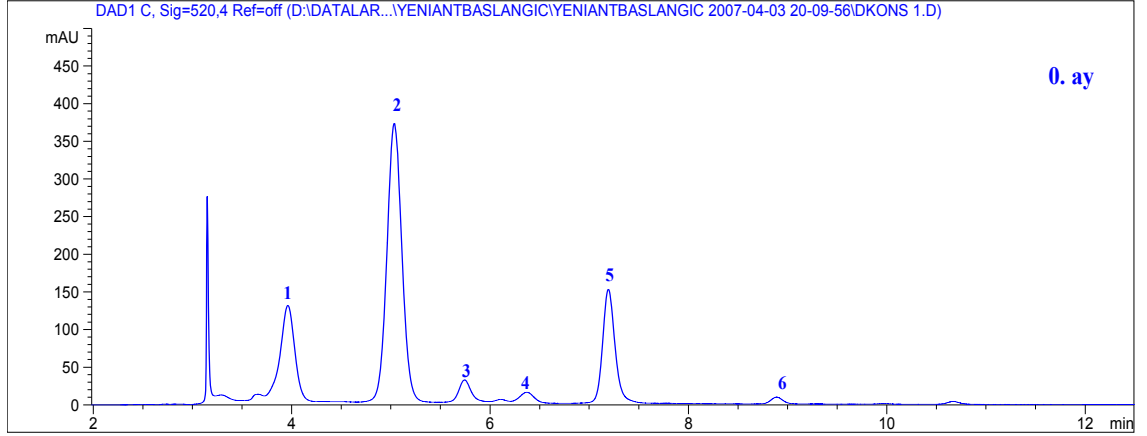
Şekil 10 20°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



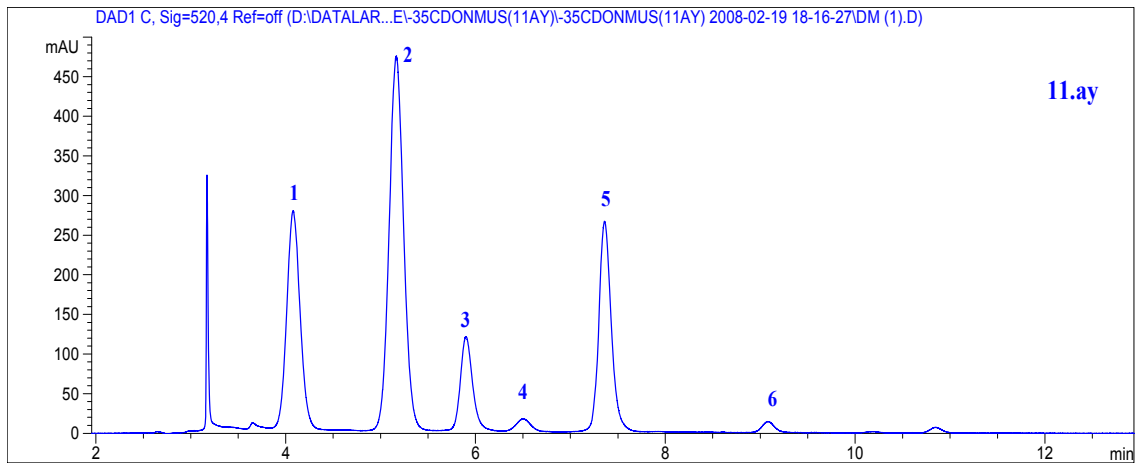
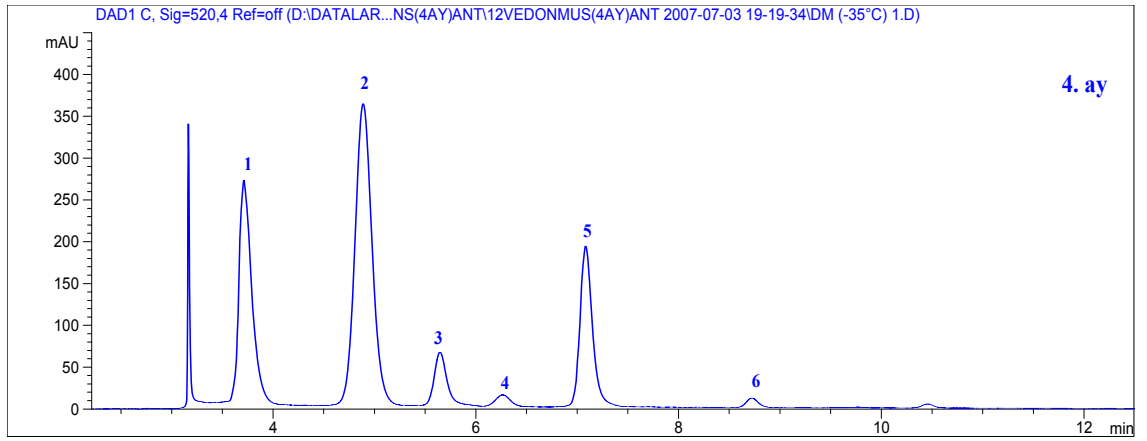
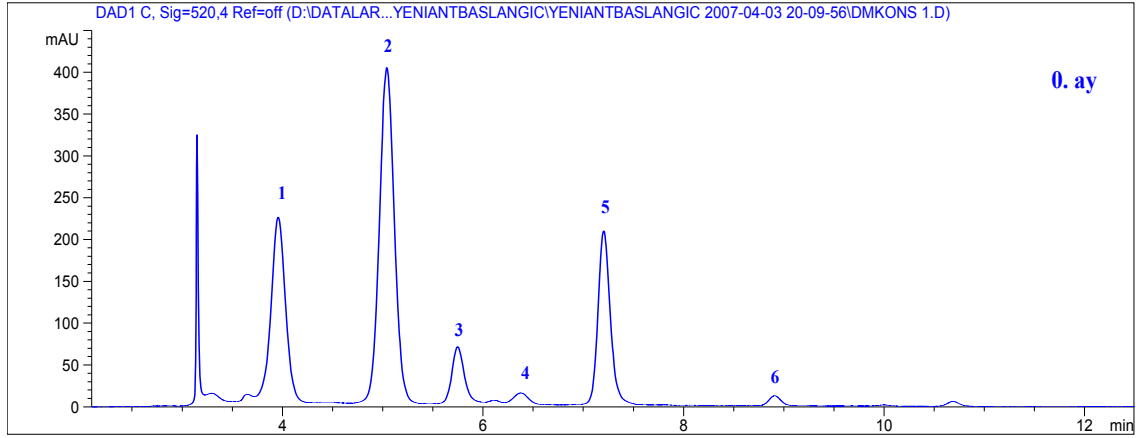
Şekil 11 20°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



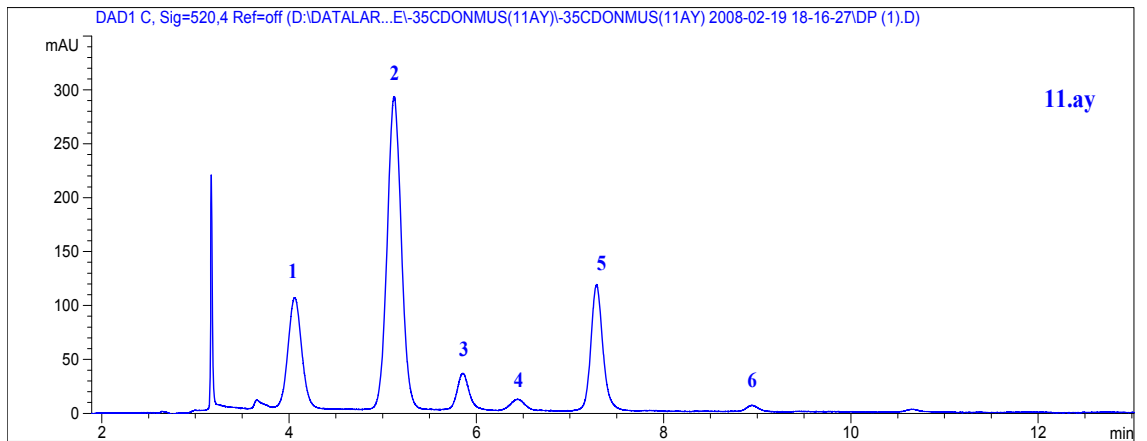
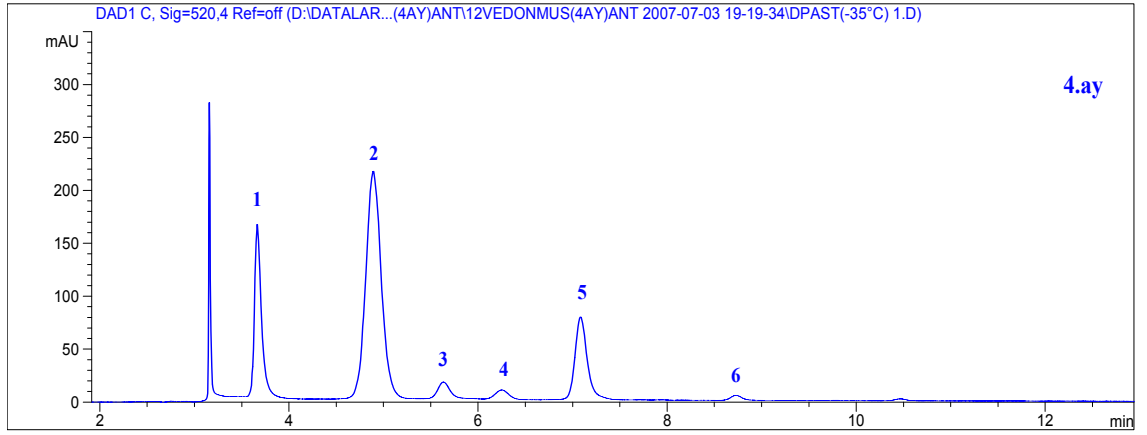
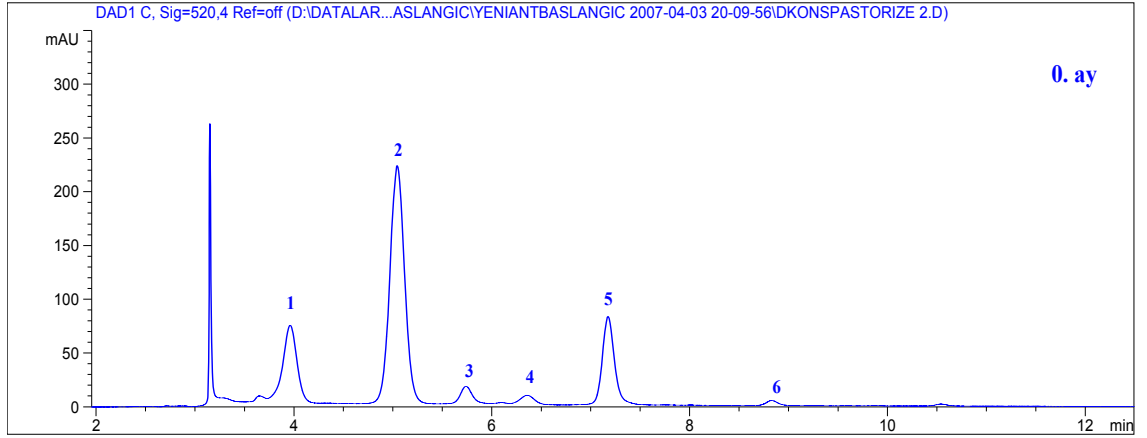
Şekil 12 20°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerinin HPLC kromatogramları



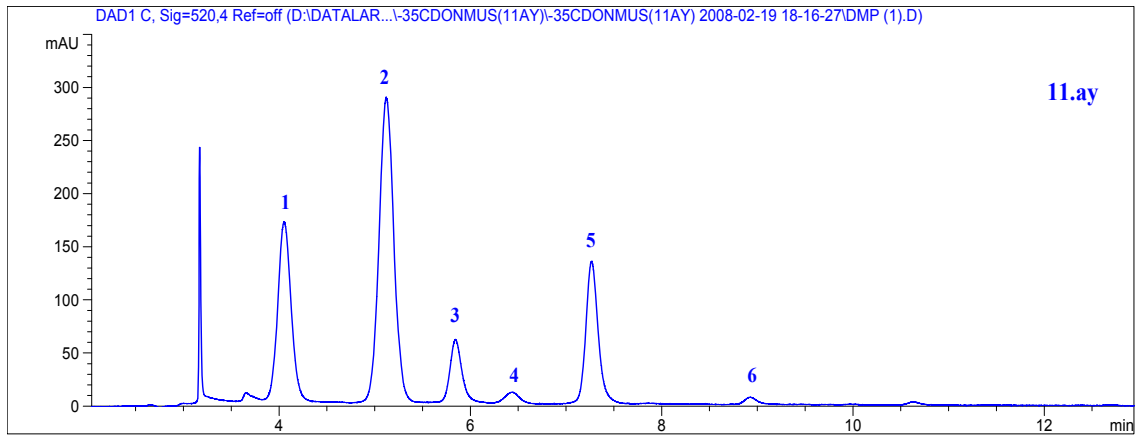
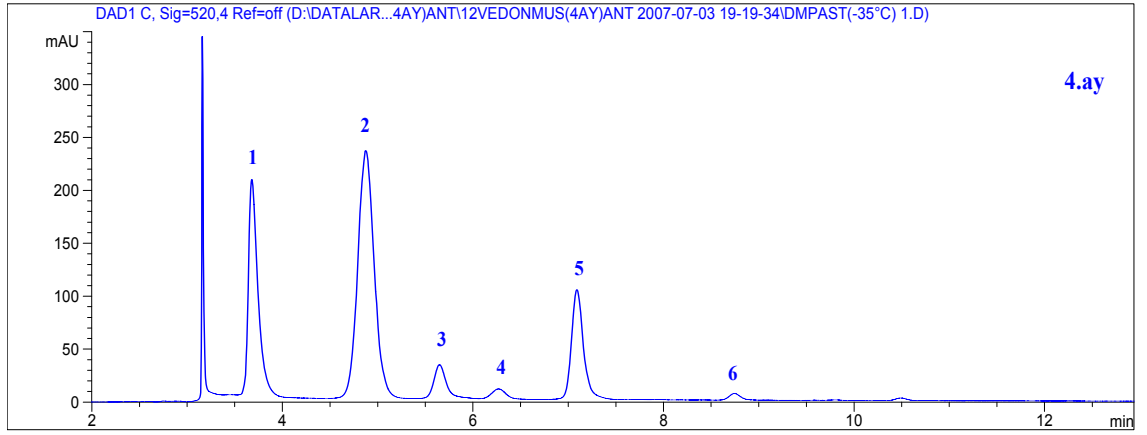
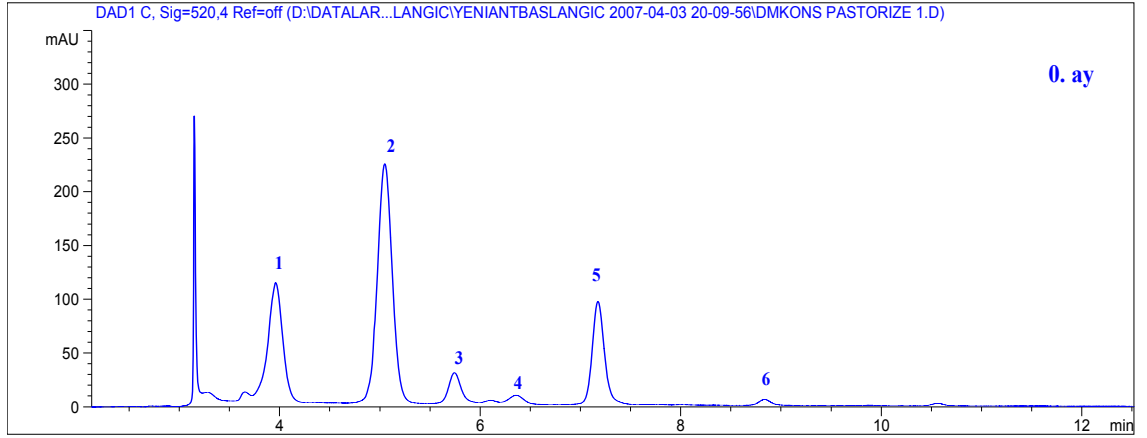
Şekil 13 –23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



Şekil 14 –23°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



Şekil 15 –23°C’de depolanan durultulmuş nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları



Şekil 16 -23°C’de depolanan durultulmamış nar sularından elde edilen pastörize edilmiş konsantre örneklerindeki antosiyaninlerin HPLC kromatogramları

EK 5 Kimyasal Malzeme Listesi

Çizelge 1 Araştırmada kullanılan kimyasal malzemelerin listesi

Kimyasalın Adı	Firma Adı	Katalog numarası
Antosiyanin Dağılımı		
Asetonitril (HPLC grade)	MERCK	100030
Asetik asit glasiyel	MERCK	100063
Metanol (HPLC grade)	MERCK	106007
Aseton (HPLC)	MERCK	100014
Kloroform	MERCK	102445
Etil asetat	MERCK	109623
HCl	MERCK	113386
Fosforik asit	MERCK	100563
Su (HPLC analizleri için)	MERCK	115333
<i>Antosiyanin standartları</i>		
Siyanidin 3-glukozid	FLUKA	52976
Siyanidin 3,5-diglukozid	FLUKA	74397
Delfinidin-3-glukozit	www.polyphenols.com	1401-1
Pelargonidin 3-glukozid	FLUKA	79576
Pelargonidin 3,5-diglukozid	FLUKA	76320
Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini		
Potasyum dikromat	MERCK	104862
Sodyum asetat	MERCK	106268

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özge TURFAN

Doğum Yeri : Antalya

Doğum Tarihi : 1982

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce, Almanca (Temel düzeyde)

Eğitim Durumu:

Lise : Metin-Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi (1993–2000)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda
Mühendisliği Bölümü (2001–2005)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı (Eylül 2005–Temmuz 2008)

Yayınları:

- ✓ Yemiş O, Turfan Ö, Özkan M. Anthocyanin and color changes during processing of pomegranate juice concentrate (poster sunumu). 2nd International Congress on Food and Nutrition, C. Alasalvar (ed.), p. 108, 24-26 October 2007, Istanbul.
- ✓ Coşkun AL, Turfan Ö, Yemiş O, Asma B M, Öztürk K, Özkan M. Effects on sulphuring methods and storage temperatures on the colour of dried apricots (sözlü sunum). 2nd International Congress on Food and Nutrition, C. Alasalvar (ed.), p. 108, 24-26 October 2007, Istanbul.
- ✓ Turfan Ö, Türkyılmaz M, Yemiş O, Özkan M. Nar suyu konsantresi üretiminde antosiyanin ve renkteki değişimler (sözlü sunum). Türkiye 10. Gıda Kongresi, s. 63, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- ✓ Coşkun AL, Turfan Ö, Yemiş O, Asma BM, Öztürk K, Özkan M. Farklı kükürtleme yöntemlerinin ve depolama sıcaklıklarının kuru kayısıların renkleri üzerine etkisi (poster sunumu). Türkiye 10. Gıda Kongresi, s. 289, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.