

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BERRAK NAR SUYU KONSANTRELERİNDE
İŞLEME SONRASI OLUŞAN TORTUNUN
KİMYASAL KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilara YALMANCI

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Oktay YEMİŞ

Eylül 2017

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BERRAK NAR SUYU KONSANTRELERİNDE
İŞLEME SONRASI OLUŞAN TORTUNUN
KİMYASAL KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilara YALMANCI

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 08/09/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Yrd.Doç.Dr.
Oktay YEMİŞ
Jüri Başkanı**

**Doç.Dr.
Mustafa KIRALAN
Üye**

**Doç.Dr.
Omca DEMİRKOL
Üye**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Dilara YALMANCI

...09.2017

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, her konuda bana destek olan, projemin her aşamasında benden yardımını esirgemeyen, beni çalışmam konusunda cesaretlendiren ve verdiği bilgiler ışığında araştırmamın en güzel şekilde, özenle ilerlemesine katkıda bulunan değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Oktay YEMİŞ'e teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar imkânlarından yararlanma konusunda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet AYAR'a ve benimle bilgi ve deneyimlerini paylaşan saygıdeğer Gıda Mühendisliği Bölümü hocalarıma teşekkür ederim. Hidrolize olabilen tanenlerin HPLC ile analizinde laboratuvar imkânlarını kullandığımız 'Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nün başta Müdürü Dr. Yılmaz BOZ'a, araştırmacıları Aysun ÖZTÜRK, Dr. Seçil ERDOĞAN, Dr. Zekiye GÖKSEL'e teşekkürlerimi sunarım. Her türlü çalışmamda benden anlayış ve desteklerini esirgemeyen hem arkadaşım hem de saygıdeğer hocalarım olan Hatice SIÇRAMAZ, İnci CERİT ve Selime MUTLU'ya teşekkür ederim.

Ayrıca bu araştırmanın maddi açıdan desteklenmesine katkı sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2015-50-01-051) teşekkür ederim. Araştırma kapsamında materyal olarak kullandığımız nar suyu konsantreleri gönderen KONFRUT Gıda San. A.Ş. (Denizli), ASYA Meyve Suyu ve Gıda San. A.Ş. (Isparta), TARGID A.Ş. (Mersin), DİMES Gıda San. ve Tic. A.Ş. (İzmir) ve LİMKON Gıda San. ve Tic. A.Ş. (Adana) firmalarına ve MEYED genel sekreteri Sayın Ebru AKDAĞ'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım ve çalışmalarım boyunca, bana her konuda destek veren ve her koşulda yanımda olan sevgili babam İlyas YALMANCI'ya, annem Meltem YALMANCI'ya ve kardeşim Doğukan YALMANCI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET.....	x
SUMMARY	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Nar Meyvesi (<i>Punica granatum L</i>)	3
2.1.1. Dünya’da ve Türkiye’de nar üretimi	5
2.1.2. Narın kullanım alanları ve ticari önemi.....	7
2.2. Nar Meyvesinin Kimyasal Bileşimi	9
2.2.1. Fenolik bileşikler.....	11
2.2.1.1. Ellajitanenler	14
2.3. Nar Suyu ve Konsantresi Üretim Aşamaları	18
2.4. Meyve Sularında Bulanıklık Unsurları.....	20
2.4.1. Bulanıklığa neden olan (Haze-Aktif) proteinlerin yapısı.....	22
2.4.2. Bulanıklığa neden olan (Haze-Aktif) polifenollerin yapısı ...	24
2.4.3. Protein-Polifenol etkileşiminin yapısı	26
2.4.4. Bulanıklık gelişiminin süreci	29
2.4.5. Nar sularında bulanıklık unsurları	31

BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE SONUÇLAR	53
4.1. Nar sularının işlenmesi ve depolanması sırasında bulanıklık oluşumları.....	53
4.2. Berrak nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklığa neden olan protein ve polifenol varlığı	57
4.3. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık unsurlarının Tanımlanması	59
4.3.1. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık unsurlarının kalitatif belirlenmesi	59
4.3.2. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık unsurlarının kantitatif belirlenmesi	62
4.3.2.1. Nar suyu ve konsantre tortularının fenolik kompozisyonun HPLC ile belirlenmesi.....	65
4.3.2.2. Nar suyu ve konsantrelerinin depolama sırasındaki değişimleri	69
4.3.2.3. Nar suyu ve konsantrelerinin hidrolize olabilen tanenlerinin tanımlanması ve depolama sırasındaki değişimleri	77
BÖLÜM 5.	
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	82
KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	91

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BSA	:	Bovine Serum Albumine
BX	:	Briks
DMFA	:	Dimetilforamid
EA	:	Ellajik Asit
EAG	:	Ellajik Asit Glukozitleri
ET	:	Ellajitanen
HA	:	Haze Aktive
HOT	:	Hidrolize Olabilen Tanen
KFM	:	Kondanse Olabilen Fenolik Madde
NS	:	Nar Suyu
NTU	:	Nephelometric Turbidity Unit
PVPP	:	PoliVinilPoliPirolidon
ROT	:	Reaktif Oksijen Türleri
SS	:	Soğuk Sterilizasyon
TA	:	Tannik Asit
TFM	:	Toplam Fenolik Madde
UF	:	Ultrafiltrasyon Tekniği

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. 1990 yılında BATEM tarafından tescillenmiş Fellahyemez nar.....	4
Şekil 2.2. 1990 yılında BATEM tarafından tescillenmiş Batem Onurnar	4
Şekil 2.3. 1990 yılında BATEM tarafından tescillenmiş Hicaznar.....	5
Şekil 2.4. Fenol halkası	11
Şekil 2.5. Ellajitanenlerin hidrolizasyon	14
Şekil 2.6. Punikalajinin hidrolizasyonu	15
Şekil 2.7. Nar suyu üretim aşamaları	19
Şekil 2.8. Protein-Polifenol etkileşimi ile bulanıklık ve çökelti oluşumu	21
Şekil 2.9. Protein – Polifenol etkileşiminin kavramsal mekanizması.....	28
Şekil 2.10. Kızılıklık suyu kokteyli için bulanıklık gelişim süreci	29
Şekil 2.11. İçeceklerde bulanıklık gelişmesinde gözlenen gelişme evresini oluşturan olası mekanizmalar.....	30
Şekil 3.1. Narların işlenmesi sırasında elde edilen verimler	35
Şekil 3.2. Nar suyu üretim akış şeması	38
Şekil 3.3. Liyofilize edilmiş toz halinde nar suyu/konsantresi tortusu	39
Şekil 3.4. BSA standart eğrisi	43
Şekil 3.5. Gallik asit standart eğrisi	45
Şekil 3.6. Kateşin standart eğrisi.....	47
Şekil 3.7. Ellajik asit standart eğrisi.....	49
Şekil 3.8. Punikalin standart eğrisi.....	51
Şekil 3.9. Punikalajin standart eğrisi.....	51
Şekil 3.10. Ellajik asit standart eğrisi.....	52
Şekil 4.1. Nar sularının işlenmesi sırasındaki bulanıklık değişimi	55
Şekil 4.2. Nar sularının depolanması sırasındaki bulanıklık değişimleri.....	55
Şekil 4.3. Tortularda mavi-siyah renk oluşumu	62

Şekil 4.4. Tortuların fenolik kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı A: 920 mAU ölçekte, B: 90 mAU ölçekte (A).....	68
Şekil 4.5. Tortuların fenolik kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı. A: 920 mAU ölçekte, B: 90 mAU ölçekte (B).....	69
Şekil 4.6. Nar suyu/konsantrelerin ellajitanen kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı.....	76
Şekil 4.7. Punikalın standardının spekturumu.....	77
Şekil 4.8. Punikalın standardının spekturumu ile örnek piklerinin spekturumunun karşılaştırılması.....	77
Şekil 4.9. Punikalajın standardının spekturumu.....	78
Şekil 4.10. Punikalajın standardının α ve β anomerlerinin spekturumlarının karşılaştırılması.....	78

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Dünya’da nar üretim ve ihracatı	6
Tablo 2.2. Türkiye’de yıllık nar üretim miktarları	7
Tablo 2.3. Türkiye’de nar piyasası	8
Tablo 2.4. Meyve suyuna işlenen nar miktarları	9
Tablo 2.5. Nar ve nar suyu için besin değerleri.....	10
Tablo 2.6. Narı meyvesinin farklı bölümlerinin fenolik bileşikleri	12
Tablo 2.7. Nar meyvesi için fenolik bileşik kompozisyonu.....	13
Tablo 2.8. Nar sularının fenolik bileşik dağılımı	17
Tablo 2.9. Sonradan bulanmaya sebep olan bileşikler ve kombinasyonları	20
Tablo 2.10. Tannik asit ilave edilmiş ve 25°C’de inkübe edilmiş örnekler için bulanıklık sonuçları.....	23
Tablo 2.11. Tannik asit ilave edilmiş ticari üzüm sularını 25°C’de inkübasyonu sonucu oluşan bulanıklık değerleri.....	24
Tablo 2.12. Tannik asit ilave edilmiş şarap örneklerinin 25°C’de inkübasyonu sonucu elde edilen bulanıklık değerleri	24
Tablo 2.13. Jelatin eklenmiş ve 25°C’de inkübe edilmiş örnekler için bulanıklık sonuçları.....	26
Tablo 2.14. Jelatin ilave edilmiş ve 25°C’de inkübe edilmiş ticari meyve suları için bulanıklık sonuçları.....	26
Tablo 2.15. Jelatin ilave edilmiş ve 25°C’de inkübe edilmiş şarap örnekler için bulanıklık sonuçları.....	26
Tablo 3.1. Optimum jelatin dozajının saptanmasında kullanılan jelatin konsantrasyonlarına karşı elde edilen bulanıklık düzeyleri	36
Tablo 3.2. Tortunun hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan gradient akış programı.....	48

Tablo 3.3. Nar suyu ve konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan gradient akış programı.....	50
Tablo 4.1. Nar sularında işleme ve depolama sırasında bulanıklık değişimi....	56
Tablo 4.2. Berrak nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklığa neden olan protein ve polifenol varlığının tespit edilmesi	58
Tablo 4.3. Nar suyu konsantrelerinde 12 aylık depolama süresince bulanıklık değişimi.....	61
Tablo 4.4. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde tanen veya tanen-protein varlığının tespit edilmesi.....	62
Tablo 4.5. Nar suları ve konsantrelerinden toplanan tortunun protein, TFM ve ellajik asit içerikleri.....	63
Tablo 4.6. Nar suları ve konsantrelerinin 12 aylık depolama periyodunun sonunda pH, asitlik, TFM ve KFM içeriğindeki değişimler.....	72
Tablo 4.7. Nar suları ve konsantrelerinin 12 aylık depolama sonucunda hidrolize olabilen tanen içeriğindeki değişimler.....	80

ÖZET

Anahtar kelimeler: Nar suyu, konsantre, bulanıklık unsurları, tortu, hidrolize olabilen taneler, ellajik asit

Bu çalışmada, berrak nar suyu/konsantrelerinin şişeleme/işleme sonrası meydana gelen sonradan bulanma unsurları ve tortuları, hem kalitatif hem de kantitatif olarak tanımlanmıştır. Bu amaçla konsantre örnekleri, ülkemizde endüstriyel olarak üretim yapan beş farklı büyük meyve suyu fabrikasından temin edilmiştir. Nar suları ise tarafımızdan işlenmiş ve jelatin yardımı ile durultulmuştur. Elde edilen nar suları/konsantreleri +5°C'de 12 ay süreyle depolanmıştır.

Nar sularının pastörizasyonunda uygulanan ısı işleminin (90°C, 1 dak) bulanıklık oluşumu üzerine çok ciddi bir etkisi olduğu anlaşılmıştır. Bütün berrak nar suları/konsantrelerinin depolanma süresinin sonunda, bulanıklık unsurlarının tortu halinde çöktüğü saptanmıştır. Oluşan bulanıklık ve tortuların tanen veya tanen-protein kaynaklığı olduğu tespit edilmiştir. Depolama sonunda nar sularından elde edilen tortuların kuru madde üzerinden yaklaşık %40'nun toplam fenolik madde (TFM) ve %10'nun proteinden oluştuğu anlaşılmıştır. Meyve sularının aksine, endüstriyel nitelikteki konsantre örneklerinin protein içeriğinin iz miktarda (%0.5, km) buna karşın TFM içeriğinin %57-70 aralığında olduğu saptanmıştır. Konsantrelerden elde edilen tortuların kuru madde üzerinden %19-27'sinin sadece ellajik asitten oluştuğu görülmüştür.

Nar suları/konsantrelerin hidrolize olabilen tanen (HOT) kompozisyonları HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Punikalın, punikaljin, ellajik asit ve ellajik asit türevleri HOT bileşikleri olarak hem nar sularında hem de konsantre örneklerde tanımlanmıştır. 12 aylık depolama periyodunun sonunda, nar sularının HOT içeriklerinin neredeyse tamamının parçalandığı görülürken, konsantre örneklerin ise %50'ye varan oranlarda parçalandığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, nar suyu/konsantrelerinde depolama sonunda oluşan tortunun, nar suyunun yapısında doğal olarak bulunan HOT'lerin meyve suyunun doğal asidik ortamında zamanla hidrolize olarak suda çözünmez nitelikteki ellajik asite dönüşmesinden kaynaklandığı anlaşılmıştır.

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF SEDIMENT FORMED POST-BOTTLING IN CLARIFIED POMEGRANATE JUICE AND CONCENTRATES

SUMMARY

Keywords: Pomegranate juice, concentrate, haze, sediment, hydrolysable tannins, ellagic acid

This study was conducted to identify and quantify the post-bottling/after processing haze formation sources and sediment in clarified pomegranate juices/concentrates. Industrial concentrates samples were obtained from five different major concentrated fruit juice factories in Turkey. Pomegranate juices were produced with cold clarification method (gelatin) in our laboratory. Clarified pomegranate juices/concentrates were stored at +5°C for 12 months.

The process of pasteurization (90°C, 1 min) of pomegranate juices resulted in dramatic increases on the haze formation. Haze formation in all pomegranate juices/concentrates was clearly observed as visible, and then these haze sources precipitated at bottom of bottles. The qualitative tests showed that the hazes and sediments were mainly tannins or tannin-protein complexes. The lyophilized sediment obtained from pomegranate juice contained approximately 40% total phenolic content (TPC) and 10% protein on a dry-weight basis. Whereas the lyophilized sediment obtained from industrial pomegranate juice concentrates showed higher values ranging from 57-70% total phenolic content (TPC) and trace amount protein (0.5%, dwb). The lyophilized sediment obtained from industrial pomegranate juice concentrates was found to be 19-27% of ellagic acid on a dry-weight basis.

The composition of hydrolysable tannins in pomegranate juices/concentrates was determined by HPLC method. Punicalagin, punicalin, ellagic acid and ellagic derivatives are major hydrolysable tannins in pomegranate juices/concentrates. Degradation percentage of hydrolysable tannins in pomegranate juices was 98%, whereas a 50% degradation in industrial pomegranate juice concentrates was observed. In conclusion, this study revealed that the reason of sediment in pomegranate juices/concentrates was the conversion of hydrolysable tannins to insoluble ellagic acid during storage.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Nar, sahip olduğu biyoaktif bileşiklerden dolayı bugün en popüler meyvelerden bir tanesidir. Bu popülaritenin altında yatan temel neden, dane ve daha yoğun bir şekilde kabukta yer alan çok yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerdir. Bugün nar, ‘süper meyveler’ (super fruits) olarak sınıflandırılan meyveler arasında birinci sırada yer almakta olup, bunun nedeni bu söz konusu biyoaktif nitelikteki fenolik bileşikleri yoğun bir şekilde içermesidir. Nar, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra büyük oranda meyve suyuna işlenerek değerlendirilmektedir. Ayrıca bu zengin bileşim öğelerinden dolayı nar ve bundan elde edilen ürünlerin, gıda maddesi olarak tüketilmesinin yanı sıra ilaç, kozmetik ve kimya sanayinde kullanımları söz konusudur.

Yüksek bir toprak ve iklim toleransına sahip olan nar meyvesinin başta Hindistan, İran ve Çin olmak üzere otuza yakın farklı ülkede yetiştiriciliği yapılmaktadır (Kurt ve Şahin, 2013). Ülkemizde birçok farklı nar varyetesi yetişmekte olup, bunların bugün 43 tanesi tescillenmiştir (Yılmaz, 2007). ‘Hicaznar’ bu tescilli çeşitler arasında yoğun kırmızı rengi ve çok ekşi olmaması nedeniyle hem sofralık hem de endüstriyel olarak en çok talep edilen ve yetiştiriciliği yapılan çeşittir. Anadolu coğrafyasının özellikle Akdeniz ve Ege ikliminin hakim olduğu yerlerde son yıllarda artan bu popülariteye bağlı olarak büyük miktarlarda nar üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye, 2015 yılı verilerine göre (TÜİK, 2015) 445,750 ton üretim miktarı ile dünyada dördüncü büyük üretici konumundadır. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği (MEYED) 2015 verilerine göre bu üretim değerinin yaklaşık %20’si (91,2 bin ton) meyve suyu endüstrisi tarafından konsantreye işlenmektedir (Akdağ, 2015). Son yıllarda nar üretimindeki bu ciddi artış, meyve suyu endüstrisinin konsantreye işlediği ve önemli gelirler elde ettiği bir ürün haline gelmesine neden olmuştur.

Berraklık, işlenmiş berrak meyve sularında ve bunlardan üretilen konsantrelerde en önemli kalite kriterlerinden birisidir. Bilindiği üzere ülkemizde ve tüm dünyada narlar berrak meyve suyuna işlenmektedir. Endüstriyel nar suyu/konsantresi üretiminde, narlar ilk önce danelenmekte ve preslenerek nar ham suyu elde edilmektedir. Elde edilen bu nar ham suyu, depektinizasyon ve berraklaştırma basamaklarından oluşan durultma işlemine tabi tutularak berrak nar suyu dönüştürülmektedir. Ancak nar suyu üretiminde, kristal berraklıkta elde edilen bu meyve suyu berraklığını koruyamamakta ve bulanıklık öğeleri zamanla çözünmeyen bir tortuya dönüşerek ambalaj materyalinin dibinde çökelti oluşturmakta bu da endüstri açısından büyük bir problem oluşturmaktadır. Nar sularında/konsantrelerinde oluşan bulanıklık ve tortu sağlık açısından herhangi sorun oluşturmamasına karşın berrak nitelikte bir içecek için çok ciddi bir kalite kaybıdır. Çünkü berrak nitelikteki bir içeceğin tüketici üzerindeki ilk etkisi görsel olarak gerçekleşmekte ve tüketicinin satın alma veya almama kararına direkt olarak etki etmektedir.

Berrak nar suyu/konsantrelerinin berrak halde şişelendikten sonra depolanmaları sırasında meydana gelen bulanma problemi, diğer berrak meyve sularında olduğu gibi protein-polifenol interaksiyonu, polifenollerin polimerizasyonu/kondenzasyonu veya nişasta kaynaklı reaksiyonlarla ilişkilendirilebilir. Ancak bugüne kadar birçok berrak meyve suyunun tortusuna ilişkin araştırmalar mevcut iken nar suyu/ konsantrelerinde oluşan bulanıklık ve tortu unsurlarının kimyasal karakterizasyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Gerçekleştirilen bu yüksek lisans tezi ile ülkemiz için önemli bir ihraç ürünü olmaya aday olan berrak nar suyu ve konsantresinde üretimden sonra meydana gelen ve önemli bir endüstriyel problem olan bulanıklık unsurlarının kimyasal kompozisyonu ilk defa ayrıntılı olarak belirlenmiştir.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nar Meyvesi (*Punica granatum L.*)

Çok yıllık bir bitki olan nar meyvesinin (*Punica granatum L.*) bugüne kadar yapılan birçok çalışmada botanik sınıflandırmada *Punicaceae* familyasına ait olduğu bildirilmiştir. Ancak yapılan son moleküler çalışmalar aslında *Lythrace* familyasının (Kınagiller) *Punica* cinsi olarak tanımlanması gerektiğini ortaya koymuştur. Nar ismini “Pomuni granatum-çekirdekli elma” dan almıştır. Nar meyvesinin diğer bir ismi ise Finike uygarlığının bir kolonisi olan Kartacalıların Akdeniz Bölgesi’nde nar ticareti yapmaları sebebiyle “Kartaca (Fenike) Elması” olarak anılmaktadır. Günümüz A.B.D’inde ise “çekirdekli elma” (Seedy Apple) nar meyvesine verilen isimdir (Stover ve Mercure, 2007; Kurt ve Şahin, 2003). Bugün subtropik ve tropik iklimlerde tarımı yapılan nar meyvesinin yetiştiriciliğinin M.Ö. 3000 yıl öncesine dayandığı bilinmektedir. Beş bin yıllık bir geçmişe sahip olan nar yetiştirilip tüketildiği her toplum tarafından farklı anlamlar yüklenmiş olan, kutsal kitaplarda da kendisinden bahsedilen özel bir meyvedir. Çok eski bir tarihe sahip olan nar bitkisi buna paralel olarak farklı renkte ve tatda çok fazla sayıda çeşide sahiptir. Meyve çok daneli ve etli tohumlardan oluşup, dane rengi beyazdan koyu kırmızıya kadar değişik renk tonlarında olabilmektedir. Potasyum ve karbonhidrat açısından zengin olan bu meyve tatlı, ekşi ve mayhoş olarak gruplandırılmaktadır (Kurt ve Şahin, 2013). Akdeniz Bölgesi’nde yürütülen bir çalışmaya göre nar meyvesi 3 pomolojik gruba ayrılmıştır.

1. Tatlı Narlar; orta irilikte, yeşil-sarı renkli ve ince meyve kabuğuna sahip meyvelerdir. Kabuk üst rengi pembe ve kırmızı olan tatlı nar sayısı çok azdır. Nar daneleri sarı-beyaz veya pembe renklidir. Dane boyutu iri olmakla beraber çekirdekler küçüktür. Titrasyon asitlikleri %1’den azdır.



Şekil 2.1. Fellahyemez nar (BATEM, 2017)

2. Ekşi Narlar; küçük boyutta, sarı zemin üzerine büyük oranda kırmızı renkli ve kalın kabuklu meyvelerdir. Nar daneleri koyu renkli ve küçüktürler. Çekirdekleri iri ve serttir. Su oranları düşüktür. Titrasyon asitliği %2'den fazladır.



Şekil 2.2. Onurnar (BATEM, 2017)

3. Mayhoş Narlar; meyveleri çok iridir. Bunun dışındaki diğer özellikleri tatlı ve ekşi narların özelliklerine benzerlik göstermektedir. Titrasyon asitliği %1-2 arasındadır (Onur, 1982).



Şekil 2.3. Hicaznar (BATEM, 2017)

Pek çok nar çeşidinin yetiştiği ülkemizde Tarım Bakanlığı'na bağlı araştırma enstitüleri bünyesinde yürütülen çalışmalar çerçevesinde bugün 43 farklı nar çeşidi tescillenmiş durumdadır. Ülkemizde en yaygın yetiştirilen ve ihracatı yapılan başlıca nar çeşidi, kırmızı kabuklu, koyu kırmızı daneli ve mayhoş-ekşi (ort. asitlik %1,8) bir tada sahip olan “Hicaznar”dır. Bu çeşit verimliliğinin bol olması, taşımaya ve muhafazaya uygun olması sebebiyle Avrupa ülkelerinde de beğeni kazanmış ve ihracatı her yıl artmıştır. Hicaznar 1990 yılında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından tescil ettirilmiş bir nar çeşididir. Ülkemizde Hicaznar dışında tescillenmiş diğer bazı nar çeşitleri, Katırbaşı, Aşınar, Silifke Aşısı, Çekirdeksiz- VI, Eksilik, Ernar, Fellahyemez, Batem Esinnar, Batem Onurnar, Batem Hicrannar, Batem Yılmaznar, İzmir-1453 ve Lefan'dır (Yılmaz, 2007; BATEM, 2017).

2.1.1. Dünya'da ve Türkiye'de nar üretimi

Nar bitkisi, hem iklim koşullarına olan adaptasyonu hem de toprak şartları açısından gösterdiği yüksek tolerans sayesinde dünyanın pek çok bölgesinde yetiştirilebilmektedir. Pek çok kaynakta narın anavatanı olarak İran, Kafkasya ve Hindistan çevresi gösterilmektedir ancak Anadolu ve tüm Akdeniz Havzası da dâhil olmak üzere çok geniş bir coğrafyada nar bitkisi yüzyıllardır yetiştirilmektedir. Nar üretim miktarlarına ilişkin düzenli olarak tutulan resmi istatistikler mevcut değildir

ancak nar yetiştiriciliği ile ilgili önde gelen ülkeler ve üretim miktarları Tablo 2.1.'de gösterilmektedir. Hindistan, İran ve Çin dünya nar üretiminin yaklaşık %75'ni karşılarken, Türkiye artan üretimi ile bu üç ülkeyi takip etmektedir. Fas, Tunus, İsrail, Ermenistan, Gürcistan, Kırgızistan, Tacikistan, Arjantin, Avustralya, Güney Afrika ve Peru nar yetiştiren diğer ülkeler arasında yer almaktadır (Kurt ve Şahin, 2013).

Tablo 2.1. Dünya'da nar üretim ve ihracatı (BATEM, 2012; TÜİK, 2012)

Ülke	Üretim (TON)	İhracat (TON)
Hindistan	1 140 000	35 000
İran	705 000	60 000
Çin	700 000	-
Türkiye	217 572	86 271
A.B.D.	120 000	17 000
Irak	100 000	-
İspanya	80 000	40 000
Suriye	70 000	-
Azerbaycan	60 000	15 000
Afganistan	60 000	1000

Türkiye'de nar yetiştiriciliği oldukça eskilere dayanmakla beraber 2000'li yıllardan itibaren önem kazanmaya başlamıştır. Ülkemizde başta Antalya olmak üzere en fazla Muğla, Denizli, Aydın, Mersin, Gaziantep, Hatay ve Adana illerinde üretim gerçekleştirilmektedir. 2000'li yıllardan sonra bu meyveye yurt dışı talebin artması ve Tarım Bakanlığı'nın teşviki ile sertifikalı fidanlardan oluşan yeni nar bahçeleri kurulmuştur. Türkiye istatistik kurumu verilerine göre 1999 yılında 46 bin 80 dekar olan Türkiye nar üretimi, yıllık ortalama %16 seviyesinde artış ile 2008 yılında 176 bin 197 dekar olmuştur. Bu üretim alanlarından elde edilen nar miktarları ise 1999 yılında 58 bin ton iken 2008 yılında 127 bin 760 tona çıkmıştır. 2010 yılı verileri incelendiğinde ise 208 bin 502 ton olan toplam nar üretimi beş yıl içerisinde ikiye katlanmış, 2015 yılında 446 bin tona ulaşmıştır. TÜİK verilerine göre diğer yıllarda elde edilen nar miktarları ise Tablo 2.2.'de gösterilmektedir.

Tablo. 2.2. Türkiye’de yıllık nar üretim miktarları (bin ton) (TÜİK,2015)

Yıl	2010	2011	2012	2013	2014	2015
NAR	208	218	315	383	397	446

Türkiye’de nar yetiştiriciliği coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. TÜİK 2010 verilerine göre toplam üretimin yaklaşık % 60’ına (125,065 ton) yakını Akdeniz Bölgesinden elde edilmektedir. Özellikle Antalya çevresi uygun iklim koşulları geniş ve verimli arazileri ile üretimin çoğunluğunu karşılamaktadır. Bölgede diğer öne çıkan iller ise Mersin, Hatay ve Adanadır. Türkiye genelinde ikinci sırayı alan bölge ise üretimin %25 ‘in den fazlasını sağlayan Ege Bölgesi’dir. Bu bölge içerisinde ise Muğla ili üretimin yarısına yakını (%44,5) karşılamaktadır. Bölgede diğer öne çıkan iller ise sırasıyla Denizli, Aydın ve İzmir’dir. Güney Doğu Anadolu Bölgemiz ise 17,235 tonluk üretim ile %10,5’lik kısmı karşılamaktadır. Bölge genelinde tüm illerde nar yetiştiriciliği yapılabilmektedir ancak ilk sırayı Gaziantep, Şanlıurfa, Siirt ve Adıyaman almaktadır. Bu üç bölge Türkiye nar üretiminin %95’lik kısmını oluşturmaktadır. Diğer bölgelerde üretim seyrek olarak görülmekte olup kendi ihtiyacını karşılamaktadır (Kurt ve Şahin, 2013).

2.1.2. Narın kullanım alanları ve ticari önemi

Dünya genelinde nar üretiminin çoğunluğunu Çin ve Hindistan karşılamaktadır. Ancak bu ülkeler nüfus yoğunlukları sebebiyle üretimlerinin çoğunu iç piyasada kullandıklarından dünya piyasasında ihracat alanında pay sahibi değildirler. Tablo 2.1.’de görüldüğü gibi ihracat alanında büyük payı Türkiye, İran ve İspanya oluşturmaktadır. Türkiye iklim koşullarının çeşitliliğine bağlı olarak farklı pazarlara uygunluk gösterecek olan nar çeşitlerini yetiştirebilmektedir. Coğrafi konumu sebebiyle ise Avrupa, Rusya ve Ortadoğu pazarlarında hızlı bir ilerleme göstermektedir. Tablo 2.3.’te nar meyvesinin yıllara göre artan üretim miktarları, ithalat ve ihracat değerleri görülmektedir.

Tablo 2.3. Türkiye’de nar piyasası (TÜİK ,2015)

Yıl	Üretim (Ton)	İthalat (Ton)	Yurt içi Tüketim (Ton)	İhracat (Ton)	Kişi Başı Tüketim (Kg)
2014	390 580	254	246 175	144 659	2,9
2013	376 573	423	227 389	149 607	2,7
2012	309 792	179	210 695	99 276	2,6
2011	213 873	60	148 238	65 695	1,8
2010	204 957	142	137 585	67 514	1,7
2009	168 057	311	117 565	50 803	1,5
2008	125 588	619	96 114	30 092	1,2

Son yılda nar ve nar ürünlerine olan bu talebin altında yatan temel neden, yapılan tıbbi çalışmaların insan sağlığı üzerine olumlu etkilerinin anlaşılması ve kullanım alanlarının çeşitlenmesidir. Nar, suyu ve konsantresi, şarabı, likörü, şurubu, reçeli, jölesi ve salata sosu nar ekşisi gibi çeşitleri ile gıda maddesi olarak kullanımlarının yanı sıra kimya, kozmetik ve ilaç sanayinde, çeşitli ürünlerin üretimde yer almaktadır. Nar, kabuklarının %28-30 civarında tanen içerdiği bildirilmektedir. (Şahin, 2006) Çekirdekleri ide yağ eldesi için önemli bir kaynaktır (Kurt ve Şahin, 2013). Nar çekirdeği yağı oranı yetiştirildiği bölgeye ve narın çeşidine göre değişmektedir. Bu oranın %6,6-19,3 olduğu bilinmektedir (Gölükçü, ve ark., 2008). Ülkemizde nar üretiminin artışına bağlı olarak tüketim şekillerinde de çeşitlenme olmuştur. Özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde ülkemizle özdeşleşmiş olan nar ekşisi veya nar pekmezi ile ürün dayanıklı hale getirilip uzun süre saklanabilmektedir (Benli, 2001).

Kullanım alanları çeşitlilik göstermekle birlikte nar meyvesi genellikle taze veya meyve suyu olarak tüketilmektedir. Ayrıca narın çeşitli kısımlarından, tanen, pektin, sirke, boya ve mürekkep hammaddeleri, yağ, hayvan yemi ve ilaç hammaddeleri elde edilmektedir ve bu özellikleri sebebiyle son yıllarda dünya genelinde ilgi görmektedir (Tümer, 2006). Meyve Suyu Endüstrisi Derneği’nin (MEYED) 2005-2007 yılları arasında meyve suyu üretiminde kullanılan nar miktarı 3,3 kat arttığını bildirmiştir. Meyve suyu üretim istatistiklerine göre nar, meyve suyuna işlenen meyveler arasında

dördüncü sıraya yükselmiştir. Tablo 2.4.'te yıllara göre meyve suyuna işlenen nar miktarları verilmiştir.

Tablo 2.4. Meyve suyuna işlenen nar miktarları (bin ton) (MEYED 2017)

Yıl	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Miktar	78,7	118	105,6	97	102,2	100

2.2. Nar Meyvesinin Kimyasal Bileşimi

Nar meyvesinin bileşim unsurları diğer meyve türlerinde olduğu gibi çeşit, iklim, yetiştirme koşulları, olgunluk seviyesi ve depolama şartları gibi durumlardan etkilenmekte ve genellikle renklerine ve asitliklerine göre sınıflandırılmaktadır (Al-Said ve ark., 2009). Narın yenilebilen kısmını oluşturan danelerin tüm meyvede oranı yaklaşık %52'dir. Meyve suyunun elde edildiği danenin %78'ini etli kısım, %22'sini ise çekirdekten oluşturmaktadır (Kulkarni ve Aradhya, 2005). Nar danelerinin kimyasal kompozisyonun %79'nu su, %18'ni karbonhidrat, %1,1'ni protein ve %0,9'nu yağ oluştururken 70 kcal/100 g enerjiye sahip olduğu bilinmektedir (Rieger, 2006). Nar danelerinin kuru maddesi ağırlıklı olarak asitler, şekerler, vitaminler, polisakkaritler, polifenoller ve minerallerden oluşmaktadır (Cemeroğlu ve ark., 1988; Cemeroğlu ve ark., 1992; Ünal ve ark., 1995; Melgarejo ve ark., 2000). Nar meyvesi bünyesinde %45-65 arasında su içermektedir. Cemeroğlu ve ark. (1992) Akdeniz bölgesinde yetişen narlar üzerine yaptıkları detaylı çalışmada, ortalama meyve suyu veriminin %40 olarak belirlemişler ve şeker:asit oranına göre narları tatlı, mayhoş ve ekşi olarak üç grupta sınıflandırmışlardır. Ülkemizde genellikle tüketilen nar çeşidi ise hafif mayhoş veya tatlı, çekirdeksiz ve iri olanlardır (Vardin ve Abbasoğlu, 2004). 14 Brix derecesine sahip 23 farklı nar suyu konsantresi üzerinde yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, nar sularının titre edilebilir asit değerinin 8,3-17,4 g/L arasında yer aldığı bildirilmiştir (Ekşi ve ark., 2009). Cemeroğlu ve ark. (1994) briks/titrasyon asitliğini (ratio değeri) temel alarak yaptıkları çalışmada, narları “*asitçe zengin*” ve “*asitçe fakir*” olarak iki ana grupta toplamışlardır. Bu sınıflandırmada ratio değeri 15:1'in üstünde olanlar “asitçe fakir” yani “tatlı-mayhoş”, altında olanlar ise “asitçe

zengin” yani “ekşi” olarak gruplandırılmıştır. Meyve suyu üretim teknolojisinde, meyve suyunda doğal olarak bulunan asit ve şeker miktarı tüketicilerin beğenisi açısından önem taşımaktadır (Cemeroğlu ve ark., 1994). Amerika Birleşik Devletleri (USDA-United States Department of Agriculture) ulusal besin verilerine (National Nutrient Database for Standard Reference) göre işlenmemiş nar ve meyve suyuna işlenmiş nar için besin değerleri Tablo 2.5.’te yer almaktadır.

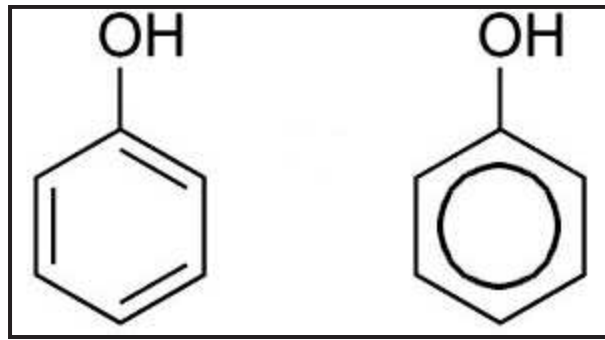
Tablo 2.5. Nar meyvesi ve nar suyunun bileşim unsurları (100 g) (USDA,2017)

Besin Ögesi	İşlenmemiş Nar Meyvesi	Nar Suyu
Su (g)	77,93	85,95
Protein (g)	1,67	0,15
Toplam Yağ (g)	1,17	0,29
Yağ Asidi, toplam doymuş (g)	0,12	0,077
Yağ asidi, toplam doymamış (g)	0,093	0,059
Yağ asidi, çoklu doymamış (g)	0,079	0,05
Karbonhidrat (g)	18,7	13,13
Toplam Şeker (g)	13,67	12,65 g***
Lif (g)	4	0,1
Vitamin B-6 (mg)	0,075	0,04
Vitamin C (mg)	10,2	0,1
Vitamin E (alfa tokoferol) (mg)	0,6	0,38
Vitamin K (µg)	16,4	10,4
Toplam Kolin (mg)	7,6	4,8
Folat (µg)	38	24
Riboflavin (mg)	0,053	0,015
Tiamin (mg)	0,067	0,015
Niasin (mg)	0,293	0,233
Pantotenik Asit	0,377	0,285
Kül (mg)	530	0,49
Kalsiyum, Ca (mg)	10	11
Demir, Fe (mg)	0,3	0,1
Magnezyum, Mg (mg)	12	7
Fosfor, P (mg)	36	11
Potasyum, K (mg)	236	214
Sodyum, Na (mg)	3	9
Çinko, Zn (mg)	0,35	0,09
Bakır , Cu (mg)	0,15	0,021
Manganez, Mn (mg)	0,119	0,095
Selenyum, Se (µg)	0,5	0,3

*** Sukroz 0 g, Glukoz (dekstroz) 6,28 g, Fruktoz 6,37 g

2.2.1. Fenolik bileşikler

Meyveler, yapılarında doğal olarak barındırdıkları çok sayıda ve farklı çeşitteki antioksidatif ve antimikrobiyal nitelikteki fenolik bileşikler ve bunların sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı ‘Fonksiyonel Gıdalar’ olarak görülmektedir. Çok sayıda farklı bileşiğin yer aldığı bu büyük bileşik grubunun sağlık üzerine olan olumlu etkilerinin anlaşılmasından sonra "biyo flavonoid" olarak anılmaktadır. Bu fenolik bileşiklerin hammadde ve ürünlerdeki dağılımı, türlerine, ekim şekillerine, olgunlaşma derecelerine, yetiştirme ve depolama şartlarına bağlı olarak hem nitel hem de nicel açıdan farklılıklar göstermektedir. Bu bileşik grubu, meyve suyu ve benzeri ürünlerin renk ve lezzet üzerindeki etkileri sebebiyle duyu sal kalite parametresi niteliğindedir (Merken ve Beecher, 2000; Kanitsar ve ark., 2001). Bitkilerde sekonder metabolitler olarak farklı iz yolları ile sentezlenen bu bileşikler, yer aldığı bitkiye renk ve lezzet gibi çok sayıda farklı nitelik kazandırmaktadır (Saldamlı, 2007). Bitkilerde en yaygın bulunan madde grubu olan fenolik bileşiklerin kimyasal yapılarında genel olarak benzen halkası (Şekil 2.4.) yer almaktadır (Uylaşer ve İnce, 2008). Çok sayıda üyesi olan bu devasa bileşik grubu, ‘fenolik asitler’ (Hidroksisünamik asitler ve hidroksibenzoik asitler) ve ‘flavonoidler’ olmak üzere iki ana grup altında incelenmektedir (Cemeroğlu, 2004).



Şekil 2.4. Fenol Halkası (Ünsal, 2007)

Poyrazoğlu ve ark. (2002)’nin yapmış olduğu bir çalışmada, nar sularının fenolik madde kompozisyonu HPLC yöntemi ile belirlemişlerdir. Bu çalışma, nar sularında 4,55 mg/L düzeyinde gallik asit, 0,84 mg/L düzeyinde protokateşik asit, 1,24 mg/L

düzeyinde klorojenik asit, 0,78 mg/L düzeyinde kafeik asit, 0,001 mg/L düzeyinde ferulik asit, 0,17 mg/L düzeyinde o-kumarik asit, 0,06 mg/L düzeyinde p-kumarik asit, 3,72 mg/L düzeyinde kateşin, 0,99 mg/L düzeyinde phloridzin ve 2,50 mg/L düzeyinde kuersetin olduğunu ortaya koymuştur. Nar sularında bulunan fenolik maddelerin tespiti için yapılan başka bir çalışmada, başlıca bulunan fenolik maddeleri tanenler (1978 mg/L), antosiyaninler (384 mg/L) ellajik asit (EA) (121 mg/L) ve türevleri olarak saptanmıştır (Aviram ve ark., 2005). Heftaman ve Bennet (1966) nar sularının önemli miktarda fenolik madde içerdiğini ve bu miktarın nar çeşidine bağlı olarak % 0,2-1,0 arasında değişebileceğini belirtmişlerdir. Ticari nar sularında tespit edilen fenolik bileşiklerin bir kısmı doğal olarak nar suyunun elde edildiği danelerin yapısında yer alırken, büyük bir kısmı presleme basıncına bağlı olarak kabuk, zar ve çekirdeklerden meyve suyuna geçmektedir (Pande ve Akoh, 2009). Tablo 2.6.'da nar meyvesinin farklı bölümlerine ait fenolik bileşik miktarları verilmiştir.

Tablo 2.6. Nar meyvesinin farklı bölümlerinin fenolik bileşikleri (mg/L) (Pande ve Akoh, 2009)

Bileşen	Çekirdek	Pulp	Kabuk	Zar
Hidrolize Olabilen Tanenler	22,8-36,6	71,2-103,1	4792,3-6894,8	6060,6-6954,3
Kafeik Asit	2,1-3,4	12,3-14,1	18,9-21,4	21,8-23,5
P-Kumarik Asit	1,3-3,6	6,6-8,1	3,8-5,2	16,1-17,1
Ferulik Asit	0,5-1,3	1,3-2	17,1-18,9	10,8-11,5
Kateşin	-	82,7-101,2	110,7-126,7	41,7-42,7
Epikateşin	6-6,5	9,6-11,7	25,4-29,5	60,3-61,8
Kuersetin	10,6-11,2	66,7-77,1	92,1-99,2	32,4-33,8
Toplam Polifenol	84,9-91,1	151,3-173,4	303,7-329,1	344,0-380,9

Tehranifar ve ark. (2010) İran'da yetiştiriciliği yapılan yirmi farklı nar varyetesinin toplam fenolik madde (TFM) içeriklerini 295,79-985,37 mg/100g aralığında tespit etmişlerdir. Çin'de yetiştirilen beyaz nar çeşidi üzerinde yapılan bir çalışmada meyve eti ve kabuğunun antioksidan özellikleri belirlenmiş ve nar kabuğunun meyve etinden daha yüksek oranda antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Yine bu araştırmada, kabukta 249,4 mg/g TFM, 10,9 mg/g proantosiyanidin ve 59,1 mg/g flavonoid, meyve etinde 24,4 mg/g TFM, 5.3 mg/g proantosiyanidin ve 17,2 mg/g

flavonoid olduğu tespit edilmiştir (Li ve ark., 2006). Artık ve ark. (1998) 7 farklı nar varyetesi üzerinde iki farklı pres basıncı uygulayarak yürüttükleri araştırmada fenolik bileşikleri HPLC yöntemi ile tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara göre nar meyvesinin kabuk ve zar kısmında kuinik asit ve kuersetin yüksek oranda bulunduğu dolayısıyla yüksek pres basıncına bağlı olarak meyve suyunda bulunan fenolik madde oranının artırttığı saptanmıştır.

Tablo 2.7. Nar meyvesinin fenolik madde kompozisyonu (Artık ve ark., 1998)

Bileşen	Preslenmiş Nar Suyu	Elde Preslenmiş Nar Suyu
	(mg/L)	(mg/L)
Kuinik Asit	1105	0,625
Kuercetin	970	2,076
Gallik Asit	544	1,679
Kateşin	77,7	-
Kateşol	38,3	-
Klorogenik Asit	11,71	1,726
Ferulik Asit	20,02	-
Rutin	51,61	-
o-Kumarik Asit	35,41	-

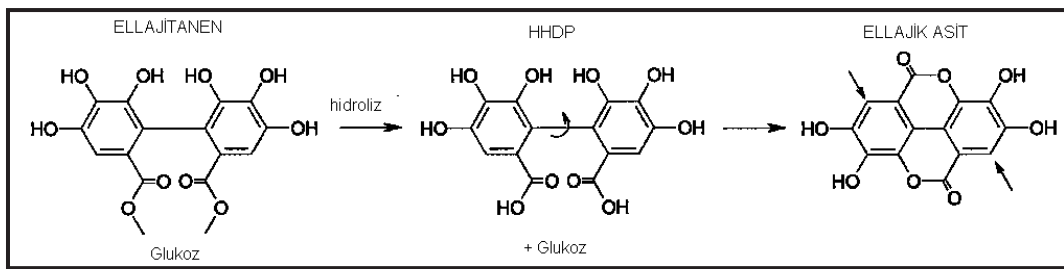
Tezcan ve ark. (2009), ticari olarak satılan nar suları üzerinde yaptıkları araştırmada TFM miktarını gallik asit eşdeğeri olarak 144 mg/L ile 10086 mg/L arasında tespit etmişlerdir. Tzulker ve ark.(2007)'nin narın farklı kısımlarından hazırlanmış olan dört farklı nitelikteki nar sularında antioksidan aktivite, TFM, toplam antosiyanin ve hidrolize olabilen tanen miktarlarını belirlemişlerdir. Sadece danelerden elde edilen nar suyunun antioksidan kapasitesinin büyük ölçüde toplam polifenol ve antosiyanin içeriği ile ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Ancak tüm meyve kısımları ile hazırlanan nar suyunun antioksidan aktivitesinin sadece danelerden hazırlanan nar suyunun antioksidan aktivitesinden 20 kat daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir.

2.2.1.1. Ellajitanenler

Tanenler yüksek molekül ağırlıklarına (0,3-5 kDa) sahip polifenolik bileşiklerdir. Kimyasal ve biyolojik olarak iki gruba ayrılırlar (Seeram ve ark., 2000).

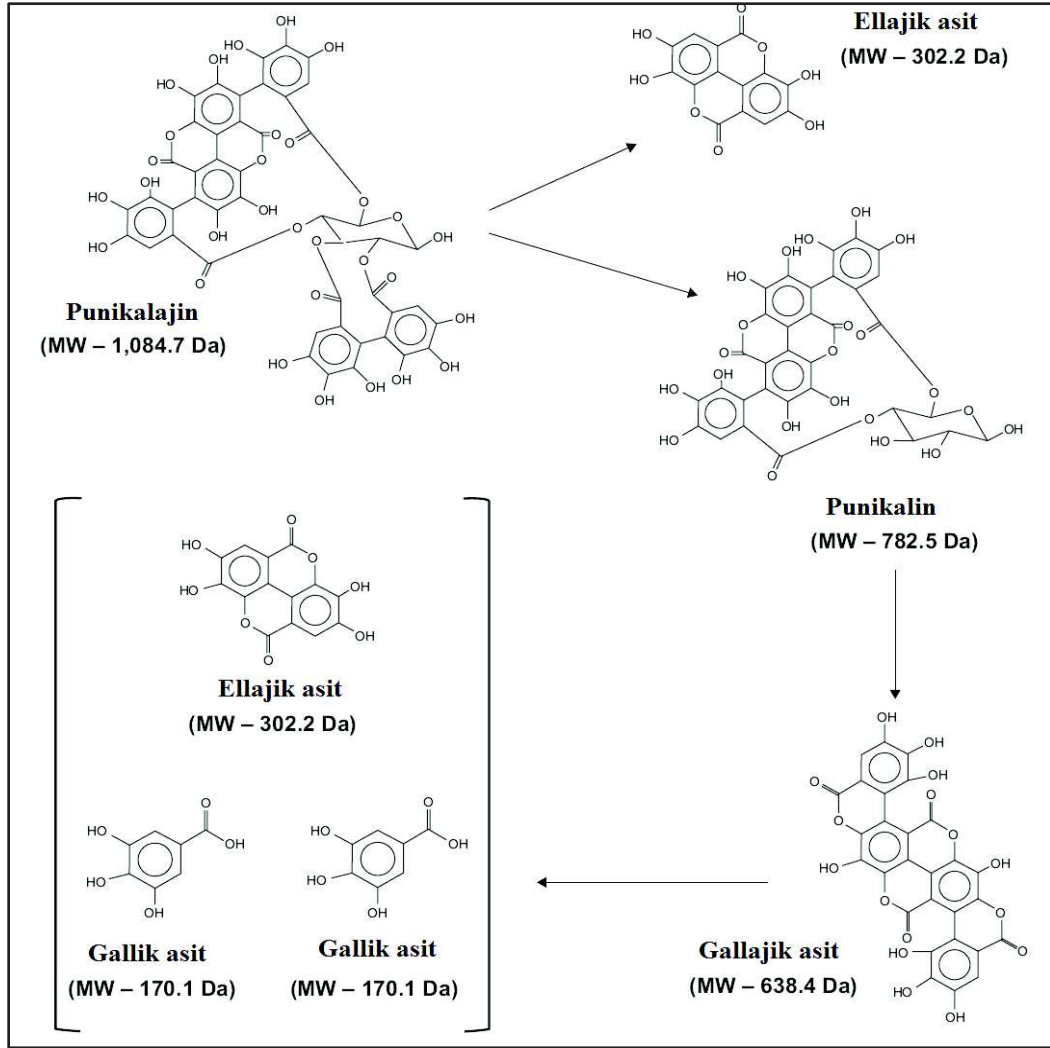
- Kondense tanenler (proantosiyanidinler)
- Hidrolize olabilen tanenler (HOT).

Hidrolize olabilen tanenler hidrolitik koşullar altında, kendisini oluşturan şeker ve fenolik asitlere parçalanabilen kompleks yapıdaki fenolik bileşiklerdir. Bu bileşik grubu gallotanenler ve ellajitanenler (ETs) olarak ikiye ayrılmaktadır (Dağbağlı, 2001). *Ellajitanenler* olarak adlandırılan bu grup, şeker (glukoz) ile esterleşmiş bir veya daha fazla heksahidroksidifenol (HHDP) grubu bulunduran hidrolize olabilen bileşikler olarak bilinmektedir (Lee, 2004). Yüksek molekül ağırlığına sahip olan ellajitanenler, suda çözünebilen fenolik bileşiklerdir. Ellajitanenler asidik veya bazik ortamda kolayca ellajik aside dönüşürler. Bu parçalanma reaksiyonu ürünlerdeki ellajitanen miktarının tanımlanmasında sıklıkla kullanılır (Vrhovse ve ark., 2006). Ellajitanenlerin hidrolizasyonu şematik olarak Şekil 2.5.'te verilmiştir.



Şekil 2.5. Ellajitanenlerin hidrolizasyonu (Hakkinen ve ark., 2000).

Nar sularında bulunan hidrolize olabilen tanenler gallotanenler, ellajik asit, punikalajin ve punikalindir. Bu bileşiklere ilaveten daha az miktarda kateşin, epikateşin, gallokateşin, prosiyanidin de tespit edilmiştir (De Pascual-Teresa ve ark., 2000). Nar kabukları, en başta ellajitanen ve izomerleri (α - ve β -punikalajin) olmak üzere az miktarda punikalın, gallik asit, ellajik asit ve ellajik asit glikozitlerini içermektedir. Punikalajinin hidrolize olarak punikalın ve ellajik asite dönüşmesi Şekil 2.6.'da şematize edilmiştir (Gil ve ark., 2000).



Şekil 2.6. Punikalajinin hidrolizasyonu (Shirode ve ark., 2015).

EA, molekül ağırlığı 338,2 olan heksahidroksidifenik asidin dilaktonu olan, doğada birçok bitkide serbest veya ellajitanen glukozitleri şeklinde yer alan polifenolik bileşiklerdir (Bala ve ark., 2006). EA, doğada zayıf asit olarak bulunan 360°C gibi yüksek bir erime noktasına sahip kararlı bir bileşiktir (Okeke, 2006). EA; suda az çözünen bir bileşik olmasına rağmen metanol, etanol ve dimetil sülfoksitte iyi çözünebilmektedir (Aguilera-Carbo ve ark., 2007). Ellajitanenler nar, çilek, ahududu, böğürtlen, misket üzümü ve cennet hurması gibi çeşitli meyvelerde bulunur. Bunlar ayrıca ceviz ve fındık gibi sert kabuklu meyvelerle, yıllanmış şaraplar, meyve suyu, çay ve bira gibi ürünlerde de bulunmaktadır (Cerda ve ark., 2005). EA içeriği en yüksek oranda ham meyvelerde (green fruit) bulunurken yarı olgunlaşmış (mid-ripe

fruit) meyvelerde orta seviyede ve en düşük oranda tam olgun meyvelerde bulunmaktadır (Williner ve ark., 2003). EA bir polifenol bileşik olarak ahududu, üzüm, çilek ve frenk üzümü gibi çok çeşitli meyvelerle ceviz gibi kabuklu yemişlerde bulunmaktadır ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri sebebiyle son yıllarda günlük diyetle artarak yer almaktadır (Devipriya ve ark., 2007). Bu biyoaktif bileşiğe olan ilgi, onun hastalıklara karşı koruyucu etkisi ve gıda bileşeni olarak sağladığı sağlığa faydalı özellikleri sebebiyle son birkaç yıldır artmaktadır. EA diğer fenolik asitler gibi antioksidatif aktivite ile antimitojenik ve antikanserojen özellikler göstermektedir. Alman Ulusal Gıda Tüketim Araştırmasında, ortalama ellajik asit tüketimi erkekler için günlük 4.95 mg/gün, kadınlar için ise 5.43 mg/gün olarak rapor edilmiştir. Yine bu araştırmaya göre ellajik asit alımının %38'ini çilek ve kırmızı ahududu gibi üzümü meyveler, %54'ünü ceviz gibi kuruyemişler sağlamaktadır (Whitley, 2005). Özellikle çilek ve ahudududa diğer meyve ve kabuklu yemişlere göre üç kat daha fazla oranda ellajik asit bulunmaktadır. Bazı meyvelerin kabukları meyvenin etli kısmından daha fazla oranda antioksidan aktiviteye sahiptir (Gue ve ark., 2003). Nar bu tip meyvelere güzel bir örnektir.

Nar kabuğu tüm meyvenin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır ve ellajitanenler, punikalajin ve punikalın gibi ellajik asit çeşitlerini yüksek oranda bulundurmaktadır (Cerde ve ark., 2003; Seeram ve ark., 2005). Nar meyvesi çoğunlukla taze ve içecek formunda meyve suyu ve şarap olarak tüketilmekle birlikte, standardize edilmiş toplam nar tanen (total pomegranate tanin TPT) ekstraktı (%85 punikalajin anomerleri, %1,3 EA, %12 minör ET ve EAG) olarak değerlendirilmektedir (Seeram ve ark., 2005). Ticari nar sularının yüksek antioksidan ve anti-aterosklerotik özellikleri gösteriyor olması onun, ellajik asitin serbest ve bağlı formları [ET ve EA glukozitleri (EAG)], gallotanenler ve antosiyaninler (siyanidin, delphinidin ve pelargonidin glikozitleri) gibi yüksek oranda polifenoller ve diğer flavonoidleri (kuersetin, kaempferol ve luteolin glukozitleri) içermesine bağlanmıştır. Bu polifenollerin en fazla miktarda olanı ET'lerin bioaktif bileşeni olan punikalajin, meyve suyundaki antioksidan kapasitenin %50'den daha fazla bir kısmından sorumludur. Punikalajin meyve kabuğunda yüksek miktarda bulunur ve meyve suyuna işleme sırasında önemli miktarda geçiş sağlayarak meyve suyu içerisinde >%2 g/L değerine ulaşmaktadır (Gil

ve ark., 2000). Nar kabukları punikalajin ve onun izomerleri [2,3-hexahydroxydiphenoyl-4,6-gallagylglucose] gibi ET'ler ve daha az miktarda punikalın, gallik asit, ellajik asit ve EA glikozitleri (hexoside, pentoside, rhamnoside vb.) bulundurulur. Bu ellajitanenler tüm meyvenin meyve suyuna işlenmesi ile yüksek oranlarda nar suyuna geçebilmektedirler.

Gil ve ark. (2000) daneden direkt olarak ve dondurulmuş daneden elde ettikleri nar suları ile ticari olarak preslenip üretilen ve konsantreden nar suyuna dönüştürülen nar sularında tespit ettikleri fenolik bileşik içerikleri Tablo 2.8.'de gösterilmiştir.

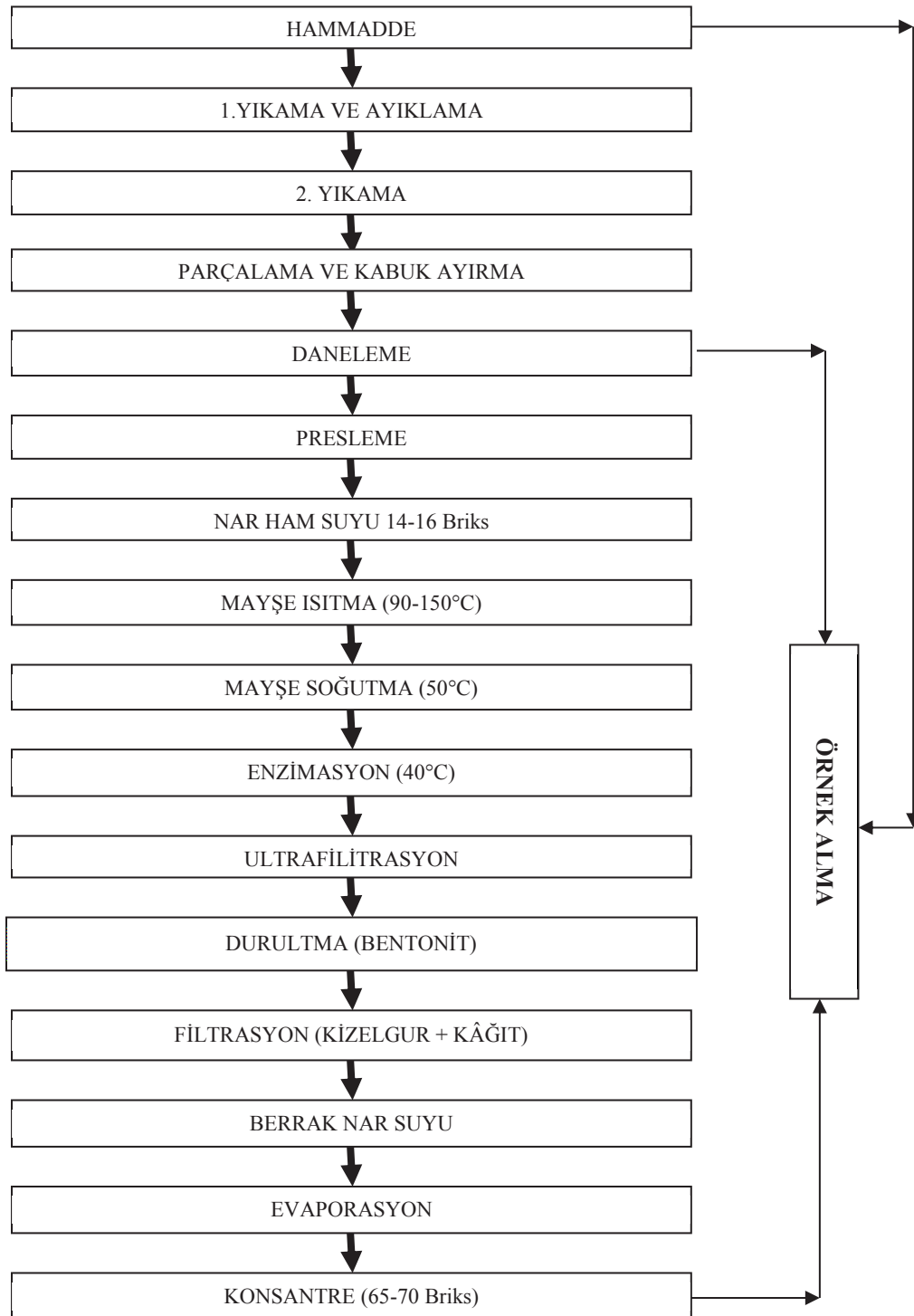
Tablo 2.8. Nar sularının fenolik bileşik dağılımı (mg/L) (Gil ve ark., 2000)

Fenolik Bileşikler	1	2	3	4
Galgali Tipi Tanenler				
Punikalajin (α)	12,7	14,4	421,3	434,9
Punikalejin (β)	10,1	11,1	838,5	918,2
Diğer Bileşik	45,1	102,5	302,0	525,6
Ellajik Asit Türevleri				
EA-Glikozit	17,9	17,9	83,2	91,3
EA	15,3	8,7	37,9	172,8
Toplam EA Türevleri	33,2	26,5	121,1	264,0
Diğer Hidrolize Olabilen Tanenler				
Galloil Glukoz	51,1	43,9	49,3	65,5
Hidrolize Tanenler	224,5	203,6	116,5	229,0
Diğer Bileşikler	264,1	277,7	251,5	262,1
Toplam Hidrolize Tanenler	539,2	525,2	417,3	556,6

* (1) Daneden elde edilen nar suyu; (2) Dondurulmuş daneden elde edilen nar suyu; (3) Ticari nar suyu (bütün meyvenin preslenmesi ile elde edilmiştir.); (4) Konsantreden elde edilen nar suyu.

2.3. Nar Suyu ve Konsantresi Üretim Aşamaları

İşletmeye kasalar aracılığıyla transfer edilen narlar üretimin ilk basamağında, meyve üzerinde bulunan yaprak ve benzeri yabancı maddeleri ayıklama ve yıkama işlemlerinden geçirilir. Taşıyıcı bant üzerinde hareket eden meyvelerden elverişsiz nitelikte olanlar, hareketli bandın her iki tarafında bulunan işçiler tarafından ayıklanmaktadır. Yıkayıp ayıklan narlar, taşıyıcı bantlar aracılığı ile tamburlu eleklerle gönderilirler. Elek içinde narlar danelenmekte ve nar daneleri tamburlu eleğin deliklerinden toplanmaktadır. Toplanan nar daneleri yine taşıyıcı bantlarla itici bir pompaya ve oradan da mayşe tankına gönderilir. Mayşeden meyve suyu elde edilebilmesi için 30-50 barlık presleme işlemi uygulanmaktadır. Bu işlem sonrasında %14-16 çözünür kuru maddelik bulanık nitelikli nar ham suyu elde edilmektedir. Preslenen ham meyve suyu mikrobiyal açıdan risk taşıdığı için hızlı bir şekilde ısı işleme tabi tutulmaktadır. Bu amaçla işletmeler genellikle plakalı ısı değiştiricileri kullanmaktadır. Bu ısı değiştiriciler vasıtasıyla presten alınan ham meyve suyunun sıcaklığı 90°C'nin üzerine çıkartılarak pastörize edilmektedir. Pastörizasyon işlemi sonrası tanka alınan nar ham suyuna pektolitik enzimler ilave edilerek enzimasyon işlemi uygulanmaktadır. Bu işlem için üretici firmanın uygun göreceği bir enzim karışımı, ton başına 30-50 g olacak şekilde tanka ilave edilmektedir. Enzimasyon işleminin süresi ise belirli aralıklarla kontrolü yapılan alkol testi ile belirlenmektedir. Alkol testi negatif sonuç verinceye kadar enzimasyona devam edilmektedir. Enzimasyon işlemi ile parçalanması tamamlanan meyve suyu polimerik membranlı 280 m² yüzey alanına sahip ultrafiltrasyon cihazı ile filtre edilmektedir. Ultrafiltrasyon işlemi tamamlanan nar suyu durultma tanklarına iletilmektedir. Durultma amacıyla 200-250 g/ton bentonit ilave edilerek 1-2 saat beklenecek şekilde durultma işlemi tamamlanmaktadır. Durultulmuş olan nar suyunun filtrasyon işlemi için genellikle kizelgur filtre ve plakalı filtreler kullanılmaktadır. Filtrasyon işlemi tamamlanmış olan berrak nar suyu 55-60 briks olacak şekilde konsantre edilmektedir. Bu amaçla dört etkili düşen film vakumlu evaporatör kullanılmaktadır. Nar suyu konsantreleri – 18°C'de yaklaşık 12-24 ay depolanabilmektedir. Berrak nitelikte bir nar suyu ve bundan konsantre üretimine ilişkin basamaklar akış şeması Şekil 2.8.'de verilmiştir (Gültekin, 2016).



Şekil 2.7. Nar Suyu/Konsantre Üretim Aşamaları (Gültekin, 2016)

2.4. Meyve Sularında Bulanıklık Unsurları

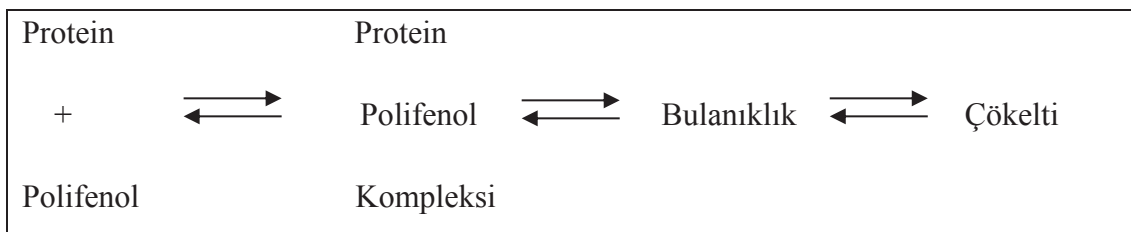
Meyve suyu endüstrisinde berrak meyve suyu ve konsantrelerin temel kalite faktörü, ürünün taşıdığı görsel özelliklerdir. Bu görsel özelliklerinin başında da meyve suyunun berraklığı gelmektedir. Berrak bir meyve suyu üretiminde, işleme sırasında uygulanan durultma ve daha sonra uygulanan filtrasyon işlemleri sonunda kristal berraklıkta meyve suyu üretimi gerçekleştirilmektedir. Berrak olmayan, bulanık bir görünüşe sahip ürün, sağlık açısından herhangi bir risk taşımamasına rağmen tüketicide bozuk olduğuna dair izlenim uyandırmaktadır. Bu sebeple, ürünün depolanma süreci ve raf ömrü boyunca, tüketilene kadar, bulanık bir yapı oluşturmayacak şekilde stabil kalması istenilmektedir. Sonradan bulanma (post-bottling haze) olarak adlandırılan bu problem bugün hala elma suyu, nar suyu gibi berrak meyve sularında endüstriyel bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu endüstriyel problemin olası nedenleri Tablo 2.9.'da organik, inorganik-organik ve inorganik olarak üç ana grupta sınıflandırılmıştır. Bu unsurların bazıları meyvenin doğal olarak yapısında var olabileceği gibi bazıları da işleme sırasında kullanılan çeşitli enzimler ile durultma yardımcıları gibi üretim sırasında eklenebilir. Ayrıca üretimde kullanılan hammaddenin çeşidi, olgunluğu ve depolama koşulları bulanıklık oluşumunda rol oynayan önemli kriterlerdir (Cemeroğlu, 2009).

Tablo 2.9. Sonradan bulanmaya sebep olan bileşikler ve kombinasyonları (Cemeroğlu, 2009)

Organik Bulanıklıklar	İnorganik-organik Bulanıklıklar	İnorganik Bulanıklıklar
Pektin	Metal-Polifenol Kompleksi	Kizelgur
Nişasta	Metal-pigment kompleksi	Kalsiyum fosfat
Polifenoller	Kalsiyum pektat	Kalsiyum sülfat
Proteinler	Kalsiyum malat	Kristaller
Pigmentler	Bakır-pektat kombinasyonu	Amorf parçacıklar
Polisakkarit Parçaları	Bakır-protein kombinasyonu	
Polifenol-protein kompleksi		
Mikroorganizmalar		
Maillard Reaksiyonu ürünleri		

Bulanıklık unsurları, çözeltilerde asılı halde bulunan kolloidal yapıların veya daha büyük parçacıkların ışığı dağıtmasıyla ortaya çıkan yapılardır. Bu yapılar gözle görülebildiği gibi, turbidimetre ile ışığın kırılma derecesinin ölçülmesi ile belirlenebilir. Kolloidal büyüklükte olan parçacıklar, onları süspansiyon halinde sıvı içerisinde durmalarına sebep olacak herhangi bir etken yoksa genellikle çökerler. Gerçek olan kolloidler süresiz olarak dengeli süspansiyonlardır; onlar ancak hem partikül büyüklüğü hem de yoğunlukları benzer ise Brownian hareketi ile sıvı içerisinde askıda tutulurlar. Sistem soğutulduğunda, enerjisinin geri çekilmesiyle çözünürlüğün azalmasına bağlı olarak daha büyük kolloidal parçacıklar halinde çökebilir (Siebert, 2006).

İçeceklerde bulanıklık oluşturan pek çok organik ve inorganik kaynak tanımlanmıştır (Siebert, 2006). Karşılaşılan en yaygın bulanıklık unsurunun birada okzalattan, üzüm suyu ve şarapta ise tartarattan kaynaklandığı bildirilmiştir. Diğer inorganik bulanıklıklar ise üretim hataları ile ilişkilendirilen, adsorban parçacıklar ve filtre yardımcı maddeleridir (Glenister, 1974). Bazı bulanıklıklar ise karbonhidrat materyalleri veya mikroorganizma gelişimiyle ilişkilendirilmektedir (Heatherbell, 1976; Siebert ve ark., 1981). Ancak diğerlerinden çok daha fazla olarak, içeceklerde meydana gelen bulanıklık problemi en çok protein-polifenol etkileşimi ile olmaktadır (Heatherbell, 1976; Hough ve ark., 1982). Bu bileşenler ürün içerisinde başlangıçta bir bulanıklık oluşturmaya da, yavaş yavaş çözünmeyen ve ışığı dağıtan bileşikler haline dönüşebilirler. Şekil 2.8.'de protein-polifenol etkileşiminin bulanıklık ve çökelti oluşturma mekanizması görülmektedir.



Şekil 2.8. Protein-Polifenol Etkileşimi ile Bulanıklık ve Çökelti Oluşumu (Siebert, 2006)

Başlangıçta oluşan kompleks bileşenler çözünebilir halde olsa da kompleks yeterince büyürse çözünmez hale gelir ve bulanıklık oluşturur. Bulanıklık oluşturan bu partiküllerin daha da ileri düzeyde büyümesiyle ise çökelti meydana gelir. İçeceklerden elde edilen çökeltilerin içeriği incelendiğinde büyük oranda karbonhidrat varlığı gözlenirse de ürün içerisindeki sabit yapının korunması protein veya polifenol içeriğinin düşürülmesi ile sağlanabilmektedir (Siebert, 1999). Böyle bir oluşumda her protein ve her polifenolik bileşiğin aktif olarak yer almadığı anlaşılmıştır. Bu sebepten dolayı bulanıklığa neden olan bu temel bileşenler için özel olarak, haze-aktif protein (haze-active protein) ve haze-aktif polifenol (haze-active polyphenol) kavramları kullanılmaktadır (Siebert ve ark., 1996). Diğer bir anlatımla meyve suyunun yapısında doğal olarak bulunan her protein ve her polifenolik bileşik bulanıklık oluşturacağı anlamına gelmemektedir. Bugüne kadar meyve sularının yapısında doğal olarak bulunan ve bulanıklığa neden olan proteinlerin nitelikleri tam anlamıyla aydınlatılmamıştır. Bu konuda en fazla çalışma dünyada en çok tüketilen berrak nitelikteki elma ve üzüm suyunun haze-aktif proteinleri üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu, 2009). Non-kovalent bir etkileşim olan protein-polifenol etkileşimi reaksiyonunun başlarında geri dönüşümlü niteliktedir. Özellikle prolin aminoasitlerine sahip proteinler polifenollerle reaksiyona girmekte ve prolin sayısı arttıkça bulanıklığın da buna paralel olarak arttığı saptanmıştır. Bulanıklık partiküllerinin büyüklüğü ve hassaslığı Haze-Active (HA) polifenollün Haze-Active (HA) proteine oranından etkilenmektedir. Alkol içeriği ve pH değeri de bu durumu etkilemektedir. Berrak meyve sularına uygulanan durultma, adsorbsiyon veya ultrafiltrasyon işlemlerinin amacı, meyve suyu içerisindeki HA protein veya HA polifenol oranını düşürerek ürünün bulanıklık oluşumunu engellemektir (Sibert, 2006).

2.4.1. Bulanıklığa neden olan (Haze-Aktif) proteinlerin yapısı

Prolin içeren proteinlerin diğer proteinlerden farklı olarak polifenollere bağlanma konusunda yüksek bir çekim kuvvetine sahiptir (Asano ve ark., 1982). Bir proteinin bağıl bulanıklık oluşturma aktivitesinin, büyük oranda % mol olarak prolin içeriğine bağlı olduğu saptanmıştır (Siebert, 1999). Prolinler, polifenollerin proteinlere

bağlanma noktalarında yer aldığı ve ayrıca proteinin alfa heliks yapısının oluşumunu önleyerek proteinin açık bir şekilde kalmasını sağladığı bilinmektedir. Dolayısıyla prolin aminoasiti, polifenollerin proteinlerle kolaylıkla reaksiyona girebileceği daha açık bir yapıya neden olmaktadır (Asano ve ark.; 1982). Bulanıklık oluşumu ile ilişkilendirilen HA meyve proteinleri, tahıllarda bulunanlar kadar değilse de, prolin içermektedir. Elma suyundan izole edilen bir HA proteinin % 5 prolin içerdiği belirtilmiştir (Wu ve Siebert, 2002). Bulanıklık oluşturan üzüm çekirdeği üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise prolin oranı % 9,5 bulunmuştur (Wu ve Lu, 2004).

HA protein miktarının saptanabilmesi için pratikte uygulanan bir yöntem vardır. Bu yöntemde göre ölçüm yapılacak örneğin içine miktarı bilinen kuvvetli bir HA polifenol olan tannik asit (TA) ilave edilir. TA çözeltisi ve örnek karıştırılarak belirli bir süre inkübasyona bırakılır. Bu işlem, örnek içinde polifenollerle bulanıklık yapabilme yeteneğine sahip olan her protein ile TA arasında gözlemlenebilecek olan bir bulanıklığın gelişmesine neden olur. Daha sonrasında bu bulanıklık ölçülür ve örnekte bulunan HA proteinin orantısal miktarı belirlenir. Değişik ürünlere ilave edilen çeşitli oranlardaki TA miktarı ve bulanıklık değerleri Tablo 2.10.'da NTU (Nephelometric Turbidity Unit) olarak gösterilmiştir (Siebert ve ark., 1996).

Tablo 2.10. Tannik asit ilave edilmiş ve 25°C'de inkübe edilmiş örnekler için bulanıklık (NTU) sonuçları (Siebert ve ark., 1996).

Tannik Asit (g/L)	ES-1	ES-2	DES^a	Bira 1	Bira 2
0,0	16	0,5	56	4,3	1,7
0,50	18	1,8	62	2357	1811
1,25	19	2,1	68	4174	3393
2,50	23	2,9	71	5302	4244

^a Santrifüj ile durultulmuş ama stabilize edilmemiş elma suyu, ES: Elma Suyu

Siebert ve ark., (1996) yaptıkları bu çalışmada, düşük miktarda yapılan TA ilavesi bira örneklerinde çok yüksek oranda bulanıklık oluşumu gözlemlerken, berrak elma suyunda ise çok daha az bulanıklık oluşumu gözlemlemişlerdir. Buna karşın stabilize edilmemiş elma suyunda işlenmiş berrak elma suyuna kıyasla daha fazla oranda bulanıklık saptamışlardır. Aynı araştırmacılar TA ilave ederek protein varlığını üzüm

suyu ve şarap örnekleri için test etmişler ve elde ettikleri bulanıklık değerleri Tablo 2.11. ve Tablo 2.12.'de toplu halde verilmiştir. Hem üzüm suyu hem de şarap örneklerinde kısmi bulanıklık artışları gözlenmiş ve bu sonuçlar ticari üzüm suyu ve şarap örneklerinde yalnızca iz miktarda bulanıklığa neden olan protein (haze-aktif, HA) varlığı olabileceği vurgulanmıştır. Bu sonuçlar biranın HA proteinlerince zengin iken meyve suyu ve şarabın bu proteinleri çok daha düşük oranda içerdiğini göstermiştir.

Tablo 2.11. Tannik asit ilave edilmiş ticari üzüm sularını 25°C'de inkübasyonu sonucu oluşan bulanıklık (NTU) değerleri (Siebert ve ark., 1996).

Tannik Asit (g/L)	BÜS-1	BÜS-2	Pembe üzüm suyu	KÜS-1	KÜS-2
0,0	4,7	1,2	0,9	0,4	0,7
0,50	5,3	3,9	1,3	2,6	1,3
1,25	5,7	1,7	1,9	1,3	2,1
2,50	6,1	2,8	2,5	2,1	2,3

BÜS: Beyaz Üzüm Suyu, KÜS: Kırmızı Üzüm Suyu

Tablo 2.12. Tannik Asit İlave Edilmiş Şarap Örneklerinin 25°C'de İnkübasyon Sonucu Elde Edilen Bulanıklık (NTU) Değerleri (Siebert ve ark., 1996).

Tannik Asit (g/L)	Beyaz şarap 1	Kırmızı Şarap 1	Kırmızı Şarap 2
0,0	4,9	1,6	0,8
0,50	5,0	2,2	0,9
1,00	5,6	3,3	2,2
2,00	6,2	6,0	1,9

2.4.2. Bulanıklığa neden olan (Haze-Aktif) polifenollerin yapısı

Bir fenolik bileşiğin makromolekül nitelikliğindeki bir protein molekülüne bağlanması, fenolik bileşiğin aromatik halkası üzerindeki hidroksi gruplarının sayısına ve pozisyonuna bağlıdır (McManus ve ark.,1985). Mono-, di-, ve tri-fenollerin proteinlerle bağ yapma yetenekleri birbirlerinde farklılık gösterdiği bilinmektedir. Monofenol niteliğindeki bir fenolik bileşiğin proteinlere bağlanması çok zor iken, meta-difenoller proteinlerle zayıf bağ oluşturmakta, orto-difenoller orta dereceli bir bağlanma yeteneği sergilemekte ve trifenoller oldukça güçlü bağ oluşturmaktadırlar (Siebert, 2006). Şarap, bira ve meyve sularının her biri en küçük molekül yapılarından en büyüğüne kadar değişen miktarlarda polifenolik bileşik içermektedir (Guyot ve ark., 1994). Bu bileşiklerden, flavanoller (kateşinler ve prosiyanidinler) en güçlü bulanıklık oluşturma aktivitesine sahip bileşik grubudur.

HA polifenollerin miktarın ölçülmesi, bulanıklığa sebep olan miktarı bilinen ölçüde HA peptitin örnek içine ilave edilmesi temeline dayanan bir yaklaşıma dayalıdır (Siebert ve ark., 1996). Bu işlem kuvvetli bir HA olan jelatin ile yapılmaktadır. Farklı yoğunluklardaki jelatin çözeltileri meyve suyu örneklerine ilave edilmekte ve inkübasyona bırakılmaktadır. Bu, örnek içerisinde proteinler ile bulanıklık oluşturabilme yeteneğine sahip olan her polifenol ile jelatin arasında bir bulanıklığın gelişmesini sağlamaktadır. Oluşan bu bulanıklık ölçülmekte ve örnekte bulunan polifenol miktarı ile ilgili bir oran elde edilmektedir. Siebert ve ark. (1996) yaptıkları çalışmada elma suyu, bira (Tablo 2.13.), beyaz ve kırmızı üzüm suyu (Tablo 2.14.), beyaz ve kırmızı şarap (Tablo 2.15.) örneklerinde HA-polifenol varlığını incelemişlerdir. Tablolarda ifade edilen sonuçlar incelendiğinde meyve suyu örnekleri için çok küçük miktarlarda jelatin ilavesi önemli miktarda bulanıklık oluştururken bira örnekleri için neredeyse hiç bulanıklık oluşturmamıştır. Tutarlı olarak kayda değer bulanıklık üzüm suyu ve kırmızı şarap örneklerinde gözlenirken üç beyaz şarap örneği için çok az miktarda bulanıklık ölçülmüştür. Bu durum, bira ve beyaz şarap örneklerinin HA polifenoller açısından fakir iken meyve suyu ve kırmızı şarap örneklerinin bu bileşenlerce zengin olduğunu göstermektedir.

Tablo 2.13. Jelatin eklenmiş ve 25°C'de inkübe edilmiş örnekler için bulanıklık (NTU) sonuçları (Siebert ve ark. 1996)

Jelâtin (g/L)	ES-1	ES-2	DES ^a	Bira 1	Bira 2
0,0	17,3	2,4	92,9	4,3	2,0
0,1	254	61,5	168	4,8	2,1
0,2	307	23,7	243	4,9	2,0
0,4	329	11,2	289	5,4	2,7

^a Santrifüj ile durultulmuş ama stabilize edilmemiş elma suyu, ES: Elma Suyu

Tablo 2.14. Jelatin ilave edilmiş ve 25°C'de inkübe edilmiş ticari meyve suları için bulanıklık (NTU) sonuçları (Siebert ve ark. 1996)

Jelatin (g/L)	BÜS-1	BÜS-2	Kızarık üzüm suyu	KÜS-1	KÜS-2
0	4,4	0,9	1,3	4,0	0,4
1	6,3	3,5	3,8	88,7	6,0
2	413	5,1	5,2	59,3	5,3
4	387	6,6	6,7	50,0	6,0

BÜS: Beyaz Üzüm Suyu, KÜS: Kırmızı Üzüm Suyu

Tablo 2.15. Jelatin ilave edilmiş ve 25°C'de inkübe edilmiş şarap örnekleri için bulanıklık (NTU) sonuçları (Siebert ve ark. 1996)

Jelatin (g/L)	BŞ-1	BŞ-1	BŞ-1	KŞ-1	KŞ-1
0,0	4,8	0,4	0,7	1,3	0,6
0,2	5,9	0,5	1,0	43	244
0,4	6,7	0,6	1,0	206	287
0,6	6,5	0,8	1,1	60	385

BŞ: Beyaz Şarap, KŞ: Kırmızı Şarap

2.4.3. Protein-Polifenol etkileşiminin yapısı

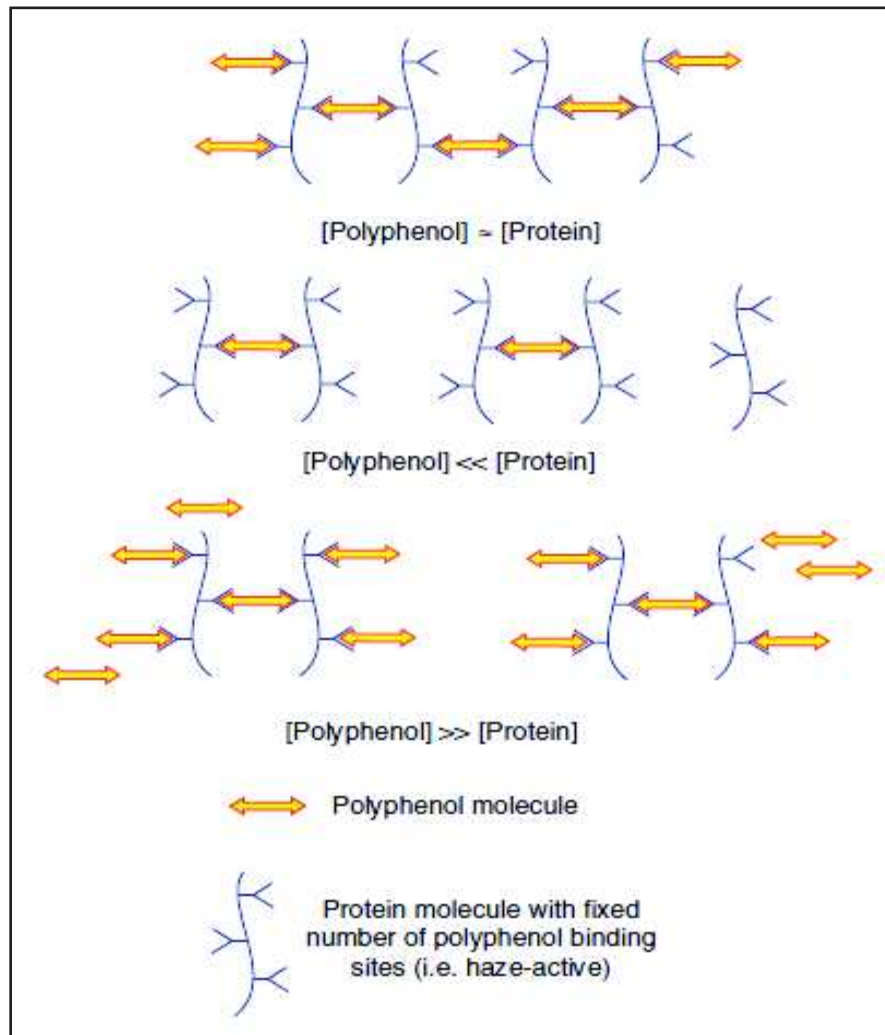
Protein- polifenol etkileşimi en azından reaksiyonun başlarında geri dönüşümlü bir reaksiyon olup, dolayısıyla kovalent olmayan bir bağlanma söz konusudur. Protein-polifenol etkileşiminde hidrojen bağı alıcıları ve non-polar çözücülerinin bulanıklık oluşumunu engelleme özelliği bilinmektedir (Asano ve ark., 1982). Sonuç olarak, bu durum protein-polifenol etkileşiminde hidrojen bağı ve hidrofobik bağlar rol oynarken, iyonik bağlanmanın olmadığını ortaya koymuştur. Protein-Polifenol etkileşiminde rol oynayan dört farklı faktörün olduğu bilinmektedir. Bunlar;

- Protein Konsantrasyonu
- Polifenol Konsantrasyonu
- pH
- Alkol İçeriği

Siebert ve ark., (1996) bu dört faktörün etkisini inceledikleri çalışmada, protein içeriği sabit tutup polifenol konsantrasyonu artırmışlar ve bulanıklığın belirli bir noktaya kadar arttığını ve sonrasında bir miktar azaldığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde polifenol içeriği sabit tutup protein içeriği artırmışlar ve yine bulanıklık belirli düzeye kadar arttığını ve sonra azaldığını saptamışlardır.

Şekil 2.9.'da protein-polifenol etkileşim mekanizması şematik olarak gösterilmiştir. Şekilden anlaşılacağı üzere eğer HA polifenollerin, proteinlerle ve polifenollerle bağ yapabilen en az iki uca sahip olduğu düşünülürse hem sabit sayıda bağlanma yerine sahip HA proteinlerle hem de polifenolle bağlanmış diğer protein-polifenol kompleksi ile bağ yapacaktır. Örneğin bira gibi proteince zengin olan sistemlerde, polifenoller iki proteinle kolaylıkla köprü oluşturabilir, ancak bu sandviçlerin kısmen birkaç tanesi belirli oranda kendi aralarında bağ oluşturma yeteneğindedir. Bu durumda küçük partiküller oluşmakta ve buna bağlı olarak daha az bulanıklık oluşumu gerçekleşmektedir. Bu durumun aksine, polifenollerce zengin olan meyve suyu ve şarap gibi örneklerde ise, proteinlerdeki bağlanma bölgelerinin çoğu doygun halde olup, ancak polifenollerin diğer uçlarının birkaçı, açık olan protein bölgeleri ile

karşılaşacaktır. Bu durumda da küçük partiküllerin oluşumu ve buna bağlı olarak daha az bulanıklık oluşumu gerçekleşmektedir. Her iki durumda da görülen bu olay, yani diğer bir deyişle ortamda polifenol oranının protein oranından fazla olduğu (polifenol >protein) ve polifenol oranının protein oranından az olduğu (polifenol <protein), bulanıklık partikülünün büyüklüğü üzerine protein/polifenol oranının çok önemli olduğunu göstermiştir.



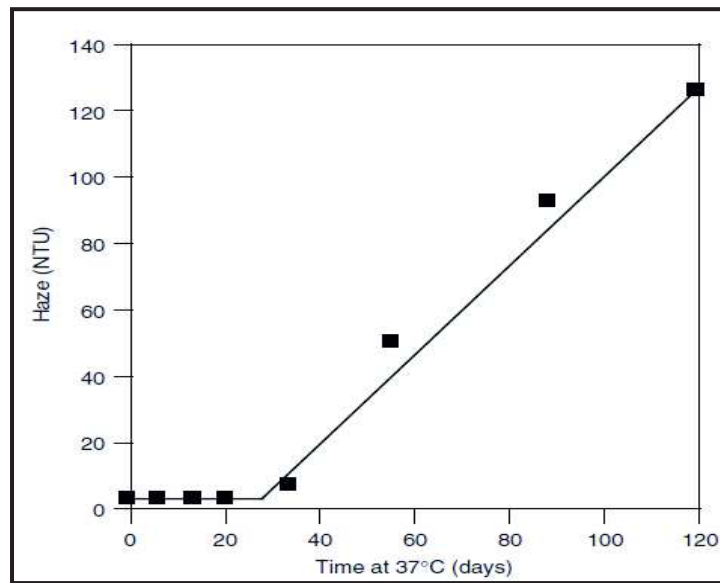
Şekil 2.9. Protein – Polifenol etkileşiminin kavramsal mekanizması (Siebert ve ark.; 1996)

Protein ve polifenol konsantrasyonuna ek olarak ortamın pH'sı ve etanol varlığı da örneklerde oluşan bulanıklığın yapısını etkilemektedir. Şarap ve üzüm suyunun pH'sında etanolün bulanıklık üzerine çok az etkisi olduğu bildirilmiştir. Ancak elma

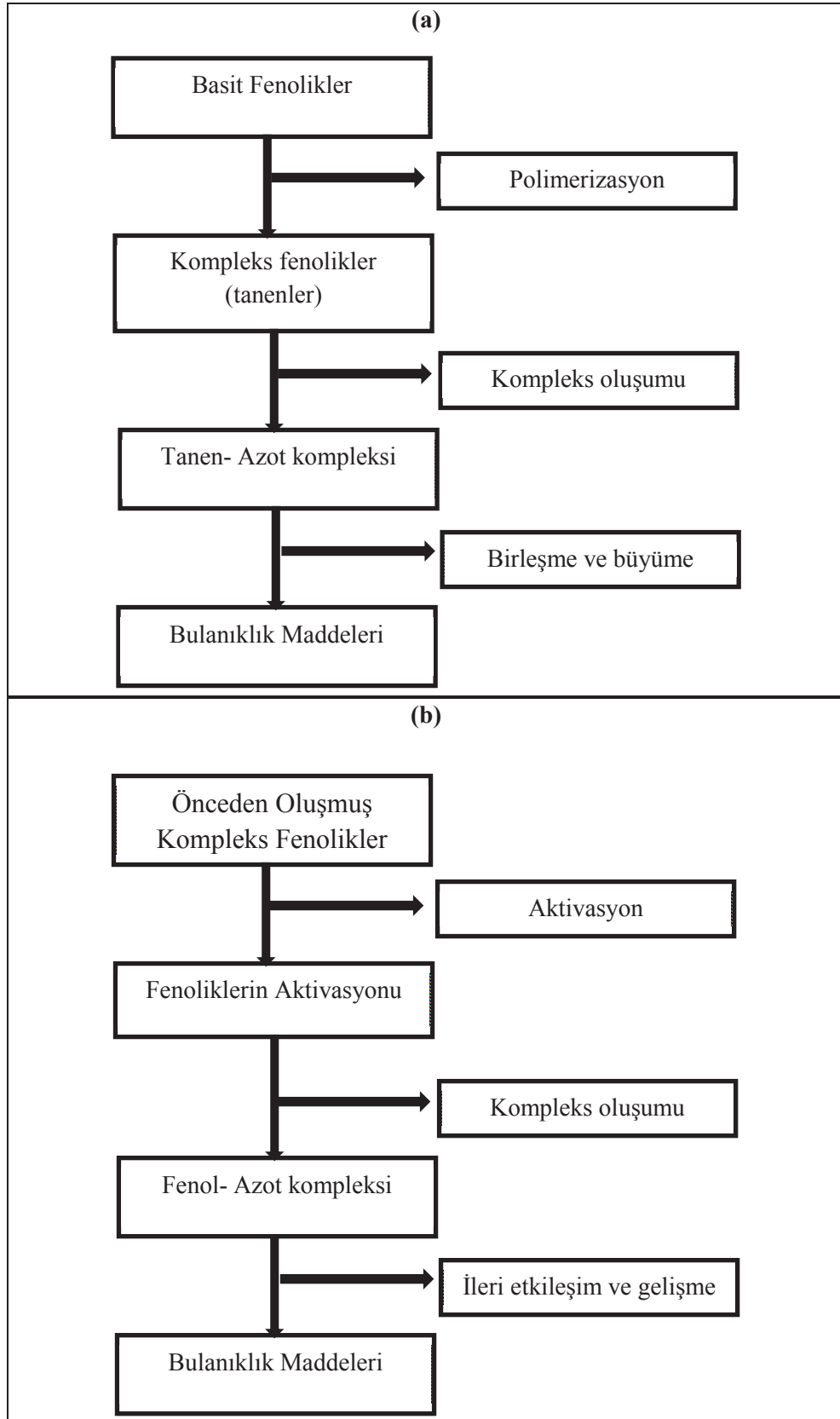
suyu veya biranın pH'sına yakın değerlerde artan etanol konsantrasyonu, bulanıklığın başlangıçta bir miktar azalmasına sebep olurken daha sonra konsantrasyon arttıkça buna paralel olarak bulanıklığı daha fazla arttırdığı gözlenmiştir. Etanol içeriğinin bu sınırlı etkisine karşın, pH'nın çok büyük bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı protein ve polifenol içeren bir modelde yapılan çalışmada, pH seviyesinin 3'ten 4'e yavaşça yükselmesi ışığın saçılma miktarını yani bulanıklığı arttırmıştır. Daha fazla pH artışı bulanıklıkta düşüşe sebep olmuştur (Siebert ve Lynn, 2003).

2.4.4. Bulanıklık gelişiminin süreci

Paketlenmiş olan içeceklerde bulanıklık oluşumunun süreci doğrusal iki evre şeklinde ilerleyen bir modelle açıklanmaktadır (Şekil 2.10.). İlk aşamada belirli bir zamana kadar değişiklik olmaz iken, sonrasında doğrusal bir artış gösteren bulanıklık gözlenmiştir. Bira, elma suyu, üzüm suyu ve kızılıcık kokteylinde saptanan bu iki aşamalı değişim için iki farklı açıklama önerilmiştir (Gardner ve McGuinness, 1977; Siebert, 1999). Çoğunlukla kabul edilen görüş, bulanıklık başlamadan önce, içeceklerde bulunan polifenollerin, polimerizasyona maruz kalmasıdır. Bu konu ile ilgili diğer bir açıklama ise bulanıklık oluşmadan önce polifenollerin aktivasyonunun (polimerizasyon yerine) gerçekleşmesidir (Şekil 2.11.).



Şekil 2.10. Kızılıcık suyu kokteyli için bulanıklık gelişim süreci (Siebert ,1999)



Şekil 2.11. İçeceklerde bulanıklık gelişmesinde gözlenen gecikme evresini oluşturan olası mekanizmalar (a) polimerizasyon (b) aktivasyon (Siebert, 1999).

2.4.5. Nar Sularında Bulanıklık Unsurları

Polifenoller tüm meyve ve sebzelerde yer alan bileşiklerdir. Bu bileşikler, meyve ve sebzelerin duysal ve beslenme özelliklerini etkileyerek onların kaliteleri üzerinde belirleyici rol oynamaktadırlar. Nar suyu üretim teknolojisinde karşılaşılan en büyük sorun meyve yapısında doğal olarak yüksek oranda bulunan fenolik maddelerin, hammaddenin işleme teknolojisine göre, meyve kabuğu ve bölmelerinden, üretilen meyve suyuna geçiş oranının çok yüksek olmasıdır. Kabuk ve zar kısmından ayıklanmış olan danelerin, preslenmesiyle elde edilen meyve sularında artan pres basıncına da bağlı olarak bazı durumlarda 2000 mg/L gibi yüksek oranlarda fenolik madde meyve suyunda bulunabilmektedir. Ancak elde edilen meyve suyu içerisinde bu kadar fazla miktarda fenolik madde bulunması, tüketim açısından olumsuz olan buruk lezzet oluşturmaktadır. Bu sebeple burukluk yapan maddeler, jelatin, PVPP gibi durultma ajanları ile uzaklaştırılmaktadır (Cemeroğlu,1977). Gerekli durultma işlemlerinden geçirilerek içilebilir nitelik kazanan berrak nar suyu, depolandıktan kısa bir süre sonra tekrardan bulanıklık göstermektedir. Bu bulanıklık zamanla ambalajların dip kısmında birikerek tüketici açısından olumsuz karşılanacak bir yapı oluşturur. Nar sularında meydana gelen bulanıklığın, meyve içeriğinin yüksek polifenol varlığı göstermesine bağlı olarak, protein-polifenol komplekslerinin oluşumu veya yalnızca polifenollerin oksidasyonu ve kondensasyonuna bağlı olabileceği öne sürülmüştür.

Meyve suyu ısıtıldığında Protein-Polifenol kompleksine bağlı olarak oluşan bulanıklık kısmen azaltılmakla beraber soğuma gerçekleştiğinde bulanık yapı tekrar oluşmaktadır. Meyve suyunun doğal yapısında sorun oluşturabilecek düzeyde protein bulunmamaktadır. Ancak protein-polifenol interaksyonu ile oluşan bulanıklığa, protein kaynağı olarak, durultma esnasında ilave edilen jelâtin veya pekteolitik enzimlerin sebep olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple proteinlerden kaynaklanan bulanıklığa engel olabilmek için durultma yardımcı maddeleri olarak bentonit ve silika jel gibi ajanların kullanılması önerilmektedir (Van Buren, 1989).

Polifenollerin kondensasyonu sonucunda oluşan bulanıklık ise, ortamda protein ve nişastanın çok az bulunduğu veya bulunmadığı durumlarda meydana gelmektedir. Polifenol kaynaklı bu bulanıklık meyve suyu içerisinde yavaş gelişmekle beraber, gelişim hızı düşük pH ve yüksek depolama sıcaklığı ile hızlanmaktadır (Van Buren ve Way, 1978). Önerilen uygulamada, bu tür meyve sularında 0,25 g/L'yi geçmeyecek şekilde jelatin ilavesi protein-polifenol etkileşimi ile oluşan bulanıklığa sebep olmamaktadır (Van Buren, 1989).

Protein ve polifenol içeren sistemlerde, bulanıklık sebebi olarak gösterilen aktif proteinlerin (HA) ve aktif polifenollerin (HA), ayrı ayrı konsantrasyonları ve birbirlerine olan oranlarının bulanıklık üzerinde çok etkili olduğu Siebert ve ark. (1996) tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, ısı etkisiyle bulanıklığın arttığı belirtilmiş ve bu durumun sebebi olarak ısı artışına bağlı olarak proteinlerin yapısının değişmesiyle, proteinler üzerinde polifenollerle bağ oluşturabilecek özellikte bölgelerin oluşması gösterilmiştir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Endüstriyel nar suyu konsantreleri

Yapılan çalışmada materyal olarak Denizli, Mersin, Isparta, İzmir ve Adana illerinde üretim yapan beş büyük meyve suyu fabrikasından yaklaşık 65-68 briks aralığında konsantreler temin edilmiştir. 2,5 kg'lık iki ayrı ambalaj içerisinde temin edilen bu berrak nar suyu konsantrelerinden başlangıç analizleri için 100 g kadar örnek alınıp analiz yapılıncaya kadar -25°C 'de korunmuştur. Bu konsantreler fabrikaların kendi üretim şartları altında çeşitli durultma yöntemleri ile durultulup, ultrafiltrasyon tekniği ile filtre edildikten sonra konsantre edilmiş berrak niteliktedir. Ancak firma politikaları gereği üretim tekniklerinde kullandıkları durultma ajanları ve dozajlarına ilişkin bilgiler burada verilmemiştir. Araştırmamız boyunca bizim ilgilendiğimiz kısım ise durultma işlemine rağmen belirli bir depolama süresi sonucunda tekrar eden tortunun içeriğidir. Bu amaçla firmalardan elde edilen bu endüstriyel nitelikteki nar suyu konsantreleri $+5^{\circ}\text{C}$ 'deki soğuk hava deposunda 1 yıl süre ile depolanmış ve bu sürenin sonunda tortular konsantreden ayrılmıştır. Çalışma iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.1.2. Nar meyvesi

Bu çalışma aynı zamanda tarafımızdan narlardan elde ettiğimiz meyve suyu üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla meyve suyuna işlenebilecek nitelikte antosiyanin içeriği yüksek yoğun kırmızı renkli ve 'şeker:asit' dengesi 15:1'in altında olan meyve suyu endüstrisinin en çok talep ettiği Hicaznar (*Punica granatum* L. Hicaznar) çeşidi narlar tercih edilmiştir.

3.1.3. Kimyasallar

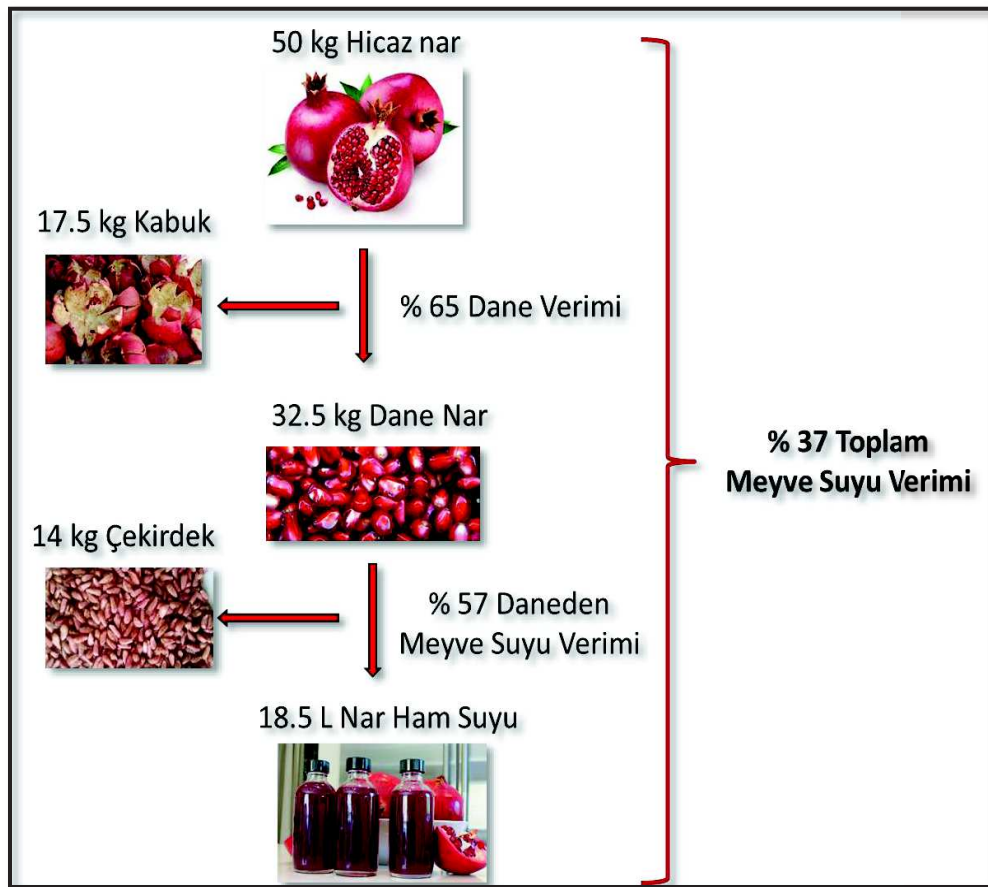
Hidrolize olabilen tanenlerin HPLC ile tanımlanmasında external standart olarak kullanılan punikalın (%98 saflıkta), punikalajin (%97 saflıkta) Chengdu Biopurify Phytochemicals Ltd. firmasından (Sichuan, Çin) ve ellajik asit (E2250, \geq %95 saflıkta) Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.) satın alınmıştır. Toplam fenolik madde ve kondense olabilen tanenlerin spektrofotometrik analizinde kullanılan gallik asit (G7384), Folin&Ciocalteu (47461), sodyum karbonat (13418), kateşin (C1251, min %98 saflıkta), vanilin (V1104, %99 saflıkta) Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.) temin edilmiştir. Kalitatif testlerde kullanılan poly-L-prolin (P2254, mol. ağırlığı 1.000–10.000) Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.), N,N, Dimetilforamid (ACS reagent) Carlo Erba firmasından (Milano, İtalya), tannik asit Merck KGaA firmasından (Darmstad, Almanya) sağlanmıştır. Proteinlerin spektrofotometrik analizinde kullanılan Coomassie Brilliant blue G-250 ve Albumin fraction V Merck KGaA firmasından (Darmstad, Almanya) temin edilmiştir. Nar sularının durultulmasında kullanılan sığır jelatini 80–100 Bloom sayılı olup bir meyve suyu firmasından tarafından araştırma amaçlı olarak alınmıştır. HPLC analizinde mobil faz olarak kullanılan asetonitril ve ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan metanol HPLC saflığında olup Sigma firmasından (St. Louis, MO, A.B.D.) ve asitlendirme amacı ile kullanılan asetik asit ve fosforik asit Merck KGaA firmasından (Darmstad, Almanya) satın alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Narın meyve suyuna işlenmesi

Yapılan araştırmanın ana materyali olan nar suyu tortusu, farklı firmalardan, endüstriyel olarak işlenmiş nar suyu konsantrelerinin bekletilmesiyle elde edilmiştir. Ancak bu araştırmaya diğer bir açıdan bakabilmek ve kıyaslama yapabilmek için analizlerde kullanılmak üzere soğuk durultma tekniği ile nar suyu elde edilmiştir. Bu amaçla 50 kg Hicaz narı Sakarya Semt Pazarından temin edilmiştir. Narlar, Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ürün Geliştirme Laboratuvarı'nda meyve

suyuna işlenmiştir. Bu amaçla narlar musluk suyu altında yıkanarak sonrasında oluşabilecek mikrobiyal etkiler en aza indirilmeye çalışılmıştır. Yıkanan nar meyveleri bir bıçak yardımıyla kesilerek nar tanelerinin ayıklaması sağlanmıştır. Nar tanelerinden kabuk ve meyve zarları tamamen uzaklaştırılmıştır. 50 kg ham nardan 32,4 kg dane nar elde edilmiştir. Tamamen doğal olarak nar suyu elde edilebilmesi için nar daneleri önce elekten el yordamıyla geçirilmiş ve sonra beş katlı bir tülbent yardımı sıkılarak nar ham suyu elde edilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Narların işlenmesi sırasında elde edilen verimler

3.2.1.1. Nar suyunun durultulması

Elde edilen nar suları durultulmuş ve durultulmamış olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Durultulmuş örneklerin elde edilebilmesi için öncelikle bir ön deneme kullanılacak optimum jelatin dozajı belirlenmiştir. Yürütülen bu tez çalışmasında söz konusu nar

ham sularında pektin bulunmadığı için bu bileşenin uzaklaştırılmasına gerek olmadığından sadece jelâtin kullanılarak soğuk durultma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla optimum jelatin dozajının belirlenmesi için, 8 adet 100 mL'lik mezürlere ayrı ayrı 100 mL kaba filtre kağıdından süzölmüş nar ham suları konulmuştur. Bu nar ham meyve sularının üzerine % 0,5'lik jelâtin çözeltilisinden sırasıyla 0,5 mL-1 mL-2 mL-4 mL-6 mL-8 mL-10 mL-12 mL eklenmiş ve bir gece +5°C'de bekletilerek soğuk durultma işlemine tabi tutulmuşlardır. Bu sürenin sonunda çökme yapmış örneklerin üst kısımlarından alınıp önce santrifüjlenerek sonra ise kaba filtreden geçirilip süzölmüştür. Elde edilen berrak nar sularının bulanıklık düzeyleri bir türbidimetre (Hach-Lange GMBH, HACH 2100 IS, Düsseldorf, Almanya) yardımı ile belirlenmiştir. Uygulanan jelatin dozajlarına karşılık elde edilen bulanıklık düzeyleri Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Optimum jelatin dozajının saptanmasında kullanılan jelatin konsantrasyonlarına karşı elde edilen bulanıklık düzeyleri

Uygulama dozu (mL jelatin/100 mL nar ham suyu)	Bulanıklık düzeyi (NTU)
0,5	59,3
1	53,7
2	46,7
4	23,5
6	14,6
8	11,4
10	9,37
12	7,6

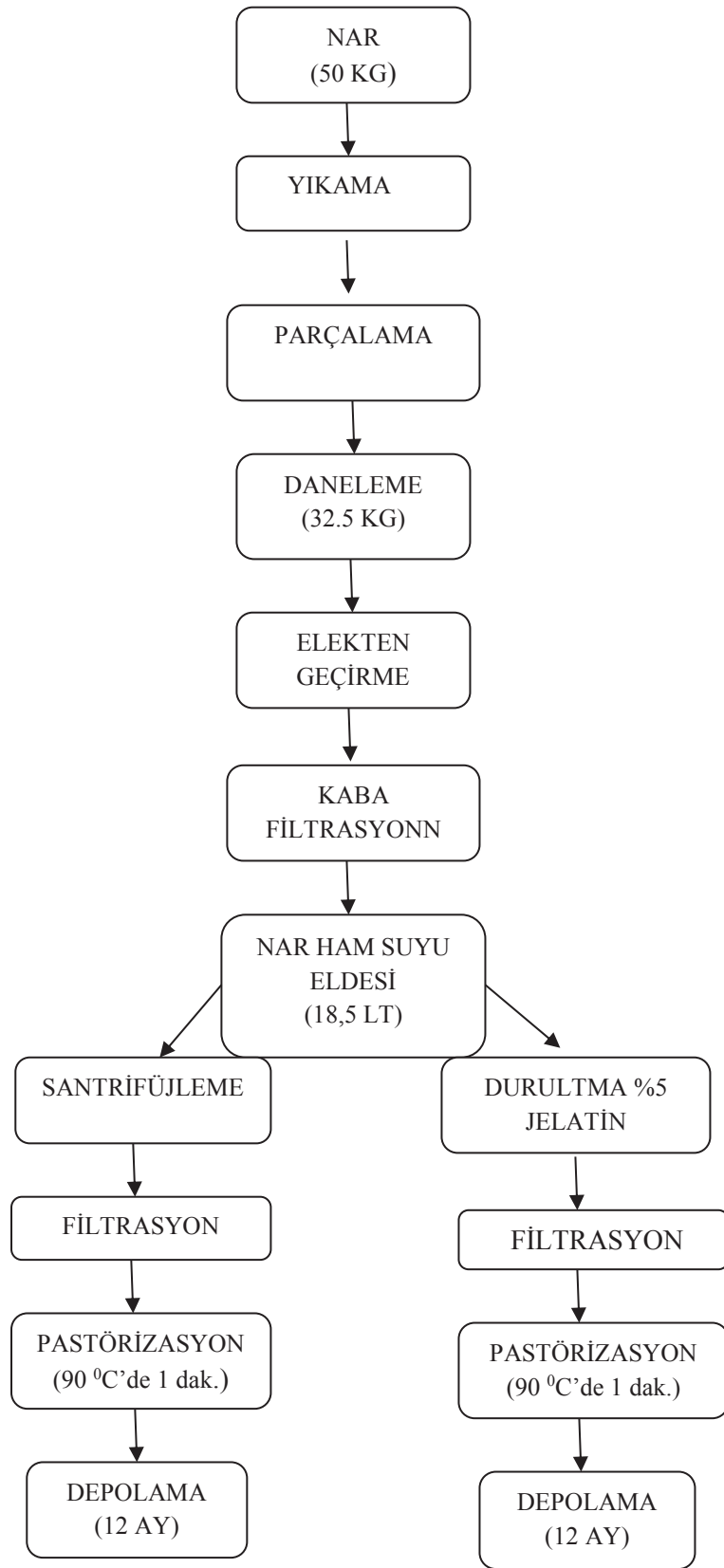
Elde edilen nar ham suyunun 10 litresi durultma amacı ile kullanılmıştır. Durultma işlemi için %5'lik jelatin çözeltilisinden 10 litrelik nar ham suyuna 160 mL ilave edilerek bir gece +5°C'de bekletilmiştir. Bu süre sonunda çöküntüyü almadan üsteki kısmı berrak kısım önce 5.000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüjlenmiş ve daha sonra kaba bir filtre yardımı ile filtre edilmiştir. Bu durultma işlemi sonunda 6,5 NTU düzeyinde bir berraklığa ulaşılmıştır.

3.2.1.2. Nar sularının pastörizasyonu

Örneklerin muhafaza edileceği kavanozlar öncelikli olarak ön yıkamadan geçirilmiş ve sonrasında kapakları ile birlikte otoklavda 121°C’ de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Süzülen durultulmuş ve durultulmamış tüm örnekler 370 cc’lik sterilize edilmiş konserve kavanozlarına 200 ml olacak şekilde alınarak 90°C ‘de 1 dakika kaynar su içerisinde pastörize edilmiştir. Bu sürenin sonunda örnekler hızlı bir şekilde oda sıcaklığına soğutulmuştur. Durultulmuş ve durultulmamış örnekler için pastörizasyon öncesi ve sonrası bulanıklık değerleri türbidimetre ile ölçülerek kaydedilmiştir. Depolanmak üzere soğuk hava deposuna yerleştirilen örnekler +5 °C’de 12 ay depolanmıştır. Nar suyunun işlenmesine dair tüm proses basamakları Şekil 3.2.’de gösterilmiştir.

3.2.1.3. Durultulmuş berrak nar suyunun soğuk sterilizasyonu

Bu işlem, ısıl işlemin bulanıklık ve tortu oluşumu üzerine etkisini ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür. Başarılı bir şekilde durultulmuş 6,5 NTU bulanıklık düzeyindeki kristal berraklıktaki nar sularının 100 mL’si iki ayrı steril 50 mL’lik falcon tüplerine steril nitelikteki 0,45 µm’lik filtreler (Millex-HA, 0,45 µm, Merck-Millipore Ltd., Cork, İrlanda) yardımı ile UV bir kabin içerisinde ısıl işlem uygulanmadan steril hale getirilmiştir. Soğuk sterilizasyon olarak adlandırılan bu işlem ile herhangi bir ısı uygulamaksızın berrak nar suları steril hale getirilmiş ve diğer nar suları/konsantreleri ile beraber 12 ay boyunca +5°C’de depolanmıştır.



Şekil 3.2. Nar suyu üretim akış şeması

3.2.2. Tortuların elde edilmesi

Taze narlardan durultularak ve durultulmadan üretilen meyve suları ile endüstriden temin edilen konsantrelerin 12 aylık depolama sonunda şişelerin dibinde oturmuş halde ciddi tortu olduğu gözlenmiştir. Bu örneklerin şişenin dibine oturmuş olan tortuya dokunulmadan üsteki berrak kısımlar uzaklaştırılmıştır. Şişelerin dibinde toplanan tortular 50 mL'lik falcon tüplerine transfer edilmiş ve bir santrifüj (Hettich Universal 320R, Tuttlingen, Almanya) yardımı ile 4500 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası berrak kısım atılmış ve tortular ayrı bir yerde birleştirilmiştir. Birleştirilen tortular nar meyvesinden gelen kırmızı renkli antosiyaninleri tamamen uzaklaştırmak için distile su ile yıkanmıştır. Su ekleyerek yapılan bu işlem sonrası her seferinde santrifüjlenmiş ve kırmızımsı yapıdaki berrak sulu kısım atılmıştır. Bu işlem tortu kitlesi tamamen renksiz kılınıncaya kadar devam edilmiştir. Elde edilen renksiz çamur halinde tortular -50°C 'de dondurulmuş ve daha sonra bir liyofilizatör (Labconco FreeZone6Liter, Maryland, ABD) yardımı ile 2 gün süre ile kurutulmuştur (Şekil 3.3.). Kurutulmuş toz halinde örnekler analiz edilinceye kadar renkli vida kapaklı cam tüplerde -20°C 'de depolanmıştır.



Şekil 3.3. Liyofilize edilmiş toz halinde nar suyu/konsantresi tortusu

3.2.3. Analiz yöntemleri

3.2.3.1. Suda kuru madde tayini

Örneklerde suda çözünür kuru madde değerleri masa üstü bir Abbe refraktometresi ile tespit edilmiştir. Cemeroğlu (2009) briks değerinin daha yüksek çıkmasına sebep olan bulanıklık unsurlarının elemine edilebilmesi için filtrasyon veya santrifüj ile uzaklaştırılmasını önermiştir. Bu amaçla ölçüm berrak ve filtre edilmiş olan nar suyu ve konsantreleri ile gerçekleştirilmiştir. Ölçümler oda sıcaklığında yapılmış olup refraktometrenin sıfır ayarı için damıtık su kullanılmıştır.

3.2.3.2. pH tayini

Nar suyu ve konsantrelerinde pH değerleri elektrometrik yöntem ile 20°C'de bir pH metre (Mettler Toledo, SevenCompactS220, Schwerzenbach, İsviçre) yardımı ile belirlenmiştir. Küçük bir behere elektrotun ölçüm yapabileceği bir seviyede nar suyu alınarak pH değeri belirlenmiştir. Nar konsantrelerinin pH değeri briksi 15⁰Bx olacak şekilde nar suyu haline getirildikten sonra ölçülmüştür.

3.2.3.3. Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Meyve sularının bulanıklık düzeylerinin ölçümü türbidimetre (HACH 2100 IS, Hach-Lange GMBH, Düsseldorf, Almanya) yardımıyla belirlenmiştir. Tarafımızdan işlenerek elde edilmiş durultulmuş ve durultulmamış nar suyu örnekleri doğrudan kullanılırken, konsantreler meyve suyu briksine (15 Bx) değerine seyreltilerek ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar NTU (Nephelometric Turbidity Unit) olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.4. Bulanıklık oluşturan (Haze-Aktif) protein varlığı testi

Berrak nar sularında ve konsantrelerinde bulanıklık oluşturabilecek (Haze-Aktif) protein varlığını ortaya koymak için, temel olarak bir polifenol olan tannik asitin berrak nar suyuna ilave edilmesinden sonra bulanıklık değerinin ölçülmesine dayanan

yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla 45 mL berrak nar suyu üzerine 5 mL tannik asit (1,25g/50 mL) çözeltisi ilave edilmiş ve 300 rpm'de 1 dakika vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Daha sonrasında 25°C'de 30 dakika su banyosunda bekletilip 300 rpm'de tekrar karıştırılan nar sularının bulanıklık değerleri türbidimetre ile ölçülmüştür. Şahit ölçüm nar suyu yerine sodyum fosfat tamponu (pH 3.5) ile gerçekleştirilmiş ve bu değer gerçek örnek ölçümlerinden çıkartılmıştır (Siebert ve Linn, 2000).

3.2.3.5. Bulanıklık oluşturan (Haze-Aktif) polifenol varlığı testi

Berrak nar sularında ve konsantrelerinde bulunan bulanıklık oluşturabilecek (Haze-Aktif) polifenol varlığını ortaya koymak için, polifenollerle reaksiyona girme yeteneğine sahip bir proteinin (poliprolin) berrak nar suyuna ilave edilmesinden sonra bulanıklık değerinin ölçülmesine dayanan yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla 20 mL berrak nar suyu üzerine, bir protein kaynağı olan 12 mg poliprolin ilave edilerek 1 dakika 300 rpm'de karıştırılmıştır. Bu süre sonunda karışım 80°C'de su banyosunda 30 dakika ve daha sonra 25°C'de 15 dakika bekletilmiştir. Karışım 300 rpm'de 1 dakika vorteks yardımı ile tekrar karıştırıldıktan sonra türbidimetrede bulanıklık değeri ölçülmüştür. Şahit ölçüm nar suyu yerine sodyum fosfat tamponu (pH 3.5) ile gerçekleştirilmiş ve bu değer gerçek örnek ölçümlerinden çıkartılmıştır (Siebert ve Linn, 2000).

3.2.3.6. Tanen/Protein-Tanen bulanıklığı testi

Bulanık nar sularında ve konsantrelerinde bulanıklık kaynağının tanen veya tanen-protein komplekslerinden kaynaklanıp kaynaklanmadığını göstermek amacıyla bulanık nar suyundan 5 mL alınmış ve üzerine 15 mL dimetilforamid (DMFA) ilave edilip karıştırılmıştır. Şahit olarak ise 5 mL nar suyu üzerine 15 mL distile su eklenip karıştırılmıştır. 5 dakikalık bekleme süresinin ardından türbidimetrede bulanıklık ölçümü yapılmıştır (Van Buren, 1989).

3.2.3.7. Fenolik bileşik kaynaklı tortu analizi

Bu test elde edilen tortular üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bu testte sadece fenolik maddelere bağlı bulanık unsurlarının varlığı ortaya konmuştur. Bu amaçla tortu üzerine $FeCl_3$ çözeltisi damlatılmış ve mavi-siyah renk oluşumu gözlenmiştir (Cemeroğlu, 2010).

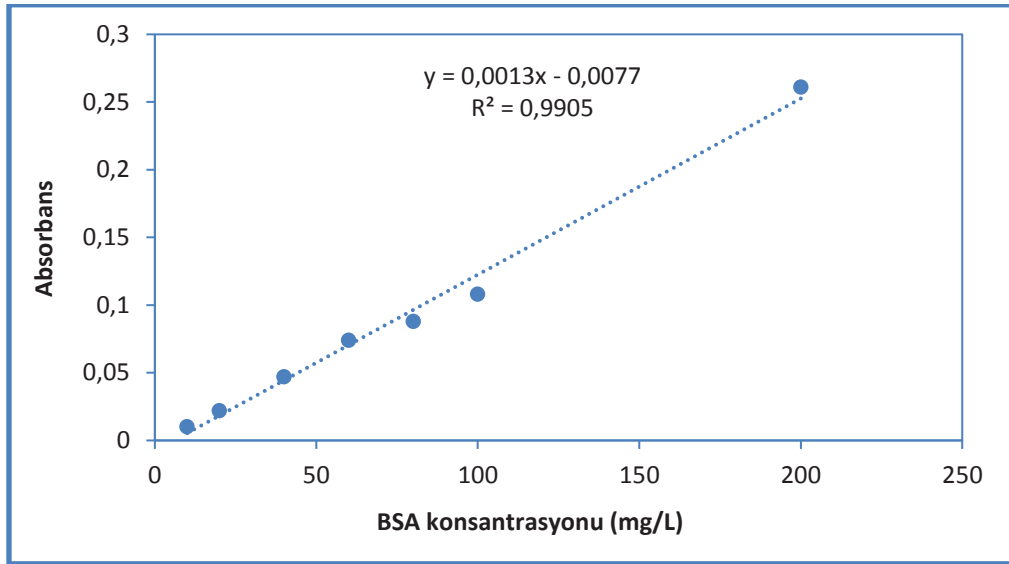
3.2.3.8. Titrasyon asitliği

Nar sularının toplam asitliği pH-metre yardımı ile takip edilen titrimetrik yöntem ile saptanmıştır (Cemeroğlu, 2010). Durultulmuş ve durultulmamış nar meyve suları ile konsantrelerden meyve suyu briksine getirilmiş olan rekonstitüe nar suları 1:1 oranında (10 mL nar suyu:10 mL damıtık su) seyreltilerek kullanılmıştır. Bu amaçla pH değerinin 8.1'e ulaşması için ayarlı 0,1 N NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Titrasyon asitliği değeri susuz sitrik asit cinsinden "g/100 mL" olarak hesaplanmıştır.

3.2.3.9. Protein tayini

Tortuların protein içeriğinin belirlenmesinde düşük konsantrasyonlarda çok hassas bir yöntem olan Bradford (1976) prosedürü uygulanmıştır. Oldukça duyarlı olan bu yöntem (5-100 μ g/ml) Coomassie brilliant blue G-250 boyasının, proteinlerin asidik ve bazik grupları ile etkileşerek, renk oluşturmasını esas almaktadır. Boya ile reaksiyona giren protein grupları 595 nm'de maksimum absorban vermektedir. Bu amaçla ilk önce Coomassie brilliant blue G-250 boya çözeltisi hazırlanmıştır. Coomassie brilliant blue G-250'den 100 mg 50 mL metanol içerisinde çözüldürülmüş ve daha sonra üzerine 100 mL %85'lik fosforik asit ve 200 mL distile su eklenmiştir. Elde edilen bu çözelti stok boya çözeltisi olarak filtre edilmiş kullanılacağı zaman 1:4 (1 hacim boya: 4 hacim distile su) oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Standart bir kalibrasyon eğrisi elde etmek için BSA (Bovine Serum Albumine)'den yararlanılmıştır. 1000 ppm konsantrasyonda bir stok çözelti hazırlanmış ve daha sonra bu stok çözeltiden 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 200 ppm'lik seri çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltilerden 150 μ L, 3 mL seyreltik boya çözeltisi karıştırılmış ve 10 dakika süreyle beklenmiştir. Bu süre

sonunda 595 nm’de şahite karşı spektrofotometrede okuma yapılmıştır. Bu konsantrasyonlara karşı elde edilen absorbans değerleri bir grafiğe aktarılarak bir eğri ve bu eğriyi tanımlayan matematiksel eşitliğe ($y=0.0013x-0.0077$) ulaşılmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. BSA standart eğrisi

Ekstraksiyon: Bunun için 50 mg liyofilize tortu örneği bir test tüpüne tartılmış ve üzerine 0,1 N NaOH çözeltisi eklenmiştir. Karışım ultrasonik su banyosunda 30 dakika süreyle 40°C’de daha sonra yine 30 dakika süreyle oda sıcaklığında orbital bir karıştırıcıda ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen bulanık ekstrakt 4500 rpm’de 20 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Santrifüj cihazından çıkarılan tüplerin berrak kısımlarından çökelti karışmayacak şekilde 150 µL alınıp deney tüpüne aktarıldı üzerine 3 ml boya çözeltisi ilave edilip manyetik karıştırıcıda karışımı sağlanmıştır. 10 dakika bekleme süresinden sonra 595 nm’de okuma gerçekleştirilerek standart egride belirlenmiş olan formül ile numunenin protein içeriği belirlenmiştir.

3.2.3.10. Toplam fenolik madde analizi

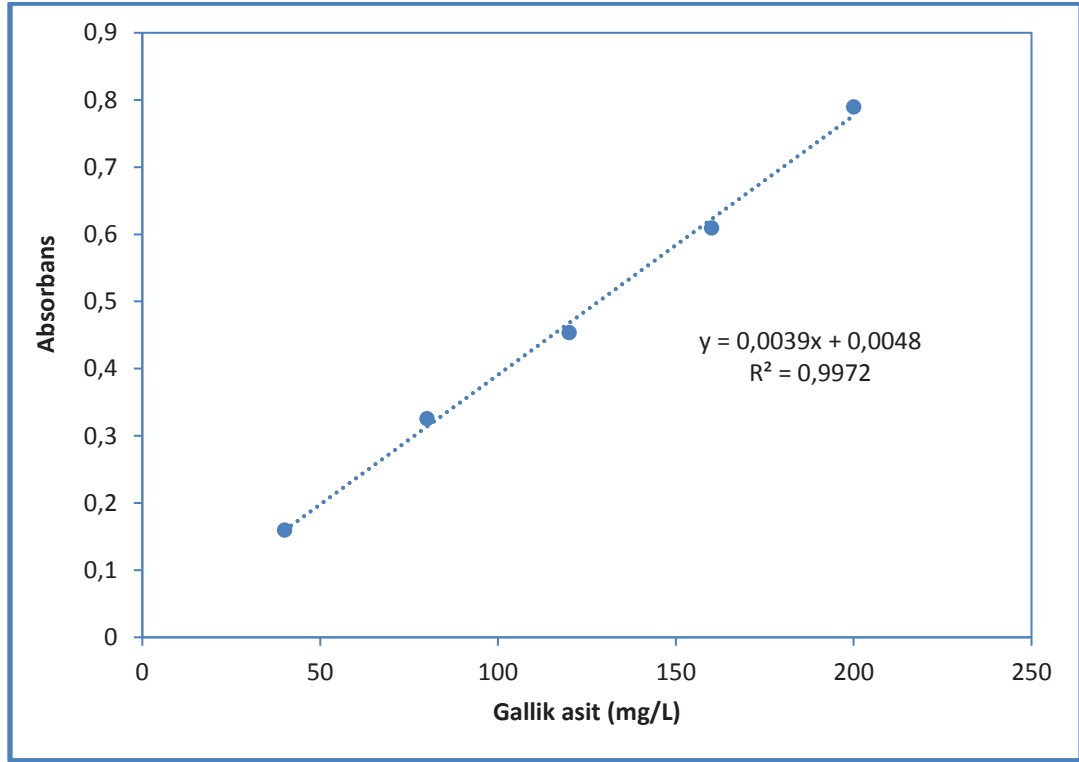
Ekstraksiyon: Tortuların, konsantrelerin ve nar sularının toplam fenolik madde içerikleri Waterhouse (2005) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem ile saptanmıştır. Tortuların fenolik içeriklerinin saptanmasında 10 mg toz halinde liyofilize edilmiş örnek direkt olarak 50 mL'lik bir falcon tüpüne tartılmıştır. Tartılan örnekler üzerine 50 mL asitlendirilmiş %80 metanol (%0,1 HCl) eklenmiştir. Tüpler ilk önce 40°C'de ultrasonik su banyosunda (Bandelin Sonorex, Berlin, Almanya) 20 dakika süreyle daha sonra da bir orbital shaker (SA600, Şimşek Labortechnik, Türkiye) yardımı ile 20 dakika süre ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda tüpler 4500 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlenerek berrak fenolik ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen bu berrak ekstraktlar 0.45 µm'lik nylon filtre (Millex-HN, Merck-Millipore Ltd., Darmstadt, Almanya) yardımı filtre edildikten sonra direkt olarak toplam fenolik madde, kondense olabilen fenolik madde ve hidrolize olabilen fenolik tayininde kullanılmıştır.

Konsantrelerin toplam fenolik madde içeriğinin saptanmasında ise, konsantreler doğal nar suyu briksi olan 15 Bx değerine sulandırılmıştır. Doğal nar suyu briksine getirilen rekonstitüe nar suları ile, taze narlardan işlenerek elde edilen durultulmuş ve durultulmamış nar suları uygun oranda seyreltilmiş ve filtre edildikten sonra herhangi bir ekstraksiyon işlemine tabi tutulmadan direkt olarak kullanılmıştır.

Deneyin yapılışı: Bu amaçla 100 µL filtre edilmiş berrak ekstrakt, 1900 µL distile su ve 500 µL Folin-Ciocalteu ayracı karıştırılıp 3 dakika süreyle bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda bu çözeltiliye 1500 µL doygun Na₂CO₃ (%20) deney tüplerine ilave edilmiş ve 2 saat süre karanlık bir ortamda oda sıcaklığında reaksiyonun gerçekleşmesi için bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda 765 nm dalga boyunda bir UV-VIS spektrofotometre (UVmini-1240, Shimadzu, Japonya) yardımı ile çözeltilerin absorbans değerleri okunmuştur.

Sonuçların hesaplanmasında standart bir fenolik madde olarak gallik asit seçilmiştir. Bu amaçla gallik asitin 40, 80, 120, 160 ve 200 mg/L'lik seri çözeltileri hazırlanmış

ve yukarıda anlatıldığı gibi Folin-Ciocalteu ayracı reaksiyona sokulup bu konsantrasyonlara karşı absorbans değerleri elde edilmiştir. Elde edilen değerler bir grafiğe aktarılarak standart eğriye ve bu eğriyi tanımlayan matematiksel eşitliğe ($y=0,0039x + 0,0048$, $R^2 = 0,9972$) ulaşılmıştır (Şekil 3.5.). Sonuçlar bu eşitlikten yararlanılarak hesaplanmış, tortu ve konsantrelerde “g gallik asit/100 g (kuru ağırlık)” nar sularında ise “mg gallik asit/100 mL” olarak ifade edilmiştir.



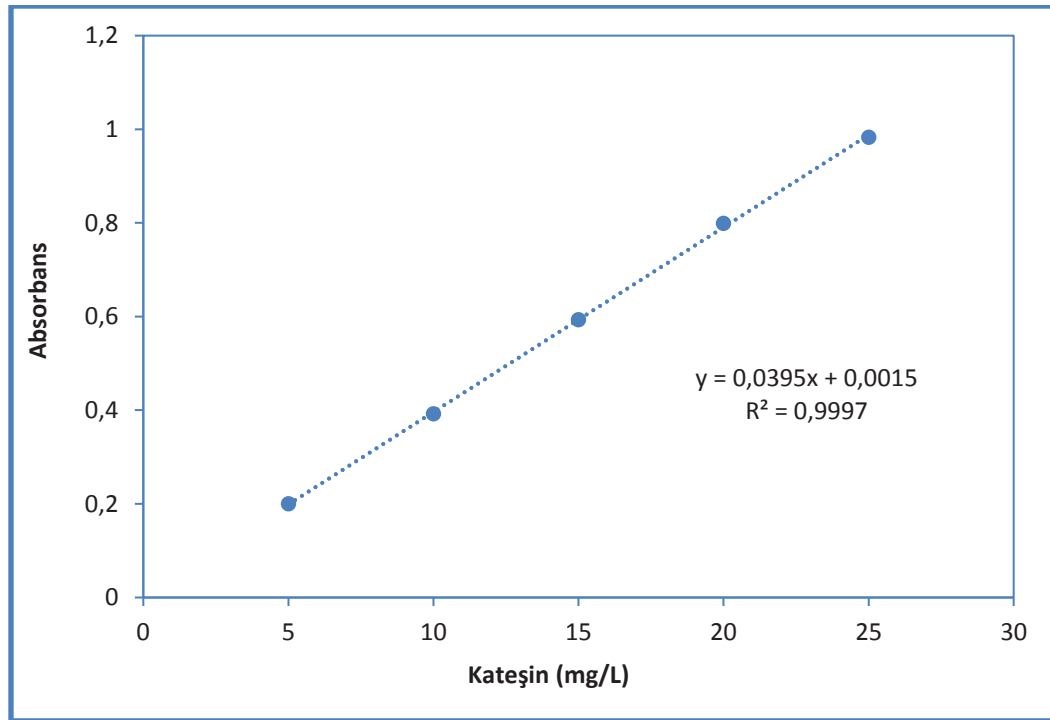
Şekil 3.5. Gallik asit standart eğrisi

3.2.3.11. Kondanse olabilen fenolik madde tayini

Bu analiz yönteminde meyve sularında bulunan düşük molekül ağırlıklı ve monomoleküler kateşinlerle, löykoantosiyanidinler tespit edilebilmektedir. Kateşinler ve löykoantosiyanidinler kimyasal ve enzimatik yollarla kondanse olabilme yeteneğine sahiptirler. Bu kondanse reaksiyonu sonucunda proantosiyanidinler oluşmaktadır. Bu bileşikler kısa zincirli iken renksiz olmalarına karşın polimerizasyon dereceleri arttıkça sarıdan kahverengiye doğru değişen renklere bileşikler haline

dönüşürler. Fenolik bileşiklerce zengin olan nar sularında kondanse olabilir niteliğe sahip olan bu bileşikler her zaman bulanma ve tortulanma sorunu meydana getirmektedir (Cemeroğlu, 2010). Bu bileşiklerin miktarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen analizde Tanner ve Bruner (1979) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemin temel prensibi vanilin çözeltisi, kateşin ve löykoantosiyanidinlerin 6. ve 8. pozisyonları ile reaksiyona girerek kırmızı renk oluşturmaktadır. Bu oluşan rengin 500 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçülmesi ile kondanse olabilen fenolik madde miktarı tespit edilebilmektedir.

Nar suları ve konsantreden doğal nar suyu briksine getirilen rekonstitüe nar suları 50 kat seyreltilerek analize alınmıştır. Bu amaçla A-B-C tüpleri hazırlanmış, A tüpüne 2 mL seyreltilmiş örnek ve 4 mL vanilin çözeltisi, B tüpüne 2 mL seyreltilmiş örnek ve 4 mL H₂SO₄ (%70 v/v) çözeltisi eklenip karıştırılmıştır. C tüpü şahit tüpü olup 2 mL damıtık su ve 4 mL vanilin çözeltisi içermektedir ve tüm analiz için bir tane hazırlanmıştır. 15 dakika bekleme süresinin ardından 500 nm’de suya karşı okuma yapılmıştır. A tüpüne ait absorbands değerinden B ve C tüplerine ait absorbands değerleri çıkartılarak net absorbands değeri hesaplanmıştır. Standart eğrinin çizimi için kateşin kullanılmıştır. Bu amaçla 5 mg kateşin 50 mL’lik balon jode etanol yardımı ile çözüldürülmüştür. Hazırlanan 100 ppm’lik stok çözeltiden 5-10-15-20-25 ppm’lik ara stoklar hazırlanıp nar sularında uygulanan işlem basamakları uygulanmış ve bu konsantrasyonlara karşı net absorbands değerleri elde edilmiştir. Bu değerler grafiğe işlenerek standart eğriye ve bu eğriyi tanımlayan matematiksel eşitliğe ($y=0.0395x + 0.0015$) ulaşılmıştır (Şekil 3.6.). Sonuçlar bu eşitlikten yararlanılarak hesaplanmış, konsantrelerde “mg kateşin/kg” nar sularında ise “mg kateşin/L” olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.6. Kateşin standart eğrisi

3.2.3.12. Hidrolize olabilen tanenlerin HPLC ile tespiti

Ekstraksiyon-1: Tortuların hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde ayrıca yeni bir ekstraksiyon işlemi yapılmamış “Toplam Fenolik Madde Analizi” başlığı altında anlatılan yöntemle elde edilmiş olan ekstrakt kullanılmıştır. Bu amaçla tüm fenolik bileşikleri içeren %80’lik metanolik ekstrakt direkt olarak 0.45 µm’lik şırınga ucu filtre (Millex-HN, 13 mm, non-sterile, Merck-Millipore Ltd., Darmstadt, Almanya) yardımı ile HPLC viallerine filtre edilmiştir. Elde edilen berrak ekstraktlar bekletilmeksizin HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

Kromatografi koşulları: Tortuların hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde Hitachi Elite LaChrom serisi L-2130 ikili pompa, L-2300 kolon fırını, L-2455 DAD diode array detektör, L-2200 autosampler ve EZChrom Elite yazılım sisteminden oluşan bir HPLC (VWR, Hitachi, Japonya) cihazı kullanılmıştır.

Kolon: PurospherSTAR RP-18 endcapped (Merck-Millipore Ltd., Darmstadt, Almanya)

- Boyut: 150 x 4,6 mm, ID
- Dolgu maddesinin partikül büyüklüğü: 5µm
- Dolgu maddesinin por çapı: 12 nm
- Dolgu maddesinin yüzey alanı: 330 m²/g
- Toplam karbon yükü: %17

Mobil faz: Gradient bir akış programı uygulanmış olup bu program Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Tortunun hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan gradient akış programı

Süre (dak)	A (Su:Asetik Asit, 98:2)	B (%100 Asetonitril)
0	95	5
10	75	25
20	50	50
30	25	75
40	5	95
45	95	5
50	95	5

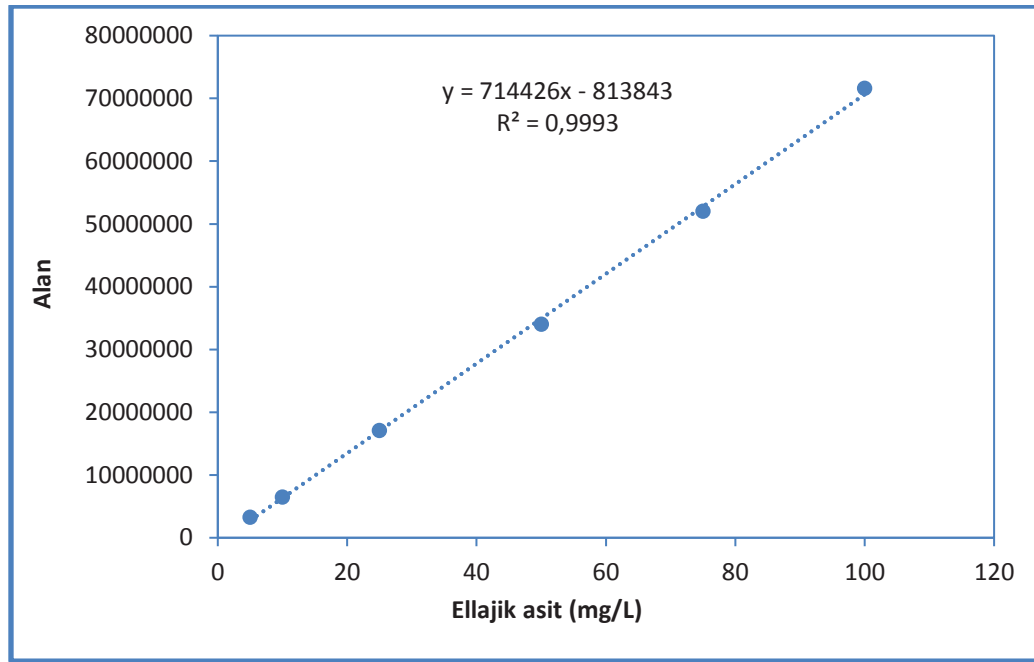
Kolon sıcaklığı: 30°C

Enjeksiyon hacmi: 25 µL

Detektör: DAD (254 nm)

Akış hızı: 1 mL/dak

Kullanılan standartlar: Bu analizde external standart olarak ellajik asit kullanılmıştır. Ellajik asitin çözünürlüğünün sınırlı olması nedeniyle 1 N NaOH ile 1000 ppm'lik stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok bazik çözeltilerden distile su seyreltilerek 5, 10, 25, 50, 75, 100 ppm'lik seri çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltiler HPLC'de analiz edilerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3.7.)



Şekil 3.7. Ellajik asit standart eğrisi

Ekstraksiyon-2: Bu yöntemde nar suları ve konsantreleri için benzer bir ekstraksiyon prosedürü izlenmiştir. Bu amaçla nar sularından 2 mL örnek 10 mL'lik balon jöjeye aktarılmıştır. Bu nar suyu örnekleri üzerine %100 metanol (%0,1 HCl)'den 8 mL eklenmiştir. Konsantre örnekler için ise yaklaşık 1 g örnek direkt olarak 10 mL'lik balon jöjeye tartılmış ve %80 metanol (%0,1 HCl) ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Böylece her iki örnek tipi için de %80'lik metanolik çözelti elde edilmiştir. Elde edilen %80'lik metanolik çözelti önce 20 dakika süreyle ultrasonik banyoda daha sonrada yine 20 dakika süreyle orbital shakerda ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonunda çözeltiler 4500 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlenerek berrak fenolik ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen bu berrak ekstraktlar 0.45 µm'lik nylon filtre yardımı filtre edildikten sonra bekletilmeksizin HPLC'de analiz edilmiştir.

Kromatografi koşulları: Nar suları ve konsantrelerinde hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde Agilent 1100 serisi G1311A pompa, G1316A kolon fırını, G1315A DHD, 1313A autosampler, G1322A degasser ve Agilent ChemStation yazılım sisteminden oluşan bir HPLC (Agilent 1100 Serisi, Waldron, Almanya) cihazı kullanılmıştır.

Kolon: Kinetex PFP (PentaFluoroPhenyl) (Phenomenex, Torrance, ABD)

- Boyut: 150 x 4.6 mm, ID
- Dolgu maddesinin partikül büyüklüğü: 2,6 µm
- Dolgu maddesinin por çapı: 100 Å
- Dolgu maddesinin yüzey alanı: 200 m²/g
- Toplam karbon yükü: %9

Mobil faz: Gradient bir akış programı uygulanmış olup bu program Tablo 3.3.'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Nar suyu ve konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılan gradient akış programı

Süre (dak)	A (Fosforik asit, 50mM, pH 1.73)	B (%100 Asetonitril)
0	95	5
3	95	5
35	78	22
45	50	50
50	0	100
55	0	100
65	95	5
70	95	5

Kolon sıcaklığı: 30°C

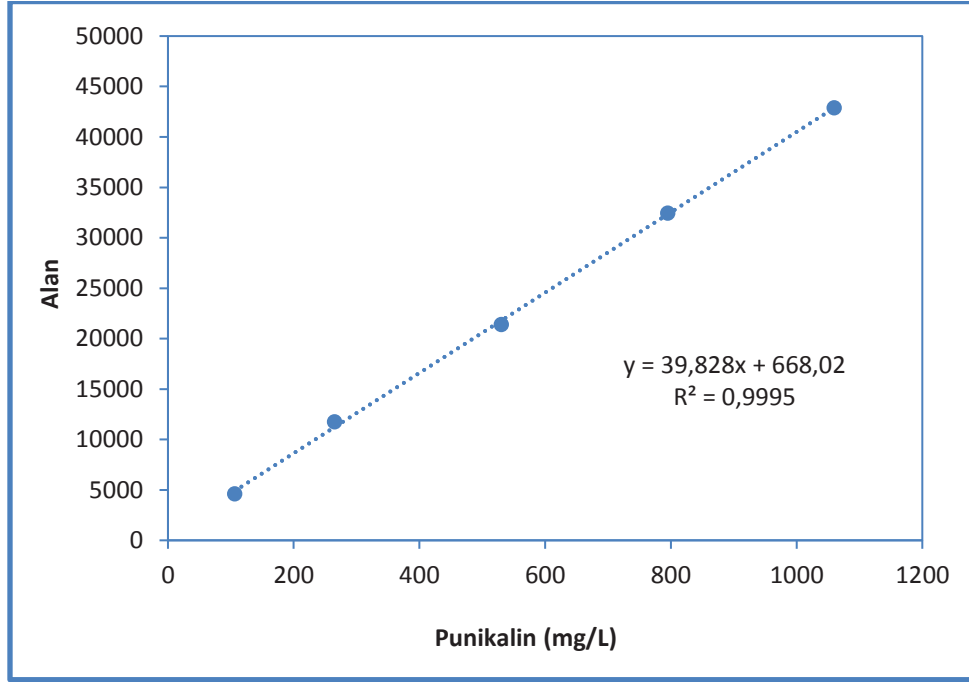
Enjeksiyon hacmi: 25 µL

Detektör: DAD (Ellajik asit için 254 nm, Punikalın ve Punikalajin için 258 nm)

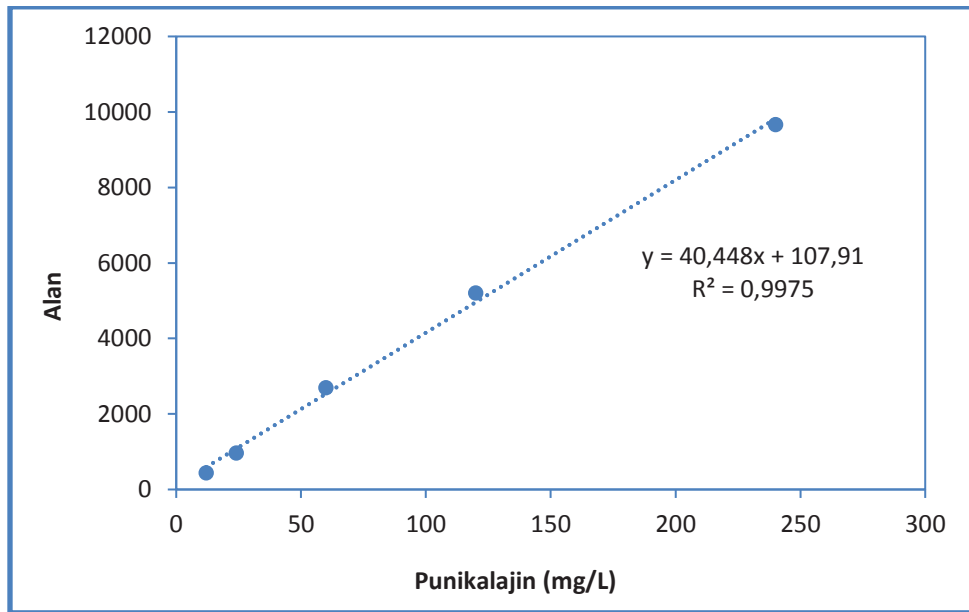
Akış hızı: 0,6 mL/dak

Kullanılan standartlar: Bu analizde external standart olarak punikalın, punikalajin ve ellajik asit kullanılmıştır. Punikalın standardı %80 metanol içerisinde bir stok çözeltisi hazırlanmış ve bu stoktan 106, 265, 530, 795 ve 1060 mg/L seri çözeltiler elde edilmiştir. Punikalajin standardı %80 metanol içerisinde bir stok çözeltisi hazırlanmış ve bu stoktan 12, 24, 60, 120 ve 240 mg/L seri çözeltiler elde edilmiştir. Ellajik asitin çözünürlüğünün sınırlı olması nedeniyle 1 N NaOH ile stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok bazik çözeltiden %80 metanol ile seyreltilerek 14, 28, 35, 70, 140 ve 280 mg/L'lik

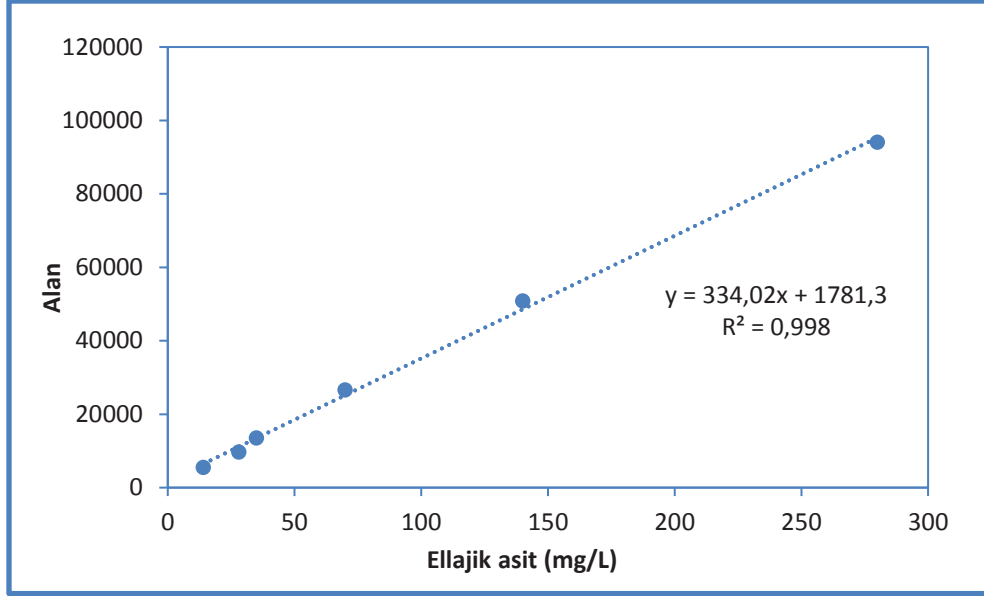
seri çözeltiler elde edilmiştir. Bu çözeltiler sırasıyla HPLC’de analiz edilerek punikalın, punikalajin ve ellajik asitin kalibrasyon grafiklerine ulaşılmıştır (Şekil 3.8., Şekil 3.9., Şekil 3.10.)



Şekil 3.8. Punikalın standart eğrisi



Şekil 3.9. Punikalajin standart eğrisi



Şekil 3.10. Ellajik asit standart eğrisi

3.3. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Depolamanın başında ve sonunda incelenen kriterlerdeki meydana gelen değişim eş yapma t testi ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla SPSS (ver. 20.0, SPSS Inc., Chicago IL, ABS) paket programı kullanılmıştır.

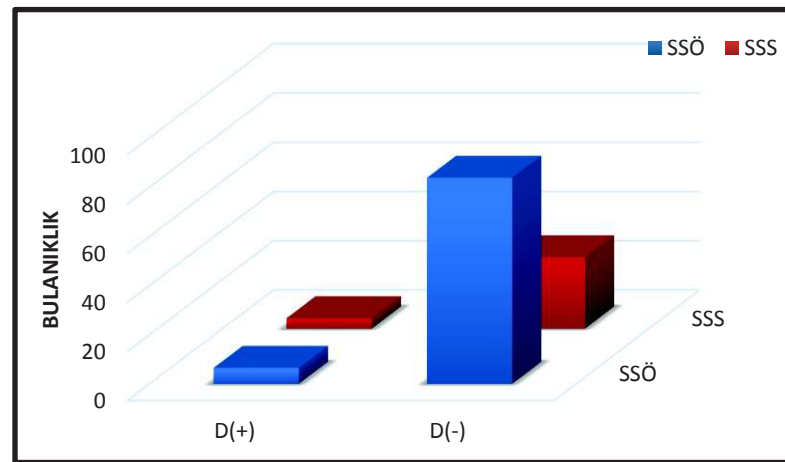
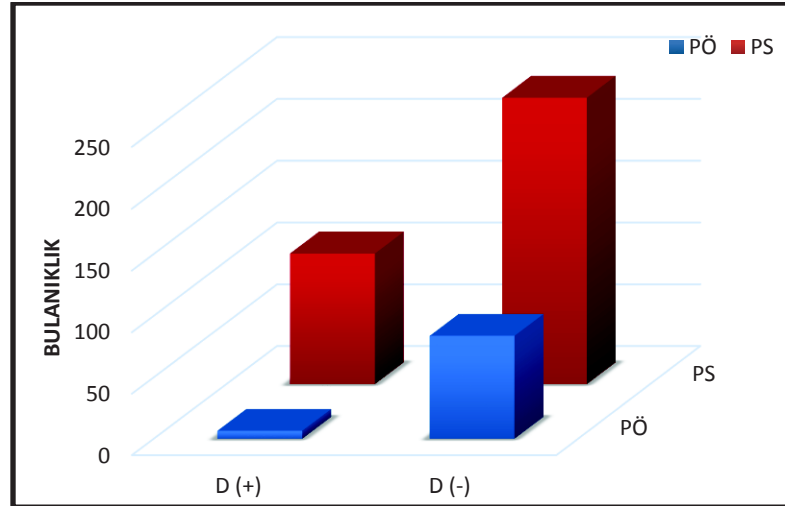
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE SONUÇLAR

4.1. Nar Sularının İşlenmesi ve Depolanması Sırasında Bulanıklık Oluşumları

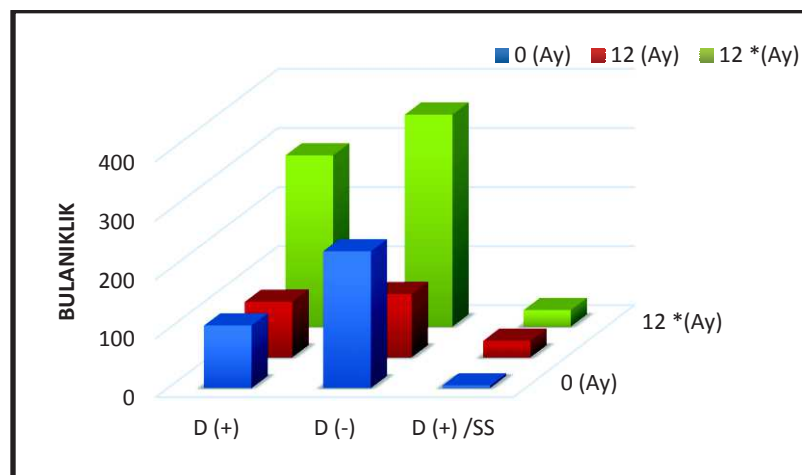
Yürütülen bu tez çalışmasında tezin ana eksenini oluşturan endüstriyel nar suyu konsantrelerinin depolama sonunda elde edilen tortunun kimyasal kompozisyonunun tanımlanması yanı sıra, tarafımızdan işlenen taze narlardan elde edilmiş nar sularında işleme ve depolamanın tortu oluşumuna etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Nar sularında işleme ve depolama sırasındaki bulanıklık değişimler Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Tablo 4.1.'de verilmiştir. Tablodan da anlaşılacağı üzere soğuk durultma tekniği uygulanmış durultulmuş nar suyu örneklerinde 6,5 NTU'luk bir berraklık düzeyine ulaşılırken, sadece santrifüjlenerek kaba partiküllerinden arındırılan ancak herhangi bir durultma ajanı kullanılmadığı durultulmamış nar suyu örneklerinde ise 83,8 NTU'luk bir berraklık sağlanabilmiştir. Pastörizasyon öncesi elde edilen bu berraklık düzeyleri, 90°C'de 1 dakika süre ile uygulanan ısı işlem sonrası durultulmuş örneklerde 106 NTU ve durultulmamış örneklerde 232 NTU olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, sıcaklığın hem durultulmuş hem de durultulmamış örneklerin bulanıklıkları üzerine çok ciddi bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Hem durultulmuş hem de durultulmamış nar suyu örneklerinde pastörizasyon sırasında uygulanan ısı işlem ile bulanıklık oluşumundaki bu keskin, artış nar suyunun yapısında doğal olarak bulunabilecek iz miktardaki proteinlerin (%0,05-%1) veya durultma sırasında kullanılan jelatinin kalıntısında ısı işlem ile yapısal değişikliğe uğraması ile ilişkilendirilebilir. Nar suyunun yapısında protein kaynağı, doğal olarak meyvenin kendisinden gelebileceği gibi durultma işlemi sırasında kullanılan bir protein olan jelatin durultma ajanından kaynaklanabilir. Yürütülen bu çalışmada durultulmamış nar ham suyunda ancak 0,26 mg/100 mL düzeyinde bir protein saptanmıştır. Durultulmuş örneklerdeki protein varlığı ise, hem doğal olarak nar suyunda var olan bu proteine ek

olarak, durultma sonrasında durultmada kullanılan jelatinin kalıntısından kaynaklanabilir.

Siebert ve ark. (1996), protein kaynağı olarak gliadini, polifenol kaynağı olarak tannik asiti model bileşik olarak seçtikleri çalışmada iki farklı gliadin konsantrasyonunda (100 ve 250 mg /L) sıcaklığın (25°C ve 100°C) bulanıklık oluşumu üzerine etkisini incelemişlerdir. 100°C'deki bulanıklık oluşumunun 25°C'deki bulanık oluşumuna kıyasla çok daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Sıcaklık artışıyla meydana gelen bulanıklığı, söz konusu proteinin ısı etkisi yapısının bozulması, proteinlerin katlanmış iç kısımlarında yer alan hidrofobik nitelikteki bağların açığa çıkması ve böylece ortamda bulunan polifenollerin proteinlere bağlanabileceği yeni bölgelerin meydana gelmiş olabileceği ile açıklamışlardır. Aynı araştırmacılar aynı çalışmalarında, farklı proteinlerin (gliadin, jelatin, polipirolin ve polihidroksipirolin) iki farklı polifenolik (kateşin ve tannik asit) bileşik ile iki farklı sıcaklıktaki (25°C ve 80°C) bulanıklık oluşumlarını incelemişlerdir. Protein kaynağı olarak polihidroksipirolin kullanıldığı bütün denemelerde hiçbir bulanıklık oluşumunun meydana gelmediğini gözlenmişlerdir. Polipirolinin ve gliadinin diğer proteinlerden daha fazla bulanıklık oluşumuna neden olduğunu ortaya koymuşlardır.



Şekil 4.1. Nar sularının işlenmesi sırasındaki bulanıklık değişimi



Şekil 4.2. Nar sularının depolanması sırasındaki bulanıklık değişimi

Tablo 4.1. Nar sularında işleme ve depolama sırasında bulanıklık değişimi (NTU)

	İşleme		Depolama (ay)		
	Pastörizasyon Öncesi	Pastörizasyon/ Soğuk Sterilizasyon Sonrası	0	12	12*
Durultulmuş	6.5	106	106	94	290
Durultulmamış	83.8	232	232	107	359
Durultulmuş/SS	6.5	4.2	4.2	27.9	27.9
Durultulmamış/SS	83.8	29	29	ϕ	ϕ

SS: Soğuk sterilizasyon

*Konsantre karıştırıldıktan sonra yapılan ölçüm

ϕ: 12 aylık depolama sonunda örnek mikrobiyolojik açıdan bozulduğu için değerlendirmeye alınmamıştır.

Depolamanın bulanıklık ve tortu oluşumu üzerine etkisi olup olmadığını anlamak için elde edilen tüm örnekler $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 12 ay süreyle depolanmıştır. Hem durultulmuş hem de durultulmamış örneklerde 12 ayın sonunda hem bulanıklık hem de tortu oluşumu gözlenmiştir. 12 ayın sonunda nar sularında herhangi bir karıştırma işlemi yapmadan diğer bir deyişle şişe tabanına oturmuş tortuyu bozmadan örnek alınarak gerçekleştirilen ölçümlerde durultulmuş örnekler için 94 NTU, durultulmamış örnekler için 107 NTU düzeyinde bir bulanıklık saptanmıştır. Bu değerler depolamanın başlangıç değerleri kıyaslandığında nar sularının bulanıklığının azaldığı izlenimi vermektedir. Ancak aynı örneklerde karıştırıldıktan sonra örnek alınarak yapılan ölçümlerde durultulmuş örnekler için 290 NTU, durultulmamış örnekler için 359 NTU düzeyinde bir bulanıklık saptanmıştır. Bu değerler nar suyu örneklerinin depolama sırasında bulanıklığının zamanla arttığını ve bir noktadan sonra bu bulanıklık öğelerinin sediment halinde çökelti oluşturduğunu ortaya koymuştur. Yemiş ve Arslantürk (2016), nar suları ve konsantrelerinde üç farklı sıcaklıkta (4°C , 10°C ve 20°C) yürüttükleri depolama çalışmasında, bulanıklık gelişimini izlemişlerdir. Bu çalışmada da bulanık gelişiminin zamanla arttığı ve bir noktadan sonra tortu oluşumu ile beraber bulanıklık azaldığını saptamışlardır.

Bu tez kapsamında, pastörizasyon sırasında uygulanan ısı işlemi bulanıklık ve tortu oluşumu üzerine etkisi ortaya koymak için, hem durultulmuş hem de durultulmamış nar suları hiçbir ısı işlem uygulanmadan steril bir filtre yardımı ile filtre edilerek sterilize edilmişlerdir. Durultulmuş örneklerin sterilizasyon öncesi 6,5 NTU olan bulanıklık düzeyleri filtrasyon ile 4,2 NTU'ya düşmüştür. Benzer şekilde durultulmamış örneklerin 83,8 NTU olan bulanıklık düzeyleri 29 NTU'ya düşmüştür. Isıl işlem görmeden elde edilen bu örnekler $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 12 süreyle depolanmıştır. Bu sürenin sonunda durultulmuş örneklerde bulanıklık düzeyi 27,9 NTU olarak ölçülmüştür. Ancak durultulmamış örneklerde 12 aylık depolama sonunda, mikrobiyel açıdan bozulduğu görülmüş ve dolayısıyla ölçüm yapılamamıştır. Yürütülen bu basit deneme aslında nar sularında bulanıklık oluşumunda ana unsurun sıcaklık olduğunu ortaya koymuştur.

4.2. Berrak Nar Suyu ve Konsantrelerinde Bulanıklığa Neden Olan Protein ve Polifenol Varlığı

Meyve suyu endüstrisi uyguladığı durultma ve filtrasyon işlemleriyle elde ettiği kristal berraklıktaki meyve sularının depolama süresince diğer bir deyişle tüketilinceye kadar bu berrak yapının stabil bir şekilde kalmasını arzulamaktadır. Meyve sularında şişeleme sonrası görülen bulanma probleminin (post-bottling haze formation) birçok potansiyel nedeni olmakla beraber en çok karşılaşılanı protein-polifenol etkileşiminden kaynaklanan bulanıklık türüdür. Ancak bu etkileşimde her protein veya her polifenolik bileşiğin bu etkileşime katılarak bulanıklığa neden olacağı anlamına gelmemektedir. İşte bu nedenle, bulanma yapan veya bu etkileşime katılan anlamına gelen ‘haze-aktif’ kavramı kullanılmaktadır. Her meyve suyunda haze-aktif nitelikteki protein veya polifenolik bileşik farklılık arz etmektedir. Bugüne kadar nar sularında bulanıklık öğelerinin tanımlanmasına yönelik herhangi bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Bu tez kapsamında, tarafımızdan işlenerek elde edilen berrak nar suları ile endüstriden temin ettiğimiz berrak nar suyu konsantrelerinde bulanıklığa neden olan (haze-aktif) protein ve polifenol varlığı ilk etapta kalitatif olarak belirlenmiştir (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Berrak nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklığa neden olan (haze-active) protein ve polifenol varlığının tespit edilmesi

Örnek	Haze-Aktif Protein (NTU)	Haze-Aktif Polifenol (NTU)
Konsantre-1	----	>1000
Konsantre-2	----	>1000
Konsantre-3	899	525
Konsantre-4	111	710
Konsantre-5	----	768
Durultulmuş NS	219	418
Durultulmuş NS/SS	162	503
Durultulmamış NS	66	644
Durultulmamış NS/SS	61	712

NS: Nar Suyu, SS: Soğuk Sterilizasyon

Tablo 4.2.'den de görüleceği üzere konsantre örneklerinde konsantre-2 ve konsantre-3 olarak kodlanmış olduğumuz iki konsantre örneğinde haze-aktif protein varlığı saptanmıştır. Bu iki firmanın berrak nitelikteki konsantrelerinde haze-aktif protein varlığının saptanması, firmaların işleme teknolojilerinin birbirinden farklılık arz etmesiyle açıklanabilir. Özellikle firmalar nar sularının durultmasında farklı durultma ajanları kullanarak berraklık sağlamaktadırlar. Yüz yüze yapılan görüşmelerde firmaların bazıları üretim teknikler ile ilgili bilgileri bizimle paylaşırken bazıları bu bilgilerin gizli olmasından dolayı paylaşmamışlardır. Meyve suyu üreticilerin birçoğu özellikle son zamanlarda helal gıda sertifikası sahip olmalarından dolayı jelatin kullanımının terk etmiş durumdadırlar. Durultma işlemlerinde sadece bentonit veya bentonit-kiselsol ile durultma işlemini gerçekleştirmektedirler. Dolayısıyla nar sularında kalıntı jelatin kalıntısı riskinin olmayacağı düşünülmektedir. Ancak endüstriyel üretimlerde ciddi bir pektin içeriği olmamasına rağmen hala depektinizasyon başamağında farklı enzim kokteyllerini içeren bir enzimatik basamak uygulanmaktadır. Bu basamakta kullanılan enzimlerin sonradan bulanma nedeni olabileceği çok aşikârdır.

Tarafımızdan işlenerek elde ettiğimiz berrak nitelikteki nar sularında jelatin ile durultmuş örneklerde (219 NTU) durultmamış örneklere (66 NTU) kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Durultulmuş ve durultulmamış örnekler arasındaki bu farklılık, durultulmuş örneklerde durultma sırasında kullanılan jelatin kalıntı olarak nar suyunda kalma riskine dayandırılmıştır. Soğuk sterilizasyon tekniği kullanarak elde ettiğimiz nar sularında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Filtrasyon sonrası elde ettiğimiz durultulmuş nar sularında haze-aktif protein varlığı 162 NTU düzeyinde saptanırken, durultma işlemine tabi olmamış soğuk sterilize edilen örneklerde 61 NTU düzeyinde haze-aktif protein varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan soğuk durultma sırasında kullanılacak optimum jelatinin dozunun çok titizlikle saptanması gerektiğini ortaya koymuştur.

Tablo 4.2.'den görüleceği üzere bütün nar suyu ve konsantre örneklerinde haze-aktif protein varlığı tespit edilmiştir. Konsantre örnekleri arasında konsantre-1 ve konsantre-2 olarak kodlanan ticari konsantre örneklerinde okunan bulanıklık değerleri

1000 NTU'nun üzerinde ölçülmüştür. Bu değer bu iki örneğin en çok haze-aktif polifenol barındırdığını ortaya koymuştur. Konsantreler arasındaki bu farklılıklar yine benzer şekilde nar suyu üretiminde kullanılan teknolojilerin ve yardımcı maddelerin farklı olmasıyla ilişkilendirilebilir. Ticari firmaların nar suyu elde ederken kullandıkları pres tipleri ve basınçları farklılaşmakta bu da elde edilen nar sularının toplam fenolik içeriğinin değişmesine neden olmaktadır. Bu farklılığın diğer bir nedeni ise, kullanılan nar çeşitlerinin farklılığı olabilir. Bilindiği üzere ülkemizde çok farklı renk ve tat nar yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dolayısıyla işlenen nar çeşidinin tek tip olmaması da bu farklılığın nedenlerinden biri sayılabilir. Tarafımızdan elde edilen nar sularının haze-aktif polifenol içeriği durultulmuş örneklerde (418 NTU) durultulmamış örneklere (503 NTU) kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu temel nedeni ise tartışmasız olarak durultma sırasında kullanılan jelatin polifenolik bileşiklerinin ortamda uzaklaştırılmasıdır. Benzer sonuçlar soğuk sterilizasyon tekniği uygulanan durultulmuş (644 NTU) ve durultulmamış örneklerde (712 NTU) de gözlenmiştir.

4.3. Bulanık Nar Suyu ve Konsantrelerinde Bulanıklık Unsurlarının Tanımlanması

4.3.1. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık unsurlarının kalitatif belirlenmesi

Endüstriden temin edilen beş farklı berrak nitelikteki nar suyu konsantreleri temin edilir edilmez berraklık düzeyleri saptanmış ve +5°C'de 12 ay süreyle depolanmıştır. Bu sürenin sonunda ulaşılan bulanıklık düzeyleri Tablo 4.3.'te toplu olarak verilmiştir. Tablo 4.3.'ten anlaşılacağı üzere beş farklı firmanın konsantrelerinin başlangıç berraklık düzeyleri birbirlerinden oldukça farklı olduğu saptanmıştır. Konsantre-4 hariç diğer konsantre örneklerinin berraklık düzeyleri 0,23 NTU ile 36,8 NTU arasında ölçülmüştür. Bu örneklerin hepsinde 12 aylık depolama sonunda, berraklık gözle görülebilir bir değişim saptanmazken şişelerin dibinde ciddi anlamda sediment oluşumu gözlenmiştir. Bu sürenin sonunda oluşan sediment kırılmadan üst taraftan örnek alınarak yapılan bulanık ölçümleri sırasıyla 65,5, 13,6, 459, 325 ve 99,5 NTU olarak belirlenmiştir. Başlangıç değerlerine kıyasla kısmi bir bulanıklık artışı

belirlenmesine karşın bu bulanıklık değişimi gözle fark edilebilecek nitelikte olmamıştır. Ancak oluşan tortu hepsinde çok bariz şekilde kendini göstermiştir. Daha sonra şişeler karıştırılıp tortunun da yer aldığı homojen kitleden örnekler alınarak yapılan bulanık ölçümlerinin hepsi 1000 NTU'nun üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu durum başta asılı halde meyve bulunan bulanıklık unsurlarının zamanla büyüyerek molekül ağırlığının artması veya çözünmez formalara dönüşerek kitle halinde şişenin dibine toplanması açıklanabilir. Başlangıçta asılı formada bu bileşiklerin zamanla çözünmeyen formada dibe çökmesi ile adeta bir filtrasyon etkisi yaratmakta böylece meyve suyunun berrak bir niteliğe tekrardan kavuşmasına neden olmaktadır.

Tablo 4.3. Nar suyu konsantrelerinde 12 aylık depolama süresince bulanıklık değişimi

Örnek	Depolama süresi (ay)		
	0	12	12*
Konsantre-1	20,6	65,5	>1000
Konsantre-2	10,2	13,6	>1000
Konsantre-3	0,23	459	>1000
Konsantre-4	262	325	>1000
Konsantre-5	36,8	99,5	>1000

*Konsantre karıştırıldıktan sonra yapılan ölçüm, Aralık üzeri 1000 NTU ve üzerinde bulanıklık olarak ifade edilmiştir

Bulanık nitelikte nar suları ve konsantrelerinin bulanıklık unsurlarının tanen veya tanen-protein kompleksinden oluşup oluşmadığı, nonpolar bir solvent olan dimetilforamidin bulanık unsurlarını çözüp çözmediğinden yararlanılarak saptanmıştır. Tablo 4.4.'ten de görüleceği üzere bulanık nitelikteki nar suları ve konsantreleri söz konusu solventin eklenmesinden sonra bulanıklık düzeylerinde çok ciddi düşüşler saptanmıştır. Bulanık düzeyindeki azalışlar bu unsurların dimetilforamidde çözüldüğünün bir göstergesi olup, bunların yalnızca tanen veya protein-tanen kompleksinden oluştuğunu ortaya koymuştur.

Depolama süresinin sonunda hem meyve suyu hem de konsantre örneklerinin dibinde toplanan tortular toplanmış, kurutulup toz haline getirilmiştir. Bu tortunun fenolik

kaynaklı olup olmadığına yönelik olarak, tortunun üzerine $FeCl_3$ çözeltisinden damlatılarak mavi-siyah renk oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.3.). Şekil 4.3.'den de görüleceği üzere tüm tortu örneklerinde bu renk oluşumu gözlenmiş ve tortunun temelde fenolik madde bazlı olduğu anlaşılmıştır.

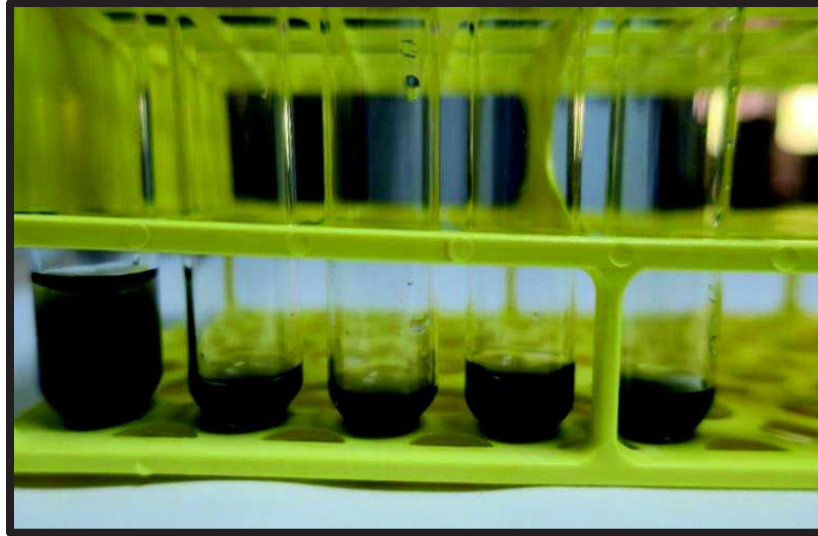
Tablo 4.4. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde tanen veya tanen-protein varlığının tespit edilmesi

Örnek	Başlangıç bulanık değeri (NTU)	Test sonrası bulanıklık değeri (NTU)
Konsantre-1	137	12,2
Konsantre-2	1080	8,6
Konsantre-3	762	9
Konsantre-4	798	9,1
Konsantre-5	1064	10,7
Durultulmuş NS	320	14,8
Durultulmuş NS/SS		
Durultulmamış NS	408	23,7
Durultulmamış NS/SS		

NS: Nar Suyu, SS: Soğuk Sterilizasyon



Şekil 4.3. Tortularda mavi-siyah renk oluşumu



Şekil 4.3. (Devamı)

4.3.2. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık unsurlarının kantitatif belirlenmesi

Depolama süresinin sonunda hem meyve suyu hem de konsantre örneklerinin dibinden elde edilen tortular toplanıp kurutulmasından sonra elde edilen bu sedimentde hangi bileşim unsurlarının yer aldığı belirlenmeye çalışılmıştır. Gerçekleştirilen kalitatif analiz sonuçları bulanıklık unsurların tanen ya da tanen-protein kompleksinden olabileceğini ortaya koymuştur. Bu bilgiler ışığında elde edilen tortulardada öncelikli olarak toplam fenolik madde (TFM) ve protein içeriği belirlenmiştir (Tablo 4.5.).

Tablo 4.5. Nar suları ve konsantrelerinden toplanan tortunun protein, TFM ve ellajik asit içerikleri*

Örnek	Protein (%)	TFM (%)	Ellajik asit (%)
Konsantre-1	0,54±0,01	57,96±1,12	22,11±0,48
Konsantre-2	0,48±0,01	64,06±1,40	27,29±1,49
Konsantre-3	0,20±0,04	70,00±3,96	27,38±1,76
Konsantre-4	0,18±0,03	58,34±0,66	19,76±2,31
Konsantre-5	0,61±0,02	67,24±3,80	19,60±0,94
Durultulmuş NS	9,73±0,05	42,86±0,40	1,56±0,02
Durultulmamış NS	11,03±0,30	41,06±1,24	1,53±0,09

*Sonuçlar kuru madde üzerinden ifade edilmiştir

Tablo 4.5.'ten de görüleceği üzere konsantrelerden elde edilen tortuların protein içerikleri kuru madde üzerinden %0,18-0,61 aralığında tespit edilmiştir. Konsantre tortularında bu iz miktarda protein varlığı, başlangıçta berrak nitelikteki konsantre örneklerinde yapılan haze-aktif protein varlığı testi ile açıklanabilir. Tablo 4.2.'de konsantreden 1,2 ve 5 nolu örneklerde yapılan kalitatif testte haze-aktif nitelikte bir protein varlığı saptanmazken, 4 nolu örnekte kısmi 3 nolu örnekte ise ciddi bir haze-aktif protein varlığının olabileceği görülmüştür. Ancak kalitatif analizde bütün konsantrelerin protein içeriği çok düşük düzeyde çıkmıştır. Tarafımızdan işlenen durultulmuş ve durultulmamış nar suyu tortularında ise %9,73 ve %11,03 oranında protein tespit edilmiştir. Durultulmamış örneklerde protein içeriğinin durultulmuş örneğe kıyasla daha yüksek çıkması kullanılan yöntemin deneysel bir hata ile açıklanabilir. Çünkü durultulmuş örneklerde kullanılan jelatinin kalıntı halinde meyve suyunda kalma riski söz konusu olacağı için durultulmuş örneklerin protein içeriğinin yüksek olması beklenmekteydi. Konsantrelerden elde edilen tortuların protein içeriğinin (%0,18-0,61) tarafımızdan işlenerek elde edilen tortuların protein içeriğine (%9,73-11,03) kıyasla çok düşük olduğu görülmüştür. Endüstriyel nitelikteki konsantrelerden elde edilen tortular ile tarafımızdan işlenerek elde edilen tortuların protein içeriğindeki bu büyük farklılık, endüstriyel nar suyu üretiminde durultma işlemi sonrası ultrafiltrasyon (UF) tekniği ile açıklanabilir. Bilindiği üzere bu ileri filtrasyon tekniği, kullanılan membranın ayırma sınırına bağlı olarak moleküler düzeyde bir ayırma sağlayabilmektedir. Bu moleküler düzeydeki filtrasyonda proteinler rahatlıkla meyve suyunda uzaklaştırılmaktadır. Dolayısıyla konsantre tortularında protein içeriğinin bu kadar düşük miktarda saptanması, bu örneklerde kullanılan UF tekniği ile proteinlerin başarılı bir şekilde uzaklaştırıldığı ile açıklanabilir. Tarafımızdan işlenen nar suları örneklerinde UF tekniği ile bir filtrasyon işlemi yapma şansımız olmamış yalnızca kaba bir filtrasyon ile bu berraklık düzeylerine ulaşılmıştır. Bu kaba filtrasyon işleminde doğal olarak nar suyunda bulunabilecek protein içeriğinin uzaklaştırılması mümkün olmamıştır.

Yine kalitatif testlerin ortaya koyduğu sonuçlar yola çıkarak, elde edilen tortuların protein içeriğini belirledikten sonra toplam fenolik madde içeriği (TFM) belirlenmiştir. Tablo 4.5'den de görüleceği üzere tortuların TFM içerikleri kuru madde

üzerinden konsantrelerde %57,96-70,00 aralığında tespit edilmiştir. Tarafımızdan işlenerek elde edilen nar sularındaki tortuların TFM içeriği konsantre örneklerle kıyasla daha düşük (%41,06-42,86) olduğu görülmüştür. Bu farklılık ise, yine endüstriyel üretimde elde edilen nar sularında daha fazla meyve suyu randımanına erişmek amacıyla uygulanan pres basıncının fazla olması, kabuktan meyve suyuna fazla miktarda fenolik madde geçişi ile açıklanabilir bir durumdur. Fazla miktardaki fenolik madde geçişi tortularda fazla miktarda fenolik içeriği ile sonuçlanmıştır. Oysa tarafımızdan işlenen nar sularında, üretimde sadece daneler kullanılmış ve ayrıca bu daneler herhangi bir pres yardımı ile değil sadece bir tülbent içerisinde el yardımı ile sıkılarak elde edilmiştir. Dolayısıyla tarafımızdan işlenen nar sularının TFM içeriği endüstriyel üretime kıyasla daha düşük olacağı çok aşikârdır. Tortunun büyük bir oranda polifenollerden oluştuğu başlangıçta berrak nitelikteki konsantre örneklerinde yapılan haze-aktif polifenol varlığı testi sonuçları (Tablo 4.2.) ile bire bir uyumlu olmadığı görülmüştür. Örneğin konsantre-1 ve konsantre-2 nolu örneklerde haze-aktif polifenol içeriği 1000 NTU üzeri okunmuş, buna karşın konsantre-3 nolu örnekte 525 NTU olarak saptanmıştır. Konsantre-1 ve konsantre-2 nolu örneklerin 1000 NTU üzeri saptanan haze-aktif polifenol varlığı, TFM olarak sırasıyla %57,96 ve %64,06 olarak belirlenmiştir. Buna karşın konsantre-3 nolu örneğin haze-aktif polifenol varlığı 525 NTU düzeyinde saptanırken, kantitatif olarak TFM içeriği %70 düzeyinde saptanmıştır. Diğer bir deyişle kalitatif olarak saptanan haze-aktif polifenol varlığı konsantre-3 nolu örnekte en düşük düzeyde iken, tortuda yapılan kantitatif analizde en yüksek düzeyde TFM içeriği saptanmıştır. Kalitatif nitelikteki haze-aktif polifenol testi, berrak nitelikte bütün nar suyu/konsantre örneklerinde bulanıklık oluşturacak polifenol varlığını çok net bir şekilde zaten ortaya koymuştu. Burada elde edilen sonuçlar kalitatif nitelikteki haze-aktif protein varlığı ile kantitatif sonuçlar arasında bir korelasyon kurulamayacağını ortaya koymuştur.

Yapılan detaylı literatür taramasında nar suyu/konsantresi tortusunun tanımlanmasına yönelik herhangi bir bilimsel çalışma olmamasından dolayı elde ettiğimiz sonuçları kıyaslama şansımız olmamıştır. Ancak, Fang ve ark. (2006) Çin’de üretimi yapılan üzüm meyvelerinden biri olan bayberry (*Myrica rubra* Sieb.) suyu üzerine yaptıkları çalışmada meydana gelen tortuyu kimyasal olarak tanımlamışlardır. Çalıştıkları

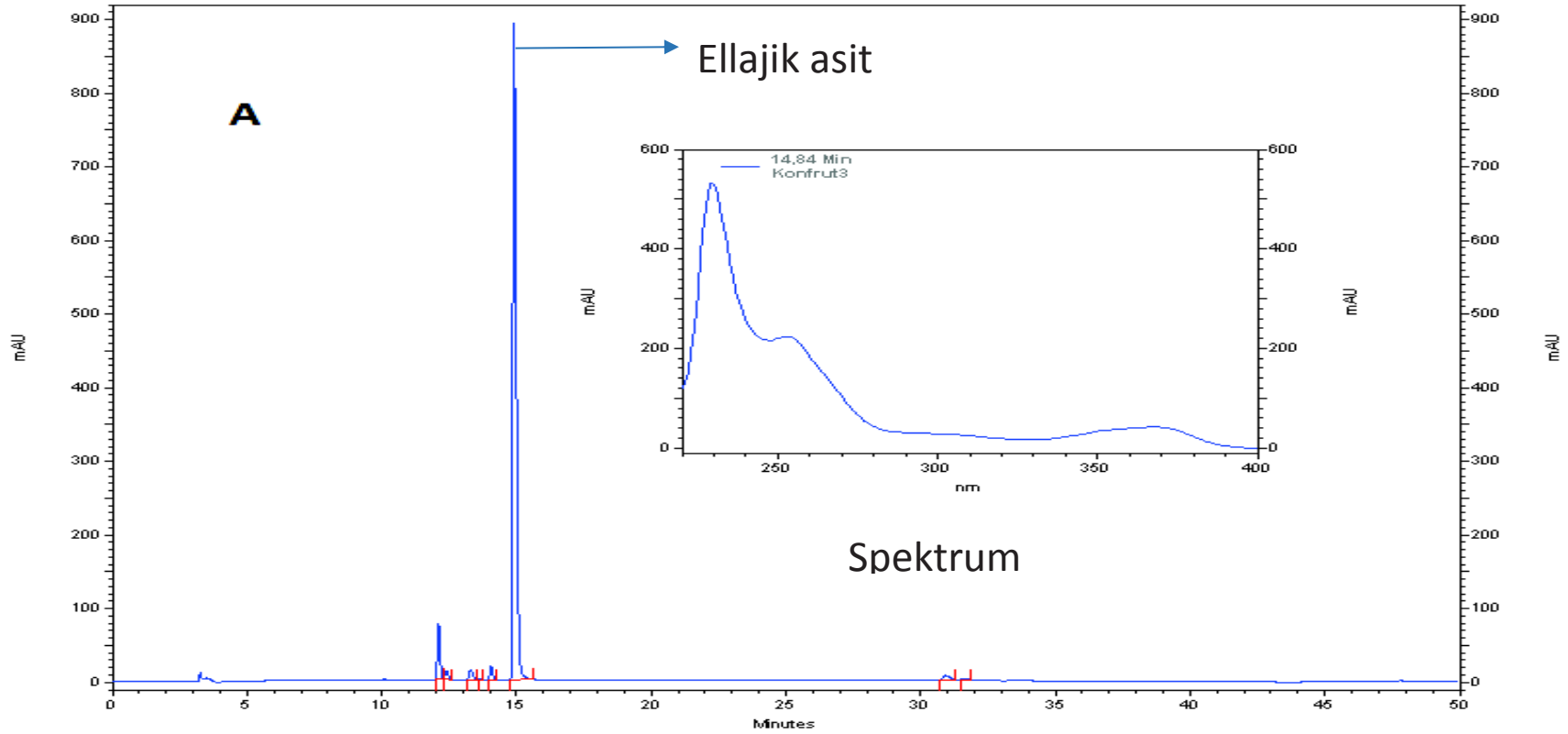
meyve suyunda ki bulanıklığın temelde protein-tanen kaynaklı bir bulanıklık olduğunu ilk önce kalitatif yolla daha sonra da analitik olarak detaylı bir şekilde tüm kompozisyonu belirlemişlerdir. Liyofilize ettikleri tortunun yaklaşık olarak %20'sinin protein, %70'nin TFM, %7'sinin monosakkarit ve %6,7'sinin kül olduğunu saptamışlardır.

4.3.2.1. Nar suyu ve konsantre tortularının fenolik kompozisyonun HPLC ile belirlenmesi

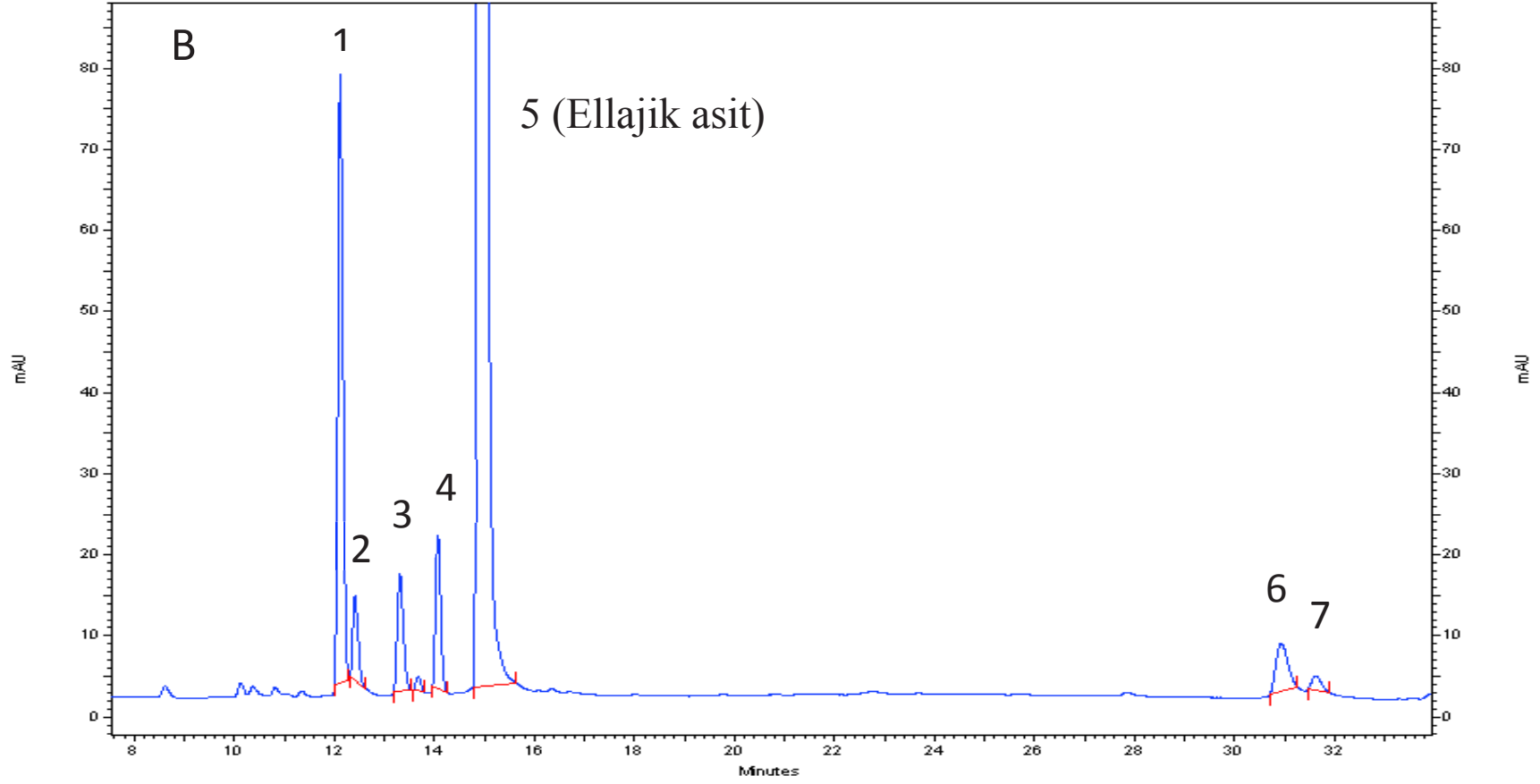
Tortunun büyük bir kısmının fenolik bileşiklerden olduğunu anlaşılmasından sonra, tortunun fenolik kompozisyonun HPLC yöntemiyle hangi bileşiklerden meydana geldiği saptanmaya çalışılmıştır. Elde edilen tortuların fenolik kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı Şekil 4.4.'de verilmiştir. Şekil 4.5. incelendiğinde tortuları oluşturan ana fenolik bileşiğin ellajik asit (%85-95) olduğu anlaşılmıştır. 15. dakikada gelen bu ana pik, standart ellajik asitin geliş süresi, spektrumlarının karşılaştırılması ve standart ellajik asitin örneğe eklenmesi yoluyla kesin bir şekilde tanımlanmıştır. Elde edilen kromatogram 90 mAU ölçekte (Şekil 4.5.B) incelendiğinde ellajik asit farklı 6 adet farklı bileşen olduğu görülmüştür. Ancak tez kapsamında bu iz miktardaki bileşenlerin, standartları mevcut olmaması nedeniyle tanımlanamamıştır.

Tablo 4.5.'ten de görüleceği üzere konsantrelerden elde edilen tortuların ellajik asit içerikleri kuru madde üzerinden %19,60-27,38 aralığında tespit edilmiştir. Elde edilen bu ellajik asit değerleri, TFM ile kıyaslandığında TFM'nin %30-43'nün ellajik kaynaklı olduğu anlaşılmıştır. Konsantre tortuların ellajik asit içeriklerin aksine durultulmuş ve durultulmamış nar sularından toplanan tortuların ellajik asit içerik yalnızca %1,5 düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Konsantre örneklerle tarafımızdan işlenerek elde edilmiş nar suları tortuları arasındaki bu büyük farklılık, ekstraksiyonda kullanılan solventin ve ekstraksiyon süresinin ellajik asitin çözündürülmesi için yeterli olmadığı olasılığı ile ilişkilendirilebilir. Bu sonuçlar tortularda büyük bir oranda tanımlanamayan nitelikte veya konjuge formda bileşiklerin yer alabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca ellajik asitin metanolde çözünürlüğünün düşük olduğu göz önünde

bulundurulursa, bu farklılığın yine kullanılan ekstraksiyon solventinden (%80 metanol) kaynaklanabileceği anlaşılmaktadır. Yukarıda da bahsedildiği üzere nar suyu/konsantre tortusu üzerine gerçekleştirilmiş bir çalışma olmamasına karşın, diğer berrak meyve sularında sonra görülen bulanma sonucu meydana gelen tortunun tanımlanmasına yönelik bazı çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Lee ve Talcott (2002) üzüm suyu ve şarabında oluşan sediment üzerine yaptıkları çalışmada, sedimentin %12'sinin; Siriwoharn ve ark. (2005) böğürtlen suyu tortusu üzerine yaptıkları çalışmada ise tortunun % 7,4'nin serbest ellajik asit oluştuğunu saptamışlardır. Fang ve ark. (2006) baybery suyu tortusu üzerine yaptıkları çalışmada ise, %100 metanol kullanarak tortuyu çözündürüp yaptıkları HPLC analizinde ellajik belirlemezlerken, aynı tortuyu asit hidroloizne tabi tutup HPLC'de analiz ettiklerinde %10 düzeyinde ellajik asit tespit etmişlerdir. Elde ettikleri bu ellajik asit miktarı Folin yöntemi ile ortaya koydukları TFM içeriğinin (17,9 g/100 g tortu kurumadde) %55'ni oluşturduğunu hesaplamışlardır.



Şekil 4.4. Tortuların fenolik kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı. A: 920 mAU ölçeğe



Şekil 4.5. Tortuların fenolik kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı. B: 90 mAU ölçekte

Perez-Vicente ve ark. (2004) paketleme materyalinin depolama boyunca nar suyu rengi ve biyoaktif bileşenleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, presleme ile 15 briks değerinde elde ettikleri nar sularını 95°C’de 30 saniye pastörize etmişler ve farklı ambalajlara doldurarak depolamışlardır. Araştırmacılar işlenmiş olan nar suyunda başlangıç değerlerine (66,87 mg/L) kıyasla serbest ellajik asit içeriğinin çok büyük bir artış (%57) tespit etmişlerdir. Bu artış eğilimi depolamanın ilk iki haftası devam ederken üçüncü haftadan itibaren azalma başlamış, birinci ayın sonunda ise kararlı bir seviyeye ulaşarak 160 günlük cam şişe ile depolama süresi sonunda 60 mg/L’de sabit kaldığını belirlemişlerdir. Narın işlenmesi ve depolanması sırasında ilk periyotta oluşan ellajik asit artışını, ellajitanenlerin ellajik asite dönüşmesi ile ilişkilendirmişlerdir. Garcia-Alonso ve ark. (2003) ahududu ve böğürtlen konsantratlarının ellajik asit miktarlarının araştırıldığı bir çalışmada, bir yıl boyunca farklı sıcaklıklarda (8°C, 21°C ve 30°C) depolanan konsantratlarda, yıl sonunda ellajik asit miktarının 3,2 mg/kg’dan 4,6 mg/kg’a çıktığı ve bu artışın 8°C’ de muhafaza edilen örneklerde daha az olduğu bildirilmiştir. Bu sonuç sıcaklıkla bağlantılı olarak ellajitanenlerin hidrolize olarak ellajik aside dönüşmesi ile açıklamışlardır.

4.3.2.2. Nar suyu ve konsantrelerinin depolama sırasındaki değişimleri

Berrak nitelikteki nar suları ve konsantrelerinin 12 aylık depolama periyodunun sonunda pH, asitlik, TFM ve kondanse olabilen fenolik madde (KFM) içeriğinde bir değişim olup olmadığı incelenmiştir. Tablo 4.6.’dan görüleceği üzere hem konsantre hem de meyve suyu örneklerinin pH ve titrasyon asitliğinde ciddi değişimler gözlenmemiştir. Ayrıca elde ettiğimiz pH ve titrasyon asitliği değerleri literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Güzel (2010) sadece danelerden elde ettiği hem durultulmamış ve durultulmuş nar sularının pH değerlerini 3,39, titrasyon asitliğini ise 1,10 g/100 mL olarak saptamıştır. Bu çalışmada kullanılan nar sularında ise durultulmuş ve durultulmamış örneklerde pH değerleri sırasıyla 3,51 ve 3,28; titrasyon asitliği değerleri ise 1,5 g/100 mL ve 1,7 g/100 mL olarak ölçülmüştür. Durultulmuş örnekler durultulmamış örneklere kıyasla hem toplam asitlik hem de pH açısından kısmi bir farklılık sergilemiştir. Bu farklılık durultma sırasında kullanılan durultma ajanı ile ortamda bir kısım organik asitlerin nar suyundan uzaklaşabileceği olasılığı ile

ilişkilendirilebilir. Beş farklı konsantrasyon örneklerinin titrasyon asitlikleri birbirlerinden oldukça farklı olduğu görülmüştür. Bu beş konsantrasyon örneğine ilişkin toplam asitlik değerleri 8,8-12,8 g/100g aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bu geniş sınırların ise, ülkemizde çok farklı sayıda nar çeşidinin olması ve bunların endüstri tarafından farklı teknolojilerle işlenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Nar sularının TFM içerikleri incelendiğinde durultulmamış NS örneklerinin 2952 mg/L, durultulmuş NS örneklerinde ise 1142 mg/L düzeyinde toplam fenolik madde tespit edilmiştir. Elde edilen bu değerler irdelendiğinde, durultma işlemi ile nar sularının TFM düzeyinin yaklaşık %60'nın azaldığı görülmüştür. Durultmada görülen keskin azalış, kullanılan durultma ajanı jelatinin fenolik maddeleri çok iyi düzeyde absorpladığı sonucunu ortaya koymuştur. Literatürde benzer çalışmalara incelendiğinde elde edilen değerlerin yine oldukça uyumlu olduğu gözlenmiştir. Muhacir-Güzel ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada sadece danelerden elde ettikleri nar sularının durultma öncesi TFM içeriğini 2073 mg/L durultma sonrası 1590 mg/L düzeyinde belirlemişlerdir. Durultma sırasında %25'lik azalma olduğunu saptamışlardır. Erkan-Koç ve ark. (2015) hicaznar çeşidi narları kabuklarla beraber presleyerek elde ettikleri nar sularını farklı durultma ajanlarının etkilerini inceledikleri çalışmada, nar ham suyunun TFM içeriğini 2163 mg/L düzeyinde belirlemişlerdir. Bu nar suyunun jelatin ile durultma sonrası TFM içeriğinin 1649 mg/L düzeyine indiğini, bu azalışın %25 düzeyinde gerçekleştiğini saptamışlardır. Fischer ve ark. (2011) nar sularının ve kabuklarının fenolik kompozisyonu üzerine yaptıkları detaylı çalışmada danelerden elde ettikleri nar sularının TFM içeriğini 2122 mg/L düzeyinde belirlemişlerdir.

Tablo 4.6. Nar suları ve konsantrelerinin 12 aylık depolama periyodunun sonunda pH, asitlik, TFM ve KFM içeriğindeki değişimler

Örnek	Depolama süresi (ay)	pH	Titrasyon asitliği (%)	TFM*	KFM†
Konsantre-1	0	3.11	12,8	18432±149 ^a	1967±148 ^a
	12	3.12	12,6	18994±168 ^a	762±8 ^b
Konsantre-2	0	3.36	8,8	19736±280 ^a	1930±126 ^a
	12	3.37	8,6	19354±37 ^a	1146±88 ^b
Konsantre-3	0	3.13	13,1	18208±74 ^a	1462±45 ^a
	12	3.25	11,0	19066±211 ^b	1113±19 ^b
Konsantre-4	0	3.19	11,7	19644±149 ^a	1249±195 ^a
	12	3.18	11,7	19875±323 ^a	1043±10 ^a
Konsantre-5	0	3.23	9,9	20772±127 ^a	2205±355 ^a
	12	3.25	10,4	21390±449 ^a	1070±11 ^b
Durultulmuş NS	0	3.51	1,5	1142±34 ^a	122±4 ^a
	12	3.44	1,7	667±13 ^b	237±8 ^b
Durultulmuş NS-SS	0	3.28	1,2	1242±82 ^a	122±4 ^a
	12	3.41	1,2	697±13 ^b	214±12 ^b
Durultulmamış NS	0	3.28	1,7	2952±55 ^a	149±6 ^a
	12	3.41	1,7	2385±43 ^b	242±7 ^b

*TFM (Toplam Fenolik Madde) miktarı konsantreler için mg gallik asit/kg, nar suları (NS) için mg gallik asit/L olarak ifade edilmiştir.

†KFM (Kondanse Olabilen Fenolik Madde) miktarı konsantreler için mg kateşin/kg, nar suları (NS) için mg kateşin/L olarak ifade edilmiştir.

Jelatin ile durultmuş olduğumuz örneklerde 12 aylık depolama periyodunun sonunda, çok ciddi azalışlar gözlenmiştir. Durultulmuş nar sularının 1142 mg/L olan TFM içeriği 12 ayın sonunda %41 düzeyinde azalarak 667 mg/L olarak saptanmıştır. Benzer azalış durulttuğumuz ve soğuk sterilizasyon gerçekleştirdiğimiz örneklerde gözlenmiştir. Bu örneklerde başlangıçta 1242 mg/L olan başlangıç değeri 12 ayın sonunda %43 azalarak 697 mg/L olarak belirlenmiştir. Durultulmamış örneklerdeki azalmalar, durultulmuş örneklere kıyasla daha sınırlı olmakla beraber istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur. Durultulmamış örneklerde ise 12 aylık depolamada TFM içeriğindeki azalış %25 düzeyinde gerçekleşmiştir. Tüm nar suyu örneklerinde görülen bu azalışlar istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Durultulmamış nar sularının durultulmuş nar sularına kıyasla TFM açısından daha stabil olduğu anlaşılmıştır.

Konsantre örneklerin TFM içerikleri 18432-20772 mg/kg aralığında olduğu tespit edilmiştir. Beş farklı firmadan temin edilen ticari konsantre örneklerin TFM içeriklerinin titrasyon asitliğinin aksine birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Konsantrelerin 12 aylık depolama periyodunun sonunda TFM içeriklerindeki değişime bakıldığında ise 3 nolu örnek hariç istatistiksel olarak farklılık ($p > 0,05$) olmadığı saptanmıştır. Konsantre örneklerin aksine ise tarafımızdan elde edilen berrak nar sularının durultulmuş olanların TFM içeriklerinde yaklaşık %60 varan azalmalar saptanmıştır. Konsantreler ile meyve suları arasındaki bu farklılık, konsantrelerde %65'e varan şeker konsantrasyonunun fenolik bileşikler üzerine koruyucu bir etki oluşturma olasılığı ile ilişkilendirilebilir.

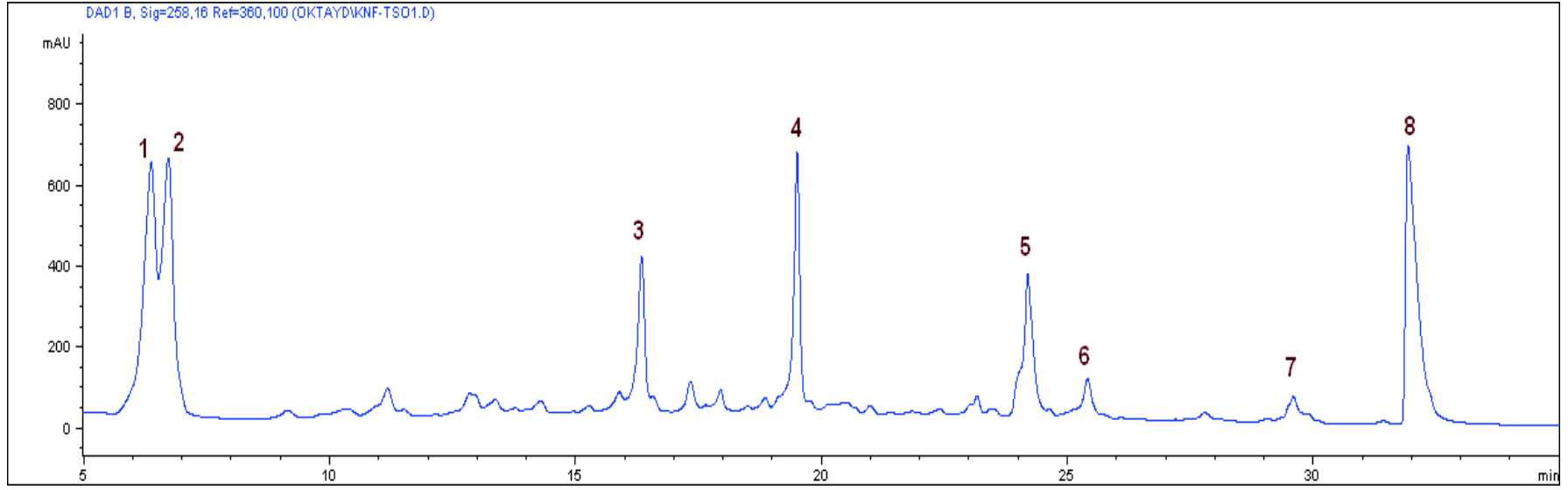
Bu tez kapsamında nar suyu ve konsantre örneklerin TFM içeriklerindeki değişimin yanı sıra, KFM içerikleri de belirlenmiştir. Yine Tablo 4.6.'dan da görüleceği üzere durultulmuş ve durultulmamış nar suyu örneklerinin KFM içerikleri sırasıyla 122 mg/L ve 149 mg/L olarak saptanmıştır. Durultulmuş örneklerin KFM içeriğinin durultulmamış örneklere kıyasla daha düşük çıkması, benzer şekilde TFM içeriklerinde olduğu gibi durultma sırasında kullanılan jelatin ile kondanse tanenlerin bir kısmının uzaklaşması gösterilebilir. Yine bulunan bu değerlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Türkyılmaz ve Özkan (2014) 9 dokuz farklı nar çeşidi üzerine

yaptıkları çalışmada bu çeşitlerin kondanase olabilen tanen içeriklerini 31-155 mg/L düzeyinde tespit etmişlerdir. Yine Güzel ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada danelerden elde ettikleri nar sularının jelatin ile durultma öncesi 60 mg/L ve durultma sonrası 40 mg/L düzeyinde tespit etmişlerdir. Nar sularının 12 aylık depolama periyodunun sonundaki değişimleri incelendiğinde ilginç bir şekilde artışlar saptanmıştır. KFM içeriğinde saptanan bu artışlar, KFM içeriğinin tayininde kullanılan 1979 yılında Tanner ve Bruner tarafından geliştirilen spektrofotometrik vanilin yönteminin çok hassas bir yöntem olmadığını ortaya koymuştur. Nar sularının aksine konsantrelerin KFM içeriklerinde %50'ye varan çok ciddi değişimler saptanmıştır. İncelenen beş örnek içinden yalnızca konsantre-4 örneği hariç tüm konsantre örneklerinin KFM içeriğindeki değişimler istatistiksel açıdan önemli ($p < 0,05$) bulunmuştur.

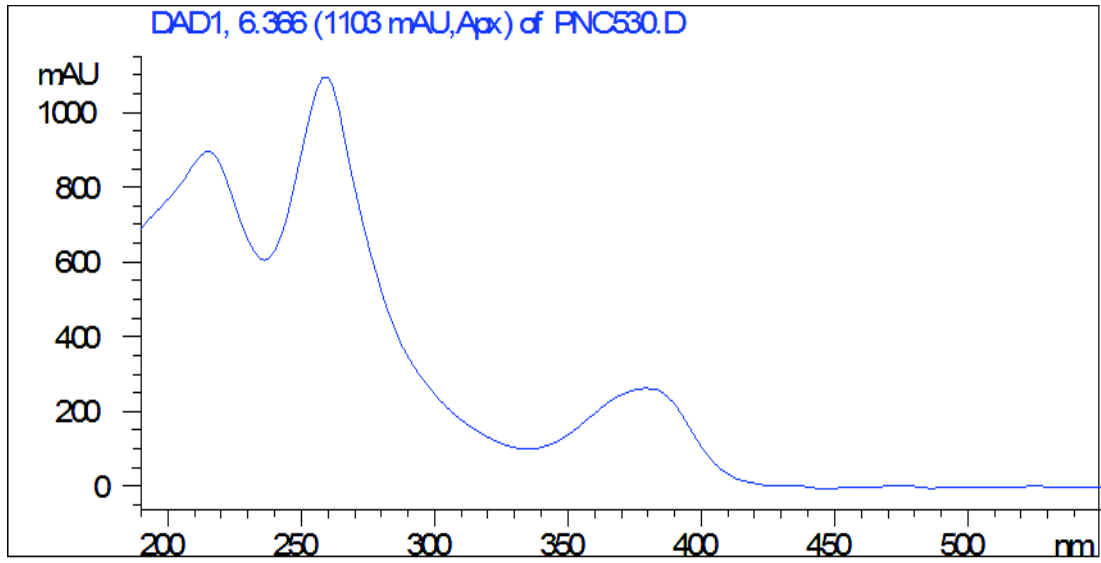
4.3.2.3. Nar suyu ve konsantrelerinin hidrolize olabilen tanenlerinin tanımlanması ve depolama sırasındaki değişimleri

Nar suları ve konsantreleri yoğun bir şekilde fenolik madde içerdiği bunun büyük oranda hidrolize olabilen tanenlerden kaynaklandığı çok iyi bilinmektedir. Bu amaçla nar suları ve konsantrelerinin ellajitanen kompozisyonu HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Nar suyu/konsantrelerinin ellajitanen kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı Şekil 4.6.,'te verilmiştir. Şekil 4.6.,'teki kromatogramdan da anlaşılacağı üzere hem konsantre hem de nar suyu örneklerinde 8 farklı bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenler punikalın (pik-1 ve pik-2), α -punikalajin (pik-3), β -punikalajin (pik-4), ellajik asit türevleri (pik-5, pik-6, pik-7) ve ellajik asit (pik-8) olarak tanımlanmıştır. Bu bileşenlerden punikalın, punikalajin ve ellajik asit, bu bileşiklerin ticari standartları yardımı ile geliş zamanları, spektrumları ve ekstraktlara ekleme yapılarak tanımlanmışlardır. Kullandığımız HPLC koşulları altında punikalın hem standartları hem de örnek enjeksiyonunda iki pik halinde anomerler (α ve β) şeklinde olduğu görülmüştür. Standart punikalın spektrumu (Şekil 4.7.) ile örneklerdeki aynı zamanda gelen punikalın olduğunu düşündüğümüz piklerin spektrumlarının (Şekil 4.8.) örtüştüğü saptanmıştır. Pik-3 ve pik-4 ise yine standart punikalajin standartlarından yararlanılarak α ve β anomerleri şeklinde olduğu

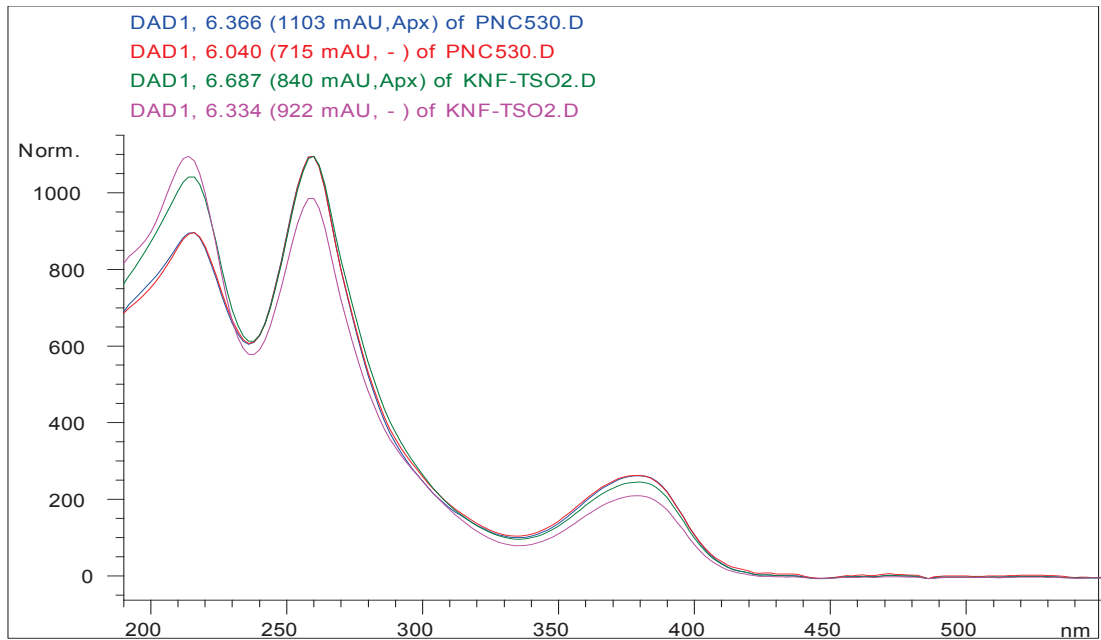
görülmüştür. Bu piklerin doğrulama amacıyla punikalajin standardının spekturumu (Şekil 4.9.) ile örnekteki punikalajin bileşiği olduğunu belirlediğimiz piklerin spekturumları karşılaştırılmış ve birebir örtüştüğü görülmüştür. Punikalajin'in α ve β anomerlerinin birebir aynı spekturuma sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 4.10.). Pik-5, pik-6 ve pik-7'nin spekturumları ellajik asitin spekturumları ile bire bir aynı olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu pikler tam bir doğrulukla olmamakla beraber, ellajik asitin farklı şekerler ile bağ yapmış glikozitleri (heksoslar, pentozlar) 'ellajik asit türevleri' olarak tanımlanmış ve kantitatif hesaplamaları ellajik asit kalibrasyonundan yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Benzer bir tanımlama Seeram ve ark. (2005)'nin nar kabuklarının hidrolize olabilen tanenlerini tanımlamaya yönelik yaptıkları çalışmada yapılmıştır. Bu çalışmada, nar kabuklarının %80-85'nin punikalajin, %1,3'nün ellajik asit, iz miktarda punikalın ve ellajik asitten oluştuğunu saptamışlardır. Ellajik asit glikozitlerini kütle spektroskopisi (MS) yardımı ile ellajik asit-hekzozit (m/z 463), ellajik asit-ramnozit (m/z 447) ve ellajik asit-pentozit (m/z 433) olarak tanımlamışlardır.



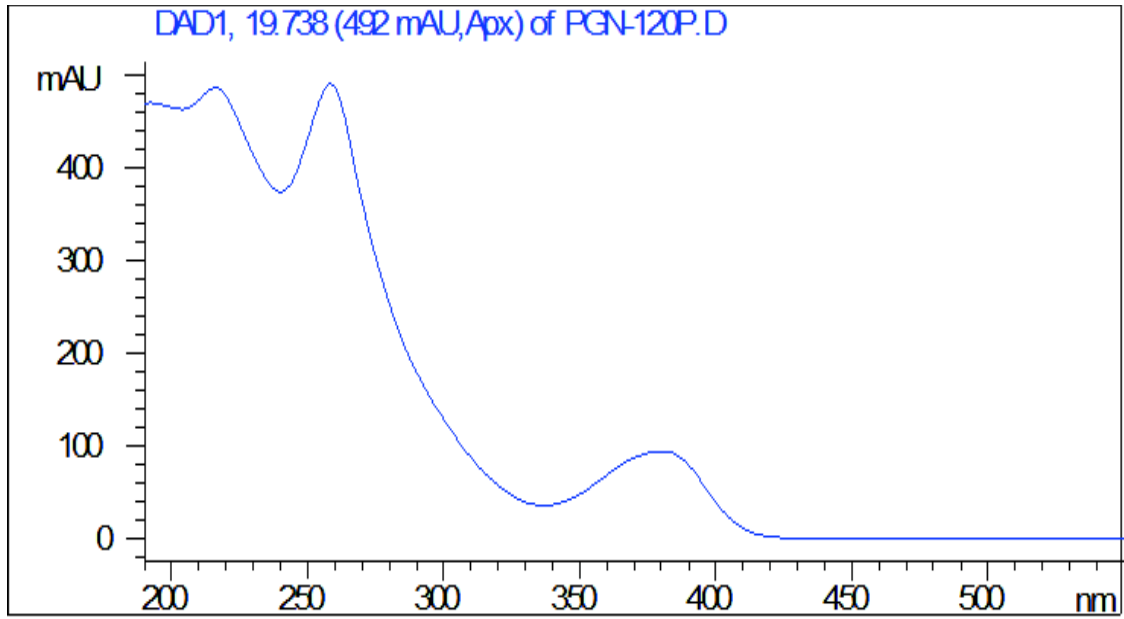
Şekil 4.6. Nar suyu/konsantrelerin ellajitanen kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı [(Pik-1 ve Pik-2: Punikalin (5-6. Dakika), Pik-3:α-punikalajin (16-17. Dakika), Pik-4:β-punikalajin (19-20. Dakika), Pik-5, Pik-6 ve Pik-7: Ellajik asit türevleri (24. 26. ve 29. Dakika), Pik-8: Ellajik asit (32. Dakika)]



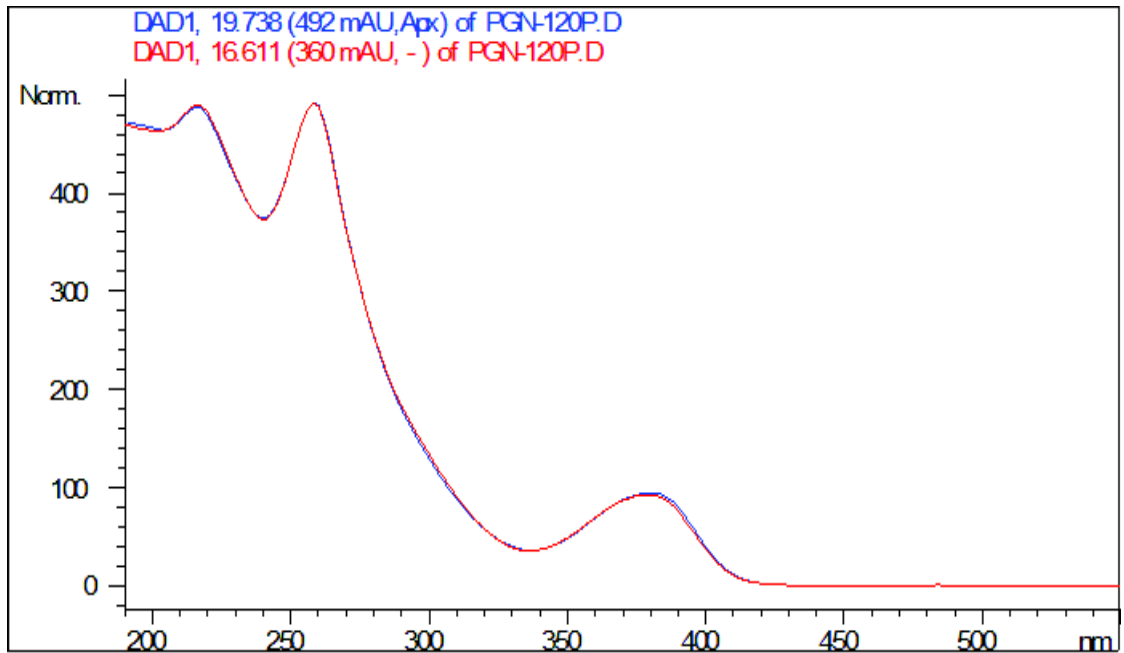
Şekil 4.7. Punikalin standardının spekturumu



Şekil 4.8. Punikalin standardının spekturumu ile örnek piklerinin spekturumunun karşılaştırılması



Şekil 4.9. Punikalajin standardının spekturumu

Şekil 4.10. Punikalajin standardının α ve β anomerlerinin spekturumlarının karşılaştırılması

Bu tez kapsamında berrak nitelikteki nar suyu ve konsantrelerinin hidrolize olabilen tanen kompozisyonunun 12 aylık depolama sonunda nasıl bir değişime uğradığı ve bunun meydana gelen tortu ile ilişkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Tablo 4.7. incelendiğinde nar suları ile konsantrelerinin toplam hidrolize olabilen tanen miktarları arasında çok büyük farklılıklar olduğu görülmektedir. Durultulmuş ve durultulmamış nar sularının başlangıç toplam hidroliz olabilen tanen (HOT) içerikleri sırasıyla 96 mg/L ve 107 mg/L düzeyinde saptanmıştır. Gil ve ark. (2000) danelerden elde ettikleri durultulmamış nar sularının HOT kompozisyonunu HPLC yöntemi ile belirlemişler ve 22,8 mg/L düzeyinde punicalagin (α ve β), 15,3 mg/L düzeyinde ellajik asit, 17,9 mg/L düzeyinde ellajik asitin glukozit türevi saptamışlardır. Yürüttüğümüz bu çalışmada ise 30 mg/L düzeyinde punikalajin ve 10 mg/L düzeyinde ellajik asit saptanırken ellajik asit türevi belirlenmemiştir. Elde edilen bu değerlerin Gil ve ark. (2000)'nın bulunduğu değerlere yakın sonuçlar olduğu görülmüştür. İlginç bir şekilde jelatin ile gerçekleştirdiğimiz durultma işleminin HOT üzerine ciddi bir etki yaratmadığı görülmüştür. Muhacir-Güzel ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada sadece danelerde elde ettikleri nar sularında durultulmamış örneklerde 255 mg/L, jelatin ile durultulmuş örneklerde ise 76 mg/L düzeyinde HOT belirlemişlerdir. Erkan-Koç (2013) yaptıkları çalışmada ise durultulmamış örneklerde 1159 mg/L düzeyinde HOT belirlerken, jelatin ile durultma sonunda bu değer 109 mg/L düzeyine düştüğünü saptamışlardır. Erkan-Koç (2013) tarafından elde edilen değerlerin bu çalışmada elde edilen değerlerden fazla olmasının temel nedeni, söz konusu çalışmada kullanılan nar suları kabukları ile beraber yüksek bir basınç ile preslenerek elde edilen nar suları olmasıdır. Çünkü nar kabukları çok ciddi düzeyde HOT içerdiği çok iyi bilinmektedir. Fischer ve ark.(2011) kabuk ve farklı basınçlar ürettikleri nar suları üzerine yaptıkları çalışmada, kabuk kısmında 43399 mg/kg, mezokarp kısmında 40625 mg/kg, sadece danelerden elde ettikleri nar suyunda 93 mg/L, kabukları ile beraber işleyerek elde ettikleri nar suyunda 2074 mg/L HOT saptamışlardır. Bu çalışmadan da görüleceği üzere HOTlerin esas kaynağının kabuklar olduğu anlaşılmaktadır. İşleme tekniğine bağlı olarak elde edilen nar sularının HOT içeriğinin farklı olması çok doğal bir sonuçtur.

Tablo 4.7. Nar suları ve konsantrelerinin 12 aylık depolama periyodunun sonunda hidrolize olabilen tanen içeriğindeki değişimler

Örnek adı	Depolama Süresi (ay)	Hidrolize Olabilen Tanen Miktarları (mg/kg, mg/L)				
		Punikalin	Punikalajin	Ellajik asit	Ellajik asit türevleri	Toplam
Konsantre-1	0	5287±125 ^a	2291±56 ^a	718±11 ^a	217±7 ^a	8513±87 ^a
	12	4823±186 ^a	2100±40 ^a	329±9 ^b	154±2 ^b	7467±139 ^b
Konsantre-2	0	5142±128 ^a	3223±31 ^a	728±4 ^a	181±6 ^a	9274±157 ^a
	12	4371±182 ^b	2966±198 ^a	349±8 ^b	126±20 ^b	7812±12 ^b
Konsantre-3	0	10209±116 ^a	488±14 ^a	438±6 ^a	166±2 ^a	11301±110 ^a
	12	5525±65 ^b	267±68 ^b	229±13 ^b	146±6 ^a	6167±15 ^b
Konsantre-4	0	9182±42 ^a	1512±21 ^a	429±15 ^a	196±5 ^a	11319±53 ^a
	12	9224±528 ^a	1369±154 ^b	270±5 ^b	184±2 ^a	11048±675 ^a
Konsantre-5	0	9497±132 ^a	1333±64 ^a	591±6 ^a	229±2 ^a	11651±188 ^a
	12	7414±66 ^b	955±17 ^b	344±2 ^b	147±2 ^b	8860±50 ^b
Durultulmuş NS	0	53±4	32±6	11±0	0±0	96±2
	12	0±0	0±0	2±0	0±0	2±0
Durultulmamış NS	0	66±2	30±3	10±0	0±0	107±6
	12	0±0	0±0	3±0	0±0	3±0

Konsantre örneklerin HOT içerikleri incelendiğinde, 8513-11651 mg/kg aralığında toplam HOT saptanmıştır. Konsantre örneklerindeki bu yoğun HOT içeriği sadece meyve suyunun konsantre edilerek daha yoğun bir ürüne dönüştürülmesi ile açıklanabilir bir durum olmadığı görülmüştür. Çünkü, yaklaşık 15 briks değerine nar sularının yaklaşık 100 mg/L düzeyinde toplam HOT içerdiğinin konsantre edilemesi ile 5 katlık yoğunlaştırma işlemi olduğu göz önünde bulundurulursa, konsantrelerde 500 mg/kg düzeyinde HOT olması gerekirdi. Ancak konsantrelerde ölçülen değerlere bakıldığında 10000 mg/kg düzeylerine ulaşan HOT içerikleri saptanmıştır. Endüstriyel konsantrelerin HOT içeriğinin nar sularına göre çok fazla olması, endüstrinin narları meyve suyuna işlerken daneleme sırasında kabuktan nar suyuna çok miktarda HOTlerin geçmesi gösterilebilir. Endüstriyel nar suyu üretiminde, narlar döner bir tambur yardımı ile danelenmekte ve daha sonra yüksek basınç altında bu daneler sıkılarak nar ham suyu elde edilmektedir. Bu üretim aşamasında kuşkusuz daneleme ve sıkma basamağında kabuktan meyve suyuna HOT geçişi kaçınılmaz olduğu düşünülmektedir. Gil ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada endüstriyel olarak üretilmiş konsantreden rekonstitüe edilerek elde ettikleri nar sularında (16 Bx) 2698 mg/kg düzeyinde HOT saptamışlardır. 16 briks değerindeki nar sularındaki bu değer 65 briks değerindeki bir konsantre üzerinden düşünüldüğünde 10960 mg/kg düzeyinde HOT sahip olduğu anlaşılmıştır. Diğer bir deyişle, konsantrelerde saptadığımız HOT değerleri Gil ve ark. (2000) bulduğu değerlerle uyumlu olduğu anlaşılmıştır.

Buna karşın 12 aylık depolama periyodunun sonunda hem durultulmuş hem de durultulmamış nar suyu örneklerindeki HOT bileşiklerinin neredeyse tamamının parçalandığı saptanmıştır. Konsantre örneklerinde ise toplam HOT içeriği açısından çok ciddi değişimler gözlenmiştir ve bu değişimlerden konsantre-4 nolu örnek hariç hepsi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır. En fazla değişim 3 nolu konsantre örneğinde görülmüş, depolama başlangıcında 11301 mg/kg düzeyinde olan HOT içeriği 12 aylık depolama periyodunun sonunda 6167 mg/kg düzeyine düştüğü belirlenmiştir. Bileşen bazında depolama stabilitelerine bakıldığında ise konsantre-1 nolu örnekte punikalın ve punikalajinde istatistiksel olarak bir değişim olmadığı ($p > 0,05$) ellajik asit ve ellajik asit türevlerin çok ciddi değişimler gözlenmiştir. Konsantre-2 nolu örnekte ise sadece punikalajin içeriğindeki değişim istatistiksel olarak önemli

görünmemekte diğere tüm bileşenler azalmıştır. Konsantre-3 nolu örnekte sadece ellajik asit türevleri hariç tüm HOTlerde yaklaşık %50'ye varan düzeylerde çok keskin azalışlar saptanmıştır. Konsantre-4 punikalinde ve ellajik asit istatistiksel anlamda değişimler gözlenmemiş, bu durum toplam HOT miktarında herhangi bir değişim belirlenmemiştir. Konsantre-5 nolu örnekte ise bütün bileşenlerde değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

BÖLÜM 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında ulaşılan başlıca bulgular ve öneriler maddeler halinde özetlenmiştir.

1. Nar sularının işlenmesi sırasında pastörizasyon basamağında uygulanan ısı işlem yoğunluğu (90°C'de 1 dak) durultma sonrası berrak nitelikteki nar suyunda çok büyük oranlarda bulanıklık oluşumuna neden olmuştur. Sıcaklığın bulanıklık oluşumu üzerine bu belirgin etkisi soğuk sterilizasyon uygulaması ile doğrulanmıştır. Soğuk sterilizasyon uygulaması ile işlenen durultulmuş nar sularında 1 yıllık depolama periyodunun sonunda çok sınırlı düzeyde bir bulanıklık saptanmıştır. Isıl işlem uygulamadan gerçekleştirilen bu soğuk sterilizasyon uygulaması, özellikle son yıllarda üzerinde yoğun bir şekilde çalışılan 'Yüksek Hidrostatik Basınç', 'Yüksek Voltajlı Vurgulu Elektrik Alan' ve 'Karbondioksit' uygulaması gibi 'termal olmayan' (non-thermal) işleme tekniklerinin nar suyunun işlenmesinde denenmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu tekniklerin berrak nar suyunun depolanmasında, berraklık stabilitesi üzerine nasıl bir etkisinin olduğunun araştırılması gerekmektedir.
2. Berrak nitelikteki nar suyu ve konsantreleri üzerinde haze-aktif protein ve haze-polifenol varlığını tespit etmeye yönelik yapılan kalitatif testler, yalnızca iki konsantrelerden örneğinde haze-aktif protein varlığını ortaya koyarken, bütün meyve suyu ve konsantrelerinde çok büyük oranda haze-aktif polifenol varlığını ortaya koymuştur. Konsantreler arasındaki bu farklılıklar meyve suyu üreten firmaların işleme tekniklerinde kullandıkları farklı durultma yardımcı ajanları ile ilişkilendirilmiştir. Haze-aktif polifenol varlığının jelatin ile durultma işlemi yapılmayan örneklerde durultma yapılan örneklere kıyasla daha fazla olduğu

saptanmıştır. Bu durum da, durultulmuş örneklerde jelatin ile ortama fenolik bileşiklerin uzaklaştırılması ile ilişkilendirilmiştir.

3. Tarafımızdan işlenen nar sularında, durultulmuş nitelikte olanlarda haze-aktif protein varlığı durultulmamış olanlara kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu nedenle uygulanacak optimum jelatin dozajının çok dikkatli bir şekilde belirlenmesi gerektiği aksi taktirde nar suyunda kalıntı jelatinin bir bulanma unsuru olarak problem yaratacağı unutulmamalıdır.
4. Berrak nitelikteki nar suyu konsantrelerinin +5°Cde 12 aylık depolama periyodunun sonunda bulanıklık düzeyleri çok ciddi oranda (>1000 NTU) arttığı ve şişelerin dibinde tortu şeklinde çöktüğü saptanmıştır.
5. Bulanık nar suyu ve konsantrelerinin bulanıklık unsurlarını tanımlamaya yönelik gerçekleştirilen kalitatif testler, bulanıklık unsurlarının tanen veya tanen-protein kompleksinden oluştuğunu ortaya koymuştur.
6. Bir yıllık depolama periyodunun sonunda, nar sularından elde edilen tortuların yaklaşık %40'nın, konsantrelerinden elde edilen tortuların ise %57-70'nin TFM oluştuğu saptanmıştır. Ayrıca konsantre tortularda protein varlığı gözlenmezken, tarafımızdan işlenen nar sularında yaklaşık %10 düzeyinde protein varlığı saptanmıştır. Endüstriyel örneklerle tarafımızdan işlenen örnekler arasındaki bu keskin farklılık, endüstriyel üretimde ultrafiltrasyon tekniği ile yapıda tüm protein uzaklaştırılması ile ilişkilendirilmiştir.
7. Elde edilen tortuların fenolik kompozisyonun belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirilen HPLC analizleri, 7 farklı fenolik bileşik varlığını ortaya koymuştur. Bu söz konusu bileşiklerden yalnızca başat bileşen, ellajik asit tanımlanmış ve miktarsal olarak hesaplanmıştır. Konsantre örneklerin TFM içeriğinin %30-43'nün ellajik asitten oluştuğu saptanmıştır.
8. Depolama sırasında tortu şeklinde açığa çıkan bu değişim, nar suları ve konsantrelerinin fenolik içerikleri ve kompozisyonunda nasıl bir değişim sonucu

meydana geldiği anlaşılmaya çalışılmıştır. Depolama sonunda nar sularının TFM içeriğinde azalmalar gerçekleşirken, konsantre örneklerin TFM içeriğinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Konsantre rneklerin TFM içeriğinde herhangi bir azalma saptanmazken, yine aynı örneklerin KFM içeriklerinde %50'ye varan parçalanmalar saptanmıştır.

9. Yine meydana gelen bu değişim anlamak amacıyla nar suları/konsantrelerin ana fenolik grubunu oluşturan HOT kompozisyonları depolamanın başlangıcında ve sonunda belirlenmiştir. Yapılan HPLC analizleri, nar suları/konsantrelerinde başlangıcında 8 farklı HOT bileşiği olduğunu ortaya koymuştur. Bunlar punikalın, punikaljin, ellajik asit ve ellajik asit türevleri olarak tanımlanmıştır.
10. Başlangıçta berrak nitelikteki nar suların 12 aylık depolama periyodunun sonunda HOT içeriklerinin neredeyse tamamının parçalandığı görülürken, konsantre örneklerin ise %50 varan oranlarda parçalandığı saptanmıştır. Bu parçalanma oranlarına karşı, depolama sonunda ciddi tortu oluşumlarının görülmesi ve bu tortuların büyük bir kısmının ellajik asitten meydana gelmesi HOT tanenlerin depolama sırasında hidrolize olarak suda çözünmez nitelikteki ellajik asite dönüştüğünü ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L.A., Faveal-Torres, E., Aguilar, C. N. 2007. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins, *Applied Microbiology Biotechnology*, 1-11.
- Akdağ, E., 2016. Kişisel Görüşme. Meyve Suyu Endüstrisi Derneği, İstanbul.
- Al-Maiman, S.A., Ahmad, D., 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit maturation, *Food Chem*, 76:437-441.
- Al-Said; F.A.; Opara, L.U., Al – Yahyai, R.A. 2009. Physico – Chemical and textural quality attributes of pomagranate cultivators (*Punica granatum L.*) grown in the sultanate of Oman. *Journal of Food Engineering*, 90: 129 – 134.
- Artık, N., Cemeroğlu, B., Murakamı, H., and Morı, T., 1998. Determination of phenolic compounds in pomegranate juice by using HPLC. *Fruit Processing*, 12/98:492-499.
- Asano, K.; Shinagawa, K.; Hashimoto, N. 1982. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 40, 147-154.
- Aslantürk, H.G., Yemiş, O. 2016. Berrak nar suyu ve konsantrelerinde bulanıklık oluşumu. *Akademik Gıda*, 14: 275-283.
- 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.
- Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitın, D., Niteckı, S., Hoffman, A., Dornfeld, L., Volkova, N., Presser, D., Attıas, J., Lıker, H., Hayek, T., 2004. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation, *Clinical Nutrition*, 23; 423-433.

- Bala, I., Bhardwaj, V., Hariharan, S., Kumar, M.N.V.R. 2006. Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40, 206-210.
- BATEM, 2017. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Çeşit Kataloğu, Antalya, 68-76.
- Benli, H. 2001. Narın konserveye işlenmesi üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana, 94s.
- 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., Yüncüler, O., 1988. Nar suyu üzerinde araştırmalar. *Doğa, Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 12(3):322-334.
- Cemeroğlu, B., Artık, N., Erbaş, S., 1992 Gewinnung von granatapfelsaft und seine zusammensetzung flüssiges Obsi 59. 335- 340.
- Cemeroğlu, B., Velioğlu, S., Erbaş, S., Ünal, Ç. ve Yıldız, O. 1994. Vişne ve nar sularının kimyasal tanı değerlerinin saptanması üzerine çalışmalar. TBGAG-29/A Nolu TÜBİTAK Projesi.
- Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, Ankara, 77-88.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M., 2004. Meyve ve Sebzelerin Bileşimi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt I, Cemeroğlu, B. (Ed.), S.1-188, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cemeroğlu B, Karedeniz F. 2009. Meyve Suyu Üretim Teknolojisi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt I, Cemeroğlu B. (Ed.), S. 391-692, Bizim Büro Basımevi, Ankara.
- Cerda, B., Creon, L.J., Tomas-Barberan, F.A., Espin, J.C. 2003. Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. *J. Agric. Food Chem*, 51(11), 3493-3501.
- Cerda, B., Tomas- Barberan, F. A., Espin, J. C. 2005. Metabolism of antioxidant and chemopreventative ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts and oak-aged wine in humans: identification of biomarkers and individual variability. *J. Agric. Food Chem*, 53, 227-235.
- Dağbağlı, S. 2001. Meşe palamudundan elde edilen tanenin şarapta durultma maddesi olarak kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Manisa, 89s.

- De Pascual-Teresa., Santos-Bluega, C., Rivas-Gonzalo, M. 2000. Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages. *J. Agric. Food Chem*, 48:5331-5337.
- Devipriya, N., Srinivasan, M., Sudheer, A.R., Menon, V.P. 2007a. Effect of ellagic acid, a natural polyphenol, on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose dependent study. *Singapore Med J* 48:311–318.
- Devipriya, N., Sudheer, A.R., Menon, V.P. 2007b. Dose-response effect of ellagic acid on circulatory antioxidants and lipids during alcoholinduced toxicity in experimental rats. *Fundam Clin Pharmacol* 21: 621–630.
- Erkan-Koç, B., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., Özkan, M, 2015. Effects of various protein- and polysaccharide-based clarification agents on antioxidative compounds and colour of pomegranate juice. *Food Chemistry* 184: 37-45.
- Fang, Z., Zhang, M., Sun, Y., Sun, J.2006. How to improve bayberry (*Myrica rubra* Sieb et Zucc.) juice color quality: effect of juice processing on bayberry anthocyanins and polyphenolics. *J.Agric. Food Chem*. 2006.54,99-106.
- Fischer- Zorn, M., Ara, V. 2007. Pomegranate juice chemical composition and potential adulteration. *Fruit Processing*, 17 (4), 204-213.
- Fischer, A.U., Carle, R., Kammerer, R. D. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSⁿ. *Food Chemistry*,
- Garcia-Alonso, E.J., Periago, M.J., Vidal-Guevara, M.L., Cantos, E., Ros, G. Ferreres, F., Abellan, P. 2003. Assessment of the antioxidant properties during storage of a dessert made from grape, cherry, and berries. *Journal of Food Science*, 68, 4, 1525-1530.
- Gardner, R. J., McGuinness, J. D. 1977. Complex phenols in brewing- a critical survey. *Technical Quarterly, Master Brewers Association of America*, 14, 250- 261.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A. A., 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem*, 48, 4581-4589.
- Göğüş, F., Fadıloğlu, S. 2006. *Food Chemistry*. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 319-339.
- Gölkücü, M., Tokgöz, H. 2008 Ülkemizde yetiştirilen önemli nar (*Punica granatum*) çeşitlerine ait nar sularının bazı kalite özellikleri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü- TÜBİTAK Projesi* 40s.

- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23, 1719-1726.
- Gültekin, B. 2016. Kişisel Görüşme. Asya Meyve Suyu Gıda Sanayii A.Ş., Isparta.
- Güzel, N. 2010. Nar suyu konsantresi üretim aşamalarında prosiyanidinlerdeki değişimler. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Heartherbell, D.A. 1976. Haze and sediment formation in clarified apple juice and wine. *Alimenta*, 15,151-154.
- Heftaman, E., and Bennett, S.T. 1966. Identification of estrone in pomegranate seeds. *Phytochemistry*, 5, 1337-1340.
- Saad, H.F. Charrier-El Bouhtoury, A. Pizzi, K. Rode, B. Charrier, N. Ayed. Characterization of Pomegranate peels tanin extractives.
- Houng, J.S.; Briggs, D.E.; Stevens, R.; Young, T.W. *Malting and Brewing Science*, 2nd ed.; Chapman & Hall: London, 1982; Vol. 2.
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarviev, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 560-568.
- Koç, B., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., Özkan, M. 2015. Effects of various protein- and polysaccharide-based clarification agents on antioxidative compounds and colour of pomegranate juice. *Food Chemistry*, 184, 37-45.
- Kulkarni, A. P., Aradhya, S. M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development, *Food Chemistry*, 93, 2, 319-324.
- Kurt, H., Şahin, G. 2013. Bir Ziraat Coğrafyası: Türkiye’de Nar (*Punica granatum L.*) Tarımı, Marmara Üniversitesi, 27, 551-574.
- Lee, J., Talcott, S.T. 2002. Ellagic acid and ellagitannins affect on sedimentation in muscadine juice and wine. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 3971-3976.
- Lee, J., Talcott, S.T. 2004. Fruit maturity and juice extraction influences ellagic acid derivatives and other antioxidant polyphenolics in muscadine grapes, *J. Agric. Food Chem*, 52, 361-366.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., Cheng, S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96, 254-260.

- McManus, J.P., Davis, K.G., Beart, C.E., Gaffney, S.H., Lilley, T.E., Haslam, E. 1985. Polyphenol interactions. Part 1. Introduction: Some observation on the reversible complexation polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions, II*, 1429-1438.
- Melgarejo, P., Salazaar D.M., Artes, F. 2000. Organic acids and sugar composition of harvested pomegranate fruits. *Eur Foods Res Technol.* 211:185-190.
- Merken, H.M., Beecher, G, R., 2000. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: A Review. *J. Agric. Food Chem.* 48(3), 577-599.
- Muhacir-Güzel, N., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., Tağı, Ş., Özkan, M. 2014. Changes in hydrolysable and condensed tannins of pomegranate (*Punica granatum L.*, cv. Hicaznar) juices from sacs and whole fruits during production and their relation with antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 59:2, 933-940.
- Okeke, J.C. 2006. The effects of ellagic acid on insulin-like growth factor binding protein-2 in human prostate cancer cells. Master of Science Thesis, Bowling Green State University, 66.
- Onur, C. 1982. Akdeniz bölgesi narlarının seleksiyonu. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Doktora Tezi.
- Pande, G., and Akoh, C.C. 2009. Antioxidant capacity and lipid characterization of six Georgia-Grown pomegranate cultivars *J. Agric. Food Chem*, 57(20), 9427-9436.
- Perez-Vincente, A., Serrano, P., Abellan, P., Garcia-Viguera, C. 2004. Influence of packaging material on pomegranate juice colour and bioactive compounds, during storage. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 84, 639-644.
- Poyrazoğlu, E., Gökmen, V., 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. <http://www.uga.edu/fruit/pomegran.html>, Erişim Tarihi: 08.08.17.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.
- Seeram, N.P., Lewis, A.W., Jacobs, H., Nair, M.G., McLean, S., Reynolds, W.F. 2000. Proctoriones A-C: 2-acylcyclohexane-1,3-dione derivatives from *Peperomia proctorii*. *Journal of Natural Products*; 63(3):399-402.
- Seeram, N.P., Lee R., Heber, D. 2004. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum L.*) juice. *Clin Chim Acta* 348:63–68.

- Seeram, N. P., Adams, L. S., Hennig, S. M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M.G., and Heber, D., 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16:360-367.
- Siebert, K.J., Stenroos, L.E., Reid, D.S. 1981. Characterization of amorphous-particle haze. *Journal of the American Society of brewing Chemists*, 39, 1-11.
- Siebert, K.J., Troukhanova N.V., Lynn P.Y. 1996. Nature of polyphenol- protein interaction. *J Agric Food Chem*, 44, 80-85.
- Siebert, K.J., Carrasco, A.; Lynn P.Y. 1996. Formation of protein-polyphenol haze in beverages. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1997-2005.
- Siebert, K. J., & Lynn, P.Y. 2000. Apple cultivar and maturity affect haze-active protein and haze-active polyphenol concentrations in juice. *J. Food Sci.*, 65, 1386-1390.
- Siebert, K. J., & Lynn, P.Y. 2003. Effects of alcohol and pH on protein –polyphenol haze intensity and particle size. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 60, 88-98.
- Siebert, K.J. 2006. Haze formation in beverages. *LWT*, 39, 987-994.
- Stover, E., Mercure, E.W. 2007. The Pomegranate: A new look at the fruit of paradise, *Hort Science*, 42:5; 1088-1092.
- Şahin, A. 2006. Nar bahçesi tesisi, BATEM Yayınları, Yayın No:28, Antalya.
- Tanner, H., & Brunner, H. R. (1979). *Getraenke Analytik. D-7170. Schwaebisch Hall: Germany: Verlag Heller Chemie-und Verwaltungsgesellschaft mbH.*
- Tehraniyar, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B., Vazifeshenas, M.R. 2010. Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranates (*Punica granatum L.*) cultivars. In *Scientia Horticulturae*, 126(2):180-185.
- Tezcan, F., Gültekin-Özgüven, M., Diken, T., Özçelik, B., Erim, F. B. 2009. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. In *Food Chemistry* 2009 115(3):873-877.
- TÜİK. 2015. Bitkisel Üretim İstatistikleri. www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul. Erişim Tarihi: 21.03.2016.
- Tümer, L, Ö. 2006. Bazı Nar çeşitlerinin olgunlaşma aşamalarında fenolik bileşik miktarlarındaki değişimler, Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. 42s.

- Türkyılmaz, M., Özkan, M. 2014. Effects of condensed tannins on anthocyanins and colour of authentic pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. Food Chem., 164:1, 324-331.
- Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M., Amir, R. 2007. Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. J. Agric. Food Chem, 55:9559–9570.
- Uylaşer, V., İnce, K. 2008. Şaraptaki antioksidanlar ve fenolik Bilesikler. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 1151-1154.
- Ünal, Ç., Velioglu, S., Cemeroğlu, B. 1995. Nar sularının bileşim öğeleri, Gıda, 20 (6), 339-345.
- Ünsal, T., 2007. Kalecik Karası, Gamay ve Cabernet Sauvignon saraplarında bazı fenolik bileşenlerin karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi sayfa 38.
- Van Buren, J.P., Way, R.D. 1978. Tannins hazes in deproteinized apple juice. J. Food Sci., 43, 1235-1237.
- Van Buren, J.P. 1989. Causes and prevention of turbidity in apple juice. In: Downing DL, editor. Processed apple products. New York: Van Nostrand Reinhold. P 97-120.
- Vardin. H., Abbasoğlu, M., 2004. Nar ekşisi ve narın diğer değerlendirme olanakları. Geleneksel gıdalar sempozyumu 23-24 Eylül 2004 Van 165-169.
- Vrhovsek, U., Palchetti, A., Reniero, F., Guillou, C., Masuero, D., Mattivi, F. 2006. Concentration and mean degree of polymerization of Rubus ellagitannins evaluated by optimized acid methanolysis. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 54, 4469-4475.
- Yılmaz, C., 2007. Nar. Hasad Yayıncılık. İstanbul, 9-98.
- Waterhouse, A. L. Folin-Ciocalteu micro method for total phenol in wine. Department of Viticulture & Enology University of California, Davis.
- Whitley, A.C. 2005. Cellular transport and disposition of ellagic acid: role of organic anion transporters, doctor of philosophy thesis, Medical University of South Carolina, 134s.
- Williner, M., Pirovani, M., Güemes, D. 2003. Ellagic acid content in strawberries different cultivars and ripening stages. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83, 842-845.

- Wu, L.C., Lu, Y.W. 20014. Electrophoretic method for the identification of a haze active protein in grape seeds. *J. Agric. Food Chem*, 52, 3130-3135.
- Wu, L.C., Siebert K.J. 2002. Characterization of Haze- Active Proteins in Apple Juice. *J. Agric Food Chem*. 50:3828-34.

ÖZGEÇMİŞ

Dilara Yalmanrı, 22.09.1989'da Çorum'da doğdu. İlköğretimi Kocaeli'de, orta öğretime Afyon'da, lise eğitimi İzmir'de tamamladı. 2007 yılında İzmir Güzelbahçe 60. Yıl Anadolu Lisesi'den mezun oldu. 2008 yılında başladığı Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nü 2013 Mart ayında bitirdi. Sonrasında 2013 Eylül ayında Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitime başladı.