

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ**  
**KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE**

**Proje Türü** : Lisansüstü Öğrenciler için Araştırma Desteđi  
**Proje No** :13L4343004  
**Proje Yöneticisi** : Prof.Dr.Mehmet Özkan  
**Proje Konusu** : Kalecik Karası üzümlerden (*Vitis vinifera* L.) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin sonuç raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

İSTİYORUM

İSTEMİYORUM

06/02/2014

Prof.Dr. Mehmet Özkan

1946

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**

**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ  
SONUÇ RAPORU**

**Kalecik Karası üzümlerden (*Vitis vinifera* L.) üretilen kırmızı üzüm suyunun çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve durultmanın üzüm suyu rengi üzerine etkisi**

**Yürütücü: Prof. Dr. Mehmet Özkan**

**Yardımcı Araştırmacı: Sevgin Dıblan**

**Yardımcı Araştırmacı: Dr. Meltem Türkyılmaz**

**Yardımcı Araştırmacı: Dr. Betül Erkan Koç**

**Proje No: 13L4343004**

**Proje Başlangıç Tarihi: 18/03/2013**

**Proje Bitiş Tarihi: 18/03/2014**

**Rapor Tarihi: 06/02/2014**

**Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Ankara - 2014**

## 1. PROJENİN TÜRKÇE VE İNGİLİZCE ADI VE ÖZETİ

### ÖZET

#### KALECİK KARASI ÜZÜMLERDEN (*Vitis vinifera* L.) ÜRETİLEN KIRMIZI ÜZÜM SUYUNUN ÇEŞİTLİ DURULTMA YARDIMCI MADDELERİ İLE DURULTULMASI VE DURULTMANIN ÜZÜM SUYU RENGİ ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada, 5 farklı durultma yardımcı maddesinin (bentonit, jelatin, kazein, albumin ve kitosan) Kalecik Karası üzümünden elde edilen kırmızı üzüm suyu antosiyaninleri (ACN) üzerine etkisi incelenmiştir. Durultmanın, kırmızı üzüm suyu renk özelliklerine etkisini gözlemek amacıyla, durultulmamış ve durultulmuş meyve sularında, toplam monomerik ACN analizi, ACN dağılım analizi, polimerik renk ve reflektans renk değerleri tayinleri yapılmıştır. Monomerik ACN ve polimerik renk analizleri spektrofotometrik yöntemle, ACN dağılım analizi HPLC yöntemi ile, reflektans renk değerleri ise, reflektans spektrofotometresi ile belirlenmiştir.

Durultma işleminden sonra üzüm suyunun bulanıklık değeri, bentonitin; kazein ve albumin kombinasyonu ile, 28 NTU'dan 4.2–4.4 NTU seviyesine düşmüştür. Bunu, bentonit (5.7 NTU) ve “bentonit+jelatin” (8.8 NTU) uygulamaları takip etmektedir. Durultma işlemi sonunda en yüksek NTU seviyesine ise, kitosan ve “bentonit+kitosan” uygulaması ile ulaşılmıştır. Bentonit, “bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” uygulamalarından sonra, ACN miktarında önemli bir kayıp saptanmazken, kitosan, “bentonit+kitosan” ve “bentonit+jelatin” durultmasından sonra ACN miktarında görülen kayıp sırasıyla, %38, 26 ve 20'dir. Kayba uğrayan ACN miktarında görülen bu farklılığın nedeni, polifenollerin durultma yardımcı maddeleri ile oluşturdukları flokların farklı büyüklükte olmasıdır. Örneğin, jelatin; albumin ve kazeine göre, üzüm suyunda bulunan polifenoller ile daha büyük floklar oluşturmuş ve bunun sonucunda daha fazla ACN'i beraberinde sürükleyerek, daha fazla kayba yol açmıştır. Kalecik Karası üzüm suyunda, HPLC yöntemiyle, 4 farklı ACN saptanmıştır. Malvidin-3-glikozitin (%57), bu üzüm çeşidinde bulunan başat ACN olduğu saptanmıştır. Üzüm suyunda tanımlanan diğer ACN'ler ise; peonidin-3-glikozit (%10), siyanidin-3-glikozit (%6) ve delfinidin-3-glikozittir (%4).

Elde edilen sonuçlar, durultmanın etkisinin durultma yardımcı maddesi dozundan çok, durultma yardımcı maddesi türüne bağlı olduğunu açık bir şekilde göstermiştir. Berraklık açısından, en iyi sonuçlar kazein ve albumin durultma uygulamalarında elde edilmiştir. Aynı zamanda, bu uygulamalar sonunda üzüm suyu renk özelliklerinde önemli bir değişim saptanmamıştır. Bu sonuçlar göz önüne alınarak, gerek en iyi berraklık, gerekse de en az ACN kaybı olduğu için, kırmızı üzüm suyu durultmasında, “bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” kombinasyonları önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Durultma, antosiyanin, bentonit, kitosan, jelatin, kazein, albumin.

## ABSTRACT

CLARIFICATION of RED GRAPE JUICE from KALECIK KARASI GRAPES (*Vitis vinifera* L.) with VARIOUS CLARIFICATION AGENTS and EFFECTS of CLARIFICATION on the COLOR of GRAPE JUICE

In this research, the effects of five different types of fining agents (bentonite, gelatin, casein, albumin and chitosan) on anthocyanins (ACNs) and color of red grape juice produced from Kalecik Karasi variety (*Vitis vinifera* L.) were investigated. Total monomeric ACN, ACN composition, polymeric color and reflectance color analyses were carried out to determine the color changes during clarification of grape juice samples. Monomeric ACN and polimeric color analyses are determined spectrophotometrically, ACN composition by HPLC method, and reflectance color analyses by reflectance spectrophotometer.

The turbidity of red grape juice decreased from 28 NTU to 4.2–4.4 NTU with “bentonite+albumin” and “bentonite+casein” combinations. This was followed by bentonite (5.7 NTU) and “bentonite+gelatin” clarifications (8.8 NTU). Chitosan and “bentonite+chitosan” combination had the highest turbidity level (11 NTU) among all clarification treatments. The clarification with bentonite, “bentonite+casein” and “bentonite+albumin” did not cause significant reductions in ACNs. On the contrary, chitosan, “bentonite+chitosan” and “bentonite+gelatin” resulted in dramatical reductions in ACN contents of red grade juice samples, namely 38, 26 and 20%, respectively. The main reason for the various amounts of removals of ACNs can be attributed to the formation of different sizes of complexes with polyphenols by the various fining agents. For example, gelatin forms much bigger complexes with polyphenols in grape juice, than those formed by albumin and casein. This, in turn, resulted in the sweeping of more ACNs by the gelatin-polyphenol complexes during sedimentation. Four major ACNs were identified in red grape juice by HPLC. Malvidin-3-glucoside (57%) was the major anthocyanin, followed by peonidin-3-glucoside (10%), cyanidin-3-glucoside (6%) and delphinidine-3-glucoside (4%).

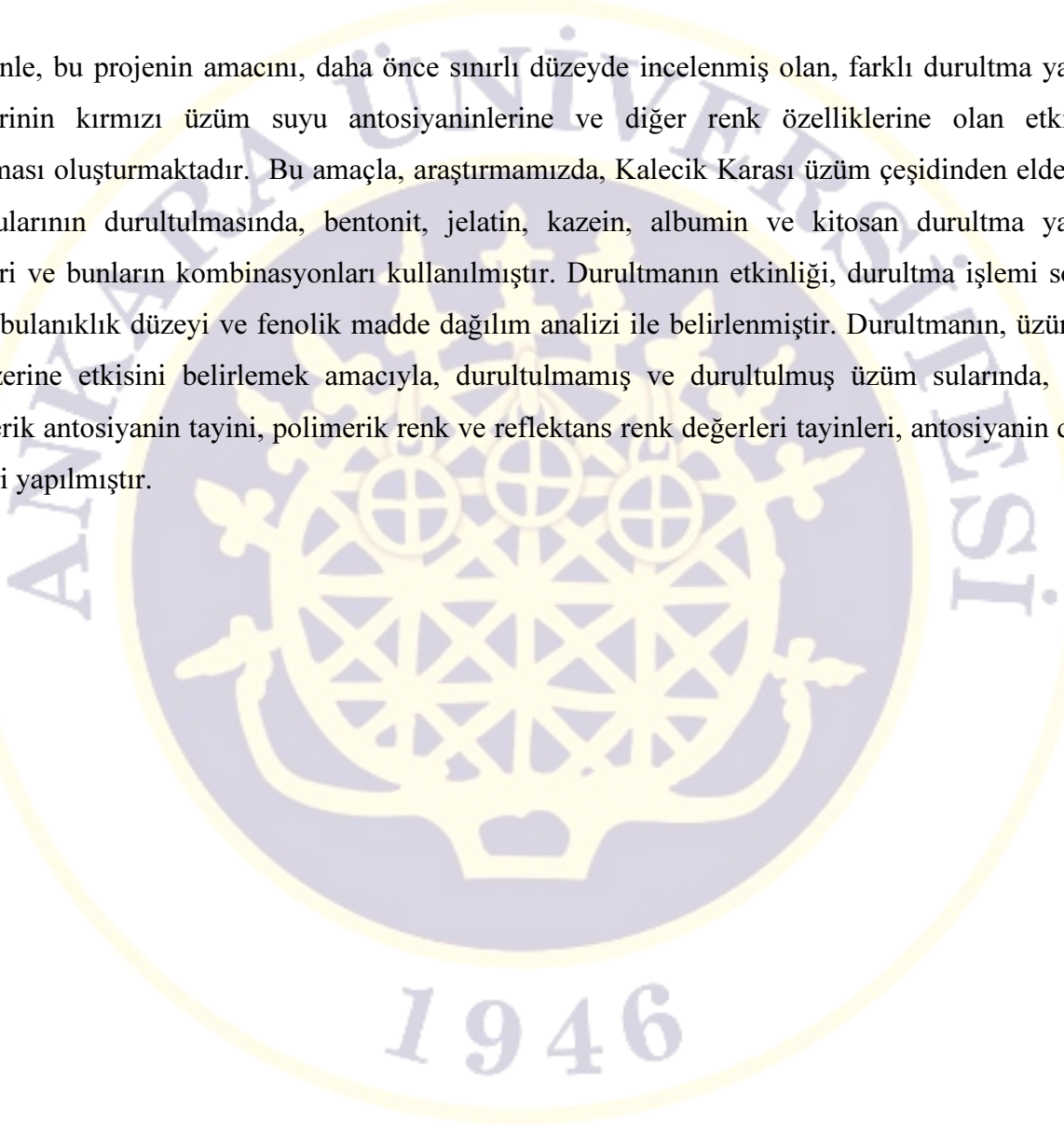
The results of this study clearly showed that the effect of clarification depends on the type of fining agents more than the dosage used during clarification. In terms of turbidity, the clarification with casein and albumin resulted in the highest clarity among all clarification treatments. At the same time, the clarification with casein and albumin did not cause much change in color values of red grape juice. According to these results, the combinations of “bentonite+casein” and “bentonite+albumin” are recommended for the clarification of red grape juice in terms of both highest clarity and lowest ACN loss among all clarification treatments.

**Key Words:** Clarification, anthocyanin, bentonite, chitosan, gelatin, casein, albumin.

## 2. AMAÇ ve KAPSAM

Meyve sularının çeşitli özelliklerinin incelendiği birçok araştırma literatürde bulunmaktadır. Buna karşın üzüm suları üzerine yapılan araştırmaların önemli bölümü beyaz üzüm sularında yapılmış olup, bu araştırmaların da çoğunluğu yurtdışında yapılmıştır. Buna ek olarak, kırmızı üzüm suları üzerine yapılan araştırma sayısı sınırlı olup, özellikle kırmızı üzüm suyunun durultulması ve bu işlemin renk özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu nedenle, bu projenin amacını, daha önce sınırlı düzeyde incelenmiş olan, farklı durultma yardımcı maddelerinin kırmızı üzüm suyu antosiyaninlerine ve diğer renk özelliklerine olan etkilerinin araştırılması oluşturmaktadır. Bu amaçla, araştırmamızda, Kalecik Karası üzüm çeşidinden elde edilen üzüm sularının durultulmasında, bentonit, jelatin, kazein, albumin ve kitosan durultma yardımcı maddeleri ve bunların kombinasyonları kullanılmıştır. Durultmanın etkinliği, durultma işlemi sonunda ulaşılan bulanıklık düzeyi ve fenolik madde dağılım analizi ile belirlenmiştir. Durultmanın, üzüm suyu rengi üzerine etkisini belirlemek amacıyla, durultulmamış ve durultulmuş üzüm sularında, toplam monomerik antosiyanin tayini, polimerik renk ve reflektans renk değerleri tayinleri, antosiyanin dağılım analizleri yapılmıştır.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Kırmızı üzüm suyu

Araştırmada materyal Kalecik Karası üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinden elde edilen üzüm suyu kullanılmıştır. Üzümler, Ankara'nın Kalecik ilçesinde bulunan Ankara Üniversitesi'ne bağlı bağlardan temin edilmiştir. Üzümlerin hasadında, suda çözünür kuru madde içeriği (briks) ile asitlik değerleri temel alınmıştır. Üzümlerin; 18–24°Bx arasında (Mazza vd. 1999), tartarik asit cinsinden titrasyon asitliği değerinin ise, 5–6 g/L arasında (Selli vd. 2004) olması göz önünde bulundurulmuştur. Bu değerlere sahip üzümler, bölüm 3.2.1'de detaylı olarak anlatılan yöntem ile üzüm suyuna işlenmiştir.

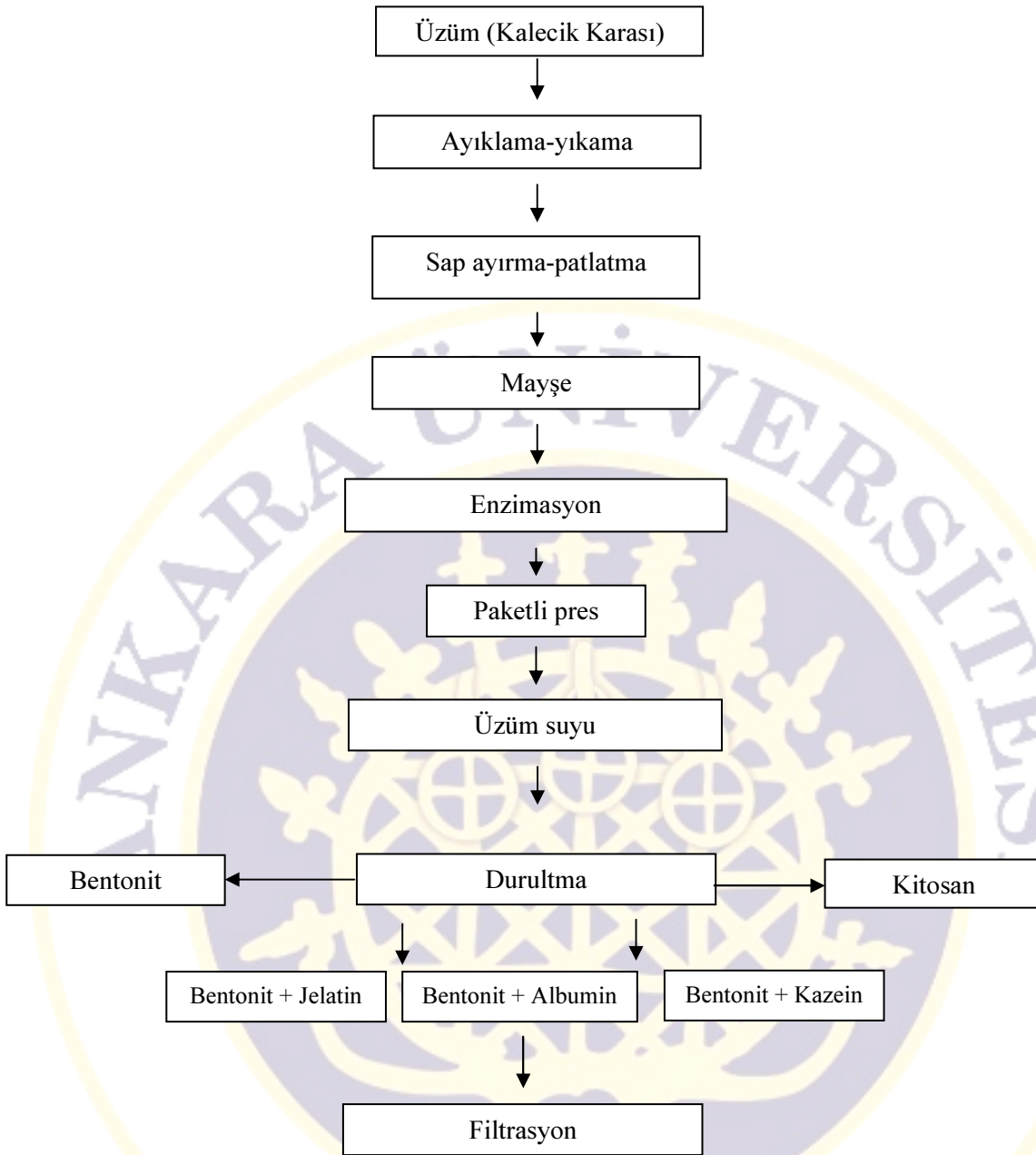
#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Kırmızı üzüm suyu üretimi

**Yıkama, sap ayırma ve patlatma:** Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne bağlı meyve suyu pilot işletmesine getirilen üzümler öncelikle yıkanmıştır. Daha sonra, üzümlerin sapları elle ayrılıp, daneler patlatılmıştır.

**Enzimasyon:** Üzüm kabuğunda bulunan rengin üzüm şirasına geçmesi amacıyla enzimasyon işlemi yapılmıştır. Enzimasyonda uygulanan ısıtma ile, üzüm suyunun kalitesini etkileyen enzimlerin de inaktivasyonunun sağlanması amaçlanmıştır. Polifenoller ve ACN'leri enzimatik olarak parçalayan polifenol oksidaz (PPO) enzimini inaktif etmek için, üzüm suyunda orta düzeyde ısıtma önerilmektedir (Patras vd. 2010). Bu amaçla 50°C sıcaklığa getirilen mayşeye, renk enzimi olarak adlandırılan Pectinex Ultracolor (Novozymes, Dittingen, İsviçre) enziminden üretici firmanın önerdiği dozajda eklenmiş (10 g/hL) ve 2 h sürekli karıştırılarak sıcaklığın homojen kalması sağlanmıştır. Bu süre sonunda meyve suyu pilot işletmesinde bulunan paketli pres yardımıyla üzüm suyu elde edilmiştir. Üzüm sularının 1.5 L'lık PET şişelere dolumu yapıp, süratle buzlu su banyosunda soğutulmuştur.

Üzümlerin üzüm suyuna işlenmesindeki aşamalar şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Üzüm suyu üretim akış şeması

### 3.2.2 Kırmızı üzüm suyu durultması

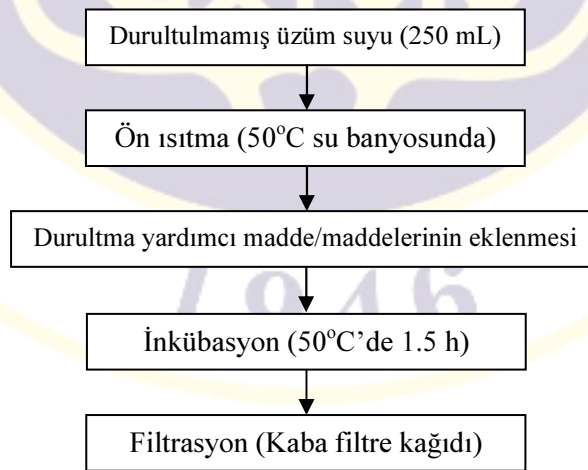
#### 3.2.2.1 Durultma uygulaması

Durultmada amaç; kırmızı üzüm suyunda kolloidal olarak bulunan ve bulanıklığa neden olan polimerize tanenlerle, diğer yüksek molekül ağırlığındaki polifenollerin ve proteinlerin uzaklaştırılmasını sağlamaktır. Üzüm suyunun durultulması, soğuk durultma yöntemine göre, daha kısa sürdüğü ve daha

ekonomik olduğu gerekçesiyle endüstri tarafından tercih edilen sıcak durultma yöntemiyle 50°C'de yapılmıştır. Kırmızı üzüm suyunun durultulması, önce sadece bentonit ile gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında bentonitin; jelatin, kazein ve yumurta albumini ile kombinasyonları da uygulanarak, yüksek molekül ağırlıklı ve daha sonradan bulanıklığa neden olan polifenoller uzaklaştırılmaya çalışılmıştır. Son yıllarda önemi artan ve aynı zamanda polifenol yanında protein adsorbe etme özelliği olan kitosan ile de durultma denemeleri yapılmıştır. Kitosanın etkisi, hem tek başına hem de bentonit ile kombinasyonu yapılarak gözlemlenmiştir.

Durultma işleminde kullanılacak dozajlar, kapsamlı ön denemeler ile belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle bentonit ile durultma ön denemesi yapılmış ve bu durultma yardımcı maddesinin dozajı belirlendikten sonra, jelatin, kazein, albumin ve kitosan ile kombinasyonları için ön denemeler yapılmıştır. Daha sonra, belirlenen dozajlar ile durultma denemeleri, 2 tekerrürlü olarak 250 mL üzüm suyunda gerçekleştirilmiştir. Durultma işlem aşamaları, şekil 3.2'deki akış diyagramında verilmiştir.

Durultma öncesi ve sonrasında kırmızı üzüm suyunda aşağıda verilen analiz yöntemleri 2 paralelli olarak uygulanarak durultmanın özellikle bulanıklık ve polifenollerin bir alt grubu olan ACN'ler üzerine etkisi saptanmıştır. Bu amaçla; bentonit, jelatin, kazein, yumurta albumini ve kitosan ile durultulan meyve sularında bulanıklık düzeyi, toplam monomerik ACN miktarı, polimerik renk, reflektans renk değeri tayinleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Ayrıca, durultulan üzüm sularında ACN dağılımları da HPLC ile belirlenmiştir.



Şekil 3.2 Durultma işlem aşamaları



### 3.2.3 Fiziksel analizler

#### 3.2.3.1 pH tayini

pH değeri, potansiyometrik olarak pH-metre (Mertler-Toledo SevenCompact pH/Ion S220, Schwerzenbach, İsviçre) ile saptanmıştır. pH ölçümleri, 20°C'de yapılmıştır.

#### 3.2.3.2 Bulanıklık düzeyinin ölçülmesi

Bulanıklık ölçümleri türbidimetre (Hach 2100N, Loveland, CO, A.B.D) ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar "Nephelometric Turbidity Units (NTU)" olarak ifade edilmiştir. Ölçümler, örnek sıcaklığı 20°C'ye geldikten sonra yapılmıştır.

#### 3.2.3.3 Reflektans renk tayini

Örneklerin rengi, reflektans spektrofotometresi (Minolta CM-3600d, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, L\*, a\* ve b\* renk değerleri ölçülmüş ve, C\* ve h° renk değerleri de a\* ve b\* değerlerinden aşağıda sırasıyla verilen 3.1 ve 3.2 No'lu eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır:

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

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

### 3.2.4 Kimyasal analizler

#### 3.2.4.1 Titrasyon asitliği

Titrasyon asitliği, pH-metre ile izlenerek yürütülen titrasyonla saptanıp ve bu amaçla IFU tarafından (1968) önerilen işlemler uygulanmıştır. Bu amaçla belli miktar üzüm suyuna 0.1 N standardize edilmiş NaOH çözeltisi ile ve pH-metre yardımıyla, pH 8.1'e ulaşmaya kadar titrasyon uygulanmıştır. Titrasyon asitliği, tartarik asit cinsinden "g/100 mL" olarak hesaplanmıştır.

#### 3.2.4.2 Toplam monomerik antosiyanin tayini

Bu amaçla, Fuleki (1969) ve Francis (1985) tarafından önerilen, ve Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından geliştirilen pH diferansiyel metodu kullanılmıştır. Bu metodun ilkesi, monomerik ACN'lerin pH 1.0'da

renkli oksonium formunun, pH 4.5'de ise, renksiz hemiketal formunun egemen olmasına dayanmaktadır. Buna göre, ortamın pH 1.0 ve 4.5 olduğu zaman ölçülen absorbans değerlerinin farkı, doğrudan ACN konsantrasyonu ile orantılı bulunmaktadır.

Monomerik ACN miktarı, üzümde baskın bulunan malvidin-3-glukozit cinsinden (Baiano vd. 2009, Púertolas vd. 2009) aşağıda verilen 3.3 No'lu eşitliğe göre hesaplanmıştır.

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

Burada:

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

MW: Baz olarak alınacak antosiyaninin molekül ağırlığı (g/mol),

SF: Seyreltme faktörü,

$\epsilon$ : Molar absorpsiyon katsayısı (L/(cm mg)),

L: Spektrofotometre küvetinin tabaka kalınlığı (cm).

Malvidin-3-glukozidin molar absorbans değeri  $\epsilon=28\ 000$  L/(cm mg) ve molekül ağırlığı ise, MW=493.5 g/mol (Giusti ve Wrolstad 2001) alınarak hesaplama yapılmıştır.

### 3.2.4.3 Antosiyanin parçalanma ölçütlerinin belirlenmesi

Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından önerilen yöntem uygulanmıştır. Bu amaçla, üzüm suyu örnekleri potasyum klorür çözeltisi (pH 1.0) ile seyreltilerek, üzüm suyunda bulunan ACN'lerin maksimum absorbans verdiği dalga boyundaki ( $\lambda_{\text{vis-maks}}$ ) absorbans değeri (528 nm) 0.4–0.6 absorbans değerine getirilmiştir. Daha sonra bisülfite (%20  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) çözeltisi eklenerek, örnekteki monomerik ACN'lerin renksiz "sulfonik asit kompleksi" oluşturması sağlanmıştır. Buna karşın, "polimerik ACN-tanen" kompleksleri ve "melanoidin" pigmentleri ise, bisülfite karşı direnç göstererek renklerini korumuşlardır. Bu esmer renkli pigmentlerin ortamdaki konsantrasyonu arttıkça, 420 nm'de okunan absorbans değerleri yükselmektedir. Bu nedenle; bisülfite uygulanmaksızın  $\lambda_{\text{vis-maks}}$  dalga boyunda ve bisülfite uygulandıktan sonra 420 nm dalga boyunda yapılacak iki absorbans ölçümü ile; aşağıda ayrıntıları verilen "renk yoğunluğu," "polimerik renk" ve "polimerik renk yüzdesi" gibi üç nitelik belirlenmiştir.

- **Renk yoğunluğu**

Bu değer, "bisülfid uygulanmamış küvette bulunan örneğin,  $\lambda_{\text{vis-maks}}$  ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıda verilen 3.4 No'lu eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\text{Renk yoğunluğu} = [(\lambda_{\text{vis-maks}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times \text{SF} \quad (3.4)$$

Burada:

SF: seyreltme faktörü

- **Polimerik renk**

Bu değer, "bisülfid uygulanmış küvette bulunan örneğin,  $\lambda_{\text{vis-maks}}$  ve 420 nm dalga boylarındaki absorbansları toplamı" olarak tanımlanmaktadır. Aşağıdaki verilen 3.5 No'lu eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\text{Polimerik renk} = [(A_{\lambda_{\text{maks}}} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{420 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})] \times \text{SF} \quad (3.5)$$

- **Polimerik renk oranı**

Polimerik renk oranı; polimerik rengin, renk yoğunluğuna oranı olarak tanımlanmaktadır. Bu değer arttıkça, monomerik ACN'lerin parçalandığı ve esmer renkli pigmentlerin arttığı, kısaca doğal rengin bozulduğu anlaşılır. Bu değer, aşağıdaki eşitlikle hesaplanmıştır:

$$\text{Polimerik renk oranı (\%)} = \frac{\text{Polimerik renk}}{\text{Renk yoğunluğu}} \quad (3.6)$$

#### 3.2.4.4 Antosiyanin dağılımının belirlenmesi

Üzüm suyu ACN kompozisyonu, HPLC yöntemiyle üç aşamadan (saflaştırma, tanımlama ve hesaplama) oluşan bir uygulama sonunda belirlenmiş olup, bu aşamalar aşağıda açıklanmıştır.

##### *Saflaştırma*

Meyve suyu örneğinden, şeker ve organik asit gibi unsurların uzaklaştırılması amacıyla saflaştırma işlemi uygulanmıştır (Skrede vd. 2000). Saflaştırma işleminin ilk aşamasında C-18 Sep-Pak kolonlarındaki (Waters Co., Milford, MA, A.B.D.) dolgu maddesinin ACN'lerle reaksiyona girebilmesini sağlamak için şartlandırılma (conditioning) işlemi yapılmıştır. Bu işlemde kolondan sırasıyla; 5 mL etil asetat, 5 mL metanol (MeOH, %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş) ve son

olarak da 2 mL %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş su geçirilmiştir. Ekstraksiyona hazır hale getirilen kolona, saflaştırılacak bileşeni içeren 0.5 mL ekstrakt yüklenmiş ve daha sonra 2 mL asitlendirilmiş suyla elüe edilmiştir. Böylece bu elüsyon ile organik asitler ve şekerler ile suda çözünür nitelikteki diğer bileşikler gibi analizi interfere eden bileşikler uzaklaştırılırken, ACN'ler ve diğer polifenolik bileşikler kolon üzerinde sorbente bağlanmıştır. Eşdüze bir saflaştırma işlemi için saflaştırma düzeneğinden (manifold) (Waters Co.) yararlanılmıştır.

C-18 Sep-Pak kolonu, N<sub>2</sub> gazı akımında tutularak kalıntının kuruması sağlanarak, kurutulmuş kolon 2 ml %0.01 HCl içerecek şekilde asitlendirilmiş metanol ile yıkanarak ACN'leri içeren ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ACN fraksiyonu bir evaporasyon tüpüne alınarak, 35°C'deki bir su banyosuna yerleştirilip, bu fraksiyon N<sub>2</sub> gazı altında kurutulmuştur. Daha sonra evaporasyon tüpündeki kalıntı üzerine 2 mL asitlendirilmiş su eklenerek yeniden çözündürülmüştür. ACN'leri içeren bu çözelti 0.45 µm gözenek çapındaki PVDF (polyvinylidene fluoride) filtereden (Sartorius AG, Goettingen, Almanya) edilerek, HPLC'nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 2 mL'lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC'ye enjekte edilmiştir.

#### *Tanımlama ve hesaplama*

ACN'lerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında aşağıda özellikleri verilen HPLC cihazından yararlanılmıştır.

#### *Kromatografi koşulları*

**Kolon:** Ters faz (reverse phase) C18 kolonu (250 x 4.6 mm, 5 µm), (Waters, Bridge Columns, Wexford, İrlanda)

**Koruyucu kolon:** C18 koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm), (Phenomenex Inc. Los Angeles, CA, A.B.D.)

**Akış hızı:** 1 mL dak<sup>-1</sup>,

**Elüsyon süresi:** 35 dak.,

**Enjeksiyon hacmi:** 50 µL,

**Dalga boyu:** 520 nm,

**Hareketli faz (mobile phase):** Asetonitril (%100) (A) ile o-fosforik asit:asetikasit:asetonitril:su (1:10:5:84; v/v/v/v) (B) karışımı. Gradyent akış söz konusu olup, Skrede vd. (2000) tarafından önerilen, tarafımızca modifiye edilen elüsyon profili uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Kromatogramlarda elde edilen ACN pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Bunun yanında bu çalışmada 4 tane ticari olarak üretilen ACN standardı kullanılmıştır. Bunlar; malvidin-3-glikozit (mv-3-

glu), peonidin-3-glikozit (pn-3-glu), delfinidin-3-glikozit (dp-3-glu) ve siyanidin-3-glikozittir (cy-3-glu). Örnekteki ACN'lerin miktarı; standart maddelerinin her biri için oluşturulan en az 5 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğriden hesaplanmıştır. HPLC ile toplam ACN miktarının belirlenmesi, materyaldeki standardı olmayan piklerin alanları hesaplandıktan sonra, başat pike ait standart eğri esas alınmak suretiyle yapılmıştır (Yemiş vd. 2010).

Çizelge 3.1 Antosiyaninler için uygulanacak elüsyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	1	99
10	12	88
16	22	78
25	50	50
30	1	99
35	1	99

### 3.2.4.5 Fenolik dağılımın belirlenmesi

Üzüm suyunda bulunan fenolik maddelerin saflaştırma işlemi, “3.2.4.4. Antosiyanin dağılımının belirlenmesi” bölümünde açıklandığı gibi yapılmıştır. Bu işlemde farklı olarak sadece fenolik bileşikler kartuştan 5 mL etil asetat ile yıkanarak elüe edilmiştir.

#### Tanımlama ve hesaplama

Fenolik bileşiklerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında da “3.2.4.4. Antosiyanin dağılımının belirlenmesi” bölümünde özellikleri verilen HPLC cihazından yararlanılmıştır.

#### Kromatografi koşulları

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

**Koruyucu kolon:** C18 koruyucu kolonu (4 x 3 mm, 5 µm), (Phenomenex Inc.)

**Akış hızı:** 0.700 mL dak<sup>-1</sup>,

**Elüsyon süresi:** 85 dak.,

**Enjeksiyon hacmi:** 30 µL,

**Dalga boyu:** 280, 306, 320 ve 365 nm,

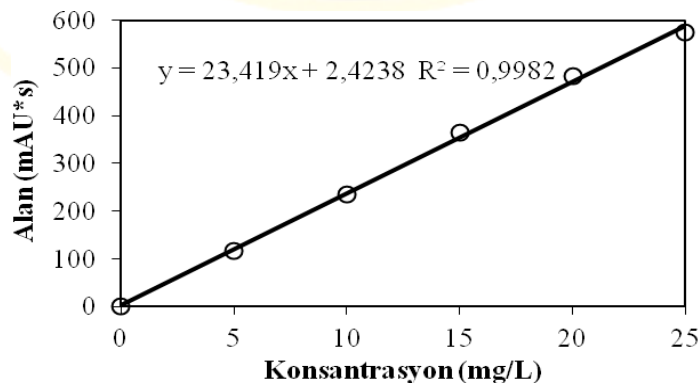
**Hareketli faz (mobile phase):** Asetonitril (%100) (A) ile formik asit: su (1:99 v/v) (B) karışımı.

Gradyent akış söz konusu olup, Skrede vd. (2000) tarafından önerilen, tarafımızca modifiye edilen elüsyon profili uygulanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Fenolik madde dağılımı için uygulanan elüsyon profili

Süre (dak.)	%A	%B
0	2.5	97.5
45	25	75
50	50	50
55	100	0
68	100	0
70	80	20
85	2.5	97.5

Kromatogramlarda elde edilen pikler, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan standart maddeler; kafeik asit (Sigma), vanilik asit (Fluka, Seelze, Almanya), klorojenik asit (Aldrich, St. Louis, MO, A.B.D.), ferulik asit (Fluka, Seelze, Almanya), (+)-kateşin (Sigma) ve (-)-epikateşindir (Sigma). Örnekteki “toplam fenolik madde miktarı” ile “bireysel fenolik maddelerin miktarı” epikateşine ait 5 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğriden (Şekil 3.3) hesaplanmıştır (Yemiş vd. 2010).



Şekil 3.3 Epikateşin standart eğrisi

### 3.2.4.6 Antioksidan aktivite tayini

ABTS (2,2'- azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)'in oksidasyonu ile üretilen ABTS<sup>•+</sup> radikal çözültisi üzerine, antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu radikalın indirgenmesi temeline dayanmaktadır. Mavi/yeşil renkli ABTS<sup>•+</sup> radikali, antioksidan bir bileşik ile reaksiyona girdiğinde radikal, ABTS'nin renksiz formuna çevrilmiştir. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS<sup>•+</sup> miktarı ise, troloks (sentetik bir antioksidan) eşdeğeri olarak hesaplanmakta ve sonuç "TEAC değeri" (Trolox equivalent antioksidant capacity) olarak ifade edilmektedir. Eğer örnekte, antioksidant aktiviteye sahip bileşik varsa, radikal çözültisinin rengi gittikçe açılacak ve okunan absorbans değerleri zamana bağlı olarak gittikçe düşecektir (Kırca ve Özkan 2010).

Örneğe ait olan eğrinin eğimi, troloks ile hazırlanmış olan standart eğrinin eğimine oranlanarak örneğin TEAC değeri hesaplanmıştır. Bu hesaplamada, örneğe ait seyreltme faktörü de dikkate alınmıştır.

### 3.3 İstatistik Değerlendirme

Farklı durultma yardımcı maddeleri ve kombinasyonları ile yapılan üzüm suyu durultma işlemleri, üzüm suyunun fiziksel ve kimyasal özellikleri için, her durultma uygulaması sonunda elde edilen veriler iki tekerrürlü faktöriyel düzende varyans analiz tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonucuna göre, gerekli olduğu durumda Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak faktörlerin hangi seviyeleri arasındaki farklılığın önemli olduğu araştırılmıştır. İstatistik analizler için "Minitab for Windows (ver. 15.1)" ve "MSTAT" paket programları kullanılmıştır.

#### 4. ANALİZ ve BULGULAR

##### 4.1 Durultma Sonrası Bulanıklık Değerleri ve Fenolik Dağılımının Bulanıklık Üzerine Etkisi

Üzüm suyu durultma denemesinde kullanılacak olan esas dozlar, bentonit için 0.2 g/L, diğer durultma yardımcı maddelerinin (kitosan, kazein ve albumin) hepsi için 0.05 g/L olarak belirlenmiştir. Bu dozlar ile esas durultma denemesi 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Durultma işlemi sonrasında üzüm suyunun bulanıklık düzeyindeki değişimler çizelge 4.1’te verilmiştir.

Bilindiği gibi, üzüm sularında bulanıklık oluşturan temel unsurlar; protein ve polifenollerdir. Şekil 4.1’de de görüldüğü gibi, durultma sonucu ulaşılan bulanıklık düzeyleri ile fenolik madde miktarı arasında yüksek korelasyon ( $r=0.9396$ ) bulunmaktadır.

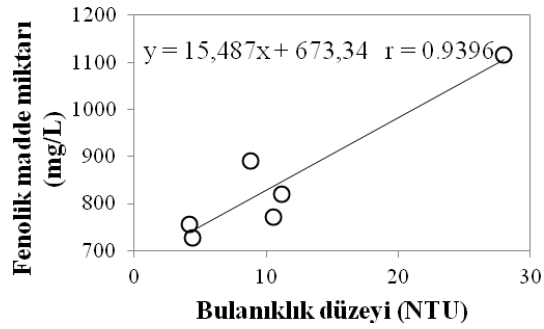
Çizelge 4.1 Durultma işleminin bulanıklık düzeyi üzerine etkisi\*

	Kombinasyon	Bulanıklık düzeyi (NTU)
<i>Durultulmamış</i>		
Kontrol	–	28.0±5.66 A**
<i>Durultulmuş</i>		
0.2 g/L Bentonit	–	5.7±0.14 B
0.05 g/L Kitosan	–	11.2±5.45 B
0 2 g/L Bentonit	0.05 g/L Jelatin	8.8±1.70 B
	0.05 g/L Kazein	4.2±1.49 B
	0.05 g/L Albumin	4.4±0.78 B
	0.05 g/L Kitosan	10.5±2.12 B

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

\*\*Değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $p<0.01$ )





Şekil 4.1 Bulanıklık düzeyi ve fenolik madde miktarları arasında görülen doğrusal ilişki

Çizelge 4.1 incelendiğinde, en iyi bulanıklık düzeyine ulaşılan durultma uygulamalarının, “bentonit”, “bentonit+jelatin”, “bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” kombinasyonları olduğu görülmektedir. En yüksek bulanıklık düzeyine ise, “kitosan” ve “bentonit+kitosan” kombinasyonu ile ulaşılmıştır. Örneklerin bulanıklık değerleri arasındaki bu farkın, kullanılan durultma yardımcı maddelerinin farklı fenolik grupları üzerine daha etkili olmasının yanında bunların göstermiş oldukları esterleşme reaksiyonlarının da farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle, “durultma sonucu ulaşılan bulanıklık düzeyi” ile örneklerin içerdiği “bireysel fenoliklerin miktarı” arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, çalışmamızda örneklerin fenolik madde içerikleri ve dağılımı HPLC yöntemi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).

Kalecik Karası üzüm ham sularının toplam fenolik madde miktarı 1117 mg/L’dir. Bu örnekteki başat fenolik maddenin epikateşin olduğu bunu sırasıyla, pirokateşol, ferulik asit, kafeik asit, vanilik asit, kateşin ve klorojenik asidin izlediği ortaya konulmuştur. Diğer üzüm çeşitlerinde olduğu gibi Kalecik Karası üzümlerde de başat olarak bulunan flavan-3-ol’ler kateşin ve epikateşin olarak saptanmıştır (Yılmaz ve Toledo 2004, Iacopini vd. 2008). Bu iki fenolik maddenin bulunma oranları çeşide bağlı olarak değişmektedir. Nitekim Kalecik Karası üzüm suyunda, toplam fenolik madde içeriğinde epikateşin oranı %31 iken, bu oran kateşin için sadece %1’dir. Kalecik Karası üzüm suyu örneklerinde en yüksek miktarda bulunan fenolik asit ise, ferulik asittir (213–252 mg/L).

Durultma yardımcı maddelerinin fenolik dağılımı ve miktarı üzerine etkisi incelendiğinde, durultma sonunda örneklerin içerdiği toplam fenolik madde miktarları ile fenolik dağılımları arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir ( $p < 0.01$ ). Beklendiği gibi, en yüksek toplam fenolik madde içeriği “kontrol” grubunda saptanmıştır. Durultma sonunda ise, en yüksek toplam fenolik madde miktarı “bentonit” ile durultulan örnekte; en düşük değer ise “bentonit+albumin” ile durultulan örnekte belirlenmiştir.

“Bentonit” kullanılarak yapılan durultma sonucunda, toplam fenolik madde miktarında önemli azalma olmamasının nedeni; bentonitin berrak meyve suyu üretiminde esas olarak proteinleri uzaklaştırmasıdır. Ancak, bentonitlerin bazı polifenollerini absorbe ettikleri de bildirilmektedir (Gomez-Plaza vd. 2000). Örneğin, yapılan fenolik dağılım analizi sonunda, bentonitin kafeik asidi yüksek oranda uzaklaştırdığı (%26), ancak diğer fenolikler üzerine etkili olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte, en düşük toplam fenolik madde miktarı, iki farklı durultma maddesinin bir arada kullanıldığı (“bentonit+kazein”, “bentonit+albumin” ve “bentonit+kitosan”) uygulamalar sonunda belirlenmiştir. Ancak, “bentonit+kitosan” uygulaması ile meydana gelen azalmanın, “bentonit” uygulamasına eşdeğer olduğu yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sayesinde ortaya konulmuştur. Özetle, fenolik madde miktarında en yüksek azalmaya, %29 ve 32 oranları ile “bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” uygulamaları neden olmuştur. Ayrıca, en düşük bulanık düzeyleri de yine bu örneklerle aittir (4.2–4.4 NTU).

Çizelge 4.2 Farklı durultma yardımcı maddeleri ve kombinasyonları ile durultulan üzüm sularının fenolik madde miktarında \* görülen değişim

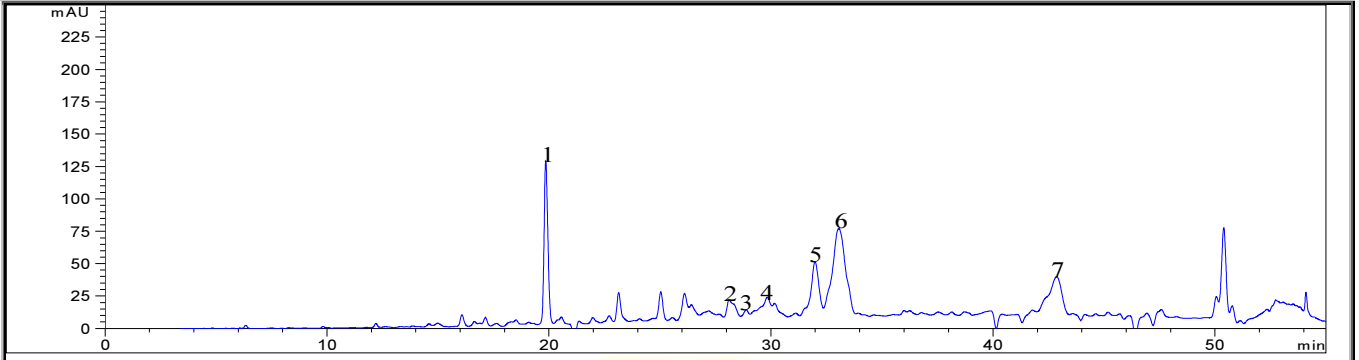
Kombinasyon	Fenolik madde miktarı (mg/L)**	Azalma(%)
<i>Durultulmamış</i>		
Kontrol	– 1116.6±14.7 A***	–
<i>Durultulmuş</i>		
0.2 g/L Bentonit	– 1062.0±17.8 AB	5
0.05 g/L Kitosan	– 820.7±72.3 BC	26
0.2 g/L bentonit	0.05 g/L Jelatin 890.9±14.9 ABC	16
	0.05 g/L Kazein 755.0±13.1 C	29
	0.05 g/L Albumin 726.2±26.1	32
	0.05 g/L Kitosan 770.5±46.5 BC	27

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

\*\*Çizelge’de verilen fenolik madde miktarı “epikateşin” cinsinden hesaplanmıştır.

\*\*\*Değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01)

“Bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” kullanılarak yapılan durultmanın fenolik dağılımı üzerine etkisi incelendiğinde ise; kazeinin en çok (%51) kateşin üzerine etki ettiği görülmektedir. Bu durum, “prolyl” ünitesi oranı %20 olan kazeinin durultmada polifenollerini etkin bir şekilde uzaklaştırmasından kaynaklandığını göstermektedir.



Şekil 4.2 Üzüm suyundaki fenolik maddelerin HPLC kromatogramı

1.Pirokateşol, 2. Kateşin, 3. Klorojenik asit, 4. Vanilik asit,  
5. Kafeik asit, 6. Epikateşin 7. Ferulik asit

Bilindiği gibi, çalışmamızda bentonit ile birlikte kullanılan “kazein” ve “albümin” protein yapısındadır. Yapılan çalışmalarda, protein-polifenol interaksiyonun iki faktöre bağlı olduğu belirtilmektedir. Bunlar;

- 1)“Binding affinity” olarak adlandırılan ve hidrojen bağı yardımıyla gerçekleşen bağ yapma kapasitesinin yüksekliği,
- 2) Bu bileşiklerin içerdiği hidrofobik yapıların oranıdır.

Protein kaynaklı durultma yardımcı maddelerinin “prolyl” ünite oranı arttıkça, yani prolin oranı arttıkça, proteinlerin hidrobik özelliklerinin de arttığı ve flavan-3-ol’lerin (kateşin, epikateşin) hidrofobik üniteleri ile daha kolay etkileşime girdiği saptanmıştır (He vd. 2006). Bununla birlikte, “prolyl” ünite oranı sadece %4 olmasına rağmen albuminde meyve suyu bulanıklığının önemli düzeyde azalmasına neden olmuştur (4.2 NTU). Bunun nedeni, bu durultma yardımcı maddesinin etki mekanizmasının, hidrofobik etkileşimden çok, hidrojen bağı uygunluğuna bağlı olmasıdır (He vd. 2006). Yapılan fenolik dağılım analizi sonucunda, albuminin %54, 48 ve 36 düzeyinde kateşin, klorojenik asit ve epikateşini etkin bir şekilde uzaklaştırdığı belirlenmiştir.

Protein bazlı diğer bir durultma yardımcı maddesi olan jelatinin “prolyl” ünitesi oranı ise %16.8’dir. Buna rağmen; jelatin, durultma işlemi sonrasında üzüm sularının fenolik madde içeriğinde, kazein ve albumine göre daha düşük seviyede (%16) azalmaya neden olmuştur. Yapılan araştırmalarda, “haze aktif” özelliğe sahip olan polifenollerin, proteinler ile interaksiyona girmesinin bazı koşullara bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin, bir protein olan ve haze-aktif özellikteki prolini yüksek oranda içeren jelatin ile epigallokateşinin interaksiyona girmediği; epigallokateşin gallat’ın ise, jelatin ile güçlü bağ oluşturduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, jelatinin polifenoller ile kompleks oluşturması için polifenollerin molekül ağırlığının 500 Da’dan büyük olması gerekmektedir (Turfan vd. 2011). Yapılan bir çalışmada,

yumurta albumini, monomer flavan-3-ol'lerden kateşin ve epikateşin (290 Da) miktarında sırasıyla, %72 ve 73 oranında azalmaya neden olurken, bu değerlerin jelatin için, %0 ve 3 olduğu belirlenmiştir (Balık vd. 2007).

Protein yapısındaki durultma yardımcı maddelerinden (kazein, albumin ve jelatin) farklı olarak, kitosan uygulamaları ile ulaşılan bulanıklık düzeyleri ise, çok daha yüksektir (Çizelge 4.1). Bir polisakkarit olan kitosan, pozitif yükü ile, iyonik bağ ve bunun yanında hidrojen köprüsü yardımıyla polifenollere etki etmektedir (Kurtbay vd. 2008, Quintela vd. 2012). Gallik asit ve türevlerinden meydana gelen gallotanenin, protein, fosfolipit ve şeker gibi gıda bileşenleri ile oluşturdukları komplekslerin hangi faktörlere bağlı olduğunu belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, “gallotanenin ile polisakkaritlerin bağlanma kapasitesi”nin, “gallotanenin ile proteinlerin bağlanma kapasitesi”nden daha düşük seviyede olduğu saptanmıştır (He vd. 2006). Buna ek olarak, bulanıklık açısından önemli olan ve gallik asit ve türevlerinin oluşturduğu, hidrolize olabilen tanenin, galloyl esterleri arttıkça proteinlerle bağlanma kapasitenin arttığı belirtilmektedir (Poncet-Legrand vd. 2006). Bunun nedeni, galloyl esterleri artan polifenollerin çözünürlüklerinin düşmesi sonucu hidrofobik yapı oluşturması ve bunun sonucu olarak proteinlerin alifatik grubunda bulunan hidrofobik yapılar ile daha iyi bağ yapabilmesi olarak açıklanmaktadır (He vd. 2006). Ancak hidrofobik özelliği artan bu polifenollerin, hidrofil niteliği olan polisakkaritler ile, dolayısıyla kitosan ile, bağlanma kapasitesi de aynı şekilde azalmaktadır. Çalışmamızda yapılan fenolik dağılım analizi sonucuna göre, hidrofilik yapıdaki kitosan durultma yardımcı maddesi, hidrofobik yapı içeren kateşin, epikateşin gibi (Adams 2006) fenolikleri az miktarda uzaklaştırabilirken, bir sinamik asit olan kafeik asidi yüksek oranda uzaklaştırmıştır (%43).

## **4.2 Durultmanın Üzüm Suyu Renk Özellikleri Üzerine Etkisi**

Durultma işleminin üzüm suyu rengi üzerine etkisini incelemek amacıyla, toplam monomerik ACN tayini, ACN dağılım analizi (HPLC yöntemi ile) polimerik renk ile reflektans renk analizleri, durultma işlemi yapılmamış kontrol örneğinde ve her durultma işleminden sonra durultulmuş örneklerde yapılmıştır. Analiz sonuçlarını takip eden bölümde, başlıklar halinde verilmiştir.

### **4.2.1 Toplam monomerik antosiyanin miktarları**

Durultulmamış (kontrol) ve durultma yardımcı maddeleri ile berraklaştırılmış örneklerin toplam monomerik ACN tayini sonuçları çizelge 4.3'te verilmektedir.

Çizelge 4.3 Farklı durultma yardımcı maddeleri ve kombinasyonları ile durultulan üzüm suyunun toplam monomerik ACN miktarları \*

Kombinasyon		Toplam monomerik ACN (mg/L)**	
<i>Durultulmamış</i>			
Kontrol		233±3.75	A***
<i>Durultulmuş</i>			
0.2 g/L Bentonit	–	220±0.14	BC
0.05 g/L Kitosan	–	205±1.70	E
0.2 g/L bentonit	0.05 g/L Jelatin	219±2.69	BC
	0.05 g/L Kazein	223±0.14	B
	0.05 g/L Albumin	215±0.21	CD
	0.05 g/L Kitosan	208±1.48	DE

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

\*\*Toplam monomerik ACN miktarları, mv-3-glu cinsinden hesaplanmıştır.

\*\*\*Değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

Bentonit ile durultma işleminden sonra, ACN miktarı %6 oranında azalmıştır. Bentonit, durultmada proteinleri adsorbe etme özelliğinden dolayı, meyve suları veya şarap gibi alkollü içeceklerde protein stabilizasyonu için kullanılmaktadır. Ancak, bunun yanında bentonit, aynı zamanda elektrostatik yük taşıması nedeniyle de önemlidir. Bilindiği üzere, bentonit negatif yüklü olup, bu özelliği nedeni ile, “bluefining” olarak da bilinen yöntemle, demir ve bakır gibi metalleri uzaklaştırmak için kullanılabilen bir durultma yardımcı maddesidir. Bu olumlu etkilerinden farklı olarak, bentonit, aynı zamanda pozitif yüklü ACN’lerle, negatif yükleri sayesinde, interaksiyona girip, ACN’lerin ortamdan uzaklaşmasına neden olabilmektedirler (Gómez-Plaza vd. 2000, Ribéreau-Gayon vd. 2006). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile paralel olarak, Pinot-Noir üzüm çeşidinden üretilmiş, 6 ay olgunlaştırılmış kırmızı şarapların, 0.3, 0.6 ve 1 g/L dozlarında bentonit ile durultulması sonucunda, toplam ACN miktarında %14–23 düzeyinde azalma gözlemlenmiştir (Stankovic vd. 2012).

Sadece kitosan kullanılarak durultulan üzüm sularında, toplam monomerik ACN miktarında, çalışmamızda görülen en yüksek azalma (%12) belirlenmiştir. Son yıllarda yapılan çeşitli araştırmalarda, kitosanın, güçlü pozitif yük taşıdığı, asit bağlayıcı özellikte ve koloidal-dispers partiküllerin uzaklaştırılmasında etkili olduğu görülmüştür. Kitosanın, sıvılardaki katı partikülleri yapıyı sararak çöktürebilme niteliğine sahip olması, meyve sularında, etkili bir durultma yardımcı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir (No vd. 2007). Üzüm suyunun kitosan ile durultulması

sonucunda, berrak (11 NTU) bir meyve suyu elde edilmiştir. Ancak çalışmamızda kullanılan diğer durultma yardımcı maddelerine göre, kitosanın ACN'ler üzerine olumsuz etkisi daha fazla olmuştur. Kitosanın, çeşitli etki mekanizmaları bulunmaktadır. Bunların başında içerdiği pozitif yük sayesinde, negatif yüklü bileşiklere iyonik bağ ile bağlanarak etki etmesidir. Ancak, bunun yanında kitosanın, hidrojen köprüsü (bağı) veya Van-der waals bağı yardımıyla bileşikleri adsorbe etme yeteneği de bulunmaktadır (Kurtbay vd. 2008, Quintela vd. 2012). Bu duruma örnek olarak, protein gibi pozitif yüklü bileşiklerin, kitosan ile durultma işleminden sonra azalması verilebilir. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, nar suları 0.5 g/L kitosan ile soğuk durultma tekniği kullanılarak berraklaştırılmış ve bu işlem sonucunda monomerik ACN miktarında %12 oranında azalma saptanmıştır (Koç 2013).

Jelatin, kazein, albumin ve kitosanın, ACN miktarı üzerine etkisi belirlenirken, bu durultma yardımcı maddeleri bentonit ile birlikte kullanıldığı için, kontrol olarak, sadece bentonit ile durultulan üzüm suyu dikkate alınmıştır. Buna göre, uygulamalar sonucunda, kazein ve jelatin ile durultulan örneklerin ACN miktarı ile bentonit örneği arasındaki fark gözlemlenmemiştir. Albumin ise, ACN miktarında %2 düzeyinde bir azalmaya neden olsa da, bu farkın kontrol örneğine eşdeğer olduğu belirlenmiştir ( $p>0.01$ ). Buna karşın, "bentonit+kitosan" kombinasyonu ile bentonit örneği arasında görülen farkın (%10.5) tesadüften ileri gelmediği, bu farkın istatistiksel olarak önemli derecede olduğu bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Fang vd. (2007) yaptıkları çalışmada, bayberry meyve suyu rengi ve fenolik madde içeriği üzerine, durultma işleminin etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, "ksantan gam (0.3 g/L) + kitosan (0.1 g/L)" kombinasyonları ile durultulan bayberry sularında, toplam monomerik ACN miktarının %11 oranında azaldığı gözlemlenmiştir.

#### **4.2.2 Antosiyanin dağılım ve miktar analiz sonuçları**

Durultma yardımcı maddelerinin ACN'ler üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla, toplam monomerik ACN miktarı yanında, HPLC yöntemi ile de ACN analizi yapılmıştır. Üzüm suyunda hakim olan ACN'in malvidin-3-glikozit olmasından dolayı, kromatogramlarda elde edilen piklerin alanları toplanarak, "toplam ACN miktarı" "mv-3-glu" olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.4'de HPLC yöntemi ile belirlenen toplam ACN miktarı ile, farklı durultma yardımcı maddeleri ile yapılan durultma sonucunda bu ACN'lerdeki değişimler verilmektedir.

Durultulmuş üzüm suyu örneklerinin toplam ACN miktarı için yapılan varyans analiz sonuçlarına göre,

durultma yardımcı maddelerinin arasındaki farkın, istatistik olarak önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Bu nedenle; elde edilen verilere

Çizelge 4.4 Farklı durultma yardımcı maddeleri ve kombinasyonları ile durultulan üzüm suyunun ACN miktarları\*

Kombinasyon		ACN miktarı (mg/L)	
<i>Durultulmamış</i>			
Kontrol	–	357±1.91	A**
<i>Durultulmuş</i>			
0.2 g/L Bentonit	–	332±19.7	AB
0.05 g/L Kitosan	–	240±3.32	C
0.2 g/L bentonit	0.05 g/L Jelatin	267±7.28	C
	0.05 g/L Kazein	333±1.13	AB
	0.05 g/L Albumin	314±1.34	B
	0.05 g/L Kitosan	247±4.81	C

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

\*\*Değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.01).

Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve kontrol örneği ile bentonit arasında görülen farkın önemli düzeyde olmadığı, buna karşın kitosan ile durultulan örnek ile kontrol örneklerinin birbirlerinden önemli seviyede farklı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Bunun yanında, bentonit ile durultulan örnek ile, “bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” kombinasyonları ile durultulan örnekler arasında fark bulunmazken, “bentonit+jelatin” ve “bentonit+kitosan” kombinasyonları ile durultulan örnekler arasındaki farkın önemli olduğu görülmüştür.

Jelatin, meyve suyu ve şarap gibi alkollü içeceklerde, bulanıklığa neden olan polifenollerin uzaklaştırılması için kullanılmaktadır. Daha öncede değinildiği üzere, jelatin yüksek moleküllü polifenollere etkili olup, özellikle polifenollerin polimerizasyon etkisi arttıkça, jelatinle interaksiyona girerek uzaklaşma olasılığı da artmaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2009). Jelatin, meyve suyu pH aralığında pozitif yüklü olup, negatif yüklü polifenollerle, iyonik bağ yardımıyla etkileşime girmekte ve flok oluşturmaktadır. Oluşan bu floklar büyüdükçe, yer çekimi ile çökelmektedir. İşte oluşan bu floklar sürüklenirken, bir kısım ACN’i de beraberlerinde sürükleyerek, ortamdaki uzaklaşmasını sağlamaktadır. Floklar büyüdükçe, sürüklenen ACN miktarı, yani kayba uğrayan ACN miktarı da artmaktadır (Turfan vd. 2011,

Türkyılmaz vd. 2012). Kısaca jelatin, ACN'lere doğrudan olmasa da, dolaylı olarak etki etmektedir.

Çalışmamızda, "bentonit+jelatin" kombinasyonu ile durultulan üzüm sularının ACN miktarında, sadece bentonit ile durultulan örneğe göre, %20 oranında daha fazla azalma meydana gelmiştir. Buna karşın, bentonitin, kazein ve albumin ile olan kombinasyonunda bu düzeyde (%0.067–0.12) bir azalma gözlemlenmemiştir. Bunun, jelatinin oluşturduğu flokların, diğer protein bazlı durultma yardımcı maddelerine göre daha büyük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim üzüm suyunda bulunan polifenollerin, özellikle flavan-3-ol'lerin, büyük kısmı polimerik yapıda olup (Fuleki vd. 2003, Monagas vd. 2003, Harbertson vd. 2003), jelatinle güçlü bir interaksiyona girerek, büyük floklar oluşturabilmektedir (Poncet- Legrand vd. 2006).

Turfan vd. (2011), iki farklı proses ile üretilen nar suyunun (danelenmiş narın preslenmesi ve bütün meyvenin preslenmesi ile), ACN içeriklerinin, üretim prosesinden nasıl etkilediğini, HPLC yöntemi ile yaptıkları ACN analizi ile ortaya koymuşlardır. Çalışmada, durultma aşamasında nar suları, 0.4 g/L (daneden üretilen meyve suyu), 2 g/L (bütün meyveden üretilen meyve suyu) dozlarında jelatin ile berraklaştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda durultma işleminin, danelenmiş nar suyunun ACN miktarında %4 düzeyinde azalmaya neden olduğu, buna karşı bütün meyveden üretilmiş meyve suyunda ACN kaybının %19 düzeyine ulaştığı saptanmıştır. Kabukları ile preslenerek üretilen nar suyunun polifenol içeriği, diğer nar suyuna göre yüksek olup, aynı zamanda bu meyve suyunun içerdiği fenolik bileşiklerin molekül ağırlığı da aynı şekilde yüksektir. Bu nedenle, bütün meyveden üretilen meyve suyunun durultmasında jelatin, daha büyük floklar oluşturmuş ve bunun sonucunda da daha yüksek miktarda ACN'in sürüklenmesine neden olmuştur (Turfan vd. 2011).

Durultmada kullanılan jelatin kombinasyonu, ACN miktarında yüksek düzeyde azalmaya neden olurken, albumin ve kazein durultma yardımcı maddelerinin etki mekanizması, jelatin ile aynı olmasına rağmen, albumin ve kazein bu düzeyde azalmaya neden olmamıştır. Yapılan çalışmalarda albuminin, yüksek düzeyde polimerize olmuş tanenler üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Sarni-Machado vd. 1997, Ribéreau-Gayon vd. 2006). Ancak son yıllarda yapılan araştırmalarda, albuminin aynı zamanda, flavan-3-ol'lerin monomerlerinden olan kateşin ve de epikateşin ile de güçlü interaksiyonlar gerçekleştirdiği görülmüştür.

Puškaš ve Miljić (2012) yaptıkları çalışmada, şarap üretim tekniğinin, Cabernet Sauvignon kırmızı şarabının, fenolik madde ve renk içeriklerine olan etkilerini incelemişlerdir. Araştırmada, durultma işlemi 0.2 g/L albumin ve 0.2 g/L jelatin ile gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonunda, albumin, flavan-3-ol'lerde %56 azalmaya neden olurken, kateşin miktarında %28, epikateşin miktarında ise, %30



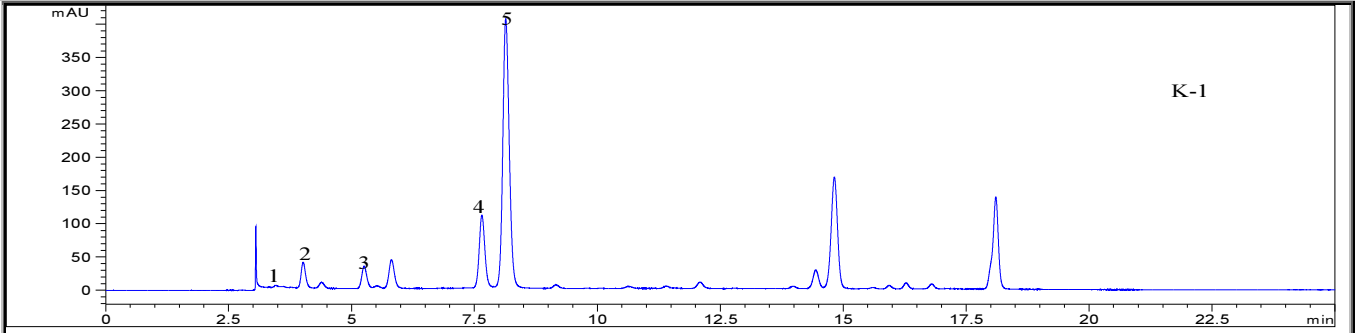
düzeyinde azalma görülmüştür. Bunun yanında, albumin ile durultmada, ACN miktarında %11 düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Jelatin ise, ACN miktarında %30 düzeyinde azalmaya neden olmuştur. Bu araştırma sonucunda, jelatinin, albuminin oluşturduğu floktan daha büyük floklar oluşturarak daha fazla ACN sürüklediği iddia edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada ise, yumurta albümini; kateşin ve epikateşin miktarlarında sırasıyla, %72 ve 73 oranında azalmaya neden olurken, bu değerler jelatin için, %0 ve 3 olduğu belirlenmiştir (Balık vd. 2007). Bu araştırma sonuçlarına göre, jelatin yüksek molekül ağırlıklı polifenollere bağlanabilirken, albumin molekül ağırlığı az, monomer yapıdaki polifenollere bağlanarak, daha küçük floklar oluşturduğu sonucu çıkarılmaktadır. Albumin gibi protein bazlı olan kazeinin de ACN'lerde azalma meydana getirmemesinin nedeni olarak, aynı şekilde oluşturduğu flok boyutlarının küçük olması olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda sadece kitosan ile durultulan örnekteki ACN miktarında durultma işlemi yapılmamış kontrol örneğine göre %38 oranında azalma görülürken, "bentonit+kitosan" kombinasyonunda, bentonit örneğine göre, %26 oranında azalma meydana gelmiştir. Laboratuvarımızda yapılan, nar sularının fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine durultma işleminin etkisinin incelendiği bir çalışmada, nar suları, soğuk durultma tekniği uygulanarak, 0.5 g/L dozunda kitosan ile berraklaştırılmıştır. Kitosan ile durultulan nar sularında, HPLC yöntemi ile belirlenen ACN miktarında, başlangıç örneğine göre, %15 oranında azalma saptanmıştır (Koç 2013).

Aşağıda verilen şekil 4.3'te üzüm suyuna ait ACN dağılım kromatogramı verilmiştir. Kromatogramda verilen piklerden 5 tanesi, ticari olarak üretilen standart maddeler yardımıyla tanımlanmıştır. Şekil 4.3'de belirlenmiş olan ACN pikleri sırasıyla; cy-3,5-diglu, cy-3-glu, dp-3-glu, pn-3-glu ve mv-3-glu olduğu belirlenmiştir. Tanımlanmayan diğer piklerin ise, pt-3-glu ve üzümde bulunan tüm bu ACN'lerin *p*-kumarik ve kafeik asitle açillenmiş formları olabileceği düşünülmektedir (Garía-Beneytez vd. 2003).

Durultulmuş üzüm suyu örneklerinin çeşitli ACN miktarları için yapılan varyans analizler sonuçlarına göre, durultma yardımcı maddelerinin arasındaki farkın, istatistik olarak önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Bu nedenle; elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve örnekler arasında, sadece kitosan ve bentonitin kontrol örneğinden farklı olduğu görülmüştür. Ayrıca, kitosan ve jelatinin, bentonit ile olan kombinasyonu, bentonit örneğinden farklı iken, diğer kombinasyon örneklerinde fark görülmemiştir.



Şekil 4.3 Üzüm suyundaki ACN'lerin HPLC kromatogramı (520 nm)  
1.Cy-3,5-diglu, 2. Cy-3-glu, 3. Dp-3-glu, 4. Pn-3-glu, 5. Mv-3-glu

Toplam ACN miktarının %57'si, "mv-3-glu" ten oluşmaktadır. Mv-3-glu'ü, %10 oranında pay ile pn-3-glu takip etmektedir. Kırmızı üzümelerde yapılan diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Bu çalışmalarda kırmızı üzümün başat ACN'in mv-3-glu (%60–67) olduğu belirtilirken, bunu pn-3-glu'in (%9–10) izlediği ortaya konulmuştur (Castillo-Sánchez vd. 2008).

#### 4.2.3 Spektrofotometrik ve HPLC yöntemleri ile yapılan toplam monomerik antosiyanin analizlerinin karşılaştırılması

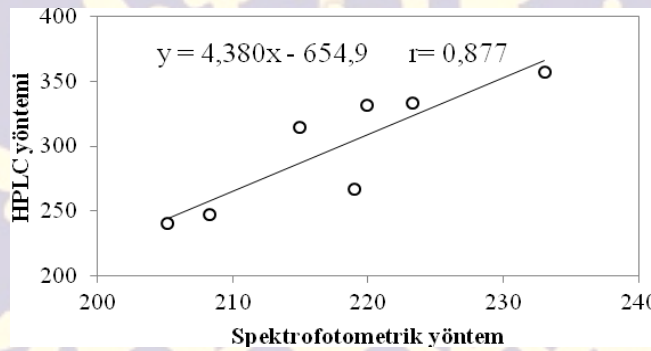
Çalışmamızda, durultmanın ACN'ler üzerine etkisini belirlemek amacıyla, iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler, spektrofotometrik (pH-differansiyel) ve HPLC yöntemleridir. pH-differansiyel yöntemi; basit, hızlı ve de aynı zamanda duyarlı bir yöntem olarak tanımlanmaktadır. HPLC yönteminde ise, ters faz kromatografisi ile, PDA dedektör sayesinde, ACN'ler, polarite farklarından yararlanarak, bireysel olarak ayrılabilen ve standartlar yardımıyla her bir ACN ayrı ayrı tanımlanabilmektedir (Lee vd. 2008).

Birçok araştırmacı daha yüksek ACN miktarı elde edilmesi ve ACN analizini interfere eden polimerik pigmentlerin HPLC ile elde edilen sonuçlara etkisinin bulunmaması nedenleriyle, HPLC yöntemini daha güvenilir bulmaktadır (Sánchez-Moreno vd. 2003, Wu vd. 2006). Çalışmamızda da, iki yöntem arasında yüksek fark bulunmuş olup, HPLC yöntemi ile daha fazla ACN miktarı hesaplanmıştır. Nitekim kontrol örneği ile kıyaslandığında, iki yöntem arasında %35'lik bir fark görülmektedir.

Lee vd. (2008), yaptıkları çalışmada, bu iki yöntemi karşılaştırmak için, ticari olarak üretilen çeşitli kırmızı meyve sularında (nar, yabanmersini, üzüm suyu vb.) toplam monomerik ACN miktarlarını belirlemiştir. Çalışma sonucunda, HPLC yöntemi ile analiz edilen örneklerin ACN miktarlarının çok daha yüksek olduğu gözlemlenirken, üzüm sularında iki yöntem arasında, %78 oranında fark bulunmuştur. İki yöntem arasındaki farkın, yöntemlerde kullanılan çözümlerin farklı olmasından

kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Lee vd. 2002, Lee ve Finn 2007).

Şekil 4.4’de, iki yöntem arasındaki korelasyon grafiği verilmiştir. Bilindiği gibi, korelasyon, iki değişken arasındaki doğrusal ilişkinin yönünü ve gücünü belirtir ve +1 ile -1 arasında değişir. İncelenen iki değişken arasında bulunan korelasyon katsayısı (r) 0.5-1 arasında ise, bu durum, iki değişken arasında korelasyon olduğunu gösterir. Buna göre, araştırmamızda ACN’leri belirlemek için kullandığımız iki yöntem arasında yüksek korelasyon olduğu görülmektedir (r=0.877). Benzer olarak, bu iki yöntemi karşılaştırmak için yapılan bir çalışmada kırmızı üzüm suyu kullanılmış ve iki yöntem arasındaki “r” değerinin 0.948 olduğu belirlenmiştir (Lee vd. 2008). Amerika kökenli “elderberry” ve Avrupa kökenli “elderberry” meyvelerinin içerdikleri ACN’lerin incelendiği bir çalışmada, ACN analizi spektrofotometrik pH-differansiyel ve HPLC yöntemi ile gerçekleştirilmiş ve bu iki yöntem arasındaki “r” değerinin, 0.98 olduğu belirtilmiştir (Lee ve Finn 2007).



Şekil 4.4 Spektrofotometrik ve HPLC yöntemleri ile belirlenen ACN miktarları arasındaki doğrusal ilişki

#### 4.2.4 Polimerik renk değerleri

Kontrol örnekleri ve durultulmuş üzüm sularında, polimerik renk ve polimerik renk oranları belirlenmiş ve sonuçlar, Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Durultulmuş üzüm suyu örneklerinin polimerik renk ve polimerik renk oranı değerleri için yapılan varyans analizleri sonuçlarına göre, polimerik renk açısından durultma yardımcı maddelerinin arasında görülen farkın kontrol örneğine eşdeğer olduğu saptanırken ( $p > 0.01$ ), polimerik renk oranı değerleri arasındaki farkın istatistik olarak önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.01$ ). Bu nedenle; elde edilen verilere Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve kontrol örnekleri ile durultma uygulanmış örnekler arasında görülen farkın önemli düzeyde olmadığı, tespit edilen farkın ise, “bentonit+jelatin” ile “bentonit+albumin” uygulamaları arasındaki farktan kaynaklandığı belirlenmiştir

(Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Farklı durultma yardımcı maddeleri ve kombinasyonları ile durultulan üzüm suyunun polimerik renk değeri ve oranı \*

	Kombinasyon	Polimerik renk (Abs)	Polimerik renk oranı (%)
<i>Durultulmamış</i>			
Kontrol	–	1.29±0.02	30±0.71AB**
<i>Durultulmuş</i>			
0.2 g/L Bentonit	–	1.28±0.1	30±0.64AB
0.05 g/L Kitosan	–	1.32±0.03	31±0.14A
0.2 g/L bentonit	0.05 g/L Jelatin	1.21±0.04	28±0.7 B
	0.05 g/L Kazein	1.22±0.03	30±0.35 AB
	0.05 g/L Albumin	1.38±0.02	31±0 A
	0.05 g/L Kitosan	1.31±0.03	31±0 A

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

\*\*Değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark, önemlidir (p<0.01).

Durultma uygulamaları sonunda görülen en düşük polimerik renk oranı, bentonit-jelatin kombinasyonu ile durultulan örnekte saptanmıştır. Jelatin ile durultma işlemi sonucunda polimerik renk oranı azalışının, durultma işlemi sırasında meyve suyundan esmer renkli bileşiklerin uzaklaşması nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir. Türkyılmaz vd. (2012), siyah havuç suyunda, toplam monomerik ACN ve polimerik renk oranı üzerine, pastörizasyon ve durultmanın (bentonit 0.715 g/L–jelatin 7.5 mL/L–kizelsol 2.6 mL/L) etkisini incelemiştir. Araştırma sonucunda, durultma işleminden sonra polimerik renk oranının önemli derecede azaldığı görülmüştür.

Polimerik renk oranının, bazı ürünler hariç, hiçbir işlem görmemiş meyve sularında %10 değerine yakın olması gerektiği belirtilmektedir (Cemeroğlu vd. 2010). Polimerik renk oranının artması, bir yandan ACN'lerin parçalandığını, diğer yandan da esmerleşme reaksiyonları sonucunda kahverengi melanoidin pigmentlerinin oluştuğunu göstermektedir (Giusti ve Wrolstad 2001).

Antosiyaninler, pH başta olmak üzere, sıcaklık, ışık, enzim, kopolimerler, oksijen, enzim, askorbik asit gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos 2004, Cavalcanti vd. 2011). Bunun yanında ACN'lerin stabiliteyi, önemli derecede yapılarına, oluştukları matrikse bağlı

olduğu belirtilmektedir (Wrolstad vd. 2005). Çalışmamızda, üzüm üretiminin proses aşamalarından biri olan enzimasyon işlemi sırasında, üzüm mayşesi, kullanılan enzimin optimum çalışma sıcaklığı olan 50°C'ye 2 h süre ile maruz bırakılmıştır. Bu işlem ile, bir yandan üzüm suyunda bulunan ve ACN'lerin parçalanmasına neden olan diğer enzimler inaktif hale getirilmiş, diğer yandan da kabukta bulunan ACN'lerin üzüm suyuna geçmesi sağlanmıştır. Bununla birlikte, yapılan bu işlem, ürünün polimerik renk oranının yükselmesine (%28.5–31) neden olmuştur.

Literatürde, ısıtma sırasında ACN'lerin hangi mekanizma ile parçalandığı ile ilgili kesin bir açıklama bulunmamaktadır. Bununla birlikte, termal degradasyonun ilk aşamasının ACN'lerin heterosiklik halkasının açılması ile başladığı, ACN'in yapısında bulunan ve onun stabilitesini artıran glikozitin ACN'in yapısından ayrılması sonucunda, renksiz çalkon moleküllerinin oluştuğu belirtilmektedir (Rodríguez-Saona vd. 1999). Daha ileri aşamalarda, oluşan çalkon molekülleri kondensasyon ve polimerizasyon aşamalarından sonra, kahverengi melanoidin pigmentlerine dönüşmektedir.

Yapılan bir çalışmada, üzümde ekstrakte edilen ACN ekstraktında, polimerik renk oranı tayini yapılmış ve polimerik renk oranının %22 olduğu bildirilmiştir (Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos 2004, Reyes ve Cisneros-Zevallos 2007). Bu yöntemin temeli, polimerik moleküllerin, bisülfid çözeltisine dirençli olmasına, buna karşın ACN'lerin bisülfid ile reaksiyona girerek ortamdan uzaklaşmasına dayanmaktadır (Wrolstad 1976). Cevallos-Casals ve Cisneros-Zevallos (2004) yaptıkları çalışmada, kırmızı tatlı patates ve mor mısır ACN'lerinin stabiliteyi ile ticari doğal (ACN) ve sentetik renk katkılarının stabiliteyi karşılaştırmışlardır. Çalışmada kırmızı üzümde elde edilen ACN içeren ticari renk katkısının termal stabilitesini saptamak amacıyla ürün, 99°C'de 2 h süreyle ısıya maruz bırakılmış ve bu ısıtma sonunda polimerik renk oranı %29 olarak belirlenmiştir.

Pastörizasyon ve durultmanın ACN'ler ve polimerik renk üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, siyah havuç suyu, durultulmuş ve durultulmamış olarak, 90°C'de 15 dak. süreyle pastörize edilmiştir (Türkyılmaz 2009). Araştırmada, durultulmuş ve pastörize edilmemiş siyah havuç suyunun polimerik renk oranı %15 iken, pastörizasyondan sonra bu değer %22 düzeyine yükselmiştir. Bu artış, pastörizasyon işleminde, termal degradasyon sonucu ACN'lerin parçalandığı ve daha sonrasında oluşan ürünlerin polimerize olarak esmer renkli bileşikler oluşturması ile açıklanmaktadır (Türkyılmaz 2009, Türkyılmaz vd. 2012). Bu çalışmaya paralel olarak laboratuvarımızda nar suyu konsantrelerinde yürütülen bir çalışmada, nar suyu polimerik renk oranının, pastörizasyondan sonra sadece %3 oranında arttığı gözlenmiştir (Turfan 2008).

Yabanmersini suyu üretim basamaklarının, yabanmersini renk özellikleri üzerine etkisini incelemek amacıyla, pastörizasyon ve depektinizasyon aşamalarından sonra, polimerik renk oranları belirlenmiştir (Hager vd. 2008). Bu çalışmada, depektinizasyon (40°C, 1 h) aşamasından sonra, ürünün polimerik renk oranı %20 artarak, %10.5'ten %13.2'ye yükselmiştir.

#### 4.2.5 Reflektans renk değerleri

Üzüm sularının durultma işleminden önce ve sonra renklerinde oluşan değişimler, materyalin renginin reflektans spektrofotometresi ile CIE L\*, a\*, b\*, C\* (kroma) ve h° (hue) değerlerinin ölçülmesi ile izlenmiştir. Bu ölçümlere ilişkin veriler Çizelge 4.6'de verilmiştir.

Bilindiği gibi, CIE L\*a\*b\* sisteminde L\* değeri aydınlık derecesi (lightness) olarak tanımlanmakta ve bu değer 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişmektedir. CIE a\* değeri, 0 ile 60 arasında değişmekte olup, pozitif a\* değerleri kırmızı, negatif a\* değerleri ise, yeşil rengi göstermektedir. CIE b\* değerleri de, 0 ile 60 arasında değişmekte; pozitif b\* değerleri sarı, negatif b\* değerleri ise, mavi rengi göstermektedir. a\* ve b\* değerlerinin 0 olması, cismin renksiz (akromatik) olduğunu göstermektedir. CIE C\* (kroma, chroma) değeri, renk doygunluğu veya renk yoğunluğu (saturation) ile ilgili bir nitelik olup 0 ile 60 arasında değişmekte ve renk düzleminin merkezinde 0 (mat, dull) ve merkezden uzaklaştıkça parlak (vivid) tonlar artmaktadır. h° (hue) değeri ise, renk tonu veya renkle ilgili bir nitelik olup, 0°–360° arasında değişmekte; 0° kırmızı, 90° sarı, 180° yeşil ve 270° mavi olarak değerlendirilmektedir (Wrolstad vd. 2005, Veberic vd. 2010).

Durultulmuş üzüm suyu örneklerinin reflektans renk değerleri için yapılan varyans analizler sonuçları, durultma yardımcı maddelerinin aralarındaki farkın, istatistik olarak önemli düzeyde olmadığını göstermiştir (p>0.01). Bununla birlikte, h° değerinde ise, %95'lik önem düzeyinde örnekler arasında fark olduğu görülmüştür (p<0.05). Bu nedenle, Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucunda, “bentonit+kitosan” kombinasyonu ve sadece kitosan ile durultulan örneklerin kontrol örneklerinden önemli seviyede farklı olduğu belirlenmiştir.

Sadece kitosan ile durultulan örneğin h° değerinde 7°'lik artış görülürken, “bentonit+kitosan” kombinasyonunda 4.5° düzeyinde artış saptanmıştır. ACN içeren gıdalarda h° değerinde görülen artış, ACN'lerin parçalandığının ve sarı renk oluştuğunun göstergesidir. Ancak durultma işleminde, bu artış, ACN'lerin floklar ile birlikte ortamdan uzaklaşması ile meydana gelen ACN kaybı olarak yorumlanmaktadır (Turfan 2008).

Çizelge 4.6 Farklı durultma yardımcı maddeleri ve kombinasyonları ile durultulan üzüm suyunun reflektans renk değerleri

Kombinasyon		L*	a*	b*	C*	h°
<i>Durultulmamış</i>						
Kontrol	–	25.95	5.03	0.48	5.06	5.5
<i>Durultulmuş</i>						
0.2 g/L Bentonit	–	25.72	4.62	0.65	4.66	8.0
0.05 g/L Kitosan	–	26.10	4.25	0.94	4.35	12.5
0.2 g/L bentonit	0.05 g/L Jelatin	25.58	5.03	0.50	5.06	5.8
	0.05 g/L Kazein	25.87	4.39	0.76	4.46	9.9
	0.05 g/L Albumin	26.06	5.09	0.50	5.10	6.2
	0.05 g/L Kitosan	25.67	4.23	0.93	4.33	12.5

Toplam monomerik ACN miktarları ile reflektans renk değerleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla, iki analiz yöntemi arasında korelasyon aranmıştır. C\* ve a\* değeri ile, ACN miktarı arasında orta derecede korelasyon görülürken (sırasıyla  $r=0.576$  ve  $r=0.582$ ), h° değeri ile yüksek düzeyde korelasyon ( $r=0.728$ ) olduğu belirlenmiştir.

#### 4.3 Durultmanın Üzüm Suyunun Bazı Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi

Üzüm suyunda bulunan başlıca suda çözünür kuru maddeler; glukoz, fruktoz, tartarik asit ve malik asittir. Tartarik ve malik asit dışında, üzümde bulunan diğer organik asitler ise, sitrik, galaktronik, suksinik, laktik, fumarik ve okzalik asit olduğu belirtilmektedir (Buglione ve Lozano 2002). Durultma işleminin üzüm suyunun; pH, titrasyon asitliği, briks ve bulanıklık düzeyi üzerine etkisini ortaya koymak için analizler yapılmış ve bu analizlerin sonuçları çizelge 4.7’de verilmiştir.

Durultulmuş üzüm suyu örneklerinin briks, pH ve titrasyon asitliği sonuçları için yapılan varyans analizler sonuçlarına göre, durultma yardımcı maddelerinin arasındaki farkın, briks ve titrasyon asitliği için önemli olmadığı tespit edilirken ( $p>0.01$ ), pH sonuçları arasındaki farkın istatistik olarak önemli düzeyde olduğu saptanmıştır ( $p<0.01$ ). Bu nedenle; pH verilerine Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve pH değerleri arasında, kitosan ile kontrol örneklerinin ve “bentonit+kazein” ile

“bentonit+jelatin” örneklerinin pH’larının farklı olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Durultulmamış ve durultulmuş örneklerin bazı analitik özellikleri\*

	Kombinasyon	pH		Titrasyon asitliği*(g/L)	Briks (%)
<i>Durultulmamış</i>					
Kontrol	–	3.79±0	AB**	0.59±0.00	26.87±0.00
<i>Durultulmuş</i>					
0.2 g/L Bentonit	–	3.79±0.01	AB	0.60±0.01	26.84±0.04
0.05 g/L Kitosan	–	3.74±0.01	C	0.56±0.00	26.70±0.01
0.2 g/L bentonit	0.05 g/L Jelatin	3.77±0	B	0.57±0.02	26.77±0.01
	0.05 g/L Kazein	3.80±0.02	A	0.55±0.02	26.77±0.20
	0.05 g/L Albumin	3.78±0.01	AB	0.55±0.01	26.69±0.01
	0.05 g/L Kitosan	3.79±0	AB	0.57±0.01	26.70±0.10

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

\*Titrasyon asitliği, tartarik asit cinsinden hesaplanmıştır.

\*\*Değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark, önemlidir (p<0.01).

**3.2.2.1** başlıklı, durultma yardımcı maddelerinin hazırlanması bölümünde de belirtildiği gibi, kitosan sitrik asit çözeltisi içinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Bu şekilde, durultma işlemi amacıyla ürüne eklenen kitosan, ürünün pH seviyesinde azalmaya neden olabileceği düşünülmüştür. Bunun yanında, “bentonit+kazein” kombinasyonu ile durultulmuş örnek ile, “bentonit+jelatin” ile durultulmuş üzüm suyunun pH’larının farklı olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, durultma yardımcı maddesinin hazırlanması ile bağlantılı olduğu olasılığı bulunmaktadır. Çünkü kazein sodyum karbonat çözeltisi içerisinde hazırlanmış ve bu şekilde kullanılmıştır. Bunun sonucu olarak, pH seviyesinin yükseldiği sanılmaktadır.

1946



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırma sonunda elde edilen sonuçlar, maddeler halinde aşağıda sunulmuştur.

1. Üzüm suyu ACN'leri üzerine, kullanılan durultma yardımcı maddesinin dozundan çok, türü daha fazla etkiye sahiptir.
2. Üzüm suyunun durultulmasında, ACN'leri en iyi düzeyde koruyup, en düşük bulanıklık düzeyini (4.2–4.4 NTU) sağlayan “bentonit+kazein” ve “bentonit+albumin” uygulamaları önerilmektedir.
3. Üzüm suyunun durultulmasında, albümin ve kazeinin, jelatine göre daha başarılı sonuçlar sağladığı belirlenmiştir.
4. Durultma sırasında yüksek ACN kaybına neden olduğu için üzüm suyu üretiminde kitosan kullanımı önerilmemektedir.
5. Farklı durultma yardımcı maddelerinin fenolik maddeler üzerine etki düzeyi farklıdır.
  - Bentonit, kafeik ve klorojenik asitin,
  - Kazein ve albumin, kateşin, kafeik asit, klorojenik asit ve epikateşinin,
  - Jelatin, kafeik, kateşin ve klorojenik asidin,
  - Kitosan ise, kafeik ve klorojenik asitin meyve suyundan uzaklaştırılmasında daha etkilidir.
6. Kalecik karası üzüm çeşidinin başat ACN'inin, mv-3-glu (%57) olduğu, bunu pn-3-glu'in (%10) takip ettiği belirlenmiştir.

## 6. GELECEĞE İLİŞKİN ÖNGÖRÜLEN KATKILAR

Ülkemiz meyve suyu üretim istatistikleri incelendiğinde, üzüm suyu üretim oranının diğer meyve sularına oranla az olduğu görülmektedir. Ancak, son yıllarda tüketicilerin bilinçlenmesi ile birlikte, özellikle %100 doğal meyve sularına olan ilgi artmış ve bunun sonucunda üzüm suyu üretimin de önemli artışlar gözlenmiştir. Örneğin, üzüm suyu üretimi 2005 yılında 10,900 ton iken, 2007 yılında bu miktar 18,600 ton'a kadar yükselmiştir. Bunun sonucu olarak, endüstriyel üretim sorunları göz önüne alınarak, ülkemizde üzüm suları üzerine yapılan araştırmalarda da son yıllarda artış görülmüştür.

Berrak kırmızı üzüm suyu üretiminin önemli bir proses basamağı olan durultma işlemi sonucunda, durultma parametrelerine (süre, sıcaklık, durultma yardımcı maddesi tür ve dozajı) bağlı olarak, kırmızı meyve suları için önemli kalite kriterlerinden birisi olan ACN'ler olumsuz olarak etkilenebilmektedir. Nitekim yaptığımız bu çalışmada da, aynı dozajlarda kullanılmasına rağmen durultma yardımcı maddelerinin, bu pigmenti farklı oranlarda etkilediği görülmüş ve kırmızı üzüm suyu durultmasında kitosan kullanımı, bulanık düzeyini yeterli seviyeye düşürse de, ACN'lerde önemli kayıplara neden olduğu için önerilmemiştir. Bunun yanında, araştırmamızda albümin ve kazein ile durultma sonucunda, durultma işleminde yaygın olarak kullanılan jelatine göre, hem bulanıklık hem de ACN korunumu bakımından, daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, endüstriyel üretimde, hâlihazırda şarap durultulmasında kullanılan, albümin ve kazein durultma yardımcı maddelerinin meyve suları için kullanılmasının yaygınlaşması mümkündür. Bu sayede, berrak ve çekici bir ürün elde edilirken, aynı zamanda renk özellikleri bakımından da daha kaliteli ürünler üretilmiş olacaktır.

Yapılan bu çalışmada, aynı zamanda, fenolik dağılım analizi ile önemli sonuçlar elde edilmiştir. Yaptığımız çalışmada, farklı durultma yardımcı maddelerinin farklı fenolik maddeler üzerine daha etkili olduğu görülmüştür. Bu sonuç hem bilimsel hem de endüstriyel anlamda önem taşımaktadır. Örneğin yapılan çalışmalarda jelatinin, molekül ağırlığı 500 Da küçük olan fenolikleri uzaklaştıramadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada da molekül ağırlığı 290 Da olan kateşin ve epikateşin gibi fenoliklerin, jelatin tarafından uzaklaştırılmadığı görülmüştür. Ancak, kazein ve albüminin bu fenolikler üzerine yüksek düzeyde etki ettiği gözlemlenmiştir. Bu sayede, üzüm suyundaki başat fenoliklerden biri olan epikateşini uzaklaştırdığı için, albümin ve kazein durultma yardımcı maddeleri ile durultma sonucu başarı, düşük bulanıklık seviyesi kriterine göre, sağlanmıştır. Ancak çalışmamızda üretilen berrak kırmızı üzüm suyunun depolama süresince bulanıklık stabilitesi incelenmemiştir. Bu nedenle, berrak meyve sularında önemli bir sorun olan, sonradan bulanmanın üzüm suyunda gözlemlenmesi ve eğer gerçekleşirse nedenlerinin ortaya konulması, ileride bu çalışmanın devamı olarak gerçekleştirilebilir.

## 7. SAĞLANAN ALTYAPI OLANAKLARI İLE VARSA GERÇEKLEŞTİRİLEN PROJELER

Bu proje kapsamında sağlanmış herhangi bir altyapı olanağı bulunmamaktadır.

## 8. SAĞLANAN ALTYAPI OLANAKLARININ VARSA BİLİM/HİZMET VE EĞİTİM ALANLARINDAKİ KATKILARI

Bu proje kapsamında sağlanmış herhangi bir altyapı olanağı bulunmamaktadır.

## 9. KAYNAKLAR

- Adams, D. 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57, 249–256.
- Balík, J., Kyseláková, M., Veverka, J., Tříška, J., Vrchotová, N., Totušek J. and Lefnerová, D. 2007. The effect of clarification on colour, concentration of anthocyanins and polyphenols in red wine. *Acta Horticulturae*, 754, 563–568.
- Buglione, M. and Lozano, J. 2002. Nonenzymatic browning and chemical changes during grape juice storage. *Journal of Food Science*, 67, 1538–1543.
- Castillo-Sánchez, J.X., García-Falcón, M.S., Martínez-Carballo, E., Martins-Dias, L.R. and Mejuto, X.C. 2008. Phenolic compound and colour stability of Vinhão wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chemistry*, 106, 18–26.
- Cavalcanti, R.N., Santos, D.T. and Meireles, M.A.A. 2011. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. *Food Research International*, 44, 499–509.
- Cemeroğlu, B. ve Karadeniz, F. 2009. Meyve suyu üretim teknolojisi, *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I. Cemeroğlu, B. (ed.), Bizim Büro Basımevi, 391–692, Ankara.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan ,M. 2009. Meyve ve sebzelerin bileşimi, *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I. Cemeroğlu, B. (ed.), Bizim Büro Basımevi, 1–236, Ankara.
- Cevallos-Casals, B.A. and Cisneros-Zevallos, L. 2004. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry*, 86, 69–77.
- Fang, Z., Zhang, M., Du, W. and Sun, J. 2007. Effect of fining and filtration on the haze formation in bayberry (*Myrica rubra* Sieb.Et.Zucc.) juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 113–119.
- Francis, F.J. 1985. Blueberries as a colorant ingredient in food products. *Journal of Food Science*, 50, 754–756.

- Fuleki, T. 1969. The anthocyanins of strawberry, rhubarb, radish and onion. *Journal of Food Science*, 34, 365–369.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Unit F1.2. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, *In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wrolstad, R.E. and Schwartz, S.J. (eds.), John Wiley & Sons, 1-13, New York, NY
- Gómez-Plaza, E., Gil-Muñoz, R., López-Roca, J.M., De La Hera-Orts, M.L. and Martínez-Cuñillas, A. 2000. Effect of the addition of bentonite and polyvinylpyrrolidone on the colour and long-term stability of red wines. *Journal of Wine Research*, 11, 223–231.
- He, Q., Shi, B. and Yao, K. 2006. Interactions of gallotannins with proteins, amino acids, phospholipids and sugars. *Food Chemistry*, 95, 250–254.
- Hager, T., Howard, L.R. and Prior, R.L. 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 689–695.
- Harbertson, J.F., Picciotto, E.A. and Adams, D.O. 2003. Measurement of polymeric pigments in grape berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulphate bleaching. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54, 301–306.
- Iacopini, P., Baldi, M., Storchi, P. and Sebastiani, L. 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, in vitro antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 589–598.
- Kırca, A. ve Özkan, M. 2010. Değişik amaçlı bazı test ve analiz yöntemleri, *Gıda Analizleri*, Cemeoğlu B. (Ed.), Bizim Büro Basım evi, 168–178, Ankara.
- Koç, B. 2013. Nar sularının çeşitli durultma yardımcı maddeleri ile durultulması ve konsantrelerin depolanması sürecinde bileşimdeki değişimler. *Doktora Tezi (basılmamış)*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 238, Ankara.
- Kurtbay, H.M., Bekci, Z., Merdivan, M. and Yurdakoc, K. 2008. Reduction of ochratoxin a levels in red wine by bentonite, modified bentonite, and chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2541–2545.
- Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R.E. 2002. Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatment. *Journal of Food Science*, 67, 1660-1667.
- Lee, J. and Finn, C.E. 2007. Anthocyanins and other polyphenolics in American elderberry (*Sambucus canadensis*) and European elderberry (*S. nigra*) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 2665–2675.
- Lee, J., Rennaker, C. and Wrolstad, R.E. 2008. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 110, 782–786.

- Lee, W.C., Yusof, S., Hamid, N.S.A. and Baharin, B.S. 2007. Effects of fining treatment and storage temperature on the quality of clarified banana juice. *Food Science and Technology*, 40, 1755–1764.
- Monagas, M., Gómez-Cordovés, C., Bartolomé, B., Laureano, O. and Ricardo da Silva, J.M. 2003. Monomeric, oligomeric and polymeric flavan-3-ol composition of wines and grapes from *Vitis vinifera* L. Cv. Graciano, Tempranillo and Cabernet Sauvignon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6475–6481.
- Özkan, M., Kırca, A. ve Cemeröğlu, B. 2010. Gıdalara uygulanan bazı özel analiz yöntemleri, *Gıda Analizleri*. Cemeröğlu, B. (ed.), Bizim Grup Basımevi, 85–155, Ankara.
- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C. and Tiwari, B.K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in food: mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 3–11.
- Poncet- Legrand, C., Edelmann, A., Putaux, J.-L., Cartalade, D., Sarni- Manchado, P. and Vernhet, A. 2006. Poly (L-proline) interaction with flavan-3-ols units: Influence of the molecular structure and the polyphenol/protein ratio. *Food Hydrocolloids*, 20, 687–697.
- Puškaš, V.S. and Miljić, U.D. 2012. Effects of fining on phenolic compounds and colour of red wine obtained with addition of increased amounts of grape solid phase in pomace. *Hemijska Industrija*, 66, 727–734.
- Reyes, L.F. and Cisneros-Zevallos, L. 2007. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple- and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chemistry*, 100, 885–894.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 2006. Clarification and stabilization treatments: Fining wine, *In: Handbook of Enology*, Vol. 2. Aquitaine Traduction, 301–332, Bordeaux, France.
- Rodríguez- Saona, L.E., Guisti, M.M. and Wrolstad, R.E. 1999. Color and pigment stability of red radish and red-fleshed potato anthocyanins in juice model systems. *Journal of Food Science*, 64, 451–456.
- Sánchez- Moreno, C., Cao, G., Ou, B. and Prior, R.L. 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4889–4896.
- Sarni- Manchado, P., Cheynier, V. and Moutounet, M. 1997. Reactions of polyphenoloxidase generated caftaric acid o-quinone with malvidin-3-O-glucoside. *Phytochemistry*, 45, 1365–1369.
- Skrede, G., Wrolstad, R.E. and Durst, R.W. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65, 357–364.
- Stankovic, S., Jovic, S., Zivkovic, J. and Pavlovic, R. 2012. Influence of age on red wine colour during fining with bentonite and gelatin. *International Journal of Food Properties*, 15, 326–335.

- Quintela, S., Villarán, M.C., De Armentia, I.L. and Elejalde, E. 2012. Ochratoxin A removal from red wine by several oenological fining agents: bentonite, egg albumin, allergen-free adsorbents, chitin and chitosan. *Food Additives and Contaminants*, 29, 1168–1174.
- Turfan, Ö. 2008. Nar suyu konsantresi üretimi ve depolama sürecinde antosiyaninlerdeki değişimler. Yüksek Lisans Tezi (basılmamış), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 140, Ankara.
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2011. Anthocyanin and colour changes during processing of pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) juice from sacs and whole fruit. *Food Chemistry*, 129, 1644–1651.
- Türkyılmaz, M. 2009. Siyah havuç konsantresi üretimi ve depolama sürecindeki değişimler. Doktora Hazırlık Çalışması (basılmamış), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 119, Ankara.
- Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M. 2012. Clarification and pasteurization effects on monomeric anthocyanins and percent polymeric colour of black carrot (*Daucus carota* L.) juice. *Food Chemistry*, 134, 1052–1058.
- Veberic, R., Schmitzer, V., Petkovsek, M.M., Stampar, F. 2010. Impact of shelf life on content of primary and secondary metabolites in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Journal of Food Science*, 79, 461–468.
- Wrolstad, R.E., Durst, R.W. and Lee, J. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 423–428.
- Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E. and Prior, R.L. 2006. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4069–4075.
- Yılmaz, Y. and Toledo, R.T. 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 255–260.

**Mali Bilanço ve Açıklamaları:**

▪ PROJE TUTARI	:	20,000 TL
▪ PROJE GİDERLERİ	:	19,942 TL
▪ KALAN	:	58TL

▪ Proje Giderleri:

<b>400 Tüketim Mal ve Malzemeleri Gideri</b>		<b>19,942 TL</b>
√ Kimyasal ve sarf malzeme (12.07.2013)	:	17,582 TL
√ Kimyasal ve sarf malzeme (06.08.2013)	:	2360 TL

Tarih	Adı Soyadı, Unvanı	İMZA
10.02.2014	Mehmet Özkan, Prof. Dr.	