

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GELENEKSEL YÖNTEMLERİN OPTİMİZASYONUyla
RENKSİZLEŞTİRİLMİŞ ELMA SUYUNDAN
TİCARİ ŞEKER ŞURUBU ÜRETİMİ**

TUĞBA AKKOYUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

2012

**GELENEKSEL YÖNTEMLERİN OPTİMİZASYONUyla
RENKSİZLEŞTİRİLMİŞ ELMA SUYUNDAN
TİCARİ ŞEKER ŞURUBU ÜRETİMİ**

TUĞBA AKKOYUN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 2011.02.0121.039 proje numarasıyla Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

2012

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GELENEKSEL YÖNTEMLERİN OPTİMİZASYONUyla
RENKSİZLEŞTİRİLMİŞ ELMA SUYUNDAN
TİCARİ ŞEKER ŞURUBU ÜRETİMİ

TUĞBA AKKOYUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez .././2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (.....) not takdir edilerek Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa KARHAN (Danışman)

Prof. Dr. Mustafa ERKAN

Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK

ÖZET

GELENEKSEL YÖNTEMLERİN OPTİMİZASYONUyla RENKSİZLEŞTİRİLMİŞ ELMA SUYUNDAN TİCARİ ŞEKER ŞURUBU ÜRETİMİ

Tuğba AKKOYUN

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Mustafa KARHAN

Temmuz 2012, 52 Sayfa

Gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılmakta olan ticari şeker şurubundan içecek, pastacılık ürünleri ve marmelat üretimi gibi birçok alanda yararlanılmaktadır. Son yıllarda endüstride tüketicilerin talepleri nedeniyle şeker şurubu yerine elma suyu konsantresi kullanımı giderek yaygınlaşmaya başlamıştır. Ancak elma suyu konsantresinin sahip olduğu koyu renk nedeniyle açık renkli ürünlerde koyulaşma meydana gelmekte ve bu durum da elma suyu konsantresinin şeker şurubuna alternatif olarak kullanılabilme olanağını kısıtlamaktadır. Bu çalışmada meyve suyu endüstrisine ek maliyet getirmeksizin elma suyundan renksizleştirilmiş ticari şeker şurubu üretim olanaklarının ortaya konulması hedeflenmiştir. Bu amaçla elma suyundaki toplam fenolik madde düzeyi ve renk üzerine lakkaz enzimi, aktif kömür ve polivinilpolipirrolidon (PVPP) gibi adsorbentlerin ve ultrafiltrasyon işlemi gibi farklı uygulamaların etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre; 10.5 g/L düzeyinde aktif kömür ilavesiyle yapılan filtrasyon işleminin renksizleştirme üzerine en başarılı uygulama olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELELER: Elma suyu, aktif kömür, PVPP, lakkaz, ultrafiltrasyon

JÜRİ: Prof. Dr. Mustafa KARHAN (Danışman)

Prof. Dr. Mustafa ERKAN

Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK

ABSTRACT

PRODUCTION OF COMMERCIAL SUGAR SYRUP FROM DECOLORIZED APPLE JUICE WITH OPTIMIZATION OF TRADITIONAL METHODS

Tuğba AKKOYUN

M. Sc. Thesis in Department of Food Engineering

Advisor: Prof. Dr. Mustafa KARHAN

June 2012, 52 pages

Commercial sugar syrup, using extensively in food industry, is utilized in production of beverages, bakery products, marmalade and etc. Due to the consumers' demands, usage of apple juice concentrate (AJC) instead of sugar syrup in industry has recently increased recently. However dark color of AJC causes darkening in light-colored products and this is restricted the usage of AJC as an alternative to the sugar syrup. Therefore in this study, exploration of possibilities to produce commercial sugar syrup from apple juice without additional costs to the fruit juice industry was mainly aimed. For this purpose, effects of different applications such as laccase enzyme, activated charcoal, polyvinylpolypyrrolidone and ultrafiltration process on total phenolic content and color of the apple juice was investigated. According the results; filtration via 10.5 g/L of activated charcoal was the most effective application on decolorization of AJC.

KEY WORDS: Apple juice, activated charcoal, PVPP, laccase enzyme, ultrafiltration

COMMITTEE: Prof. Dr. Mustafa KARHAN (Advisor)

Prof. Dr. Mustafa ERKAN

Assist. Prof. Dr. Nedim TETİK

ÖNSÖZ

Şekerli ürünler üreten firmalar kristal şeker kullanımında kota olduğu için şekeri istenen miktarda kullanamamaktadırlar. Meyve suyu işletmeleri de kullanım kolaylığından dolayı sıvı şeker şurubunu tercih etmektedirler. Ticari şeker şurubu genel olarak nişastalı ham maddelerin hidrolize edilip monomerlerine parçalanması yoluyla elde edilmektedir. Bu amaçla en çok mısır nişastasası değerlendirilmektedir. Tüketiciler, ithal mısırların genetiği değiştirilmiş olması şüphesinden dolayı elde edilen şeker şuruplarının yer aldığı ürünleri tercih etmemektedirler. Bu durumda şekerli ürün üreticileri doğal şeker kaynaklarına yönelmektedir. Endüstriyel boyutta en ucuz ve bol olan elma suyu konsantresi birçok ürüne katılınca tadını değiştirmemektedir. Ancak elma suyu konsantresinin renginin koyu olması açık renkli şekerli ürünlerde kullanımında sorun olmaktadır. Şekerleme, reçel, dondurma ve marmelat üreten firmalar renksizleştirilmiş elma suyu konsantresi talep etmektedirler. Elma suyu konsantresi üreten meyve suyu fabrikaları renksiz elma konsantresi üretmek için adsorpsiyon özelliğine sahip dolgulu kolonlar ve iyon değiştirici sistemler kullanarak elma suyunun renginden sorumlu fenolik bileşikleri ve bir kısım mineralleri uzaklaştırmaktadırlar. Ancak meyve suyu işletmelerinin bu işlemleri yapabilmesi için fazladan pahalı yatırımlar yapması gerekmektedir. Bu çalışmada meyve suyu işletmelerinin fazladan yatırım yapmadan işletmedeki olanaklarla elma suyu renginin kabul edilebilir düzeye kadar azaltılma olanakları araştırılmıştır.

Bana bu konuda çalışma fırsatı veren, tez konusunun seçimi, çalışmanın planlanması ve yürütülmesi sırasında ilgisini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa KARHAN' a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım. Tezimin hazırlanma aşamasında bana her türlü yardımı sağlayan Araş. Gör. Hatice Reyhan ÖZİYCI ve Araş. Gör. Aslı ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Nedim TETİK'e ve Yrd. Doç. Dr. İrfan TURHAN'a, sabır ve özveriyle bana destek olan annem Hürümet AKKOYUN ve babam Celal AKKOYUN'a ve tüm kardeşlerime, tez projesini mali yönden destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve materyal yönünden destekleyen DİMES Gıda San. ve Tic. A.Ş. yetkililerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	3
3. MATERYAL ve METOT	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Metot.....	14
3.2.1. Elma suyunun renksizleştirilmesi	14
3.2.1.1. Lakkaz enzimi uygulaması	14
3.2.1.2. PVPP ve aktif kömür uygulaması.....	15
3.2.1.3. Ultrafiltrasyon.....	16
3.2.1.4. Evaporasyon	17
3.2.2. Analiz metotları	20
3.2.2.1. Suda çözünür kuru madde tayini	20
3.2.2.2. Titrasyon asitliği ve pH tayini	20
3.2.2.3. Toplam fenolik madde tayini (TFM).....	20
3.2.2.4. Renk tayini.....	21
3.2.2.5. Transmittans (%T) renk tayini.....	22
3.2.2.6. Absorbans ölçümü	22
3.2.2.7. Bulanıklık tayini	22
3.2.2.8. Şeker analizi	22
3.2.2.9. İstatistiksel analiz	23
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	24
4.1. Elma Suyu Örneklerinin Bazı Tanımlayıcı Özellikleri	24
4.2. Ön Denemeler.....	26

4.2.1. Lakkaz enzim miktarının belirlenmesi.....	26
4.2.2. Aktif kömür ve PVPP miktarlarının belirlenmesi.....	30
4.3. Uygulamaların Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı Üzerine Etkisi	32
4.4. Uygulamaların Renk Parametreleri (<i>L</i> , <i>a</i> , <i>b</i>) Üzerine Etkisi	36
4.5. Uygulamaların Transmittans Renk (%T) ve Absorbans (A_{420}) Üzerine Etkisi	38
4.6. Uygulamaların Bulanıklık (NTU) Üzerine Etkisi	41
4.7. Uygulamaların Serbest Şeker Miktarı Üzerine Etkisi	42
5. SONUÇ	45
6. KAYNAKLAR	46
7. EKLER.....	51
Ek 1. Elma suyu örneklerinin TFM içeriklerin hesaplanmasında kullanılan farklı konsantrasyonlardaki gallik asit standardına karşı okunan absorbans değerlerine ait grafik	51
Ek 2. Kontrol örneğine ait kromotogram	51
Ek 3. Aktif kömür uygulamasına ait kromotogram.....	52
Ek 4. Uygulamaların 50 kDA ayırma sınırına sahip membrandan geçen örneklerine ait bir görünüm (1: Kontrol, 2: PVPP, 3: Lakkaz, 4: Lakkaz+PVPP, 5: Aktif kömür, 6: Lakkaz +Aktif kömür, 7: Lakkaz+Aktif kömür+PVPP, 8: Aktifkömür+PVPP).....	52

ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Celcius sıcaklık derecesi
%	Yüzde
mg/g	Gramda miligram
mg/kg	Kilogramda miligram
g	Gram
g/L	Litrede gram
ppm (mg/L)	Litrede miligram
µL/L	Litrede mikrolitre
mL/L	Litrede mililitre
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
L	Litre
µm	Mikrometre
N	Normal çözelti
M	Molar çözelti
nm	Nanometre
d/d	Dakikada devir sayısı

Kısaltmalar

%MA	Yüzde malik asit
PPO	Polifenol oksidaz
PVPP	Polivinilpolipirrolidon
ES	Elma suyu
ESK	Elma suyu konsantresi
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
UF	Ultrafiltrasyon
SAS	Statistical Analysis Software
NTU	Bulanıklık birimi (Nephelometric Turbidity Unit)
p<0.01	Yüzde birlik önem seviyesine göre
p<0.05	Yüzde beşlik önem seviyesine göre
kDa	Kilodalton
SÇKM	Suda çözünür kuru madde
GDO	Genetiği değiştirilmiş organizma
LAMU	Lakkaz ünitesi
TFM	Toplam fenolik madde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Ultrafiltrasyon işleminin şematik görünümü.....	6
Şekil 3.1.	12 °Bx elma suyu lakkaz enzimi ilavesi öncesi (solda), lakkaz enzimi ilavesi sonrası (sağda).....	15
Şekil 3.2.	Laboratuvar tipi ultrafiltrasyon sistemi.....	17
Şekil 3.3.	Laboratuvar tipi evaporatör.....	17
Şekil 3.4.	Denemelere ait üretim akım şemaları.....	18
Şekil 4.1.	Üç farklı konsantrasyondaki lakkaz enzimi uygulanmış örneklerle ait toplam fenolik madde miktarındaki değişim.....	27
Şekil 4.2.	Üç farklı konsantrasyondaki lakkaz enzimi uygulanmış örneklerle ait absorbanstaki değişim.....	27
Şekil 4.3.	Lakkaz enzim uygulaması üzerine sürenin absorban miktarına etkisi.....	28
Şekil 4.4.	Lakkaz enzim uygulaması üzerine sürenin toplam fenolik madde miktarına etkisi.....	29
Şekil 4.5.	Farklı miktarlardaki aktif kömür uygulaması ile transmittansta meydana gelen değişim.....	31
Şekil 4.6.	Farklı miktarlardaki PVPP uygulaması ile transmittansta meydana gelen değişim.....	31
Şekil 4.7.	Uygulamalara göre TFM miktarlarındaki değişimin kontrol örneğiyle karşılaştırılması.....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Aktif kömür tipleri.....	7
Çizelge 2.2.	Aktif kömür ile ayrılabilen kimyasal maddeler ve organik asitler	8
Çizelge 3.1.	Örnek kodlamaları.....	19
Çizelge 3.2.	Kromatografi koşulları.....	23
Çizelge 4.1.	Farklı miktarda uygulanan aktif kömür ve PVPP'nin elma suyu ışık geçirgenliğine etkisi.....	24
Çizelge 4.2.	Uygulamalara göre elma suyunun bazı tanımlayıcı özellikleri.....	30
Çizelge 4.3.	Uygulamalara göre toplam fenolik miktarları ve kontrol örneğine göre bu miktarlardaki azalma (mg/L).....	32
Çizelge 4.4.	Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre toplam fenolik madde miktarlarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (mg/L).....	33
Çizelge 4.5.	Uygulamalara göre elma suyundaki renk parametrelerindeki değişim.....	36
Çizelge 4.6.	Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre toplam renk değişimine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları.....	38
Çizelge 4.7.	Uygulamalara göre transmittans (%T) ve absorbanstaki değişim.....	39
Çizelge 4.8.	Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre transmittans rengine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (%T).....	40
Çizelge 4.9.	Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre absorbansa ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları..	41
Çizelge 4.10.	Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre bulanıklık değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (NTU).....	41
Çizelge 4.11.	Uygulamalara göre sakaroz, glukoz, fruktoz ve toplam şeker miktarları (g/L).....	42

Çizelge 4.12.	Uygulamalara göre sakaroz miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L).....	43
Çizelge 4.13.	Uygulamalara göre glukoz miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L).....	43
Çizelge 4.14.	Uygulamalara göre fruktoz miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L).....	44
Çizelge 4.15.	Uygulamalara göre toplam şeker miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L).....	44

1. GİRİŞ

Günümüzde tüketiciler rafine edilmiş veya çok işlem görmüş gıdalardan ziyade, doğal halini koruyan ve en az işlem göreyek tüketilebilir hale getirilen, yapısıyla oynanmamış gıdaları tercih etmektedirler.

Şeker şurupları hemen hemen tükettiğimiz tüm hazır şekerli gıdaların içinde yer almaktadır. Ancak çoğunlukla mısırdan elde edilen şeker şuruplarının genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) kaynaklı olduğu şüpheleri, her ne kadar tartışmaya açık olsa da, bu şurupların kullanıldığı ürünler tüketiciyi olumsuz etkilemektedir. Bu durum üreticiyi alternatif şeker şurubu kaynakları kullanmaya zorlamaktadır.

Bu tez çalışmasında elma suyunda lakkaz uygulaması ile PVPP ve aktif kömürle filtrasyon uygulamalarından sonra farklı membran ayırma sınırlarında ultrafiltrasyon işlemi uygulanmıştır. Denemeler sonrasında renk üzerine en etkili olan kombinasyon bulunup UF işlemi öncesinde soğutma uygulanarak sıcaklığın fenolik bileşiklerde çözünürlük üzerine etkisi ve bunun ürün rengi ile ilişkisi belirlenmiştir. Daha önceden yürütülen çalışmalarda sonradan bulanmaya ve esmerleşmeye neden olan özellikle fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasında UF öncesinde soğutma uygulamasının çok etkin olduğu ve diğer uygulamaların başarısını artırdığı belirlenmiştir (Tetik 2010, Öziyci 2008). Bu şekilde ultrafiltrasyonla gıda endüstrisi açısından ekstra yatırıma gerek duymadan, mevcut altyapı olanaklarını kullanarak renksiz ticari şeker şurubuna alternatif olabilecek elma suyu konsantresi üretimini sağlamaya yönelik bir model aranmıştır. Araştırma sonuçlarının uygulamaya katkısı dışında sonraki araştırmalara ışık tutacak bilimsel verilerin elde edilmesine katkı sağlanması beklenmektedir.

Gıda endüstrisinde şeker şurubu yerine elma suyu konsantresi kullanımı yeni bir uygulama olmamakla birlikte söz konusu nedenlerle son yıllarda daha fazla gündeme gelmiştir. Ancak elma suyu konsantresi doğal halinde ticari şeker şuruplarına göre oldukça koyu bir renge sahiptir ve açık renkli ürünlerde kullanımında renk açısından sorun olmaktadır. Elma suyunu renksiz hale getiren ve pahalı yatırımlar gerektiren, adsorpsiyon gücü yüksek kolonların kullanıldığı yöntemler mevcut olmakla birlikte,

meyve suyu endüstrisinin halihazırda sahip olduğu altyapısı ile uygulayabileceği, parametreleri belirlenmiş bir yöntem bu çalışmaya kadar ortaya konmamıştır.

Özellikle elma suyunun renginden sorumlu bileşiklerin uzaklaştırılması durumunda alternatif şeker şurubu üretilmesi yönünden ilgili endüstriye katkı sağlanmış olacaktır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

Elma (*Malus sylvestris*), Türkiye’de en çok üretilen tarımsal ürünlerden birisidir. Üretimi bakım şartlarına göre değişmekte olup, ortalama bir dekar üretim alanından 1500–2000 kg meyve elde edilebilmektedir ve bu miktarın 3000 kg’a kadar da yükseldiği bildirilmiştir. Elmanın kimyasal yapısında ana bileşenler olarak %80-90 su, 2-4.5 g/L protein, 116-139 g/L karbonhidrat, %0.07 fenolik bileşik ve önemli düzeyde mineral madde bulunmaktadır (Artık ve Velioğlu 1992). Bu bileşenler elmanın cinsine göre değişiklik gösterebilmektedir. Dünyada önemli üretici ve tüketici ülkeler arasında yer alan Türkiye 2008 yılı verilerine göre uluslararası elma üretimi sıralamasında beşinci sırada yer almaktadır. Yıllık üretim miktarı yaklaşık 2.5 milyon tondur (Anonim 2008).

Türkiye sahip olduğu ekolojik yapı ve üretim alanı ile yaş sebze-meyve üretiminde dünyada önder ülkelerden olup bu durum meyve suyu endüstrisinin gelişmesinde önem taşımaktadır (Artık vd 2001). Ülkemizde meyve suyuna işlenen elma miktarı 2008 yılı verilerine göre yaklaşık 334 bin ton, elma suyu konsantresi üretimi ise 45 bin ton dolayındadır. Türkiye elma suyu ve konsantresi ihracatında önemli bir ülke konumundadır. Elma suyu ve konsantresi ihracatının toplam meyve suyu ihracatındaki payı %52 olmuştur ve meyve suyu endüstrisi için en önemli ihracat kalemini oluşturmaktadır (Anonim 2007a).

Tatlılık vermesi ve katıldığı ürünün nem tutma, kıvam verme, jel oluşturma, emülsiyon stabilitesini artırma, buz kristali oluşumunu engelleme gibi bazı yapısal özelliklerini iyileştirmesi gibi amaçlarla gıda endüstrisinde şeker şurubu kullanım alanı geniştir. İçecekler, bisküvi ve kek gibi fırıncılık ürünleri, şekerlemeler, süt ürünleri, mayonez, salata sosları gibi pek çok üründe kullanılmaktadır. Şeker şurubu, glukoz ve fruktoz şurubu olarak ayrı ayrı üretildiği gibi karışım halinde de bulunmaktadır. Glukoz şurupları nişastanın hidrolizasyonu ile üretilirken, fruktoz şurubu nişastadan üretilen glukozun, glukoz izomeraz enzimi kullanılarak fruktoza dönüştürülmesi yoluyla elde edilmektedir (Anonim 2007b). Nişasta kaynağı olarak mısır, buğday ve patates kullanılmaktadır.

Türkiye'deki elma suyu konsantrelerinde doğal asit içeriği düşük olup şeker miktarı fazladır. Bu özelliği sebebiyle meyve suyu dışında tatlılık verici madde olarak tüketilebilme olanağı mevcuttur (Akbulut 1995). Gelişmiş ülkelerde elma suyu konsantresinin şekerli ürünlerin üretiminde kullanıldığı ve bu uygulamanın son zamanlarda ülkemizde de yaygınlaştığı bilinmektedir. Elma suyu konsantresinin rengi ticari şeker şuruplarına göre oldukça koyu olduğu için açık renkli ürünlerde kullanımı sorun oluşturabilmektedir.

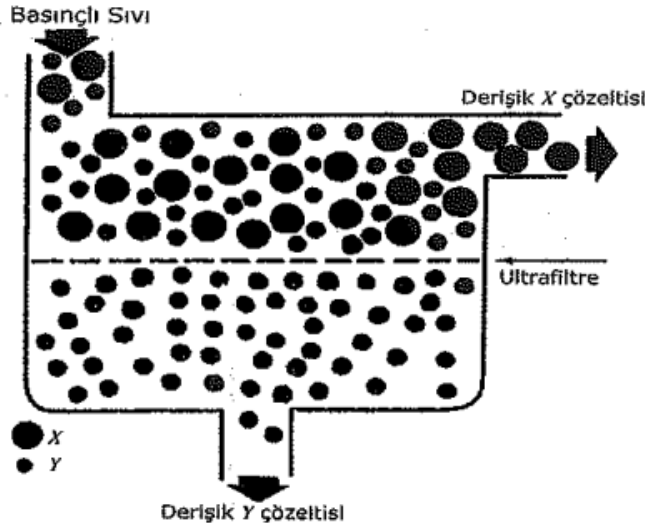
Elma suyunun rengini veren fenolik bileşik düzeyi meyvenin yetiştirme koşulları, olgunluk düzeyi, çeşidi ile elma suyu üretim proses koşulları ve depolama şartlarına göre değişiklik göstermektedir (Ekşi 1989). Meyvelerdeki fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak ikiye ayrılmaktadır. Fenolik asitler hidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik türevleri olarak; flavonoidler ise antosiyanidinler, kateşinler, löykantosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavononlar, prosiyanidinler ve dihidrokalkonlar gibi farklı gruplara ayrılmaktadır (Karadeniz ve Ekşi 2001).

Karadeniz (1993) 45 farklı elma suyu örneğinde klorojenik asit (62.3-342.6 mg/L, ortalama 180.9 mg/L), epikateşin (5.3-240.1 mg/L, ortalama 86.1 mg/L), floretin glikozit (5.5-60.0 mg/L, ortalama 22.4 mg/L), floridzin (6.9-29.7 mg/L, ortalama 15.5 mg/L) ve *p*-kumarik asit (1.1-16 mg/L, ortalama 7.7 mg/L) belirlemiştir.

Elmadan berrak elma suyu üretim basamakları ana hatlarıyla hammadde seçimi, yıkama, parçalama, presleme, durultma ve filtrasyondur. Elma suyu işlemede sağlam, olgun ve taze hammadde seçimi ürün kalitesi açısından önemlidir. Berrak elma suyu üretiminde jelatin, bentonit ve kizelzol gibi maddelerle durultma olan geleneksel yöntemin yanısıra ultrafiltrasyon uygulamaları da yaygınlaşmıştır. Ayrıca Adsorban reçine, aktif kömür ve PVPP gibi filtre yardımcı maddeleri de farklı amaçlarla tercih edilmektedir. Bu maddelerin görevleri, meyve suyunun berraklaşmasını sağlamak; gecikmiş bulanıklığa yol açan, renk ve aroma değişimine neden olabilecek maddeleri meyve suyundan adsorbe ederek veya çöktürerek uzaklaştırmaktır. Meyve sularında

bulunan bazı fenolik bileşikler, zamanla oksidasyona uğrayarak rengin esmerleşmesine neden olmaktadır. Durultma sırasında bu tip bileşikler uzaklaştığından, meyve suyu rengi stabilite kazanmaktadır. Eğer meyve suyu durultma aşamasına kadar fenoliklerin oksidasyonu sonucu esmerleşmişse, jelatin uygulaması ile esmerleşmiş renk bir miktar düzelebilmektedir. Meyve suyu üretiminde durultma işleminden sonra filtrasyon uygulanmaktadır. Bazı işletmeler sadece ultrafiltrasyonu seçerken bazıları durultma ajanları kullanarak ve ultrafiltrasyonla kombine ederek üretim yapmaktadır. Ultrafiltrasyon uygulanarak üretilmiş meyve suyu konsantrelerinin rengi, depolama süresi uzun olsa bile, stabilitesini korumakta ve bu nedenle tüketiciye yıl boyunca standart renkte bir meyve suyu sunma olanağı sağlamaktadır. Buna karşın geleneksel yöntemlerle durultulmak suretiyle elde edilmiş meyve suları zamanla esmerleşerek daha koyu bir renk kazanmakta ve sonradan bulanabilmektedir.

Ultrafiltrasyon 1-200 kDa molekül ağırlığındaki partiküllerin geçişine izin veren, gözenek boyutu 10^{-2} - 10^{-1} μm arasında olan ve 1-10 bar uygulama basıncına sahip bir membran ayırma yöntemidir (Rosenberg 1995, Baker 2004). Meyve suyu berraklaştırılmasında kullanılan ultrafiltrasyon membranları, kullanılan ayırma sınırına göre mikroorganizmalar, lipitler, proteinler ve kolloidlerin yanı sıra suda çözünen vitaminleri, şekerleri ve tuzları da tutabilmektedir. Membran ayırma sınırından büyük moleküller retantat olarak membranın diğer tarafına geçemezken daha küçük molekül büyüklüğüne sahip bileşikler membranı geçerek permeat olarak adlandırılan kısmı oluşturmaktadır (Şekil 2.1). Ultrafiltrasyonun geleneksel meyve suyu işleme tekniklerine göre farklı avantajları bulunmaktadır. Bu avantajlar meyve suyu randımanını artırması, tek basamaklı işlemeye olanak vermesi, jelatin, adsorbentler ve diğer filtre yardımcı maddelerine ihtiyaç olmaması, enzim kullanımında azalma sağlaması, kolay temizlenebilmesi ve ekipmanın korunması, atık ürünlerin azalması ve ısı işlem gerekliliğinin ortadan kalkmasıdır (Cassano vd 2007).



Şekil 2. 1. Ultrafiltrasyon işleminin şematik görünümü (Tırnaksız 2009)

Elma suyuna rengini veren fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasına yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Youn vd. 2004, Piacquadio vd. 1997). Fenolik bileşikler aynı zamanda depolamada sonradan bulanmaya sebep oldukları için üretimdeki bazı uygulamalarla miktarı azaltılmaktadır. Bu açıdan aktif kömür ve polivinilpolipirrolidon (PVPP) gibi filtre yardımcı maddeleri kullanılarak yapılan filtrasyon işlemi son yıllarda yaygınlaşmaya başlamıştır.

Aktif kömür, karbonlu hammaddenin karbonizasyonu ve aktivasyonu sonucu elde edilen adsorbsiyon gücü yüksek granüler veya toz halinde bir maddedir. Aktif kömür üretiminde testere talaşı, linyit, taş kömürü, odun, kemik kömürü, fındık kabukları, sert çekirdekli meyveler, petrol koku gibi birçok madde kullanılmaktadır. Üretiminde hammadde 600 °C’de havasız ortamda karbonizasyona uğratarak hammaddeye mineral ilave edilmektedir. Bu işlemle aktif kömürün adsorpsiyon gücü artırılmakta ve aktivasyon işlemi daha kolay gerçekleştirilmektedir. Aktif kömürün 300-600 °C’de hava, 800-900°C’de buhar veya CO₂ uygulamasıyla aktivasyon işlemi yapılabilmektedir (Raymond ve Donald 1953). Aktif kömür özelliğine göre 4 gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2. 1. Aktif kömür tipleri (Raymond ve Donald 1953)

1.Grup	Bitkisel hammaddenin karbonizasyonu sonucu oluşan ürünler
2.Grup	Ön karbonizasyondan sonra yüksek sıcaklıkta gaz aktivasyonu sonucu oluşan ürünler
3.Grup	Kalsiyum karbonat ile oluşturulan aktif kömür
4.Grup	Çinko klorür ile hazırlanan aktif kömür.

Aktif kömür hayvansal ve bitkisel yağların rafinasyonu, sulardan ve meyve sularından tat ve kokunun giderilmesi, ilaç sanayi ve soğuk depolarda havanın temizlenmesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Özellikle koku ve tadı iyileştirmek, renk açılmasını sağlamak ve renk gidermek, acılık ve burukluk veren maddeleri uzaklaştırmak gibi amaçlar için meyve suyu endüstrisinde kullanılmaktadır. Aktif kömür ile ayrılabilen maddeler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Aktif kömür ile ayrılabilen kimyasal maddeler ve organik asitler (Raymond ve Donald 1953, Artık vd 1992).

Kimyasal Maddeler	Organik Asitler
Arfanamin	Adipik asit
Asetanilid	Asetik asit
Atabrin	Bromo süksinik asit
Fitalik anhidrit	Butirik asit
Fosforik asit	Formik asit
Gallik asit	Furmarik asit
Gliserin	Glikolik asit
Hidrokinon	Glikosilik asit
Kalsiyum ferrosiyanit	Gliserik asit
Kafein	Glutarik asit
Laktik asit	İsobutirik asit
Monosodyum glutamat	İsovalerik asit
Penisilin	İtakonik asit
Prokain	Karpoik asit
Sitrik asit	Levulinik asit
Streptomisin	Malik asit
Sodyum Asetat	Malonik asit
Sodyum benzoat	Meleik asit
Sülfonik asit	Metil süksinik asit
	Nesakonik asit
	Oksalik asit
	Piruvik asit
	Propiyonik asit
	Sitrakonik asit
	Süksinik asit
	Tartarik asit
	Valerik asit

Elma suyunda aktif kömür kullanımına dair pek çok çalışma bulunmaktadır. Kolukısa vd (1990) çalışmalarında elma suyu konsantresinin (ESK) rengini iyileştirmek amacıyla farklı uygulama süresi ve miktarda aktif kömür kullanmışlardır. Farklı miktarda ve aynı temas süresinde aktif kömür, ESK renginde %24.30-136.18 düzeyinde renkte iyileşme sağlanmıştır. Aktif kömür uygulamasına elma suyu sıcaklığı, pH değeri ve uygulama süresinin etkili olduğunu bildirilmiştir. Youn vd (2004) membran filtrasyon öncesi filtre yardımcı maddeleri olarak bentonit, PVPP ve aktif kömür kullanarak elma suyunun berraklaştırılması üzerine etkilerini araştırmıştır. Elma suyuna membran filtrasyonu öncesi %0.5 bentonit, %0.2 PVPP ve % 0.1 aktif kömür

uygulanmıştır. Kadakal vd (2004) elma suyunda farklı miktarlardaki granüler ve toz aktif kömür uygulamasının suda çözünen vitamin, renk ve berraklık üzerine etkilerini araştırmıştır. Granüler ve toz aktif kömür kullanımının suda çözünen vitamin içeriğini azaltıcı etki sağladığını, miktar arttıkça vitamin içeriğinin ters orantılı olarak azaldığını, toz aktif kömürün granüllere göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Elma sularının ihracatında önemli bir kalite kriteri olan patulin sorununun giderilmesi amaçlı aktif kömür kullanımı bilinen ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada, elma suyunda 5 g/L toz aktif kömürün 5 dk uygulanması ile patulin miktarındaki azalma %70.22 olarak tespit edilmiştir (Artık vd 1992). Gökmen vd (2001) elma suyunda jelatin, bentonit, adsorben reçine, aktif kömür ve PVPP uygulamalarının patulin miktarı üzerine etkisini araştırmışlardır. %40.9 oran ile patulin miktarındaki en yüksek azalmayı sağlayan uygulamayı jelatin ve bentonit ile berraklaştırma sonrası aktif kömür uygulamasının yer aldığı proses olarak saptamışlardır.

PVPP, modifiye bir polietilen olup N-vinilpirrolidon'dan oluşmuş üç boyutlu ağ yapmış bir polimerdir. PVPP, koyulaşmış rengi açmak, renkte daha sonra oluşabilecek esmerleşmeyi önlemek ve berraklığı stabilize etmek amacıyla kullanılmaktadır. Renk açma açısından PVPP'nin aktif kömüre göre tercih edilmesinin nedeni rejenere edilebilmesi sebebiyle daha ekonomik olmasıdır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001). PVPP yüksek molekül yapısından dolayı suda, bazlarda, asitlerde ve organik çözeltilerde çözünmez. Suda çözünmemesi nedeniyle rejenere edilerek kullanılabilmesi meyve suyu endüstrisi açısından kabul görebilmesinin en önemli nedenidir. PVPP toplam fenolik, fenolik asit, prosiyanidin, kateşin ve polifenol-protein komplekslerinin miktarında azalmaya sebep olmaktadır. Genellikle düşük molekül ağırlığına sahip fenoliklerin adsorpsiyonunda etkilidir (Lee vd 2007). Koyu renkli meyve sularında kullanıldığında rengin açılmasına sebep olduğu için genelde elma suyu gibi açık renkli, antosiyanin içermeyen meyve sularının durultulmasında tercih edilir. Adsorpsiyon üzerinde ortamın pH derecesi, sıcaklığı ve iyonik yoğunluğu etkili olmaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz 2001).

Mitchell vd (2005) çalışmalarında PVPP, silika xerojel ve PVP-silika uygulamalarının biradaki polifenollerin uzaklaştırılmadaki etkilerini araştırmışlardır. İki farklı birada, farklı konsantrasyonlarda (5, 10, 15 ve 20 g/L), farklı temas sürelerinde (5, 10 ve 30 dk) ve 20 C°de PVPP, silika xerojel ve PVP-silika uygulanarak Whatman No.1 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir. PVPP polifenollerin en iyi bağlayan adsorbent olarak tespit edilmiştir. Temas süresi ve konsantrasyon arttıkça polifenollerdeki azalmanın arttığı bildirilmiştir.

Siebert ve Lynn (1997) çalışmalarında bentonit, silika jel ve PVPP uygulanmasının elma suyundaki bulanıklık oluşturan protein ve polifenoller üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Ayrıca bu maddeler birada da uygulanmış olup elma suyundaki sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Elma suyunda PVPP kullanımı polifenollerin adsorbe etmede oldukça etkili bulunmuş olup ortamdan biradaki kullanımından daha fazla oranda fenolik madde uzaklaşmıştır. PVPP'nin elma suyunda daha etkili olmasındaki sebebi biradaki fenollerin proteinlere bağlanma eğiliminin yüksek olması ve proteinlerle kompleks halde bulunmaları, elma suyunda ise fenolik bileşiklerin serbest halde bulunmaları olarak bildirilmiştir.

Nar suyunda yapılan bir araştırmada jelatin (300 mg/L), bentonit (300 mg/L) ile durultma sonrası kizelgur filtrasyon, kizelgur filtrasyon öncesi PVPP (200 mg/L) uygulaması ve durultma ajanlarının kullanılmadığı sadece ultrafiltrasyon (10 kDa) olmak üzere üç farklı proses denenerek uygulamaların fenolik bileşiklerin ve organik asitlerin kompozisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Jelatin ve bentonit ile durultma sonrası PVPP uygulaması diğer uygulamalara göre fenolik bileşik içeriğinde ve organik asit kompozisyonunda daha fazla azalma sağlamıştır. UF uygulaması ise fark edilebilir bir değişiklik oluşturmamıştır (Alper vd 2011).

Tülek ve Yılmaz (2006) ultrafiltrasyonun, durultma ajanlarının (aktif kömür, PVPP, jelatin, bentonit ve kizelgur) farklı kombinasyonlarla ve miktarlarda uygulanması ile elma suyundaki HMF, fumarik asit (FA), berraklık ve renk değerlerindeki değişimleri araştırmışlardır. Aktif kömür ve PVPP miktarı artarken FA ve HMF azalmış,

transmittans renkte okunan değer artmıştır. Aynı miktarda uygulanan aktif kömür renk amada PVPP'ye göre daha etkili bulunmuştur.

Meyve sularında esmerleşmeye ve sonradan bulanıklığa sebep olan fenolik bileşiklerin uzaklaştırılması amacıyla adsorbent reçine kullanımı (Ataç ve Gökmen 2011), ultrafiltrasyon (UF) uygulaması ve UF'nin lakkaz ile kombinasyonu gibi uygulamalar literatürde yer alan uygulamalardan bazılarıdır (Alper ve Acar 2004, Artık vd 2004, Gökmen vd 1998, Ko ve Chen 2007).

Meyve suyunda özellikle sonradan bulanmanın en önemli sebeplerinden biri olan polifenollerin uzaklaştırılmasında lakkaz enzimi kullanılabilir. Enzimin etki mekanizması polifenollerin okside edilerek büyük moleküllere dönüştürülmesi ve filtrasyonla uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Lakkaz (EC 1.10.3.2; *p*-difenol: oksijen oksidoredüktaz) bakır içeren bir polifenoloksidaz olup, difenoller, polifenoller, diaminler, aromatik aminler ve bazı inorganik bileşikler de dahil olmak üzere pek çok substratı okside etmektedir. Lakkaz enzimleri genellikle bitkilerden ve funguslardan izole edilen enzimlerden elde edilmiştir. Lakkaz enzimleri için önemli bir parametre olan pH bağımlılıkları an eğrisi şeklindedir. an eğrisindeki maksimum nokta asidik pH'larda meydana gelir; ancak maksimum aktivitenin farklı pH'larda meydana geldiği lakkaz enzimleri de bulunmaktadır (Tuncer 2010). Lakkaz enzimleri izole edildikleri kaynağa göre optimum sıcaklık ve pH istekleri farklılık göstermektedir. şarap ve bira stabilizasyonu, fırıncılık ürünleri, kağıt endüstrisinde, boya­ların renginin aılmasında, tekstil endüstrisinde meyve suyu endüstrisi ve atık suların detoksifikasyonu gibi alanlarda kullanılmaktadırlar (Madhavi ve Lele 2009).

Neifar vd (2011), yaptıkları çalışmada nar suyunda bulanıklık oluşturan ve depolamadaki esmerleşmeden sorumlu olan fenolik bileşikleri lakkaz enzimi UF kombinasyonu ile uzaklaştırmayı hedeflemiş toplam fenolik madde içeriği ve berraklık üzerine etkisini araştırmışlardır. En uygun enzim konsantrasyonu 5 U/ml, sıcaklığı 20 °C ve süreyi 300 dk olarak bildirmişlerdir. Toplam fenolik madde içeriğinde %40 azalma sağlanmış; ancak enzim antosiyanin miktarında da azalmaya neden olduğu için nar suyu rengine kayıplar görülmüştür.

Gökmen vd (1998), yaptıkları çalışmada fenolik bileşiklerin polietir sülfon (PES) ve polivinilpirrolidon (PVP) membranlar kullanılarak ultrafiltrasyonla ayrılmasını araştırmış, sonuçları rejenere selüloz asetattan yapılmış ticari membranlarla (10 ve 100 kDa) karşılaştırmışlardır. Fenolik bileşenlerin ayrılmasında lakkaz uygulaması denenmiştir ve elma suyuna etkisi incelenmiştir. *Pyricularia oryzae*'den elde edilmiş olan lakkaz enzimi bir litre elma suyuna 500 U eklenerek 50 °C'de 6 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. PVP membranlar, ticari membranlara göre elma suyunun depolama sonundaki stabilitesinde daha başarılı bulunmuştur. Lakkaz uygulaması polifenollerin uzaklaştırmada etkili bulunmuş; ancak depolama sonunda stabiliteyi bozduğu bildirilmiştir.

Alper ve Acar (2004) nar suyunda lakkaz uygulanıp ultrafiltre edilen örneklerin fenolik bileşik içeriğinin azalırken, renkte artış meydana geldiğini nar suyunun kendine has kırmızı renginin kaybolup istenmeyen esmerleşmiş bir renk oluştuğunu bildirmişlerdir.

Artık vd (2004) mayşe ısıtma aşamasından sonra preslenerek üretilen vişne sularına 1000 U/L düzeyinde lakkaz eklemiş ve 25, 40 ve 50 °C de depektinizasyon uygulamıştır. Çalışmada kontrol gurubu olarak aynı koşullarda üretilen vişne sularına lakkaz ilave edilmemiş ve her iki grup 20 ve 100 kDa ayırma sınırındaki ultrafiltre membranlarından filtre edilmiş, renk değişimi ve berraklık stabilitesi açısından karşılaştırılmıştır. En iyi sonuç lakkaz ilave edilerek 50 °C'de 6 saat oksidasyona bırakılan ve 20 kDa membran kullanılarak filtre edilen örneklerden alınmıştır.

Enzimler doğrudan eklenebildiği gibi immobilize edilerek de kullanılmakta olup son yıllarda immobilizasyon çalışmaları yaygınlaşmıştır. İmmobilizasyon sistemleri, kolay geri kazanım, sürekli sistemlere uygunluk, tekrar kullanılabilirlik gibi özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir. İmmobilizasyon, aktif olan enzimin veya hücrelerin hareketli sıvı fazdan fiziksel olarak substrat ve ürün moleküllerinin fazlar arasında yer değiştirebileceği şekilde ayrılmasıdır. Gözenekli bir matrikse tutuklama, kovalent bağlama, taşıyıcı yüzeye tutuklama fiziksel adsorpsiyon gibi immobilizasyon teknikleri mevcuttur (Tanaka ve Kawamoto 1999). İmmobilizasyon için çeşitli materyaller

(aljinat, karragenan, karboksimetilselüloz, kalsiyum karbonat, silika jel, albumin, jelatin gibi) kullanılmaktadır.

Piacquadio vd (1997) lakkaz enzimini sefaroza 4B-Epi-IDA-Cu²⁺-şelat kullanarak immobilize edip elma suyundan fenolik bileşiklerin uzaklaştırılması üzerinde çalışmışlardır. Fenollerde ve flavonollerde sırasıyla %38.6 ve %47.8 azalma sağlanmış olup taşıyıcının rejenere edilerek kullanımında ise bu miktarlar %34.1 ve %43.7 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca renkte de azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırma materyali olan elma suyu konsantresi (ESK) Dimes Gıda San. ve Tic. A.Ş.'den sağlanmıştır. Meyveden, berrak meyve suyu üretilmesi aşamaları söz konusu işletme tarafından yapılmıştır. Uygulamalar için elma suyu konsantresi 12 brikse (°Bx) ayarlanarak kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Elma suyunun renksizleştirilmesi

Elma suyu konsantresinin (70 °Bx) bir kısmı kontrol grubu olarak ayrılmış ve kontrol grubunun bir kısmı da 12 °Bx değerine kadar sulandırılmıştır. 12 °Bx örnekler ise lakkaz enzimi uygulanan ve uygulanmayan grup olarak ikiye ayrılmıştır.

3.2.1.1. Lakkaz enzimi uygulaması

Enzim uygulamasında genetik olarak modifiye edilmiş *Aspergillus*'tan üretilmiş *Myceliophora*'dan sağlanan 1,000 LAMU/g (lakkaz ünitesi) aktiviteye sahip lakkaz enzimi (Novozym NS 33136 EC. 1.10.3.2) kullanılmıştır. Elma suyu konsantresi 12 brikse sulandırılıp pH derecesi değiştirilmeksizin fermentöre (Sartorius Stedim Biostat B plus) konarak sıcaklığı 50 °C'ye ayarlanmıştır. Sistem enzim için optimum sıcaklık olan 50 °C'ye ulaşıncaya 200 µL/L lakkaz enzimi ilave edilerek 300 d/d'de enzim aktivitesinin artması için sisteme sürekli olarak oksijen verilerek 4 saatliğine inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.1). İnkübasyon sonunda enzim inaktivasyonu için 95 °C'de 5 dk otoklavda (Hırayama Hıclave HG-80, Japonya) bekletilmiştir. Uygulama sonunda L örneği elde edilmiştir. Ön denemelerle pH etkisi, süre ve enzim miktarı belirlenmiştir. Lakkaz enziminin fenolik bileşiklerin oksidasyonu ve polikondensasyonunu sağlaması ile toplam fenolik bileşik içeriğinde düşme miktarına ve rengin koyulaşması sonucunda ise 420 nm absorbanstaki maksimum miktara göre

optimum uygulama düzeyi belirlenmiştir (Giovanelli ve Ravasini 1993, Gui vd 2006, Ataç ve Gökmen 2011).



Şekil 3. 1. 12 °Bx elma suyu lakkaz enzimi ilavesi öncesi (solda), lakkaz enzimi ilavesi sonrası (sağda)

3.2.1.2. PVPP ve aktif kömür uygulaması

PVPP ve aktif kömür uygulamaları 12 °Bx elma suyunda (pH değeri 3.9) ve lakkaz uygulanmış örneklerde yapılmıştır. PVPP Dimes'ten ve aktif kömür ise Merck'ten tedarik edilmiştir. Lakkaz enzimi uygulanan örnekler dört kısma ayrılıp bunlara PVPP, aktif kömür, PVPP ve aktif kömür beraber uygulanmış, bir kısma ise sadece lakkaz uygulanmıştır. Tüm uygulamalar lakkaz eklenmeyen 12 °Bx elma suyunda da yapılmıştır. Aktif kömür uygulaması için ön denemelerle belirlenen miktar 10.5 g/L olup, bu miktar elma suyuna eklenerek çalkalamalı inkübatörde oda sıcaklığında (25 °C), 150 d/d'de 20 dk süresince uygulanmıştır. İnkübasyon sonrası Whatman 42 filtre kağıdından vakum filtrasyonla süzülerek spektrofotometrede (Shimadzu UV 160A) 440 nm'de transmittans (%T) değeri saf suya karşı okunmuştur (Kolukısa vd 1990). PVPP için belirlenen en iyi miktar 15 g/L olup aynı işlem basamakları PVPP uygulanarak da gerçekleştirilmiştir. Ayrıca aktif kömür uygulanan örnek vakum filtrasyon sonrası ikiye ayrılarak birine aynı şekilde PVPP uygulanıp tekrar vakum filtreden geçirilerek AP

örneği elde edilmiştir. Bu uygulamalar sonucunda elde edilen örnekler; LA, LP, LAP, A, P ve AP şeklinde kodlanmıştır.

3.2.1.3. Ultrafiltrasyon

Uygulamalar sonrasında tüm gruplar (K, L, A, P, LA, LP, LAP ve AP) 10, 30 ve 50 kDa ayırma sınırına sahip polietersülfon membranlardan (Sartorius Stedim-17525) geçirilerek ultrafiltre edilmiştir. En uygun kombinasyon seçiminde renk tayini, toplam fenolik madde tayini ve bulanıklık analizleri yapılmıştır.

Çalışmalar laboratuvar tipi ultrafiltrasyon sistemi (Sartorius, NY, ABD) ile oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir (şekil 3.2). Filtrasyon yüzey alanı 200 cm² olan plaka şeklinde polietersülfon membran filtreler kullanılmıştır. 1-14 pH aralığında kullanılabilen membranlar, en fazla 4 bar basınca kadar kullanılabilme özelliğine sahiptir. UF, beslemenin %90'ı permeat, %10'u retentat olarak ayrılacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Her işlem sonrası membrandan ilk olarak 2000 ml su geçirilip bunun 1000 ml'si permeat olarak atılmıştır. Ardından uygulanan temizlik prosedürüne göre sistemden 50 °C'de 1 M NaOH çözeltisi 1 saat sirküle ettirilmiş ve süre sonunda permeat çıkışından atılmıştır. Sistemden tekrar 2000 ml su geçirilerek NaOH uzaklaştırılmıştır. Ardından 1 dk süreyle sistemden geçen su hacmi ölçülerek temizlik sonrası akış başlangıçtaki akışla karşılaştırılmıştır. Başlangıçtaki akışın %70'ine ulaşmak temizliğin yeterli olduğunu göstermektedir. Membran filtreden %20 (v/v)'lik etil alkol çözeltisi yaklaşık 5 dk geçirildikten sonra sistemden çıkarılmış ve bir sonraki kullanıma kadar yine aynı çözeltide 0°-4°C'de saklanmıştır.



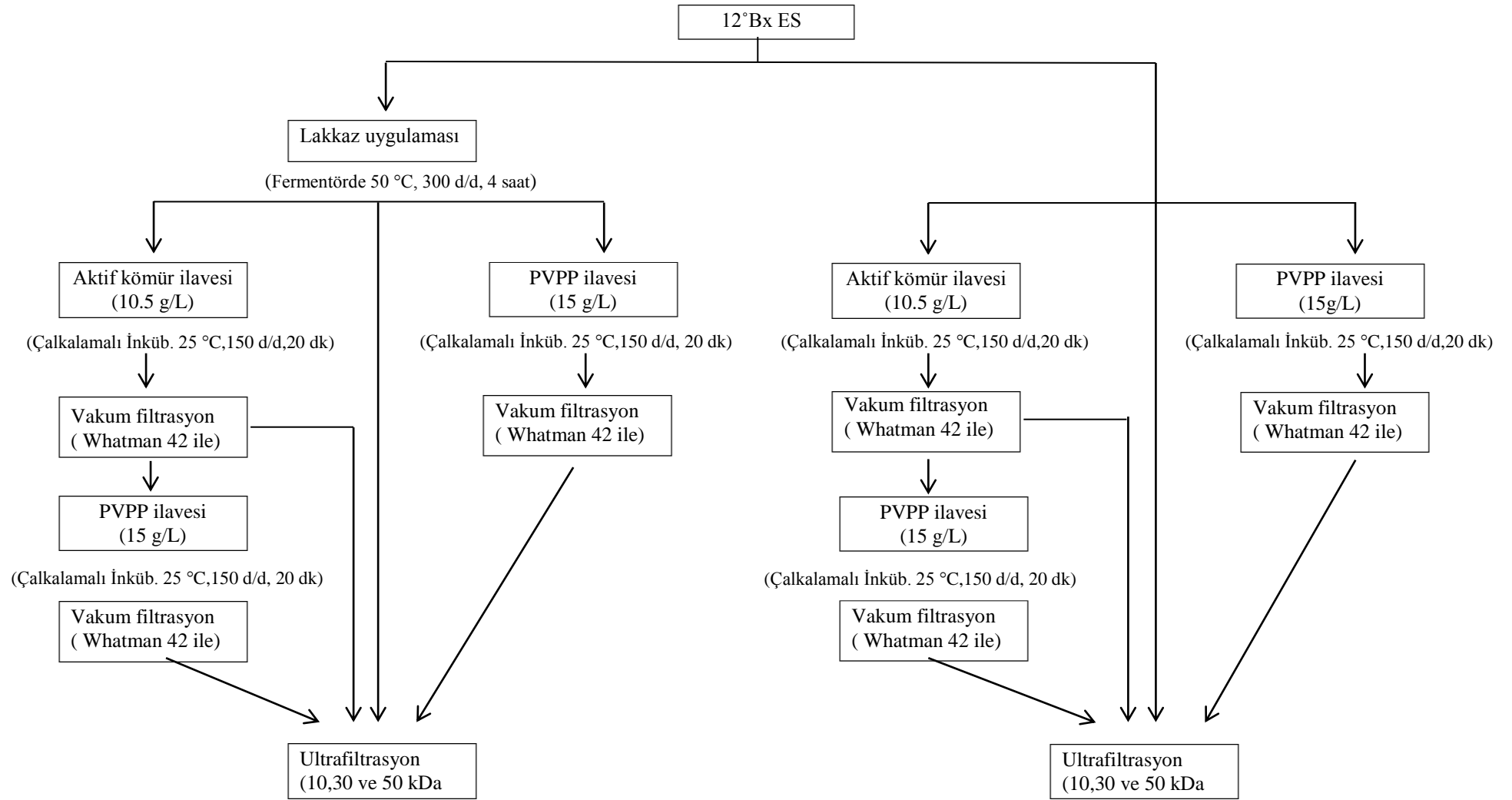
Şekil 3. 2. Laboratuvar tipi ultrafiltrasyon sistemi

3.2.1.4. Evaporasyon

Uygulamalardan sonra tüm grupların 50 kDa membran ayırma sınırından geçen permeatları rotary evaporatörde (IKA RV 10 Control) 70 °C, 150 d/d'de ve 170 mbar mutlak basınç altında 70 °Bx'e konsantre edilmiştir (Şekil 3.3). Denemelerde uygulanan üretim akım şemaları Şekil 3.4'te bir arada gösterilmiştir.



Şekil 3. 3. Laboratuvar tipi evaporatör



Şekil 3.4. Denemelere ait üretim akım şemaları

Lakkaz enzimi, PVPP ve aktif kömür uygulaması ve ultrafiltrasyon işlemleri sonucunda elde edilen örneklere ait kodlamalar Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Örnek kodlamaları

Örnek	Uygulama	Açıklama
1	K	Kontrol örneği (12 °Bx elma suyu)
2	K10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen permeat
3	K30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen permeat
4	K50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen permeat
5	P	PVPP uygulanmış örnek
6	P10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen P örneği
7	P30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen P örneği
8	P50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen P örneği
9	A	Aktif kömür uygulanmış örnek
10	A10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen A örneği
11	A30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen A örneği
12	A50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen A örneği
13	L	Lakkaz uygulanmış örnek
14	L10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen L örneği
15	L30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen L örneği
16	L50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen L örneği
17	LP	Lakkaz enzimi ve PVPP uygulanmış örnek
18	LP10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LP örneği
19	LP30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LP örneği
20	LP50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LP örneği
21	LA	Lakkaz enzimi ve aktif kömür uygulanmış örnek
22	LA10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LA örneği
23	LA30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LA örneği
24	LA50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LA örneği
25	LAP	Lakkaz enzimi, aktif kömür ve PVPP uygulanmış örnek
26	LAP10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LAP örneği
27	LAP30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LAP örneği
28	LAP50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen LAP örneği
29	AP	Aktif kömür ve PVPP uygulanmış örnek
30	AP10	10 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen AP örneği
31	AP30	30 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen AP örneği
32	AP50	50 kDa membranla ultrafiltrasyon sonrası elde edilen AP örneği

3.2.2. Analiz metotları

3.2.2.1. Suda çözüner kuru madde tayini

Tüm örneklerde suda çözüner kuru madde miktarı Abbe refraktometresi (Atago, Tokyo, Japan) kullanılarak belirlenmiştir (Cemeroğlu 2007).

3.2.2.2. Titrasyon asitliği ve pH tayini

Kontrol örneği, lakkaz enzimi, aktif kömür ve PVPP uygulanan örneklerde ve ultrafiltrasyon sonrası permeatlardan 20 ml örnek alınmış ve oda sıcaklığında dijital pH metre (Thermo Scientific, Orion 3-Star) ile ölçülerek pH değerleri belirlenmiştir (Cemeroğlu 2007).

Titrasyon asitliği tayini için tüm örnek gruplarından 20 ml alınarak ayarlı 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1 noktasına kadar titre edilmiş ve harcanan asit miktarı belirlenmiştir. Titrasyon asitliği malik asit cinsinden (%MA) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

$$\% \text{ Titrasyon asitliği} = \frac{V \times E \times F \times 100}{M}$$

Burada ;

V : Harcanan 0.1N NaOH miktarı (ml)

F : 0.1 N NaOH'm faktörü

E : 1 ml 0.1 N NaOH'e eşdeğer olan malik asit miktarı (0.006705 g)

M : Titrasyon için alınan örnek miktarı

3.2.2.3. Toplam fenolik madde tayini (TFM)

Toplam fenolik madde miktarı Spanos ve Wrolstad (1992)'a göre spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Lakkaz, aktif kömür ve PVPP uygulamalarından sonra ultrafiltre edilmiş elma suyu örneklerinde ve kontrol grubunda fenolik madde konsantrasyonu

belirlenmiştir. Bu analiz fenolik bileşenlerdeki azalmayı izlemek amacıyla her bir uygulamadan sonra uygulanacak analizlerden olup ölçüm parametrelerinden biri olarak kabul edilmiştir. Analizde 100 µl örnek bir tüpe alınıp üzerine 900 µl destile su eklenmiştir. Daha sonra 5 ml 0.2 N Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 4 ml doymuş sodyum karbonat çözeltisi (75 g/l) ilave edilmiştir. Tüp iyice karıştırıldıktan sonra 2 saat karanlık bir ortamda bekletilerek spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda okunan absorbans değerleri ve gallik asit ile hazırlanmış standart kurveden yararlanılarak toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit eşdeğeri/L) belirlenmiştir.

3.2.2.4. Renk tayini

Örneklerin L , a , b renk değerleri CR 400 model kolorimetre (Konica-Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Toplam renk değişimi (ΔE) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Özoğlu ve Bayındırlı 2002).

$$\Delta E = [(L_t - L_{t_0})^2 + (a_t - a_{t_0})^2 + (b_t - b_{t_0})^2]^{0.5}$$

Burada;

ΔE : Toplam renk değişimi

L_{t_0} : Başlangıç L değeri

L_t : Uygulama sonrası L değeri

a_{t_0} : Başlangıç a değeri

a_t : Uygulama sonrası a değeri

b_{t_0} : Başlangıç b değeri

b_t : Uygulama sonrası b değeri

Burada belirtilen L değeri 0-100 arasında siyahtan beyaza kadar değişen renk aralığı iken ($L:0$ siyah, $L:100$ beyaz), a değeri kırmızıdan yeşile kadar değişen renk aralığını [$+a$:kırmızı, $-a$:yeşil (+100 ile -80 arası)] ve b değeri ise sarıdan maviye kadar değişen renk aralığını [$+b$:sarı, $-b$: mavi (+70 ile -80 arası)] temsil etmektedir.

3.2.2.5. Transmittans (%T) renk tayini

Kontrol örneği ve uygulamalar sonrası tüm örneklerde 440 nm'de transmittans (%T) değeri Shimadzu UV 160A model spektrofotometrede saf suya karşı okunarak renge olan etki belirlenmiştir (Kolukısa vd 1990, Kadakal ve Nas 2002). Saf suyun %T değeri 100 olarak kabul edilmektedir.

3.2.2.6. Absorbans ölçümü

Esmerleşme indeksi olarak da bilinen özellikle lakkaz enzimi uygulaması ile oluşan esmer rengi ölçmek için 420 nm'de Shimadzu UV 160A model spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılmıştır (Giovanelli ve Ravasini 1993, Burdurlu ve Karadeniz 2003).

3.2.2.7. Bulanıklık tayini

Bulanıklık değeri türbidimetre (Hach 2100N) kullanılarak NTU (Nephelometric Turbidity Unit) değeri olarak belirlenmiştir. Elma suyu örnekleri 30 mL hacimli türbidimetre tüplerine konulmuş ve tüpün üzerindeki ölçümü etkileyebilecek parmak izi ve benzeri lekeler silikon yağı ve özel bir bez yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Tüp örnek hücrelerine yerleştirilmiş, ölçüm yapılarak okunan değer bulanıklık değeri olarak kaydedilmiştir. Tüm örneklerin, uygulama farklılığına göre bulanıklık değerleri karşılaştırılmıştır.

3.2.2.8. Şeker analizi

Her bir uygulama örneği ve kontrol örneğindeki şeker miktarı sakaroz, fruktoz ve glukoz olarak HPLC (Shimadzu, LC 20A Serisi) ile belirlenmiştir (Karhan vd 2010). Örnekler cihaza seyreltilerek verilmiştir. Cihaza verilmeden önce 2 ml örnek üzerine 18 mL su (Milli-Q) eklenerek karışım homojenize edilmiş ve bu karışımından 1 mL alınıp üzerine 19 mL su eklenerek örnek 200 kat seyreltilmiştir. Seyreltilmiş örnekler 0.45 µm gözenek çaplı membran filtreden geçirilerek viallere doldurularak enjeksiyona

verilmiştir. Elüsyonda kolon sıcaklığı 85 °C, dedektör hücresi sıcaklığı 60°C ve akış hızı 0.6 ml/dk olarak ayarlanmıştır (Çizelge 3.2). Örneklerdeki şeker içerikleri harici standart metodu kullanılarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3. 2. Kromatografi koşulları

Hareketli faz	Milli-Q su (izokratik), 0.6 mL/dakika
Analitik ve koruyucu kolon	Nucleogel 87P (300x7.8 mm ID, 20x4.0 mm ID)
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Kolon fırını sıcaklığı	85 °C
Dedektör	RID (Refraktif indeks dedektör)
Hücre sıcaklığı	60°C

3.2.2.9. İstatistiksel analiz

Araştırmadan elde edilen sonuçlar varyans analizine ve önemli bulunan ana varyasyon kaynakları ortalamaları Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'ne tabi tutulmuştur. Duncan testi, faktör ortalamaları arasındaki farkı test etmek için kullanılmıştır (Düzgüneş vd 1987). Varyans analizlerinde güven sınırı asgari %99 ve %95 olarak, Duncan Çoklu Karşılaştırma testlerinde ise asgari güven sınırı %95 olarak alınmıştır. Karşılaştırma Testlerinde ise asgari güven sınırı %95 olarak alınmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler SAS Institue, Inc., (Anonymous 1999) tarafından hazırlanan SAS istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada lakkaz enzimi, aktif kömür, PVPP ve bunların farklı kombinasyonlarının uygulanmasıyla elma suyuna rengini veren bileşiklerdeki azalma miktarı ve bu uygulamaların etkinliği belirlenmiş; ayrıca elma suyundan ticari şeker şurubu üretimi araştırılmıştır.

4.1. Elma Suyu Örneklerinin Bazı Tanımlayıcı Özellikleri

Çalışmada materyal olarak kullanılan elma suyu konsantresinin temin edildiğinde çözünür kuru madde değeri 69-70 °Bx olup, uygulamalar için 12±0.1 brikse ayarlanmıştır. Uygulamalar sonrası elde edilen örneklere ait pH, titrasyon asitliği (malik asit cinsinden) ve suda çözünür kuru madde değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4. 1. Uygulamalara göre elma suyunun bazı tanımlayıcı özellikleri

Örnek	pH	Tit. Asit. (%Malik asit)	S.Ç.K.M. (%)
1	3.83 ± 0.05	0.27 ± 0.00	12.0 ± 0.00
2	3.89 ± 0.05	0.24 ± 0.00	11.7 ± 0.00
3	3.89 ± 0.02	0.26 ± 0.00	11.7 ± 0.00
4	3.86 ± 0.00	0.25 ± 0.00	12.0 ± 0.00
5	3.93 ± 0.00	0.25 ± 0.00	12.0 ± 0.00
6	3.91 ± 0.02	0.25 ± 0.00	11.5 ± 0.00
7	3.92 ± 0.00	0.25 ± 0.00	11.0 ± 0.00
8	3.91 ± 0.02	0.25 ± 0.01	12.0 ± 0.00
9	4.21 ± 0.01	0.20 ± 0.00	12.0 ± 0.00
10	4.24 ± 0.00	0.19 ± 0.00	12.0 ± 0.00
11	4.19 ± 0.00	0.20 ± 0.00	12.0 ± 0.00
12	4.19 ± 0.03	0.20 ± 0.00	12.0 ± 0.00
13	3.83 ± 0.00	0.26 ± 0.00	12.3 ± 0.00
14	3.87 ± 0.02	0.25 ± 0.00	11.7 ± 0.00
15	3.89 ± 0.00	0.24 ± 0.00	11.7 ± 0.00
16	3.88 ± 0.00	0.25 ± 0.00	11.5 ± 0.00
17	3.90 ± 0.01	0.25 ± 0.02	12.2 ± 0.00
18	3.92 ± 0.00	0.25 ± 0.00	12.0 ± 0.00
19	3.93 ± 0.00	0.26 ± 0.00	12.0 ± 0.00
20	3.92 ± 0.00	0.26 ± 0.00	12.0 ± 0.00
21	4.24 ± 0.00	0.20 ± 0.00	12.0 ± 0.00
22	4.27 ± 0.01	0.19 ± 0.00	11.5 ± 0.00
23	4.25 ± 0.00	0.19 ± 0.00	11.5 ± 0.00
24	4.24 ± 0.00	0.20 ± 0.00	11.5 ± 0.00

Çizelge 4.1'in devamı

25	4.21 ± 0.01	0.21 ± 0.00	12.0 ± 0.00
26	4.23 ± 0.00	0.18 ± 0.00	11.5 ± 0.00
27	4.21 ± 0.01	0.20 ± 0.00	11.6 ± 0.00
28	4.24 ± 0.00	0.20 ± 0.00	12.0 ± 0.00
29	4.22 ± 0.00	0.22 ± 0.00	12.1 ± 0.00
30	4.24 ± 0.00	0.20 ± 0.00	12.0 ± 0.00
31	4.24 ± 0.00	0.21 ± 0.00	12.0 ± 0.00
32	4.24 ± 0.00	0.21 ± 0.00	12.0 ± 0.00

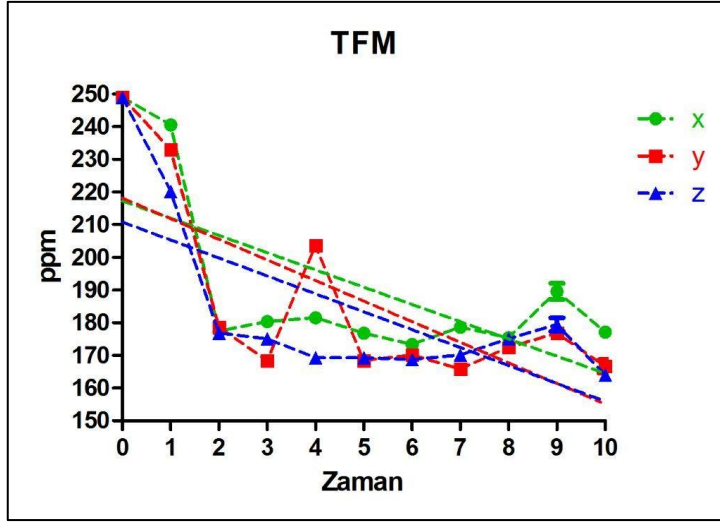
Çalışmada elma suyunun pH değeri 3.84 ± 0.05 ve titrasyon asitliği $\%0.27 \pm 0.06$ olarak bulunmuştur. Ülkemizdeki elma sularının pH değerleri ise 3.5-4.2 arasında değişmekte olup bulunan değer bu sınırlar içerisinde yer almaktadır. Titrasyon asitliği ise elma cinslerine göre değişmekte olup Golden cinsi elmada 2.51-2.56 g/kg, Amasya çeşidinde 0.81-0.82 g/kg ve Hüryemez çeşidinde ise 6.90-7.09 g/kg olarak belirtilmiştir (Kolukisa vd 1990). L örneğinin pH değeri 3.830 ± 0.00 olup kontrol ile arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ve en düşük pH bu örnekler aittir ($p > 0.05$). Kontrol örneğine (K) göre pH değerinde göre en fazla artış aktif kömürün uygulandığı A, LA, LAP ve AP örneklerinde olmuştur. İstatistiksel olarak bu dört örnek arasında fark önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). pH değerinin artması ortamın asitliğinin azalmasına ve nihai üründe asitliğin hissedilmemesine sebebiyet vereceğinden pH değerinin artması istenen bir durumdur. Buna paralel olarak bu örneklerdeki titrasyon asitliği miktarı diğer uygulamalara göre daha az bulunmuştur. En yüksek titrasyon asitliği miktarı ise birbirinden farkları istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte K, P, L ve LP örneklerinde olmuştur. Titrasyon asitliği üzerine UF'nin etkisi önemli düzeyde bulunmamıştır; yani 10, 30 ve 50 kDa'dan geçen örnekle geçmeyen örnek arasında titrasyon asitliği bakımından fark bulunmamaktadır. Youn vd (2004) yaptıkları çalışmada 20 °C'de 130 d/d'de 60 dakika $\%0.2$ PVPP kullanımı ile $\%0.31$ olan elma suyundaki titrasyon asitliği miktarını $\%0.29$ 'a, $\%1$ aktif kömür uygulanan örnekte ise $\%0.30$ 'a düşüğünü belirlemişlerdir. Ultrafiltrasyon uygulaması sonrası ise bu değerler kontrol örneğinde $\%0.28$ olup PVPP uygulanan örnekte $\%0.29$ ve aktif kömür uygulanan örnekte $\%0.27$ olarak bulunmuşlardır. Briks değerleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli bulunmamakta olup uygulamalarda kullanılan seyreltilmiş elma suyu 12 ± 1 briks olduğunda var olan farklılık bundan ileri gelmektedir.

4.2. Ön Denemeler

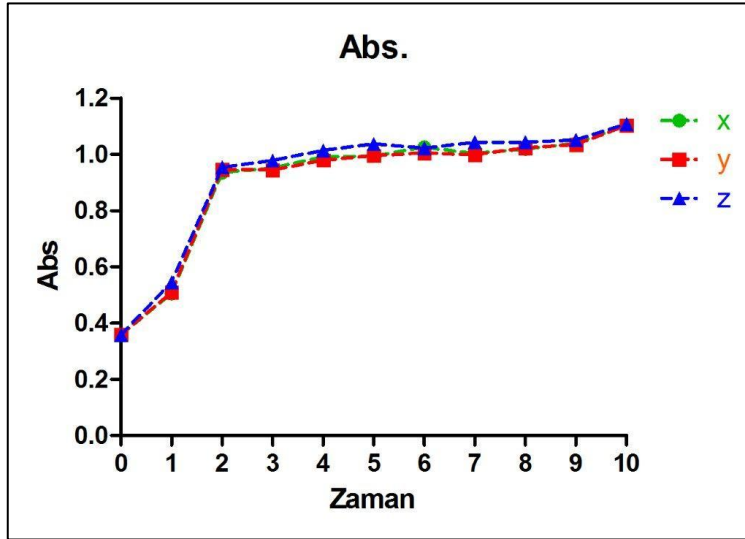
4.2.1. Lakkaz enzim miktarının belirlenmesi

Elma suyu konsantresi 12 °Bx'e su ile seyreltilip, örneklere eklenecek lakkaz enzim miktarının belirlenmesi için enzimin sağlandığı firmanın belirttiği miktar düzeyine göre 100 µL/L, 200 µL/L ve 300 µL/L olarak üç farklı miktar belirlenip 4 saat süresince 50 °C' de 120 d/d karıştırma hızında su banyosunda oksidasyona bırakılmıştır. Bu süre içinde ortama enzim etkinliği için gerekli oksijen verilmiştir. Optimum enzim miktar belirlenmesi için başlangıç, enzim eklendiğinde (0. dakika örneğinde) ve 30 dakikada bir örnek alınarak 95 °C'de 5 dk enzim inaktivasyonu sağlanıp bu örneklerde toplam fenolik madde analizi ve 420 nm'de absorban ölçümü yapılmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Lakkaz enziminin fenolik bileşiklerin oksidasyonu ve polikondensasyonunu sağlaması ile toplam fenolik bileşik içeriğinde düşme miktarına ve rengin koyulaşması sonucunda ise 420 nm absorbanstaki maksimum miktara göre optimum miktar belirlenmiştir.

Şekil 4.1'de 30 dk sonra alınan örneklerdeki toplam fenolik madde miktarında ciddi bir düşüş görülmektedir. 4 saat süresince zaman zaman miktarlarda dalgalanma olmasına rağmen TFM miktarındaki azalma zamanla artmıştır. Şekil 4.2'de ise TFM miktarına paralel olmakla birlikte 30 dk sonraki örneklere ait absorban değerlerinde yüksek artış görülmüştür. Zamanla bu artış devam etmiştir; ancak yüksek oranlarda değildir. TFM ve absorban değerine bakılarak istatistiki değerlendirme sonucu en iyi lakkaz enzim miktarı 200 µL/L olarak bulunmuştur.



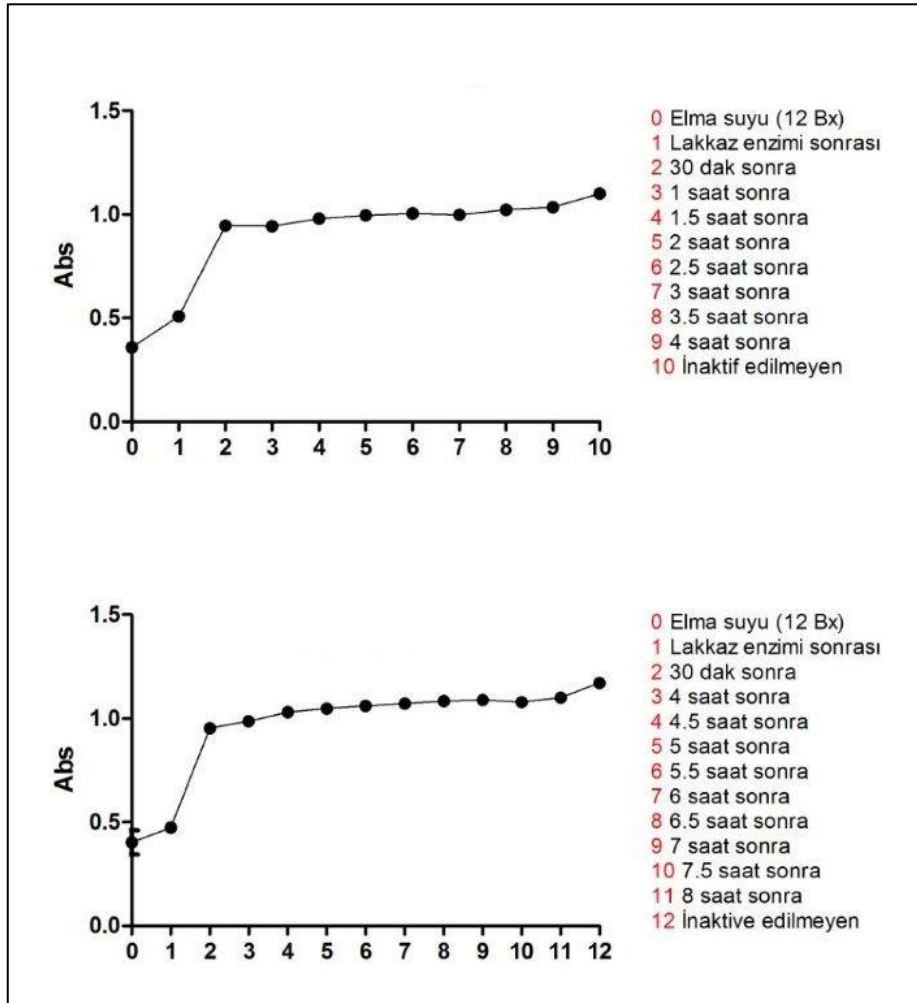
Şekil 4. 1. Üç farklı konsantrasyonda lakkaz enzimi uygulanmış örneklere ait toplam fenolik madde miktarındaki değişim



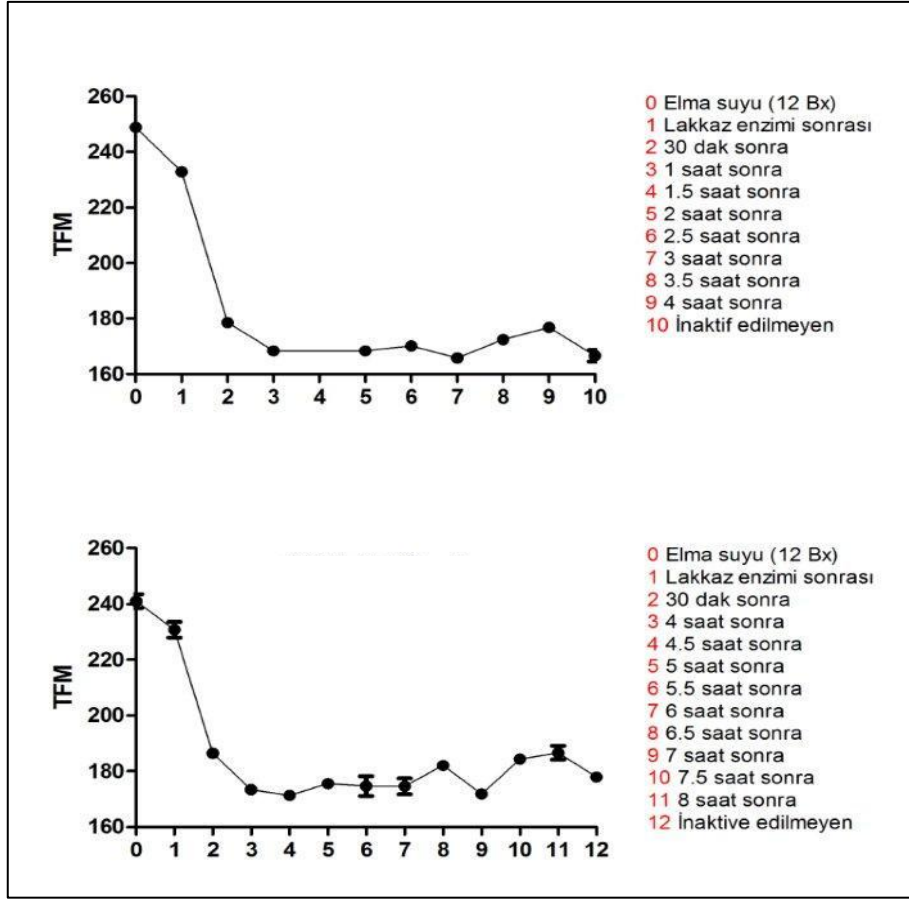
Şekil 4.2. Üç farklı konsantrasyonda lakkaz enzimi uygulanmış örneklere ait absorbanstaki değişim

Ön denemelerde ayrıca pH etkisine bakılma amaçlı elma suyunun kendi pH değeri ile pH 4.5 karşılaştırılmış olup asitliği değiştirmeye gerek olmadığı tespit edilmiştir. Belirlenen optimum miktarda ise en uygun inkübasyon süresini bulmak için 8 saat süresince inkübasyona bırakılarak belirli aralıklarla örnek alınıp, inaktif edilip aynı

analizler yapılmış olup optimum süre belirlenmiştir. Şekil 4.3'te 4 ve 8 saat süren inkübasyonlarda yarım saatte bir alınan örneklere ait absorbans miktarları verilmektedir. 4 saatten sonraki absorbans artışları önemli düzeyde olmamıştır. TFM miktarındaki azalma absorbans değeriyle paralel özellik göstermiş olup 4 saat inkübasyon süresi yeterli bulunmuştur.



Şekil 4. 3. Lakkaz enzim uygulaması üzerine sürenin absorbans miktarına etkisi



Şekil 4. 4. Lakkaz enzim uygulaması üzerine sürenin toplam fenolik madde miktarına etkisi

Giovanelli ve Ravasini (1993) elma suyunu 50 mg/L lakkaz enzimi ile 4-6 saat muamele edip absorbans, TFM, bulanıklık analizleri yapmışlardır. Maksimum absorbans değerini yaklaşık 1 olarak bulmuş olup 2-3 saat uygulama süresinin yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Ön denemeler tamamlandıktan sonra çalışmada fermentör (Sartorius Stedim Biostat B plus) kullanılmış olup fermentöre 12 °Bx elma suyu konarak sistem 50 °C'ye ayarlanıp istenen sıcaklığa ulaştığında 200 µL/L enzim eklenip 300 d/d'de enzim aktivitesinin artması için sisteme sürekli olarak oksijen verilerek 4 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda enzim inaktivasyonu için 95 °C'de 5 dk otoklavlanmıştır. Fermentör, tek seferde fazla miktarda örnek ile çalışmayı, koşulların sabit kalmasını, sisteme sürekli ve homojen olarak hava vermeyi sağladığı için tercih edilmiştir.

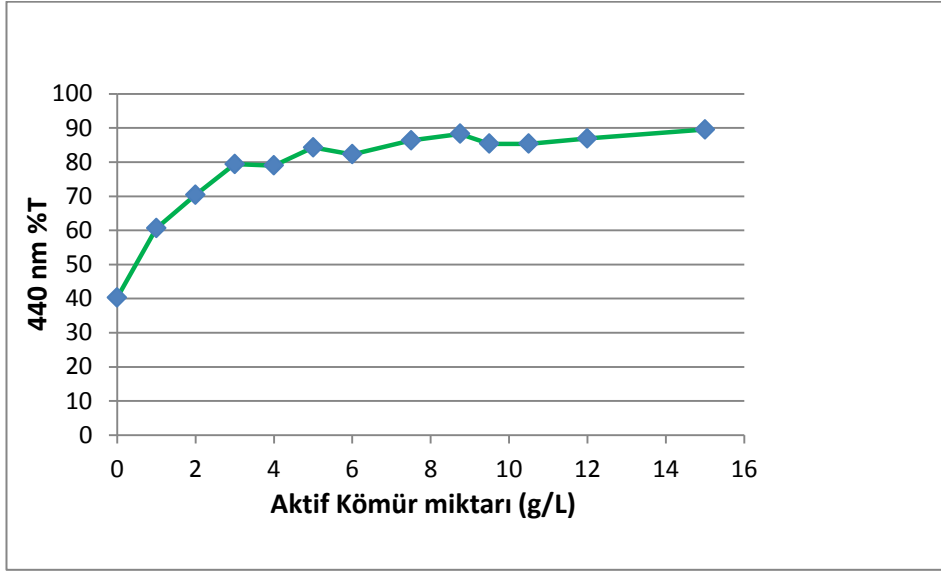
4.2.2. Aktif kömür ve PVPP miktarlarının belirlenmesi

Ön denemelerde eklenecek miktarları belirlemek için 1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 5 g/L, 6 g/L, 7.5 g/L, 8.75 g/L, 9.5 g/L, 10.5 g/L, 12 g/L ve 15 g/L olmak üzere on iki farklı miktar belirlenmiş olup bu miktarlar aktif kömür ve PVPP için ayrı ayrı denenmiştir. Uygulamalar çalkalamalı inkübatörde oda sıcaklığında (25 °C), 150 d/d'de 20 dk süresince yapılmıştır. Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da uygulanan on iki farklı miktara göre okunan %T değerlerine ait grafik yer almaktadır. Miktar arttıkça %T değerinde de artış meydana gelmiştir. Farklı miktarlarda aktif kömür ve PVPP kullanılması ile %T değerleri ve renkte meydana getirdiği açılma oranı iyileşme oranı olarak Çizelge 4.1'de verilmiştir. %T değeri en yüksek çıkan üç örnekte toplam fenolik madde tayini yapılarak fenolik bileşik miktarında en fazla azalma sağlayan düzey optimum olarak seçilmiştir. Bu miktarlar aktif kömür için 10.5 g/L, PVPP için 15 g/L olarak belirlenmiştir. Aktif kömür uygulanan örnek vakum filtrasyon sonrası ikiye ayrılarak birine PVPP uygulanıp tekrar vakum filtreden geçirilerek AP örneği elde edilmiştir.

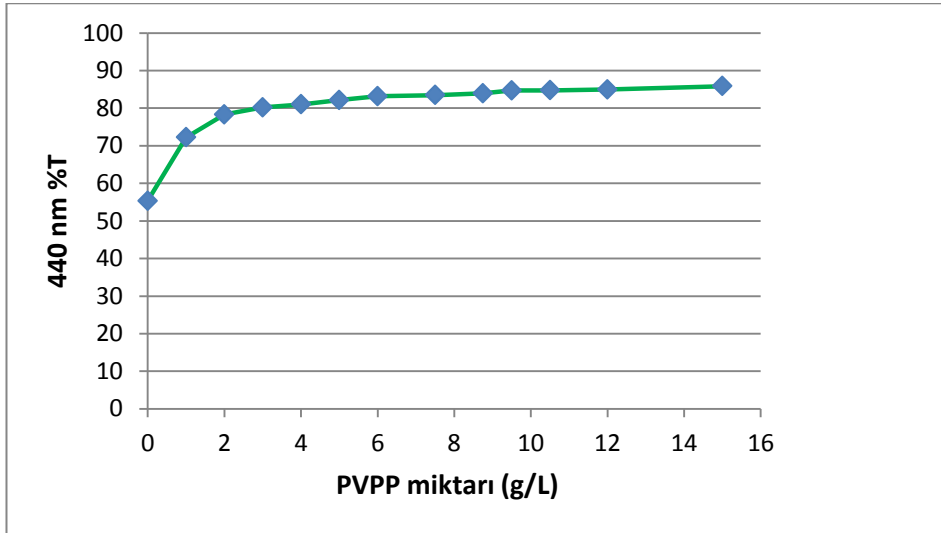
Çizelge 4. 2. Farklı miktarda uygulanan aktif kömür ve PVPP'nin elma suyu ışık geçirgenliğine etkisi

Eklene miktar (g/L)	Aktif Kömür	Renkte İyileşme Oranı (%)	PVPP	Renkte İyileşme Oranı (%)
	Transmittans (%)		Transmittans (%)	
0	40.3	--	55.3	--
1	60.6	50.37	72.2	30.54
2	70.4	74.69	78.3	41.58
3	79.4	97.08	80.1	44.96
4	79	96.03	80.9	46.43
5	83	109.12	82.1	48.53
6	84.2	104.09	83.1	50.39
7.5	86.3	114.19	84.1	50.91
8.75	88.2	118.98	83.9	51.74
9.5	85.3	111.79	84.6	53.12
10.5	85.3	111.79	84.7	53.23
12	86.9	115.63	84.9	53.61
15	89.5	122.21	85.8	55.18

Kolukisa vd (1990) %T değeri 36.2 olan elma suyunun 10 dk 8.75 g/L aktif kömürle muamelesi sonucu %T değerini 85.5 ve renkte iyileşme oranını %136.18 olarak bulmuşlardır.



Şekil 4. 5. Farklı miktarlardaki aktif kömür uygulaması ile transmittansta meydana gelen değişim



Şekil 4. 6. Farklı miktarlardaki PVPP uygulaması ile transmittansta meydana gelen değişim

4.3. Uygulamaların Toplam Fenolik Madde (TFM) Miktarı Üzerine Etkisi

Lakkaz enzimi, aktif kömür, PVPP ve bunların kombinasyonlarından oluşan uygulamalar ve farklı ayırma sınırlarındaki membranlardan geçirilmeleriyle oluşan permealara ait toplam fenolik madde miktarları ve uygulamaların kontrol örneğiyle kıyaslanması sonucu meydana gelen azalma oranları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4. 3. Uygulamalara göre toplam fenolik miktarları ve kontrol örneğine göre bu miktarlardaki azalma (mg/L)

Örnek	Membran (kDa)	TFM (mg/L)	Azalma (%)	
Kontrol	-	246.7 ± 3.58	-	
K	10	137.1 ± 1.00	44.4	
	30	156.7 ± 1.02	36.4	
	50	192.7 ± 3.42	21.9	
	-	103.0 ± 2.92	58.2	
P	10	97.5 ± 3.22	60.4	
	30	101.6 ± 2.37	58.8	
	50	95.9 ± 0.52	61.1	
	-	20.9 ± 0.08	91.5	
A	10	20.4 ± 0.20	91.7	
	30	20.0 ± 0.34	91.8	
	50	20.1 ± 0.52	91.8	
	-	163.5 ± 4.83	33.7	
L	10	76.4 ± 1.91	69.0	
	30	74.9 ± 0.08	69.6	
	50	91.1 ± 0.54	63.0	
	-	79.4 ± 3.02	67.8	
LP	10	66.6 ± 0.70	72.9	
	30	68.0 ± 0.83	72.4	
	50	79.6 ± 2.32	67.7	
	-	27.3 ± 0.43	88.9	
LA	10	21.0 ± 0.52	91.4	
	30	19.7 ± 0.27	91.9	
	50	20.5 ± 0.53	91.6	
	-	24.3 ± 0.37	90.1	
LAP	10	20.3 ± 0.43	91.7	
	30	21.0 ± 0.39	91.4	
	50	23.2 ± 0.78	90.5	
	-	25.4 ± 0.37	89.6	
AP	10	21.9 ± 0.55	91.1	
	30	21.1 ± 0.37	91.4	
	50	22.9 ± 0.47	90.7	

12 °Bx elma suyuna ait TFM 246.78 mg/L bulunmuş olup K10 örneği için bu miktar 137.16 mg/L, K30 örneği için 156.78 mg/L ve K50 örneği için 192.715 mg/L'dir. Gardner vd (2000) elma suyunun fenolik madde içeriğini 339±43 mg/kg olarak bildirmişlerdir. Artık ve Murakami (1997) 6 farklı elma suyu konsantrisinde yaptıkları toplam fenolik madde analiz sonuçlarının 287.242-1032.52 mg/L olarak değişim sınırlarını belirlemişlerdir. Çizelge 4.3'te de görüldüğü üzere membran ayırma sınırlarının kontrol örneğinde TFM üzerine etkisi önemli olup en fazla azalma 10 kDa ayırma sınırına sahip membranla elde edilmiştir. En fazla azalma sağlayan uygulama ise aktif kömür uygulaması olup bunu aktif kömürün yer aldığı diğer uygulamalar takip etmektedir. Çalışmada elma suyunu renksizleştirme amaçlandığı için TFM miktarında maksimum azalma sağlayan uygulama aranmıştır. Çizelge 4.4'te toplam fenolik madde konsantrasyonunun uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan membranın ayırma sınırına göre değişiminin istatistiki olarak incelendiği Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonucu farklı uygulama ve farklı ayırma sınırında elde edilen permeatlarda TFM konsantrasyonunun önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir (p<0.01).

Çizelge 4.4. Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre toplam fenolik madde miktarlarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (mg/L)

Uygulama	N	Ort. Değer (mg/L)	Uygulama	N	Ort. Değer (mg/L)	Membran (kDa)	N	Ort. Değer (mg/L)
K	16	183.362 ^a ± 2.258	LP	16	73.457 ^c ± 1.720	-	32	86.378 ^a ± 1.954
P	16	99.554 ^b ± 2.259	LA	16	22.199 ^d ± 0.443	10	32	57.700 ^d ± 0.946
A	16	20.411 ^d ± 0.289	LAP	16	22.257 ^d ± 0.497	30	32	60.459 ^c ± 0.712
L	16	101.538 ^b ± 1.846	AP	16	22.868 ^d ± 0.441	50	32	68.286 ^b ± 1.140

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir (p<0.05).

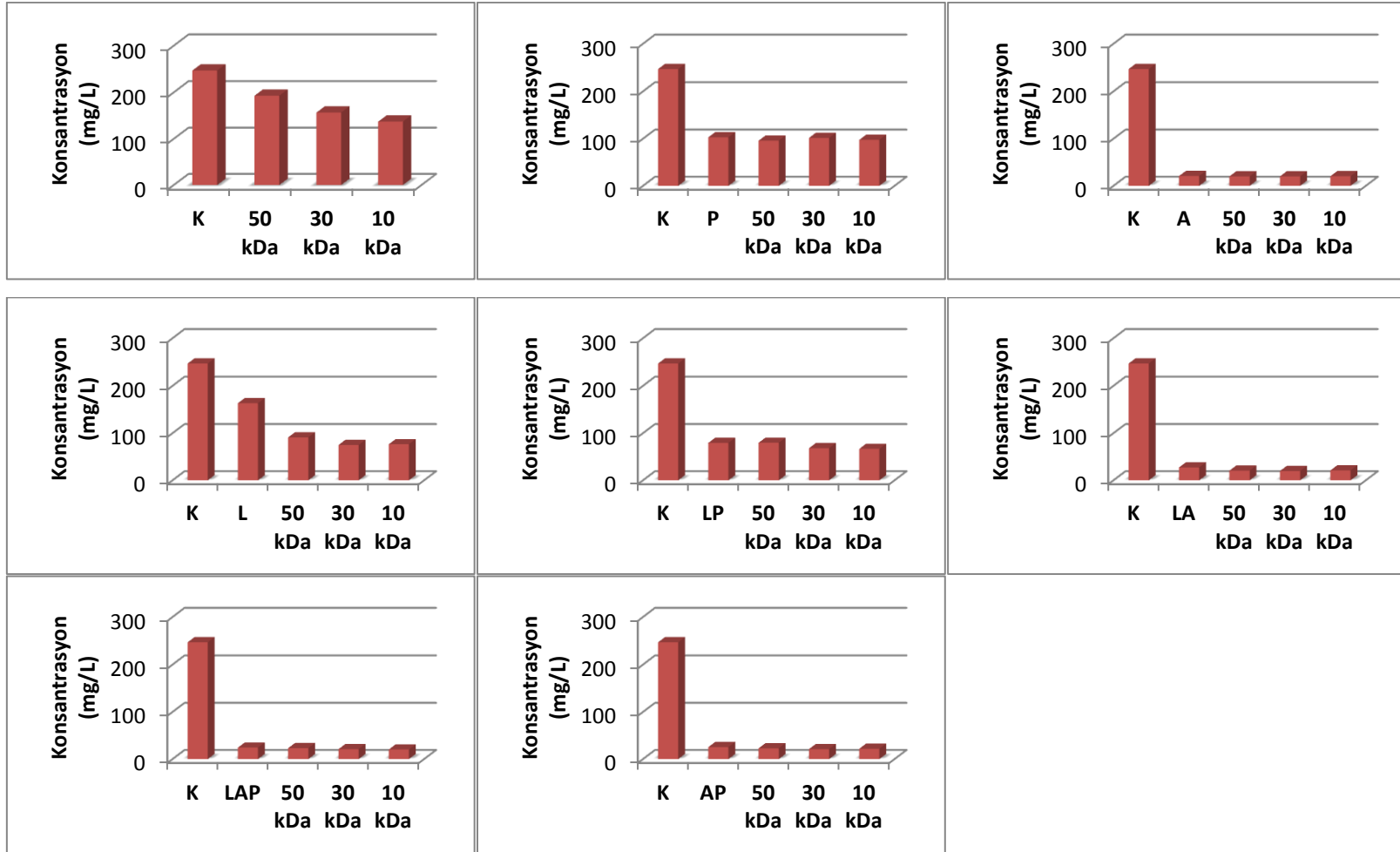
TFM miktarında en fazla azalmanın olduğu uygulamalar A, LA, LAP ve AP olup bu uygulamalar arasında fark yoktur. Bu durum, aktif kömür uygulamasının TFM miktarında maksimum azalmanın sağlanması için tek başına yeterli olabileceğini ortaya koymaktadır. İkinci önemli düzeyde azalma sağlayan uygulama ise 73.457 mg/L miktar ile LP uygulamasıdır. P ve L uygulamaları arasında önemli düzeyde fark olmamakla birlikte sırasıyla bu miktarlar 99.554 ve 101.538 mg/L'dir.

Ultrafiltrasyon uygulamasında kullanılan farklı membran ayırma sınırları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Ultrafiltrasyon öncesi uygulamalara kıyasla TFM miktarındaki en fazla azalış, 10 kDa membranda görülmüştür. Membran ayırma sınırı düştükçe TFM konsantrasyonunda da azalma görülmektedir; ancak, membran ayırma sınırı düştükçe permeatın alınma süresi uzamakta membrandan geçiş yavaşlamaktadır.

Lakkaz uygulanan örnekler bakıldığında diğer uygulamalardan farklı bir durum söz konusu olup lakkaz enziminin fenolik bileşikleri okside etmesi sonucu oluşan polimer bileşikler daha büyük moleküller olduğundan ultrafiltrasyonda membranda tutulmaları sonucu TFM miktarında azalma UF sonrasında daha çok görülmektedir. Lakkaz uygulanmış örnekte TFM miktarındaki azalma %33.71 iken 10, 30 ve 50 kDa membrandan geçirilmesiyle bu azalma sırasıyla %69.02, %69.62 ve %63.08'dir. Görüldüğü gibi UF sonrası azalma iki kattan fazla artmış olup, TFM miktarındaki azalma üzerine ultrafiltrasyonun etkisi en çok lakkaz uygulanan örnekte olmuştur.

Ultrafiltre edilmeyen lakkaz enzimi, aktif kömür ve PVPP uygulanan örnekler kıyaslandığında %91.53 oranla en fazla TFM miktarında azalmayı aktif kömür sağlamıştır. PVPP uygulanan örnekte ise azalış %58.24, lakkaz uygulamasında ise %33.71'dir. Ancak lakkaz enzimi uygulaması ile ultrafiltrasyon kombinasyonu gerekli olup UF'den geçtikten sonra kıyaslandığında ise yine en fazla azalma aktif kömür uygulamasında olup, ardından lakkaz enzim uygulaması gelmektedir. Lakkaz enzimi PVPP'ye göre TFM'de daha fazla azalma meydana getirmektedir. İkisinin kombinasyonunda (LP) ise sonuç ayrı ayrı uygulanmalarına göre daha etkili olmaktadır. Şekil 4.5'te sekiz uygulama ve bunların farklı membran ayırma sınırları kullanılarak ultrafiltre edilmesi ile oluşan TFM miktarları her grafikte kontrol örneğiyle kıyaslamalı olarak verilmiştir.

Çoklar (2007) 265.96 mg/L TFM miktarına sahip elma suyuna 30 °C'de 15 dk 3 g/L aktif kömür muamelesi sonucu TFM miktarını 67.76 mg/L, azalma oranını %74.5 olarak bulmuştur.



Şekil 4. 7. Uygulamalara göre TFM miktarlarındaki değişimin kontrol örneğiyle karşılaştırılması

4.4. Uygulamaların Renk Parametreleri (L , a , b) Üzerine Etkisi

Lakkaz enzimi, aktif kömür, PVPP ve bunların kombinasyonlarından oluşan uygulamalar ve farklı ayırma sınırlarındaki membranlardan geçirilmeleriyle oluşan permeatlara ait L , a , b değerleri ve renkteki değişim (ΔE) Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4. 5. Uygulamalara göre elma suyundaki renk parametrelerindeki değişim

Örnek	Membran (kDa)	L	a	b	ΔE
K	-	22.01 ± 0.00	0.25 ± 0.01	4.25 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	10	23.29 ± 0.01	0.95 ± 0.01	3.86 ± 0.02	1.81 ± 0.01
	30	23.17 ± 0.01	-0.70 ± 0.02	3.94 ± 0.02	1.54 ± 0.02
	50	22.81 ± 0.01	-0.40 ± 0.01	4.40 ± 0.00	1.04 ± 0.01
P	-	22.71 ± 0.00	-0.65 ± 0.01	3.36 ± 0.00	1.46 ± 0.00
	10	23.55 ± 0.01	-1.07 ± 0.01	3.67 ± 0.01	2.12 ± 0.00
	30	23.41 ± 0.01	-1.06 ± 0.02	3.73 ± 0.01	2.00 ± 0.01
	50	23.30 ± 0.01	-0.76 ± 0.01	3.18 ± 0.00	1.98 ± 0.01
A	-	23.50 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.40 ± 0.00	4.16 ± 0.00
	10	23.50 ± 0.00	-0.01 ± 0.01	0.41 ± 0.00	4.15 ± 0.00
	30	23.40 ± 0.00	-0.00 ± 0.01	0.47 ± 0.00	4.06 ± 0.00
	50	23.42 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.51 ± 0.01	4.02 ± 0.01
L	-	20.87 ± 0.00	1.42 ± 0.01	2.90 ± 0.00	2.12 ± 0.00
	10	23.39 ± 0.00	-1.21 ± 0.00	4.70 ± 0.00	2.07 ± 0.00
	30	22.76 ± 0.00	-0.87 ± 0.01	4.52 ± 0.00	1.38 ± 0.01
	50	22.72 ± 0.00	-0.52 ± 0.01	4.73 ± 0.01	1.16 ± 0.01
LP	-	23.27 ± 0.23	-0.32 ± 0.01	3.75 ± 0.02	1.51 ± 0.21
	10	23.32 ± 0.00	-1.05 ± 0.00	4.31 ± 0.00	1.85 ± 0.00
	30	23.15 ± 0.00	-0.92 ± 0.01	4.45 ± 0.01	1.65 ± 0.01
	50	22.89 ± 0.01	-0.78 ± 0.01	4.43 ± 0.00	1.37 ± 0.00
LA	-	22.43 ± 0.01	0.07 ± 0.01	1.07 ± 0.00	3.23 ± 0.00
	10	23.17 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.40 ± 0.02	4.05 ± 0.01
	30	23.17 ± 0.03	0.04 ± 0.01	0.45 ± 0.02	4.00 ± 0.02
	50	23.20 ± 0.03	0.07 ± 0.00	0.46 ± 0.00	3.99 ± 0.01
LAP	-	22.60 ± 0.01	0.01 ± 0.02	0.94 ± 0.00	3.39 ± 0.00
	10	23.51 ± 0.00	0.02 ± 0.02	0.30 ± 0.00	4.25 ± 0.00
	30	23.43 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.35 ± 0.01	4.18 ± 0.01
	50	23.72 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.33 ± 0.00	4.30 ± 0.00
AP	-	22.87 ± 0.01	0.05 ± 0.00	0.66 ± 0.01	3.71 ± 0.01
	10	23.56 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.44 ± 0.01	4.14 ± 0.01
	30	23.47 ± 0.04	0.00 ± 0.01	0.50 ± 0.01	4.05 ± 0.02
	50	23.45 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.51 ± 0.00	4.03 ± 0.00

L değeriindeki artış rengin açıldığını ifade etmekte olup istatistiksel olarak uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek *L* değeri aktif kömür uygulaması sonucunda bulunmuştur. Daha sonra AP ve LAP örnekleri gelmektedir. En düşük *L* değeri ise *L* örneğinde olup lakkaz enzimi uygulaması sonucu fenolik bileşikler okside olduğundan renk koyulaşmaktadır. Ultrafiltrasyonun etkisi kontrolle kıyaslandığında ise *L* değeri üzerine en fazla 10 kDa membranın etkili olduğu ve değişimin artış yönünde olduğu belirlenmiştir.

a değeriindeki değişim açısından uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Uygulamaların ultrafiltrasyonla ikili interaksiyonu sonucunda kontrole ait *a* değeri -0.44 olup en yüksek *a* değeri 0.05 ile LA örneği, en düşük ise -0.88 ile P örneğidir. PVPP uygulaması ile elma suyunun renginin kırmızılığının azalıp yeşil tonu hakimiyeti artmıştır. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranlar arasındaki fark da önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Ultrafiltrasyonda 10 kDa membran kullanımı yeşil tonu artırmıştır.

b değeriindeki değişim bakımından da Uygulamalar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Uygulamaların ultrafiltrasyonla ikili interaksiyonu sonucunda kontrole ait *b* değeri 4.11 olup en yüksek *b* değerleri 4.23 ve 4.21 ile L ve LP örneklerine, en düşük 0.44 ile A örneğine aittir. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranlar arasındaki fark da önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Youn vd (2004) elma suyunun *L*, *a* ve *b* değerlerini sırasıyla 41.33, -2.51 ve 2.22 olarak bulmuşlardır. Elma suyunun 20 °C'de 60 dk 10 g/L aktif kömürle muamele edilmesinden sonra bu değerleri 38.97, -1.94 ve 1.46; 30 kDa membrandan ultrafiltre edilmesi ile 32.54, -1.06 ve 5.49 olarak bildirmişlerdir.

Çizelge 4.6'da toplam renk değişiminin (ΔE) uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre istatistiki olarak incelendiği Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonucu uygulama ve farklı ayırma sınırında elde edilen permeatlarda önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Kontrol örneğine ait ΔE değeri 1.10'dur. A, LAP ve AP uygulamaları arasındaki fark önemsiz olup ΔE değerleri

sırasıyla 4.10, 4.03 ve 3.98'dir. En fazla renk değişimi bu uygulamalar sonucunda tespit edilmiştir. ΔE değerindeki artış istenen bir durum olup bu artış için tek başına aktif kömür uygulamasının yeterli olduğu görülmektedir. Ultrafiltrasyonda kullanılan membranlar arasındaki farkın etkisi önemli bulunmuş olup en yüksek renk değişimi 10 kDa membran kullanımı ile görülmüştür ($p < 0.01$). Aktif kömür uygulaması tek başına ele alındığında ise 10, 30 ve 50 kDa membran kullanımı sonrası permeatlarla kıyaslanarak istatistiki olarak değerlendirildiğinde membranlar arası fark önemlidir ($p < 0.01$). En fazla renk değişimi ise A ve A10 örneğinde görülmüştür. Dolayısıyla ultrafiltre edilmeksizin aktif kömür uygulaması tek başına yeterli gelmektedir.

Çizelge 4. 6. Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre toplam renk değişimine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Uygulama	N	Ort. Değer (ΔE)	Uygulama	N	Ort. Değer (ΔE)	Membran (kDa)	N	Ort. Değer (ΔE)
K	16	1.10 ^g \pm 0.016	LP	16	1.59 ^f \pm 0.059	-	32	2.45 ^d \pm 0.033
P	16	1.89 ^d \pm 0.011	LA	16	3.82 ^c \pm 0.066	10	32	3.05 ^a \pm 0.010
A	16	4.10 ^a \pm 0.007	LAP	16	4.03 ^b \pm 0.008	30	32	2.85 ^b \pm 0.016
L	16	1.68 ^e \pm 0.010	AP	16	3.98 ^b \pm 0.015	50	32	2.73 ^c \pm 0.012

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir ($p < 0.05$).

4.5. Uygulamaların Transmittans Renk (%T) ve Absorbans (A_{420}) Üzerine Etkisi

Transmittans renk tayini ve absorbans ölçümü arasında ters orantı mevcuttur. Analiz edilecek örneğin rengi koyulaştıkça 420 nm'de absorbans ölçüm değerinde artış, transmittans değerinde azalış görülmektedir. Transmittans renk tayini birçok çalışmada (Kolukisa vd 1990, Tülek ve Yılmaz 2006, Kadakal vd 2004) yer almış olup daha çok aktif kömür ve PVPP kullanımının olduğu uygulamalarda baz alınacak bir kriter olarak tanımlanmıştır. 420 nm'de absorbans ölçümünün ise renkteki esmerleşme hakkında fikir veren olup lakkaz uygulamalarında kullanılan bir yöntem olarak ifade edilmektedir (Giovanelli ve Ravasini 1993, Borneman vd 2001, Carrin vd 2007). Çizelge 4.7'de uygulamalara ve farklı ayırma sınırına sahip membran kullanımına göre elde edilen %T ve absorbans değerleri yer almaktadır.

Çizelge 4. 7. Uygulamalara göre transmittans (%T) ve absorbanstaki değişim

Örnek	Membran (kDa)	Transmittans (%T)	Absorbans (A_{420})
K	-	56.5 ± 0.06	0.33 ± 0.00
	10	87.1 ± 0.22	0.07 ± 0.00
	30	80.8 ± 0.13	0.11 ± 0.00
	50	70.8 ± 0.11	0.19 ± 0.00
P	-	77.8 ± 0.09	0.12 ± 0.00
	10	85.8 ± 0.12	0.05 ± 0.00
	30	84.7 ± 0.20	0.07 ± 0.00
	50	83.7 ± 0.11	0.08 ± 0.00
A	-	92.5 ± 0.21	0.04 ± 0.00
	10	100.0 ± 0.00	0.01 ± 0.00
	30	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	50	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
L	-	20.5 ± 2.25	1.06 ± 0.00
	10	61.6 ± 0.14	0.26 ± 0.00
	30	59.2 ± 0.05	0.28 ± 0.00
	50	50.2 ± 0.10	0.37 ± 0.00
LP	-	53.0 ± 1.84	0.33 ± 0.01
	10	65.2 ± 0.34	0.23 ± 0.00
	30	62.1 ± 0.04	0.25 ± 0.00
	50	58.9 ± 0.02	0.28 ± 0.00
LA	-	90.1 ± 0.08	0.06 ± 0.00
	10	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	30	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	50	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
LAP	-	94.6 ± 0.02	0.03 ± 0.00
	10	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	30	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	50	100.0 ± 0.00	0.00 ± 0.00
AP	-	94.9 ± 0.06	0.02 ± 0.00
	10	98.8 ± 0.18	0.00 ± 0.00
	30	98.9 ± 0.08	0.01 ± 0.00
	50	98.7 ± 0.12	0.01 ± 0.00

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi transmittanstaki değişimin uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre istatistiki olarak incelendiği Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonucu uygulama ve farklı ayırma sınırında elde edilen permeatlarda önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$). Kontrol örneğinin transmittans değeri %73.83 olarak saptanmıştır. İstatistiksel olarak en yüksek %T değerine sahip örnekler, aralarında önemli bir fark bulunmamakla birlikte, A, LA, LAP ve AP örnekleridir. Bu değerler sırasıyla %98.14, %97.53, %98.65 ve %97.88 olarak saptanmıştır. İkinci önemli azalma ise %83.05 ile P örneğinde olmuştur.

K örneğine göre en düşük değerler L ve LP örneklerine ait olup bunun sebebinin lakkaz enzimi uygulaması ile okside olan fenolik bileşiklerden kaynaklı rengin koyulaşması olduğu düşünülmüştür. Ancak görülmektedir ki; LA örneğinde de lakkaz uygulaması söz konusu iken renkte açılma oranı LP örneğine göre daha yüksektir. Bu durum aktif kömürün lakkaz enziminin uygulandığı örneklerde PVPP uygulamasına göre %T bakımından daha başarılı olduğunu göstermektedir. Ultrafiltrasyonda kullanılan membran ayırma sınırları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek %T değeri 10 kDa ayırma sınırına sahip membran kullanımıyla sağlanmıştır.

Çizelge 4. 8. Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre transmittans rengine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (%T)

Uygulama	N	Ort. Değer (%T)	Uygulama	N	Ort. Değer (%T)	Membran (kDa)	N	Ort. Değer (%T)
K	16	73.831 ^c ± 0.134	LP	16	59.856 ^d ± 0.565	-	32	72.534 ^d ± 0.580
P	16	83.056 ^b ± 0.135	LA	16	97.537 ^a ± 0.021	10	32	87.350 ^a ± 0.127
A	16	98.143 ^a ± 0.054	LAP	16	98.650 ^a ± 0.006	30	32	85.743 ^b ± 0.064
L	16	47.925 ^e ± 0.637	AP	16	97.887 ^a ± 0.114	50	32	82.818 ^c ± 0.060

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi absorbanstaki değişimin uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre istatistiki olarak incelendiği Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonucu uygulama ve farklı ayırma sınırında elde edilen permeatlarda önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Kontrol örneğinin 420 nm'deki absorban değeri 0.181'dir. Lakkaz enzimi uygulaması ile bu değer 0.497, lakkaz ve PVPP uygulaması ile 0.277 olmuştur. Diğer uygulamalarda ise absorban değerinde düşme görülmektedir. A, LA, LAP ve AP uygulamaları arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$).

Çizelge 4.9.Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre absorbansa ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları

Uygulama	N	Ort. Değer (A ₄₂₀)	Uygulama	N	Ort. Değer (A ₄₂₀)	Membran (kDa)	N	Ort. Değer (A ₄₂₀)
K	16	0.181 ^c ± 0.003	LP	16	0.277 ^b ± 0.005	-	32	0.253 ^a ± 0.004
P	16	0.084 ^d ± 0.003	LA	16	0.017 ^e ± 0.001	10	32	0.119 ^d ± 0.000
A	16	0.013 ^e ± 0.001	LAP	16	0.011 ^e ± 0.001	30	32	0.094 ^c ± 0.001
L	16	0.497 ^a ± 0.003	AP	16	0.013 ^e ± 0.000	50	32	0.079 ^b ± 0.001

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir (p<0.05).

4.6. Uygulamaların Bulanıklık (NTU) Üzerine Etkisi

Çizelge 4.10'da, bulanıklık değerindeki değişimin uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre uygulama ve farklı ayırma sınırında elde edilen permeatlarda önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir (p<0.01). Farklı ayırma sınırına sahip membranlar arasında istatistiksel olarak fark bulunmayıp (p>0.05) kontrol örneğine göre bulanıklık değerini düşürdükleri saptanmıştır. Ultrafiltrasyon uygulaması ile bulanıklık oluşturan unsurların membranlarda alıkonması sağlanmıştır.

Çizelge 4. 10. Uygulamalara ve farklı membran ayırma sınırlarına göre bulanıklık değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (NTU)

Uygulama	N	Ort. Değer (NTU)	Uygulama	N	Ort. Değer (NTU)	Membran (kDa)	N	Ort. Değer (NTU)
K	16	0.865 ^f ± 0.062	LP	16	0.704 ^g ± 0.020	-	32	4.759 ^a ± 0.097
P	16	1.543 ^c ± 0.024	LA	16	1.361 ^d ± 0.062	10	32	0.244 ^b ± 0.020
A	16	1.134 ^e ± 0.027	LAP	16	2.234 ^a ± 0.024	30	32	0.177 ^b ± 0.012
L	16	1.045 ^e ± 0.049	AP	16	1.826 ^b ± 0.016	50	32	0.176 ^b ± 0.013

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir (p<0.05).

4.7. Uygulamaların Serbest Şeker Miktarı Üzerine Etkisi

Çizelge 4.11’de uygulamalara ve farklı ayırma sınırına sahip membranlar sonucu alınan örneklere (12 °Bx) ait sakaroz, glukoz, fruktoz ve bu üç şekerden oluşan toplam şeker miktarı yer almaktadır.

Çizelge 4. 11. Uygulamalara göre sakaroz, glukoz, fruktoz ve toplam şeker miktarları (g/L)

Örnek	Membran (kDa)	Sakaroz (g/L)	Glukoz (g/L)	Fruktoz (g/L)	Toplam şeker (g/L)
K	-	21.81 ± 0.38	24.23 ± 0.18	67.35 ± 0.74	113.40 ± 1.32
	10	20.88 ± 0.10	23.94 ± 0.16	66.37 ± 0.04	111.20 ± 0.01
	30	21.78 ± 0.38	23.88 ± 0.20	66.20 ± 0.14	111.87 ± 0.03
	50	21.29 ± 0.13	23.72 ± 0.26	65.12 ± 0.98	110.13 ± 1.39
P	-	17.62 ± 0.26	25.43 ± 0.20	66.27 ± 0.69	109.34 ± 0.63
	10	20.05 ± 0.48	22.43 ± 0.52	62.42 ± 1.36	104.90 ± 2.37
	30	19.98 ± 0.48	21.85 ± 0.01	60.36 ± 0.59	102.20 ± 1.07
	50	20.74 ± 0.35	23.43 ± 0.14	65.01 ± 0.14	109.18 ± 0.64
A	-	20.96 ± 0.12	23.75 ± 0.02	65.19 ± 0.30	109.91 ± 0.44
	10	20.44 ± 0.13	23.58 ± 0.30	60.80 ± 4.38	104.82 ± 4.55
	30	20.62 ± 0.11	23.60 ± 0.26	64.48 ± 0.14	108.72 ± 0.00
	50	20.85 ± 0.23	23.85 ± 0.27	64.73 ± 0.08	109.45 ± 0.42
L	-	20.25 ± 0.38	23.31 ± 0.53	65.58 ± 0.61	109.14 ± 0.29
	10	19.88 ± 0.02	23.20 ± 0.13	59.71 ± 4.13	102.79 ± 4.24
	30	19.99 ± 0.27	23.43 ± 0.07	64.45 ± 0.55	107.88 ± 0.91
	50	19.59 ± 0.37	23.28 ± 0.06	63.48 ± 0.03	106.35 ± 0.41
LP	-	21.18 ± 0.41	24.76 ± 0.24	67.57 ± 0.58	113.51 ± 1.24
	10	20.12 ± 0.44	24.57 ± 0.15	62.02 ± 3.31	106.72 ± 3.02
	30	20.32 ± 0.30	24.16 ± 0.67	62.09 ± 5.04	106.58 ± 6.02
	50	20.71 ± 0.34	24.27 ± 0.12	65.99 ± 0.33	110.99 ± 0.80
LA	-	18.88 ± 0.48	22.53 ± 1.02	61.46 ± 2.38	102.88 ± 3.90
	10	19.66 ± 0.13	23.27 ± 0.15	63.82 ± 0.14	106.76 ± 0.16
	30	19.29 ± 0.00	22.67 ± 0.01	62.99 ± 0.19	104.96 ± 0.18
	50	19.78 ± 0.12	23.68 ± 0.12	64.31 ± 0.29	107.78 ± 0.32
LAP	-	20.14 ± 0.06	23.97 ± 0.06	65.52 ± 0.53	109.63 ± 0.53
	10	19.22 ± 0.34	22.71 ± 0.82	61.54 ± 1.10	103.49 ± 2.27
	30	18.78 ± 0.43	22.64 ± 0.45	62.21 ± 0.72	103.64 ± 1.61
	50	20.28 ± 0.09	24.09 ± 0.21	65.85 ± 0.40	110.22 ± 0.70
AP	-	20.65 ± 0.27	23.28 ± 0.33	65.22 ± 0.10	109.15 ± 0.71
	10	21.25 ± 0.75	24.43 ± 0.52	67.40 ± 1.48	113.09 ± 2.75
	30	20.93 ± 0.30	24.29 ± 0.39	65.92 ± 0.22	111.15 ± 0.32
	50	21.64 ± 0.38	24.50 ± 0.24	67.24 ± 0.44	113.40 ± 1.07

Çizelge 4.12’de sakaroz miktarındaki değişimin uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre permeatlarda önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0.01$). Kontrol örneğine ait sakaroz miktarı 21.44 g/L olarak bulunmuş olup istatistiksel olarak A, LP ve AP örnekleri ile arasında fark bulunmamıştır. P, L, LA ve LAP örnekleri arasında istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir ve kontrolle aralarındaki fark önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 12. Uygulamalara göre sakaroz miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L)

Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)	Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)
K	16	21.442 ^a ± 0.254	LP	16	20.587 ^a ± 0.378
P	16	19.601 ^b ± 0.398	LA	16	19.406 ^b ± 0.189
A	16	20.723 ^a ± 0.153	LAP	16	19.607 ^b ± 0.231
L	16	19.929 ^b ± 0.265	AP	16	21.123 ^a ± 0.427

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.13’de glukoz miktarındaki değişimin uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre permeatlarda önemli düzeyde fark yoktur ($p>0.05$). Kontrol örneğine ait glukoz miktarı 23.94 g/L’dir.

Çizelge 4. 13. Uygulamalara göre glukoz miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L)

Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)	Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)
K	16	23.946 ^a ± 0.206	LP	16	24.444 ^a ± 0.378
P	16	23.289 ^a ± 0.220	LA	16	23.042 ^a ± 0.324
A	16	23.699 ^a ± 0.216	LAP	16	23.355 ^a ± 0.387
L	16	23.307 ^a ± 0.204	AP	16	24.127 ^a ± 0.376

Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasında farklılık önemlidir ($p<0.05$).

Çizelge 4.14 incelendiğinde elma suyunda hakim şeker olan fruktoz miktarındaki değişimin glukoz değişimine benzer şekilde uygulama ve ultrafiltrasyonda kullanılan farklı membranların ayırma sınırına göre permeatlarda önemli düzeyde fark yoktur

($p>0.05$). Kontrol örneğine ait fruktoz miktarı 66.264 g/L'dir. Benzer sonuçlar Çizelge 4.15'te görüldüğü gibi toplam şeker miktarındaki değişimde de görülmüştür. Kontrol örneğine ait toplam şeker miktarı 111.702 g/L'dir.

Çizelge 4.14. Uygulamalara göre fruktoz miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L)

Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)	Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)
K	16	66.264 ^a ± 0.482	LP	16	64.421 ^a ± 2.320
P	16	63.521 ^a ± 0.698	LA	16	63.149 ^a ± 0.755
A	16	63.804 ^a ± 1.232	LAP	16	63.785 ^a ± 0.694
L	16	63.307 ^a ± 1.380	AP	16	66.451 ^a ± 0.562

Çizelge 4.15. Uygulamalara göre toplam şeker miktarına ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi Sonuçları (g/L)

Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)	Uygulama	N	Ort. Değer (g/L)
K	16	111.702 ^a ± 0.689	LP	16	106.748 ^a ± 2.774
P	16	111.653 ^a ± 1.179	LA	16	106.544 ^a ± 1.144
A	16	109.453 ^a ± 1.357	LAP	16	106.412 ^a ± 1.281
L	16	108.228 ^a ± 1.467	AP	16	105.598 ^a ± 1.214

Duncan çizelgelerinde ultrafiltrasyonun sakaroz, glukoz, fruktoz miktarları ve toplam şeker miktarı üzerine etkisi yer almamaktadır; çünkü her üç şeker içinde ultrafiltrasyonun etkisi önemli düzeyde bulunmamıştır ($p>0.05$).

5. SONUÇ

Bu çalışmada elma suyunda lakkaz enzimi, aktif kömür ve PVPP uygulanmış olup, bu maddelerin elma suyundaki fenolik bileşik içeriğinde ve renkte meydana getirdiği değişim incelenmiş ve ayrıca örneklerde HPLC tekniği ile kromatografik olarak şeker analizi yapılmıştır. Renksizleştirme amaçlı tüm uygulamalarda elde edilen elma suyu örnekleri 10, 30 ve 50 kDa ayırma sınırına sahip membranlardan geçirilerek ultrafiltre edilmiştir. Ayrıca lakkaz, aktif kömür ve PVPP uygulamaları için optimum miktar ve süre belirlenmiştir. Lakkaz enzimi için optimum miktar ve süre 200 µL/L ve 4 saat, aktif kömür için en iyi miktar 10.5 g/L ve PVPP için 15 g/L olarak bulunmuştur.

Konsantre (70 °Bx) elma suyu 12 °Bx'e sulandırılıp lakkaz uygulanan ve lakkaz uygulanmayan olarak ikiye ayrılmıştır. Her grupta da ayrıca aktif kömür, aktif kömür + PVPP ve PVPP uygulanarak sekiz örnek elde edilmiştir. Bunların kodları: K, P, A, L, LP, LA, LAP ve AP olarak belirlenmiştir. Ayrıca tüm uygulamalara ait 50 kDa membran ile filtre edilen örnekler evapore edilerek şeker şurubu haline getirilmiştir. Elma suyunda renksizleştirme açısından en başarılı ve toplam fenolik maddede en fazla azalmayı sağlayan uygulamanın aktif kömür uygulaması olduğu belirlenmiş ve duyuşal olarak test edildiğinde elmaya özgü aromanın da hissedilmediği tespit edilmiştir.

Aktif kömür uygulaması kendi içerisinde değerlendirildiğinde ise UF ve geleneksel filtrasyon uygulamaları arasında TFM ve renginde farklılık bulunmamıştır. Çalışmada geleneksel filtrasyonu temsil edecek şekilde Whatman 42 filtre kağıdı kullanılmıştır. Dolayısıyla elma suyunda renksizleştirme amacıyla ultrafiltrasyon basamağının şart olmadığı ortaya çıkmıştır. Ancak sonradan bulanmanın önlenmesi ve yüksek düzeyde berraklık için UF uygulamasının önemli olduğu görülmüştür. Ayrıca aktif kömür uygulaması şeker içeriğini değiştirmeyip, asitliğin de düşmesine sebep olmuştur.

Sonuç olarak elma suyunda ek bir yatırım, işlem basamağı gerektirmeden aktif kömür uygulaması ile asitliği düşük ve şeker içeriği yüksek renksizleştirilmiş ticari şeker şurubu üretilebileceği saptanmıştır.

6. KAYNAKLAR

- AKBULUT, M. 1995. Elma suyu konsantrelerinde aktif kömür uygulamasının organik asit dağılımı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Ankara, 68 ss.
- ALPER, N. and ACAR, J. 2004. Removal of phenolic compounds in pomegranate juices using ultrafiltration and laccase-ultrafiltration combinations. *Nahrung/Food*, No.3, 48: 184-187.
- ALPER, N., ONSEKIZOĞLU, P. and ACAR, J. 2011. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and organic acid compositions of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35: 313-319.
- ANONİM, 2007a. Meyve suyu ve konsantresi ihracatı. <http://www.tuik.gov.tr>. Erişim tarihi: 15/05/2012.
- ANONİM, 2007b. Glikoz şuruplarının gıdada kullanımı. <http://www.gidacilar.net/seker-ve-sekerli-urunler/glikoz-suruplarinin-gidada-kullanimi-931.html>. Erişim tarihi: 20/06/2012.
- ANONİM, 2008. Dünya elma üretim istatistiği. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Erişim tarihi: 22/05/2012.
- ANONYMOUS. 1999. The SAS System. Version 8. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- ARTIK, N. ve VELİOĞLU, S. 1992. Meyve Suyunun Kimyasal Bileşimi, İşleme ve Depolama Sırasında Değişmesi. Seminer Özetleri. Meyve Suyu Endüstrisinde Kalite Kontrol Semineri. Ankara, 85-114.
- ARTIK, N., CEMEROĞLU, B., AYDAR, G. ve SAĞLAM, N. 1992. Elma suyu konsantresi üretiminde aktif kömür kullanımı üzerine araştırmalar. Proje No: (TOAG-753) TBGAG-9.
- ARTIK, N. ve MURAKAMI, H. 1997. Türk elma suyu konsantrelerinin fenolik madde ve prosiyanidin bileşiminin HPLC ile belirlenmesi. *Gıda*, 22 (5): 327-335.
- ARTIK, N., GÖKMEN, V., POYRAZOĞLU, E. ve KAHRAMAN N. 2001. Elma suyu üretiminde farklı durultma tekniklerinin üründeki patulin ve bazı kalite kriterlerine etkisi. TOGTAG-TARP Proje No:2049.

- ARTIK, N., KARHAN, M. and AYDAR, G. 2004. Effects of polyphenoloxidase (laccase) application on clarity stability of sour cherry juice. *Journal of Food Technology*, 2: 241-247.
- ATAÇ, B. and GÖKMEN, V. 2011. Adsorption of dark colored compounds in apple juice-effects of initial soluble solid concentration on adsorption kinetics and mechanism. *Journal of Food Process Engineering*, 34: 108-124.
- BAKER, R.W. 2004. Membrane Technology and Applications. John Wiley and Sons, 2nd editions. John Wiley and Sons. Chichester, 552 pp.
- BORNEMAN, Z., GOKMEN, V. and NIJHUIS, H.H. 2001. Selective removal of polyphenols and brown colour in apple juices using pes/pvp membranes in a single ultrafiltration process. *Separation and Purification Technology*, 22-23: 53-61.
- BURDURLU, H.S. and KARADENİZ, F. 2003. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrate. *Food Chemistry*, 80: 91-97.
- CASSANO, A., MARCHIO, M. and DRIOLI, E. 2007. Clarification of blood orange juice by ultrafiltration: analyses of operating parameters, membrane fouling and juice quality. *Desalination*, 212: 15–27.
- CARRIN, M.E., BUGLIONE, M.B. and LOZANO, J.E. 2007. Removal of dark compounds from fruit juices by membrane seperation. Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6) Copenhagen, 16-20 September.
- CEMEROĞLU B. 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları. Biltav Yayınları No:02-2 381 ss.
- CEMEROĞLU, B. ve KARADENİZ, F. 2001. Meyve Suyu Üretimi II, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- CEMEROĞLU, B. 2007. Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34, Ankara, 535 ss.
- ÇOKLAR, H. 2007. Aktif kömür uygulamasının ticari elma suyu konsantresindeki hidroksimetilfurfural (HMF) ve toplam fenolik madde düzeyi üzerine etkisi.Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Konya, 51 ss.

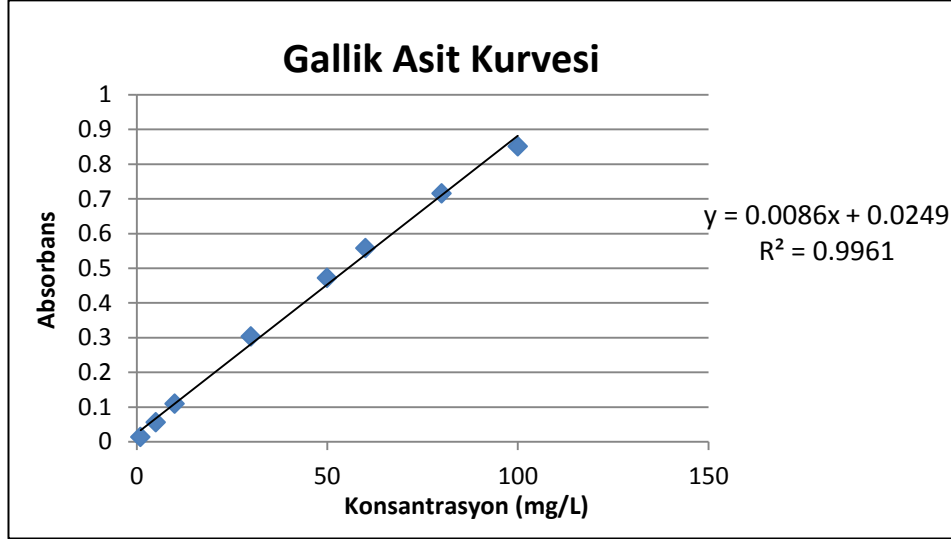
- DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAUNCU, O. ve GÜRBÜZ, F. 1987. Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodlar - II). Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- EKŞİ, A. 1989. Gıdalarda kimyasal bileşim değişimleri ve kontrolü. Birinci Uluslararası Gıda Sempozyumu, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını. Bursa, 89-96.
- GARDNER, P. T., WHITE, T.A.C., MCPHAIL, D.B. and DUTHIE, G.G. 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices-dietary flavonoids and phyto-estrogens. *Food Chemistry*, 68(4): 471-4.
- GIOVANELLI, G. and RAVASINI, G. 1993. Apple juice stabilization by combined enzyme-membrane filtration process. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 26(1): 1-7.
- GOKMEN, V., BORNEMAN, Z. and NIJHUIS, H.H. 1998. Improved ultrafiltration for color reduction and stabilization of apple juice. *Journal of Food Science*, 63(3): 503-507.
- GOKMEN, V., ARTIK, N., ACAR, J., KAHRAMAN, N. and POYRAZOĞLU, E. 2001. Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research Technology*, 213: 194-199.
- GUI, F., WU, J., CHEN, F., LIAO, X., HU, X., ZHANG, Z. and WANG, Z. 2006. Change of polyphenol oxidase activity, color and browning degree during storage of cloudy apple juice treated by supercritical carbon dioxide. *European Food Research Technology*, 223: 427-432.
- KADAKAL, Ç. and NAS, S. 2002. Effect of activated charcoal on patulin, fumaric acid and some other properties of apple juice. *Nahrung*, 46: 31-33.
- KADAKAL, Ç., POYRAZOĞLU, E.S., ARTIK, N. and NAS, S. 2004. Effect of activated charcoal on water-soluble vitamin content of apple juice. *Journal of Food Quality*, 27: 171-180.
- TETİK, N., TURHAN, İ., OZİYCİ, H.R. and KARHAN, M. 2011. Determination of D-pinitol in carob syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(6): 572-576.

- KARADENİZ, F. 1993. Elma suyunda fenolik madde dağılımı ve konsantreye işleme sırasında değişimi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı. Ankara, 79 ss.
- KARADENİZ, F. ve EKŞİ, E. 2001. Elma suyunda fenolik madde dağılımı üzerine araştırma. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 7(3): 135-141.
- KO, C.H. and CHEN, S.S. 2007. Enhanced removal of three phenols by laccase polymerization with mf/uf membranes. *Bioresource Technology*, 99: 2293–2298.
- KOLUKISA, G., ARTIK, N. ve YILDIZ, O. 1990. Aktif kömürün renk kontrolü amacıyla elma suyu konsantresi (ESK) üretiminde kullanımı. *Gıda*, 15(5): 263-269.
- 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. *LWT*, 40: 1755-1764.
- MADHAVI, V. and LELE, S.S. 2009. Laccase: Properties and Applications. *BioResources*, 4(4): 1694-1717.
- MITCHELL, A.E., HONG, Y.-J., MAY, J.C., WRIGHT, C.A. and BAMFORTH, C.W. 2005. A comparison of polyvinylpolypyrrolidone (PVPP), silica xerogel and a polyvinylpyrrolidone (PVP)- silica co-product for their ability to remove polyphenols from beer. *Journal of The Institute of Brewing*, 111(1): 20-25.
- NEIFAR, M., ELLOUZE-GHORBEL, R., KAMOUN, A., BAKLOUTI, S., MOKNI, A., JAOUANI, A. and ELLOUZE-CHAABOUNI, S. 2011. Effective clarification of pomegranate juice using laccase treatment optimized by response surface methodology followed by ultrafiltration. *Journal of Food Process Engineering*, 34(4): 1199-219.
- ÖZİYÇİ, H.R. 2008. Nar Suyunda Berraklık Stabilitesi Üzerine Farklı Durultma Tekniklerinin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Antalya, 59 ss.
- OZOGLU, H. and BAYINDIRLI, A. 2002. Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*, 13: 213-221.

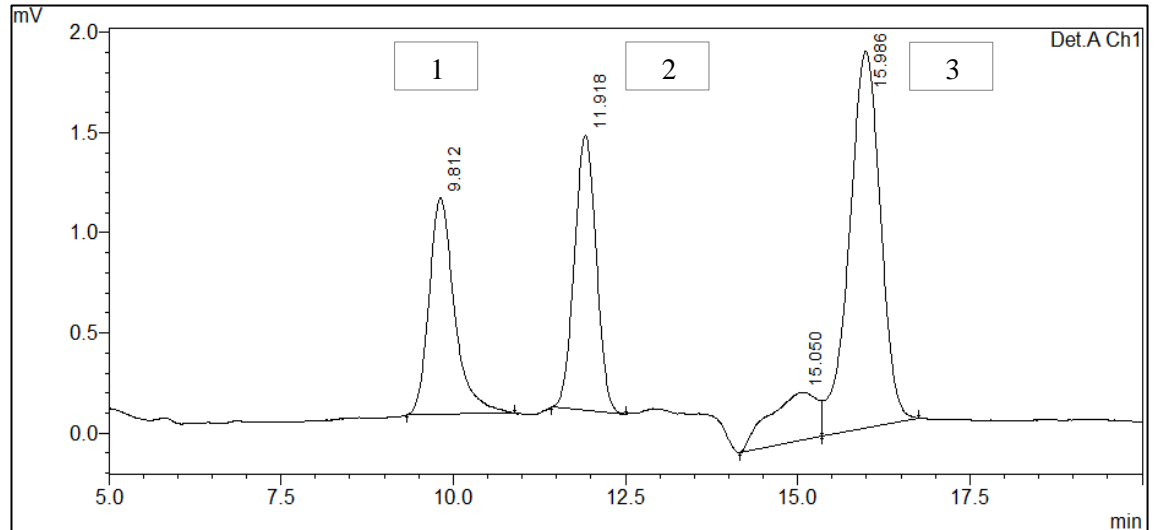
- PIACQUADIO, P., DE STEFANO, G., SAMMARTINO, M. and SCIANCALEPORE, V. 1997. Phenols removal from apple juice by laccase immobilized on Cu²⁺ - chelate regenerable carrier. *Biotechnology Techniques*, 11(7): 515-517.
- RAYMOND, E. and DONALD, F.O. 1953. Encyclopedia of Chemical Technology. 2: 881-915.
- ROSENBERG, M. 1995. Current and future applications for membrane processes in the dairy industry. *Trends in Food Science and Technology*, 6: 12-19.
- SIEBERT, K.J. and LYNN, P.Y. 1997. Mechanisms of adsorbent action in beverage stabilization. *Journal of Agric. Food Chem*, 45: 4275-4280.
- SPANOS, G. and WROLSTAD, R.E. 1992. Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. *Journal of Agric. Food Chem*, 40: 1478-1487.
- TANAKA, A. and KAWAMOTO, T. 1999. Cell and Enzyme Immobilization. In: Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2nd Edition, (A. L. Demain & J. E. Davies, eds.), American Society for Microbiology, pp. 94-102.
- TETİK, N. 2010. Nar Suyunda Berraklık Stabilitesi Üzerine Fiziksel ve Kimyasal Etkiler. Doktora Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Antalya, 134 ss.
- TIRNAKSIZ, F. 2009. Süzme. TEB Eczacılık Akademisi, Modern Farmasötik Teknoloji. 49-62.
- TULEK, Y. and YILMAZ, Ş. 2006. Use of clarifying agents and ultra filter to decrease fumaric acid, HMF and increase clarity of apple juice. *Journal of Food Quality*, 29: 216-228.
- TUNCER, M. 2010. Lakkaz, Kısım 1: Yapısı, Katalitik Özellikleri ve Dağılımları. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 22: 19-63.
- YOUN, K.S., HONG, J.H., BAE, D.H., KIM, S.J. and KIM, S.D. 2004. Effective clarifying process of reconstituted apple juice using membrane filtration with filter-aid pretreatment. *Journal of Membrane Science*, 228: 179-186.

7. EKLER

Ek 1. Elma suyu örneklerinin TFM içeriklerin hesaplanmasında kullanılan farklı konsantrasyonlardaki gallik asit standardına karşı okunan absorbans değerlerine ait grafik

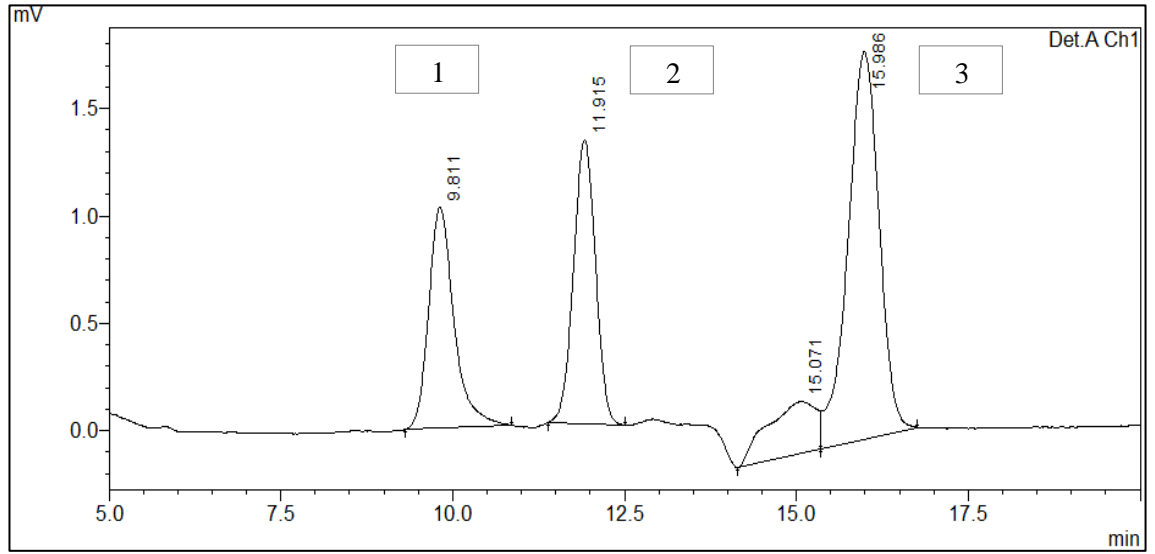


Ek 2. Kontrol örneğine ait kromotogram



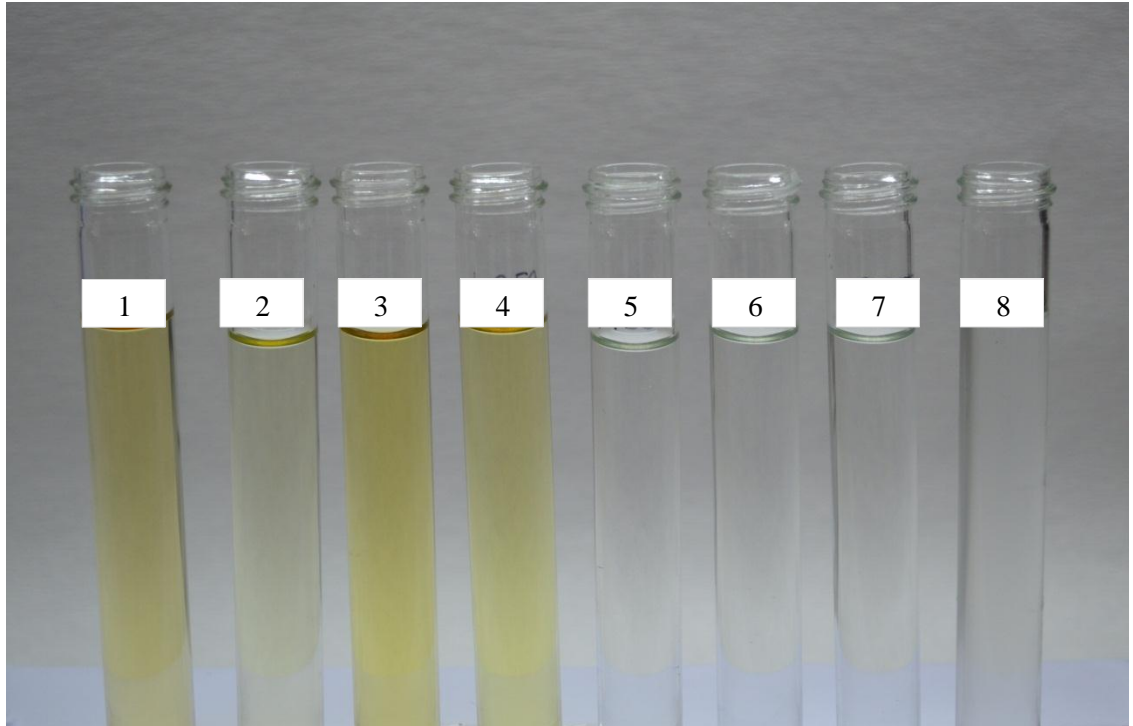
1: Sakaroz, 2: Glukoz, 3: Fruktoz

Ek 3. Aktif kömür uygulamasına ait kromotogram



1: Sakaroz, 2: Glukoz, 3: Fruktoz

Ek 4. Uygulamaların 50 kDA ayırma sınırına sahip membrandan geçen örneklerine ait bir görünüm (1: Kontrol, 2: PVPP, 3: Lakkaz, 4: Lakkaz+PVPP, 5: Aktif kömür, 6: Lakkaz +Aktif kömür, 7: Lakkaz+Aktif kömür+PVPP, 8: Aktif kömür+PVPP)



ÖZGEÇMİŞ

Tuğba AKKOYUN 1987 yılında İstanbul'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2006 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2010 yılında Gıda Mühendisi olarak mezun oldu. Eylül 2010'da Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen lisansüstü öğrenimine devam etmektedir.