

GIDA

THE JOURNAL OF FOOD



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 42

SAYI / NUMBER : 2

YIL / YEAR : 2017

GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

Sahibi / Owner

Gıda Teknolojisi Derneği Adına / *On behalf of the Association of Food Technology; Turkey*

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / *President of the Association*

| Editörler / Editors | Danışma Kurulu / Advisory Board |
|---|--|
| Halkman, A. Kadir <i>Ankara University, Turkey</i> Çakır, İbrahim <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Erinç, Hakan <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> Taban, Birce <i>Ankara University, Turkey</i> Özden, Özkan <i>Istanbul University, Turkey</i> | Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atilla <i>Ankara University, Turkey</i> |
| Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org | |
| Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli | |
| Hazırlayan / Prepared Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com | |
| Yayın Tarihi / Publication Date 15 04 2017 | |

Bu dergi, TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, CrossRef, DergiPark Akademik, EBSCO Host, DOAJ, CiteFactor, Infobase Index, SciLit, Journal Index, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), OCLS WorldCat, FAO Agris, CAB Abstracts, DIIF, Journal Factor, COSMOS, Scholarsteer, JIFACTOR, Research Impact Factor, Index Copernicus, Scientific World Index (Sciindex), Scientific Indexing Services (SIS), CABI (CAB Direct), Academic Resource Index, IJIF, Food Science and Technology Abstracts (FSTA) ve Google Scholar veri tabanları kapsamındadır.

This journal is covered by TÜBİTAK ULAKBİM TR Dizin, CrossRef, DergiPark Akademik, EBSCO Host, DOAJ, CiteFactor, Infobase Index, SciLit, Journal Index, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), OCLS WorldCat, FAO Agris, CAB Abstracts, DIIF, Journal Factor, COSMOS, Scholarsteer, JIFACTOR, Research Impact Factor, Index Copernicus, Scientific World Index (Sciindex), Scientific Indexing Services (SIS), CABI (CAB Direct), Academic Resource Index, IJIF, Food Science and Technology Abstracts (FSTA) and Google Scholar database systems.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Yüksel, A.K., Yüksel, M., Şat, İ.G.; *Determination of certain physicochemical characteristics and sensory properties of green tea powder (matcha) added ice creams and detection of their organic acid and mineral contents / Yeşil çay tozu (matcha) ilave edilen dondurmaların duyuşal özellikleri ve fizikokimyasal karakteristiklerinin belirlenmesi, organik asit ve mineral içeriğinin tespiti* **116-126**

Batun, P., Bakkalbaşı, E., Kazankaya, A., Cavidoğlu, İ.; *Fatty acid profiles and mineral contents of walnuts from different provinces of Van Lake / Van Gölü çevresindeki farklı bölgelerden elde edilen cevizlerin yağ asidi bileşimleri ve mineral içerikleri* **155-162**

Meriç, İ.; *Mineral element and nutrient composition of two newly-introduced fish species (Dentex dentex and Seriola dumerili) in recirculating aquaculture system (RAS) / Kapalı devre su ürünleri sisteminde (RAS) yetiştirilen iki yeni balık türüne (Dentex dentex ve Seriola dumerili) ait mineral madde ve besin kompozisyonu* **163-168**

Özbey, A., Karagöz, Ş., Cingöz, A.; *Effect of drying process on pesticide residues in grapes / Kurutma işleminin üzümde bulunan pestisitler üzerine etkisi* **204-209**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Yaşdağ, T., Tekin, A.; *Ayçiçek ve pirina yağlarının kızartma stabiliteilerinin karşılaştırılması / Comparison of frying stability of sunflower and olive pomace oil* **105-115**

Acar-Soykut, E.; *Streptococcus thermophilus 231-X10 fajının kısmi genomik karakterizasyonu / Partial genomic characterization of Streptococcus thermophilus phage 231-X10* **136-144**

Yorulmaz A, Koç M, Bircan C; *Farklı ısıtma tekniklerinin fındık ve kanola yağının sterol bileşimine etkisi / Effect of various heating techniques on sterol composition of hazelnut and canola oils* **145-154**

Akyıldız, A., Polat, S., Ağçam, E.; *Konveksiyonel ve dondurarak kurutma yöntemlerinin karpuzun bazı kalite özelliklerine etkisi / Effect of conventional and freeze drying methods on some quality properties of watermelon* **169-176**

Başığit, B., Çam, M.; *Püskürtmeli kurucutu ile mikroenkapsüle edilmiş nane (Mentha piperita ve Mentha spicata) esansiyel yağının salınım profili / Release profile of mint (Mentha spicata and Mentha piperita) essential oil microencapsulated by spray dryer* **186-196**

Yorulmaz, A., Erinç, H., Tatlı, A., Tekin, A.; *Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerde verticillium solgunluğunun zeytinyağı kalite parametreleri ve fenolik bileşenlere etkisi / Effect of verticillium wilt in Gemlik variety olives Cultivated in South East Anatolia on quality parameters and phenolic compounds of virgin olive oils* **197-203**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Kılıç, Ö., Dinçer, E.A., Erbaş, M.; *Gıdalarda polisiklik aromatik hidrokarbon bileşiklerinin bulunuşu ve sağlık üzerine etkileri / The presence of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in food and effects on health* **127-135**

Karademir, E., Yalçın, E.; *Toksik gluten peptitlerin detoksifikasyonunda yeni yöntemler ve gluten toksisitesinin belirlenmesi / New methods for detoxifying of toxic gluten peptides and determination of gluten toxicity* **177-185**

Editörden,

Merhaba,

GIDA Dergisi, 2017 yılının 42. cilt 2. sayısı ile buradadır. Böylelikle, bu sayıda yayımlanan makaleler elektronik ortamda okuyucularımızın yararlanmasına sunulmuştur. Hatta bu tarihte 3. sayımız dahi hazır durumdadır.

GIDA Dergisi'nin kâğıt baskısından vazgeçtiğimiz konusunda eleştiriler aldık. Eleştirilere açığız. Bu vazgeçmede dergi basım ve postalama giderlerinin reklamlar ve abone ücretleri ile karşılanıp karşılanmadığı en öncelikli tercih değildir. Evet, reklam ve abone gelirleri derginin basım ve postalama giderlerini karşılamıyordu ama düzenlediğimiz kongrelerin gelirlerinden sağlanan yeteri kadar paramız vardı. Bir diğer deyişle; tek başına kâğıt baskılı dergide zarar ediyorduk. Ancak dergimizin kâğıt baskısını, düzenlediğimiz kongrelerin gelirleri ile çok yaklaşık 3-4 yıl daha idare ettirebilirdik.

Türkiye 12. Ulusal GIDA Kongresini çok yaklaşık 3000 TL zarar ile kapattık. Bu kongrede TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Öğrenci Üyelerinden katılım ücreti almadık. 2. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongremizde 23 genç araştırmacıya burs verdik ve bu burs kapsamında kayıt ücreti almadık ve konaklama giderlerini biz üstlendik.

Şimdi 3. Uluslararası kongremize hazırlanıyoruz. Coğrafyamızdaki siyasi sorunlar/savaşlar nedeni ile öncekilere kıyasla daha az uluslararası katılım olacağı bellidir. Ama yine de bu kongreyi kârla kapatabileceğimizi umut ediyoruz.

Devamında 2016 yılında GIDA Dergisi kâğıt baskılı versiyonu reklam ve abone gelirinin, matbaa ve postalama giderini karşılayamadı ve şu kadar zararımız vardır diye belirttiğimiz zaman, bu zararı üstlenecek çok yakın olduğumuz gıda fabrikaları/işletmeleri de bulunmaktadır.

Özetle; maddi sorunlar nedeni ile dergimizin kâğıt baskısından vazgeçmiş değiliz. TÜBİTAK, bilimsel dergilerinin kâğıt basılı versiyonlarından 2005 yılı sonunda vazgeçmiş idi.

Bizi dergimizin kâğıt baskılı versiyondan vazgeçmeye karar verdiren asıl neden, kâğıt baskılı dergilere ilginin ve gereksinimin azalması oldu. GIDA Dergisi tümüyle akademik bir dergidir. Dergimizin açık erişim politikasına bağlı olarak, meslektaşlarımız ilgi duydukları makalelere elektronik ortamda çok kolay olarak erişebiliyorlar. Hepsi bu.

GIDA Dergisi'nde yeni bir uygulama başladı. Bu tarihten geçerli olarak yazım kurallarımız değişti ve yeni makaleler www.dergipark.gov.tr üzerinden sisteme yükleniyor.

3. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongresi ile ilgili olarak www.gidadernegi.org sayfamızdan bizi takip edin. Kongre sitesi açıldı; <https://intfoodtechno2018.org/>

Sevgi ve saygılarımla,

Prof. Dr. A. Kadir Halkman

A Message from the Editor-in-Chief

Hello,

Journal of Food is here with the 2nd issue of Volume 42 of the year 2017. By this way, the articles published in this issue is made available for reading to our readers in electronic form. Even in this date, the 3rd issue is also ready.

We got many critics about the abandonment of the paper printing version of the Journal of Food. We are open to criticism. The meeting of the expanses of paper printing and posting with the incomes of advertising and subscription fees of the journal is not the top priority reason for this. Yes, the incomes of advertising and subscription fees did not meet the paper printing and posting costs of the journal, but we had enough money from the revenues of Congresses that we organized. In other words, we had lost money only from the paper printing version of the Journal. However, we could manage the printing of our Journal with the revenues of the Congresses we organized for another 3-4 years.

We closed the 12th National FOOD Congress with a loss of about 3000 TL. In this Congress, we did not receive the participation fee from the student members of Chamber of Food Engineers of TMMOB. We gave scholarships to 23 young researchers at the 2nd International Congress on Food Technology and according to this scholarship we received neither registration fee nor the accommodation expenses.

Now we prepare the 3rd International Congress on Food Technology. It is certain that there will be less international participation in this Congress than in the previous ones due to the political problems/wars in our geography. But we still hope that we will close this Congress with profit.

There are also food factories/food industries that we are very close which could pay this lost when we say that the advertising and subscription fees of the paper printing version of the Journal of FOOD was unable to meet the expenses of its printing and postage in 2016.

As a summary; we did not abandon paper printing version of our Journal due to the financial problems. TUBITAK abandoned the paper printing version of its scientific journals by the ends of 2005.

The main reason we decided to abandon the paper printing version of our Journal was the lessen interest and need to paper printing versions of many journals. Journal of FOOD is entirely an academic journal. According to our Journal's open access policy, our colleagues can easily access the articles they are interested in the electronic media. That's all.

A new application has been started in Journal of Food. As of this date, our "Instructions for Authors" have changed and new articles are submitted to the system via www.dergipark.gov.tr.

Follow us about the 3rd International Congress on Food Technology at www.gidadernegi.org. The web site opened; <https://intfoodtechno2018.org/>

Best Regards,

Prof. A. Kadir Halkman

AYÇİÇEK VE PİRİNA YAĞLARININ KIZARTMA STABİLİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI*

Tuğba Yaşdağ, Aziz Tekin**

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş tarihi / Received: 07.07.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 11.08.2016

Kabul tarihi / Accepted: 13.08.2016

Özet

Çalışmanın amacı, ayçiçek ve pirina yağlarının kızartma stabiliteilerinin karşılaştırılmasıdır. Materyal olarak rafine ayçiçek yağı ile pirina-rafine pirina karışımı (50:50) kullanılmıştır. Patatesle yapılan kızartma işlemleri 180°C'de 3 dakika olarak gerçekleştirilmiş ve toplamda 40 kızartma yapılmıştır. Kızartma işlemleri boyunca yağlarda serbest yağ asitleri, dumanlanma noktası, *p*-anisidin, toplam polar madde, viskozite, polimer trigliserit ve renk analizleri yapılmıştır. Yağlarda serbest yağ asitleri, *p*-anisidin, toplam polar madde, viskozite, polimer trigliserit ve renk değerlerinde artış, dumanlanma noktası değerlerinde ise azalma gözlenmiştir. Pirina yağının dumanlanma noktası ayçiçek yağına göre daha kısa sürede 170°C'den daha düşük bir değere ulaştığı görülmüştür. Buna karşın oluşan polimer trigliserit ve buna bağlı olarak gerçekleşen viskozite değerlerindeki artışlar, pirina yağında ayçiçeği yağına göre oldukça düşük değerlerdedir. Tüm incelenen değerler arasındaki farklılıklar incelendiğinde, pirina yağında elde edilen değerlerin, ayçiçeği yağına oranla daha düşük kaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, doymamışlık derecesi düşük olan pirina yağının kızartma işlemleri sırasında bozulma reaksiyonlarına daha düşük düzeyde maruz kaldığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Kızartma, ayçiçek yağı, pirina yağı, kimyasal ve fiziksel özellikler

COMPARISON OF FRYING STABILITY OF SUNFLOWER AND OLIVE POMACE OIL

Abstract

The purpose of this study is comparison of frying stability of sunflower and olive pomace oil. Refined sunflower oil and olive pomace oil-refined olive pomace oil blend (50:50) were used as material. Frying was performed 40 times using potatoes at 180°C for 3 min. Along these frying treatments, free fatty acids, smoke point, *p*-anisidine, polar material, viscosity, polymer triglyceride and color of the oils were performed. Considerable increases in free fatty acids, *p*-anisidine, polar material, viscosity, polymer triglyceride and color of the oils were observed in oils while smoke points decreased. Smoke point of olive pomace oil decreased less than 170°C before sunflower oil. However, compared to sunflower oil, olive pomace oil had less polymer triglyceride and lower viscosity. The differences in the oil properties before and after frying were also lower in olive pomace oil. These results indicate that oxidation rate in olive pomace oil during frying is lower than that of sunflower oil, which is possibly because of its lower iodine value.

Keywords: Frying, deep fat frying, chemical and physical properties, pomace oil, sunflower oil

* Bu çalışma birinci yazarın birleştirilmiş bütünlüştürilmiş doktora çalışmasının bir bölümüdür / This paper is a part of integrated Ph D program of the first author

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ tekin@ankara.edu.tr, ☎ (+90) 312 203 3644, 📞 (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

Yağlar, proteinler ve karbonhidratlarla birlikte üç temel gıda sınıfından birisidir. Yağlar denince akla ilk gelen gıda işleme yöntemlerinden birisi kızartmadır. Kızartma en eski ve yaygın gıda hazırlama yöntemlerinden biridir (1). Kızartma tarihi M.Ö.1600'lü yıllara, bazı kaynaklara göre ise Çin'de M.Ö 3000'li yıllarda et kızartıldığı bilinmektedir (2).

Kızartma işlemi sığ kızartma (Pan Frying), derin yağda kızartma (Deep-Fat Frying) ve ön kızartma (Par-Frying) olmak üzere 3 şekilde uygulanmaktadır. Bunlardan en yaygın olanı ise derin yağda kızartmadır ve bu işlemde genel olarak, gıda kızgın yağa kısa bir süreliğine daldırılır. Derin yağda kızartma, ürünün su aktivitesi ve yağ sıcaklığı gibi iki temel işlem parametresini içeren bir pişirme metodudur. Bir gıda kızgın yağa daldırıldığında, yüzey sıcaklığı hemen artar ve gıda içerisindeki su buharlaşır (3), kabuk oluşur ve gözenekli bir yapı meydana gelir.

Gıda ve yağdaki değişimler, gıdanın karakteristiğine, yağ tipine, yağın yüzey/hacim oranına, yağ içerisindeki havanın reaksiyona katılım hızına, sıcaklığa, ısıtma işlemine, daldırma süresine ve kızartma haznesinin yapıldığı materyalin çeşidine bağlıdır. İlave olarak, yağ ne kadar fazla kullanılırsa o kadar fazla istenmeyen reaksiyonlar oluşur. Yağın yüksek sıcaklık ve atmosferik havaya aşırı maruz kalmasıyla da oldukça oksidize olmuş potansiyel olarak toksik ürünler oluşabilmektedir (4). Kızartma süresi ve sıcaklığı, kızartma yağı, antioksidanlar ve kızartıcının tipi kızartma sırasında yağın polimerizasyonuna, oksidasyonuna ve hidrolizasyonuna neden olmaktadır (5). Hidroliz sonucunda yağlardaki serbest yağ asidi, gliserol, mono- ve diğliserit miktarı (6); oksidasyon sonucunda oksitlenmiş monomerik, dimerik ve oligomerik trigliseritler, aldehitler, ketonlar gibi uçucu maddelerin miktarları; polimerizasyon sonucunda ise halkalı yapıdaki dimerik ve oligomerik trigliserit miktarı artış göstermektedir. Kızartma sırasında meydana gelen oksidasyon, yağ asitlerinin termal oksidasyonudur. Ortamda bulunan ısı bir seri reaksiyonun gerçekleşmesine yol açarak, yağda serbest radikal, hidroperoksit ve konjuge dienoik asitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Polimerizasyon yağda yüksek molekül ağırlıklı ve yüksek polaritede bileşiklerin oluşmasına yol açmaktadır. Polimerler serbest radikallerde

veya trigliseritlerden Diels-Alder reaksiyonuyla oluşmaktadır (7). Derin yağda kızartma sonucu oluşan polimerler oksijence zengindir ve okside olmuş polimer bileşenler de yağın oksidasyonunu teşvik etmektedir (8). Pirina yağı, zeytinyağı üretimi sırasında yan ürün olarak oluşan pirinanın ve kurutulup çözücü ekstraksiyonuna tabi tutulmasıyla elde edilen bir yağdır. Pirina yağında zeytinyağında olduğu gibi oleik asit miktarı yüksektir. Oleik asit çoklu doymamış yağ asitleriyle karşılaştırıldığında gıdanın kızartılması ve pişirilmesi sırasında uygulanan yüksek sıcaklıkta oksidasyona karşı daha stabildir. Bu nedenle oleik asidin yüksek miktarlarını içeren yağlarda, çoklu doymamış yağ asidi içeren yağlara kıyasla kızartma sırasında maruz kalınan oksidatif bozulma daha yavaştır. Yüksek oleik, düşük linoleik ve linolenik asit içeren genetik modifiye yağların da, derin yağda kızartma işlemleri sırasında bozulmaya karşı diğer yağlardan daha stabil oldukları belirlenmiştir (9).

Bu çalışmanın amacı; pirina yağının kızartma stabilitesini rafine ayçiçeği yağıyla kıyaslamaktır. Kızartma sırasında her iki kızartma yağında görülen oksidasyon, hidroliz ve polimerizasyon reaksiyonları sonucu oluşan değişimler serbest yağ asidi, dumanlama noktası, vizkosite, polimer trigliserit, p-anasidin ve renk analizleri ile belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Materyal olarak TS 8642'ye göre üretimi yapılan ve yerel bir süpermarkette satışı bulunan aynı firmaya ait dondurulmuş parmak patatesler (uzun ve ince) kullanılmıştır. Yağ olarak piyasadan temin edilen rafine ayçiçek yağı ve pirina yağı kullanılmıştır. Pirina yağı ve rafine pirina yağı %50-50 oranında karıştırılarak kullanılmıştır.

Metot

Kızartma İşlemi

Kızartma işlemleri 1.5 L kapasiteli fritözde 180°C sıcaklıkta, saatte 3 dakika olmak üzere günde 8 defa yapılmıştır. Kızartmada 1 L yağ ve her kızartmada 50 g patates kullanılmıştır (10). Eksilen yağ, patates/yağ oranını, dolayısıyla kızartma dinamiğini etkileyeceği için, literatürde genel olarak gün sonunda örnek alınmıştır. Çalışmamda ise, gerçekleşen bozulmaları daha detaylı

izleyebilmek için, 4. kızartmadan sonra ve gün sonunda 20'şer mL paralelli yağ örnekleri alınmıştır. Gün sonunda yağlar kaba filtre kâğıdından süzülerek +4°C'de depolanmıştır. Ertesi gün 1L'ye tamamlamak için yağ ilavesi yapılmıştır. Kızartma denemeleri haftada 40 kızartma olacak şekilde iki tekerrürlü yapılmıştır. Her kızartma sonucunda toplam 10 örnek elde edilmiştir.

Analiz Metotları

Polimer trigliserit analizi: AOCS Official Method Cd 22-91'e göre yapılmıştır. Tetrahidrofuranda çözülen 0.2 g örnek Shimadzu marka HPLC cihazına enjekte edilmiştir (11).

HPLC Sistem Özellikleri:

Polimer trigliserit analizi için çalışma koşulları:
Dedektör: ELSDetector (Sedere LT-ELSD)
Kolonlar: - Phenogel (50x7.8 mm, 5 µm partikül büyüklüğü, Phenomenex, Torrance, CA)
Phenogel (300x7.8 mm, 5 µm partikül büyüklüğü, 100 Å por büyüklüğü, Phenomenex, Torrance, CA)
Phenogel (300x7.8 mm, 5 µm partikül büyüklüğü, 500 Å por büyüklüğü, Phenomenex, Torrance, CA)
Akış hızı: 0.8 ml/dk
Mobil faz: Tetrahidrofur

Toplam Polar Madde Analizi: AOCS Official Method Cd 20-91'e göre yapılmıştır (12).

p-anasidin Analizi: AOCS Official Method Cd 18-90'a göre yapılmıştır (13).

Dumanlanma Noktası Analizi: AOCS Official Method Cc 9a-48'e göre yapılmıştır (14).

Vizkosite Ölçümü: Yağların viskoziteleri, Brookfield DV-II viskozimetresi kullanılarak ölçülmüştür ve sonuçlar mPa.s cinsinden verilmiştir (15).

Serbest Yağ Asidi Analizi: AOCS Official Method Ca 5a-40'a göre yapılmış ve sonuçlar oleik asit cinsinden % serbest asitlik olarak verilmiştir (16).

Yağlardaki Renk Analizi: AOCS Official Method Cc 13c-50'e göre yapılmıştır (17).

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Serbest Yağ Asitliği Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi

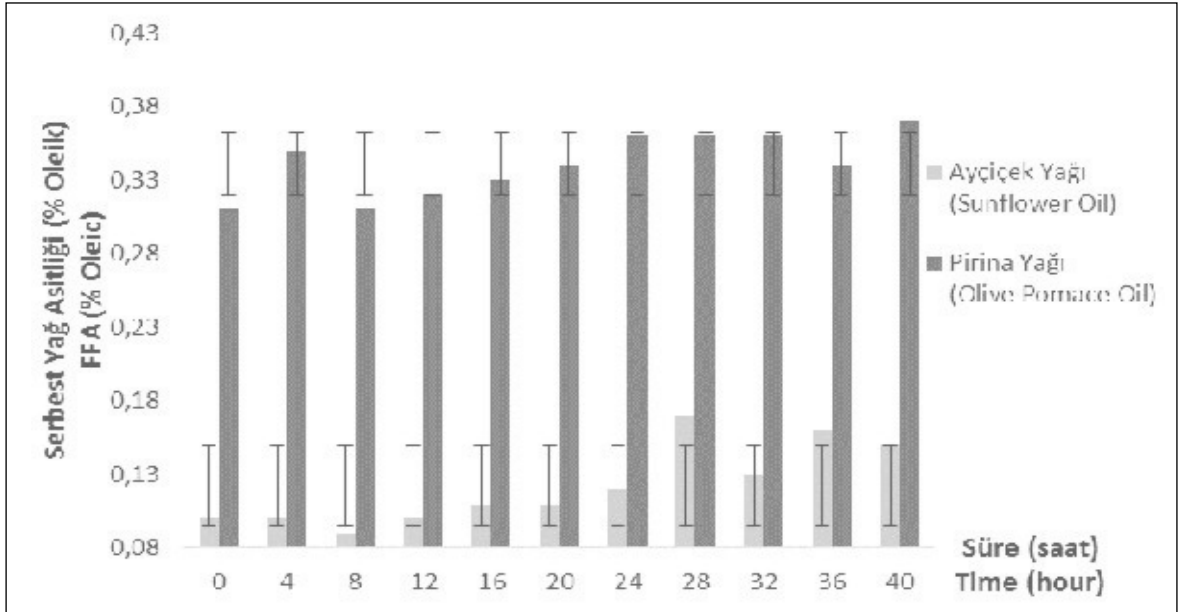
Yağlardaki serbest yağ asidi miktarı, bünyesinde bulunan trigliseritlerde meydana gelen hidroliz kaynaklı bozulmayı göstermektedir. Kızartma işlemleri sırasında yağlardaki serbest asitlik değişimi kızartma sıcaklığı ve kızartılan üründeki su oranı ile ilişkilidir. Kızartma sırasında kızartılan gıdadan yağa su transferi olmakta ve yağın serbest asit içeriği arttığı bilinmektedir. Kızartma işlemleri sırasında ayçiçeği ve pirina yağlarında tespit edilen serbest yağ asidi değişimleri Şekil 2'de verilmiştir. Kızartmalar sırasında ilave edilen yağ miktarı da Çizelge 1'de görülmektedir. İlave edilen yağ miktarları her iki kızartma yağı için de çok yakın değerlerdedir. Şekil 1'de verilen grafiğe göre, pirina yağının başlangıç serbest yağ asidi yüzdesi ayçiçeği yağından daha yüksektir ve başlangıç değeri ile son değer arasındaki fark ayçiçeği ve pirina yağları için sırasıyla % 0.05 ve 0.06 birimdir. Başlangıçta ayçiçek yağının serbest yağ asidi değeri azalırken daha sonra artmaktadır. Pirina yağının serbest yağ asidi değişiminde de benzer dalgalanma görülmektedir. Gün sonunda filtre edilen yağa taze yağ ilavesi, yağın serbest yağ asidi değerini başlangıç seviyesine yaklaştırmaktadır. Oleik asit içeriği yüksek yağların ısıtma sırasında serbest asit içeriği daha çok yükselmektedir (18).

Çizelge 1. İlave edilen yağ miktarları
Table 1. Additional oil amounts

| Kızartma Süresi (saat) | İlave Edilen Yağ Miktarları (mL) Quantities of additional oil (mL) | |
|------------------------|---|---------------------------|
| Frying Time (hour) | Ayçiçek Yağı Sunflower Oil | Pirina Yağı Pomace Oil |
| 0 | 1000 | 1000 |
| 9 | 330 | 370 |
| 17 | 280 | 300 |
| 25 | 300 | 300 |
| 33 | 300 | 300 |

Yağların Dumanlama Noktası Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi

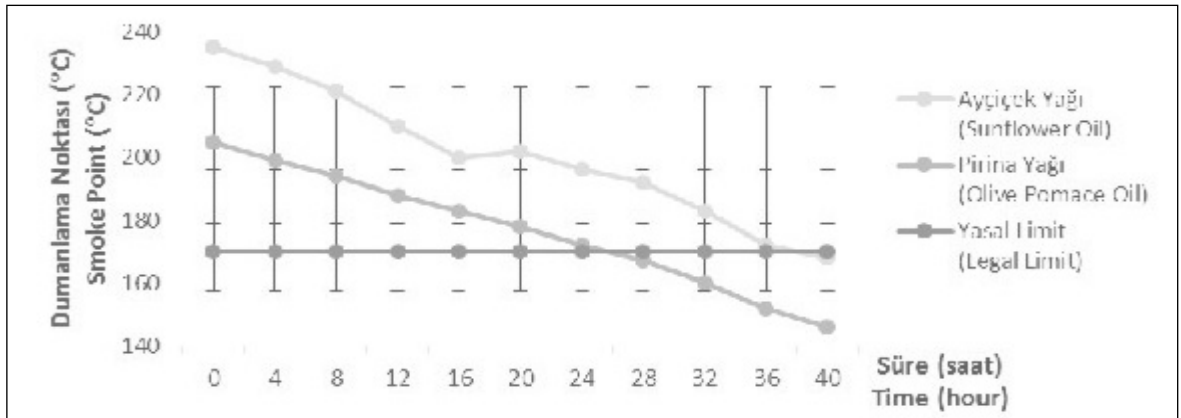
Dumanlanma noktası yağların ısıtma sırasında sürekli duman oluşturduğu sıcaklık olarak tanımlanmaktadır. Dumanlama noktası; yüksek sıcaklığa ısıtıldıklarında yağlarda dekompozisyon reaksiyonu oluştuğunu göstermektedir. Bu reaksiyon sonucu yağların gliserol ve serbest yağ asitlerine parçalandığı bir noktaya ulaştığında ise



Şekil 1. Ayçiçek ve pirina yağlarının serbest yağ asidi içeriğindeki değişim
Figure 1. Changes in the free fatty acids of sunflower and olive pomace oils

duman açığa çıkmaktadır (19). Literatürde, dumanlanma noktasının yağların serbest asit içerikleri ile ters ilişkili olduğu belirtilmektedir. Yağda oluşan duman miktarı düşük moleküllü asit ve uçucu bileşikler gibi dekompozisyon ürünleriyle doğru orantılıdır (20). Kızartma işlemleri sırasında, yağların dumanlama noktası değerlerinin kızartma süresine göre artışı Şekil 2'de verilmiştir. Ayçiçek yağı ve pirina yağında dumanlama noktasının kızartma süresine bağlı olarak azalma eğiliminde olduğu anlaşılmaktadır. Genel olarak bu eğilim düz şekildedir. Başlangıç ve son dumanlama noktası değeri arasındaki farklılık ayçiçeği ve pirina yağları için sırasıyla 66 ve 59 birimdir. Ayçiçek yağında 32. kızartmadaki

dumanlama noktası değeri bazı ülkelerde uygulanan yasal limitin (170 °C) üzerindeyken, bir sonraki kızartmadan sonra bu limitin altına inmiştir. Buna göre, çalışmada belirlenen koşullar geçerli olduğunda 32. kızartmadan sonra ayçiçek yağı kızartma yağı olarak kullanılamaz. Diğer yandan, oleik asit içeriği yüksek yağların ısıtma sırasında serbest asit içeriği daha çok yükselmektedir (18). Buna göre, oleik asitçe zengin olan pirina yağında kızartma denemesi sonunda daha düşük dumanlama noktası seviyesi beklenmiştir. Yapılan deneme sonunda pirina yağının dumanlama noktası ayçiçek yağının aksine daha kısa sürede (24. kızartma) yasal limite ulaşmıştır.



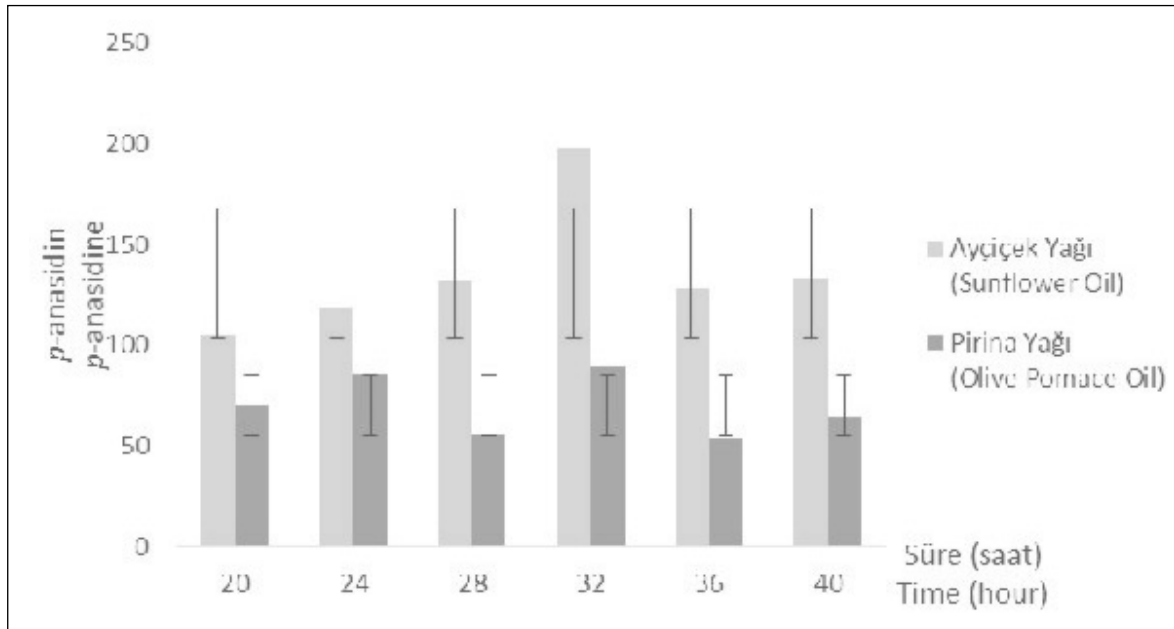
Şekil 2. Ayçiçek ve pirina yağının dumanlama noktası değerindeki değişimler
Figure 2. Changes in smoke point value of sunflower and olive pomace oils

***p*-anasidin Değeri Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi**

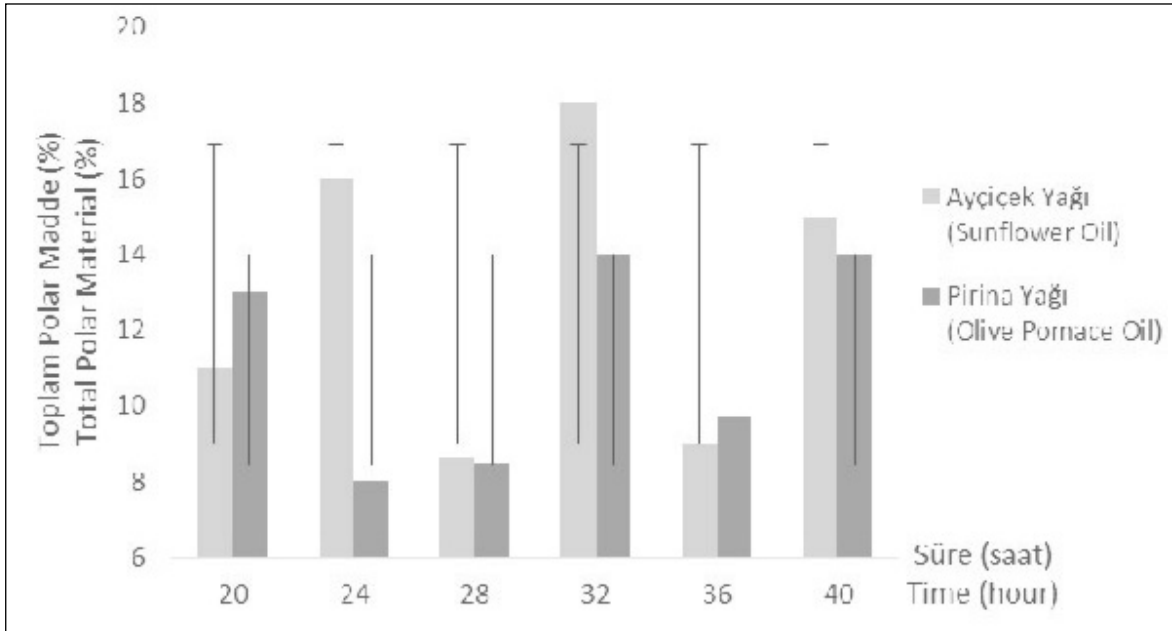
Kızartma işlemlerinde yağların *p*-anasidin değerlerindeki artış birincil oksidasyon ürünleri olan hidroperoksitlerin aldehidik bileşiklere dönüşümünü göstermektedir. Buna göre *p*-anasidin değeri, yağlarda bozulmalar sonucu oluşan ve uçucu olmayan aldehitlerin (2-alkenal ve 2,4-dienal) ölçüsü olarak kabul edilmektedir. *p*-anasidin değeri yağ oksidasyon seviyesinin ölçümünde güvenli bir parametre olarak görülmektedir (21). Yapılan çalışmada, kızartma işlemleri sırasında her iki yağın *p*-anasidin değerindeki değişimler Şekil 3'de gösterilmektedir. Toplam polar madde ve polimer trigliserit değerlerinde olduğu gibi, değişimlerin en fazla olduğu süreler, yani 20. ve 40. kızartma arasındaki değerler grafiğe işlenmiştir. Taze yağdaki *p*-anasidin değeri 6.0'dan büyük olduğunda, yağın hızlı okside olabileceği ifade edilmiştir (22). Çalışmada kullanılan ayçiçek ve pirina yağının başlangıç değerleri 6.0'dan büyüktür. Şekil 3'e göre daha doymamış yapıda olan ayçiçek yağının pirina yağına göre daha yüksek *p*-anasidin değerleri verdiği görülmektedir. Ayçiçek ve pirina yağları için, başlangıç ve son *p*-anasidin değerleri arasındaki fark ise sırasıyla 27.8 ve 4.4 birimdir.

Toplam Polar Madde Miktarı Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi

Kızartma yağlarının polar içeriklerinin belirlenmesi doğruluk ve tekrarlanabilirlik açısından en güvenilir yöntemlerden biridir. Polar madde içeriği, kızartma sırasında polaritesi trigliseritlerden daha yüksek maddelerin oluşumunu gösteren bir değerdir. Türkiye'nin yanında, İspanya, Portekiz, Fransa, Almanya, Belçika, İsviçre, İtalya ve Hollanda gibi bazı Avrupa ülkelerinde kızartma yağlarında toplam polar madde miktarı için limit değerler bulunmaktadır (23). Bu ülkelerin bazıları için bu limit %25 olarak belirlemiştir (24). Kızartma süresince her iki yağın toplam polar madde miktarları karşılaştırıldığında, ayçiçek yağının toplam polar madde miktarının pirina yağının toplam polar madde değerine göre daha fazla yükseldiği görülmektedir. Bu değişimler Şekil 4'e verilmiştir. Taze yağ ilave edilmesi nedeniyle elde edilen polar madde miktarları arasında dalgalanmalar görülmektedir. Grafiğe göre, başlangıç ve son değerler arasındaki farklılık ayçiçeği ve pirina yağları için sırasıyla 4.1 ve 0.7 birimdir. Her iki yağdan da metot kısmında verilen koşullar altında yapılan 40. kızartma işlemi sonunda elde edilen değerlerin yasal limit olan %25'den düşük olduğu görülmüştür.



Şekil 3. Ayçiçek ve pirina yağının *p*-anasidin değerindeki değişimler
Figure 3. Changes in *p*-anasidine value of sunflower and olive pomace oils



Şekil 4. Ayçiçek ve pirina yağındaki toplam polar madde miktarındaki değişimler
Figure 4. Changes in total polar material amount of sunflower and olive pomace oils

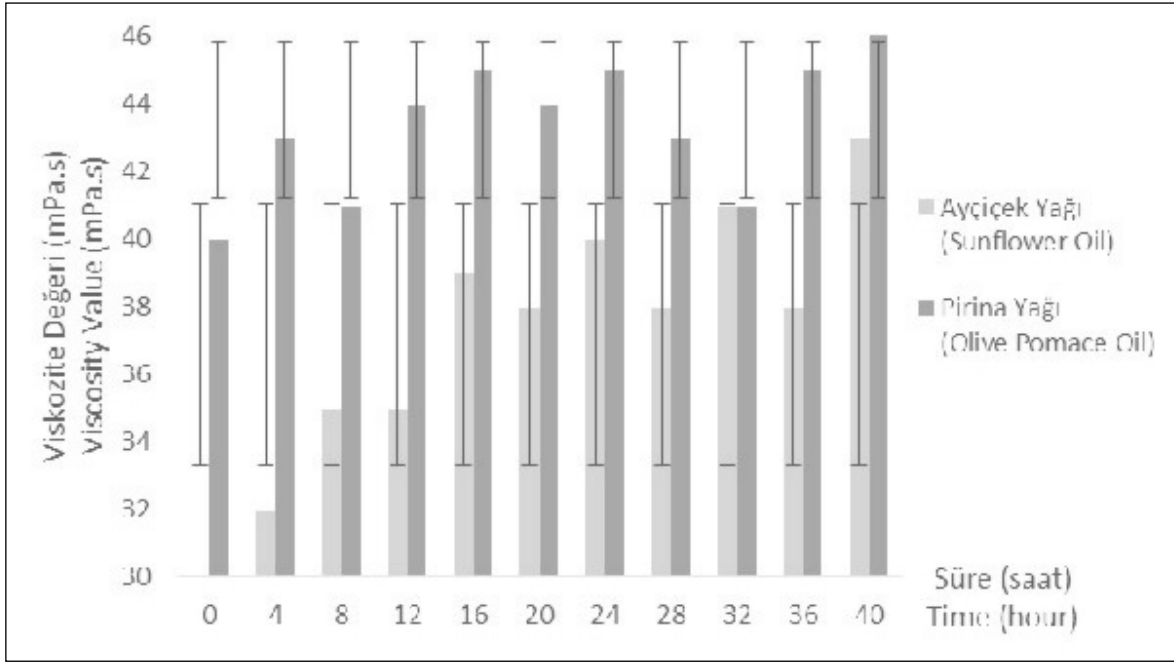
Viskozite Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi

Yağların viskozite değerleri trigliseritlerin kimyasal özellikleri, trigliseritlerde yer alan yağ asitlerinin doymamışlık dereceleri ve zincir uzunluklarıyla doğrudan ilişkilidir. Kızartma sırasında viskozite değişimi renk değişikliğiyle birlikte yağdaki bozulmanın önemli işaretlerindedir. Kızartma sırasında yağın viskozitesi yüksek molekül ağırlıklı polimerlerin oluşumuyla birlikte artmaktadır (25). Yapılan bir çalışmada da kızartma süresi ve yağ sıcaklığının yağın viskozitesini önemli oranda etkilediği belirtilmiştir (26).

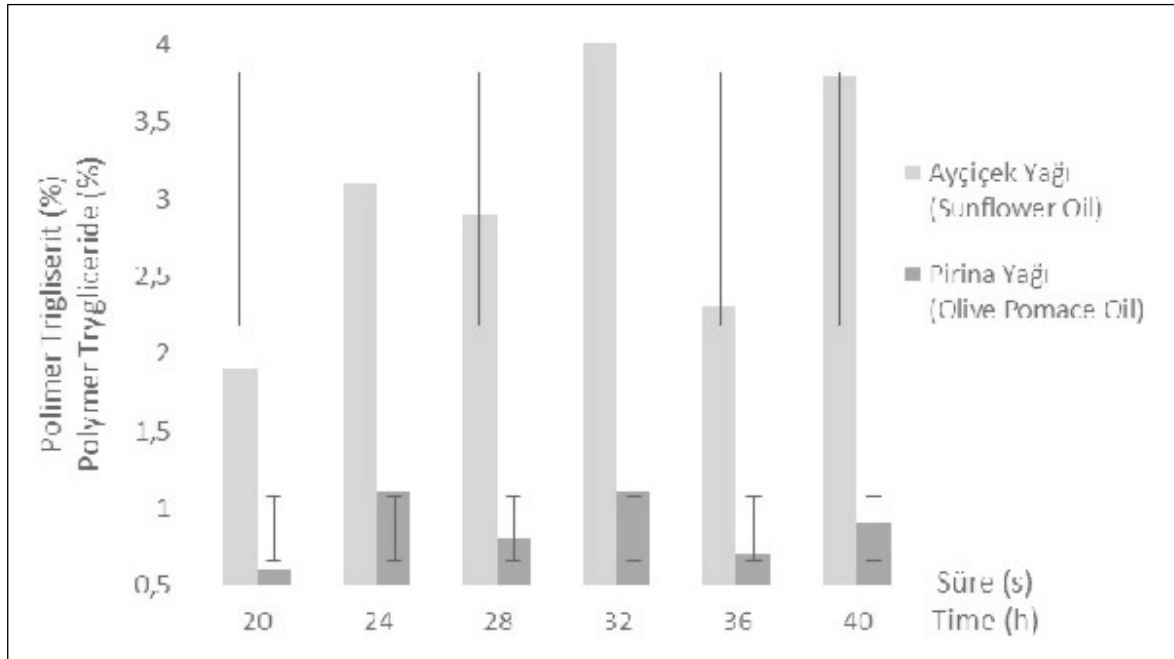
Kızartma işlemleri boyunca ayçiçek ve pirina yağında izlenen viskozite değişimleri Şekil 5'te verilmiştir. Şekil 5 incelendiğinde, pirina yağının taze halde ayçiçeği yağına göre oldukça viskoz olduğu belirlenmiştir. Sabit kızartma sıcaklığında, kızartma süresi arttıkça yağların viskozitesinde de artışlar gözlenmiştir. Kızartma sırasında ayçiçek yağının viskozite değerinin pirina yağının viskozite değerinden daha fazla arttığı görülmektedir. Grafiğe göre, ayçiçeği ve pirina yağının başlangıç ve son viskozite değeri arasındaki farklılık sırasıyla 13 ve 6 birimdir. Serbest asitlik değerinde olduğu gibi, gün sonunda ilave edilen taze yağ ile viskozite değeri başlangıç değerine her iki yağda da yaklaşmaktadır.

Polimer Trigliseriti Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi

Kızartma sırasında yağda meydana gelen hidroliz, termal oksidasyon ve polimerizasyon gibi kimyasal reaksiyonlar yağda farklı uçucu, monomerik ve polimerik bileşenlerin oluşmasına neden olmaktadır (27). Polimerize trigliserit miktarı kızartma yağlarının kullanım ömrüyle ilgili bilgi veren önemli kriterlerden birisidir. Kızartma yağlarındaki polimer trigliserit içeriğinin kızartma miktarıyla artışı Şekil 6'da verilmiştir. Bozulma ürünlerinin 20. ve 40. kızartma süreleri arasında fazla oluşması nedeniyle, grafikte sadece bu süre aralıkları verilmiştir. Her iki yağda da bazı dalgalanmalar görülmesine rağmen, ayçiçeği ve pirina yağları için başlangıç ve son polimer trigliserit değerleri arasındaki fark sırasıyla 1.9 ve 0.3 birim olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada da 5 günden fazla sürdürülen kızartma denemelerinde polimer trigliserit değerinin arttığı rapor edilmiştir (28). Bir diğer çalışmada, 190°C'de 5 gün boyunca 8 saat uygulanan kızartma işlemi sonunda pamuk yağının en yüksek polimer trigliserit içeriğine sahip olduğu; 204 °C'de yaptıkları kızartma sonucunda ise mısır yağının en fazla polimer trigliserit oluşturduğu bildirilmiştir (29). Pirina ve rafine pirina yağlarıyla yapılan bir çalışmada da, pirina yağının rafine pirina yağına kıyasla daha düşük trigliserit oligopolimer ve okside trigliserit oluşturduğu rapor edilmiştir (33).



Şekil 5. Ayçiçek ve pirina yağının viskozite değerindeki değişimler
Figure 5. Changes in viscosity value of sunflower and olive pomace oils

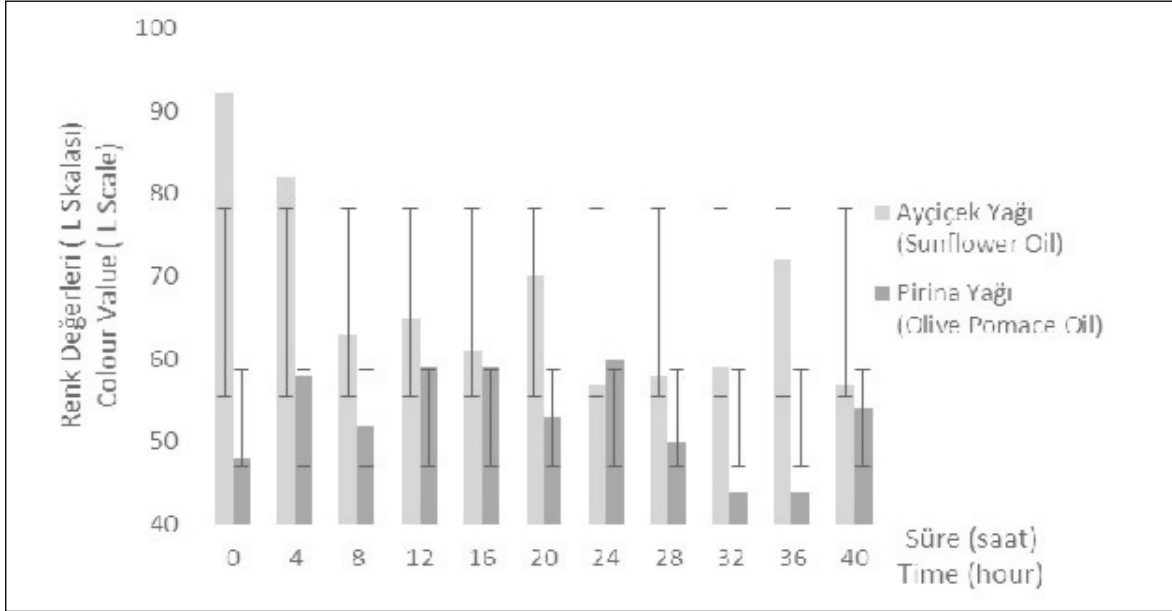


Şekil 6. Ayçiçek ve pirina yağında polimer trigliserit miktarının değişimi
Figure 6. Changes in polymer triglyceride amount of sunflower and olive pomace oils

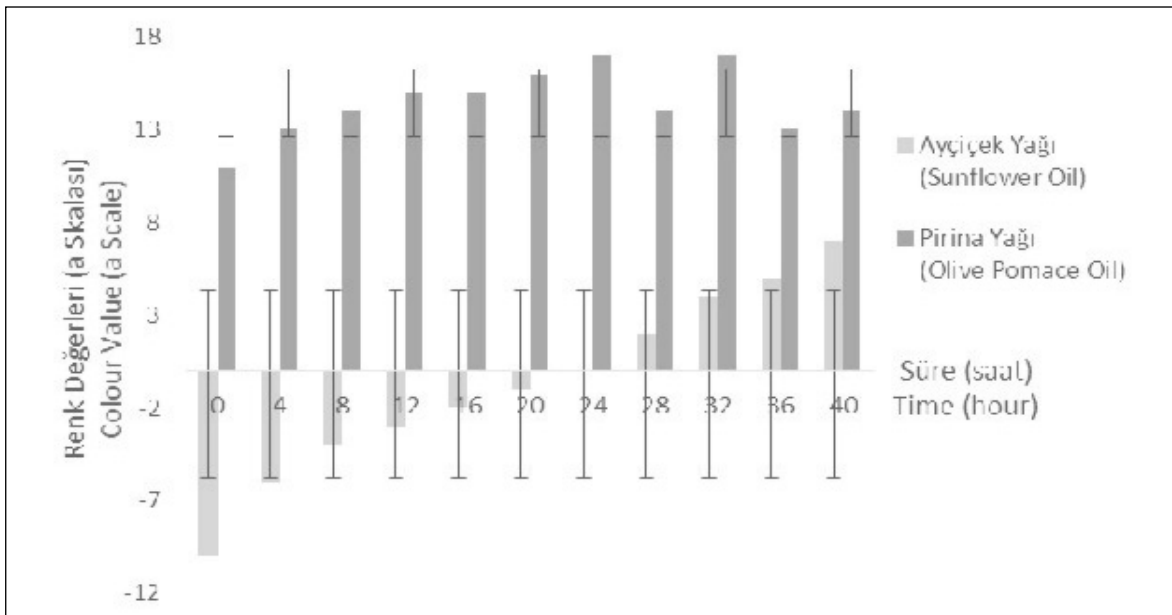
Renk Değerleri Üzerine Kızartma İşlemlerinin Etkisi

Kızartma sırasında renk değişimi yağdaki oksidasyon kaynaklı bozulmanın bir göstergesidir. Yağın renk yoğunluğunun artışı okside trigliserit ve serbest yağ asitleri gibi uçucu olmayan

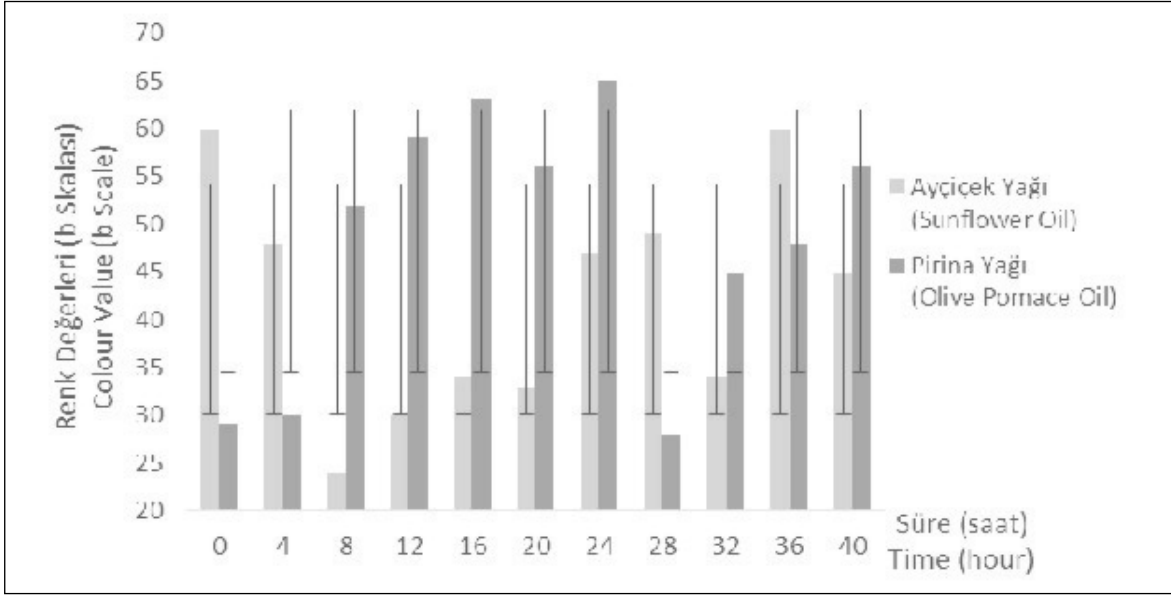
dekompozisyon ürünlerinin oluşumunun bir sonucudur. Yapılan kızartma denemelerinde ayçiçek yağı ve pirina yağına ait L, a ve b değerlerindeki değişimler Şekil 7, 8 ve 9'da verilmiştir.



Şekil 7. Ayçiçek ve pirina yağında L değerindeki değişimler
Figure 7. Changes in L value of sunflower and olive pomace oils



Şekil 8. Ayçiçek ve pirina yağında a değerindeki değişimler
Figure 8. Changes in a value of sunflower and olive pomace oils



Şekil 9. Ayçiçek ve pirina yağında b değerindeki değişimler
Figure 9. Changes in b value of sunflower and olive pomace oils

Şekil 8 incelendiğinde, her iki yağın L değerlerinde kızartma işlemleri boyunca dalgalanmalar olduğu tespit edilmiştir. Kızartma boyunca ayçiçeği ve pirina yağlarında tespit edilen L değerlerinin başlangıç ve son L değeri arasındaki fark sırasıyla 35 ve 6 birimdir. Grafik incelendiğinde, başlangıçta ayçiçeği yağının L değerinin pirina yağına göre oldukça yüksek olduğu ancak kızartma işlemlerinin ilerlemesiyle, her iki yağdaki L değerlerinin birbirine yaklaştığı görülmektedir. Burada, pirina yağındaki L değerinin değişiminin kızartma boyunca çok düşük olmasının etkisi bulunmaktadır. Pirina yağındaki okside trigliserit değişiminin kızartma boyunca düşük olması da (Şekil 6) pirina yağında söz konusu L değeri değişiminin düşük olmasının önemli nedenlerinden birisidir. 40. kızartma sonunda ayçiçeği yağının pirina yağına göre daha koyu renkte olduğu tespit edilmiştir.

Renk değerlerinden a değeri dalgalanmaya bağlı olarak kırmızı ile yeşil renk değeri arasında değişmektedir. a değeri pozitif bir değer aldığında kırmızı, negatif bir değer aldığında ise yeşil renk skalasını temsil etmektedir. Kızartma süresine bağlı olarak kızartma yağlarının a değerindeki değişim Şekil 8'de görülmektedir. a değerleri incelendiğinde, her iki kızartma yağında da farklı seviyelerde artışlar söz konusudur. Ayçiçek ve pirina yağlarının başlangıç ve son a değeri farkları sırasıyla 17 ve 3 birimdir. Ayçiçek yağı başlangıçta yeşil renkte iken, kızartma işleminin sonuna doğru

yeşil olan rengi kırmızıya dönmektedir. Pirina yağı ise başlangıçta kırmızı renk skalasını kızartma sonunda da koruduğu görülmektedir.

Renk değerlerinden b değeri dalgalanmaya bağlı olarak sarı ile mavi renk skalası arasında değişmektedir. b değeri pozitif bir değer aldığında sarı, negatif bir değer aldığında ise mavi renk skalasını temsil etmektedir. Kızartma süresine bağlı olarak kızartma yağlarında b değerindeki artış Şekil 9'da verilmiştir. Her iki kızartma yağında da b değerlerinde dalgalanmalar görülmektedir. Grafik incelendiğinde, ayçiçeği ve pirina yağlarının başlangıç ve son b değerleri arasındaki fark sırasıyla 15 ve 27 birimdir. Elde edilen değerler ışığında, kullanılan iki yağın da sarı renkte olduğu anlaşılmaktadır.

SONUÇ

Ayçiçek ve pirina yağlarının kızartma stabilitelerinin karşılaştırılması amacıyla rafine ayçiçek yağı ile pirina-rafine pirina karışımı (50:50) 180°C'de toplamda 40 kızartmada kullanılmıştır. Kızartma işlemleri boyunca yağın bazı fiziksel ve kimyasal değişimleri izlenmiştir. Her iki yağda da serbest yağ asitleri, p-anisidin, toplam polar madde, viskozite, polimer trigliserit ve renk değerlerinde artış, dumanlanma noktası değerinde ise azalma gözlenmiştir.

Serbest yağ asitleri hidroliz reaksiyonunun etkisiyle kızartma işlemleri boyunca artış göstermiş, buna bağlı olarak yağların dumanlanma noktaları düşmüştür. Pirina yağının dumanlanma noktası ayçiçek yağına göre daha kısa sürede 170°C'den daha düşük bir değere ulaşmıştır. Yağlar için dumanlama noktası değeri yağın rafinasyonuna bağlı olarak değişmektedir. İyi rafine edilmiş yağların dumanlanma noktalarının yüksek olduğu bilinmektedir (19). Kızartma işlemlerinde dumanlama noktası değeri, her iki yağda da sürekli bir azalma göstermiştir. Çalışmada serbest yağ asidi miktar değişimlerine paralel olarak dumanlama noktasının en düşük seviyesi pirina yağında görülmüştür.

Kullanılan kızartma yağlarında oksidatif bozulma ürünlerinin varlığının belirlenmesinde bir indükatör olarak kullanılan toplam polar madde miktarı her iki yağda da kızartma süresi boyunca artmış, ancak 40. kızartmadan sonra bile, yasal limit olan %25 değerine ulaşmamıştır. Burada her günün sonunda yapılan filtrasyon işleminin etkili olduğu düşünülmektedir. Aldehit miktarının ölçülmesine yarayan p-anasidin değeri de kızartma süresince filtre edilen yağa ilave edilen taze yağın etkisiyle dalgalanma göstermesine rağmen, her iki yağda da artışlar göstermiştir. Ancak pirina yağındaki artış ayçiçek yağına göre daha düşüktür. Bunun, pirina yağının daha düşük iyot sayısına sahip olması ve oksidasyon reaksiyonlarına karşı daha stabil olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Polimer trigliserit ve buna bağlı olarak gerçekleşen viskozite değerlerindeki artışlar, kızartma yağları için önemli parametrelerdendir. Polimer trigliserit artışı ayçiçeği yağına kıyasla pirina yağında daha düşüktür. Buna bağlı olarak, başlangıç viskozite değeri yüksek olmasına rağmen, pirina yağının viskozite değerindeki değişim, ayçiçek yağına kıyasla daha düşüktür.

Kızartma sırasında yağlarda meydana gelen oksidasyon kaynaklı bozulmalar yağların rengini etkilemektedir. Bu nedenle renk, bazı ülkelerde kızartma yağlarının kullanım ömürleriyle ilgili bir kriter olarak kullanılmaktadır. Yapılan denemelerde kızartma işlemleri boyunca özellikle ayçiçeği yağında L ve a değerlerinde önemli artışlar gözlenmiştir.

Sonuç olarak, kızartma işlemleri boyunca, hem pirina hem de ayçiçeği yağında incelenen

parametrelerde önemli değişimler gözlenmiştir. Bu değişimlerin yağların başlangıç kaliteleriyle ilişkili olabildiği ve rafinasyon derecesinin söz konusu değişimleri etkilediği söylenebilir. Ancak bundan daha önemlisi, kızartma işlemleri sırasında gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarının yağın bünyesinde meydana getirdiği değişimlerdir. Bu açıdan kızartma işlemlerinde düşük iyot sayılı yağların kullanımının önemli olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Singh RP. 2005. Food Frying. Food Engineering Vol III. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS).California, USA. 122 p.
2. Türkay S. 2009. Kızartma İşlemi ve Yağları: Yağda Oluşan Değişimler, Kullanılmış Kızartma Yağlarının Rejenerasyonu ve Türkiye'deki Uygulamaları. "Evsel Atık Yağlar ve Geri Dönüşümü" Paneli, İstanbul, Türkiye. 2-3 s.
3. Quaglia G, Comendador J, Finotti E. 1998. Optimization of frying process in food safety. *Grasas Aceites* Vol 49, 275-281.
4. Del Re PV, Jorge N. 2006. Behaviour of vegetable oils for frying discontinuous frozen pre-fried products. *Cienc Technol* (26):56-53.
5. Choe E, Min DB. 2007. Chemistry of Deep-Fat frying oils. *J Food Sci*. 77-86.
6. Varela LS, Muniz SFJ, Polonio CG, Arroyo R, Cuesta C. 1995. Relationship between chemical and physical indexes and column and HPSE chromatography methods for evaluating frying oil. *Z Ernährungswiss* 34(4):308-313.
7. Gupta MK. 2004. Frying Technology and Practices. AOCS Press, Champaign, Illinois.
8. Yoon SH, Jung MY, Min DB. 1998. Effects of thermally oxidized triglycerides on the oxidative stability of soybean oil. *J Am Oil Chem Soc*. 65, 10, 1652-1657.
9. Abdulkarim SM, Long K, Lai OM, Muhammad SKS, Ghazali HM. 2007. Frying quality and stability of high-oleic Moringa oleifera seed oil in comparison with other vegetable oils, *Food Chem*, 105, 1382-1389.
10. Aladadunye FA, Przybylski Z. 2009. Degredation and nutritional quality changes of oil during frying. *J Am Oil Chem Soc*. 86, 149-156.

11. Anon 2000. Determination of polymerized triglycerides by gel-permeation HPLC. AOCS Official Method, Cd 22-91.
12. Anon 1997. Determination of polar compounds in frying fats, AOCS Official Method. Cd 20-91.
13. Anon 1997. p-Anisidine value. AOCS Official Method, Cd 18-90.
14. Anon 1997. Smoke, flash and fire points Cleveland open cup method. AOCS Official Method, Cc 9a-48.
15. Anon 1997. Brookfield viscosity. AOCS Official Method, Ja 10-87.
16. Anon 1997. Free fatty acids. AOCS Official Method, Ca 5a-40.
17. Anon 1997. Color spectrophotometric method. AOCS Official Method, Cc 13c-50.
18. Warner K, Orr P, Parrott L, Glynn M. 1994. Effects of frying oil composition on potato chip stability. 1327-1331.
19. Mishra S, Manchanda SC. 2012. Cooking oils for heart health. *J Preventive Cardiol* Vol 1, 123-131.
20. Matthäus B. 2006. Utilization of high-oleic rapeseed oil for deepfat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *Eur J Lipid Technol*, 108, 200-221.
21. Al-Kahtani HA. 1991. Survey of quality of used frying oils from restaurants. *J Am Oil Chem Soc.* 68, 857-862.
22. Gupta MK. 2005. Frying oils. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's industrial oil and fat products* (6th ed.). New Jersey: John Wiley & Sons. Vol 4, 1-31.
23. Blumenthal MM. 1996. Frying Technology, in *Edible Oil and Fat Products: Products and Application Technology*. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Hui Y.H.(5th Ed). John Wiley and Sons, New York, Vol 3, 429-481.
24. Firestone D, Stier RF, Blumenthal MM. 1991. Regulation of frying fats and oils. *Food Technol*, (45):90-94.
25. Tyagi VK, Vasishtha AK. 1996. Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. *J Am Oil Chem Soc*, Vol 73, 499-506.
26. Dutt NVK, Prasad DHL. 1989. Estimation of infinite dilution activity coefficients of hydrocarbons in water from molar refraction. *Fluid Phase Equilibria*. Vol 45, 1-5.
27. Miller KS, Singh RP, Farkas BE. 1994. Viscosity and Heat Transfer Coefficients for Canola, Corn, Palm, And Soybean Oil. *J Food Process Preservation*. (18):461-472.
28. Rossi M, Alamprese C, Ratti S. 2007. Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chem*, 102, 812-817.
29. Serjouie A, Tan CP, Mirhosseini H, Man YBC. 2010. Effect of Vegetable-Based Oil blends on Physicochemical Properties of Oils During Deep-Fat Frying. *Am J Food Technol*. 5 (5): 310-323.

DETERMINATION OF CERTAIN PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS AND SENSORY PROPERTIES OF GREEN TEA POWDER (MATCHA) ADDED ICE CREAMS AND DETECTION OF THEIR ORGANIC ACID AND MINERAL CONTENTS

Arzu Kavaz Yüksel¹, Mehmet Yüksel^{2*}, İhsan Güngör Şat²

¹Atatürk University, Erzurum Vocational Training School, Department of Food Technology, Erzurum, Turkey

²Atatürk University, Faculty of Agricultural, Department of Food Engineering, Erzurum, Turkey

Received / Geliş Tarihi: 14.07.2016

Received in revised form / Düzeltilek Geliş Tarihi 11.08.2016

Accepted / Kabul Tarihi 13.08.2016

Abstract

This study aimed to evaluate certain physicochemical quality characteristics, organic acid and mineral compositions of ice creams produced with different green tea powder (GTP) concentrations. The increment of GTP caused an increase in the fat, titratable acidity, viscosity, overrun and b^* values, while decreasing the total solid, protein, pH, first dripping time, complete melting time, L^* and a^* values. The citric, lactic, acetic and propionic acid amounts of samples showed an increase with the increment of GTP, while orotic and butyric acids decreased. Conversely, malic acid was not detected in any of the samples. The Ca, Cu, Mg, K, Zn and Na concentrations of samples increased with the increment of GTP, while Al and Fe were not found in any of the samples. On the sensory evaluation, the highest overall acceptability scores were given to control by the panellists and followed by GTP(%1) and GTP(%2), respectively.

Keywords: Ice cream, green tea powder, organic acid, mineral, sensory

YEŞİL ÇAY TOZU (MATCHA) İLAVE EDİLEN DONDURMALARIN DUYUSAL ÖZELLİKLERİ VE FİZİKOKİMYASAL KARAKTERİSTİKLERİNİN BELİRLENMESİ, ORGANİK ASİT VE MINERAL İÇERİĞİNİN TESPİTİ

Özet

Bu çalışmanın amacı farklı konsantrasyonlarla yeşil çay tozu (YÇT) ilavesiyle üretilen dondurmaların belirli fizikokimyasal özelliklerini, organik asit ve mineral içeriğini değerlendirmektir. YÇT'nin artışı, yağ, titrasyon asitliği, viskozite, overrun ve b^* değerlerinde artışa; kuru madde, protein, pH, ilk damlama zamanı, erime süresi, L^* ve a^* değerlerinde ise düşüşe sebep olmuştur. Sitrik, laktik, asetik ve propiyonik asit miktarları YÇT konsantrasyonlarına paralel olarak artmış, orotik ve butirik asit miktarları azalmıştır. Yeşil çayın ilavesiyle Ca, Cu, Mg, K, Zn ve Na minerallerinin oranı artış gösterirken, hiçbir örnekte Al ve Fe bulunmamıştır. Duyusal değerlendirmede sırasıyla en yüksek kabul edilebilirlik skoru kontrol numunesi, YÇT(%1) ve YÇT(%2) numunelerine verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Dondurma, yeşil çay tozu, organik asit, mineral, duyusal

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mehmet.yuksel@atauni.edu.tr,

☎ (+90) 442 231 2494,

☎ (+90) 442 236 0958

INTRODUCTION

Ice cream is a popular frozen dairy product and is made using milk, cream, milk powder, fat sugar, emulsifiers, stabilizers, fruits, nuts, candies, jams, plants, colouring, flavouring and sweetening agents. The quality characteristics and sensory properties of ice creams are affected by some parameters, including ingredients, production practices, transportation, storage conditions and temperature fluctuations (1, 2). It is generally consumed lovingly by people of all ages (especially children) due to its cooling effect, taste, aroma and nutritional value. Ice cream industry has much improved in recent years due to the consumer preference (1). Consumers want to get natural foods including probiotics, prebiotics, fibres and natural fruits in their body. These agents can give nutritional value, organoleptic richness and health benefits to the product beyond their normal functional properties (3, 4). For that reason, different types of ingredients including; fruits, fruit juice, herbs, probiotics and some other additives were used for the production of ice cream (3, 5). These ingredients provide important nutritional and health benefits to the ice cream due to minerals, vitamins, fibre, antioxidants, natural colorants and flavours are contained by them (6, 7). Nowadays, different types of ice creams are sold in markets and bakeries. Also, new types and formulations are wanted to be found in the markets by consumers (8, 9).

Fruits, teas and herbs are good sources for the ice cream production due to flavour, colour, functional properties and antioxidant activities. Tea (*Camellia sinensis*) is one of the most important beverages consumed around the world after water. It can be prepared in different types in different parts of the world including black tea, green tea, white tea, yellow tea, dark tea, pu'erh tea and oolong tea. *Camellia sinensis* is mainly cultivated in China and Southeast Asia, although it is grown in approximately 30 countries of the World (10-12). Black form of it is consumed in Asian and Western countries, while green tea is mostly consumed in Japan, China, India and some countries of the Middle East and North Africa (13).

Green tea (*Camellia sinensis*) has a long history, but the beneficial medicinal properties of it have recently begun to be realized by the people (14).

Green tea has beneficial effects on human health, including anti-inflammatory, antiarthritic, antibacterial, antiangiogenic, antioxidative, antiviral, neuroprotective and cholesterol-lowering effects, and prevention of cancer and cardiovascular diseases. The positive effects of green tea on the health are mainly stemmed from its polyphenol content especially flavonoids, flavonols, catechins, saponins, alkaloids, amino acids, glucosides, proteins, volatile compounds, minerals and trace elements (15).

Green tea powder is known as matcha. In ancient times, matcha was consumed in rituals by Zen Buddhists in China. However, matcha is rarely consumed nowadays in China, while it is commonly consumed in Japan. Recently, it has also become a popular component for the production of pastries, puddings, chocolates, candies, ice creams and beverages (16).

Organic acids affect the flavour, stability and quality characteristics of dairy products. They occur in dairy products as a result of a series of reactions including fermentation of carbohydrates, hydrolysis of milk fat and microbial activity during production or storage period. Generally, organic acids occur as major metabolites of carbohydrate catabolism of lactic acid bacteria and they can give taste and flavour to milk, yoghurt, cheese and other dairy products (17). On the other hand, they are formed at the end of metabolic processes of ruminant, bacterial growth, hydrolysis of milk fat and addition of fruits, acidulants and other additives (18-20). Quantitative determination of organic acids is important for the determination of flavour and nutritional quality of dairy products (21). Generally, organic acids generate important effects on foods such as acidifying (tartaric, malic, citric and ascorbic acids), antioxidant (malic, citric and tartaric acids), preservative (sorbic and benzoic acids) and sensorial (malic, citric, acetic and tartaric acids) properties when added to them (18, 22). Moreover, minerals are important for human nutrition. They have important roles for the protection of human health. Generally, minerals have beneficial effects on health when they are found in foods in small quantities, while they can show harmful properties if they exceed the limit values (23, 24).

The aim of this research was to produce a functional and new type of ice cream with different ratios of green tea powder (matcha) and evaluate their physical and chemical characteristics, colour values, organic acid contents, mineral compositions and sensory properties.

MATERIAL AND METHOD

Materials

Cows' milk (50 L) and cream were obtained from the dairy farm of Agriculture Faculty of Atatürk University in Erzurum province of Turkey, while green tea powder (GTP) supplied from Çaykur (General Directorate of Tea Business), Rize, Turkey. Skim Milk Powder (SMP) was provided by Pinar Dairy Products Co., İzmir, Turkey; while sugar, emulsifier (mono- and diglycerides) and sahlelep were purchased from local markets in Erzurum, Turkey.

Ice cream production

Experimental ice creams were manufactured in duplicate. For this research, three different ice cream mixes were produced in the Pilot Dairy Factory of Atatürk University (Erzurum, Turkey). Firstly, the raw cows' milk was strained using a cloth filter. Afterwards, milk was divided into four equal parts and 3 kg mix was prepared for each party. Each ice cream mix included 5% fat, 4.7% skim milk powder, 18% sugar, 0.6% sahlelep (stabilizer) and 0.2% emulsifier (mono- and diglycerides). The mixes were heated to 85°C for 25 s and then rapidly cooled to $\pm 4^\circ\text{C}$. The cooled ice cream mixes were matured for 24 hours at $\pm 4^\circ\text{C}$. One batch of mix was taken as control, and the remaining batches were prepared with 2 different ratios (1% and 2%) of green tea powder (GTP(1%) and GTP(2%)). Finally, the prepared mixes were iced in an ice cream machine (-5°C ; Ugur Cooling Machineries Co., Nazilli, Turkey), hardened at -22°C for 24 hours and stored at -20°C for analyses. The overall analyses were made as duplicate for each sample.

Physicochemical analysis

Total solid contents of ice creams were determined using the gravimetric method, fat content by the Gerber method, and protein by the Kjeldahl method

as described by Demirci and Gündüz (25). Titratable acidity (Lactic acid%) of samples was determined by titration method using 0.1N NaOH and phenolphthalein as an indicator. For the measurement of pH, approximately 10 g ice cream samples were dissolved in 90 ml distilled water and pH values of the samples were measured using a pH meter (model WTW pH-340-A, Weilheim, Germany) fitted with a combined glass electrode (25). The viscosity of the ice cream mixes was determined at 4°C by a Brookfield viscometer, Model DV-II (Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, MA, USA) with an RV spindle set (spindle No. 2) at 50 rpm. The viscosity values were measured in duplicate and twenty readings (cP) were taken for each sample at 30 s (26). The overrun measurements of the mixes and ice creams were determined according to the equation $[(\text{weight of ice cream}) - (\text{weight of mix}) / \text{weight of mix} \times 100]$ by Jimenez-Florez *et al.* (27). First dripping and complete melting times of ice cream samples were measured according to the method by Guven and Karaca (28). For this analysis, hardened ice cream sample (25 g) was left to melt on the 0.2 cm wire mesh screen above a beaker at approximately $\pm 20^\circ\text{C}$ and first dripping and complete melting times of ice creams were measured in seconds.

Colour analysis

The colour values of the ice creams were determined in triplicates for each sample group using a Minolta colorimeter (CR-200; Minolta Co., Osaka, Japan). L^* (lightness; 100=white, 0=black), a^* (redness; \pm , red; $-$, green), and b^* (yellowness; \pm , yellow; $-$, blue) colour after the calibration of device with black and white standards. The colour of ice creams was measured in port size of 20x15x10 cm with pulsed xenon arc lamp built into measuring head by CIE standard observer curves at room temperature.

Organic acid analysis

The organic acid profiles of the ice cream samples were determined according to the modified methods by Fernandez-Garcia and McGregor (18). For the detection of organic acids, a high-performance liquid chromatography (Agilent HPLC 1100 series G 1322 A, Germany) was used. Firstly, 4g ice cream sample was diluted with

0.001 N H₂SO₄ (25 mL) and centrifuged at the 5000xg for 10 minutes. The obtained supernatant was filtered through Whatman No.1 filter paper and through a 0.45 µm membrane filter (PALL, USA), respectively. The 2 mL aliquot was stored for each sample in HPLC vials at -20 °C for HPLC analysis and 0.001 N H₂SO₄ was used as mobile phase at a flow rate of 0.6 mL/minute. Organic acids were separated using a Alltech IOA-1000 organic acid column (300mm x 7.8 mm, Alltech, IL, USA). The wavelength of detection was 210 nm for the quantification of organic acids. For each sample, duplicate injections (approximately 10 µL) were made. Finally, the standard solutions of citric, orotic, malic, lactic, acetic, propionic and butyric acids were prepared using 0.001 N H₂SO₄ for the detection of elution times and to generate the calibration curves.

Mineral analysis

Mineral composition of the ice cream samples were analysed using an Inductively Coupled Plasma spectrophotometer (Perkin-Elmer, Optima 2100 DV, ICP/OES, Shelton, CT, USA), a modified method taken from Rodriguez Rodriguez *et al.* (23) and Caggiano *et al.* (24). At first, ice cream samples were dried in a microwave oven (Berghof speed wave, Germany) at 70°C until the dry matter contents of them reached a stable weighing and nearly 0.5 g samples were weighed to the vessels. Then, 10 mL (9:1 v/v) nitric acid (65% HNO₃)/ perchloric acid (70-72 %HClO₄) were added to each vessel and left overnight in this way. In the next day, the temperature of the samples were increased slowly to 160-170°C until obtaining the white smoke. Finally, the samples were filtered through the Whatman no. 42 filter paper and completed with distilled water in flasks to 50 mL. All samples were analysed using an Inductively Couple Plasma spectrophotometer (ICP-OES) and the mineral results of the ice cream samples were calculated as ppm.

Sensory analysis

The sensory analysis of ice cream samples were carried out at the Sensory Analysis Laboratory of Food Engineering Department of Atatürk University (Erzurum, Turkey) with standard and uniform floodlight. The sensory characteristics of

the samples were evaluated by randomly selected 50 untrained panellists (25 men and 25 women) by grading them on a scale of 1–9 (poor/ excellent) on 2 days of storage. For this purpose, the modified version of hedonic scale suggested by Bodyfelt *et al.* (29) was used. Ice cream samples were presented to the panellists that located in separate compartments in a special ice cream cups approximately 30 g at a serving temperature of ±10°C. Finally, all of the samples were graded by the panellists in terms of colour and appearance, texture, gumming structure and melting in mouth, flavour, sweetness and overall acceptability parameters.

Statistical analysis

The obtained data were analysed using the SPSS statistical software program version 13 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range tests and were used to determine the differences between the results.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical properties of ice creams

The analytical analysis results for the experimental ice cream samples are presented in Table 1. The addition of GTP to the ice creams caused statistically significant ($P<0.01$) change only in the total solid contents of them. The total solids, fat and protein values of the ice cream samples ranged between 39.30% to 41.23%, 5.30% to 5.40%, 4.94% to 5.31%, respectively. The obtained results showed that total solids and protein values of samples showed a decrease with the addition of GTP, while fat values of the samples increased. Statistical evaluations showed that only total solids values of samples showed differences from each other at the level of $P<0.01$. The determined differences among the samples might be due to the differences of GTP amount added to each ice cream samples. On the other hand composition, physical and foaming properties of GTP might cause differences on the physicochemical properties of samples. The foaming properties of GTP caused an increase on the volume, while reduced the weight scale of ice cream and depending on this result the total solid and protein values of samples decreased.

Table 1. The effect of different GTP concentrations on some physicochemical properties and colour values of ice creams (mean±SD)

| Ice cream samples | Total solids (%) | Fat (%) | Protein (%) | Titrateable acidity (%) | pH | Viscosity (cP) 50 rpm |
|-------------------|------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|--------------|-----------------------|
| Control | 41.23±0.12a** | 5.30±0.12 | 5.31±0.21 | 0.18±0.00c** | 6.68±0.01 | 2773±133.03b** |
| GTP(1%) | 39.67±0.25b** | 5.30±0.35 | 5.00±0.20 | 0.22±0.01b** | 6.66±0.02 | 3062±167.05b** |
| GTP(2%) | 39.30±0.13c** | 5.40±0.49 | 4.94±0.46 | 0.25±0.01a** | 6.66±0.02 | 9504±445.97a** |
| Ice cream samples | Overrun (%) | First dripping times (s) | Complete melting times (s) | L* | A* | b* |
| Control | 30.74±2.17 | 545±71.94a* | 3039±838.94 | 87.42±1.39a** | -.72±0.18a** | 13.21±0.29c** |
| GTP(1%) | 31.40±2.85 | 510±50.23a* | 2396±116.51 | 71.09±1.10b** | -.00±0.19a** | 21.03±1.17b** |
| GTP(2%) | 33.47±1.71 | 391±59.94b* | 2319±27.77 | 67.35±0.96c** | -.36±0.24b** | 22.92±1.27a** |

Mean values ± standard deviations of ice creams manufacturing with duplicate samples. The letters a, b, c and d indicates means that significantly different at $P<0.01$ and $P<0.05$ levels; **, $P<0.01$, *, $P<0.05$. GTP: green tea powder

According to the statistical evaluations, titration acidity values of the ice creams showed a significant increase ($P<0.01$) with the increment of GTP amount, while pH values of them decreased. However, this decrease on the pH values was statistically insignificant. As seen in Table 1, all ice creams were completely different from each other in terms of titration acidity values at the level of $P<0.01$. Obtained results might be attributed to the natural organic acids found in GTP. Also, similar results reported by Murtaza *et al.* (30) in ice creams produced with fig addition at different levels.

Viscosity is an important parameter for the determination of quality of ice creams. The structural characteristics of ice creams are related to the viscosity values of ice cream mixes (31). As seen in Table 1, the highest mean viscosity value was determined as 9504±445.97 cP in GTP_(2%) sample and the lowest mean value was 2773±133.03 cP in the control sample (Table 1). From the obtained results, it might be said that GTP_(%) sample showed a significant increase with the increment GTP concentration. According to the statistical evaluations, control and GTP(1%) samples showed similarity in between, while GTP_(2%) was completely different ($P<0.01$) from them in terms of viscosity. The increase in the viscosity values of samples might be attributed to small air cells occurred in ice creams during production, aggregation of some proteins and agglutination of fat globules at low temperatures. Moreover, differences among the viscosity values of the samples might be stemmed from the physicochemical properties of GTP and water-binding capacity of the fibre and other compounds found in it (31).

Overrun value is an increase in the volume of ice cream mix and the presence of air in mix (32). As seen in Table 1, the highest mean overrun value was determined in the GTP_(2%) it was followed by GTP_(1%) and control samples, respectively. The results showed that the increment of GTP amount caused an increase on the overrun values of ice creams, but the differences among the samples were not significant statistically. These obtained results showed differences with the first dripping and complete melting time values of the observed experimental ice creams. From these findings, it might be said that the addition of GTP caused excess amount of air incorporation to the ice cream mix. The excess air amount caused abundant foaming occurrence in the mix (33). Similar results were found by Yuksel Kavaz (34) on a study about the blackthorn added ice creams. The researcher determined the thermal properties of ice creams with the measurements of Differential Scanning Calorimetry (DSC).

The longest mean first dripping time and complete melting time values were found in the control sample and it was followed by GTP_(1%) and GTP_(2%) samples, respectively (Table 1). According to statistical evaluations, the mean first dripping time values of the control and GTP_(1%) samples showed similarity with each other, while GTP_(2%) samples were different ($P<0.05$) from other samples statistically. However, ice cream samples did not show any differences in terms of complete melting time values. From the obtained results, it might be said that the physical properties of GTP formed a loose texture and due to this situation, water molecules moved freely, thus shortened the melting time values of ice cream samples (35).

Colour values of ice creams

The visual parameters of a food product including colour, shape, taste and flavour provide the formation of consumer preference. Observing the Table 1, L^* and a^* colour values of ice creams decreased depending on the GTP increment, while b^* values of the samples showed an increase with the addition of GTP. The highest mean values of L^* (87.42) and a^* (-3.72) were found in control sample, while the lowest mean values of them were 67.35 and -4.36, respectively in GTP(2%). However, the highest mean b^* colour value was in GTP(2%) (22.92), followed by GTP(1%) (21.03) and control (13.21) samples, respectively. According to the statistical evaluations, all of the samples showed statistically significant differences ($P<0.01$) in terms of L^* and b^* colour values. As seen in the a^* values of the ice creams, control and GTP(1%) showed similarity in between, while GTP(2%) was found different ($P<0.01$) from them statistically. The determined differences among the samples probably due to the changing of colour density with the addition GTP.

Organic acid profiles of green tea powder and ice creams

Organic acids are important food components for the formation of taste and flavour, and determination of the quality and safety of food products. In this research, seven organic acids were detected in GTP and ice cream samples. The organic acid compositions of GTP and ice cream samples are presented in Table 2 and Table 3.

Citric acid is a weak tricarboxylic acid and is found naturally in many fruits. In addition, it is an important organic acid in fresh raw milk and approximately 0.2% of citric acid is found in it (18, 22). As seen in Table 2, GTP contained 19.05 ± 2.31 $\mu\text{g/g}$ citric acid. Sample GTP(2%) ranked first in terms of citric acid value, followed in descending order by GTP(1%) and control samples, respectively (Table 3). Citric acid concentrations of the samples showed an increase compliance with the citric acid value of GTP. Similar results also reported by Yüksel Kavaz *et al.* (36) in terebinth added ice creams. According to the statistical evaluations, there were not any differences between the samples.

Orotic acid is found in significant amounts in milk and dairy products. Generally, it is formed as an intermediate compound during the biosynthesis of nucleic acids (18, 37). Observing the Table 2, the orotic acid concentration of GTP was found as 0.02 ± 0.02 $\mu\text{g/g}$. On the other hand orotic acid was determined as 6.96 $\mu\text{g/g}$ in control and GTP(1%), while the level of it was found as 6.95 in GTP(2%) sample (Table 3). Also, Fernandez-Garcia and McGregor (18); Tormo and Izco (22); Güzel-Seydim *et al.* (38) reported that orotic acid concentrations of milk and milk products reduced to the levels of 45-48% during fermentation and storage period. Statistical evaluations showed that there were not any statistical differences between the samples (Table 2).

Lactic acid is an important organic acid in milk and dairy products. It is important in terms of flavour and quality of dairy products (22, 37).

Table 2. Organic acid profiles of GTP (mean \pm SD)

| | Citric acid ($\mu\text{g/g}$) | Orotic acid ($\mu\text{g/g}$) | Malic acid ($\mu\text{g/g}$) | Lactic acid ($\mu\text{g/g}$) | Acetic acid ($\mu\text{g/g}$) | Propionic acid ($\mu\text{g/g}$) | Butyric acid ($\mu\text{g/g}$) |
|------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Green tea powder | 19.05 ± 2.31 | 0.02 ± 0.02 | 0.00 ± 0.00 | 219.33 ± 92.56 | 4.00 ± 0.01 | 11.90 ± 1.70 | 0.00 ± 0.00 |

Mean values \pm standard deviations of ice creams manufacturing with duplicate samples. The letters a, b and c indicates means that significantly different at $P<0.01$ level; **: $P<0.01$. GTP: green tea powder

Table 3. The effect of different GTP concentrations on the organic acid profiles of the ice creams (mean \pm SD)

| Ice cream samples | Citric acid ($\mu\text{g/g}$) | Orotic acid ($\mu\text{g/g}$) | Malic acid ($\mu\text{g/g}$) | Lactic acid ($\mu\text{g/g}$) | Acetic acid ($\mu\text{g/g}$) | Propionic acid ($\mu\text{g/g}$) | Butyric acid ($\mu\text{g/g}$) |
|-------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Control | 32.92 ± 0.72 | 6.96 ± 0.23 | 0.00 ± 0.00 | $2.49\pm 1.53\text{c}^{**}$ | $0.00\pm 0.00\text{b}^{**}$ | $0.00\pm 0.00\text{c}^{**}$ | 4.68 ± 0.50 |
| GTP(1%) | 36.16 ± 0.44 | 6.96 ± 0.22 | 0.00 ± 0.00 | $8.78\pm 0.25\text{b}^{**}$ | $2.34\pm 1.13\text{a}^{**}$ | $3.95\pm 0.15\text{b}^{**}$ | 4.11 ± 0.88 |
| GTP(2%) | 37.13 ± 3.88 | 6.95 ± 0.24 | 0.00 ± 0.00 | $12.59\pm 0.29\text{a}^{**}$ | $3.04\pm 0.09\text{a}^{**}$ | $4.74\pm 0.09\text{a}^{**}$ | 3.78 ± 0.36 |

Mean values \pm standard deviations of ice creams manufacturing with duplicate samples. The letters a, b and c indicates means that significantly different at $P<0.01$ level; **: $P<0.01$. GTP: green tea powder

Observing the Table 2, the mean lactic acid value of GTP was determined as 219.33 ± 92.56 $\mu\text{g/g}$. The highest mean concentration of lactic acid was in sample GTP_(2%), followed in descending order by samples GTP_(1%) and control, respectively (Table 3). Lactic acid concentration of samples showed an increase depending on the lactic acid value of GTP. The statistical evaluations showed that there were significant ($P < 0.01$) differences among the ice cream samples in terms of lactic acid concentrations.

Acetic acid is a natural organic acid and occurs at the end of citrate, lactose and amino acid metabolism. The highest concentration of acetic acid in product is unwanted due to the pungent and vinegary taste and flavour of it (39). The acetic acid concentration of GTP was determined as 4.00 ± 0.01 $\mu\text{g/g}$. As seen in Table 3, the highest mean acetic acid value (3.04 ± 0.09 $\mu\text{g/g}$) was found in GTP_(2%) and followed by GTP_(1%) (2.34 ± 1.13 $\mu\text{g/g}$) and control (0.00 ± 0.00 $\mu\text{g/g}$), respectively. The acetic acid concentration of samples stemmed from the acetic acid value of GTP. Similar findings were determined in terebinth added ice creams by Yuksel Kavaz *et al.* (36). According to the statistical evaluations, GTP(1%) and GTP(2%) showed a similar trend, but control sample showed statistically significant differences ($P < 0.01$) from these two samples.

Propionic acid can be found naturally in some plants. It is oily, liquid and colourless and has pungent taste and flavour (40). According to Table 2, propionic acid concentration of GTP was 11.90 ± 1.70 $\mu\text{g/g}$. The highest mean concentration of propionic acid was found in GTP_(2%), but propionic acid was not determined in the control sample. The propionic acid values of samples increased with the increment of GTP amount. As seen in Table 3 all of the ice cream samples were different ($P < 0.01$) from each other statistically.

Butyric acid is produced in dairy products as a result of the raw material, microbial activity and biochemical reactions (41). As seen in the Table 2, butyric acid was not determined in GTP. The highest mean concentration of butyric acid was found in the control sample, followed in descending order by the samples GTP_(1%), and GTP(2%) (Table 3). From these results it might be said that butyric acid contents of samples progressively decreased with the addition of

GTP. Butyric acid amounts of ice cream samples were determined as statistically insignificant.

Obtained results showed that citric, lactic, acetic and propionic acid amounts of ice cream samples showed an increase with the increment of GTP concentration, while orotic and butyric acid contents of the samples showed a decrease. However, malic acid was not determined in any of the ice cream samples. The organic acid profiles of ice creams showed compliance with the organic acid profiles of GTP.

Mineral compositions of green tea powder and ice creams

The mean concentrations of minerals of GTP and ice cream samples are shown in Table 4. As seen in Table 4, Ca, Al, Cu, Mg, Fe, K, Zn, and Na values of GTP ranged from 3061.60 ppm, 0.00 ppm, 6.05 ppm, 1205 ppm, 0.00 ppm, 1148 ppm, 37.55 ppm and 160.35 ppm, respectively.

Aluminium (Al) is not an essential component for the nutrition of human, although it is the most common element that found in the environment (42). Iron (Fe) and copper (Cu) are essential for the human health, but high concentration of them can cause toxicity on living cells (43). According to Table 4, Al and Fe were not determined in any of the ice cream samples, while Cu was determined in all of the samples.

Calcium (Ca) is an important mineral for human health. It is absorbed in the intestinal system and used for many essential functions in the body (44). The function of magnesium (Mg) in metabolism is related to the functions of Ca and P (45). Fresh fruits and vegetables are important sources of potassium (K). They have a key mechanism in nerve transmission of living cells (46). Zinc (Zn) is an essential trace element and deficiency of it causes many diseases (47). Finally, sodium (Na) is an essential mineral for many functions in the metabolism including water balance of cells, proper functioning of both nerve impulses and muscles, and regulates blood pressure (46). As seen in Table 4, the highest mean Ca, Cu, Mg, K, Zn and Na amounts were detected in GTP_(2%) and it was followed by GTP_(1%) and control samples, respectively. Statistical evaluations showed that, there were no differences among the ice cream samples in terms of Cu and

Table 4. Mineral composition of GTP and the effect of different GTP concentrations on the mineral composition of ice creams (mean±SD)

| Green tea powder | Ca (ppm) | Al (ppm) | Cu (ppm) | Mg (ppm) |
|---------------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|
| | 3061.60±62.51 | 0.00±0.00 | 6.05±0.21 | 1205.15±56.07 |
| Ice Cream Samples | | | | |
| Control | 1182.50±54.59b* | 0.00±0.00 | 18.45±1.73 | 455.40±1.41 |
| GTP _(1%) | 3755.20±19.32a* | 0.00±0.00 | 18.70±3.11 | 513.10±40.02 |
| GTP _(2%) | 3974.05±14.00a* | 0.00±0.00 | 19.30±1.98 | 525.95±0.64 |
| Green tea powder | Fe (ppm) | K (ppm) | Zn (ppm) | Na (ppm) |
| | 0.00±0.00 | 1148.05±17.32 | 37.55±0.35 | 160.35±1.48 |
| Ice Cream Samples | | | | |
| Control | 0.00±0.00 | 3156.55±23.41b* | 18.45±1.73 | 17.70±0.00c** |
| GTP _(1%) | 0.00±0.00 | 3616.70±67.74a* | 20.65±0.07b** | 755.75±10.96b* |
| GTP _(2%) | 0.00±0.00 | 3766.35±73.74a* | 26.05±0.78a** | 794.85±7.00a* |

Mean values ± standard deviations of ice creams manufacturing with duplicate samples. The letters a, b, c and d indicates means that significantly different at $P<0.01$ and $P<0.05$ levels; **: $P<0.01$, *: $P<0.05$. GTP: green tea powder

Mg concentrations, while Zn amounts of the samples were different ($P<0.01$) from each other statistically. However, GTP_(1%) and GTP_(2%) samples showed similarity in terms of Ca and K values, while control sample was different ($P<0.05$) from them statistically. Conversely, Na values of the control and GTP_(1%) samples showed similarity in between, while GTP_(2%) was found different from them at the level of $P<0.05$. From these results it could be said that the differences of mineral (Ca, Cu, Mg, K, Zn and Na) amounts of ice cream samples might be related to the concentration and chemical structure of using GTP, raw material (milk), used containers, technological processes and some other factors.

Sensory properties of ice creams

The sensory properties of ice cream samples are shown in Table 5. The addition of GTP to ice cream mix significantly affected ($P<0.05$) the sensory properties of the samples except for texture and, gumming structure and melting in mouth scores. The control sample ranked first in terms of colour and appearance, flavour, sweetness, and overall acceptability scores, followed in descending order by GTP_(1%) and GTP_(2%) samples

(Table 5). However, the highest values of texture and, gumming structure and melting in mouth were given to GTP_(2%) by the panellists and it was followed by GTP_(1%) and control samples, respectively. Statistical evaluations showed that colour and appearance, and flavour scores of samples were completely different ($P<0.05$) from each other. The sweetness scores of the GTP_(1%) and GTP_(2%) were similar, while control sample showed differences from them at the level of $P<0.05$. Conversely, control and GTP_(1%) showed similarity with each other with respect to overall acceptability score, while GTP_(2%) was found different ($P<0.01$) from them statistically. The highest overall acceptability scores were given to control and followed by GTP_(1%) and GTP_(2%), respectively. This situation might be related to consumer preferences in terms of the taste and flavour of ice creams besides the normal functional and structural properties of them. The GTP gave important functional and structural properties to experimental ice creams, although grass like flavour of it might not be preferred by some consumers. However, it is thought that GTP added ice creams will be consumed desirably by the consumers who want to consume functional foods.

Table 5. The effect of different GTP concentration on some sensory properties of ice creams (mean±SD)

| Ice cream samples | Colour and appearance | Texture | Gumming structure and melting in mouth | Flavour | Sweetness | Overall acceptability |
|---------------------|-----------------------|-----------|--|--------------|-------------|-----------------------|
| Control | 7.50±0.00a* | 6.41±0.47 | 6.50±0.58 | 6.74±0.01a* | 7.45±0.06a* | 7.17±0.03a** |
| GTP _(1%) | 6.95±0.38ab* | 6.64±0.62 | 6.51±0.47 | 5.63±0.95ab* | 6.45±0.74b* | 6.48±0.61a** |
| GTP _(2%) | 6.35±0.86b* | 7.11±0.33 | 7.20±0.64 | 4.40±1.27b* | 6.40±0.69b* | 5.46±0.53b** |

Mean values ± standard deviations of ice creams manufacturing with duplicate samples. The letters a, b, c and d indicates means that significantly different at $P<0.01$ and $P<0.05$ levels; **: $P<0.01$, *: $P<0.05$. GTP: green tea powder

CONCLUSIONS

Consequently, obtained results also showed that the addition of GTP significantly affected the physicochemical properties, colour scores, organic acid profiles, mineral composition and sensory characteristics of ice cream. The increment of GTP concentration caused an increase on the physicochemical characteristics and colour values of the ice creams except for total solids, protein, pH, first dripping time, complete melting time, L^* and a^* values. As seen in the organic acid profiles and mineral compositions of the samples, citric, lactic acetic and propionic acid amounts, and Ca, Cu, Mg, Fe, K, Zn and Na concentrations of the ice creams increased with the increment of GTP concentration, but orotic values decreased. However, malic acid, Al and Fe were not determined in any of the samples. Generally, GTP_(2%) came to fore with regard to most of the observed parameters, although control was more appreciated by the panellists in terms of sensory properties except for the scores of resistance to texture, and gumming structure and melting in mouth. Obtained results showed that the addition of GTP to ice creams earned different values to them. Moreover, GTP can be considered as a suitable natural additive for ice cream production with regard to its nutritional value, physicochemical properties, organic acid profiles and mineral compositions.

REFERENCES

1. Koxholt MMR, Eisenmann B, Hinrichst J. 2001. Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *J Dairy Sci*, 84, 31-37.
2. Frost MB, Heymann H, Bredie WLP, Dijksterhuis GB, Martens M. 2005. Sensory measurement of dynamic flavour intensity in ice cream with different fat levels and flavourings. *Food Qual Prefer*, 16, 305-314.
3. Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB. 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *Br J Nutr*, 81, 1-27.
4. Ferraz JL, Cruz AG, Cadena RS, Freitas MQ, Pinto UM, Carvalho CC, Faria JAF, Bolini HMA. 2012. Sensory acceptance and survival of probiotic bacteria in ice cream produced with different overrun levels. *J Food Sci*, 71, 24-28.
5. Balthazar CF, Silva HLA, Celeguini RMS, Santos R, Pastore GM, Junior CCA, Freitas MQ, Nogueira LC, Silva MC, Cruz AG. 2015. Effect of galactooligosaccharide addition on the physical, optical, and sensory acceptance of vanilla ice cream. *J Dairy Sci*, 98, 4266-4272.
6. Brouillard R. 1983. The *in vivo* expression of anthocyanin colour in plants. *Phytochem*, 22, 311-323.
7. Zhao Y. 2007. Berry fruit, value-added products for health promotion, CRC Press, USA, 442 p.
8. Dervisoglu M. 2006. Influence of hazelnut flour and skin addition on the physical, chemical and sensory properties of vanilla ice cream. *Int J Food Sci Technol*, 41, 657-661.
9. Karaman S, Toker ÖS, Yüksel F, Çam M, Kayacier A, Dogan M. 2014. Physicochemical, bioactive, and sensory properties of persimmon-based ice cream: Technique for order preference by similarity to ideal solution to determine optimum concentration. *J Dairy Sci*, 97, 97-110.
10. Cooper R, Morre DJ, Morre DM. 2005. Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. *J Altern Complement Med*, 11, 521-528.
11. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigaki I. 2010. Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chin Med*, 5, 1-9.
12. Topuz A, Dinçer C, Torun M, Tontul İ, Naadem HŞ, Haznedar A, Özdemir F. 2014. Physicochemical properties of Turkish green tea powder: effects of shooting period, shading, and clone. *Turk J Agric For*, 38, 233-241.
13. Chen ZM, Yu YM. 1994. Tea, In: *Encyclopedia of Agricultural Science*, Charles JA (chief ed), Volume 4, Academic Press, San Diego, USA, pp. 281-288.
14. Vinson JA, Zhang J. 2005. Black and green teas equally inhibit diabetic cataracts in a streptozotocin-induced rat model of diabetes. *J Agric Food Chem*, 53, 3710-3713.
15. Higdon JV, Frei B. 2003. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci*, 43, 89-143.
16. Tokunaga M. 2004. *New tastes in green tea*. Kodansha International, USA, 122 p.

17. Buffa M, Guamis B, Saldo J, Trujillo AJ. 2004. Changes in organic acids during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *Lebensm. Wiss Technol*, 37, 247-253.
18. Fernandez-Garcia E, McGregor JU. 1994. Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *J Dairy Sci*, 11, 2934-2939.
19. Marsili RT, Ostapenko H, Simmons RE, Green DE. 1981. High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. *J Food Sci*, 46, 52-57.
20. Adhikari K, Grün IU, Mustapha A, Fernando LN. 2002. Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage. *J Food Qual*, 25, 435-451.
21. Akalin AS, Gonc S, Akbas Y. 2002. Variation in organic acids content during ripening of pickled white cheese. *J Dairy Sci*, 85, 1670-1676.
22. Tormo M, Izco JM. 2004. Alternative reversed-phase high performance liquid chromatography method to analyse organic acids in dairy products. *J Chromatogr A*, 1033, 305-310.
23. Rodriguez Rodriguez EM, Sanz Alaejos M, Diaz Romeo C. 2002. Mineral content in goats' milks. *J Food Qual*, 25, 343-358.
24. Caggiano R, Sabia S, D'Emilio M, Macchiato M, Anastasio A, Ragosta M, Paino S. 2005. Metal levels in fodder, milk, dairy products, and tissues sampled in ovine farms of Southern Italy. *Environ Res*, 99, 48-57.
25. Demirci M, Gündüz HH. 1994. *Dairy Technology Hand Book*, Hasad Publ., Istanbul, TR, 66 p.
26. Dervisoglu M. 2006. Influence of hazelnut flour and skin addition on the physical, chemical and sensory properties of vanilla ice cream. *Int J Food Sci Technol*, 41, 657-661.
27. Jimenez-Florez R, Klipfel NJ, Tobias J. 1993. Ice cream and frozen desserts, In: *Dairy Science and Technology Handbook*, Hui YH (ed), VCH Publishers, New York, USA, pp. 57-159.
28. Guven M, Karaca OB, 2002. The effects of varying sugar content and fruit concentration on the physical properties of vanilla and fruit ice-cream-type frozen yogurts. *Int J Dairy Technol*, 55, 27-31.
29. Bodyfelt FW, Tobias J, Trout GM. 1998. *The sensory evaluation of dairy products*, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 166 p.
30. Murtaza MA, Huma N, Mueen-Ud-Din G, Shabbir MA, Mahmood S. 2004. Effect of fat replacement by fig addition on ice cream quality. *Int J Agr Biol*, 6, 68-70.
31. El-Samahy SK, Youssef KM, Moussa-Ayoub TE. 2009. Producing ice cream with concentrated cactus pear pulp: A preliminary study. *J Prof Assoc Cactus Develop*, 11, 1-12.
32. Sofjan R, Hartel RW. 2004. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice-cream. *Int Dairy J*, 14, 255-262.
33. Temiz H, Yeşilsu AF. 2010. Effect of pekmez addition on the physical, chemical, and sensory properties of ice cream. *Czech J Food Sci*, 28, 538-546.
34. Yuksel Kavaz A. 2015. The effects of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) addition on certain quality characteristics of ice cream. *J Food Qual*, 38, 413-421.
35. Sakurai K, Kokub S, Hakamata K, Tomita M, Yoshida S. 1996. Effect of production conditions on ice cream melting resistance and hardness. *Milchwissenschaft*, 51, 451-454.
36. Yuksel Kavaz A, Şat IH, Yuksel M. The effect of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) coffee addition on the chemical and physical characteristics, colour values, organic acid profiles, mineral compositions and sensory properties of ice creams. *J Food Sci Technol*, 52, 8023-8031
37. Kavaz A, Bakirci I. 2014. Influence of inulin and demineralised whey powder addition on the organic acid profiles of probiotic yoghurts. *Int J Dairy Technol*, 67, 577-583.
38. Güzel-Seydim ZB, Seydim AC, Grene AK. 2000. Organic acids and volatile flavour components evolved during refrigerated storage of kefir. *J Dairy Sci*, 83, 275-277.
39. Ott A, Hugi A, Baumgartner M, Chaintreau A. 2000. Sensory investigation of yogurt flavor perception: Mutual influence of volatiles and acidity. *J Agr Food Chem*, 48, 441-450.
40. Kosmider A, Drozdzyńska A, Blaszką K, Leja K, Czaczyk K. 2010. Propionic acid production by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* using crude glycerol and whey lactose industrial wastes. *Pol J Environ Stud*, 19, 1249-1253.

41. Molquentin J, Precht D. 1998. Comparison of gas chromatographic methods for analysis of butyric acid in milk fat and fats containing milk fat. *Eur Food Res Technol*, 206, 213-216.
42. Deeb Azza MM, Gomaa GM. 2011. Detection of aluminium in some dairy products at Kafr-El-Sheikh, Egypt. *Global Veterinaria*, 6, 1-5.
43. Ayar A, Sert D, Akin N. 2009. The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia-Turkey. *Environ Monit Assess*, 152, 1-12.
44. Tunick MH. 1987. Calcium in dairy products. *J Dairy Sci*, 70, 2429-2438.
45. De La Fuente MA, Montes F, Guerrero G, Juarez M. 2003. Total and soluble contents of calcium, magnesium, phosphorus and zinc in yoghurts. *Food Chem*, 80, 573-578.
46. Nabrzyski M. 2007. Functional role of some minerals in foods. *Mineral components in foods*, Szefer P, Nriagu JO (eds), CRC Press/Taylor Francis Group, UK, pp. 363-388.
47. Hambidge KM, Krebs NF. 2007. Zinc deficiency: a special challenge. *J Nutr*, 137, 1101-1105.

GIDALARDA POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBON BİLEŞİKLERİNİN BULUNUŞU VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Özlem Kılıç, Elif Aykın Dinçer, Mustafa Erbaş*

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş tarihi / *Received*: 01.06.2016
Kabul tarihi / *Accepted*: 02.09.2016

Özet

Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) bileşikler; çeşitli fosil yakıtların, karbon içeren maddelerin ve gıda gibi diğer organik bileşiklerin pirolizi veya tam yanmaması sonucu oluşan kanserojen maddeler olarak tanımlanmaktadır. PAH bileşikleri, gıdalara çevre kirliliği kaynaklı olarak hava, su ve topraktan bulaşabilmekte ve/veya gıdaların yüksek sıcaklıkta işlenmesi sırasında oluşabilmektedir. Gıda yoluyla en önemli PAH bileşikleri alım kaynağı et ve et ürünleri olup bu ürünlerin PAH bileşikleri içeriği temel olarak ürünün yağ içeriğine ve uygulanan ısı işlem yöntemi ve süresine göre değişmektedir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar çeşitli kanser türleri ile PAH bileşiklerini içeren gıdaların tüketimi arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu makalede; PAH bileşiklerinin genel özellikleri, gıdalarda ve özellikle et ürünlerinde bu bileşiklerin oluşumunu etkileyen faktörler ve PAH bileşiklerinin sağlık üzerine etkileri derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Polisiklik aromatik hidrokarbon, PAH, gıda, et, sağlık

THE PRESENCE OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON COMPOUNDS IN FOOD AND EFFECTS ON HEALTH

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbon compounds which occurs the results of pyrolysis or incomplete combustion of various fossil fuels, carbon-containing materials and other organic compounds such as food are defined as carcinogenic substances. PAH compounds can be contaminate to foods from the air, water and soil originating environmental pollution and/or occur during processing of foods at high temperatures. The most important source of PAH compounds through food intake is meat and meat products, content of PAH compounds of these products mainly depending on their fat content and applied heat treatment's method and time. Epidemiological studies have shown a relation between the consumption of food containing the PAH compounds with various types of cancer. In this article; the general characteristics of PAH compounds, the factors influencing formation of these compounds in food especially meat products and the effects on health of PAH compounds were reviewed.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH, food, meat, health

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ erbas@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 6575,

☎ (+90) 242 310 6309

GİRİŞ

Polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) bileşikler, kömür gibi fosil yakıtların, karbon içeren maddelerin ve gıda gibi diğer organik bileşiklerin yüksek sıcaklıkta oksijensiz ortamda pirolize olması veya tam yanmaması sonucu oluşan çevre kirletici maddeler olarak tanımlanmaktadır (1-7). Günümüzde, PAH bileşikleri; fosil yakıtları kullanımının artması, endüstrinin gelişmesi, atıkların birikmesi ve tütün içilmesi gibi insan kaynaklı faaliyetlerin oluşumlarının yanı sıra volkanik patlamalar ve orman yangınları gibi doğal kaynaklarla da oluşmaktadır (8-11).

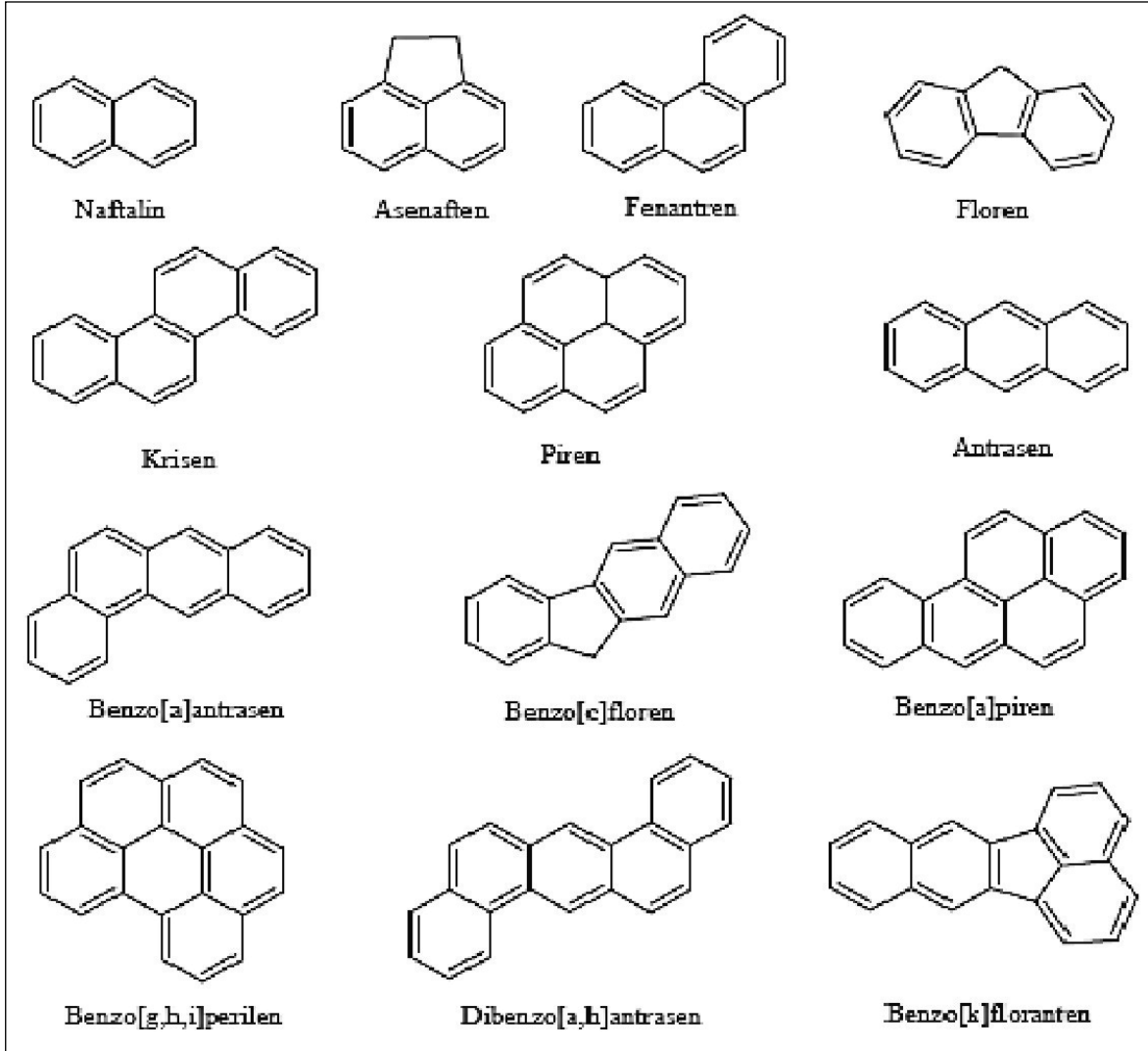
Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından mutajen ve kanserojen olarak tanımlanan (12, 13) PAH bileşikleri; hava, su, toprak ve gıda maddelerinde kompleks karışımlar halinde bulunmaktadır (14, 15). İnsanlar, bu bileşiklere kirli hava solumaları ve kirli su ve gıda tüketimi gibi çeşitli yollarla maruz kalmaktadırlar (1, 9, 13, 16, 17). Bu bileşiklere maruziyet sigara kullanımı ve direkt ısı işlem görmüş gıdalar ile daha çok olmaktadır (2). PAH bileşikleri, iki ya da daha çok sayıda benzen halkası içeren lipofilik organik bileşiklerdir (3, 9, 10, 14, 18, 19). Bu bileşikler yapılarına bağlı olarak mutajenik ve kanserojenik etkiye sahiptirler (3, 14, 15). PAH bileşikleri; yapısında dörtten az benzen halkası bulunduran hafif PAH bileşikleri ve beşten daha fazla benzen halkası bulunduran ağır PAH bileşikleri olmak üzere temelde iki grup olarak sınıflandırılmaktadır (20-22). PAH bileşikleri sahip olduğu benzen halkasına göre adlandırılmaktadırlar. Bu bileşiklerden iki benzen halkasına sahip olanlar naftalin, üç benzen halkasına sahip olanlar antrasen ve fenantren olarak adlandırılırken, daha fazla benzen halkasına sahip olanlar ise kendilerine özgü isimlerle adlandırılmaktadırlar (Şekil 1) (17). Naftalin, asenaftalen, asenaften, floren, fenantren ve antrasen hafif PAH bileşikleri arasında yer alırken floranten, piren, krisen, benzo[b]floranten, benzo[k]floranten, benzo[a]piren, dibenzo[a,h]antrasen, indeno[1,2,3-cd]piren ve benzo[g,h,i]perilen ise ağır PAH bileşikleri arasında yer almaktadır (23). Benzo[a]piren, dibenzo[a,h]antrasen gibi ağır PAH bileşiklerin stabilitesi ve dolayısıyla mutajenik ve kanserojenik etkisi hafif PAH bileşiklerine göre daha fazladır (2, 8, 22).

Saf haldeki PAH bileşikleri; katı halde, renksiz, beyaz, açık sarı-yeşil renkli ve güzel kokuya sahiptirler (24). PAH bileşiklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri molekül ağırlıklarına göre değişmektedir (25). PAH bileşiklerinin molekül ağırlıkları arttıkça sudaki çözünürlükleri azalmaktadır (10, 14, 18, 19). Yüksek molekül ağırlığa sahip PAH bileşikleri düşük uçuculuk ve çözünürlük nedeniyle buharlaşmadan kalabilmektedirler. Düşük uçuculuğa sahip olan PAH bileşikleri, yapısındaki halka sayısının artmasıyla uçuculukları daha da azalmaktadır (18, 20). PAH bileşiklerinin molekül ağırlıkları arttıkça erime noktası ve kaynama noktası yükselmekte, buhar basınçları azalmaktadır (25). Çoğu PAH bileşiğinin erime noktası 250 °C'nin altında ve kaynama noktası da 300 °C'nin üzerindedir (24). Bazı PAH bileşikleri ve özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

GIDA VE PAH BİLEŞİKLERİ

Endüstriyel üretim yapılan bölgelerde çevre kirliliğinden (26, 27) dolayı PAH bileşikleri suya, toprağa ve havaya geçerek meyve, sebze ve tahıl ürünleri gibi tarım ürünlerine kontamine olmaktadır (19). Bunun yanı sıra kavrulmuş kahve, bitkisel yağ, süt ürünleri, çay gibi işlenmiş ve ısı işlem görmüş gıdalar ve ambalaj materyalinde de bu bileşiklere rastlanılmıştır (1, 5, 22, 28, 29). Kahvede oluşan PAH bileşikleri, kahve çekirdeklerinin kavrulması sırasında meydana gelmektedir (6). Yağlı tohumlardaki PAH bileşikleri; su, toprak ve hava gibi çevresel etmenlerle temas sonucunda bu tohumlara bulaşabilmekte ve tohumların işlenmesi sürecindeki kurutma ve çözgen ekstraksiyonu gibi aşamalarda ise bitkisel yağlara geçebilmektedir (15, 21). Avrupa Komisyonu düzenlemeleri (835/2011); propolis gibi arı ürünleri ve yeşil çay gibi çeşitli bitkisel gıdaların üretim yöntemlerine bağlı olarak PAH bileşiklerini içerebildiklerini bildirmiştir (9, 30).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA); tüketicilerin diyetle günlük PAH bileşikleri alımına neden olan en önemli gıda kaynaklarından birinin de et ve et ürünleri olduğunu bildirmiştir (2, 31). Et ürünlerinde oluşan PAH bileşiklerinin miktarı; etin yağ içeriğine, oksijen konsantrasyonuna, işlemede kullanılan ısı kaynağının çeşidine ve



Şekil 1. Bazı PAH bileşiklerinin molekül yapıları

sıcaklığına, gıda ile ısı kaynağı arasındaki uzaklığa ve işlem süresine bağlı olarak değişmektedir (2, 10, 19, 32-36). Özellikle gıdanın alevle direkt teması, ısı işlem süresinin uzaması ve yüksek ısı işlem sıcaklığı PAH bileşiklerinin miktarını arttırmaktadır (11, 34, 36).

Temel olarak PAH bileşiklerinin üç farklı mekanizma ile gıdalarda oluştuğu düşünülmektedir. Birinci mekanizma; yağ, protein ve karbonhidrat gibi organik maddelerin yüksek sıcaklıklarda (500-900 °C) pirolize olmasıyla PAH bileşiklerinin oluşmasıdır. İkinci mekanizma; kömür ateşi üzerinde pişirilen gıdalardan ayrılan yağ damlalarının sıcak kömür üzerine düşmesi ve yoğun ateşle karşılaşması sonucu uçucu PAH bileşiklerine dönüşmesidir. Bu uçucu PAH bileşikleri

dumanlanma arttıkça gıdanın yüzeyine daha çok bulaşmaktadır. Üçüncü mekanizma ise; kömürün tam olarak yanmaması sonucu PAH bileşiklerinin oluşması ve bunların gıda yüzeyine kontamine olmasıdır (37, 38).

Özellikle, mangal ya da ağaç kömürü üzerinde pişirilen etlerde eriyen yağlar, sıcak kömür üzerine düşerek pirolize olmaktadır (34). Böylelikle oluşan PAH bileşikleri çıkan duman ile ete doğru taşınmakta ve yüzeyde birikmektedir (20). Daha sonrasında ise gıdanın içerisine doğru taşınarak lipid bileşenlerinde birikmektedir (35, 39). Bu taşınma olayında PAH bileşiklerinin lipofilik özelliğinden (10, 15, 19, 21, 32) dolayı gıdanın yağ ve su içeriği taşınma hızında önemli role sahip olmaktadır (2, 38, 39).

Çizelge 1. Bazı PAH bileşikleri ve özellikleri (23, 49, 50)

| İsmi | Simge | Kimyasal Formülü | Molekül Ağırlığı (g/mol) | Erieme Noktası (°C) | Kaynama Noktası (°C) | Renk | Suda Çözünürlük (mg/L) |
|-----------------------|--------|---------------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|----------|------------------------|
| Naftalin | Np | C ₁₀ H ₈ | 128 | 80 | 218 | - | 31 |
| Asenaftelen | Anp | C ₁₂ H ₈ | 152 | 92-93 | 265-275 | - | 3.93 |
| Asenaften | Ane | C ₁₂ H ₁₀ | 154 | 95 | 96 | Beyaz | 1.93 |
| Floren | Flr | C ₁₃ H ₁₀ | 166 | 116-117 | 295 | Beyaz | 1.98 |
| Fenantren | Phe | C ₁₄ H ₁₀ | 178 | 100 | 340 | Renksiz | 1.20 |
| Floranten | Flu | C ₁₆ H ₁₀ | 202 | 109 | 375 | Mat sarı | 2.0-2.6 |
| Antrasen | An | C ₁₄ H ₁₀ | 178 | 218 | 340 | Renksiz | 0.076 |
| Piren | Py | C ₁₆ H ₂₀ | 202 | 156 | 360 | Renksiz | 0.077 |
| Krisen | Chr | C ₁₈ H ₁₂ | 228 | 254 | 448 | Renksiz | 2.8x10 ⁻³ |
| Benzo[a]antrasen | BaA | C ₁₈ H ₁₂ | 228 | 158 | 400 | Renksiz | 1x10 ⁻¹ |
| Benzo[b]floranten | BbF | C ₂₀ H ₁₂ | 252 | 168 | 481 | Renksiz | 1.2x10 ⁻³ |
| Benzo[k]floranten | BkF | C ₂₀ H ₁₂ | 252 | 216 | 480 | Mat Sarı | 7.6x10 ⁻⁴ |
| Benzo[j]floranten | BjF | C ₂₀ H ₁₂ | 252 | 166 | - | Sarı | 6.76x10 ⁻³ |
| Benzo[a]piren | BaP | C ₂₀ H ₁₂ | 252 | 179 | 496 | Mat Sarı | 2.3x10 ⁻³ |
| İndeno[1,2,3-cd]piren | IcdP | C ₂₂ H ₁₂ | 276 | 164 | 536 | Sarı | 0.062 |
| Dibenzo[a,h]antrasen | DahA | C ₂₂ H ₁₄ | 278 | 262 | 524 | Renksiz | 5x10 ⁻⁴ |
| Benzo[g,h,i]perilen | BghiPy | C ₂₂ H ₁₂ | 276 | 273 | 545 | Mat Sarı | 2.6x10 ⁻⁴ |

Gıda güvenliğinin sağlanması ve raf ömrünün uzaması için yapılan yanlış işlemler de PAH bileşiklerinin oluşumuna neden olabilmektedir (35). Tütsüleme işlemi et ve et ürünlerine uygulanan en eski gıda koruma yöntemlerinden biridir (32). Bu işlem uygulanan ürünlere güzel tat, koku ve aroma verirken; yağların pirolizi veya tütsü materyalinin eksik yanması sonucu mutajenik ve kanserojenik PAH bileşikleri oluşmaktadır (36, 40). Bir kılıfa doldurulduktan sonra tütsülenen et ürünlerinde, kılıf bariyer görevi gördüğü için tütsüleme işleminden kaynaklanan PAH bileşiklerinin gıdaya bulaşmasını engelleyebilmektedir (39). Bu engellemede sentetik kılıfın daha başarılı olduğu belirlenmiştir (35).

Kurutma, kızartma, kavurma ve ızgarada pişirme işlemleri de et ve et ürünlerinde PAH bileşiklerinin oluşumuna neden olmaktadır (2, 5, 10, 13, 41). Bu ısı işlemlerin uygulanması sırasında sıcaklık 400 °C'nin altında ise az miktarda PAH bileşiğinin oluştuğu, sıcaklık 400-1000 °C arasında ise PAH bileşikleri miktarının daha yüksek olduğu belirtilmektedir (13, 42). Yapılan bazı çalışmalarda tespit edilen en yüksek BaP, PAH₄ (BaP, BaA, Chr ve BbF) ve toplam PAH bileşiklerinin miktarları Çizelge 2'de verilmiştir.

PAH BİLEŞİKLERİ VE SAĞLIK

Doğada bulunan yüzden fazla PAH bileşiğinin mutajenik ve kanserojenik etkisi olduğu, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), Avrupa Bilimsel Komitesi (SCF) ve EFSA gibi birçok kuruluş tarafından rapor edilmiştir (9, 11, 43). SCF tarafından da 2002 yılında 15 PAH bileşiği kanserojen olarak tanımlanmış ve daha sonra Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi (JECFA) tarafından benzo[k]floren de bu gruba dâhil edilerek 16 PAH bileşiği öncelikli kirleticiler olarak tanımlanmıştır (31). Bu 16 öncelikli kirletici PAH bileşikleri Çizelge 3'te verilmiştir. Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Birimi (US-EPA) tarafından oluşturulan öncelikli kirleticiler listesinde yer alan 8 PAH bileşiği (BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, IcdP, DahA ve BghiPy) aynı zamanda Avrupa Birliği tarafından oluşturulan öncelikli kirleticiler listesinde de bulunmaktadır (1, 5, 7, 16, 22, 44).

PAH bileşikleri mutajenik ve kanserojenik etkisi nedeniyle insanlar, hayvanlar ve bitkiler için önemli bir risk kaynağıdır (28). Dolayısıyla bu bileşiklere maruz kalma çeşitli sağlık sorunlarına neden olmaktadır (7, 29). Hayvanlar üzerinde

Gıdalarda Polisiklik Aromatik Hidrokarbon Bileşiklerinin...

Çizelge 2. Pişirme yöntemine bağlı olarak bazı gıdaların PAH bileşikleri içeriği

| Et Örnekleri | Pişirme Yöntemleri | En Yüksek Toplam PAH Bileşiği (µg/kg) | En Yüksek BaP Bileşiği (µg/kg) | En Yüksek PAH4 Bileşiği (µg/kg) | Kaynak |
|--|--|--|--|--|--------|
| Domuz eti, jambon, tavuk, sosis | Dumanlama | - | 6.03 (domuz eti) | 34.65 (domuz eti) | (51) |
| Sığır eti ve hamburger köftesi | Barbekü | - | 2.13 (sığır eti) 29.1 (köfte) | 10.87 (sığır eti) 95.87 (köfte) | (34) |
| Köfte | Kızılötesi Pişirme (Farklı ısı akışı, uygulama mesafesi ve süresi) | 64.06 (370.62 kW/m ² ısı akışı, 10.5 cm pişirme mesafesi ve 4 dk pişirme süresi) | 0.21 (567.83 kW/m ² ısı akışı, 10.5 cm pişirme mesafesi ve 4 dk pişirme süresi) | 6.35 (370.62 kW/m ² ısı akışı, 10.5 cm pişirme mesafesi ve 8 dk pişirme süresi) | (3) |
| Gıda grupları (tahıl, süt, yağ, sebze vb. Ürünler), domuz eti, chorizo sosisi | Barbekü | - | 0.12 (gıda grubu, yağ) 0.29 (domuz eti) 0.21 (chorizo sosisi) | 0.62 (yağ) 1.7 (domuz eti) 1.4 (chorizo sosisi) | (12) |
| <i>Petrovská klobása</i> (geleneksel kurutulmuş doğal ve sentetik kılıf kullanılmış sosis) | Direkt dumanlama İndirekt dumanlama | 495 (direkt, depolama sonrası doğal kılıflı örnekler) 220 (direkt, kurutma sonrası doğal kılıflı örnekler) | - | - | (52) |
| Düşük ve yüksek yağlı Portekiz geleneksel fermente sosis | Direkt dumanlama İndirekt dumanlama | 870 (direkt, yüksek yağlı) | 0.32 (indirekt, düşük yağlı) | 10.35 (direkt, yüksek yağlı) | (2) |
| Sığır, keçi ve domuz eti | Sığ tavadan kızartma Kömür mangalı Elektrikli fırın ızgara | 17.88 (kömür mangalı, sığır eti) 4.77 (kömür mangalı, keçi eti) 3.47 (sığ tavadan, domuz eti) | - | - | (16) |
| Sığır ve domuz eti | Kömür mangalı Kömürlü ızgara Gazlı ızgara | 10.20 (kömür mangalı, domuz eti) 0.78 (kömür mangalı, sığır eti) | 3.00 (kömür mangalı, domuz eti) 0.15 (kömür mangalı, sığır eti) | - | (1) |
| Tavuk eti (farklı şekillerde marine edilmiş) | Mikrodalga fırın Tava Direkt bütan gazlı ızgara İndirekt bütan gazlı ızgara | 43.56 (mikrodalga, marinesiz) 62.41 (tava, marinesiz) 71.80 (direkt gazlı, marinesiz) 63.94 (indirekt gazlı, marinesiz) | 0.03 (mikrodalga, marinesiz) 3.84 (tava, marinesiz) 5.30 (direkt gazlı, marinesiz) 1.01 (indirekt gazlı, marinesiz) | - | (53) |
| Sığır, tavuk ve balık eti | Kömür mangalı Gazlı ızgara Fırında pişirme | 132 (kömür mangalı, sığır eti) | 12.50 (kömür mangalı, sığır eti) | - | (20) |
| Domuz eti | Kömürde dumanlama Farklı ağaçlar ile dumanlama | 470.91 (alaçam ile dumanlama) | 35.07 (titrek kavak ağacı ile dumanlama) | - | (54) |

yapılan çalışmalarda, PAH bileşiklerinin bağışıklık sistemi rahatsızlıklarına ve akciğer, pankreas, kolon ve deri kanseri gibi kanser çeşitlerine neden olduğu tespit edilmiştir (22, 24). Bunun yanı sıra,

hayvansal deneylerde bazı PAH bileşiklerinin somatik hücrelerde mutajenik etkisinin de olduğu EFSA tarafından bildirilmiştir (14, 19, 31).

Hayvanlar üzerinde görülen kanserojenik etkinin

Çizelge 3. Öncelikli kirlenici olarak tanımlanan 16 PAH bileşiği (31)

1. Benzo[a]piren
2. Benzo[a]antrasen
3. Benzo[b]floranten
4. Benzo[j]floranten
5. Benzo[k]floranten
6. Siklopenta [cd] piren
7. Dibenzo[a,e]piren
8. Dibenzo[a,h]piren
9. Dibenzo[a,i]piren
10. Dibenzo[a,l]piren
11. Krisen
12. Dibenzo[a,h]antrasen
13. Benzo[g,h,i]perilen
14. İndeno [1,2,3,-cd] piren
15. 5-metilkrisen
16. Benzo[c]flore

aynı zamanda insanlar üzerinde de rol oynadığı belirtilmektedir (45). Genel olarak insanlarda görülen kanser türlerinin, PAH bileşiklerinin DNA'ya bağlanmasıyla oluşan hasar nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (4, 10, 22, 32). Ayrıca PAH bileşiklerinin insanlar üzerinde tümör başlatıcı ve geliştirici özelliklerinin de bulunduğu bildirilmiştir (24). PAH bileşiklerin kanserojenik etkilerinin yanı sıra, bu bileşiklere maruz kalan fetüs ve yeni doğanlar üzerinde de olumsuz etkilere neden olduğu belirlenmiştir (4). Doğum öncesinde yüksek miktarlarda PAH bileşiklerine maruz kalmanın erken doğum tehlikesine ve bu yeni doğanlarda da düşük zihinsel kapasite ve astım gibi sorunlara neden olduğu bildirilmiştir (19).

IARC, insanlar için BaA ve BaP bileşiklerini kanser yapma ihtimali yüksek olan ve BbF, BjF, BkF ve IcdP bileşiklerini ise kanser yapma ihtimali düşük olan PAH bileşikleri olarak sınıflandırmıştır (24). US-EPA ise BaA, BaP, BbF, BkF, Chr ve DahA bileşiklerini insanlar için muhtemel kanser yapma ihtimali olan bileşikler arasında tanımlamıştır (14, 15, 20, 45).

Mutajenik ve kanserojenik etkisi yüksek olduğu için (23), hayvansal deneylerde üzerine en çok çalışılan PAH bileşiği BaP bileşiğidir. Bu bileşik kanserojenik etkisinden dolayı SCF tarafından indikatör olarak tanımlanmıştır (11, 40, 43, 45-47). Ancak, Eylül 2012'de Avrupa Komisyonu tarafından yapılan yeni düzenlemeyle PAH4 bileşiği olarak gruplandırılan BaP, BaA, Chr ve BbF bileşiklerinin gıdalarda indikatör olarak kullanılmasının daha uygun olacağı belirtilmiştir (22, 32, 39).

EFSA, diyetle günlük PAH bileşiği alımının önemli bir kaynağı olarak et ve et ürünlerini göstermiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarla, mangalda pişirilmiş etlerin çok fazla tüketilmesinin bağırsak, göğüs, prostat ve pankreas kanser riskini orta derecede artırdığı belirlenmiştir (31). Bu nedenle, gıda pişirmede yüksek sıcaklığın uygulandığı kızartma, kavurma, ızgara ve mangal gibi direkt ısı yöntemleri yerine haşlama ve buğulama gibi indirekt yöntemlerin tercih edilmesinin kanser oluşma riskini azaltacağı kabul edilmektedir. Avrupa Komisyonu yönetmelik düzenlemelerine göre; tütsülenmiş et ve et ürünlerindeki toplam PAH4 bileşiklerinin ve BaP bileşiğinin maksimum kabul edilebilir yasal limitleri önceden sırasıyla 30 µg/kg ve 5 µg/kg olarak belirlenmiş olmakla birlikte (2, 34, 35, 47), bu bileşiklere dair sağlık risklerinin daha iyi anlaşılması nedeniyle bu yasal limitler 1 Eylül 2014'te yapılan bir düzenleme ile sırasıyla 12 µg/kg ve 2 µg/kg olarak yeniden belirlenmiştir (11, 13, 30, 36, 40). Bu yeni limitler ülkemiz tarafından da Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne dâhil edilmiştir (48).

SONUÇ

Gıdalardaki PAH bileşikleri içeriği; genellikle gıdaların direkt ısı işleme tabi tutulması ve çevre kirliliği kontaminasyonundan kaynaklanmaktadır. Üretimde kullanılan gıdanın çeşidi, yağ miktarı ve pişirme yöntemine bağlı olarak mutajenik ve kanserojenik PAH bileşikleri özellikle et, tavuk ve balık ve bunların ürünlerinde oluşmaktadır. Ayrıca, gıdanın direkt alevle teması, yüksek sıcaklık ve kömürün gıdaya yakın olması gibi faktörler de gıdada oluşan PAH bileşiklerinin miktarını artırmaktadır. Yapılan bazı epidemiyolojik çalışmalarda mangalda pişirilmiş ve dumanlanmış/ tütsülenmiş gıda ürünlerinin fazlaca tüketimi ile kanser gelişimi arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, gıdanın mangalda pişirme yerine haşlama ve buharda pişirme gibi indirekt yöntemlerle pişirilmesi ve üretimde direkt dumanlama yerine indirekt dumanlama yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir. Ayrıca gıda üretim alanlarının da çevresel olarak kirlenmemesine özen gösterilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Chung SY, Yettella RR, Kim JS, Kwon K, Kim MC, Min DB. 2011. Effects of grilling and roasting on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in beef and pork. *Food Chem*, 129, 1420-1426.
2. Gomes A, Santos C, Almeida J, Elias M, Roseiro LC. 2013. Effect of fat content, casing type and smoking procedures on PAHs contents of Portuguese traditional dry fermented sausages. *Food Chem Toxicol*, 58, 369-374.
3. Kendirci P, Icier F, Kor G, Onogur TA. 2014. Influence of infrared final cooking on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in ohmically pre-cooked beef meatballs. *Meat Sci*, 97, 123-129.
4. Genkinger JM, Stigter L, Jedrychowski W, Huang TJ, Wang S, Roen EL, Majewska R, Kielyka A, Mroz E, Perera FP. 2015. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure, antioxidant levels and behavioral development of children ages 6-9. *Environ Res*, 140, 136-144.
5. Thea AE, Ferreira D, Brumovsky LA, Schmalko M. 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in yerba maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil) traditional infusions (mate and tererè). *Food Control*, 60, 215-220.
6. Guatemala-Morales GM, Beltrán-Medina EA, Murillo-Tovar MA, Ruiz-Palomino P, Corona-González RI, Arriola-Guevara E. 2016. Validation of analytical conditions for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chem*, 197, 747-753.
7. Cacho JI, Campillo N, Viñas P, Hernández-Cerdoba M. 2016. Evaluation of the contamination of spirits by polycyclic aromatic hydrocarbons using ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chem*, 190, 324-330.
8. Başak S, Çokgör E, Orhon D. 2011. Benzo[*a*]anthracene'nin aktif çamur üzerine kronik etkisinin respirometrik incelenmesi *İTÜ Dergisi/E* 21 (2):69-77.
9. Zelinkova Z, Wenzl T. 2015. EU marker polycyclic aromatic hydrocarbons in food supplements: analytical approach and occurrence. *Food Addit Contam: Part A*, 32(11), 1914-1926.
10. Iwegbue CMA, Agadaga H, Basse FI, Overah LC, Tesi GO, Nwajei EG. 2015. Concentrations and Profiles of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Some Commercial Brands of Tea-, Coffee-, and Cocoa-Based Food Drinks in Nigeria. *Int J Food Prop*, 18, 2124-2133.
11. Ledesma E, Rendueles M, Diaz M. 2016. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control*, 60, 64-87.
12. Abramsson-Zetterberg L, Darnerud PO, Wretling S. 2014. Low intake of polycyclic aromatic hydrocarbons in Sweden: Results based on market basket data and a barbecue study. *Food Chem Toxicol*, 74, 107-111.
13. Ledesma E, Rendueles M, Diaz M. 2015. Spanish smoked meat products: Benzo(*a*)pyrene (BaP) contamination and moisture. *J Food Compos Anal*, 37, 87-94.
14. Domingo JL, Nadal M. 2015. Human dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the scientific literature. *Food Chem Toxicol*, 86, 144-153.
15. Jiang D, Xin C, Li W, Chen J, Li F, Chu Z, Xiao P, Shao L. 2015. Quantitative analysis and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable oils marketed in Shandong of China. *Food Chem Toxicol*, 83, 61-67.
16. Anyango-Onyango A, Lalah J, Wandiga SO. 2012. The effect of local cooking methods on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contents in beef, goat meat, and pork as potential sources of human exposure in Kinsumi City, Kenya. *Polycyclic Aromat Compd*, 32 (5), 656-668.
17. Palamutoğlu R, Sarıçoban C, Kasnak C. 2014. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH) ve Et Ürünlerinde Oluşumu *GTED* 3 (9):47-57.
18. Keskin İ, Kaya S. 1999. Et ve Et Ürünlerinin Pişirilmesi Sırasında Oluşan Zararlı Maddeler: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar. Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi* 8 (3-4): 74-82.
19. Fernandes A, Holland J, Petch R, Miller M, Carlisle S, Stewart J, Rose M. 2011. Survey for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in cereals, cereal products, vegetables, vegetable products and traditionally-smoked foods. Food and Environment Research Agency (FERA), FD 10/04, March 2011.

20. Farhadian A, Jinap S, Abas F, Sakar ZI. 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food Control*, 21, 606-610.
21. Shi LK, Zhang DD, Liu YL. 2016. Incidence and survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable oils in China. *Food Control*, 62, 165-170.
22. Li G, Wu S, Wang L, Akoh CC. 2016. Concentration, dietary exposure and health risk estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in youtiao, a Chinese traditional fried food. *Food Control*, 59, 328-336.
23. Şekeroğlu G, Fadiloğlu S, Göğüş F. 2006. Bitkisel Yağlarda Benzo(a)piren Miktarının Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Belirlenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu, Türkiye, 855-858.
24. Alver E, Demirci A, Özcimder M. 2012. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Sağlığa Etkileri *MAKÜ FEBED* 3 (1):45-52.
25. Eisler R. 1987. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. *Biol Rep*, 85, (1.11).
26. Janoszka B. 2011. HPLC-fluorescence analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in pork meat and its gravy fried without additives and in the presence of onion and garlic. *Food Chem*, 126, 1344-1353.
27. Szterk A. 2015. Acridine derivatives (PANHs, azaarenes) in raw, fried or grilled pork from different origins, and PANH formation during pork thermal processing. *J Food Compos Anal*, 43, 18-24.
28. Londoño VAG, Reynoso CM, Resnik SL. 2015. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) survey on tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Argentina. *Food Control*, 50, 31-37.
29. Gorgi ME, Ahmadkhaniha R, Moazzen M, Yunesian M, Azari A, Rastkari N. 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Iranian Kebabs. *Food Control*, 60, 57-63.
30. European Commission (EC). 2011. Commission Regulation (EC) No 835/2011, of 19 August 2011, amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L215, 4-8.
31. EFSA. 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food, scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *EFSA J*. 724, 1-114.
32. Esposito M, Citro A, Marigliano L, Urbani V, Seccia G, Maotta MP, De Nicola C. 2015. Influence of different smoking techniques on contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked *Mozzarella di Bufala Campana*. *Int J Dairy Technol*, 68(2).
33. Ünal P, Bayhan A. 1993. Gıdalarda Bulunan Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar *GIDA* 18 (4): 273-277.
34. Rose M, Holland J, Dowding A, Petch SGR, White S, Fernandes A, Mortimer D. 2015. Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. *Food Chem Toxicol*, 78, 1-9.
35. Ledesma E, Laca A, Rendueles M, Diaz M. 2016. Texture, colour and optical characteristics of a meat product depending on smoking time and casing type. *Food Sci Technol*, 65, 164-172.
36. Semanová J, Sklársová B, Simon P, Simko P. 2016. Elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked sausages by migration into polyethylene packaging. *Food Chem*, 201, 1-6.
37. Alomirah H, Al-Zenki S, Al-Hooti S, Zaghoul S, Sawaya W, Ahmed N, Kannan K. 2011. Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. *Food Control*, 22, 2028-2035.
38. Santos C, Gomes A, Roseiro LC. 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons incidence in Portuguese traditional smoked meat products. *Food Chem Toxicol*, 49, 2343-2347.
39. Fasano E, Yebra-Pimentel I, Martínez-Carballo E, Simal-Gándara J. 2016. Profiling, distribution and levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked plant and animal foods. *Food Control*, 59, 581-590.
40. Suranová M, Semanová J, Sklársová B, Simko P. 2015. Application of Accelerated Solvent Extraction for Simultaneous Isolation and Pre-cleaning Up Procedure During Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoked Meat Products. *Food Anal Methods*, 8, 1014-1020.

41. Ceylan Z, Ünal Şengör GF. 2015. Dumanlanmış Su Ürünleri Ve Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH's) *Gıda ve Yem Bilimi Dergisi* 15: 27-33.
42. Ekici L, Sağdıç O, Yetim H. 2012. Et tüketimi ve kanser *ERÜ FBE* 28(2):136-145.
43. European Commission (EC). 2006. Commission Regulation (EU) No 1881/2006/EC of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, L364, 5-24.
44. Chatterjee NS, Utture S, Banerjee K, Shabeer TPA, Kamble N, Mathew S, Kumar KA. 2016. Multiresidue analysis of multiclass pesticides and polyaromatic hydrocarbons in fatty fish by gas chromatography tandem mass spectrometry and evaluation of matrix effect. *Food Chem*, 196, 1-8.
45. Jahurul MHA, Jinapa S, Zaidul ISM, Sahena F, Farhadian A, Hajeb P. 2013. Determination of fluoranthene, benzo[b]fluoranthene and benzo[a]pyrene in meat and fish products and their intake by Malaysian. *Food Biosci*, 1, 73-80.
46. Lopez-Jiménez FJ, Ballesteros-Gómez A, Rubio S. 2014. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food by vesicular supramolecular solvent-based microextraction and LC-fluorescence detection. *Food Chem*, 143, 341-347.
47. Duedahl-Olesen L, Aaslyng M, Meinert L, Christensen T, Jensen AH, Binderup ML. 2015. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Danish barbecued meat. *Food Control*, 57, 169-176.
48. Anon 2011. Türk Gıda Kodeksi. Bulaşanlar Yönetmeliği. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
49. Skupinska K, Misiewicz I, Kasprzycka-Guttman, T. 2004. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Physicochemical Properties, Environmental Appearance and Impact On Living Organisms. *Drug Res*, 61(3), 233-240.
50. Villanyi V (ed), Lee BK, Vu VT. 2010. *Sources, Distribution and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter*. ISBN 978-953-307-143-5.
51. Rozentale I, Stumpe-Viksna I, Zacs D, Siksna I, Melngaile A, Bartkevics V. 2015. Assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products produced in Latvia. *Food Control*, 54, 16-22.
52. Skaljic S, Petrovic L, Tasic T, Ikonic P, Jokanovic M, Tomovic V, Dzinic N, Sojic B, Tjapkin A, Skrbic B. 2014 Influence of smoking in traditional and industrial conditions on polycyclic aromatic hydrocarbons content in dry fermented sausages (*Petrovska klobasa*) from Serbia. *Food Control*, 40, 12-18.
53. El Badry N. 2010. Effect of household cooking methods and some food additives on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) formation in chicken meat. *World Appl Sci J*, 9(9), 963-974.
54. Stumpe-Viksna I, Bartkevics V, Kukare A, Morozovs A. 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood. *Food Chem*, 110, 794-797.

***STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* 231-X10 FAJININ KISMİ GENOMİK KARAKTERİZASYONU**

Esra Acar-Soykut*

Hacettepe Üniversitesi, Gıda Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Beytepe, Ankara

Geliş tarihi / *Received*: 02.08.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 06.09.2016

Kabul tarihi / *Accepted*: 24.09.2016

Özet

Bu çalışmada, daha önce yapılmış çalışmalarla morfolojik olarak tanımlanmış, konakçı spektrumu ve yapısal proteinleri belirlenmiş, restriksiyon fragment analizleri yapılmış 231-X10 fajının belirli bir genom bölgesinin dizi analizi yapılmıştır. Dizi analizi yapılmış olan bu bölgede 13 adet açık okuma çerçevesinin yani 13 farklı fonksiyonu kodlayan gen bölgesinin olabileceği ortaya çıkarılmıştır. Bu gen bölgelerinin faj DNA'sının replikasyonu, DNA'nın paketlenmesi, kapsid ve kuyruk yapısının oluşumundan sorumlu proteinleri kodladığı belirlenmiştir. 231-X10 fajına ait bu genom bölgesi tarafından kodlanan proteinlerin aminoasit bazında *cos*-tipi DNA paketlenme mekanizmasına sahip fajlarla yüksek benzerlik gösterdiği tespit edilmiş ve dolayısıyla bu fajın da *cos*-tipi olabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılan bu incelemeler sonucunda *S. thermophilus* fajlarının ortak bir atadan geldiği, nokta mutasyonlar, küçük eklemeler ve kayıplar ile evrimleştikleri düşüncesi desteklenmiştir.

Anahtar kelimeler: *S. thermophilus* fajı, dizi analizi, genomik organizasyon

PARTIAL GENOMIC CHARACTERIZATION OF *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* PHAGE 231-X10

Abstract

In this study, the partial genomic sequencing of *S. thermophilus* 231-X10 phage was carried out. 231-X10 was identified morphologically, and its host spectrum, structural proteins and restriction analysis have also been completed in previous studies. Thirteen different open reading frames that was coded by thirteen genes were detected in that partial genome. These genes are responsible for DNA replication, DNA packaging and the formation of capsid and tail structure. The proteins that are encoded by the genomic region of 231-X10 phage have been found to show high similarities between the phages which have *cos*-type DNA packaging mechanism on the basis of amino acids. Thus, it is concluded that the 231-X10 phage might also be *cos*-type. As a result of these investigations, it is supported the idea that *S. thermophilus* phages come from a common ancestor and evolved with point mutations, small additions and deletions.

Key words: *S. thermophilus* phage, sequence analysis, genomic organisation

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ esra.soykut@hacettepe.edu.tr,

☎ (+90) 312 297 71 10,

☎ (+90) 312 299 21 23

GİRİŞ

Günümüzde fajlar, daha çok antibiyotik tedavisine alternatif olan faj terapi konusu ile anılsa da hala fermente ürün elde etmek için kullanılan starter kültürler için büyük tehlike oluşturmaktadır. Fermentasyon denildiğinde ilk olarak laktik asit bakterileri ve onlara etkili olan fajlar akla gelmektedir. Ortamda bulunan fajın, kültürlerden birine bile etkili olması durumunda, starter kültürün gelişmesi ya yavaşlamakta ya da tamamen durmaktadır. Dolayısıyla üretim durmakta ve ürün kaybı ile birlikte ekonomik zarar ortaya çıkmaktadır (1). Laktik asit bakterilerinden yoğurt üretiminde kullanılan *Streptococcus thermophilus* suşları da sıklıkla faj enfeksiyonlarına maruz kalmaktadır. Bu nedenle fajların izole edilmesi, bazı parametreler (konakçı spektrumları, yapısal proteinleri, restriksiyon enzimleri ile kesim şablonları gibi) kullanılarak sınıflandırılması ve karakterize edilmesi gerekmektedir. Ancak bu şekilde etkili ve bilinçli bir kültür rotasyon programı uygulanabilmesi ile faj probleminin önüne geçmek mümkün olabilmektedir. Ayrıca faja dirençli starter kültürlerin üretimi, bakterilerin ve fajların evrimsel gelişmelerinin takibi için de faj sınıflaması ve karakterizasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır (2). Faj ile bakteri arasındaki etkileşim, her ikisi için de evrimsel değişim demektir ki bu da doğadaki değişimi beraberinde getirmektedir (3). Fajlarda özellikle nokta mutasyonlar görülmekte ve bu yüzden de hibrid denilebilecek genetik materyallere sahip oldukları görülmektedir (4, 5). Mutasyonlar, konakçı spektrumlarını belirleyen genden, diğer genlere kadar her yerde görülebilmektedir (6).

S. thermophilus fajlarının morfolojik olarak tek tip (Bradley sınıflaması B grubu) olduğu ve Ackermann sınıflamasına göre *Siphoviridae* familyasında yer aldıkları bilinmektedir (7-9). Farklı çalışma grupları (7-14) tarafından incelenen çok sayıda *S. thermophilus* fajı olmasına rağmen bunlardan sadece 17 adedinin tüm genom dizi analizi yapılmış ve Amerika Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (USA, National Centre for Biotechnology Information, NCBI) bünyesindeki gen bankasına girişleri yapılarak bilim dünyasının hizmetine sunulmuştur. Bu fajlar, çalışan gruplar tarafından 7201 (11), O1205 (15), Sfi19, Sfi11 (16), Sfi21 (17), DT1 (12), 2972 (18), 858 (19), ALQ13.2, Abc2 (20), 5093 (21), TP-J34, TP-778L (22) ve 9871, 9872, 9873, 9874 (9) olarak kodlanmıştır.

Ayrıca bu fajlardan bazıları, DNA paketleme mekanizmalarına göre *cos*-tipi ve *pac*-tipi olarak ikiye ayrılmıştır. Fajlardan O1205, Sfi11, 2972, 858, ALQ13.2'nin *pac* tipi; DT1, 7201, Sfi19, Sfi21, Abc2'nin ise *cos* tipi DNA paketleme mekanizmasına sahip olduğu tespit edilmiştir (20, 23). *S. thermophilus* 5093 (21) ve 987 grubu fajlar (9) ise, DNA paketleme mekanizmalarına göre ayırt edilemedikleri için sırasıyla 3. ve 4. grupları oluşturmuşlardır.

Bu çalışmada daha önce morfolojik olarak tanımlanmış (24), gelişme parametreleri, konakçı dizgeleri, yapısal proteinleri ve restriksiyon enzimleri ile kesim şablonları (RFLP) çıkarılmış fajların (25) içinden seçilmiş 231-X10 faj genomunun bir bölümünün dizi analizi yapılmış, muhtemel açık okuma çerçeveleri (open reading frame, ORF) belirlenip (26), gen bankasında (27) bulunan diğer *S. thermophilus* fajlarına ait genlerin kodladığı proteinler ile karşılaştırılarak karakterize edilmiştir (28).

MATERYAL-METOT

Kimyasallar ve besiyerleri

Faj saflaştırılma aşamalarında ve DNA'nın izolasyonu sırasında kullanılan DNaz, RNaz ve proteinaz-K enzimleri Fermentas (Thermo-Fischer Scientific, ABD); PEG 8000, MgSO₄.7H₂O, Trizma, SDS, agaroz, Sigma-Aldrich (Almanya); NaCl, HCl, izopropanol, etanol, kloroform ve jelatin, agar ise MERCK (Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Konakçı bakteri ve faj çalışmalarında da MERCK (Almanya) firması tarafından üretilen M17 besiyeri kullanılmıştır.

Mikroorganizma ve gelişme ortamları

Bu çalışma kapsamında 231 kodlu *S. thermophilus* ticari kültürü ile ona etkili 231-X10 fajı kullanılmıştır. 231-X10 fajı, TÜBİTAK/TARP 2106 nolu 'Yoğurt Fabrikalarında Faj Probleminin Çözümüne Yönelik Araştırmalar' adlı proje (1) kapsamında 231 kodlu *S. thermophilus* suşu ile ayrandan izole edilmiştir. *S. thermophilus* kültürü ile faj stoklarının hazırlanmasında, faj titresinin belirlenmesi ve yükseltilmesinde modifiye M17 Broth, modifiye M17 Yumuşak Agar (% 0.45) ve modifiye M17 Agar (% 1.5) besiyerleri kullanılmıştır (29).

Zenginleştirme ve titre belirleme

Yüksek miktarda DNA izolasyonu için, 231-X10 fajı 10^8 - 10^9 pfu/ml titreye ulaşana kadar zenginleştirilmiştir. Faj titresinin yükseltilmesi için, faj ile logaritmik fazdaki konakçı bakteri, sıvı ortamda istenilen titreye ulaşınca kadar pasajlar yapılarak karşılaştırılmıştır. Son karşılaştırmaya ait faj süspansiyonunun dilüsyonları hazırlanmış ve çift tabaka agar yöntemi ile titre belirlenmiştir. Bu amaçla, logaritmik fazdaki konakçı kültüründen 0.1 ml alınarak 3 ml yumuşak agar ile karıştırılmış ve önceden hazırlanmış agarlı besiyeri üzerine yayılmıştır. Agarın katılaşmasından sonra faj dilüsyonlarından, petri kutusunda belirlenmiş olan bölgelere 10'ar µl damlatılmıştır. 43°C'de 18 saat inkübasyon sonunda oluşan faj plakları sayılarak faj titresini hesaplanmıştır (1).

Fajın Saflaştırılması ve konsantre edilmesi

Fajların saflaştırılması ve konsantre edilmesi için Sambrook vd. tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır (30). Titresi 10^8 - 10^9 pfu/ml olan faj örneğine, bakteriye ait DNA ve RNA uzaklaştırmak için son konsantrasyonları 1 µg/ml olacak şekilde DNaz ve RNaz eklenmiş ve 37°C 'de 1-2 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası ortama son konsantrasyonu 1 M olacak şekilde NaCl katılmış, 1 saat buzlu su içerisinde bekletildikten sonra, 15000-18000 g'de ve 4°C'de 15 dakika santrifüjlenerek (Sigma 3K-30) hücre artıkları ortamdan uzaklaştırılmıştır. Hücre artıklarından arınmış faj süspansiyonuna, son konsantrasyonu % 10 (w/v) olacak şekilde katı PEG 8000 eklenmiş, çözündükten sonra bir gece buzlu su içinde bekletilmiştir. 4°C'de 15 dakika süresince 15000-18000 g'lik santrifüj işlemi uygulanarak PEG 8000 ile faj partikülleri çöktürülmüş ve pelet, 700 µl faj tamponu (SM tamponu: 100 mM NaCl, 10 mM MgSO₄·7H₂O, 50 mM Tris-Cl pH 7.5), % 0.01 jelatin (w/v) içerisinde çözülmüştür. Üzerine eşit hacimde kloroform eklenerek, 4°C'de 9000 g hızla 15 dakika santrifüj edilmiş, böylece kalan hücre artıkları ve PEG 8000 faj süspansiyonundan uzaklaştırılmıştır. Faj partiküllerini yoğunlaştırmak için, süspansiyon 4°C'de 33000 g hızla 2 saat santrifüjlenmiştir.

Faj DNA izolasyonu

Faj DNA izolasyonunda, Lambda DNA Isolation Kiti (Qiagen) kullanılmıştır. Öncelikle titresini 10^{10} - 10^{11} pfu/ml olacak şekilde konsantre edilmiş olan faj süspansiyonuna, SDS ve/veya proteinaz-K eklenerek, faj proteinlerinin parçalanması ve DNA'ların serbest hale geçmesi sağlanmıştır. Parçalanmış faj proteinleri, potasyum asetat (2.5 M, pH 5) ile ortamdan uzaklaştırılmıştır. DNA izolasyon kitine ait resin kolona tutturulmuş olan DNA, kolondan geri alınmış üzerine eşit miktarda izopropanol eklenerek karıştırılmıştır. Son olarak DNA, % 70'lik etanol ile yıkanmıştır. Elde edilen DNA peleti, steril deiyonize suda çözülerek saklanmıştır. İzolasyonları gerçekleştirilen DNA'lar, % 0.8-1'lik agaroz jelde 60 V'da yürütülmüş, GELLOGIC 100 IMAGING SYSTEM (A.U. Veterinerlik Fakültesi Viroloji Bölümü) yardımıyla görüntülenmiştir. İzole edilen DNA'nın saflığına ve miktarına, UV spektrofotometresinde (Agilent 8453 UV Spektrofotometre, Agilent Technologies, Santa Clara) 260 nm ve 280 nm dalga boyunda yapılan ölçümler sonucunda aşağıda verilen formüller kullanılarak karar verilmiştir.

$$\text{DNA Saflığı} = A_{260}/A_{280}$$

$$\text{DNA Konsantrasyonu } (\mu\text{g/ml}) = A_{260} \times \text{Seyreltme Faktörü} \times 50 \mu\text{g/ml}$$

DNA dizi analizi

Faj DNA'sının dizi analizleri, Roche Genome Sequencer 454 FLX System (Microsynth, İsviçre) ile gerçekleştirilmiştir. Bu sistem, ilk olarak dizi analizi yapılmak istenen DNA örneğinin tek zincir ve fragmentler halinde eldesini istemektedir. Yaklaşık 300-800 baz uzunluğuna sahip fragmentler, sisteme dahil olan PCR ile çoğaltılıp, dizilimler okunmaktadır. Elde edilen bu parça dizilimler, sistem tarafından 4 farklı biyoinformatik sistem ile karşılaştırılmaktadır (31).

DNA diziliminin veri tabanları ile karşılaştırılması

Elde edilen DNA dizisi, Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, 32) programı kullanılarak, Amerika Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information, NCBI, 27) tarafından oluşturulmuş gen bankasında

bulunan diziler ile karşılaştırılmış ve nükleik asit düzeyindeki benzerlikler ve ayrılıklar ortaya çıkarılmıştır. Açık okuma çerçevelerinin (ORF) belirlenmesi için ise yine NCBI tarafından kullanıma sunulan ORF finder (26) programı kullanılmıştır. Bu program ile faj DNA'sında bulunması olası ORF'ler bulunmuştur. Bu ORF'ler içinde yer alan aminoasit sekansları, yine BLAST programlarından biri olan "blastp" aracılığıyla, var olan protein veri tabanı ile karşılaştırılmış ve böylece faj DNA'sında kodlu olan genin hangi proteinden ve fonksiyondan sorumlu olabileceği tespit edilmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, daha önce morfolojik olarak tanımlanmış (24) ve RFLP çalışmaları (25) ile koleksiyondaki diğer fajlardan ayrılmış 231-X10 fajı kullanılmıştır. Bu faj, kasılmayan uzun kuyruğu ve ikosahedral kapsid yapısı nedeniyle Bradley sınıflaması B grubuna dahil edilmiştir (24). *EcoRI*, *EcoRV*, *PvuII* ve *HindIII* gibi restriksiyon enzimleri ile kesim şablonları çıkarılan 231-X10 fajının DNA büyüklüğünün yaklaşık 40000-45000 baz arasında olabileceği tespit edilmiştir (25). Bu faja ait yaklaşık 20135 bazlık bölge, 454 FLX sekans belirleme sistemi tarafından okunmuş ve birleştirilmiştir (28). NCBI (27) tarafından hizmete sunulan ORF finder programı (26) kullanılarak, dizi analizi yapılmış ve bu parçada yer alan muhtemel ORF'ler bulunmuştur. Bu programın kullanımında başlangıç kodonu olarak ATG ve diğer alternatifler ile tarama yapılmış, yine NCBI tarafından kullanıma sunulmuş Blastp (32) programı ile en yüksek benzerlik gösteren faj ve/veya bakteri aminoasit dizilimleri karşılaştırılmış ve Çizelge 1'de verilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda faj genomunun bu bölümünde, anlamlı olabilecek 13 adet ORF olabileceği tespit edilmiştir. ORF'ler genom üzerinde tespit edildikleri sırayla 1'den 13'e kadar kodlanmıştır. Açık okuma çerçevelerine ait detaylı bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir. Bu Çizelge, 231-X10 faj proteinlerinin en yüksek benzerlik gösterdiği proteinlerin gen bankası (27, 28) kayıt numaralarını da içermektedir.

Dizilimin başında yer alan ilk okuma çerçevesinin (ORF1), 235 aminoasit uzunluğunda olduğu ve bu proteinin diğer *S. thermophilus* fajlarında da bulunan varsayımsal faj proteinlerinin yer aldığı "fonksiyonu bilinmeyen alanlar" (Domains of unknown function, DUF) 1340 içinde olduğu

tespit edilmiştir. Bu gen tarafından ifade edilen proteini oluşturan aminoasit sayısı aynı olsa da bazı aminoasitlerinde değişimler olduğu görülmüştür. Bu proteinin en yüksek benzerlik (% 97) gösterdiği proteinin *S. thermophilus* 7201 fajında ORF18 olarak kodlanan protein olduğu tespit edilmiştir (15, 28, Çizelge 1). Ayrıca bu bölge, pek çok DNA polimerazın yer aldığı, Polymerase and Histidinol Phosphatase bölgesi ile de örtüşmektedir. Bu bölge tarafından kodlanan polimerazların, genin doğru okunup okunmadığını kontrol etme ve DNA tamir aktiviteleri gösterdiği tespit edilmiştir (33).

ORF2 olarak adlandırılan diğer açık okuma çerçevesi, 132 aminoasit uzunluğunda olup *Streptococcus* Sfi19 fajındaki Apaf-1 related killer DARK ile % 89 benzerlik göstermektedir (34, Çizelge 1). Bu yapıda bulunan ilk 15 aminoasidin bu iki fajda birbirinden farklılaştığı görülmüştür. Daha sonraki aminoasitlerin ise birebir aynı olduğu ve korunmuş DUF 1492 bölgesi ile aynı olduğu tespit edilmiştir. DUF 1492 bölgesinin, pek çok *Streptococcus* fajında korunarak kaldığı görülmüştür (27, 28).

Streptococcus 7201 fajında ORF20 olarak kodlanmış bölge (15, Çizelge 1) ile aminoasit bazında % 98 benzerlik gösteren muhtemel açık okuma çerçevesi, 231-X10 fajında ORF3 olmuştur. Abc2 fajı ile de aynı aminoasit sayısına sahip bu protein, % 91 benzerlik göstermektedir. Ayrıca bu proteinin bir kısmı da korunmuş bir gen bölgesi olarak viruslerde, prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde bulunmaktadır. Endonükleazların (HNH, homing endonuclease) ifade edildiği bu bölge sayesinde, DNA replikasyonu, kesimi, onarımı ve kromozom parçalama gibi işlevler yerine getirebilmektedir (33, 35). Sentezlenen faj DNA'sının lokasyonu ve kapsid içinde paketlenmesi aşamasında çalışan terminaz enziminin ifade edildiği bölge ORF4 olarak adlandırılmıştır. 231-X10 fajında kodlanan bu bölgenin diğer bir *S. thermophilus* fajı olan Abc2 ile aminoasit bazında % 93 benzer olduğu görülmüştür (20, Çizelge 1). Aynı zamanda bu bölgenin *S. thermophilus* Sfi19, Sfi21 ve 7201 ait terminaz bölgesi ile sırasıyla % 92, % 91, % 68 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. 626 aminoasit uzunluğunda olan bu proteinin yukarıda verilmiş olan diğer fajlarda 623 aminoasit olduğu görülmüştür. Ayrıca bu bölge *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* farklı suşları tarafından sentezlenen terminaz enzimleri ile de benzerlik göstermektedir.

Çizelge 1. 231-X10 faj DNA'sına ait olası açık okuma çerçeveleri ve fonksiyonları
Table 1. ORFs of phage 231-X10 and putative functions of proteins

| ORF | Başlangıç Start (aa) | Bitiş Stop | Büyüklik Size | Tahmini fonksiyon Predicted function | En iyi eşleşme Best match | E- değeri E-value | Benzerlik Match identity (%) | Kaynak/Protein Numarası Reference/ Accession no |
|-----|----------------------------|---------------|------------------|---|-------------------------------------|----------------------|------------------------------------|--|
| 1 | 26021 | 25314 | 235 | Fonksiyonu bilinmeyen protein | <i>S.thermophilus</i> 7201 fajı | 1e-166 | 97 | 15/ NP_038319.1 |
| 2 | 24934 | 24536 | 132 | Apaf-1 related killer DARK | <i>S.thermophilus</i> Sfi19 fajı | 3e-80 | 89 | 32/ NP_049923.1 |
| 3 | 24424 | 23906 | 172 | Endonükleaz ailesi | <i>S.thermophilus</i> 7201 fajı | 1e-120 | 98 | 15/ NP_038321.1 |
| 4 | 23245 | 21365 | 626 | Terminaz | <i>S.thermophilus</i> Abc2 fajı | 0 | 93 | 20/ YP_003347411.1 |
| 5 | 19996 | 18836 | 386 | portal protein | <i>S.thermophilus</i> Abc2 fajı | 0 | 95 | 20/ YP_003347413.1 |
| 6 | 18858 | 18184 | 221 | Proteaz | <i>S.thermophilus</i> 7201 fajı | 4e-160 | 99 | 15/ NP_038326.1 |
| 7 | 18168 | 16975 | 397 | Majör kapsid proteini | <i>S.thermophilus</i> Sfi19 fajı | 0 | 97 | 32/ NP_049929.1 |
| 8 | 16677 | 16300 | 125 | Kapsid-kuyruk adaptör proteini | <i>S.salivarius</i> | 6e-75 | 91 | 27/ WP_014634375.1 |
| 9 | 16293 | 15874 | 139 | Kuyruk bileşen proteini | <i>S.thermophilus</i> DT1 fajı | 1e-91 | 94 | 4/ NP_049399.1 |
| 10 | 15481 | 14864 | 203 | Major kuyruk proteini | <i>S.thermophilus</i> Abc2 fajı | 7e-138 | 94 | 20/ YP_003347420.1 |
| 11 | 14831 | 14436 | 117 | Kuyruk bileşen proteini | <i>S.thermophilus</i> DT1 fajı | 4e-75 | 96 | 4/ NP_049402 |
| 12 | 14217 | 9436 | 1593 | Kuyruk uzunluğunu belirleyen protein | <i>S.thermophilus</i> MD2 fajı | 0 | 85 | 38, 39/ AAX45244.1 |
| 13 | 9439 | 7874 | 520 | Kuyruk proteini | <i>S.thermophilus</i> YMC-2011 fajı | 0 | 81 | 27/ WP_045002252 |

Bunun sebebi bakterilerin de fajlarda bulunan terminaz enzimine benzer enzime sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Korunmuş olan bu bölge YmfN olarak adlandırılmıştır (33). Tarafımızca ORF5 olarak adlandırılan ve 386 adet aminoasitten oluştuğu düşünülen açık okuma çerçevesinin, yine 386 aminoasitten oluşan *S. thermophilus* Abc2 faj portal proteinine % 95 oranında benzer olduğu saptanmıştır (20, 28, Çizelge 1). Ayrıca bu protein, *S. thermophilus* DT1 (386 aminoasit), 7201 (382 aminoasit), Sfi19 (386 aminoasit) ve Sfi 21 (384 aminoasit) faj portal proteinleri ile de yüksek benzerlik göstermektedir. Bunun asıl nedeninin yine yüksek oranda korunmuş olması nedeniyle faj portal ailesine ait proteinler ile örtüşmesinden kaynaklanmaktadır. Bu ailede yer alan proteinler, faj DNA'sının kapsid içinde paketlenmesi ve DNA'nın bakteriye enjekte edilmesi sırasında bir

kanal oluşturularak kapsid ile kuyruk proteinleri arasında bağlantı kurulmasını sağlamaktadır (36). Ayrıca farklı *Streptococcus* ve *Lactococcus* türlerine ait proteinler ile de farklı oranlarda benzerlikler tespit edilmiştir (27, 28).

Ortamda ATP olması durumunda çalışan, pek çok bakteri ve ökaryotik hücrede bulunan çok yüksek seviyede korunmuş serin proteaz enziminin kodlandığı bölüm ile örtüşen açık okuma çerçevesi ise ORF6 olarak adlandırılmıştır. 221 aminoasitlik bu protein, yine 221 aminoasit uzunluğundaki *S. thermophilus* 7201 fajı proteazı (ORF25) ile en yüksek (% 99) benzerliği göstermiştir. Bu bölge çok yüksek oranda korunmuş olmasına rağmen, varlığı tespit edilen aminoasitlerin, diğer *S. thermophilus* fajlarından (Abc2, DT1, Sfi21) önce *Streptococcus salivarius* suşunda kodlanan

enzimdeki aminoasitler ile de uyum (% 91) gösterdiği tespit edilmiştir (27, 28).

397 aminoasit sayısına sahip olası proteinin (ORF7), temel kapsid proteinini oluşturduğu düşünülmüştür. Bunun nedeni çalışılan 231-X10 fajının bu bölgeye ait hem aminoasit sayısı hem de dizilimi özellikle Sfi19 fajı ile yüksek oranda benzerlik göstermesidir (28, 34, Çizelge 1). Yapılan araştırmalar sonucunda aslında bu benzerliğin temel sebebinin çift zincir DNA'ya sahip kuyruklu fajlarda görülen kapsid protein ailesinin üyesi olmasından kaynaklandığı anlaşılmıştır (37). Ayrıca hemen bu proteini kodlayan genin ardından, kapsidin kuyruğa bağlanmasını sağlayan diğer bir proteinin geldiği görülmüştür (ORF8, Çizelge 1).

ORF 9-10-11, olarak adlandırılan proteinlerin fajların kuyruk yapıları ile ilgili olduğu tespit edilmiş, bu proteinlerden ilkinin (ORF 9) kuyruk bileşen proteini olduğu görülmüştür. Bu proteinin en çok *S. thermophilus* DT1 ve 7201 fajlarındaki protein ile benzer olduğu (4), HK97 fajı gp10 ailesine dâhil olduğu saptanmıştır (27, 28). Daha önce yapılan çalışmalara göre majör kuyruk proteini olduğu belirlenen diğer bir protein, bu çalışmada ORF10 olarak adlandırılmıştır. Bu protein aminoasit sayısı ve yüzde olarak en çok *S. thermophilus* Abc2, DT1, 7201 ve Sfi19 fajları ile benzerlik göstermiştir. 231-X10 fajında olduğu saptanan diğer bir proteinin (ORF11) de, Siphoviridae familyasında yer alan bazı virüslerde korunmuş bir bölge olarak kalan "faj kuyruk montaj şaperon proteinlerinden" olduğu tespit edilmiştir (38). Bu proteinin DT1 ve 7201 fajlarının sahip olduğu proteinler ile aynı aminoasit sayısına sahip olduğu ve sırasıyla onlara % 96 ve % 94 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Faj kuyruğu ile ilgili bir diğer protein de "putative tape measure protein" olarak adlandırılmıştır. Bu şekilde adlandırılmasının sebebi çok uzun aminoasit dizisine sahip olması, birbirini tekrar eden diziler içermesi ve kuyruk uzunluğundan sorumlu olduğunun düşünülmesidir (39). 231-X10 fajındaki bu proteinin (ORF12) 1593 aminoasitten oluştuğu tahmin edilmektedir. En yüksek benzerlik gösterdiği *S. mutans* MD2 (27, Çizelge 1) ve *S. thermophilus* DT1 fajında bu proteinin uzunluğu 1656 aminoasittir (27, 28). Arada yaklaşık 100 aminoasitlik fark olmasına rağmen bahsedilen bu iki faj proteinine % 85 (MD2 suşu) ve % 84 (DT1 fajı) oranında benzerlik göstermiştir (27, Çizelge

1). Sfi21 fajında bu protein 1560 aminoasit iken 7201 fajında 1554 aminoasit olduğu tespit edilmiştir (27, 28). Yapılan bazı çalışmalarda bu proteinin kuyruk uzunluğundan sorumlu olduğunu ortaya koymuştur (40, 41). Dizi analizi yapılmış gen bölgelerinin sonunda ORF13 olarak adlandırdığımız bir protein bulunmaktadır. Sahip olduğu fonksiyon henüz bilinmeyen ama kuyruk proteini olarak tanımlanmış olan bu protein, *Siphoviridae* familyasında yer alan fajların sahip olduğu proteinlerden biri olarak karşımıza çıkmıştır (27, 28).

Yukarıda bahsedilen karşılaştırmalar dikkate alındığında, kısmi dizi analizi yapılmış 231-X10 faj proteinlerinin çoğunlukla korunmuş bölgelere sahip olduğu, aminoasit bazında en yüksek benzerliği DNA paketleme mekanizmasına göre *cos*-tipi olarak sınıflandırılan *S. thermophilus* DT1, Sfi19, Sfi21, 7201, Abc2 (20, 42) benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. 231-X10 fajına ait olası açık okuma çerçeveleri ile benzerlik gösterdiği diğer ORF'ler incelendiğinde, her iki faja ait proteinin aminoasit sayıları aynı olsa da bu aminoasitlerin farklı olduğu görülmüştür. Dolayısıyla bu fajların daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi ortak bir atadan geldiği (42), gen bölgelerindeki küçük kopmalar ve eklemelerle mutasyon geçirdikleri anlaşılmıştır. BLAST programı kullanılarak yapılan bu karşılaştırmalar sonucunda 231-X10 fajının, gen bankasında yer alan *S. thermophilus* Sfi11, O1205, 2972, 858, ALQ13.2, TPJ-34, TP-778L, 5093, 9871, 9872, 9873, 9874 fajları ile ya çok düşük düzeylerde benzer olduğu ya da hiçbir ortak bölgelerinin olmadığı görülmüştür. Buna ek olarak bu fajın bazı bölgerinin kendi konakçısı dışındaki *Streptococcus* ve *Lactobacillus*, *Lactococcus* türleri ile daha fazla benzerlik gösterdiği saptanmıştır (28, 31). Dolayısıyla benzerlik gösterdiği saptanan mikroorganizmaların diğer laktik asit bakterilerinin olması, hem fajların kolay mutasyona uğradıklarını hem de bakterilerin evrimsel gelişimlerine büyük katkıları olduğu gerçeğini bir kez daha ortaya koymuştur (5).

Bu çalışma ile 454 genome sequece sistemi kullanılarak kısmi DNA analizi yapılmış olan 231-X10 fajının, ORFfinder ve BLAST programları kullanılarak yapılan analizleri sonucunda bu bölgede muhtemel 13 adet ORF olduğu ve bunların da replikasyon, DNA paketleme, kapsid ve kuyruk yapısının oluşumundan sorumlu genler ve

proteinler olduğu ortaya konmuştur. Ancak bu fajda muhtemel proteinlerin kodlandığını ve fonksiyonlarını tam anlamıyla ortaya koymak için detaylı bir protein analizinin yapılması gerekmektedir. Bunun için fajın eksik kalan genom diziliminin belirlenmesi ve detaylı bir transkripsiyon haritasının çıkartılması çalışmalarına başlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, maddi olarak Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiş 110O035 numaralı proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Bilimsel desteklerinden ve anlayışlarından dolayı Prof. Dr. Nezihe Tunail, Prof. Dr. İsmail Hakkı Boyacı, Prof. Dr. Aykut Özkul ve Prof. Dr. K. Serdar Diker'e teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

1. Tunail N, Ayhan K, Akçelik M, Durlu-Özkaya F, Doğan HB, Kaleli D, Tükel Ç, Acar E. 2002. Yoğurt fabrikalarında faj probleminin çözümüne yönelik araştırmalar. TÜBİTAK/TARP-2106 Nolu Proje Raporu.
2. Ackermann HW. 2006. Classification of bacteriophage. In: The Bacteriophage 2nd. Calendar R. (Ed), Oxford University Press, USA, pp. 8-16.
3. Paez-Espino D, Sharon I, Morovic W, Stahl B, Thomas BC, Barrangou R, Banfield JF. 2015. CRISPR immunity drives rapid phage genome evolution in *Streptococcus thermophilus*. mBio, mbio.asm.org, 6 (2), e00262-15.
4. Lamothe G, Levesque C, Bissonnette F, Cochu A, Vadeboncoeur C, Frenette M, Duplessis M, Tremblay D, Moineau S. 2005. Characterization of the cro-ori region of the *Streptococcus thermophilus* virulent bacteriophage DT1. *Appl Environ Microbiol*, 71 (3), 1237-1246.
5. Brüssow H, Desiere F. 2006. Evolution of Tailed Phages: Insights from Comparative Phage Genomics. In: The Bacteriophage 2nd. Calendar R. (Ed), Oxford University Press, USA, pp. 26-36.
6. Brüssow H, Suarez JE. 2006. *Lactobacillus* phages. In: The Bacteriophage 2nd. Calendar R. (Ed), Oxford University Press, USA, pp. 653-657.
7. Quiberoni A, Moineau S, Rousseau GM, Reinheimer J, Ackermann HW. 2010. *Streptococcus thermophilus* bacteriophages. *Int Dairy J*, 20, 657-664.
8. Ali YHM, Yousef NMH. 2014. Detection and characterization bacteriophages attacking dairy *Streptococcus thermophilus* starter cultures. *African J Microbiol Res*, 8 (27), 2598-2603.
9. McDonnell B, Mahonya J, Neve H, Hanemaaijer L, Nobend J-P, Kouwen T, van Sinderen D. 2016. Identification and analysis of a novel group of bacteriophages infecting the lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus*. *Appl Environ Microbiol*, 82 (17), 5153-5165.
10. Prevots F, Relano P, Mata M, Ritzenthaler P. 1989. Close relationship of virulent bacteriophages of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* at both the protein and the DNA level, *J Gen Microbiol*, 135, 3337-3344.
11. Le Marrec C, Sinderen D, Walsh L, Stanley E, Vlegels E, Moineau S, Heinze P, Fitzgerald G, Fayard B. 1997. Two groups of bacteriophages *Streptococcus thermophilus* can be distinguished on the basis of mode of packaging and genetic determinants for major structural proteins. *Appl Environ Microbiol*, 63, 3246-3253.
12. Tremblay DM, Moineau S. 1999. Complete genomic sequence of the lytic bacteriophage DT1 of *Streptococcus thermophilus*. *Virology*, 255, 63-76.
13. Suárez VB, Quiberoni A, Binetti AG, Reinheimer JA. 2002. Thermophilic lactic acid bacteria phages isolated from Argentinian dairy industries. *J Food Prot*, 65 (10), 1597-1604.
14. Quiberoni A, Auad L, Binetti AG, Suarez VB, Reinheimer JA, Raya RR. 2003. Comparative analysis of *Streptococcus thermophilus* bacteriophages isolated from a yoghurt industrial plant. *Food Microbiol*, 20, 461-469.
15. Stanley E, Fitzgerald GF, Le Marrec C, Fayard B, van Sinderen D. 1997. Sequence analysis and characterization of phiO1205, a temperate bacteriophage infecting *Streptococcus thermophilus* CNRZ1205. *Microbiology*, 143, 3417-3429.
16. Lucchini S, Desiere F, Brüssow H. 1998. The structural gene module in *Streptococcus thermophilus* bacteriophage phiSfi11 shows a hierarchy of relatedness to Siphoviridae from a wide range of bacterial hosts. *Virology*, 246, 63-73.

17. Desiere F, Lucchini S, Brussow H. 1999. Comparative sequence analysis of the DNA packaging, head, and tail morphogenesis modules in the temperate cos-site *Streptococcus thermophilus* bacteriophage Sfi21. *Virology*, 260, 244-253.
18. Levesque C, Duplessis M, Labonte J, Labrie S, Fremaux C, Tremblay D. 2005. Genomic organization and molecular analysis of virulent bacteriophage 2972 infecting an exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strain. *Appl Environ Microbiol*, 71, 4057-4068.
19. Deveau H, Barrangou R, Garneau JE., Labonte J, Fremaux C, Boyaval P, Romero DA, Horvath P. and Moineau S. 2008. Phage response to CRISPR-encoded resistance in *Streptococcus thermophilus*. *J Bacteriol*, 190, 1390-1400.
20. Guglielmotti DM, Deveau H, Binetti AG, Reinheimer JA, Moineau S, Quiberoni A. 2009. Genome analysis of two virulent *Streptococcus thermophilus* phages isolated in Argentina. *Int J Food Microbiol*, 136, 101-109.
21. Milles S, Griffin C, O'Sullivan O, Coffey A, Mcauliffe OE, Meijer WC, Serrano LM, Ross RP. 2011. A new phage on the "Mozzarella" block: Bacteriophage 5093 shares a low level of homology with other *Streptococcus thermophilus* phages. *Int Dairy J*, 21, 963-969.
22. Ali Y, Koebeg S, Heßner S, Sun X, Rabe B, Back A, Neve H, Heller KJ. 2014. Temperate *Streptococcus thermophilus* phages expressing superinfection exclusion proteins of the Ltp type. *Front Microbiol*, 5: 98.
23. Brüssow H. 2001. Phages of dairy bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 55, 283-303.
24. Acar Soykut E, Tunail N. 2010. Morphological Characterization of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* virulent phages, *GIDA (FOOD)*, 35 (5), 317-323.
25. Acar-Soykut E, Tunail N. 2016. Classification of *Streptococcus thermophilus* phages originating from Turkey, *J Food Saf*, 36, 186-194.
26. ORFfinder, Open Reading Frame finder, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/> (Accessed 01 August 2016).
27. NCBI, National Centre for Biotechnology Information, www.ncbi.nlm.nih.gov (Accessed 01 August 2016).
28. Acar-Soykut E, Diker S. K. 2011. Süt Endüstrisinde Sorun Yaratan Termofilik Fajların Genomik Karakterizasyonları TÜBİTAK 110O035 nolu proje.
29. Krusch U, Neve H, Luschei B, Teuber M. 1987. Characterization of virulent bacteriophages of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* by host specificity and electron microscopy. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 39 (3), 155-167.
30. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1626 p.
31. 454 De Novo Genome Sequence, http://454.com/downloads/454SystemsBrochureSpread_Fin_Final.pdf (Accessed 30 August 2016).
32. BLAST, Basic Local Alignment Search Tool, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Accessed 01 August 2016).
33. Marchler-Bauer A, Derbyshire MK, Gonzales NR, Lu S, Chitsaz F, Geer LY, Geer RC, He J, Gwadz M, Hurwitz DI, Lanczycki CJ, Lu F, Marchler GH, Song JS, Thanki N, Wang Z, Yamashita RA, Zhang D, Zheng C, Bryant SH 2015. CDD: NCBI's conserved domain database. *Nucleic Acids Res*, 43 (Database issue), D222-D226.
34. Desiere F, Lucchini S, Brussow H. 1998. Evolution of *Streptococcus thermophilus* bacteriophage genomes by modular exchanges followed by point mutations and small deletions and insertions. *J Virol*, 241 (2), 345-356.
35. Hsia K-C, Chak K-F, Liang P-H, Cheng Y-C, Ku W-Y, Yuan H-S. 2004. DNA binding and degradation by the HNH Protein ColE7. *Struct*, 12 (2), 205-214.
36. Williams LS, Levdikov VM, Minakhin L, Severinov K, Antson, AA. 2013. 12-fold symmetry of the putative portal protein from the *Thermus thermophilus* bacteriophage G20C determined by X-ray analysis. *Acta Crystallogr F*, 69 (11), 1239-1241.
37. Gan L, Speir JA, Conway JF, Lander G, Cheng N, Firek BA, Hendrix RW, Duda RL, Liljas L, Johnson JE. 2006. Capsid conformational sampling in HK97 maturation visualized by X-Ray crystallography and cryo-EM. *Struct*, 14, 1655-1665.

38. Pell LG, Cumby N, Clark TE, Tuite A, Battaile KP, Edwards AM, Chirgadze NY, Davidson AR, Maxwell KLA. 2013. Conserved spiral structure for highly diverged phage tail assembly chaperones. *J Mol Biol*, 425 (14), 2436–2449.
39. Belcaid M, Bergeron A, Poisson G. 2011. The evolution of the tape measure protein: units, duplications and losses. *BMC Bioinformatics*, 12 (Suppl 9): S10.
40. Katsura I, Hendrix RW. 1984. Length determination in bacteriophage lambda tails. *Cell*, 39, 691-698.
41. Abuladze NK, Gingery M, Tsai J, Eiserling FA. 1994. Tail Length Determination in Bacteriophage T4, *Virology*, 199 (2), 301-310.
42. Brüssow H, Desiere F. 2001. Comparative phage genomics and the evolution of Siphoviridae: insights from dairy phages. *Mol Microbiol*, 39 (2), 213-222.

FARKLI ISITMA TEKNİKLERİNİN FINDIK VE KANOLA YAĞININ STEROL BİLEŞİMİNE ETKİSİ

Aslı Yorulmaz*, Mehmet Koç, Cavit Bircan

Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın

Geliş tarihi / Received: 12.08.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 12.09.2016

Kabul tarihi / Accepted: 26.09.2016

Özet

Çalışmanın amacı farklı ısıtma tekniklerinin fındık ve kanola yağlarının sterol bileşimine etkisini belirlemektir. Bu amaçla, 50 ml rafine fındık ve rafine kanola yağı mikrodalga fırında 650 W güçte 1, 3, 5 ve 10 dk bekletilmiş; ısıtma sonunda yağ örneklerinin sıcaklıkları ölçülerek konveksiyonel ve hibrid fırında da aynı sıcaklığa (69.5, 129.4, 173.5 ve 238.0 °C) ulaşmayı sağlayan ısıtma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yağ örnekleri sterol miktar ve kompozisyonu açısından değerlendirilmiştir. Bulgular hibrit fırının ısıtma hızının yüksek sıcaklıklarda diğer fırınlara kıyasla daha düşük olduğunu göstermektedir. Fındık yağının temel sterolleri β -sitosterol, kampesterol ve sitostanol olup ve toplam sterol içeriği 683.69-1544.09 mg/kg arasında değişmiştir. Tüm ısıtma yöntemlerinde sıcaklık artışı ile fındık yağının sterol içeriğinde genel olarak bir azalma meydana gelmiştir. Kanola yağı, β -sitosterol ve kampesterol yanında yağa özgü olarak yüksek oranlarda brassikasterol içermektedir. Kanola yağı örneklerinin toplam sterol içeriği 6088.28-9532.72 mg/kg arasında değişmiş ve ısıtma işlemleri yağda sterol kaybına yol açmamıştır.

Anahtar kelimeler: Fındık yağı, konveksiyon, mikrodalga, kanola yağı, sterol

EFFECT OF VARIOUS HEATING TECHNIQUES ON STEROL COMPOSITION OF HAZELNUT AND CANOLA OILS

Abstract

The aim of the work was to determine effect of various heating techniques on sterol composition of hazelnut and canola oil. For this purpose; 50 ml of refined hazelnut and canola oil samples were kept in microwave oven at 650 W power for 1, 3, 5 and 10 minutes; the temperature of the oil samples were calculated at the end of heating; and the heating process were performed at convectional and hybrid ovens until the attained temperatures (69.5, 129.4, 173.5 ve 238.0 °C) were reached. The obtained oil samples were evaluated for their sterol content and composition. Findings revealed that the heating speed of hybrid oven was lower at higher temperatures when compared to other ovens. The main sterols of hazelnut oil were β -sitosterol, campesterol and sitostanol and the total sterol content varied between 683.69-1544.09 mg/kg. The sterol content of hazelnut oil generally decreased by the increase in temperature for all types of heating methods. Canola oil, contains brassicasterol in high ratios unique to the oil, besides, β -sitosterol and campesterol. Total sterol content of canola oil varied between 6088.28-9532.72 mg/kg and heating procedure didn't cause a sterol loss in the oil.

Key words: Hazelnut oil, convection, microwave, canola oil, sterol

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ asliyorulmaz@adu.edu.tr,

☎ (+90) 256 213 75 03,

☎ (+90) 256 213 66 86

GİRİŞ

Mikrodalga fırınların kullanımı son yıllarda hem endüstriyel mutfaklarda, hem gıda sektörünün farklı kollarında hem de evlerde rahatlığı ve hızlı sonuç alınabilmesi sebepleriyle oldukça yaygınlaşmıştır. Gıda endüstrisinde mikrodalga teknolojisi pişirme, buz çözme, temperleme, kurutma, dondurarak kurutma, pastörizasyon, sterilizasyon, fırında pişirme ve ısıtma işlemlerinde kullanılmaktadır (1). Gıda sektöründe mikrodalga kullanımının gıda bileşenlerine etkisini inceleyen çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bitkisel ve hayvansal yağları oluşturan bileşenlere mikrodalga kullanımının etkisi pek çok çalışmaya konu olmuştur (2-4). Farklı sürelerde farklı dalga boylarındaki mikrodalga ısıtma işlemine tabi tutulmuş yağlarda serbest radikal oluşumu gözlenmiş ve bu serbest radikallerin atmosferik oksijenle reaksiyona girerek hidroperoksitleri ve ikincil oksidasyon ürünlerini oluşturduğu ortaya konmuştur (5-8). Ayrıca mikrodalgayla ısıtılmış yağlarda hidroliz reaksiyonunun bir sonucu olarak serbest yağ asitliği artmış (5-7), tokoferol içeriği düşmüş (2, 5, 7), yoğunluk ve vizkozite artmıştır (9). Mikrodalga fırınlar gıda sektöründe, endüstriyel mutfaklarda ve ev mutfaklarında geleneksel fırınlara (doğal ve zorlamalı konveksiyonlu fırın) alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Albi ve ark.(9) yaptıkları çalışmada sızma zeytinyağı, riviera zeytinyağı, ayçiçek yağı, yüksek oleik asit içerikli ayçiçek yağı ve domuz yağını hem mikrodalga hem de geleneksel konveksiyonel fırında ısıtmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar mikrodalgada ısıtılmış yağların K_{232} , K_{270} , yoğunluk, vizkozite, skualen, *trans* izomer içeriklerinin ve değerlerinin konveksiyonel fırınla ısıtılmış olanlara kıyasla daha kötü olduğunu göstermiştir. Ancak sterol kompozisyonunun ve içeriğinin her iki ısıtma şeklinde de istatistiki olarak değişmediğini ortaya koymuşlardır. Caponio ve ark. (10) yaptıkları çalışmada riviera zeytinyağını hem mikrodalga hem de konveksiyonel fırında ısıtmışlar ve mikrodalga uygulamasının daha yüksek polar madde, trigliserit oligopolimer ve okside trigliserit oluşumuna yol açtığını tespit etmişlerdir. Uquiche ve ark. (11) yaptıkları çalışmada 400 ve 600 W gücündeki mikrodalga fırında fındık örneklerini 120, 180 ve 240 saniye bekletmişler, ve elde ettikleri fındık örneklerinden yağ ekstrakte etmişlerdir. Sonuçlar, mikrodalga

uygulamanın ekstraksiyon verimini artırdığını, yağ oksidatif stabilite ve kalitesine olumlu etkilerde bulunduğunu ortaya koymuştur. Azadmard-Damirchi ve ark (12), kolza tohumlarıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, tohumları 2 ve 4 dakika boyunca mikrodalga fırında bekletmişler ve elde ettikleri tohumlardan presleme yoluyla yağ ekstrakte etmişlerdir. Sonuçlar, mikrodalga uygulamanın yağ ekstraksiyon verimini % 10, fitosterol içeriğini % 15 ve tokoferol içeriğini % 55 oranında artırdığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde mikrodalga uygulama yağ oksidatif stabilitesini de oldukça yüksek oranda artırmıştır. Tan ve ark. (13) mısır ve soya yağı kullanarak yaptıkları çalışmalarında, mikrodalga ısıtmanın yağların termal ve kimyasal özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Kalorimetre kurvesinden elde edilen veriler ile kimyasal parametreler (Peroksit ve anisidin değerleri, serbest yağ asitliği, iyot sayısı, C18:2/C16:0) arasında yüksek korelasyon tespit edilmiştir. Hassanein ve ark. (14) ayçiçeği, soya, yerfıstığı, soya:yerfıstığı (1:1) yağlarını mikrodalgada 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15 ve 18 dk bekletmişler; elde ettikleri yağlarda peroksit değeri ile serbest asit içeriğinin arttığını; toplam tokoferol ve çoklu doymamış yağ asidi içeriğinin düştüğünü bildirmişlerdir. Vieira ve Regitano-D'arce (15) mikrodalga uygulamanın kanola, mısır ve soya yağlarının oksidatif stabilitesine etkilerini incelemişler; K_{232} ve K_{270} değerlerinin ve asit değerinin ısıtma süresi (0-36 dk) uzadıkça arttığını, peroksit değerinin ise azaldığını bildirmişlerdir. Dostálová ve ark (16) domuz yağı, ayçiçek, kanola, yer fıstığı, yüksek oleik içerikli yer fıstığı yağlarını mikrodalgada 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25 ve 40 dk bekletmişler, ve elde ettikleri ısıtılmış yağları oksidatif stabiliteyi açısından incelemişlerdir. Bulgular, ayçiçek yağının yüksek çoklu doymamış asit ve düşük γ -tokoferol içeriği sebebiyle en az dayanıklı yağ olduğunu; kanola yağının da yüksek γ -tokoferol ve düşük çoklu doymamış yağ asidi içeriği sebebiyle daha dayanıklı olduğunu ortaya koymaktadır.

Günümüzde mikrodalga fırınlara ve konveksiyonel fırınlara ek olarak gıdaların besin değerini arttırmak, fırında pişirme sırasında oluşan kanserojen maddelerin (heterosiklik aminler, akrilamid vb.) oluşumunu azaltmak amacıyla alternatif pişirme tekniklerine (radyo dalgalarıyla, ohmik, mikrodalga, infrared yayılım, halojen

lamba, buharlı) sahip fırınlar geliştirilmektedir. Tek ısı iletim mekanizmasına sahip fırınlarda pişirilen ürünlerde bazı kalite problemlerinin oluşmasından kaynaklı olarak birkaç farklı ısı iletim mekanizmasını bir arada barındıran fırınlar yeni "hibrid" (kombi) fırınlar geliştirilmiştir. Hibrid fırınlar mikrodalga-infrared, konveksiyon-mikrodalga, mikrodalga-halojen lamba gibi farklı ısı transfer mekanizmalarının ikili ya da çoklu kombinasyonunu içerebilmektedir. Hibrid fırınların son 25 yılda kullanımındaki artışa paralel olarak, bu fırınların gıda bileşenlerine etkisini inceleyen araştırma sayısı da artış göstermiştir (17).

Bitkisel steroller (fitosteroller), yapısal olarak kolesterole benzeyen bileşikler olup, desmetilsteroller steroid alkoller grubuna girmekte ve bakteriler dışında tüm canlı organizmalarda bulunmaktadır (18, 19). 4-desmetil steroller yaygın olarak bulunmakta, 4-metil steroller ve 4,4-dimetil steroller ise birçok bitkisel kaynaktan genellikle minör bileşikler olarak yer almaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar, fitosterollerin kolesterol düzeyini düşürücü etkiye sahip olduklarını; β -sitosterolün yağların sindirimi sırasında karışımındaki kolesterolün bağırsaklardaki emilimini önlediğini ortaya koymuştur (20). Fitosterollerin ayrıca antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, antiülseratif ve antitümör aktivitelere sahip olduğu da bilinmektedir (21-24). Steroller aynı zamanda bitkisel sıvı yağlarda saflık kontrolünde kullanılan bileşiklerdir. Sterol miktar ve bileşen analizi ekonomik değeri yüksek yağlara daha ucuz yağlarla yapılan tağışların belirlenmesinde kullanılan önemli bir analizdir.

Çalışmanın amacı farklı ısıtma tekniklerinin (mikrodalga, zorlamalı ve doğal konveksiyon, hibrit) fındık ve kanola yağlarının sterol bileşimine etkisini incelemektir. Çalışma, hibrit fırınlarda gerçekleştirilen ısıtma işleminin yağ minör bileşenlerinden sterollere etkisinin incelenmesi açısından ilk olma niteliği taşımaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada farklı sterol içerik ve bileşimine sahip fındık ve kanola yağları kullanılmıştır. Yağ örnekleri mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Konveksiyonel fırında hem zorlamalı hem de

doğal konveksiyon uygulanmış ve toplamda 4 farklı şekilde yağ örnekleri ısıtılmıştır. Her mikrodalga ısıtma işleminde kahverengi şişelerde 50 ml yağ, mikrodalga fırında (Whirlpool, AT 325, 22 L hacim, 650 W, 2450 Hz) 1, 3, 5 ve 10 dk bekletilmiş, ısıtma sonunda ulaşılan sıcaklıklar sıcaklık veri kayıt cihazı (Testo 176 T4) vasıtasıyla tespit edilmiştir. Örnek başlangıç sıcaklığı 25 °C'dir. Mikrodalga fırında 1, 3, 5 ve 10 dakikalık ısıtma işlemleri sonunda ulaşılan sıcaklıklar sırasıyla 69.5, 129.4, 173.5 ve 238.0 °C'dir. Yağ örnekleri konveksiyonel (Arçelik MF44-EI, 44 L hacim, 1200 W, 50 Hz) ve hibrit fırınlarda (Acura AC1888, 11 L hacim, 1300 W, 50 Hz) da 25 °C'den başlayarak 69.5, 129.4, 173.5 ve 238.0 °C'lere kadar ayrı işlemlerle ısıtılmıştır. Konveksiyonel ve hibrit fırınlarda istenen sıcaklıklara ulaşmayı sağlayan ısıtma süreleri belirlenmiştir. Konveksiyonel ve hibrit fırınların çalışma sıcaklığı 200 °C'dir. Hibrit fırın, konveksiyonel ısıtma ve halojen ısıtmayı eşzamanlı sağlayarak çift ısıtma etkisi göstermektedir. 2 farklı yağ, 4 farklı şekilde, 4 farklı sürede ısıtılmış ve toplamda 34 farklı örnek elde edilmiştir.

Yağ örneklerinin sterol bileşimi AOCS Official Method Ch 6-91'e (25) göre belirlenmiştir. Yağ örneklerine önce sabunlaştırma işlemi uygulanmış, sabunlaşmayan madde fazı dietil eter ile ekstrakte edilmiştir. Sterol fraksiyonu ince tabaka kromatografi kullanılarak sabunlaşmayan maddeden ayrılmış ve BSTFA (Bis(trimetilsilil)triflorasetamid) kullanılarak türevlendirilmiştir. Trimetilsilillenmiş örnekler Agilent 7820 gaz kromatografi cihazında alev iyonlaştırıcı dedektör kullanılarak HP-5 kapiler kolon (30 m, 0.32-mm iç çap, 0.25 μ m film kalınlığı) ile analiz edilmiştir. Kolon, dedektör ve enjeksiyon bloğu sıcaklıkları sırasıyla 260, 290 ve 280 °C'dir. Taşıyıcı gaz azot olup, akış hızı 0.8 mL/dk'dır. Split oranı 50:1 ve enjeksiyon miktarı 2 μ L'dir. Analizde internal standart olarak 5 α -cholestan-3 β -ol kullanılmıştır.

İstatistiki Değerlendirme

Elde edilen veriler, SPSS 15.0 paket programı kullanılarak istatistiki değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizi tekniği ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki fark belirlenmiş, bu farklılığın önem derecesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılarak incelenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

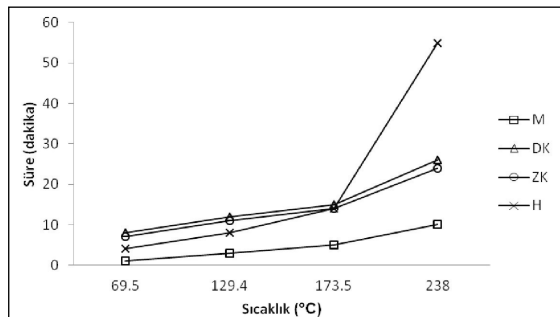
Farklı yağlara uygulanan ısıtma işlemleri sonucu yağın ulaştığı sıcaklık ve bu sıcaklığa ulaşmak için gerekli süreler Çizelge 1'de verildiği gibidir. Fındık ve kanola yağlarının, farklı tekniklerle ısıtılması sırasındaki sıcaklık-süre ilişkileri ise Şekil 1-2'de verildiği gibidir. Çizelge ve şekiller incelendiğinde en yüksek sıcaklığa en kısa sürede mikrodalga ısıtma ile ulaşıldığı görülmektedir. Zorlamalı konveksiyon mikrodalgadan sonra en hızlı ısıtmayı sağlamıştır. Ancak doğal konveksiyonla elde edilen sıcaklık-süre verileri zorlamalı konveksiyona oldukça yakındır. Hibrit fırınla gerçekleştirilen ısıtma işlemlerinde kanola yağında 129.4 °C'ye kadar; fındık yağında ise 173.5°C'ye kadar hızlı ısıtma sağlanırken, daha yüksek sıcaklıklarda fırının istenen sıcaklığa ulaşma süresi uzamıştır. Hibrit fırın, zorlamalı konveksiyonel ısıtma ve halojen ısıtmayı bir arada sağlayarak

çift ısıtma etkisi göstermektedir. Çift ısıtma işleminin yağlarda ısınma süresini konveksiyonel fırına kıyasla kısaltacağı öngörülmüştür ancak 173.5°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bu etki gözlenmemiştir.

Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan fındık yağının sterol bileşimi Çizelge 2'de verildiği gibidir. Fındık yağının temel sterolleri β -sitosterol, kampesterol, sitostanol ve Δ -7-stigmastenoldür. Bunların yanında düşük miktarlarda brassikasterol, 24-metilen-kolesterol, kampestanol, stigmasterol, Δ -7-kampesterol, klerosterol, Δ -5-avenasterol, Δ -5-24-stigmastadienol ve Δ -7-avenasterol yer almaktadır. Isıtılmamış rafine fındık yağının toplam sterol içeriği 1544.09 mg/kg düzeyindedir. Yorulmaz ve ark. (26) farklı fındık çeşitlerinden elde ettikleri ham fındık yağlarının toplam sterol içeriğinin 1581-2239 mg/kg düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 1. Farklı ısıtma teknikleriyle elde edilen sıcaklık ve süre değerleri
Table 1. Temperature and time values obtained by various heating techniques

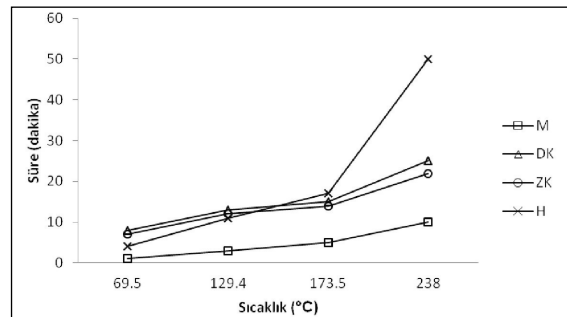
| Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Isıtma Teknikleri Heating Techniques | | | |
|-----------------------------------|--|---|--|---------------------------------|
| | Mikrodalga Isıtma Microwave Heating | Doğal Konveksiyon Natural Convection | Zorlamalı Konveksiyon Forced Convection | Hibrit Isıtma Hybrid Heating |
| Fındık yağı Hazelnut oil | | | | |
| 69.5±1.3 | 1 dk | 8 dk 30 sn | 7 dk 30 sn | 4 dk |
| 129.4±4.7 | 3 dk | 12 dk 20 sn | 11 dk 30 sn | 8 dk 30 sn |
| 173.5±3.7 | 5 dk | 15 dk 15 sn | 14 dk 30 sn | 14 dk 10 sn |
| 238.0±4.5 | 10 dk | 26 dk 30 sn | 24 dk | 55 dk |
| Kanola yağı Canola oil | | | | |
| 69.5±1.3 | 1 dk | 8 dk 49 sn | 7 dk 30 sn | 4 dk 36 sn |
| 129.4±4.7 | 3 dk | 13 dk | 12 dk 20 sn | 11 dk 18 sn |
| 173.5±3.7 | 5 dk | 15 dk 10 sn | 14 dk 15 sn | 17 dk |
| 238.0±4.5 | 10 dk | 25 dk 08 sn | 22 dk 10 sn | 50 dk |



M: Mikrodalga Isıtma (Microwave heating), DK: Doğal Konveksiyon (Natural convection), ZK: Zorlamalı Konveksiyon (Forced convection), H: Hibrit Isıtma (Hybrid heating)

Şekil 1. Fındık yağının farklı tekniklerle ısıtılmasında sıcaklık-süre ilişkisi

Figure 1. The relationship between the time and temperature during heating hazelnut oil



M: Mikrodalga Isıtma (Microwave heating), DK: Doğal Konveksiyon (Natural convection), ZK: Zorlamalı Konveksiyon (Forced convection), H: Hibrit Isıtma (Hybrid heating)

Şekil 2. Kanola yağının farklı tekniklerle ısıtılmasında sıcaklık-süre ilişkisi

Figure 2. The relationship between the time and temperature during heating canola oil

Karabulut ve ark. (27) rafine edilmiş fındık yağının 1410.48 mg/kg düzeyinde sterol içerdiğini bildirmişlerdir. Farklı ısıtma işlemlerine tabi tutulmuş fındık yağlarının toplam sterol içeriğinin sıcaklığa karşı değişimi Şekil 3'te verildiği gibidir. Tüm fırın çeşitlerinde sıcaklık ve sürenin artışı ile fındık yağının sterol içeriğinde azalma meydana gelmiştir. Ancak 173.5 °C'nin üzerindeki ısıtma işlemlerinde meydana gelen sterol kaybı 173.5 °C'nin altında meydana gelen sterol kayıplarından daha azdır. Sterol kaybının en fazla tespit edildiği ısıtma zorlamalı konveksiyon iken (%23.00); en az sterol kaybının tespit edildiği ısıtma tipi mikrodalga ısıtmadır (%16.46). Doğal konveksiyon ve hibrit ısıtmadaki ortalama sterol kayıpları ise sırasıyla % 21.37 ve % 19.45'tir. Farklı ısıtma teknikleri, aynı sıcaklığa kadar gerçekleştirilen işlemlerde toplam sterol içeriğinde istatistiki farklar oluşturmuştur. Berasategi ve ark. (28) zeytinyağı ve avokado yağlarını ısıtarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında toplam sterol içeriğinde her iki yağ için de düşüş tespit etmişlerdir. Bitkisel sıvı

yağların temel sterolu olan β -sitosterol fındık örneklerinde 541.93-1303.71 mg/kg arasında değişen değerler almış ve toplam sterollerin % 73.64-85.47'ini oluşturmuştur. Fındık yağının ikinci önemli sterolu olan kampesterol örneklerde 43.98-108.50 mg/kg arasında değişen değerler almış ve toplam sterollerin % 4.57-8.72'ini oluşturmuştur. Amaral ve ark. (29) farklı Portekiz fındık çeşitlerinden elde ettikleri yağlarda 7.2-16.4 mg/100 g düzeyinde, Matthäus ve Özcan (30) farklı Türk fındık çeşitlerinden elde edilmiş yağ örneklerinde 81.1-445.9 mg/kg düzeyinde kampesterol tanımlamışlardır. Fındık örneklerinin sitostanol içerikleri ise 22.24-59.07 mg/kg arasında değişim göstermiş olup, sonuçlar Yorulmaz ve ark (26) tarafından rapor edilen sonuçlarla uyum göstermektedir. Isıtma süre ve sıcaklığındaki artış fındık yağının brassikasterol, 24-metilen-kolesterol, Δ -5,24-stigmastadienol ve Δ -7-avenasterol içeriğinde istatistiki önemli farklar oluşturmazken; diğer sterollerde ise istatistiki açıdan anlamlı farklar gözlenmiştir.

Çizelge 2. Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan fındık yağlarının sterol içeriği (mg/kg)
Table 2. The sterol content of hazelnut oils heated in microwave, conventional and hybrid ovens (mg/kg)

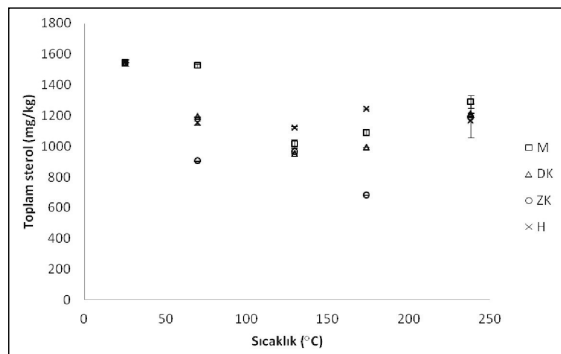
| Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Sterol Miktarı (mg/kg) Sterol Content (mg/kg) | | | | | | |
|--|---|---|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--|------------------------------|
| | Brassika sterol Brassica sterol | 24-metilen-kolesterol 24-methylene-cholesterol | Kampe Sterol Campe sterol | Kampe Stanol Campe stanol | Stigma Sterol Stigma sterol | Δ -7-kampe sterol Δ -7-campe sterol | Klero Sterol Clero sterol |
| Mikrodalga Isıtma Microwave Heating | | | | | | | |
| 25 | 1.17 ^a | 3.52 ^a | 70.56 ^c | 12.41 ^c | 16.36 ^b | 19.05 ^d | 21.64 ^a |
| 69.5 | 0.87 ^a | 1.74 ^a | 90.26 ^{a,Δ} | 5.80 ^{b,t†} | 14.56 ^{ab,*} | 1.64 ^a | 7.82 ^{a,t†} |
| 129.4 | 0.91 ^a | 1.28 ^a | 63.28 ^{a,t†} | 6.33 ^{b,t} | 10.61 ^a | 5.12 ^{b,t} | 12.97 ^{a,*} |
| 173.5 | 0.55 ^a | 1.15 ^a | 68.10 ^{b,Δ} | 3.65 ^b | 10.00 ^a | 7.93 ^{c,*} | 8.52 ^a |
| 238.0 | 0.17 ^a | 2.31 ^a | 78.76 ^{d,*} | 5.84 ^{b,t} | 13.03 ^{ab} | 2.57 ^{a,t} | 27.86 ^a |
| Doğal Konveksiyon Natural Convection | | | | | | | |
| 25 | 1.17 ^A | 3.52 ^A | 70.56 ^C | 12.41 ^C | 16.36 ^B | 19.05 ^B | 21.64 ^C |
| 69.5 | 1.07 ^A | 4.12 ^A | 74.03 ^{C,*} | 6.95 ^{AB,*} | 12.50 ^{AB,t†} | 6.23 ^A | 30.81 ^{D,*} |
| 129.4 | 0.96 ^A | 1.32 ^A | 60.77 ^{A,t†} | 7.23 ^{AB,t} | 9.99 ^A | 4.08 ^{A,t} | 9.22 ^{AB,*} |
| 173.5 | 0.30 ^A | 1.57 ^A | 62.55 ^{A,*} | 6.16 ^A | 11.05 ^{AB} | 7.10 ^{A,*} | 7.87 ^A |
| 238.0 | 4.02 ^A | 2.30 ^A | 73.81 ^{C,t†} | 8.78 ^{B,*} | 15.65 ^{AB} | 17.18 ^{B,*} | 12.02 ^B |
| Zorlamalı Konveksiyon Forced Convection | | | | | | | |
| 25 | 1.17 ^P | 3.52 ^P | 70.56 ^{RS} | 12.41 ^S | 16.36 ^F | 19.05 ^Q | 21.64 ^P |
| 69.5 | 1.08 ^P | 2.08 ^P | 55.79 ^{q,t†} | 2.78 ^{p,t} | 11.37 ^{q,t} | 14.41 ^{pq} | 12.04 ^{p,t†} |
| 129.4 | - | 1.32 ^P | 66.10 ^{p,*} | 9.32 ^{c,*} | 11.24 ^q | 4.88 ^{p,t} | 4.26 ^{p,t} |
| 173.5 | 0.97 ^P | 3.56 ^P | 43.98 ^{p,t†} | 8.06 ^q | 6.65 ^P | 3.20 ^{p,t} | 8.68 ^P |
| 238.0 | 0.55 ^P | 0.74 ^P | 76.82 ^{s,*} | 5.73 ^{a,t} | 12.60 ^q | 1.56 ^{p,t} | 7.87 ^P |
| Hibrit Isıtma Hybrid Heating | | | | | | | |
| 25 | 1.17 ^P | 3.52 ^P | 70.56 ^P | 12.41 ^O | 16.36 ^O | 19.05 ^R | 21.64 ^O |
| 69.5 | 0.88 ^P | 1.58 ^P | 74.36 ^{P,*} | 6.29 ^{P,*} | 12.47 ^{P,t†} | 4.85 ^P | 5.16 ^{P,t} |
| 129.4 | 0.60 ^P | 0.84 ^P | 69.74 ^{P,Δ} | 7.04 ^{P,t†} | 11.60 ^P | 7.15 ^{P,q,*} | 4.16 ^{P,t} |
| 238.0 | 5.57 ^P | 1.46 ^P | 108.50 ^{Q,Δ} | 6.75 ^{P,t†} | 11.26 ^P | 9.19 ^{Q,t} | 5.56 ^P |

Çizelge 2 (devamı). Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan fındık yağlarının sterol içeriği (mg/kg)
 Table 2 (continued). The sterol content of hazelnut oils heated in microwave, conventional and hybrid ovens (mg/kg)

| Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Sterol Miktarı (mg/kg) Sterol content (mg/kg) | | | | | | Toplam Sterol Total Sterols |
|--|---|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------------------|
| | β-sito sterol | Sito stanol | Δ-5-avena sterol | Δ-5-24-stigma stadienol | Δ-7-stigma stenol | Δ-7-avena sterol | |
| | β-sito sterol | Sito stanol | Δ-5-avena sterol | Δ-5-24-stigma stadienol | Δ-7-stigma stenol | Δ-7-avena sterol | |
| Mikrodalga Isıtma Microwave Heating | | | | | | | |
| 25 | 1204.03 ^d | 59.07 ^c | 7.87 ^a | 51.22 ^a | 58.39 ^a | 18.78 ^a | 1544.09 ^d |
| 69.5 | 1303.71 ^{a,Δ} | 52.93 ^{bc*} | 24.65 ^{b,Δ} | 4.88 ^a | 9.76 ^a | 6.74 ^a | 1525.38 ^{d,Δ} |
| 129.4 | 831.92 ^{a,Δ} | 38.95 ^a | 6.57 ^a | 8.59 ^a | 26.55 ^a | 3.17 ^a | 1016.27 ^{a,*} |
| 173.5 | 894.90 ^{b,Δ} | 42.75 ^a | 10.86 ^a | 6.53 ^a | 21.42 ^a | 14.59 ^a | 1090.98 ^b |
| 238.0 | 1068.43 ^c | 45.63 ^{ab,†} | 21.21 ^{b,Δ} | 8.46 ^a | 11.04 ^{a,†} | 4.65 ^a | 1289.99 ^c |
| Doğal Konveksiyon Natural Convection | | | | | | | |
| 25 | 1204.03 ^D | 59.07 ^C | 7.87 ^A | 51.22 ^A | 58.39 ^{AB} | 18.78 ^A | 1544.09 ^C |
| 69.5 | 945.66 ^{C,*} | 47.45 ^{B,†} | 15.56 ^{B,*} | 8.60 ^A | 25.15 ^{AB} | 14.51 ^A | 1192.67 ^{B,*} |
| 129.4 | 775.72 ^{A,†} | 39.63 ^A | 6.19 ^A | 8.79 ^A | 17.31 ^A | 10.20 ^A | 951.45 ^{A,†} |
| 173.5 | 808.95 ^{A,*} | 44.76 ^{AB} | 8.04 ^A | 5.31 ^A | 16.07 ^A | 15.09 ^A | 994.86 ^{A,Δ} |
| 238.0 | 894.17 ^B | 51.87 ^{B,*} | 7.62 ^{A,*} | 7.45 ^A | 103.24 ^{B,Δ} | 16.05 ^A | 1214.17 ^B |
| Zorlamalı Konveksiyon Forced Convection | | | | | | | |
| 25 | 1204.03 ^s | 59.07 ^q | 7.87 ^p | 51.22 ^p | 58.39 ^p | 18.78 ^q | 1544.09 ^s |
| 69.5 | 743.97 ^{q,†} | 22.24 ^{p,†} | 8.07 ^{p,†} | 8.51 ^p | 19.97 ^p | 2.69 ^p | 905.04 ^{q,†} |
| 129.4 | 791.10 ^{q,*} | 38.51 ^{pq} | 6.59 ^p | 12.31 ^p | 16.36 ^p | 4.05 ^p | 966.06 ^{q,†} |
| 173.5 | 541.93 ^{p,†} | 33.84 ^{pq} | 3.25 ^p | 6.41 ^p | 14.28 ^p | 8.86 ^p | 683.69 ^{p,*} |
| 238.0 | 997.66 ^r | 42.17 ^{pq,†} | 21.51 ^{q,Δ} | 8.33 ^p | 9.21 ^{p,†} | 4.12 ^p | 1188.89 ^r |
| Hibrit Isıtma Hybrid Heating | | | | | | | |
| 25 | 1204.03 ^Q | 59.07 ^Q | 7.87 ^P | 51.22 ^P | 58.39 ^P | 18.78 ^P | 1544.09 ^Q |
| 69.5 | 966.14 ^{P,*} | 42.74 ^{P,†} | 15.61 ^{Q,*} | 8.26 ^P | 10.01 ^P | 4.15 ^P | 1152.51 ^{P,*} |
| 129.4 | 910.93 ^{P,Δ} | 45.65 ^P | 12.79 ^{PQ} | 7.87 ^P | 24.38 ^P | 17.86 ^P | 1122.68 ^{P,Δ} |
| 238.0 | 957.64 ^P | 58.29 ^{Q,Δ} | 14.97 ^{PQ,*} | 12.19 ^P | 52.34 ^{P,*} | 1.99 ^P | 1243.69 ^{P,†} |

Farklı simgeler mikrodalga ısıtma (a-e), doğal konveksiyon (A-D), zorlamalı konveksiyon (p-s), hibrit ısıtma (P-Q) sırasında uygulanan sıcaklıklar arasındaki farklar ile farklı ısıtma tekniklerinin aynı sıcaklıkta ısıtılan yağ örneklerinde ortaya koyduğu farkları (†, *, Δ, °) simgelemektedir.

Different symbols indicate the differences between temperatures applied during microwave heating (a-e), natural convection (A-D), forced convection (p-s), hybrid heating (P-Q) and the differences among oil samples displayed by various heating techniques (†, *, Δ, °) heated at the same temperature.

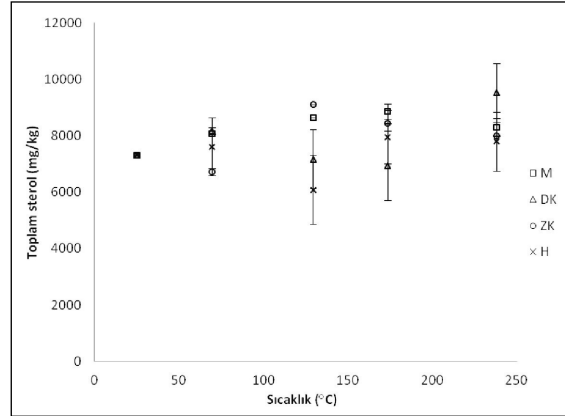


M: Mikrodalga Isıtma (Microwave heating), DK: Doğal Konveksiyon (Natural convection), ZK: Zorlamalı Konveksiyon (Forced convection), H: Hibrit Isıtma (Hybrid heating)

Şekil 3. Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan fındık yağlarının toplam sterol içeriğindeki değişim (mg/kg)
 Figure 3. The change in total sterol content of hazelnut oils heated in microwave, conventional and hybrid ovens (mg/kg)

Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan kanola yağının sterol içeriği Çizelge 3'de verildiği gibidir. Kanola yağının temel sterollerini β-sitosterol, kampesterol ve brassikasteroldür. Isıtılmamış rafine kanola yağının toplam sterol içeriği 7317.38 mg/kg düzeyindedir. Verleyen ve ark. (31) farklı bitkisel sıvı yağların sterol içeriklerini inceledikleri çalışmalarında rafine kanola yağının ortalama 8000 mg/kg düzeyinde sterol ihtiva ettiğini rapor etmişlerdir. Farklı ısıtma işlemlerine tabi tutulmuş kanola yağlarının toplam sterol içeriğinin sıcaklığa karşı değişimi Şekil 4'te verildiği gibidir. Isıtma işlemleri süresince kanola yağının toplam sterol içeriği dalgalanma göstermiş, 238 °C'ye ulaşan ısıtma sonunda ise bazı örneklerde daha yüksek düzeyde sterol tespit edilmiştir. Temel sterol olan β-sitosterol kanola örneklerinde

2865.04-4546.36 mg/kg arasında değişen değerler almış ve toplam sterollerin %43.74-52.23'ünü oluşturmuştur. Kanola yağının ikinci önemli sterolu olan kampesterol örneklerde 2045.38-2953.31 mg/kg arasında değişen değerler almış ve toplam sterollerin %30.11-33.91'ini oluşturmuştur. Vlahakis ve Hazebroek (32), yaptıkları çalışmada kanola örneklerinde 2310-3920 µg/g düzeyinde β-sitosterol, 1500-3080 µg/g düzeyinde kampesterol rapor etmişlerdir. Brassikasterol kanola ve kolza yağlarına özgü bir sterol olup diğer bitkisel sıvı yağlarda sınırlı düzeyde yer almaktadır. Bu sebeple bitkisel sıvı yağlara kanola ve kolza yağıyla yapılan tağışlar brassikasterol miktarının belirlenmesi ile tespit edilebilmektedir. Kanola örneklerinde brassikasterol, 654.68-938.55 mg/kg arasında değişen değerler almış ve toplam sterollerin %9.69-10.93'u oranında yer almıştır. Isıtma süre ve sıcaklığı kanola yağı örneklerindeki sterollerin tamamında istatistiki olarak önemli farklara sebep



M: Mikrodalga Isıtma (*Microwave heating*), DK: Doğal Konveksiyon (*Natural convection*), ZK: Zorlamalı Konveksiyon (*Forced convection*), H: Hibrit Isıtma (*Hybrid heating*)

Şekil 4. Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan kanola yağlarının toplam sterol içeriğindeki değişim (mg/kg)
Figure 4. The change in total sterol content of canola oils heated in microwave, conventional and hybrid ovens (mg/kg)

Çizelge 3. Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan kanola yağının sterol içeriği (mg/kg)
Table 3. The sterol content of canola oils heated in microwave, conventional and hybrid ovens (mg/kg)

| Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Sterol Miktarı (mg/kg) Sterol content (mg/kg) | | | | | | |
|--|---|--|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---|-------------------------------------|
| | Brassika sterol <i>Brassica sterol</i> | 24-metilen-kolesterol <i>24-methylene-cholesterol</i> | Kampe Sterol <i>Campe sterol</i> | Kampe Stanol <i>Campe stanol</i> | Stigma Sterol <i>Stigma sterol</i> | Δ-7-kampe sterol <i>Δ-7-campe sterol</i> | Klero Sterol <i>Clero sterol</i> |
| Mikrodalga Isıtma Microwave Heating | | | | | | | |
| 25 | 729.52 ^a | 26.12 ^a | 2290.04 ^a | 46.20 ^b | 70.53 ^a | 29.15 ^d | 106.97 ^a |
| 69.5 | 802.82 ^{b,Δ} | 27.55 ^{a,†} | 2525.58 ^{b,Δ} | 49.00 ^{c,†} | 88.92 ^{d,Δ} | 20.35 ^{c,†} | 111.94 ^a |
| 129.4 | 838.27 ^{c,Δ} | 53.18 ^{b,Δ} | 2905.04 ^{b,Δ} | 45.48 ^{b,†} | 83.70 ^{c,†} | 7.70 ^{a,†} | 121.04 ^a |
| 173.5 | 902.81 ^{d,Δ} | 59.26 ^{b,†} | 2814.77 ^{d,Δ} | 65.64 ^{d,†} | 92.67 ^{b,Δ} | 42.85 ^{a,Δ} | 143.68 ^a |
| 238.0 | 925.92 ^{d,†} | 87.85 ^{c,†} | 2616.79 ^{c,†} | 34.81 ^{a,†} | 78.86 ^{b,†} | 10.94 ^{b,†} | 131.77 ^{a,†} |
| Doğal Konveksiyon Natural Convection | | | | | | | |
| 25 | 729.52 ^A | 26.12 ^A | 2290.04 ^A | 46.20 ^B | 70.53 ^A | 29.15 ^D | 106.97 ^A |
| 69.5 | 863.69 ^{C,Δ} | 90.23 ^{D,Δ} | 2651.14 ^{C,Δ} | 42.23 ^{B,†} | 82.19 ^{B,Δ} | 17.96 ^{C,†} | 130.50 ^A |
| 129.4 | 758.77 ^{B,†} | 39.23 ^{B,†} | 2355.84 ^{B,†} | 34.44 ^{A,†} | 71.66 ^{A,†} | 6.24 ^{A,†} | 155.98 ^A |
| 173.5 | 753.69 ^{B,†} | 56.16 ^{C,†} | 2351.45 ^{B,†} | 42.59 ^{B,†} | 65.77 ^{A,†} | 14.40 ^{B,†} | 94.81 ^A |
| 238.0 | 938.55 ^{D,†} | 380.65 ^{E,Δ} | 2870.41 ^{D,†} | 46.37 ^{B,Δ} | 89.76 ^{C,†} | 20.48 ^{C,Δ} | 660.03 ^{B,†} |
| Zorlamalı Konveksiyon Forced Convection | | | | | | | |
| 25 | 729.52 ^P | 26.12 ^P | 2290.04 ^P | 46.20 ^{PQ} | 70.53 ^Q | 29.15 ^T | 106.97 ^P |
| 69.5 | 654.68 ^{P,†} | 36.77 ^{PQ,†} | 2076.81 ^{P,†} | 52.78 ^{Q,†} | 63.37 ^{P,†} | 42.99 ^{S,Δ} | 76.30 ^P |
| 129.4 | 937.19 ^{Q,Δ} | 40.40 ^{Q,Δ} | 2953.31 ^{Q,Δ} | 51.87 ^{PQ,Δ} | 86.54 ^{S,†} | 21.65 ^{Q,Δ} | 102.63 ^P |
| 173.5 | 832.91 ^{Q,†} | 39.52 ^{PQ,†} | 2598.55 ^{Q,†} | 50.38 ^{PQ,†} | 78.94 ^{T,†} | 29.23 [†] | 84.54 ^P |
| 238.0 | 838.93 ^{Q,†} | 37.44 ^{PQ,†} | 2639.39 [†] | 36.20 ^{P,†} | 79.13 [†] | 11.51 ^{P,†} | 60.96 ^{P,†} |
| Hibrit Isıtma Hybrid Heating | | | | | | | |
| 25 | 729.52 ^Q | 26.12 ^Q | 2290.04 ^P | 46.20 ^P | 70.53 ^{PQ} | 29.15 ^T | 106.97 ^{PQ} |
| 69.5 | 758.59 ^{R,†} | 35.20 ^{R,†} | 2342.56 ^{R,†} | 42.30 ^{P,†} | 75.27 ^{QR,†} | 23.93 ^{S,†} | 212.05 ^Q |
| 129.4 | 665.25 ^{P,†} | 18.52 ^{P,†} | 2045.38 ^{P,†} | 39.42 ^{P,†} | 69.95 ^{P,†} | 11.26 ^{R,†} | 102.25 ^{PQ} |
| 173.5 | 829.22 ^{S,†} | 47.00 ^{S,†} | 2582.62 ^{S,†} | 41.15 ^{P,†} | 80.86 ^{S,Δ} | 9.59 ^{Q,†} | 72.86 ^P |
| 238.0 | 836.53 ^{S,†} | 33.97 ^{R,†} | 2611.53 ^{T,†} | 43.22 ^{R,Δ} | 78.71 ^{R,S,†} | 5.28 ^{P,†} | 82.57 ^{P,†} |

Çizelge 3 (devamı). Mikrodalga, konveksiyonel ve hibrit fırınlarda ısıtılan kanola yağlarının sterol içeriği (mg/kg)
 Table 3 (continued). The sterol content of canola oils heated in microwave, conventional and hybrid ovens (mg/kg)

| Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Sterol Miktarı (mg/kg) Sterol content (mg/kg) | | | | | | Toplam Sterol Total Sterols |
|--|---|------------------------|--------------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| | β -sito sterol | Sito stanol | Δ -5-avena sterol | Δ -5-24-stigma stadienol | Δ -7-stigma stenol | Δ -7-avena sterol | |
| | β -sito sterol | Sito stanol | Δ -5-avena sterol | Δ -5-24-stigma stadienol | Δ -7-stigma stenol | Δ -7-avena sterol | |
| Mikrodalga Isıtma Microwave Heating | | | | | | | |
| 25 | 3683.78 ^a | 98.31 ^a | 116.04 ^{ab} | 50.87 ^a | 51.70 ^b | 18.15 ^a | 7317.38 ^a |
| 69.5 | 4113.22 ^{ab,Δ} | 108.49 ^{ab,†} | 103.17 ^{a,†} | 71.70 ^{ab,†} | 47.44 ^{ab} | 6.58 [†] | 8076.77 ^{ab,Δ} |
| 129.4 | 4174.47 ^{ab,Δ} | 99.39 ^{a,*} | 139.79 ^{c,Δ} | 70.18 ^a | 6.97 ^{a,†} | 15.11 ^{a,†} | 8647.98 ^{ab,Δ} |
| 173.5 | 4284.51 ^{b,Δ} | 125.42 ^{b,Δ} | 122.64 ^{b,†} | 54.88 ^b | 139.85 ^{c,†} | 13.63 ^a | 8862.64 ^{d,Δ} |
| 238.0 | 4204.02 ^{ab,†} | 93.02 ^a | 137.13 ^{c,†} | 27.85 ^a | 15.38 ^{ab,†} | 28.15 ^a | 8304.59 ^{bc,†} |
| Doğal Konveksiyon Natural Convection | | | | | | | |
| 25 | 3683.78 ^c | 98.31 ^d | 116.04 ^b | 50.87 ^a | 51.70 ^b | 18.15 ^b | 7317.38 ^c |
| 69.5 | 4005.22 ^{d,Δ} | 92.09 ^{b,†} | 125.91 ^{c,†} | 25.00 ^{a,†} | 22.94 ^a | 13.57 ^a | 8162.69 ^{d,Δ} |
| 129.4 | 3439.52 ^{b,†} | 88.83 ^{a,†} | 104.94 ^{a,†} | 52.18 ^a | 39.23 ^{ab,†} | 18.80 ^{b,†} | 7165.66 ^{b,†} |
| 173.5 | 3264.42 ^{a,†} | 91.40 ^{b,†} | 109.77 ^{a,†} | 29.43 ^a | 39.93 ^{ab,†} | 21.13 ^{bc} | 6934.99 ^{a,†} |
| 238.0 | 4169.28 ^{e,Δ} | 95.73 ^c | 137.41 ^{d,†} | 36.56 ^a | 63.44 ^{b,†} | 24.04 ^c | 9532.72 ^{e,†} |
| Zorlamalı Konveksiyon Forced Convection | | | | | | | |
| 25 | 3683.78 ^{pq} | 98.31 ^q | 116.04 ^q | 50.87 ^p | 51.70 ^p | 18.15 ^p | 7317.38 ^q |
| 69.5 | 3419.89 ^{p,†} | 93.54 ^{pq,†} | 105.98 ^{p,†} | 36.79 ^{p,†} | 33.08 ^p | 26.32 ^p | 6719.36 ^{p,†} |
| 129.4 | 4546.36 ^Δ | 118.72 ^Δ | 157.91 ^Δ | 28.34 ^p | 36.69 ^{p,†} | 27.93 ^{p,†} | 9109.58 ^Δ |
| 173.5 | 4405.16 ^Δ | 100.65 ^{s,†} | 145.29 ^{s,Δ} | 26.79 ^p | 18.42 ^{p,†} | 24.07 ^p | 8434.48 [†] |
| 238.0 | 3999.04 [†] | 85.96 ^p | 134.92 [†] | 36.02 ^p | 25.21 ^{p,†} | 16.92 ^p | 8001.66 [†] |
| Hibrit Isıtma Hybrid Heating | | | | | | | |
| 25 | 3683.78 ^q | 98.31 ^q | 116.04 ^{rs} | 50.87 ^p | 51.70 ^p | 18.15 ^p | 7317.38 ^q |
| 69.5 | 3815.36 ^{r,†} | 107.00 ^{s,†} | 102.69 ^{q,†} | 39.93 ^{p,†} | 53.43 ^p | 3.48 ^p | 7611.79 ^{r,*} |
| 129.4 | 2865.04 ^{p,†} | 90.10 ^{p,†} | 79.14 ^{p,†} | 69.36 ^p | 24.01 ^{p,†} | 8.60 ^{p,†} | 6088.28 ^{p,†} |
| 173.5 | 4007.33 [†] | 88.63 ^{p,†} | 117.58 ^{s,†} | 34.13 ^p | 33.09 ^{p,†} | 11.02 ^p | 7955.11 ^{s,†} |
| 238.0 | 3800.72 ^{p,†} | 100.22 ^{rs} | 107.48 ^{qr,†} | 41.03 ^p | 16.18 ^{p,†} | 36.11 ^p | 7793.56 ^{rs,†} |

Farklı simgeler mikrodalga ısıtma (a-e), doğal konveksiyon (A-D), zorlamalı konveksiyon (p-s), hibrit ısıtma (P-Q) sırasında uygulanan sıcaklıklar arasındaki farklar ile farklı ısıtma tekniklerinin aynı sıcaklıkta ısıtılan yağ örneklerinde ortaya koyduğu farkları (†, *, Δ, °) simgelenmektedir.

Different symbols indicate the differences between temperatures applied during microwave heating (a-e), natural convection (A-D), forced convection (p-s), hybrid heating (P-Q) and the differences among oil samples displayed by various heating techniques (†, *, Δ, °) heated at the same temperature.

olmuştur. Benzer şekilde ayrı ısıtma teknikleri, aynı sıcaklığa kadar gerçekleştirilen işlemlerde toplam sterol içeriğinde istatistiki farklar oluşturmuştur.

Fındık ve konola yağının farklı ısıtma teknikleri ile ısıtılması sonucunda sterol kompozisyonu ve içeriği ısıtma tekniğine ve uygulanan sıcaklığa bağlı olarak değişim göstermiştir. Bu değişim, düzenli artış/azalış deseni sergilemekten ziyade her iki yağ için de genellikle dalgalanma şeklinde gerçekleşmiştir. Elde edilen bulgular hibrit fırınların yüksek sıcaklıklarda ısıtma performanslarının

düşüğünü ve ısıtma süresinin diğer fırınlara kıyasla oldukça uzadığını ortaya koymaktadır. Mevcut ısıtma sistemlerinin sterol oksidasyonu üzerine etkilerinin incelenmesi ve oluşan oksidasyon ürünleri ile fitosterollerin birlikte değerlendirilmesi yeni çalışmalara ışık tutacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu makale Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenen ZRF 12001 nolu projenin sonuçlarından yararlanılarak hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Oliveira MEC, Franca AS. 2002. Microwave heating of foodstuffs. *J Food Eng*, 53, 347-359.
2. Yoshida H, Hirooka BN, Kajimoto G. 1990. Microwave energy effects on quality of some seed oils. *J Food Sci*, 55, 1416-1421.
3. Yoshida H, Kondo I, Kajimoto G. 1992. Effects of microwave energy on the relative stability of Vitamin E in animal fats. *J Sci Food Agric*, 58, 531-534.
4. Farag RS. 1994. Influence of microwave and conventional heating on the quality of lipids in model and food systems. *Fett Wiss Technol*, 96, 215-222.
5. Albi T, Lanzon A, Guinda A, Leon M, Pérez-Camino MC. 1997a. Microwave and conventional heating effects on thermooxidative degradation of edible fats. *J Agric Food Chem*, 45, 3795-3798.
6. Farag RS, Hewedi FM, Abu-Raiia SH, El-Baroty GS. 1992. Comparative study on the deterioration of oils by microwave and conventional heating. *J Food Prot*, 55, 722-727.
7. Hassanein MM, Safinaz MS, Hassan M. 2003. Changes occurring in vegetable oils composition due to microwave heating. *Grasas Aceites*, 54, 343-349.
8. Lie Ken Jie MSF, Yan-kit C. 1988. The use of microwave oven in the chemical transformation of long chain fatty acid esters. *Lipids*, 23, 367-369.
9. Albi T, Lanzon A, Guinda A, Pérez-Camino MC, Leon M. 1997b. Microwave and conventional heating effects on some physical and chemical parameters of edible fats. *J Agric Food Chem*, 45, 3000-3003.
10. Caponio F, Pasqualone A, Gomes T. 2002. Effects of conventional and microwave heating on the degradation of olive oil. *Eur Food Res Technol*, 215, 114-117.
11. Uquichea E, Jeréza M, Ort zc J. 2008. Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (Gevuina avellana Mol). *Innov Food Sci Emerg*, 9, 495-500.
12. Azadmard-Damirchi S, Habibi-Nodeh F, Hesari J, Nemati M, Achachlouei BF. 2010. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chem*, 121, 1211-1215.
13. Tan CP, Che Man YB, Jinap S, Yusoff MSA. 2001. Effects of microwave heating on changes in chemical and thermal properties of vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc*, 78, 1227-1232.
14. Hassanein MM, El-Shami SM, El-Mallah MH. 2003. Changes occurring in vegetable oils composition due to microwave heating. *Grasas Aceites*, 54, 343-349.
15. Vieira MFS, Regitano-D'arce MAB. 1998. Stability of oils heated by microwave: UV spectrophotometric evaluation. *Ciência e ecnologia de Alimentos*, 18, 433-437.
16. Dostálová J, Hanzl k P, Réblová Z, Pokorný J. 2005. Oxidative changes of vegetable oils during microwave heating. *Czech J. Food Sci*, 23, 230-239.
17. Demirekler P, Sumnu G, Sahin S. 2004. Optimization of bread baking in a halogen lamp-microwave combination oven by response surface methodology. *Eur Food Res Technol*, 219, 341-347.
18. Casas JS, Bueno EO, Garcia AMM, Cano MM. 2004. Sterol and erythrodiol+uvaol content of virgin olive oils from cultivars of Extremadura (Spain). *Food Chem*, 87, 225-230.
19. Wester I. 2000. Cholesterol-lowering effect of plant sterols. *Eur J Lipid Sci Technol*, 102, 37-44.
20. Kayahan M, Tekin A. 2006. Sağlıklı Beslenme Açısından Zeytinyağının Önemi. *Zeytinyağı Üretim Teknolojisi*, Ankara, s 131-166.
21. Ling WH, Jones PJH. 1995. Dietary phytosterols: Review of metabolism, benefits and side effect. *Life Sci*, 57, 195-206.
22. Akihisa T, Yasukawa K, Yamaura M, Ukiya M, Kimura Y, Shimuzu N, Arai K. 2000. Triterpene alcohol and sterol ferrulates from rice bran and their anti-inflammatory effect. *J Agric Food Chem*, 48, 2313-2319.
23. Rao AV, Janesic SA. 1992. The role of dietary phytosterols in colon carcinogenesis. *Nutr Cancer*, 18, 43-52.
24. Gould AL, Rossow JE, Santanello NC, Heyse JF, Furberg CD. 1995. Cholesterol reduction yields clinical benefit. A new look to old data. *Circulation*, 91, 2274-2282.
25. AOCS. 2003. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society AOCS Press, Champaign.

26. Yorulmaz A, Velioglu YS, Tekin A, Simsek A, Drover JCG, Ates J. 2009. Phytosterols in 17 Turkish hazelnut (*Corylus avellana L.*) cultivars. *Eur J Lipid Sci Technol*, 111, 402-408.
27. Karabulut İ, Topçu A, Yorulmaz A, Tekin A, Ozay DS. 2005. Effects of the industrial refining process on some properties of hazelnut oil. *Eur J Lipid Sci Technol*, 107, 476-480.
28. Berasategi I, Barriuso B, Ansorena D, Astiasarán I. 2012. Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. *Food Chem*, 132, 439-446.
29. Amaral S, Casal S, Citova´ I, Santos A, Seabra RM, Oliveira BPP. 2006. Characterization of several hazelnut (*Corylus avellana L.*) cultivars based in chemical, fatty acid, and sterol composition. *Eur Food Res Technol*, 222, 274-280.
30. Matthäus B, Özcan MM. 2012. The comparison of properties of the oil and kernels of various hazelnuts from Germany and Turkey. *Eur J Lipid Sci Technol*, 114, 801-806.
31. Verleyen T, Forcades M, Verhe R, Dewettinck K, Huyghebaert A, Greyt WD. 2002. Analysis of Free and Esterified Sterols in Vegetable Oils. *J Am Oil Chem Soc*, 79, 117-122.
32. Vlahakis C, Hazebroek J. 2000. Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: Effects of genetics, planting location, and temperature. *J Am Oil Chem Soc*, 77, 49-53.

FATTY ACID PROFILES AND MINERAL CONTENTS OF WALNUTS FROM DIFFERENT PROVINCES OF VAN LAKE

Perihan Batun¹, Emre Bakkalbaşı¹, Ahmet Kazankaya², İsa Cavidoğlu^{1*}

¹Yüzüncü Yıl University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Van

²Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Van

Received / Geliş Tarihi: 09.06.2016

Received in revised form / Düzeltilek Geliş Tarihi 02.09.2016

Accepted / Kabul Tarihi 10.10.2016

Abstract

In this study some physical and chemical properties of walnut genotypes grown in 5 different regions around Van Lake (Eastern Anatolia) harvested during ripening period have been determined. The average kernel ratios of ripe fruits from Adilcevaz, Ahlat, Edremit, Çatak and Hakkari found to be 45.7, 45.0, 42.2, 43.1 and 38.4%, respectively. The oil contents of fruits considerably increased during ripening and ranged between 65.7 and 70.7% in ripe walnuts. Linoleic acid was the most abundant fatty acid in walnut followed by oleic acid. The unsaturated fatty acids contents of samples remarkably increased during ripening. The tocopherol contents of walnuts considerably increased during ripening. The initial and final total tocopherol contents of samples varied between 8.3-18.5 and 121.9-135.4 mg/100 g oil, respectively. Potassium was the most abundant mineral in ripe walnuts followed by Mg and Ca. The results showed that these genotypes were promising walnut types and selection researches should be carrying out to produce standard walnut types from this genotypes.

Keywords: Walnut, fatty acid composition, tocopherol, minerals.

VAN GÖLÜ ÇEVRESİNDEKİ FARKLI BÖLGELERDEN ELDE EDİLEN CEVİZLERİN YAĞ ASİDİ BİLEŞİMLERİ VE MİNERAL İÇERİKLERİ

Özet

Bu çalışmada olgunlaşma süresince Van Gölü çevresinde yer alan 5 farklı bölgeden temin edilen ceviz genotiplerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Adilcevaz, Ahlat, Edremit, Çatak ve Hakkari'den temin edilen olgun cevizlerin ortalama iç oranları sırasıyla, %45.7, 45.0, 42.2, 43.1 ve 38.4 olarak bulunmuştur. Olgunlaşma süresince cevizlerin yağ içerikleri önemli oranda artmış ve olgun cevizlerde yağ içeriği %65.7 ile %70.7 arasında değişmiştir. Cevizlerde baskın yağ asidi linoleik asit olurken, onu oleik asit takip etmiştir. Örneklerin doymamış yağ asidi içeriği olgunlaşma süresince belirgin düzeyde artmıştır. Cevizlerin tokoferol içerikleri de olgunlaşma süresince önemli ölçüde artmıştır. Örneklerin başlangıç ve son toplam tokoferol içerikleri sırasıyla, 8.3-18.5 ve 121.9-135.4 mg/100g yağ arasında değişmiştir. Olgun cevizlerde baskın mineral potasyum olurken onu sırasıyla, Mg ve Ca izlemiştir. Elde edilen sonuçlar, 5 farklı bölgeden elde edilen genotiplerin ümitvar ceviz tipleri olduğunu ve bu genotiplerden standart ceviz çeşitlerinin oluşturulması için seleksiyon çalışmaları yapılması gerektiğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Ceviz, yağ asidi bileşimi, tokoferol, mineral.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ isacavidoglu@yyu.edu.tr,

☎ (+90) 539 281 4272,

☎ (+90) 432 225 1730

INTRODUCTION

Turkey is one of the leading countries in walnut production. The agricultural statistics data shows that Turkey is in the fourth rank in walnut production after China, Iran and United States (1). Walnut is naturally spread in many regions in Turkey, especially in East Anatolia (Bitlis, Van and Hakkari) (2). Walnut fruit is generally used as a dried nut, and also added to several food formulations for its nutty flavour. Walnut is a rich source of oil, minerals and tocopherols. It has a high oil content which can vary from 59 to 72% depending on the cultivar, location and irrigation rate (3, 4). Walnut is well known because of its high polyunsaturated fatty acids (PUFA) content. Major fatty acid of walnut is linoleic acid (52.2-60.2%), followed by oleic (16.3-29.7%), linolenic (8.8-15.2%), palmitic (5.3-7.2%) and stearic acid (1.8-2.7%). PUFA (C18:2 and C18:3) is the main group of fatty acids in walnut oil, ranging from 61.8 to 75.3% (4). It is known that higher intake of PUFA decrease the risk of coronary heart disease by reducing blood pressure, total and LDL cholesterol (5). However, high PUFA content limits the shelf life of walnuts due to susceptibility of PUFA to oxidation. Oxidation results an undesirable rancid taste, and is the most important quality parameter decreasing economic value of walnut (6). On the other hand, walnut has rich antioxidant content. Walnut has the highest tocopherol content among popular seeds and fruits. High tocopherol content protects walnut oil against oxidation and also has some positive health effects (7, 8). Tocopherol contents of five different walnut varieties grown in Turkey were analyzed by Bakkalbaşı et al. (9). The amount of α -, γ -, δ - and total tocopherol ranged from 9.7 to 14.1, 298.8 to 470.0, 10.1 to 26.0 and 321.3 to 505.3 mg/kg walnut, respectively. Vaidya and Eun (10) reported that α -, γ -, δ - and total tocopherol content of walnut oil was 15.3, 258.1, 41.5 and 314.9 $\mu\text{g/g}$ oil, respectively. γ -Tocopherol was the major tocopherol isomer in walnut. Recently, several studies showed that γ -tocopherol detoxifies lipophilic electrophiles such as reactive nitrogen oxide species, possess anti-cancer and anti-inflammatory activity, and protects against cardiovascular disease (11, 12).

Walnut is also considered as a good source of mineral compounds. Walnut contains high amount of potassium, phosphorus and magnesium. Cosmulescu et al. (13) declared that K, Mg, Ca, Mn, Fe, Zn and Cu contents of different walnut cultivars grown in Romania ranged from 387.3 to 444.4, 264.7 to 272.3, 62.8 to 72.9, 10.5 to 18.1, 5.4 to 5.9, 3.2 to 4.1 and 2.9 to 3.5 mg/100 g, respectively. Mineral compositions of 20 promising walnut types selected from Bahçesaray (Van, Turkey) were also found to be 296-632 mg/100g for K, 64-118 mg/100g for Ca, 102-168 mg/100g for Mg, 266-539 mg/100g for P, 1.0-2.7 mg/100g for Cu, 1.9-5.1 mg/100g for Mn, 2.8-14.0 mg/100g for Fe and 2.0-4.4 mg/100g for Zn (14).

Walnut contains several important chemical compounds such as fatty acids, tocopherols and minerals that may affect nutritional and economic value of walnut. Fatty acid, tocopherol and mineral contents of walnut are influenced by several factors such as cultivar, origin, climate, applied cultural practice and harvesting time. In this study, some physical and chemical properties of walnut genotypes grown in some regions around Van Lake during ripening period have been investigated.

MATERIALS AND METHODS

Materials

In this study, for pomologic properties 5 promising walnut selections were collected from 5 different regions of Van Lake (Adicevaz, Ahlat, Edremit, Hakkari and Çatak). The oil contents, fatty acid compositions, total tocopherol and mineral contents of genotypes with the highest yield have been studied during ripening period (1st July, 15th July, 3rd August, 17th August and 25th September).

Fruit Characteristics

Pomological properties such as nut weight, kernel weight, kernel ratio, nut length, suture, diameter, shell thickness, shell roughness (easy, medium, hard), kernel colour (light, tawny, dark) and shell colour (light, tawny, dark) were determined in five matured walnut genotypes from each region (15).

Chemical Analysis

The oil, fatty acids and mineral contents of walnut samples were determined according to AOAC (16). For gas-chromatographic (GC) analysis, fatty acids methyl esters (FAME) were prepared by dissolving 0.4 g oil in 4 ml of isooctane and methylated in 0.2 ml 2 M methanolic KOH. FAMES were analyzed in a Hewlett Packard 6890 series GC with split injection of 1:20, donated with Hewlett Packard 7673 auto-injector, Flame Ionization Detector (FID) and Chrompack CP-Sil 88 column (50 m x 0.25 mm ID, 0.2 µm film thickness) (Chrompack, Middelburg, The Netherlands). The column was operated isothermally at 177 °C. The injector and detector temperatures were 250 and 250 °C, respectively. He was used as carrier gas. FAMES were identified by using Standard FAMES (47885-U, Supleco, Bellafonte, PA) and were quantified according to their percentage area.

Minerals were determined directly in the ash solution (dry ashing at 550°C) by atomic absorption spectrometry (ATI Unicam-929). All reagents and samples were prepared in double distilled water. Standard mineral solutions were freshly prepared from 1000 ppm stock solutions and a linear calibration curve was used.

Chromatographic analyses for tocopherols were carried out using an Thermofinnigan HPLC system that consisted of an P4000 quaternary pump, AS3000 autosampler, SCM1000 degasser and UV6000 photodiode array detector. The method described by AOCS (Official Method No: Ce 8-89) was used for HPLC, with slight modifications (17). The extracted walnut oil (1 g) was diluted with HPLC grade *n*-hexane. Diluted oil was filtered through a syringe filter (0.45 µm polytetrafluoroethylene) and analyzed by HPLC. Separation of tocopherols was carried out using a Phenomenex normal-phase silica column (250 mm x 4.6 mm ID, particle size of 5 mm). The mobile phase was a mixture of *n*-hexane and isopropanol (99:1, v/v). Elution was performed at a solvent flow rate of 1 mL/min with an isocratic program. Detection was made at 295 nm and column oven temperature was 30 °C. The compounds appearing in chromatograms were identified on retention times and spectral data by comparison with standards (α -, β -, γ - and δ -tocopherol, Sigma-Aldrich Co.). Total tocopherol

content was calculated in walnuts as sum of the tocopherol isomers. All the chemical analyses were performed in duplicate.

Statistical Analysis

Data from 5 replications for pomologic parameters and data from 2 replications for chemical analysis were analyzed by two-way analysis of variance using SPSS 20.0 for Windows program. Significance level was established at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Fruit Characteristics

Nut weight, kernel weight, kernel ratio, nut length, suture, nut diameter, shell thickness, shell roughness, kernel colour and shell colour of 5 walnut genotypes from 5 region of Van Lake are given in Table 1. Different genotypes from each region showed different fruit characteristics. The average nut weight and kernel ratios of 5 walnut genotypes from Adilcevaz, Ahlat, Edremit, Çatak and Hakkari were 10.2, 9.8, 10.0, 8.8, 9.6 g and 45.7, 45.0, 42.2, 43.1 and 38.4%, respectively. Shell roughness, kernel colour and shell colour of walnut genotypes from Ahlat and Çatak were easy, light and light-tawny. The pomological parameters of ripe fruits from different regions of Van Lake did not show significant ($P > 0.05$) difference (except nut length). Pomologic properties of samples tested in this study showed good correlation with data previously reported for the walnut genotypes grown in Turkey (15, 18).

Chemical Properties

Oil Content

The changes in oil contents and fatty acid compositions of walnuts harvested from 5 different regions in Van Lake during maturation are given in Table 2. The oil contents of samples considerably increased during maturation. The oil contents of walnuts harvested from Adilcevaz, Ahlat, Edremit, Çatak and Hakkari regions significantly increased from 8.2 to 69.6, 3.2 to 69.6, 8.9 to 65.7, 6.1 to 70.7 and 6.2 to 70.1%, respectively during 1st (initial) and 5th (final) sampling intervals ($P < 0.05$). However, the difference among oil contents of samples from different regions found to be insignificant ($P > 0.05$). Walnuts from Edremit

Table 1. Pomologic properties of walnut genotypes harvested from the Van Lake province (n=5)

| Pomologic Properties | Regions of Van Lake | | | | |
|----------------------|---------------------|----------|----------|----------|----------|
| | Adilcevaz | Ahlat | Edremit | Çatak | Hakkari |
| Nut Weight (g) | 10.2±2.1 | 9.8±1.2 | 10.0±1.2 | 8.8±1.1 | 9.6±2.4 |
| Kernel Weight (g) | 4.7±1.3 | 4.4±0.5 | 4.2±0.7 | 3.8±0.5 | 3.7±1.3 |
| Kernel Ratio (%) | 45.7±8.6 | 45.0±4.6 | 42.2±9.4 | 43.1±2.5 | 38.4±6.3 |
| Nut Length (mm) | 35.0±2.2 | 38.0±4.2 | 35.9±2.2 | 31.2±2.7 | 32.6±3.6 |
| Suture (mm) | 29.5±4.4 | 29.8±0.7 | 29.9±2.2 | 28.1±1.5 | 30.4±2.3 |
| Diameter (mm) | 31.5±2.1 | 29.5±1.0 | 30.7±2.8 | 29.7±1.6 | 30.5±1.8 |
| Shell Thickness (mm) | 1.4±0.4 | 1.5±0.1 | 1.9±0.5 | 1.4±0.2 | 1.8±0.4 |
| Shell Roughness | E-M | E | H | E | M-H |
| Kernel Colour | T | L | T-D | L | L-T |
| Shell Colour | T | L-T | L | L-T | L-D |

Means± Standard Deviation

D: Dark, E: Easy, H: Hard, L: Light, M: Medium, T: Tawny.

(65.7%) showed the lowest and those from Çatak had the highest (70.7%) oil contents. Koyuncu et al. (19) reported that the oil contents of Yalova-1 and Yalova 2 genotypes regularly increased during ripening and reached to 65.9 and 65.5%, respectively. The oil contents of samples harvested from Ahlat, Hakkari and Çatak were higher than those of Yalova-1 and Yalova-2. The oil contents

of different walnut varieties (Yalova-1, Yalova-3, Şebın, Bilecik and Kaman-5) grown in Turkey, harvested in 2004 and 2005 ranged from 61.2 to 72.6 % (4). The oil contents of Combe Persian and Lake Persian walnuts reported by Li et al. (20) were 59 and 61%, respectively.

Table 2. Fatty acid composition and total tocopherol contents of walnut samples collected from Van Lake province (n=2)

| Region | Harvesting date | Total Tocopherol ¹ | Oil (%) | Fatty acid methyl esters (%) | | | | | |
|-----------|-------------------------|-------------------------------|----------|------------------------------|---------|-----------|----------|----------|----------|
| | | | | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 | C18:3 | SFA/UFA |
| Adilcevaz | July 1 st | 14.2±0.2 | 8.2±0.1 | 9.6±0.1 | 3.6±0.1 | 14.1±0.1 | 63.3±0.1 | 9.2±0.1 | 0.15±0.0 |
| | July 15 th | 19.2±0.2 | 14.5±0.4 | 8.1±0.1 | 2.2±0.0 | 15.2±0.1 | 64.2±0.3 | 9.7±0.2 | 0.12±0.0 |
| | August 3 rd | 49.7±0.6 | 42.2±0.3 | 6.9±0.1 | 1.9±0.1 | 25.0±0.1 | 60.1±0.1 | 7.2±0.1 | 0.10±0.0 |
| | August 17 th | 102.7±3.1 | 53.0±1.1 | 5.2±0.1 | 1.1±0.1 | 28.7±0.2 | 55.8±0.2 | 9.8±0.1 | 0.07±0.0 |
| | Sep. 25 th | 129.5±4.0 | 69.6±2.0 | 4.3±0.1 | 1.0±0.0 | 29.2±0.2 | 55.8±0.1 | 9.9±0.1 | 0.06±0.0 |
| Ahlat | July 1 st | 8.3±0.1 | 3.2±0.0 | 9.8±0.1 | 3.8±0.1 | 16.8±0.1 | 56.8±0.2 | 12.3±0.1 | 0.16±0.0 |
| | July 15 th | 14.2±0.3 | 12.4±0.2 | 7.5±0.1 | 2.6±0.1 | 18.3±0.1 | 60.0±0.2 | 12.4±0.1 | 0.11±0.0 |
| | August 3 rd | 51.5±0.5 | 40.4±1.6 | 6.6±0.1 | 1.2±0.1 | 20.2±0.2 | 60.3±0.2 | 10.5±0.1 | 0.09±0.0 |
| | August 17 th | 109.8±4.1 | 56.0±2.5 | 6.3±0.1 | 1.0±0.0 | 25.2±0.1 | 55.6±0.2 | 12.0±0.0 | 0.08±0.0 |
| | Sep. 25 th | 130.2±5.0 | 69.6±2.4 | 5.1±0.1 | 1.0±0.0 | 29.8±0.1 | 52.0±0.3 | 12.7±0.2 | 0.07±0.0 |
| Edremit | July 1 st | 18.5±0.8 | 8.9±0.3 | 8.1±0.1 | 3.9±0.1 | 18.5±0.0 | 60.1±0.2 | 9.1±0.1 | 0.14±0.0 |
| | July 15 th | 28.4±0.4 | 15.2±0.5 | 8.0±0.1 | 2.8±0.1 | 20.1±0.1 | 58.7±0.2 | 9.8±0.1 | 0.12±0.0 |
| | August 3 rd | 56.4±0.5 | 41.2±0.7 | 6.7±0.1 | 2.8±0.0 | 21.2±0.1 | 59.9±0.2 | 9.8±0.1 | 0.11±0.0 |
| | August 17 th | 84.2±1.6 | 50.2±0.5 | 6.5±0.0 | 2.6±0.1 | 28.0±0.1 | 56.0±0.7 | 8.0±0.1 | 0.10±0.0 |
| | Sep. 25 th | 121.9±2.7 | 65.7±1.4 | 5.9±0.1 | 2.4±0.0 | 29.8±0.0 | 52.9±0.2 | 9.7±0.1 | 0.09±0.0 |
| Çatak | July 1 st | 12.2±0.3 | 6.1±0.1 | 8.7±0.1 | 3.9±0.1 | 11.8±0.1 | 60.0±0.7 | 8.7±0.1 | 0.16±0.0 |
| | July 15 th | 18.6±0.5 | 12.9±0.4 | 7.5±0.1 | 2.9±0.1 | 14.1±0.0 | 63.0±0.2 | 12.5±0.1 | 0.12±0.0 |
| | August 3 rd | 49.9±0.6 | 45.5±0.5 | 5.9±0.1 | 2.0±0.0 | 22.4±0.1 | 58.0±0.1 | 11.6±0.1 | 0.09±0.0 |
| | August 17 th | 96.2±2.0 | 59.0±1.4 | 5.7±0.1 | 1.8±0.0 | 24.2±0.1 | 55.9±0.2 | 10.9±0.0 | 0.08±0.0 |
| | Sep. 25 th | 135.4±4.2 | 70.7±0.9 | 5.7±0.1 | 1.6±0.1 | 24.3±0.1 | 55.5±0.4 | 13.1±0.1 | 0.08±0.0 |
| Hakkari | July 1 st | 12.5±0.4 | 6.2±0.1 | 8.2±0.1 | 4.0±0.0 | 12.08±0.1 | 64.2±0.3 | 11.6±0.1 | 0.14±0.0 |
| | July 15 th | 18.7±0.3 | 11.1±0.1 | 7.5±0.1 | 2.0±0.0 | 14.89±0.1 | 63.7±0.2 | 11.8±0.1 | 0.11±0.0 |
| | August 3 rd | 56.3±0.3 | 48.2±0.5 | 6.7±0.1 | 1.6±0.0 | 18.16±0.1 | 64.7±0.2 | 9.0±0.1 | 0.09±0.0 |
| | August 17 th | 112.8±2.8 | 51.2±0.6 | 5.9±0.1 | 1.7±0.0 | 25.88±0.2 | 56.7±0.3 | 9.7±0.1 | 0.08±0.0 |
| | Sep. 25 th | 133.3±2.0 | 70.1±0.5 | 4.9±0.0 | 1.6±0.1 | 26.92±0.2 | 55.7±0.1 | 11.1±0.0 | 0.07±0.0 |

Means± Standard Deviation

¹ mg/100g oil.

FAME

The FAME profiles of walnut samples during maturation are presented in Table 2. Linoleic acid was the most abundant fatty acid found in walnut oil followed by oleic, linolenic, palmitic and stearic acids. While palmitic, stearic and linoleic acids showed decreasing trend during maturation, oleic acid increased throughout the ripening period. The linolenic acid contents of samples showed irregular change in a narrow range. Samples from Adilcevaz, Hakkari and Çatak showed higher linoleic acid contents than samples from Ahlat and Edremit. Walnuts from Çatak had higher linolenic acid contents (13.1%) followed by those from Ahlat and Hakkari (12.7 and 11.1%, respectively). The linoleic and linolenic acids contents of Yalova-1 and Yalova-4 genotypes were 58.2, 10.8% and 59.0, 10.8%, respectively (15). Doğan et al. (21) noted that the walnut genotypes contained 65.6% oil, 5.8% palmitic acid, 0.2% palmitoleic acid, 2.7% stearic acid, 18.7% oleic acid, 59.9% linoleic acid, 14.2% linolenic acid, 0.3% arachidic acid and 0.2% gadoleic acid. Among fatty acids only linolenic acid showed significant difference in samples obtained from different regions ($P<0.05$). The fatty acid compositions of samples significantly changed during ripening period ($P<0.05$).

The SFA/UFA which represents the total fatty acid composition of each sample as a single data showed decreasing trend throughout the maturation period (Table 2). The SFA/UFA ratios of walnut samples from Adilcevaz, Ahlat, Edremit, Çatak and Hakkari regions during ripening reduced from 0.15 to 0.06, 0.16 to 0.07, 0.14 to 0.09, 0.16 to 0.08 and 0.14 to 0.07, respectively. This shows that the unsaturated fatty acid contents of walnuts increased during ripening. Lower SFA/UFA may be evaluated as higher nutritional content regarding to fatty acid composition of food (22). The linoleic, oleic and linolenic acids contents and SFA/UFA ratios of walnuts from Erzincan (Eastern Turkey) reported by Özrenk et al. (23) varied between 43.2-53.2%, 26.2-38.6%, 8.9-15.1% and 0.08-0.10, respectively. Linoleic acid ranging from 43.2% to 53.2% was the most abundant fatty acid in 15 pomologically selected walnut genotypes grown in Erzincan (Eastern Turkey), followed by oleic and linolenic acids (31.9% and 11.5%, respectively) (23).

Total Tocopherol

Walnut has the highest tocopherol contents among popular seeds and fruits (24). Tocopherols and tocotrienols are fat-soluble antioxidants with vitamin E activity. Vitamin E is mainly consists of four tocopherols (α -, β -, γ - and δ -) and four tocotrienols (α -, β -, γ - and δ -). Vitamin E acts as an important antioxidant against oxidative modification of LDL, which is accepted as an initial event in pathogenesis of atherosclerosis (25). The total tocopherol contents of walnut samples are given in Table 2. The tocopherol contents of walnuts significantly increased during ripening ($P<0.05$). The initial and final tocopherol contents of samples varied between 8.3-18.5 and 121.9-135.4 mg/100 g oil, respectively. Samples from Çatak showed the highest tocopherol content followed by those from Hakkari. There were no significant differences ($P>0.05$) in tocopherol contents of ripe walnut samples harvested from different regions. The total tocopherol contents (α -, γ - and δ -) of walnut reported by Gunstone et al. (24) was 160.8 mg/100 g oil. The range of α -, γ - and δ -tocopherol for 15 promising walnuts noted by Özrenk et al. (23) varied between 1.8-6.8, 32.8-146.4 and 2.3-12.4 mg/kg oil, respectively.

Mineral Contents

The mineral contents of walnut samples showed irregular changes during ripening (Table 3.). The mineral contents of samples varied depending on their genotype, region and harvesting time. K was the most abundant mineral in ripe walnuts followed by Mg, Ca and Na. Minerals showed different trends during ripening. Some minerals increased, some reduced and others varied in a narrow range. In ripe fruits, those from Ahlat had the highest K and Zn contents (319 and 7.9 mg/100 g, respectively) and samples from Adilcevaz showed the highest Mg, Ca and Na contents (173, 143 and 16.9 mg/100 g, respectively). Samples from Adilcevaz showed the highest and those from Edremit had the lowest final Na contents. The Ca contents of walnuts reported by Lavedrine et al. (26) and Çağlarırmak (27) varied between 58-91 and 67-105.5 mg/100 g, respectively.

The Cu contents of ripe samples from Adilcevaz, Ahlat, Edremit, Çatak and Hakkari were 2.3, 2.4, 1.3, 2.1 and 3.2 mg/100 g, respectively. The Cu

contents for walnut reported by Lavedrine et al. (26) and Çağlarırnak (27) ranged between 1.1-1.5 and 0.5-1.3 mg/100 g, respectively. The Fe contents of ripe fruits varied between 2.6 and 8.4 mg/100 g. Walnuts from Ahlat showed highest and those from Adilcevaz had the lowest Fe contents. The Fe contents of walnuts from Adilcevaz, Edremit, Hakkari and Çatak agreed with the results reported by Lavedrine et al. (26) and Çağlarırnak (27). The Mn contents of ripe walnuts ranged between 3.3 and 6.0 mg/100 g. Co and Ni were the least abundant minerals in ripe walnuts varied between 0.1-0.6 and 0.2-0.6 mg/100 g, respectively. Except Cu, Fe and Mg, the other minerals contents of walnut samples from 5 regions of Van Lake were found significantly different ($P<0.05$). The mineral contents of walnut samples showed significant variation ($P<0.05$) during ripening period (except the Na content of samples from Çatak). Factors such as climate

variations, soil type, agricultural practice or others may lead to seasonal variations in walnut composition.

CONCLUSIONS

Turkey is one of the leading countries in walnut production in the world. Walnut is a rich source of essential fatty acids and tocopherols. The data obtained in this study showed that the tested walnut genotypes have comparable properties to nationally and internationally selected kinds. Walnut genotypes with superior pomologic properties and compositions may be valuable for future nutritional breeding efforts.

Acknowledgment

The authors wish to thank The Yüzüncü Yıl University Research Fund (Project No: 2003-ZF-YL013) for the financial supports.

Table 3. Mineral compositions of walnut samples collected from Van Lake province (n=2)

| Regions | Harvesting date | Minerals (mg/100g) | | | | |
|-----------|-----------------------|--------------------|---------|---------|----------|------------|
| | | Ca | Co | Cu | Fe | K |
| Adilcevaz | July 1 st | 144.6±2.0 | 0.7±0.0 | 3.0±0.1 | 10.1±0.2 | 238.3±10.3 |
| | July 15 th | 136.3±1.4 | 0.7±0.1 | 3.6±0.0 | 11.7±0.4 | 283.8±16.0 |
| | Aug. 3 rd | 149.8±6.1 | 0.6±0.0 | 4.4±0.1 | 6.8±0.2 | 179.4±8.8 |
| | Aug. 17 th | 130.4±5.5 | 0.3±0.0 | 3.0±0.0 | 7.5±0.5 | 204.3±6.4 |
| | Sep. 25 th | 142.9±6.2 | 0.2±0.0 | 2.3±0.0 | 2.6±0.1 | 288.8±4.8 |
| Ahlat | July 1 st | 91.2±2.7 | Tr | 4.9±0.1 | 7.8±0.1 | 255.9±8.1 |
| | July 15 th | 93.3±4.8 | Tr | 5.7±0.0 | 11.9±0.2 | 242.8±1.0 |
| | Aug. 3 rd | 115.8±3.4 | 0.2±0.0 | 4.0±0.1 | 9.1±0.4 | 202.4±5.9 |
| | Aug. 17 th | 118.6±2.3 | 0.2±0.0 | 3.4±0.0 | 24.5±1.3 | 240.5±6.5 |
| | Sep. 25 th | 134.4±5.4 | 0.6±0.1 | 2.4±0.1 | 8.4±0.9 | 319.4±5.1 |
| Edremit | July 1 st | 141.3±7.1 | 0.2±0.0 | 5.6±0.1 | 19.4±0.9 | 198.2±7.6 |
| | July 15 th | 162.3±3.8 | 0.3±0.0 | 5.3±0.1 | 20.4±0.3 | 207.7±3.0 |
| | Aug. 3 rd | 150.8±5.7 | 0.3±0.0 | 2.5±0.1 | 11.3±0.8 | 240.3±4.0 |
| | Aug. 17 th | 162.4±5.5 | 0.1±0.0 | 2.7±0.1 | 8.5±0.3 | 401.4±17.7 |
| | Sep. 25 th | 115.9±5.2 | 0.3±0.0 | 1.3±0.1 | 3.9±0.0 | 306.6±5.8 |
| Çatak | July 1 st | 138.5±4.2 | 0.5±0.0 | 5.4±0.3 | 12.6±0.5 | 103.9±3.0 |
| | July 15 th | 144.8±7.3 | 0.5±0.1 | 4.8±0.2 | 10.7±0.8 | 126.4±6.9 |
| | Aug. 3 rd | 146.9±6.7 | 0.6±0.1 | 4.5±0.4 | 10.4±0.3 | 211.4±10.8 |
| | Aug. 17 th | 82.8±5.0 | 0.2±0.0 | 3.8±0.4 | 8.8±0.2 | 234.6±6.8 |
| | Sep. 25 th | 101.0±5.5 | 0.3±0.0 | 2.1±0.0 | 4.2±0.3 | 251.4±4.0 |
| Hakkari | July 1 st | 138.5±5.5 | 0.4±0.0 | 4.4±0.1 | 12.6±0.6 | 363.5±19.7 |
| | July 15 th | 142.4±7.8 | 0.3±0.0 | 5.0±0.5 | 10.9±0.3 | 396.3±25.8 |
| | Aug. 3 rd | 110.5±6.9 | 0.3±0.0 | 5.8±0.1 | 6.0±0.2 | 398.5±17.3 |
| | Aug. 17 th | 101.5±2.3 | 0.4±0.0 | 3.6±0.1 | 3.8±0.1 | 262.3±18.1 |
| | Sep. 25 th | 130.4±3.7 | 0.1±0.0 | 3.2±0.2 | 5.8±0.1 | 282.4±4.1 |

Means± Standard Deviation

Tr: Trace.

Table 3 Continued

| Regions | Harvesting date | Minerals (mg/100g) | | | | |
|-----------|-----------------------|--------------------|---------|----------|---------|---------|
| | | Mg | Mn | Na | Ni | Zn |
| Adilcevaz | July 1 st | 41.3±0.9 | 2.4±0.1 | 23.9±0.9 | 0.9±0.0 | 2.0±0.0 |
| | July 15 th | 63.2±0.8 | 3.9±0.1 | 26.6±0.6 | 0.9±0.0 | 3.0±0.1 |
| | Aug. 3 rd | 126.8±1.7 | 4.4±0.1 | 29.4±0.7 | 0.7±0.0 | 5.6±0.1 |
| | Aug. 17 th | 175.8±1.8 | 3.8±0.0 | 37.7±0.5 | 0.4±0.0 | 5.1±0.1 |
| | Sep. 25 th | 173.1±0.8 | 3.3±0.1 | 16.9±0.1 | 0.5±0.0 | 4.8±0.0 |
| Ahlat | July 1 st | 70.9±3.8 | 4.1±0.1 | 10.0±0.1 | 0.1±0.0 | 3.1±0.1 |
| | July 15 th | 90.3±4.1 | 3.6±0.2 | 8.8±0.4 | 0.2±0.0 | 3.4±0.0 |
| | Aug. 3 rd | 130.8±4.5 | 3.8±0.1 | 9.2±0.3 | 0.2±0.0 | 4.5±0.1 |
| | Aug. 17 th | 173.2±4.2 | 5.1±0.2 | 9.8±0.8 | 0.9±0.0 | 7.0±0.2 |
| | Sep. 25 th | 143.8±5.0 | 3.5±0.1 | 8.7±0.3 | 0.2±0.0 | 7.9±0.3 |
| Edremit | July 1 st | 166.4±4.5 | 2.5±0.1 | 8.1±0.3 | 0.4±0.0 | 4.7±0.2 |
| | July 15 th | 178.2±3.3 | 4.5±0.1 | 7.6±0.1 | 0.4±0.0 | 5.8±0.1 |
| | Aug. 3 rd | 158.7±2.1 | 5.5±0.2 | 7.3±0.3 | 1.0±0.1 | 7.3±0.4 |
| | Aug. 17 th | 123.6±5.1 | 7.4±0.5 | 8.1±0.4 | 0.9±0.1 | 6.3±0.5 |
| | Sep. 25 th | 118.3±1.1 | 4.1±0.2 | 5.4±0.2 | 0.4±0.1 | 4.7±0.3 |
| Çatak | July 1 st | 96.6±5.8 | 5.6±0.2 | 9.2±0.6 | 0.7±0.1 | 5.2±0.3 |
| | July 15 th | 123.2±6.2 | 5.9±0.2 | 8.9±0.5 | 0.7±0.0 | 6.5±0.2 |
| | Aug. 3 rd | 136.4±6.8 | 7.5±0.4 | 8.6±0.3 | 0.8±0.0 | 6.5±0.3 |
| | Aug. 17 th | 124.5±7.1 | 8.7±0.4 | 8.0±0.2 | 0.8±0.0 | 6.4±0.1 |
| | Sep. 25 th | 117.5±3.7 | 6.0±0.5 | 8.4±0.1 | 0.4±0.1 | 5.9±0.1 |
| Hakkari | July 1 st | 134.5±9.5 | 4.3±0.3 | 20.0±1.4 | 0.2±0.0 | 2.3±0.1 |
| | July 15 th | 135.5±5.7 | 4.6±0.2 | 17.7±0.6 | 0.6±0.1 | 3.0±0.1 |
| | Aug. 3 rd | 190.2±8.9 | 5.3±0.3 | 18.2±0.3 | 0.5±0.0 | 3.2±0.1 |
| | Aug. 17 th | 179.4±11.2 | 7.0±0.3 | 11.5±0.1 | 0.8±0.1 | 2.8±0.1 |
| | Sep. 25 th | 115.3±5.1 | 4.2±0.2 | 14.2±0.1 | 0.6±0.0 | 5.2±0.2 |

Means± Standard Deviation

Tr: Trace.

REFERENCES

1. FAOSTAT. 2016. Food and Agriculture Organization. <http://faostat3.fao.org/> (Accessed 30 May 2016).

2. Davis PH. 1982. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 7. University of Edinburg, England.

3. Beyhan OE, Kaya I, Şen SM, Doğan M. 1995. Fatty acid composition of walnut (*Juglans regia* L.) types selected in Darende. *Tur J Agri Forestry*, 19, 299-302.

4. Bakkalbasi E, Yılmaz ÖM, Javidipour I, Artık N. 2012. Effects of packaging materials, storage conditions and variety on oxidative stability of shelled walnuts. *LWT-Food Sci Technol*, 46, 203-209.

5. Iso H, Sato S, Umemura U, Kudo M, Koike K, Kitamura A, Imano H, Okamura T, Naito Y, Shimamoto T. 2002. Linoleic acid, other fatty acids, and the risk of stroke. *Stroke*, 33, 2086-2093.

6. Jensen PN, Sorensen G, Brockhoff P, Bertelsen G. 2003. Investigation of packaging systems for shelled walnuts based on oxygen absorbers. *J Agri Food Chem* 51, 4941-4947.

7. Kornsteiner M, Wagner KH, Elmadfa I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chem*, 98, 381-387.

8. Savage GP, Dutta PC, McNeil DL. 1999. Fatty acid and tocopherol contents and oxidative stability of walnut oils. *J Am Oil Chem Soc*, 76(9), 1059-1063.

9. Bakkalbaşı E, Yılmaz ÖM, Poyrazoğlu ES, Artık N. 2014. Tocopherol contents of walnut varieties grown in Turkey and the effect of storage on tocopherol content. *J Food Proc Pres*, 38(1), 518-526.

10. Vaidya B, Eun JB. 2013. Effect of roasting on oxidative and tocopherol stability of walnut oil during storage in the dark. *Eur J Lipid Sci Technol*, 115, 348-355.

11. Li D, Saldeen T, Mehta JL. 1999. γ -Tocopherol decreases Ox-LDL-mediated activation of nuclear factor-KB and apoptosis in human coronary artery endothelial cells. *Biochem Biophys Res Comm*, 259, 157-161.

12. Jiang Q, Christen S, Shigenaga MK, Ames BN. 2001. γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am J Clin Nutr*, 74, 714-722.
13. Cosmulescu S, Botu M, Trandafir I. 2010. Mineral composition and physical characteristics of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars originating in Romania. *Selçuk Tar Gıda Bil Der*, 24(4), 33-37.
14. Koyuncu F, Koyuncu MA, Erdal İ, Yaviç A. 2002. Chemical composition of fruits of some walnut (*Juglans regia* L.) selections. *GIDA*, 27(4), 247-251.
15. Kazankaya A, Koyuncu MA. 2001. Some nut properties of walnut (*Juglan regia* L.) of Edremit country. *ISHS Acta Horticult*, 544, 97-100.
16. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Washington DC, USA.
17. AOCS. 1993. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC (Method No: Ce 8-89). In: *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, Firestone D (chief ed), American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, pp. 1-5.
18. Şen SM, Tekintas FE. 1992. A study on the selection of Adilcevaz walnuts. *Acta Horticult*, 317, 171-174.
19. Koyuncu MA, Yarilgac T, Kazankaya A. 2001. Compositional changes of fatty acids during the development of kernel of Yalova-1 and Yalova-4 walnut cultivars. *ISHS Acta Horticult*, 544, 585-589.
20. Li L, Tsao R, Yang R, Kramer JKG, Hernandez M. 2007. Fatty acid profiles, tocopherol contents, and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* Var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *J Agri Food Chem*, 55(4), 1164-1169.
21. Dogan A, Çelik F, Balta F, Javidipour I, Yavic A. 2010. Analysis of fatty acid profiles of pistachios (*Pistacia vera* L.) and native walnuts (*Juglans regia* L.) from Turkey, *Asian J Chem*, 22(1), 517-521.
22. Javidipour I, Tunçtürk Y. 2007. Effect of using Interesterified and non-interesterified corn and palm oil blends on quality and fatty acid composition of Turkish White cheese. *Int J Food Sci Technol*, 42, 1465-1474.
23. Ozrenk K, Javidipour I, Yarilgac T, Balta F, Gündoğdu M. 2012. Fatty acids, tocopherols, selenium and total carotene of pistachios (*P. vera* L.) from Diyarbakir (Southeastern Turkey) and walnuts (*J. regia* L.) from Erzincan (Eastern Turkey). *Food Sci Technol Int*, 18(1), 55-62.
24. Gunstone FD, Harwood JL, Padley FB. 1995. Occurrence and characteristics of oils and fats. In: *Lipid Handbook*, Gunstone FD, Harwood JL, Padley FB (eds), Chapman & Hall, London, England, pp. 47-223.
25. Noguchi N, Niki E. 1998. Dynamics of vitamin E action against LDL oxidation. *Free Radical Res*, 28(6), 561-572.
26. Lavedrine F, Ravel A, Villet A, Ducros V, Alary J. 2000. Mineral composition of two walnut cultivars originating in France and California. *Food Chem*, 68, 347-351.
27. Çağlarırmak N. 2003. Biochemical and physical properties of some walnut genotypes (*Juglan regia* L.) of the East Black Sea region of Turkey. *Nahrung/Food*, 41(1), 28-32.

MINERAL ELEMENT and NUTRIENT COMPOSITION of TWO NEWLY-INTRODUCED FISH SPECIES (*Dentex dentex* and *Seriola dumerili*) in RECIRCULATING AQUACULTURE SYSTEM (RAS)

İlknur Meriç*

Ankara University Faculty of Agriculture
Department of Fisheries and Aquaculture Engineering, Diskapi, Ankara

Received / Geliş Tarihi: 11.09.2016

Received in revised form / Düzeltılarak Geliş Tarihi 10 .10.2016

Accepted / Kabul Tarihi 16.10.2016

Abstract

As the world's fastest on-growing sector in food production, aquaculture has remarkable priority and needs technological improvements and new candidate fish species to overcome some limitation factors. Considering these issues, this study based on determining the flesh quality in terms of nutrient and mineral element composition of two potential fish species, common dentex (*Dentex dentex*) and greater amberjack (*Seriola dumerili*), in recirculation aquaculture system (RAS). On the nutrient basis, the dry matter content of 28.82% and fillet yield with a value of 53.28% of *Dentex dentex* were found significantly higher than ($P<0.05$) *Seriola dumerili*. Crude protein and lipid values demonstrated slight but insignificant differences between the species. Among the macro elements of K and Mg and micro elements of Cr, Mn and Ni were noticeably higher in common dentex than greater amberjack, but Zn level was present almost double amount in amberjack ($P<0.05$).

Keywords: *Dentex dentex*, *Seriola dumerili*, minerals, Recirculating aquaculture systems (RAS), ICP-AES

KAPALI DEVRE SU ÜRÜNLERİ SİSTEMİNDE (RAS) YETİŞTİRİLEN İKİ YENİ BALIK TÜRÜNE (*Dentex dentex* ve *Seriola dumerili*) AİT MİNERAL MADDE ve BESİN KOMPOZİSYONU

Özet

Dünya gıda üretimi içinde en hızlı büyüyen sektör olan su ürünleri yetiştiriciliği, dikkate değer bir önceliğe sahiptir. Yetiştiriciliği etkileyen bazı kısıtlayıcı faktörlerin aşılabilmesi için sektörün teknolojik gelişmelere ve yeni aday türlere ihtiyacı vardır. Bunlar gözönünde bulundurulduğunda, bu çalışmanın temelini kapalı devre su ürünleri sisteminde (RAS) yetiştirilen ve iki potansiyel tür olan sinagrit (*Dentex dentex*) ve sarıkuyruk (*Seriola dumerili*) balığına ait et kalitesinin, besin ve mineral madde kompozisyonu yönünden incelenmesi oluşturmaktadır. Besin kompozisyonuna göre, *Dentex dentex* türüne ait kuru madde içeriği %28.82, fileto verimi ise %53.28'dir, *Seriola dumerili* ile karşılaştırıldığında bu değerler önemli ölçüde yüksek ($P<0.05$) bulunmuştur. Ham protein ve lipit değerleri, türler arasında önemsiz küçük değişimler göstermiştir. Macro elementlerden K ve Mg, mikro elementlerden ise Cr, Mn ve Ni, sinagrit balığında yüksek iken, sarıkuyruk balığında iz elementlerden Zn seviyesinin yüksek olduğu ($P<0.05$) görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Dentex dentex*, *Seriola dumerili*, mineraller, kapalı devre yetiştiricilik sistemleri (RAS), ICP-AES

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ meric@agri.ankara.edu.tr,

© (+90) 312 596 1505,

☎ (+90) 312 318 5298

INTRODUCTION

Due to the rapid expansion of the aquaculture industry in an effort to meet seafood consumption, the use of more improved aquaculture systems is a dictate of environmental sustainability, when we consider the declining water resources in east Mediterranean region. In this frame, recirculating aquaculture systems (RASs), is a land based systems having biological and mechanical treatments (1, 2), tenders the advantages of reduced water demands (3), improved opportunities for waste management and nutrient recycling by reconditioning of water (4), better food conversions (5), disease management (6, 7) and biological pollution control (8).

In view of depleting wild stocks and for the diversification of aquaculture as alternatives to sea bream, *Sparus aurata* and sea bass, *Dicentrarchus labrax*, which are the dominant farmed fish species, common dentex (*Dentex dentex*) and greater amberjack (*Seriola dumerili*) could be a suitable candidate species for RASs. The newly introduced fish species as common sea bream (*Pagrus pagrus*), shi drum (*Umbrina cirrosa*), sharpnose sea bream (*Puntazzo puntazzo*) and blue spotted bream (*Dentex gibbosus*) with total production of 228 tons have been gained in place of annual aquaculture production of Turkey which was about 235.133 tons in 2014 reported by TÜİK (9) and as well 113 tons of this production were obtained from common dentex. This species has been cultured in Greece, Italy, Spain and Turkey and has the same market price with sea bass and sea bream (10).

Notwithstanding, through these potential species, the adaption to culture environment of greater amberjack has not been actualised yet in a commercial scale, it is based on capture of wild juveniles that are fattened to marketable size (11). A few attempts were carried out in private hatcheries and some institutes as stated in Öksüz (12), however, Greece, Malta and Japan reared larvae since 1987 (13). The culture of new finfish species like *Seriola lalandi*, a Carangid like amberjack, in RASs has been investigated and satisfactory growth performance and acceptable feed conversion were procured (14). Researchs asserted that this species has excellent potential for RASs even in fluctuating water temperature (15).

In this sense, the aim of this research was, considering the limited researches which comprised notably one fish species, to reveal the flesh quality in terms of nutrient and mineral composition of two candidate fish species focusing on RAS.

MATERIALS AND METHODS

Fish material and sampling procedure

As a fish material, the common dentex and greater amberjack were obtained from a commercial aquaculture firm, İzmir, Turkey. Fish samples were transferred to the laboratory in polystyrene boxes filled with crushed ice and ice batteries, immediately. Fish samples were gutted, washed under running tap water, filleted manually with skin-on and homogenized. The total number of 20 fish (10 for each species) were used in the research and the whole body weights of dentex and amberjack were 148.10 ± 5.55 g, 231.90 ± 5.88 g and the total lengths were 19.24 ± 1.73 cm and 29.01 ± 2.25 cm, respectively.

Recirculating aquaculture system (RAS)

Fish were held in RAS for a period of one year and RAS comprised 13 tanks with a volume of 130 tons for each tank, a drum filter of 100 μ and equipped with ozone sterilization and a protein skimmer system. The mean values of water temperature, pH and dissolved oxygen in the RAS were 26°C, 7 and 11.5 mg/kg, respectively. Fish were fed with commercial diet (AquaK) to ad libitum twice a day. The nutrient composition of the commercial diet was as follows; 46% protein, 18% lipid, 10% moisture, 9.3% ash and 2.5% fiber, and data were obtained from the R&D department of the feed producer company.

Fillet yield

Ten biological replicates representing of each fish species were filleted with skin-on and fillet yield was computed as a percentage of the edible flesh weight to the whole body weight (16).

Nutrient composition analysis

The pooled triplicate samples of dentex and amberjack fillets were analysed for dry matter, crude ash, crude protein and crude lipid according to the standard procedures following AOAC (17).

Briefly, dry matter was computed after drying the samples at 105°C for 24 h, crude ash after combustion at 550°C for 4 h in a muffle furnace (Nüve MF110, Turkey), crude protein (N x 6.25) by Kjeldahl distillation (Kjeltec System, Tecator, Hoganas, Sweden) and crude lipid after extraction with petroleum ether by Bligh and Dyer method (18).

Determination of macro and micro elements

The mineral element composition of edible tissues in dentex and amberjack were analysed by the method of Skujins (19) from ten biological replicates for each species. Approximately 1 g of sample was subjected to wet mineralisation using HCl, H₂SO₄, HNO₃ and the macro and micro element contents were determined by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES; Varian-Vista). The working conditions of ICP-AES were as follows: RF power, 0.7-1.5 kW (1.2-1.3 kW for axial); plasma gas flow rate (argon), 10.5-15 l/min (radial) and 15 l/min (axial); auxiliary gas flow rate (argon), 1.5 l/min; viewing height, 5-12 mm; copy and reading time, 1-5 s (Max. 60 s); and copy time, 3 s (max. 100 s).

Statistics

Data presented here are means±standard deviation (SD) of three pooled replicates for nutrient analysis and ten biological replicates for fillet yield and mineral element analysis. Independent samples T-Test, a confidence level of 95%, was applied using statistical software SPSS 11.5 (20) to verify the presence of significant differences among the groups.

RESULTS AND DISCUSSION

The nutrient composition was not significantly differed ($P>0.05$) between the species (Table 1), except dentex had higher dry matter content

with a value of 28.82%, whereas amberjack had 21.60% ($P<0.05$), meanwhile crude protein and crude lipid contents tended to be high in dentex compared with amberjack, however these differences were found insignificant ($P>0.05$). Taking into account the previous studies that compared the wild and cultured dentex and amberjack (11, 12, 21, 22), it is possible to remark that cultured fish always have more lipid and less moisture content than the wild ones and the variations in the nutrient composition can be interpreted with the influencing factors; dietary regime, age, size or even sex also stated by Fagbenro *et al.* (23)

On the basis of these nutrient data, we can conclude that dentex can exploit the feed more efficiently compare to amberjack in a RAS. This view was also confirmed by Perez-Jimenez *et al.* (24) in a feeding trial of dentex with different macronutrient combinations.

The fillet yield values of dentex and amberjack were 53.28% and 48.56%, respectively. The results regarding to fillet yield were presented in Table 1. The remarkable difference regarding to fillet yield between two species was found statistically significant ($P<0.05$). According to Öksüz (12), due to the over feeding or feeding the fish with lipid-rich diets lead to fat deposit in peritoneal cavity, meanwhile they have reduced locomotor activity in a culture condition comparison to wild (25), probably, the low fillet yield values of two species can be clarified as these opinions.

The role of minerals in human metabolism notably, essential ones have a indispensable role in human body. The main functions of minerals are being part of skeletal structure, maintenance of colloidal system and regulation of acid-base equilibrium (21). In the case of deficiency inclined to improper enzyme-mediated metabolic functions and results in organ malfunctions; as it reduces

Table 1. The nutrient composition and fillet yield of common dentex (*Dentex dentex*) and greater amberjack (*Seriola dumerili*) (Mean ± SD) (n=3)*

| Nutrient composition (%) | Species | |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | <i>Dentex dentex</i> | <i>Seriola dumerili</i> |
| Dry matter | 28.82±0.69 ^a | 21.60±0.92 ^b |
| Crude ash | 2.07±0.70 | 2.13±0.16 |
| Crude protein | 13.88±2.74 | 10.85±1.80 |
| Crude lipid | 5.78±3.85 | 3.84±0.37 |
| Fillet yield | 53.28±6.79 ^a | 48.56±9.40 ^b |

*Means in the same row with different bold superscripts significantly differ ($P\leq 0.05$)

productivity and causes chronic diseases, such as inability of blood to clot, osteoporosis, anemia and ultimately to death (26, 27).

The macro and micro element contents were presented in Table 2 for dentex and amberjack. The lowest and the highest range of Recommended Dietary Allowances (RDAs) or Adequate Intakes (AIs) of these elements in human nutrition (28) were also given in the same table in terms of both males and females. As macro elements, Ca, K, Mg and P levels were noticed to be higher for dentex following the same trend in nutrient levels and fillet yield. Nevertheless, the differences found in terms of Ca and P levels were not significant ($P>0.05$), while K and Mg levels were differed significantly ($P<0.05$) between the species. Öksüz (12) reported that macro element values of amberjack were much greater in captured wild fish compare to those that cultured and as a macro element, Ca was the most ample one for this study in both species and followed by phosphorous. According to the literature, the recommended daily intake of Ca is about 1000-1300 mg per day (Table 2). Our findings demonstrated that like P and K, which present remarkable amounts in seafood, Ca, those found in fish can be underscored as essential for human nutrition after dairy products. Depending on the seasonal and biological differences as sex, age and species and other environmental conditions,

some variations could be reveal in the mineral contents even in the same species of fish (10) as corroborating this research findings.

Likewise in macro elements, the micro elements such as Cu, Mn, Zn and Se are involved in several metabolic or immunological processes in organisms by activating or inhibiting enzymatic reactions, by competing for binding sites with other elements and metalloproteins, by affecting the permeability of cell membranes or by several other mechanisms (29, 30) in order to maintain the homeostasis (31, 32). So, they have to be taken from several resources as fish in daily diet. Nevertheless, they incline to become detrimental if their concentrations are above the metabolic demand in the tissue (27).

Here, in this study, the levels of micro elements, Cr, Mn, Ni and Zn demonstrated significant differences ($P<0.05$) between dentex and amberjack. Dentex had much more higher values than amberjack. On the other hand, no significant differences were observed for Cd, Cu, Fe and Pb levels. Amberjack had the highest Cu and Pb contents, though those levels were found insignificant ($P>0.05$). Zn is an important trace mineral and this element is second only to iron in its concentration in the body. It is found in cells throughout the body and needed for the body's defensive (immune) system to properly work. It plays a role in cell division, growth, wound

Table 2. The mineral (macro and micro) composition of common dentex (*Dentex dentex*) and greater amberjack (*Seriola dumerili*) (mg/kg wet weight basis) (Mean \pm SD) ($n=10$)* and RDA or AIs levels in nutrition

| Macro elements | Species | | RDAs or AIs (Male and female) |
|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| | <i>Dentex dentex</i> | <i>Seriola dumerili</i> | |
| Ca | 3915.96 \pm 282.14 | 2464.95 \pm 104.36 | 1000-1300 (mg/day)*** |
| K | 3289.56 \pm 679.68 ^a | 2464.93 \pm 733.90 ^b | 4.5-4.7 (g/day)*** |
| Mg | 317.38 \pm 74.93 ^a | 233.25 \pm 40.50 ^b | 240-420 (mg/day)** |
| Na | 1158.28 \pm 367.31 | 1235.98 \pm 278.71 | 1.2-1.5 (g/day)*** |
| P | 3548.19 \pm 592.54 | 2481.45 \pm 521.83 | 700-1250 (mg/day)** |
| Micro elements | | | |
| Cd | 0.04 \pm 0.02 | 0.03 \pm 0.02 | 0.07 (mg/day)**** |
| Cu | 0.57 \pm 0.47 | 1.43 \pm 2.78 | 700-900 (μ g/day)** |
| Cr | 0.30 \pm 0.17 ^a | 0.14 \pm 0.12 ^b | 20-35 (μ g/day)*** |
| Fe | 12.14 \pm 5.40 | 10.35 \pm 3.53 | 8-18 (mg/day)** |
| Mn | 1.52 \pm 0.58 ^a | 0.93 \pm 0.13 ^b | 1.6-2.3 (mg/day)*** |
| Ni | 0.74 \pm 0.47 ^a | 0.39 \pm 0.17 ^b | - |
| Pb | 0.55 \pm 0.19 | 0.72 \pm 0.37 | 0.24 (mg/day)**** |
| Zn | 3.84 \pm 1.23 ^b | 7.69 \pm 3.65 ^a | 8-11 (mg/day)** |

*Means in the same row with different bold superscripts significantly differ ($P\leq 0.05$)

**RDAs: Recommended Dietary Allowances (28)

***AIs: Adequate Intakes (28)

****Daily intake levels (12)

healing and the breakdown of carbohydrates (33). The Zn levels of 3.84 and 7.69 mg/kg were much more higher comparison to other trace elements in dentex and amberjack respectively, but still in the acceptable limits of 8-11 mg per day (28). However, the Pb contents were over the legislative limits for both dentex and amberjack.

CONCLUSION

As a consequence, comparison of two fish species that have commercial importance for sustainable aquaculture, in terms of nutrients, macro and micro element compositions, dentex has much more higher flesh quality. On the other hand, considering the limited researchs concerning amberjack, it can be needed more comprehensive further works to reach certain decisions.

Acknowledgements

The author is grateful to Assoc. Prof. Dr. Cemalettin SARIÇOBAN and Serkan ILGAZ for their precious assistance.

REFERENCES

- Martins CIM, Eding EH, Verdegem MCJ, Heinsbroek LTN, Schneider O, Blancheton JP, Roque d'Orbcastel E, Verreth JAJ. 2010. New Developments in Recirculating Aquaculture Systems in Europe: A Perspective on Environmental Sustainability. *Aquacult Engin.* 43: 83-93.
- Zhang SY, Li G, Wu HB, Liu XG, Yao YH, Tao L, Liu H. 2011. An Integrated Recirculating System (RAS) for Land-Based Fish Farming: The Effects on Water Quality and Fish Production. *Aquacult Engin.* 45: 93-102.
- Verdegem MCJ, Bosma RH, Verreth JAJ. 2006. Reducing Water Use For Animal Production Through Aquaculture. *Int J Water Resour Dev.* 22: 101-113.
- Piedrahita RH. 2003. Reducing the Potential Environmental Impact of Tank Aquaculture Effluents Through Intensification and Recirculation. *Aquacult.* 226: 35-44.
- Gutierrez-Wing MT, Malone RF. 2006. Biological Filters in Aquaculture: Trends and Research Directions for Freshwater and Marine Applications. *Aquacult Engin.* 34: 163-171.
- Summerfelt ST, Sharrer MJ, Tsukuda SM, Gearheart M. 2009. Process Requirements For Achieving Full-Flow Disinfection of Recirculating Water Using Ozonation and UV Irradiation. *Aquacult Engin.* 40: 17-27.
- Tal Y, Schreier HJ, Sowers KR, Stubblefield JD, Place AR, Zohar Y. 2009. Environmentally Sustainable Land-Based Marine Aquaculture. *Aquacult.* 286: 28-35.
- Zohar Y, Tal Y, Schreier HJ, Steven C, Stubblefield J, Place A. 2005. Commercially Feasible Urban Recirculated Aquaculture: Addressing the Marine Sector. In: *Urban Aquaculture*, Costa-Pierce B (chief ed), CABI Publishing, Cambridge, UK, pp. 159-171.
- TÜİK. 2016. Su Ürünleri İstatistikleri Veri Tabanı. www.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 14.06.2016).
- Özden Ö, Erkan N. 2008. Comparison of Biochemical Composition of Three Aquacultured Fishes (*Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata*, *Dentex dentex*). *Int J Food Sci Nutr.* 59 (7-8): 545-557.
- Yılmaz E, Şereflişan H. 2011. Offshore Farming of the Mediterranean Amberjack (*Seriola dumerili*) in the Northeastern Mediterranean. *Isr J Aquacult-Bamid.* 63: 1-7.
- Öksüz A. 2012. Comparison of Meat Yield, Flesh Colour, Fatty Acid, and Mineral Composition of Wild and Cultured Mediterranean Amberjack (*Seriola dumerili*, Risso 1810). *J Fish Sci.* 6 (2): 164-175.
- Tachihara K, Ebisu R, Tukashima Y. 1993. Spawning, Eggs, Larvae and Juveniles of the Purplish Amberjack (*Seriola dumerili*). *Nippon Suisan Gakk.* 59 (9): 1479-1788.
- Orellano J, Waller U, Wecker B. 2014. Culture of Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*) in a Marine Recirculating Aquaculture System (RAS) with Artificial Seawater. *Aquacult Engin.* 58: 20-28.
- Abbink W, Garcia AB, Roques JAC, Partridge GJ, Kloet K, Schneider O. 2011. The Effect of Temperature and pH on the Growth and Physiological Response of Juvenile Yellowtail Kingfish *Seriola lalandi* in Recirculating Aquaculture Systems. *Aquacult.* 330-333: 130-135.
- Gülyavuz H, Ünlüsayın M. 1999. *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta, Türkiye, 366 p.

17. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th Edition, Virginia, USA.
18. Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A Rapid Method for Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Physiol.* 37: 911-917.
19. Skujins S. 1998. Handbook for ICP-AES (Varian-Vista). *A Short Guide to Vista Series ICP-AES Operation*. Varian Int. AG., Zug, version 1.0, Switzerland.
20. SPSS Inc. 2003. Statistic Software Package, Chicago, IL, USA.
21. Alasalvar C, Taylor KDA, Zubcov E, Shahidi F, Alexis M. 2002. Differentiation of Cultured and Wild Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*): Total Lipid Content, Fatty Acid and Trace Mineral Composition. *Food Chem.* 79: 145-150.
22. Caklı S, Dincer T, Cadun A, Fırat K, Saka S. 2005. Quality Characteristics of Wild and Cultured Common Dentex (*Dentex dentex*, Linnaeus, 1758). *Arch Lebensmittelhyg.* 56: 97-120.
23. Fagbenro OA, Akinbulumo MO, Adeparusi OE, Raji AA. 2005. Flesh Yield, Waste Yield, Proximate and Mineral Composition of Four Commercial West African Freshwater Food Fishes. *J Anim Vet Advan.* 4(10): 848-851.
24. Pérez-Jiménez A, Hidalgo MC, Morales AE, Arizcun M, Abellán e, Cardenete G. 2009. Growth Performance, Feed Utilization and Body Composition of *Dentex dentex* fed on different Macronutrient Combinations. *Aquacult Res.* 41: 111-119.
25. Rodríguez-Barreto D, Jerez S, Cejas JR, Martín MV, Acosta NG, Bolanos A, Lorenzo A. 2012. Comparative Study of Lipid and Fatty Acid Composition in Different Tissues of Wild and Cultured Female Broodstock of Greater Amberjack (*Seriola dumerili*). *Aquacult.* 360: 1-9.
26. Özden Ö, Erkan N, Ulusoy Ş. 2010. Determination of Mineral Composition in Three Commercial Fish Species (*Solea solea*, *Mullus surmuletus*, and *Merlangius merlangus*). *Environ Monit Assess.* 170: 353-363.
27. Fawole OO, Ogundiran MA, Ayandiran TA, Olagunju OF. 2007. Proximate and Mineral Composition in Some Selected Fresh Water Fishes in Nigeria. *Int J Food Safety.* 9: 52-55.
28. Anon 2004. Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Elements. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academics (<http://www.nap.edu>.)
29. Watanabe T, Kiron V, Satoh S. 1997. Trace Minerals in Fish Nutrition. *Aquacult.* 151: 185-207.
30. Meriç İ. 2013. Evaluation of Sunflower Seed Meal in Feeds for Carp: Antinutritional Effects on Antioxidant Defense System. *J Food Agric Environ* 11(2): 1128-1132.
31. Lopes PA, Pinheiro T, Santos MC, Mathias ML, Collares-Pereira MJ, Viegas-Crespo AM. 2001. Response of Antioxidant Enzymes in Freshwater Fish Poulations (*Leuciscus alburnoides* complex) to Inorganic Pollutants Exposure. *Sci Total Environ.* 280: 153-163.
32. Versieck J, Cornelis R. 1989. Trace Elements in Plasma or Serum. CRC Press, Boca Raton, Florida, 224 p.
33. U.S. National Library of Medicine 2016. Zinc in diet <https://medlineplus.gov/ency/article/002416.htm> (Accessed 08 October 2016).

KONVEKSİYONEL VE DONDURARAK KURUTMA YÖNTEMLERİNİN KARPUZUN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ Asiye Akyıldız*, Süleyman Polat, Erdal Ağçam

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balcalı-Adana

Geliş tarihi / Received: 29.06.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 09.09.2016

Kabul tarihi / Accepted: 18.10.2016

Özet

Bu çalışmada iki farklı kurutma yöntemi (konveksiyonel (70 °C) ve dondurarak kurutma (-66 °C'de 5 mtorr basınçta) ile kurutulan karpuzların fiziksel, kimyasal ve duyu özellikleri karşılaştırılmıştır. Üretim yöntemlerinin kurutulmuş karpuz üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla pH, titrasyon asitliği, renk, toplam kurumadde, su aktivitesi, toplam karotenoid miktarı, likopen, β-karoten, hidroksimetilfurfural (HMF), askorbik asit içeriği ve duyu değerlendirilmesi yapılmıştır. Konveksiyonel kurutulmuş karpuzlarda daha fazla HMF oluşurken dondurularak kurutulanlarda ise likopen içeriğinde daha fazla azalmalar tespit edilmiştir. Dondurularak kurutulan örneklerin ölçülen renk değerlerinden L* ve Hue* değerleri artmış, a* değeri azalmış ve tazelerine göre en çok renk değişimi (E*) dondurularak kurutulmuş örneklerde görülmüştür. Konveksiyonel kurutulmuş örneklerin toplam karotenoid içerikleri tazeye göre daha yüksek (284.43 mg/kg-5.30 kat fazla), askorbik asit içerikleri ise tazelerine göre daha az (9.63 mg/kg-3.38 katı azalma) tespit edilmiştir. Dondurularak kurutulmuş örneklerde ise, askorbik asit değeri tazeye göre daha yüksek (245.13 mg/kg-7.51 katı artış) belirlenmiştir. Kurutulmuş karpuzların duyu değerlendirmesinde renk bakımından konveksiyonel kurutulmuş örnekler yüksek puan alırken, tat bakımından en yüksek beğeniyi dondurularak kurutulan örnekler almıştır.

Anahtar kelimeler: Kurutulmuş karpuz, konveksiyonel ve dondurarak kurutma, likopen ve β-karoten, toplam karotenoid, HMF, askorbik asit

EFFECT OF CONVENTIONAL AND FREEZE DRYING METHODS ON SOME QUALITY PROPERTIES OF WATERMELON

Abstract

In this study, water melons dried with two different methods (conventional (70 °C) and freeze-drying (66 °C-5 mtorr)) were compared by physical, chemical and sensorial properties of them. To determine the effect of drying methods on pH, titration acidity, color, total dry matter, water activity, total carotenoid contents, lycopene, β-carotene, hydroxymethylfurfural (HMF), ascorbic acid and sensorial evolution of dried watermelon samples were carried out. While HMF formation in conventional-dried samples were higher than freeze drying samples, lycopene degradation of freeze-dried samples were higher than conventional dried samples. The color values of L* and Hue* of the freeze-dried samples increased, but a* value decreased. In addition, according to the color values of fresh watermelon sample, the highest color changing (E*) was determined for freeze-dried samples. The total carotenoid contents of conventional-dried samples were determined higher (284.33 mg/kg-higher 5.30 times) than freeze-dried samples. While ascorbic acid contents of the conventional-dried samples were decreasing (9.63 mg/kg-lower 3.38 times), the freeze-dried samples were increasing (245.13 mg/kg- higher 7.51 times) according to the fresh watermelon samples. According to sensorial evaluation of dried watermelon samples, the highest color score obtained for conventional-dried, while the highest taste score obtained for freeze-dried.

Keywords: Dried watermelon, conventional and freeze drying, lycopene and β-carotene, total carotenoid, HMF, ascorbic acid

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ asiye1@cu.edu.tr,

☎ (+90) 322 338 6173,

☎ (+90) 322 338 6614

GİRİŞ

Karpuz kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyasına mensup (*Citrullus vulgaris*) Schrader türüne giren kültür bitkilerinin meyvesidir (1). Karpuzun çekirdekli ve çekirdeksiz çeşitleri vardır. Karpuzlar, çok uzun süreli muhafaza için uygun değildir. İdeal muhafaza koşulları yaklaşık % 90 bağıl nemde 10-15 °C aralığındadır. Meyvenin hasadı takip eden 2-3 hafta içerisinde tüketilmesi gerekir (2).

Karpuz, dünyada 2011 yılında en fazla üretilen ürünler arasında 16. sırada, 2012 ve 2013 yıllarında ise 14. sırada yer almıştır. FAO verilerine göre, 2013 yılında karpuz üretiminde Çin'in yaklaşık 73 milyon ton ile tek başına diğer ülkelerin toplamından daha fazla üretim yaptığı, Türkiye'nin ise karpuz üretiminde yaklaşık 3.9 milyon ton ile 3. sırada yer aldığı bildirilmiştir (3). Karpuz ülkemizde, domatesten sonra en çok üretilen ikinci sebzedir. Karpuz 2012 yılında 4.02 milyon ton ile sebze üretim miktarları içinde % 14.5' lik paya sahipken, 2015 yılında 3.9 milyon ton ile sebze üretim miktarları içinde % 13.3'lik paya sahip olmuştur (4). Ülkemiz, dünya karpuz üretiminde önemli bir paya sahip olmakla beraber karpuzun gıda sanayinde hammadde olarak kullanımı sınırlı kalmıştır. Üretilen karpuzun büyük bir çoğunluğu iç piyasaya sürülmekte ve ihracatı ise çok düşük olduğundan, ihraç edilen ilk 20 ürün içerisinde girememiştir. Bu durum karpuz fiyatlarının üretim maliyetlerinin çok altında satılmasına ve çoğu zaman çiftçilerin ürettiği ürünü tarlada bırakmasına sebep olmaktadır. Bu yüzden karpuz üretimi önceki yıllara göre kıyaslandığında üretimin azalış gösterdiği görülmektedir.

Karpuz, antioksidanlar gibi karotenoidler (likopen ve beta-karoten), fenolik bileşenler, vitaminler (A, B, C ve E) ve belirli aminoasitler (sitrullin) bulunmaktadır (5). Bu maddelerin bazı kanser türleri riski, kalp-damar hastalıkları ve yaşa bağlı dejeneratif patolojilerin azaltılmasında koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir (6-8). Karpuzun likopen içeriği diğer birçok meyve ve sebzeden yüksek bulunduğu ve likopen içeriğinin 23.0-72.0 µg/g (taze ağırlık) olduğu belirtilmiştir. Likopenin gıda renklendirici olarak kullanılmasının yanı sıra, sağlık üzerine birçok olumlu etkisinin bilinmesi nedeniyle son yıllarda araştırmalar likopen içeriği yüksek olan meyve ve sebzelere yönelmiştir.

Bununla birlikte çalışmalar, likopen kaybını en aza indirmek için optimum işleme koşullarının belirlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır (9).

Literatürde karpuzun ozmotik dehidrasyon ve (10) ve karpuz suyunun sprey kurutucu ile kurutulmasıyla (11) ilgili çalışmalar mevcuttur. Kurutma yöntemi ve koşulları ürünün kalite özelliklerini etkilediğinden, seçilecek olan kurutma yöntemi ve koşullarının iyi belirlenmesi gerekmektedir. Karpuz ve ürünlerinin kurutulması sırasında dikkate alınması gereken en önemli kalite kriterlerinden bir tanesi likopen olup, bu madde ısı, ışık ve oksijen varlığında kolayca okside olmaktadır (12, 13).

Dondurularak kurutulmuş ürünlerin tazesine en yakın özelliklere sahip olduğu kabul edilmektedir. Taze örneklerin şekil, görünüm, tat, besin, gözeneklilik, renk, lezzet, doku ve biyolojik aktivitesinin korunması bu tekniği gıda malzemeleri kurutmak için en etkileyici ve uygulanabilir sürecin bir parçası yapmaktadır. Bununla birlikte, geleneksel kurutma yöntemleri ile karşılaştırıldığında dondurarak kurutmada düşük buhar basıncı gerekli olduğundan daha uzun kurutma süresi gerektirir. Ayrıca, dondurarak kurutma işlemi sırasında, bazı bileşiklerin parçalanmasına bağlı olarak antioksidan içeriğinde azalma ihtimali söz konusu olabilir. Ayrıca, dondurarak kurutma işletim maliyeti de yüksektir (14, 15).

Karpuzun raf ömrünü uzatmak için hasat sonrası uygulamalara önem verilmesinin yanı sıra gıda sanayisinde işlenerek değerinin artırılması gerekmektedir. Bu nedenle karpuzun artı değeri yüksek ürünlere işlenmesi için araştırma ve ürün geliştirme çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma ile birlikte Çukurova Bölgesinin değerli bir sebzesi olan karpuzdan, farklı kurutma yöntemleri ile katma değeri yüksek bir ürün elde edilmesi amaçlanmıştır. Karpuzun kurutma sanayinde kullanılabilirliği sorgulanarak üreticiye pratik ve yeni bilgiler kazandırılacağı ve bu bilgilerin sanayiye teşvik edeceği düşünülmektedir. Karpuzun katma değeri yüksek bir ürüne dönüşmesi ile ekonomiye katkı sunulmasının yanı sıra sağlık açısından değerli bu ürünün bol tüketiminin yolu da açılmış olacaktır. Bu amaçla konveksiyonel ve dondurularak kurutma yöntemleri ile kurutulmuş karpuzların bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada materyal olarak Ekim 2014 yılında Çukurova Bölgesinde yetiştirilmiş karpuzlar, piyasadan satın alınarak çalışmada kullanılmıştır. Karpuzlar yıkama işleminden sonra kabukları soyularak dilimlenmiştir. Üçgen şeklinde 1.5 cm kalınlıkta dilimlenen karpuzların çekirdekleri çıkarıldıktan sonra kurutma işlemi uygulanmıştır. Analizler sırasında kullanılan standart maddeler DPPH (1898-66-4), likopen (502-65-8), β-karoten (7235-40-7), askorbik asit (50-81-7), HMF (67-47-0) ve furfural (98-01-1) Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Konveksiyonel kurutma, sıcaklık hassasiyeti ±1 °C olan 700 L hacimli zorlamalı hava akımlı kurutma kabini (KD 200-Nüve, Türkiye) 70 °C'de yaklaşık 11 saatte gerçekleştirilmiştir. Dondurularak kurutma işlemine geçilmeden önce karpuz örnekleri tepsiler üzerinde -30 °C de 24 saat boyunca dondurulmuştur. Dondurulan karpuz örnekleri, ilShin marka (ilShin Lab Co Ltd, South Korea) FD8512 model dondurularak kurutucu içerisinde -66 °C de 5 mtorr basınç altında yaklaşık 62 saat sürede kurutulmuştur. Bu sürenin sonunda kurutulan karpuz örnekleri, nem kapmalarını önlemek için hiç bekletilmeden vakum poşetlere aktarılmış otomatik vakum kapama makinası (DZ-300/2SA, Çin) yardımıyla vakum paketlenme yapılmıştır.

Taze ve kurutulmuş karpuzlarda uygulanan analizler toplam kurumadde tayini (g/100g) Anon. (1990)'a göre (16), su aktivitesi (aw) Novasina marka LabMASTER (standart) model su aktivitesi ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir. pH ölçümü, WTW pH metre kullanılarak yapılmıştır. Taze örneklerin meyve içi ve kurutulmuş örneklerin rengi Minolta renk ölçüm cihazı (Minolta CR 400) ile belirlenmiştir. L*, a*, b* değerleri ölçülmüş ve bu değerler aracılığıyla C* (Kroma, renk yoğunluğu, (a*²+ b*²)), Hue* (renk tonu, arctan (b*/a*)) ve E* ((L*²+ a*²+ b*²)) değerleri hesaplanmıştır (17).

Askorbik Asit Tayini

Karpuz örneklerinden 5 g alınıp test tüpüne aktararak üzerine 5 mL %2.5'lik meta-fosforik asit çözeltisi eklenmiştir. Karışım 4°C'de 6000 d/dak hızda 10 dakika santrifüjlendikten sonra santrifüj tüpündeki berrak kısımdan 0.5 mL alınarak %2.5'lik meta-fosforik asit çözeltisi ile 10 mL'ye

tamamlanmıştır. Bu karışım 0.45 µm'lik t eflon filtreden filtre edilerek HPLC cihazına (Shimadzu 20 AT, Kyoto, Japonya, 2006) enjekte edilmiştir (18).

HPLC Koşulları: Kolon: C 18 kolon (5 µm 4.6X250), Kolon sıcaklığı: 25°C, Hareketli faz: %2 KH₂PO₄ (pH 2.4), izokratik akış, Hareketli faz akışı: 0.5 mL/dak, Enjeksiyon hacmi: 10 mL, Elüsyon Süresi: 15 dakika, Dalga Boyu: 254 nm, Çıkış Zamanı: 11 dak.

Hidroksi Metil Furfural (HMF) ve Furfural (F) Tayini

Taze karpuz, dondurularak ve konveksiyonel kurutulmuş karpuz örneklerinde HMF ve F tayini yüksek basınç sıvı kromatografi (HPLC) (Shimadzu, LC20AT, Kyoto, Japonya, 2006) kullanılarak, örneklerin ekstraksiyonu ise Gökmen ve Acar (19) tarafından verilen yöntemle yapılmıştır. Analizin prensibi karpuz örneklerinin etil asetat ile ekstraksiyonu ve sonra sulu sodyum karbonat çözeltisi ile ekstraktının muamele edilmesi esasına dayanmaktadır. HPLC'de uygulanan akış ise Zappala ve ark. (20)'nin yöntemine göre yapılmıştır.

HMF ve F için HPLC koşulları: mobil faz: metanol/su/asetik asit (20/79/1) izokratik akış, enjeksiyon hacmi: 20 µl, akış hızı: 0.5 ml/dak, elüsyon süresi: 15 dak, dalga boyu: 285nm, kolon: ace 5 c18 250*4.6 mm, kolon sıcaklığı: 30°C, dedektör: foto diyod dedektör (PDA).

Toplam Karotenoid Madde Tayini

Karpuzların toplam karotenoid miktarları için Lee ve ark. (17)'nin daha önce belirtmiş oldukları yöntem laboratuvarımız koşullarına uygun hale getirilerek kullanılmıştır. Bunun için 5 gr karpuz püresi teflon bir tüpe aktararak üzerine 10 mL ekstraksiyon çözeltisi (hekzan:aseton:metanol / 50:25:25, %0.1 BHT içerikli) ilave edilmiştir. Bu işlemi takiben bir karıştırma işlemi uygulandıktan hemen sonra santrifüjleme işlemine (4000 rpm, 10 dk, 4°C) geçilmiştir. Santrifüjleme sonrası vakit kaybetmeden 450 nm'de absorbans ölçülmüştür. Toplam karotenoid β-karoten cinsinden ifade edilmekte olup hesaplamada ekstinksiyon katsayısı (E1/2) 2505 olarak alınmıştır. (SF: Seyreltme faktörü)

$$\text{Toplam karotenoid} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Absorbans} * \text{SF} * 10}{E \frac{1}{2}} * 1000$$

Likopen ve β -karoten Bileşenlerin Belirlenmesi

Karotenoid bileşen analizi için Meléndez-Mart nez ve ark. (21) tarafından geliştirilen ekstraksiyon yöntemi temel alınmıştır. Bu yöntemde elde edilen ekstrakt ve bileşenlerin HPLC ile analizi sırasında ön denemelerle en uygun sonuç veren akış profili aşağıda verilmiştir (22).

HPLC Koşulları: Kolon: ProntoSIL C30, Kolon sıcaklığı: 20 C, Hareketli faz: MeOH (A), MTBE (B), Su (C), Gradient akış (MTBE ve MeOH % 0.1 BHT içerikli ve % 0.02 amonyum asetat içerikli), Hareketli faz akışı: 1 mL/dak, Enjeksiyon hacmi: 50 μ L, Elüsyon Süresi: 65 dak, Dalga Boyu: 450 nm

Karotenoid bileşikler analizi için mobil faz gradient programı : 0.01. dak için (A) %90- (B) %5-(C) % 5, 5. dak için (A)% 95-(B)%5-(C)%0, 40.dak için (A)%75-(B)%25-(C)%0, 55. dak için (A)%55-(B) %45-(C)%0, 60. dak için (A)%90-(B)%5-(C)%5, 65. dak için (A)%90-(B)%5-(C)%5.

Duyusal Değerlendirme

Örneklerin duyuşal olarak değerlendirilmesi grafik skalası yöntemi kullanılarak 13 kişilik panelist grubu tarafından renk, koku, tat, özellikleri dikkate alınarak yapılmıştır (23).

İstatistiksel Değerlendirme

Analiz sonuçları, SPSS 20.0 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

Çizelge 1. Taze ve Kurutulmuş Karpuzun Bazı Fiziksel Özellikleri

Table 1. Some Physical Properties of Fresh and Dried Watermelon

| | Taze Karpuz Fresh Watermelon | Konveksiyonel Kurutulmuş Karpuz Conventional Dried Watermelon | Dondurularak Kurutulmuş Karpuz Freeze Dried Watermelon |
|--|---------------------------------|---|--|
| Toplam Kurumadde (%) Total Dry Matter (%) | 7.06 \pm 1.39 ^b | 93.77 \pm 1.43 ^a | 96.08 \pm 0.69 ^a |
| Su Aktivitesi Water Activity | 0.957 \pm 0.00 ^a | 0.255 \pm 0.01 ^b | 0.120 \pm 0.01 ^c |
| Renk Değerleri Color Values | | | |
| L* | 51.79 \pm 2.25 ^b | 50.47 \pm 3.08 ^b | 72.50 \pm 3.92 ^a |
| a* | 18.38 \pm 0.71 ^b | 26.27 \pm 2.55 ^a | 11.62 \pm 1.03 ^c |
| b* | 19.61 \pm 0.62 ^b | 28.26 \pm 1.19 ^a | 20.10 \pm 0.62 ^b |
| C* | 26.88 \pm 0.91 ^b | 38.62 \pm 2.11 ^a | 23.22 \pm 1.00 ^c |
| Hue * | 46.86 \pm 0.55 ^b | 47.15 \pm 2.73 ^b | 59.99 \pm 1.64 ^a |
| ΔE^* | | 12.03 \pm 1.92 | 21.80 \pm 3.25 |

İstatistiksel değerlendirmelerdeki farklar aynı satırdaki farklı harfler ile gösterilmiştir ($P < 0.05$).

Differences in the statistical evaluation were shown with different letters in the same row ($P < 0.05$)

SONUÇ VE TARTIŞMA

Taze ve kurutulmuş karpuzun bazı fiziksel özellikleri (toplam kurumadde, su aktivitesi ve renk değerleri) Çizelge 1'de verilmiştir. Toplam kurumadde içeriği %7.06 \pm 1.39 olan taze karpuzun, konveksiyonel olarak kurutulduğunda ortalama %93.77 \pm 1.43'ye, dondurularak kurutulduğunda ortalama %96.08 \pm 0.69'a yükseldiği görülmektedir. Karpuzun kurumadde içeriği meyvede bulunan şekerlerin konsantrasyonu ile son derece ilgilidir ve bu ise çeşidi ve olgunluk aşamasına bağlıdır (24). Saini ve Bains (25) taze karpuz suyunun Brikisini ortalama 8.4 olarak rapor ederken, Quek ve ark., (11) 12.1 Briks olarak bildirmişlerdir. Taze karpuz pulpunun nem içerikleri %91.5 (26) ve %91.2 (27) olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız karpuzun toplam kurumadde içeriği yaklaşık % 7.06 olarak belirlenmiştir.

Su aktivitesi değerleri taze karpuzda 0.957 \pm 0.00 iken, konveksiyonel kurutulmalarda 0.255 \pm 0.01, dondurularak kurutulmalarda 0.120 \pm 0.01 olarak belirlenmiştir. Kurutulan karpuzların toplam kurumadde içeriklerindeki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunurken, su aktivitesi değerleri açısından kullanılan yöntemler arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Genel olarak mikrobiyel gelişme, 0.65 su aktivitesinde durmaktadır. Çoğu oksidatif ve enzimatik reaksiyon su aktivitesinin düşmesiyle durmakta, fakat su aktivitesi 0.2 ile 0.4 arasında enzimatik olmayan aktivite yavaş hızda da olsa devam etmektedir. Bu nedenle 0.2-0.4 arasındaki su aktivitesi kurutma için önemlidir (28). Arocho ve ark., (29) karpuz

posası örneklerinde ortalama 0.236 ± 0.041 ($n=27$) su aktivite değerinin ürünün güvenilir ve stabil olması açısından uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Taze karpuz örneklerinde ortalama 51.79 ± 2.25 olan L^* değeri, konveksiyonel olarak kurutulularda hafif azalarak 50.47 ± 3.08 olarak, dondurularak kurutulularda ise yükselerek 72.50 ± 3.92 değerine çıkmıştır. Kurutulmuş karpuz örneklerinde en yüksek L^* değerleri ($P < 0.05$) dondurularak kurutulmuş örneklerde belirlenmiş olup kırmızı rengin açılmasıyla (kırmızıdan, pembe beyaz tonlarına doğru) rengin solmasıyla L^* değeri daha da artmıştır. Kurutulmuş karpuz örneklerinde en yüksek a^* değerleri (26.27 ± 2.55) konveksiyonel kurutulmuş örneklerde belirlenmiş olup, en düşük a^* değerleri (11.62 ± 1.03) dondurularak kurutulmuş örnekte olmuştur ($P < 0.05$). a^* değerindeki bu değişimler dondurularak kurutulmuş örneklerin kırmızı renginin açıldığını göstermektedir. Kurutulmuş karpuz örneklerinde en yüksek b^* değerleri konveksiyonel kurutulmuş örneklerde (28.26 ± 1.19), tazeye en yakın renk (b^* değerleri açısından) dondurularak kurutulmuş örnekte (20.10 ± 0.62) belirlenmiştir ($P < 0.05$). Kurutulmuş karpuz örneklerinde en yüksek C^* değerleri konveksiyonel kurutulmuş örneklerde (38.62 ± 2.11) belirlenmiştir. Kurutulmuş karpuz örneklerden en yüksek hue* değerleri dondurularak kurutulmuş örneklerde (59.99 ± 1.64) belirlenmiştir. Tazeye en yakın hue* değeri konveksiyonel kurutulmuş örneklerde (47.15 ± 2.73) belirlenmiştir. En çok renk değişimi tazelerine göre dondurularak kurutulmuş örneklerde görülürken (E^* : 21.80 ± 3.25), konveksiyonel kurutulmuş örneklerde ise renk değişimi dondurularak kurutulmuşların yaklaşık 1.81 katı kadar olmuştur. Gıdalarda

renk, özellikle de gıdanın kabul edilebilirliği üzerinde önemli bir kalite karakteristiğidir. Renk, genel olarak kurutma prosesi ile birlikte enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme, karemalizasyon, ve askorbik asit parçalanması gibi farklı kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonların etkisine uğramaktadır (29). Aracho ve ark., (29) karpuz posasının, valsli ve kabin tipli kurutucuda kurutulmasında, valsli kurutucuda kurutulmuş karpuzun taze karpuz posasına ve kabinde kurutulana göre daha soluk ve daha donuk renge sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca kurutulmuş örneklerin renginin daha fazla sarı ve daha az kırmızı renge dönüştüğünü ifade etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da konveksiyonel kurutulularda kırmızılık ve sarılık değerleri artarken, dondurularak kurutulularda kırmızılık değerleri önemli derecede azalmış sarılık değerlerinde önemli değişim olmamıştır. Renk değişimi ve kırmızılığın kaybı likopen kaybı ve/veya izomerizasyonla ilgili olabilir. Kurutma sırasında, likopenin all-trans izomerleri cis-trans izomerlerine izomerize olur ki bu da kırmızılık kaybı olup rengin açılması anlamına gelir (30, 31).

Taze ve kurutulmuş karpuz örneklerinin önemli kimyasal özellikleri Çizelge 2' de verilmiştir. Taze örneklerde pH 5.61 ± 0.16 iken, kurutulmuş örneklerde değerler 5.47 ± 0.23 ile 5.55 ± 0.08 olarak tespit edilmiştir ($p > 0.05$). pH değeri, önceki çalışmalarda taze karpuzun pulpunda 5.0 (26), taze karpuz sularında 5.3 ve 5.8 olduğu bildirilmiştir. (25, 11).

Çalışmada kullanılan taze karpuz örneklerinde titrasyon asitliği 0.014 g/100g, konveksiyonel ve dondurularak kurutulmuş örneklerde sırasıyla

Çizelge 2. Taze ve Kurutulmuş Karpuzun Bazı Kimyasal Özellikleri
Table 2. Some Chemical Properties of Fresh and Dried Watermelon

| | Taze Karpuz Fresh Watermelon | Konveksiyonel Kurutulmuş Karpuz Conventional Dried Watermelon | Dondurularak Kurutulmuş Karpuz Freeze Dried Watermelon |
|--|---------------------------------|--|---|
| pH Değerleri <i>pH Values</i> | 5.61 ± 0.16^a | 5.55 ± 0.08^a | 5.47 ± 0.23^a |
| Titrasyon Asitliği (g/100 g) <i>Titration Acidity (g/100 g)</i> | 0.014 ± 0.00^b | 0.118 ± 0.01^a | 0.097 ± 0.03^a |
| HMF (mg/kg) <i>HMF (mg/kg)</i> | 0.145 ± 0.05^b | 2.796 ± 0.46^a | 0.565 ± 0.07^b |
| Furfural (mg/kg) <i>Furfural (mg/kg)</i> | 0.112 ± 0.11^a | 0.397 ± 0.10^a | 0.289 ± 0.22^a |
| Toplam Karotenoid (mg/kg) <i>Total Carotenoid (mg/kg)</i> | 75.22 ± 5.05^b | 284.43 ± 28.20^a | 241.71 ± 49.23^a |
| Likopen(mg/kg) <i>Lycopene (mg/kg)</i> | 26.34 ± 3.17^b | 139.73 ± 37.220^a | 99.17 ± 7.24^a |
| β -Karoten (mg/kg) <i>β-Caroten (mg/kg)</i> | 10.75 ± 3.22^b | 26.54 ± 1.94^a | 30.43 ± 9.91^a |
| Askorbik Asit (mg/kg) <i>Ascorbic acid (mg/kg)</i> | 32.60 ± 0.60^b | 9.63 ± 1.17^c | 245.13 ± 16.99^a |

İstatistiksel değerlendirmelerdeki farklar aynı satırdaki farklı harfler ile gösterilmiştir ($P < 0.05$).
Differences in the statistical evaluation were shown with different letters in the same row ($P < 0.05$)

0.118±0.01 ve 0.097±0.03 g/100g olduğu tespit edilmiştir. Artışın sebebi, karpuzdaki suyun uzaklaştırılmasıyla kuru maddenin artmasına ve doğal olarak asitlerin oransal artışından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Konveksiyonel kurutulmuş karpuz örneklerinin HMF içeriği 2.796±0.46 mg/kg arasında iken dondurularak kurutulmuş örneklerde bu değer 0.565±0.07 mg/kg olarak belirlenmiştir. Konveksiyonel kurutulmuş örneklerde daha yüksek HMF değerleri belirlenmiştir. Taze gıdalarda HMF düzeyi sifıra yakındır, ancak kurutma gibi ısı uygulamaları sırasında şeker içeren ürünlerde HMF oluşumu söz konusudur. Kurutma işlemi sırasında, karbonhidratların dehidrasyonu, özellikle de heksoz, HMF oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca, HMF, Maillard reaksiyonu sırasında meydana gelir. Bu nedenle, HMF gıdaya uygulanan ısı işleminin bir göstergesi olarak kullanılabilir. HMF, toksikolojik durumu nedeniyle de, şeker bazlı gıdalar için ısı stresinin bir göstergesi olarak kullanılır (32). Isı şiddetinin daha yüksek olması nedeni ile konveksiyonel olanlarda HMF'nin yüksek olması da beklenen bir sonuçtur. Konveksiyonel kurutulmuş karpuz örneklerinin furfural içerikleri 0.397±0.10 mg/kg iken dondurularak kurutulmuş örneklerde yaklaşık ortalama 0.289±0.22 mg/kg olarak belirlenmiştir. Konveksiyonel kurutulmuş örneklerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. HMF gibi furfural oluşumu da ısı işlem şiddetinin etkisini göstermektedir.

Taze karpuzların toplam karotenoid içeriği 75.22±5.05 mg/kg iken konveksiyonel kurutulmuş karpuz örneklerinin toplam karotenoid içeriği 284.43±28.20 mg/kg, dondurularak kurutulmuş örnekte ise 241.71±49.23 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Taze karpuz örneklerinin 26.34±3.17 mg/kg olan likopen içeriği konveksiyonel olarak kurutulmasıyla 139.73±37.22 mg/kg'a yükselmiştir. Dondurularak kurutulmuş örnekte ise 99.17±7.24 mg/kg olarak belirlenmiştir. Kurutma ile artışlar olmuştur ancak dondurularak kurutulmuş örneklerdeki artış (3.76 kat) konveksiyonel olarak kurutulmuşlara (5.30 kat) göre daha az olmuştur ($P<0.05$). Dondurularak kurutmada, taze karpuzun gözenekli yapısı korunarak tekstürü değişmeden kalabilmiştir. Dondurularak kurutulmuş örneklerde gözeneklilik korunurken doku içerisinde bulunan karotenoidler oksijen molekülünün kolay difüzyonu neticesinde karotenoidleri hızla okside etmiş olabileceği

düşünülmektedir. Bunun temel nedeni, molekülleri saran monomoleküler su tabakasının kurutmada uzaklaşmasıyla biyoaktif maddelerin oksidasyona açık hale gelmesindedir. Bilindiği üzere karotenoidler özellikle oksijen ve ışık etkisiyle hızla parçalanabilen pigmentlerdir. Likopen izomerizasyon ve oksidasyon yoluyla ısıdan, ışıktan ve oksijenden parçalanabilen kararsız bir pigmenttir (12, 13). Shi ve ark., (31) domates de likopen içeriğinin, konveksiyonel ve vakumlu kurutma sırasında azaldığını ancak vakum altında kaybın daha az olduğunu açıklamışlardır. Geleneksel kurutma yöntemlerinde ısı ve oksijenin etkisi ile daha fazla kayıpların yaşandığını, ısının etkisi ile domateslerin dokusunu parçaladığını ve oksijen ve ışığa maruz kalan domateslerde likopenin parçalandığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada, Sharma ve Maguer (33) dondurularak kurutulmuş ve kabin kurutucuda (25, 50, 75 °C) kurutulmuş domates pulplarının likopen içeriği bakımından aralarında önemli bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Zanoni ve ark., (34) ikiye bölünmüş domateslerin bir pilot tesiste kabin hava kurutucuda 80 ve 110 °C kurutulmuşlardır. Kurutma süresi boyunca 80 °C'de önemli bir likopen kaybı yaşanmadığını, 110 °C de az da olsa (maksimum % 12) bir değişim olduğunu bildirmişlerdir.

Karpuzun β -karoten içerikleri taze olanlarda 10.75±3.22 mg/kg, konveksiyonel kurutulmuş örneklerde 26.54±1.94 mg/kg (2.46 kat artış), dondurularak kurutulmuş örneklerde ise 30.43±9.91 mg/kg (2.83 kat artış) arasında bulunmuştur ($P<0.05$).

Askorbik asit içerikleri taze olanlarda 32.60±0.60 mg/kg iken konveksiyonel kurutulmuşlarda önemli ölçüde azalmış (3.38 katı azalma, 9.63±1.17 mg/kg), dondurularak kurutulmuş ürünlerde, ürün içerisindeki suyun uzaklaştırılmasının da etkisi ile önemli ölçüde artış (7.51 katı artış- 245.13±16.99 mg/kg) tespit edilmiştir. Dondurularak kurutma, suda çözünür vitamin olan askorbik asidin bozulması üzerinde minimal bir etki gösteren düşük sıcaklık işlem olarak bildirilmektedir. Papayanın dondurularak kurutulmasıyla askorbik asidin maksimum derecede korunduğunu bildirmişlerdir (35). Bununla birlikte vitaminlerin korunması gıdanın yapısına göre değiştiği de bildirilmiştir (36).

Kurutulmuş karpuzların bazı duyu özellikleri Çizelge 3'de verilmiştir. Renk bakımından tercih

edilen örnek konveksiyonel kurutulmuş örnek olup 5.06 ± 2.23 puan almıştır. Dondurularak kurutulan örneklerin renginin açık olması panelistleri olumsuz yönde etkilemiştir. Tat bakımından en fazla beğenilen örnek dondurularak kurutulmuş örnekler olup 6.28 ± 2.45 puan almıştır. Konveksiyonel kurutmada örneklerin HMF içeriğinin artmış olması örneklerin tadına etki etmiş olabilir. Koku bakımından benzer puanlar almışlardır. Genel izlenimde de yine benzer puanlar almışlardır.

SONUÇ

Kurutulmuş karpuzun su aktivitesi değerleri konveksiyonel ve dondurularak kurutulanlarda sırasıyla 0.255 ve 0.120 olarak belirlenmiştir. Konveksiyon ile kurutulanlarda enzimatik olmayan değişimler devam ettiğinden daha fazla HMF oluşmuştur. Ancak dondurularak kurutulan örneklerde ise su aktivitesi 0.120 civarında olduğundan oksidatif değişimlere maruz kalarak likopen içeriğinde daha fazla azalmalar tespit edilmiştir. Dondurularak kurutulanlarda örneklerin ölçülen renk değerlerinden L^* ve hue^* değerleri artmış, a^* değeri azalmış ve tazelerine göre en çok renk değişimi dondurularak kurutulmuş örneklerde görülmüştür. Konveksiyonel kurutulmuş örneklerin toplam karotenoid ve HMF içerikleri yüksek bulunmuştur. Askorbik asit içeriklerinde konveksiyonel kurutulanlarda azalma olurken dondurularak kurutulmuş ürünlerde artış tespit edilmiştir. Kurutulmuş karpuzların duyuşal değerlendirmesinde renk bakımından konveksiyonel kurutulmuş örnek olurken tat bakımından en fazla beğenilen dondurularak kurutulmuş örnekler olmuştur.

Kurutulmuş karpuzların rengi daha açılrsa da likopen açısından daha da yoğunlaşmıştır. Dondurularak kurutulan örneklerin rengi tazesine göre çok farklılaşmıştır. Rengin ve likopen içeriğinin korunmasında konveksiyonel kurutma daha etkili olmuştur. Ancak dondurularak kurutulan karpuzlar ise şeklini daha iyi korumuştur.

Çizelge 3. Kurutulmuş Karpuzların Bazı Duyusal Özellikleri
Table 3. Some Sensory Properties of Dried Watermelon

| | Konveksiyonel Kurutulmuş Karpuz Conventional Dried Watermelon | Dondurularak Kurutulmuş Karpuz Freeze Dried Watermelon |
|---|--|---|
| Renk <i>Color</i> | 5.06 ± 2.23 | 3.70 ± 2.43 |
| Tat <i>Taste</i> | 4.62 ± 2.42 | 6.28 ± 2.45 |
| Koku <i>Smell</i> | 4.45 ± 2.40 | 4.70 ± 3.10 |
| Genel İzlenim <i>Overall Impression</i> | 5.12 ± 1.54 | 5.87 ± 2.50 |

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde katkı sunan Z. Gözde Çitil, Buket Can ve Z. Abidin Öztürk'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Anon 2007. Karpuz, Türk Standartları Enstitüsü, TS 1132 Ankara
2. Hardenburg RE, Watada AE, Wang CY. 1986. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks, USDA *Agricultural Handbook* 66, 130pp, Department of Agriculture, Washington, DC. pp. 12-62.
3. FAO 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>). (Accessed 08 September 2016)
4. TÜİK, 2015. Türkiye İstatistikler Kurumu/Bitkisel üretim istatistikleri (http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001, Accessed 08 Eylül 2015)
5. Perkins-Veazie P, Collins JK, Clevidence B. 2007. Watermelons and health. *Acta Horti* 731:121-128.
6. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G.1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20(7):933-956.
7. Giovannucci E. 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: Review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer* 91: 317-331.
8. Rao AV. 2006. Tomatoes, Lycopene and Human Health. Preventing Chronic Diseases, Caledonian Science Press Ltd, Badalona, Spain, pp 39-64.
9. Bramley PM. 2000. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*. 54(3):233-236.
10. Falade K, Igbeka J, Ayanwuyi F. 2007. Kinetics of mass transfer and color changes during osmotic dehydration of watermelon. *J Food Eng* 80:979-985.

11. Quek S, Chok N, Swedlund P. 2007. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chem Eng Process* 46:386-392.
12. Nguyen M, Schwartz S. 1998. Lycopene stability during food processing. *Exp Biol Med* 218:101-5.
13. Shi J, Maguer ML. 2000. Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Food Sci* 40(1):1-42.
14. Marques LG, Silveira AM, Freire JT. 2006. Freeze-drying characteristics of tropical fruits. *Drying Tec* 24, 457-463.
15. Shofian NM, Hamid AA, Osman A, Saari N, Anwar F, Pak Dek MS, Hairuddin MR. 2011. Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. *Int J Mol Sci* 12: 4678-4692.
16. AOAC. 1990. Official Method of Analysis, 15th. Edition, Washington DC, USA.
17. Lee HS, Castle WS, Coates GA. 2001. High-performance liquid chromatography for the characterization of carotenoids in the new sweet orange (Earlygold) grown in Florida, USA. *J Chromatog A* 913:371-377.
18. Lee HS, Coates G A. 1999. Thermal pasteurization effects on color of red grapefruit juices. *J Food Sci* 64(4):663-666.
19. Gökmen V, Acar J. 1998. An investigation on the relationship between patulin and fumaric acid in apple juice concentrates. *Lebensm-Wiss Technol* 31:480-483.
20. Zappala M, Fallico B, Arena E, Verzera A. 2005. Methods for the determination of HMF in honey: A comparison. *Food Control* 16:273-277.
21. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. 2007. Carotenoids, color and ascorbic acid content of a novel frozen-marketed orange juice. *J Agric Food Chem* 55:1347-1355.
22. Rodriguez-Amaya DB (ed). 2001. A guide to Carotenoid Analysis in Foods. In: *General Procedure and Sources of Errors in Carotenoid Analysis*. ILSI Press, pp.23-31.
23. Altuğ T. 1993. *Duyusal Test Teknikleri*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi. Ders Kitapları Yayın No: 28, İzmir, Türkiye, 55s.
24. Maynard DN. (ed) 2001. An introduction to the watermelon. In: *Watermelons: characteristics, production, and marketing*. Alexandria: ASHS Press. pp. 9-20.
25. Saini S, Bains G. 1994. A new method for mechanized production of watermelon seeds and juice. *Indian Food Packer* 2: 55-57.
26. Uddin MB, Nanjundaswamy AM. 1982. Studies on processing of watermelons for juice. *Bangladesh J Sci Ind Res* 17(1/2):80-86.
27. Taper LJ, Mcneil DA, Ritchey SJ. 1985. Yields and nutrient content of selected fresh fruits. *J Am Diet Assoc* 85(6):718-720.
28. Perera CO. 2005. Selected quality attributes of dried foods. *Dry Tec*, 23:717-30.
29. Arocho YD, Bellmer D, Maness N, McGlynn W, Rayas-Duarte P. 2012. Watermelon pomace composition and the effect of drying and storage on lycopene content and color. *J Food Quality* 35(5):331-340.
30. Miers J, Wong F, Harris J, Dietrich W. 1958. Factors affecting storage stability of spray-dried tomato powder. *Food Tec* 10:542-548.
31. Shi J, Maguer ML, Kakuda Y, Liptay A, Niekamp F. 1999. Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. *Food Res Int* 32:15-21.
32. Kus S, Gogus F, Eren S. 2005. Hydroxymethylfurfural content of concentrated food products. *Int J Food Prop* 8:367-375.
33. Sharma S K, Lemaguer M. 1996. Kinetics of lycopene degradation in tomato pulp solids under different processing and storage conditions. *Food Res Int* 29(3-4):309-315.
34. Zanoni B, Peri C, Nani R, Lavelli V. 1999. Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying. *Food Res Int* 31: 395-401.
35. Hawlader MNA, Perera CO, Tian M, Yeo KL. 2006. Drying of guava and papaya: Impact of different drying methods. *Drying Tec* 24, 77-87.
36. Jayaraman KS, Ramanaja MN, Dhakne YS, Vijayaraghavan PK. 1982. Enzymatic browning in some varieties as related to PPO activity and other endogenous factors. *J Food Sci Tec* 19:181-185.

TOKSİK GLUTEN PEPTİTLERİN DETOKSİFİKASYONUNDA YENİ YÖNTEMLER VE GLUTEN TOKSİSİTESİNİN BELİRLENMESİ

Ezgi Karademir, Erkan Yalçın*

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu

Geliş tarihi / *Received*: 01.08.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 21.10.2016

Kabul tarihi / *Accepted*: 27.10.2016

Özet

Buğday, arpa ve çavdarda ve yulafın bazı çeşitlerinde bulunan sırasıyla gliadin, hordein, secalin ve avenin prolamin proteinlerine karşı oto-immün sistemin intolerans göstermesinden kaynaklanan sindirim sistemi rahatsızlığına çölyak hastalığı denmektedir. Çölyak hastaları için toksik olan buğday, arpa ve çavdar prolaminleri, terminolojide genellikle "gluten" olarak adlandırılır. Prolamin proteinlerinin ince bağırsakta kısmen hidrolizi sonucu oluşan toksik gluten peptitler ince bağırsaklarda villilerin körelmesi ve iltihaplanma gibi karakteristik belirtilere sebep olurlar. Glutensiz diyet, çölyak hastaları için güvenli tek uygulamadır. Codex Alimentarius Commission (CAC), glutensiz gıdaların gluten içeriği eşik değerini <20 mg/kg, düşük gluten içerikli gıdaların ise <100 mg/kg olarak belirlemiştir. Glutensiz gıda üretimi için son yıllarda yeni gluten detoksifikasyon yöntemleri araştırılmaktadır. Bunlar, bakteri veya küf kaynaklı gluten-spesifik peptidazların kullanıldığı enzimatik yöntemler, ekşi hamur uygulaması, tahılların çimlendirilmesiyle aktifleşen gluten-spesifik peptidazlar ile glutenin oto-sindirimi, mikrobiyel transglutaminazın transamidasyonu yoluyla detoksifikasyon gibi bazı alternatif yöntemlerdir. Glutenin tespitinde immünolojik teknikler önemli rol oynamaktadır. CAC tarafından belirlenen resmi standart metot, R5 antikorunu kullanan kompetitif ELISA yöntemidir.

Anahtar kelimeler: Çölyak hastalığı, gluten toksisitesi, detoksifikasyon yöntemleri, gluten analizi

NEW METHODS FOR DETOXIFYING OF TOXIC GLUTEN PEPTIDES AND DETERMINATION OF GLUTEN TOXICITY

Abstract

Celiac disease (CD), which is a gastrointestinal disorder, is an auto-immune intolerance against prolamine proteins, like gliadin, hordein, secalin and avenin, of wheat, barley, rye and in some varieties of oats, respectively. Prolamins of wheat, barley and rye, which are toxic to celiac patients, are generally recognised as 'gluten' terminologically. Toxic gluten peptides, which are formed through partial hydrolysis of prolamin proteins, cause characteristic inflammation and villous atrophy in upper small intestine of celiac patients. Gluten-free diet is the only safety treatment for celiac patients. Codex Alimentarius Commission (CAC) determined that the threshold values of gluten content in gluten-free foods and foods containing low levels of gluten are <20 mg/kg and <100 mg/kg, respectively. For the production of gluten-free products, the novel gluten detoxifying methods have recently been investigated. These are alternative methods, such as enzymatic approaches like using gluten-specific peptidases obtained from fungi or bacteria, sourdough practices, autolysis of gluten with activated gluten-specific peptidases during germination of cereals, using microbial transglutaminase fulfilling transamidation reactions. Immunologic technics play an important role in the quantification of gluten. The official standart method issued by CAC is the competitive ELISA method using R5 antibody.

Keywords: Celiac disease, gluten toxicity, detoxifying methods, gluten quantification

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ yalcin_e@ibu.edu.tr,

☎ (+90) 374 254 1000 / 4832,

☎ (+90) 374 253 4558

ÇÖLYAK HASTALIĞI VE PROLAMİN PROTEİNLERİ

Çölyak hastalığı için kullanılan 'gluten' terimi genel olarak buğday, arpa, çavdar ve yulafıta veya bunların melezlerinde bulunan, bazı insanların intolerans gösterdiği, suda ve 0.5 mol/L NaCl'de çözünemeyen proteinler olarak tanımlanmıştır. Prolamin proteinleri olarak adlandırılan bu proteinler, aynı tahılların depo proteinlerinden olup, %40-70'lik etil alkol ile ekstrakte edilebilen ve buğday gluteninin %50'sini (gliadinler) oluşturan proteinlerdir (1). Çölyak hastalığı, beslenmeyle alınan gluten proteinlerinin prolin ve glutamin aminoasitleri ile zengin olması sebebiyle ince bağırsakta sindirime direnç göstermesi ile başlayan ve oto-immün sistemde meydana gelen bağırsak rahatsızlığıdır. Dünyadaki nüfusun %1'ini etkilemektedir ve tek çaresi glutensiz beslenmedir (1). Bu sebeple, glutensiz gıda üretimi ve ürünlerdeki gluteni doğru ve kesin olarak belirleyecek yöntemin seçimi en önemli hedefler olmuştur.

TOKSİK GLUTEN PEPTİTLERİ

Çölyak hastaları için toksik olan buğday, arpa ve çavdar prolaminleri, terminolojide genellikle "gluten" terimi altında toplanmıştır. Son çalışmalarda yulafın sadece bazı çeşitlerinin toksik olduğu ve yulaf prolaminlerini birçok çölyak hastasının tolere edebildiği bildirilmiştir. Buğday, çavdar, yulaf ve arpada bulunan sırasıyla gliadinler, sekalinler, aveninler ve hordeinler 'prolamin tip proteinler' olarak tanımlanmıştır (2-7). Çizelge

Çizelge 1. Triticeae alt sınıfından buğday, çavdar ve arpanın çölyak hastalığına sebep olan prolamin proteinleri ile buğdayın glutenin proteinleri (2, 8, 9).

| | Buğday (<i>Triticum aestivum</i>) | Çavdar (<i>Secale cereale</i>) | Arpa (<i>Hordeum vulgare</i>) |
|--|--|--|--|
| HMW ^a polimerik grup | HMW-gluteninler ^b (67 000-88 000 MW ^c) | HMW-sekalinler (>75 000 MW) | D-hordeinler (105 000 MW) |
| Kükürt-fakir MMW ^a monomerik prolaminler | ω -gliadinler (ω 1-, ω 2- ω 5-) (46 000-74 000 MW) | ω -sekalinler (48 000-53 000 MW) | C-hordeinler (55 000-75 000 MW) |
| Kükürt-zengin LMW ^a polimerik (agregat) grup | LMW-gluteninler ^d (30 000-45 000 MW) | γ -75k-sekalinler (40 000-75 000 MW) | B-hordeinler (32 000-46 000 MW) |
| Kükürt-zengin LMW monomerik prolaminler | α -, β - ve γ -gliadinler (30 000-45 000 MW) | γ -40k-sekalinler (40 000-75 000 MW) | γ -hordeinler (32 000-46 000 MW) |

^a HMW: Yüksek Molekül Ağırlıklı; MMW: Orta Molekül Ağırlıklı; LMW: Düşük Molekül Ağırlıklı

^b İndirgeyici ajan içeren çözeltilerde çözünen, %60'lık 1-propanolde çözünemeyen indirgenmiş (reduced) alt-birimler

^c MW: Molekül Ağırlık

^d İndirgeyici ajan içeren çözeltilerde ve %60'lık 1-propanolde çözünebilen indirgenmiş (reduced) alt-birimler

1'de buğday, çavdar ve arpanın çölyak hastalığına sebep olan prolamin proteinleri ile buğdayın glutenin proteinleri ayrıntılı olarak gösterilmiştir (2, 8, 9).

Gliadin ve diğer prolaminlerde bulunan prolin (~%15) ve glutamin (~%35) aminoasitlerince zengin peptit dizilerinin, çölyak hastalığına sebep olan epitoplara olduğu bilinmektedir (10). Farklı uzunluklardaki bu peptitlerin N- ya da C- terminallerindeki peptit bağları, gastrik-pankreatik ve ince bağırsak membranındaki proteolitik sindirim enzimlerine karşı dirençlidirler (11). Buğdayın, immün epitop veri tabanında (Immune Epitope Database- IEDB), çölyak hastalığıyla ilişkili 190 adet T-hücresi uyaran epitopu belirlenmiş, bunun 94 tanesi α -gliadin geninde, 74 tanesi γ -gliadin geninde, 12 tanesi ω -gliadin geninde, 8 tanesi düşük moleküler ağırlıklı (LMW) glutenin geninde ve 2 adet epitopu ise yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) glutenin genlerinde toplanmıştır (12). Çölyak hastalığı bir dizi reaksiyon sonucunda meydana gelir. İlk olarak, doğal veya doku transglutaminazının deamidasyonu ile oluşan ve negatif yüklü aminoasitleri (Glu, Asp) içeren gluten peptitleri, lökosit antijenleri olan HLA-DQ2 ve HLA-DQ8'e (HLA class II geni tarafından sentezlenen ve olgun ağaçsı hücrelerin yüzeyinde bulunan antijen molekülleri) bağlanırlar. Bu antijenik reaksiyon, T-hücrelerinin ve bunun sonucunda, inflammatör sitokinlerin (interferon- γ veya interleukin-4) ve matriks metaloproteinazların aktivasyonuna yol açar. Bu durum ise mukozal yıkım ve epitel hücrelerinin körelmesine sebep olur ve en sonunda ince bağırsakta yangı ve

iltihaplanma meydana gelir. Uyarılan T-hücreleri ise, B-hücrelerinin aktivasyonuna yol açar, bunlar ise gluten peptitleri (antijen) veya doku transglutaminazına (oto-antijen) karşı serum IgA ve IgG antikorlarının geliştirilmesini sağlar (2, 3, 13, 14).

GLUTEN DETOKSİFİKASYON YÖNTEMLERİ

Son yıllarda, tüm dünyada gluten kaynaklı hastalıkların artış göstermesi, bu hastalıklara karşı farkındalığın artmasına ve gluten tespiti için hassas metotların geliştirilmesine sebep olmuştur (1). Codex Alimentarius Commission (CAC) standartlarına uygun glutensiz (<20 mg/kg) gıdaların üretimi için çeşitli gluten detoksifikasyon yöntemleri literatürde belirtilmiştir.

Mikrobiyel, fungal ve bitki-böcek zararlıları kaynaklı peptidazların kullanımı

Farklı kaynaklardan elde edilen, prolince zengin gluten peptitlerine spesifik proteaz uygulaması, gluten peptitlerinin lenf dokusuna ulaşmadan T hücreleri tarafından tanınmayacak şekilde en fazla 9 aminoasit içeren kısa fragmentlere parçalanmasını amaçlar (15, 16). "Proteaz" veya "peptidaz" terimi, oligopeptitlerin ya da daha büyük proteinlerin, terminal uçlarındaki veya iç kısımlarındaki peptit bağlarını kıran enzimleri ifade eder (17).

Oral yoldan enzim takviyesiyle prolin spesifik ve glutamin spesifik proteazların birlikte kullanılarak, gastrointestinal sistemde gluten degradasyonunun teşvik edilmesi (18, 19), uygulama kolaylığı ve düşük riskli yan etkileri bakımından önem kazanmıştır (20). Uygulamadaki iki önemli nokta; proteazların immünolojik gluten epitoplarındaki prolin ve glutamince zengin dizileri parçalayabilme yeteneğine sahip olması ve ayrıca mide ve/veya ince bağırsak sisteminde etkin ve kararlı yapıda olmaları gerektirir (21). Prolil-endopeptidazlar (PEPs), karboksil ucunda bulunan prolin kalıntıları arasındaki peptit bağlarını hidroliz edebilen enzim grubudur. *In-vitro* ve *in-vivo* yapılan çalışmalarda *Aspergillus niger*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Myxococcus xanthus* ve *Sphingomonas capsulata* gibi birçok bakteri ve küf kaynaklı PEP'in (22) gastrointestinal sistemin pH aralığında, yapısını ve fonksiyonunu muhafaza ederek, prolince zengin immunojenik gliadin peptitlerini kolaylıkla hidrolize ettiği kanıtlanmıştır (23, 24).

Son yıllarda bitki zararlılarından elde edilen enzimlerin, gıda proteinlerinin hidrolizinde biyokatalizör olarak rol almasının kanıtlanmasıyla, gluten-spesifik peptidazların tahıl zararlılarından elde edilmesi üzerine yapılan çalışmalara yoğunlaşmıştır. Süne olarak bilinen *Eurygaster* spp. gibi çeşitli tahıl zararlılarından elde edilen 'serin endopeptidaz' ve 'sistein endopeptidaz' grubu enzimlerin (25), gluten proteinlerini etkin bir şekilde hidroliz ettiği belirlenmiştir (10). Bellir *et al.* (2014), çörek otu olarak bilinen *Nigella sativa* türü bitkiden elde ettikleri enzim ile glutenin gliadin fraksiyonunun tümünün yıkımını 24 saatlik inkübasyon sonucunda gerçekleştirmişlerdir (26).

Ekşi hamur uygulaması ile detoksifikasyon

Glutensiz gıdaların üretimi için gluten detoksifikasyonunda kullanılan, proteolitik aktiviteye sahip laktik asit bakterileri ve küf proteazlarının kombinasyonu ile yapılan ekşi hamur fermantasyonu, prolin içeren bazı potansiyel toksik peptitlerin hidrolize edildiği kompleks bir yöntemdir (15, 27). Ekşi hamur ile proteoliz yöntemiyle bakteriyel peptidazların yanı sıra, aspartikpeptidazlar ve karboksipeptidazlar gibi (28, 29) buğday ve çavdar unlarında bulunan asidik enzimlerin fermantasyon koşullarında aktivasyonu ile, prolaminlerin çözünürlüğü arttığından, proteolitik parçalanmaya uygun bir ortam oluşur (30) ve tahıl prolaminlerinin degradasyonu gerçekleştirilir (13). Di Cagno *et al.* (2010), *Lb. alimentarius* 15M, *Lb. brevis* 14G, *Lb. sanfranciscensis* 7A ve *Lb. hilgardii* 51B bakterilerini kullanarak *in-vitro* koşullarda yaptıkları çalışmada (10, 28) ekşi hamur fermantasyonu ile α -gliadindeki 31-43 aminoasitler arası fragmentlerin ve ayrıca albumin ve globulin fraksiyonlarının önemli oranda hidroliz edildiğini göstermişlerdir (10).

Rizzello *et al.* (2014), ekşi hamurdan izole edilen laktobasiller ile küf proteazlarının kombinasyonunu uygulayarak, gluten konsantrasyonunu 10 mg/kg'ın altına düşürmüşlerdir. Bu çalışmada ekşi hamur; her suş miktarı 10^9 kob/ml hamur olacak şekilde çeşitli *Lactobacillus* suşları ve *Aspergillus niger* ve *Aspergillus oryzae* kaynaklı proteazlar kullanılarak, 48 saat 37°C sıcaklıkta fermantasyon uygulamasıyla elde edilmiştir. Ekşi hamurdan ekstrakte edilen protein fraksiyonları altı hastadan alınan ince bağırsak mukozasında (*in-vitro* organ kültürü)

inkübe edildiğinde, herhangi bir intestinal T hücresi aktivitesine rastlanmamıştır (30). Angelis *et al.* (2010)'nun yapmış oldukları benzer bir çalışmada da glutenin 72 saat 37°C sıcaklıkta mikrobiyel proteazlar ile hidrolizasyonu sonucunda gluten miktarı 20 mg/kg'ın altına düşürülebilmektedir (31).

Glutensiz ekmek üretiminde ekşi hamur uygulamasıyla yapılan mikrobiyel fermentasyonun, ürün tekstürünü (32, 34) ve hacmini geliştirdiği (4, 32), laktik asit ve alkol fermentasyonuyla gerçekleşen biyotransformasyon reaksiyonları ile bazı biyoaktif bileşenleri (esansiyel aminoasitler, esansiyel yağ asitleri) ortaya çıkararak gıdanın tadını ve besinsel değerini iyileştirdiği, bayatlamayı geciktirdiği (32, 34), protein sindirilebilirliğini artırdığı, normal koşullarda lizin ve sülfür içeren aminoasitler bakımından fakir olan buğday unlarının, lizin içeriğini ve sülfür içeren aminoasit miktarını artırdığı (30), antifungal aktivite gösteren laktik asit bakterilerinin gıdalarda doğal koruyucu olarak rol alabileceği belirlenmiştir (32, 34). Dolayısıyla bu yaklaşımın, maliyet, fonksiyonellik, katkısız ürün içeriği (*clean label*), uzun raf ömrü ve iyileştirilmiş besin içeriği bakımından avantajlı bir yöntem olduğu ifade edilmiştir (34).

Tahılların çimlendirilmesiyle aktifleşen enzimler ile detoksifikasyon (oto-sindirim)

Bakteri ve küf proteazlarının, prolince zengin toksik gluten peptitlerinin birçoğunun degradasyonunu sağlarken yavaş reaksiyon göstermeleri, başka enzimlerle birlikte yüksek konsantrasyonda kullanım ihtiyacı, maliyetlerinin fazla olması gibi sebeplerden (16), tahıl enzimlerinin çimlendirme işlemi ile aktifleştirilmesiyle depo proteinlerinin hidrolizinin sağlanması, gluten detoksifikasyonunda farklı bir bakış açısı sağlamıştır.

Prolin ve glutamince zengin depo proteinleri, çimlenmenin ilk gelişim evresinde embriyoya azot ve aminoasit kaynağı sağlar (12, 16). Bunun için çimlenme sırasında sentezlenen endojen tahıl proteazları, proteinleri etkin bir şekilde hidrolize ederler (33). Bu uygulama, bira üretimindeki malta işlemede olduğu gibi bazı üretim proseslerinin bir parçasıdır (12, 16), çimlendirme süresince mineral, vitamin ve besinsel lif içeriğini zenginleştiren hemiselülaz, lipaz gibi diğer enzimler de aktif hale geçer (35) ve uygulama oldukça düşük maliyetlidir (7).

Glutensiz bira üretimi için yapılan bir çalışmada, çimlenme aşamasında ortaya çıkan doğrudan gluten epitoplarına spesifik endoproteinazların (sistein proteinaz, serin proteinaz, metaloproteinaz gibi) (36, 37) ve tanede bulunan aspartik proteinaz ve serin karboksipeptidazların (13), gastrointestinal peptidazlara karşı dirençli P-Q, Q-P, P-F, L-P, ve P-Y gibi aminoasitler arasındaki bağları, etkin olarak hidrolize ettiği gösterilmiştir (7).

Hartmann *et al.* (2006), buğday, çavdar ve arpa tanelerini 7 gün boyunca iki farklı sıcaklıkta (15 ve 30°C) çimlendirdiklerinde, glutelinlerin degradasyonunun 30°C'de, prolaminlerin ise 15°C'de daha hızlı olduğunu belirlemişlerdir. Proteolitik aktivitenin, tahıl kepeklerinde, unlarından önemli derecede yüksek; buğday ve çavdar kepeği ekstraktlarının ise arpa ekstraktından daha aktif olduğunu saptamışlardır. İnkübasyon koşullarının çimlendirilmiş tahıl proteazlarının aktivitesi üzerine etkisini incelediklerinde, pH 4.5 ve 50°C'de ve pH 6.5 ve 50-60°C'de proteolitik aktivitenin maksimum olduğunu ve tüm peptitlerin aminoasit sayısının 9'dan düşük olduğunu bildirmişlerdir (16). Tahılların vejetasyon süresi ve nem içeriğindeki artışa bağlı olarak, son üründeki gluten içeriğinin doğrusal olarak azaldığını belirleyen Kerpes *et al.* (2016), en iyi sonucun (9300 mg gluten/ kg), %48 nem içerikli arpanın 8 gün, 18°C'de çimlendirilmesi ile sağlandığını rapor etmişlerdir (36).

Mikrobiyel Transglutaminaz ile Gluten Detoksifikasyonu

Transglutaminaz (TG), peptit veya proteinin yapısındaki glutaminin, γ -karboksiamid grubu (-açıl donörü) ile yine protein veya peptitlerin lizin aminoasidinin ϵ -amino grubu (-açıl grubu alıcısı) arasında açıl-transfer reaksiyonunu katalizleyen, proteinler arasında inter- veya intramoleküler ϵ -(γ -glutamil)-lizin izopeptit bağlarının oluşumunu sağlayan bir polimerazdır (4, 12, 25, 38). Dolayısıyla TG, deamidasyon ve transamidasyon/çapraz bağlama reaksiyonlarını kataliz etmektedir. Doku-TG 2 (tTG) enzimi deamidasyon reaksiyonu sonucunda, gluten peptitlerinin çölyak hastalığını ortaya çıkarışını hızlandırmaktadır (12). Bu sebeple TG'nin transamidasyon reaksiyonu ile gluten detoksifikasyonu üzerinde daha çok durulacaktır.

Gliadinler, sekalinler ve hordeinlerde, prolin ve glutamince zengin, tekrar eden birçok PQQQLPY peptit dizilimi bulunur (39). Bu dizilim, tTG enzimi ile deamidasyon reaksiyonunun meydana gelmesi için iyi bir substrattır (25, 40). tTG enzimi, bu dizilimde ikinci defa tekrar eden glutamin (Q) aminoasidini deamidasyona uğratarak, peptit dizilimini PQPELPY olarak değiştirir (39). Glutaminin amid gruplarının ayrılarak, glutamik aside (E) deamidasyonu sonucu yeni epitoplardan oluşmasıyla, peptitlerin antijenlere (HLA-DQ2) bağlanma eğilimleri artarken, lizin aminoasidinin metil esteriyile transamidasyonu sonucu toksik peptitlerin maskelenmesiyle bağlanma eğilimleri azalmaktadır (25, 40). Asidik koşullarda tTG enzimi, glutaminin glutamik aside deamidasyonunu katalize ederken (41), alkali ortamda transamidasyon reaksiyonlarının gerçekleştiği ve polipeptit zincirleri arasında çapraz bağ oluşumunun görüldüğü ifade edilmiştir (41, 42). Brzozowski (2015)'nin farklı ortam koşullarında yaptığı çalışmada, TG ile asidik koşullarda yapılan protein modifikasyonunun immuno-reaktiviteyi artırdığı, alkali koşullarda ise gluten içeriğinin 61400 mg/kg'dan 7200 mg/kg'a düştüğü belirtilmiştir (41).

Heredia *et al.* (2014) lizin aminoasidinin mikrobiyel-TG (mTG) etkisiyle glutamin aminoasidine bağlanma derecesini belirlemek amacıyla oluşturdukları model sistemde, pH 8 ve %2 L-lisin bulunan ortam koşullarındaki örneklerde, L-lisin bağlanmasının daha yüksek olduğunu ve bunun sonucunda gluten proteinlerinin reaktivitesinin %42 oranında azalarak, gluten miktarının 1102 mg/kg'a düştüğünü gözlemlemişlerdir (43). TG uygulamasında inkübasyon süresinin etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada (44), 8 U/g mTG ve 20 mM lizin etil ester (Lys-C₂H₅) ile buğday unu veya durum semolina süspansiyonu hazırlanarak, iki aşamalı inkübasyon yapılmıştır. İlk aşamada, 30°C'de 2 saat, ikinci aşamada tekrar taze enzim ve Lys-C₂H₅ ile 30°C'de 3 saat inkübasyondan sonra santrifüj yapılmıştır. İki aşamalı transamidasyon işlemi sonucunda, R5 ELISA analizi sonuçlarına göre, ekmekteki son gluten miktarı 5.8 mg/kg, makamada ise 13.7 mg/kg olarak tespit edilmiştir (44).

Sonuç olarak mTG'nin, tTG enzimine göre daha spesifik olarak çalışması sebebiyle (37); de/trans-amidasyon, substrat dizilimi, pH (25,

38), enzim konsantrasyonu ve primer aminlerin miktarı gibi reaksiyon koşullarına bağlı olarak aktivitesi değişmektedir (38). Öte yandan bu uygulamayla, glutamin ve lizin kalıntıları arasında çapraz kovalent bağ oluşumu ile hamurdaki protein ağına kuvvetlendiği (4), gıdalarda su tutma kapasitesi, renk, aroma, tekstür ve viskozitenin geliştiği çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir (38).

Basınç-Ezme-Kesme Etkisi ile Glutenin Antijenik Özelliğinin Değiştirilmesi

Farklı gıda işleme teknolojileri ile gıda proteinlerinde yapısal değişiklikler meydana getirilerek antijenik özellikleri değişikliğe uğratabilir. Örneğin ekstrüzyon teknolojisi ile buğday unu nemli ortamda yüksek basınç ve sıcaklığa tabi tutulduğunda buğday depo proteinlerinin sindirilebilirliği ve oluşan hidrolizatların immünolojik özelliklerinin değiştiği saptanmıştır. Ekstrüzyon işleminde sıcaklık, basınç, kesme kuvveti ve oksijen etkisiyle protein yapısında ve çözünürlüğünde değişimler meydana getirildikten sonra proteazlar ile hidroliz özellikleri değiştirilebilir; hammaddeye patojenler ve bozulma yapan mikroorganizmalar yok edilebilir veya azaltılabilir; hammaddeye besleyici değeri azaltan bileşiklerin inaktivasyonu ve nişasta jelatinizasyonu sağlanabilir (45).

Farklı pH (3, 5, 7), sıcaklık (80, 90, 100°C) ve kesme kuvveti (shear stress, 500, 1000, 1500 1/s) kombinasyonları ile glutenin antijenitesi tam olarak yok edilememiştir. Rahaman *et al.* (2016) farklı kombinasyonlar uyguladıkları bu çalışmalarında, pH 3'te ve 90°C'ye kadar uygulanan sıcaklıklarda, kontrol grubuna göre antijenitenin %30 azaldığını tespit etmişlerdir. 100°C'den yüksek sıcaklıklarda ise muhtemelen yeni epitoplardan ortaya çıkması sebebiyle antijenitenin arttığı belirtilmiştir. Fakat pH 5 ve pH 7'de ve 100°C'de -tiol gruplarının modifikasyonuna ve bazı epitoplardan parçalanmasına veya maskelenmesine sebep olan yapısal değişiklikler sonucunda antijen özelliklerin azaldığı rapor edilmiştir (46).

GLUTENSİZ GIDA GÜVENLİĞİ İÇİN GLUTEN ANALİZİ

Glutensiz gıdalar, tarladan başlayarak, hasat, taşıma, depolama ve üretim aşamaları sırasında gluten bulaşısı tehdi ile karşı karşıyadır. CAC,

glutensiz gıda olarak etiketlenmiş gıdaların gluten içeriği bakımından eşik değerini <20 mg/kg, düşük gluten içerikli gıdaların ise <100 mg/kg olarak belirtmişlerdir (47). Gliadin proteinlerinin karmaşık ve polimorfizm göstermesi sebebiyle, toksik özellikteki alt birimlerinin tespitini ve bu alt birimlerin modifikasyonları için yapılan çalışmaları zorlaştırmaktadır. Glutensiz gıdaların güvenliği ancak güvenilir bir şekilde gluten tespiti yapan ve miktarını belirleyen metotların geliştirilmesi ile sağlanabilir (1). Günümüze kadar çölyak hastaları için toksik prolamin tip proteinlerin tespitinde ELISA, Western Blot gibi immunolojik teknikler; izoelektrik odaklama (IEF-isoelectric focusing), A-PAGE, SDS-PAGE gibi elektroforetik teknikler; RP-HPLC, yüksek performanslı kapiler elektroforez (HPCE-high performance capillary electrophoresis) gibi kromatografik teknikler; PCR (polymerase chain reaction) gibi genomik teknikler; MALDI-TOF/MS gibi proteomik teknikler geliştirilmiştir (1, 39).

Glutenin tespitinde, prolamin proteini ve antikoru arasındaki spesifik etkileşimlere dayanan immünolojik teknikler önemli rol oynamaktadır. Codex Alimentarius Commission tarafından belirlenen resmi standart metot, R5 antikorunu kullanan kompetitif ELISA yöntemidir. R5 antikoru, buğday gliadininde, arpa hordeininde ve çavdar sekalininde bulunan ve çölyak hastalığına sebep olan kısa zincirli peptitlerin tekrar eden epitoplarnın birçoğunu (QQFPF, LQFPF, QLPYP, QLPTP, QQSFP, QQTFP, PQFPF, QQPYP ve PQFPF) tanıma kabiliyetine sahiptir (47). G12 ve A1 gibi monoklonal antikorumların da kullanıldığı ELISA standart metodu ile diğer bir immün dominant peptit olan 'proteaz dirençli 33-mer α -gliadin' de tespit edilebilmiştir (48). Bu antikorumların gıdalardaki toksik peptitlerin ve gluten detoksifikasyonunun belirlenmesinde oldukça yararlı oldukları kanıtlanmıştır (1, 49).

Antikorumlara dayalı immüno-kimyasal ELISA yöntemi orijinal hedeflere oldukça spesifiktir ve yüksek affinite gösterirler, fakat maliyetli bir uygulamadır. Antikorumlar çeşitli manipülasyonlara karşı hassastır, ayrıca protein ekstraksiyonunda kullanılan indirgeyici kimyasallardan etkilenirler. ELISA yöntemine göre daha hassas sonuç veren PCR yöntemi, DNA biyo-işaretleyici miktarının

belirlenmesine dayanan diğer bir alternatif yöntemdir. Yüksek spesifiklik ve duyarlılık gösteren PCR yöntemi ile glutence zengin bitki hücrelerindeki DNA biyo-işaretleyici tespit edilir. PCR yönteminin, bitki hücresinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesine odaklanırken, toplam gluten içeriğini tespit etmede başarısız olduğu bildirilmiştir (50).

Kütle spektrometresi (MS-mass spectrometry), unlardaki ve diğer gıdalardaki prolaminleri belirlemede kullanılan en önemli fiziksel metottur (1, 51). Protein ve peptitleri yüksek hassasiyetle belirler, tanımlar ve miktarını tespit eder. Bu metot, moleküllerin iyonizasyonuna dayanır, iyonlar kütle/yük oranına göre ayrılır ve ayrılmış iyonlar tespit edilir. MALDI-TOF/MS, çölyak hastalığına sebep olan toksik prolaminlerin tespitinde kullanılan ilk kütle spektrometrik yöntemdir. Fakat yöntemin, parçalanmamış gluten proteinlerinin veya gluten hidrolizatlarının analizinde, dizimlerin benzerliği sebebiyle yeterli olmadığı bildirilmiştir (1). MALDI-TOF/MS, 20-25 mg/kg'ın altındaki prolaminleri tespit edemediği için düşük prolamin içeren gıdalarda yapılan ELISA analiz sonuçlarını doğrulayamamaktadır (51).

SONUÇ

Çölyak hastalığı, genetik olarak yatkın bireylerin, buğday gliadini veya diğer prolaminlerin sindiriminden sonra, oto-immün sistemlerinin gösterdiği tepki reaksiyonları sonucu meydana gelen rahatsızlıktır ve dünyadaki toplam nüfusun %1'inde görülmektedir. Bu durum son on yılda, glutensiz gıda üretimi için yapılan çalışmaların artmasına sebep olmuştur. Bu çalışmada, CAC ve Avrupa Birliği mevzuatında belirtilen sınırlar çerçevesinde glutensiz gıda üretimi için uygulanabilecek detoksifikasyon yöntemlerine ve gluten tespitinde kullanılan metotlara değinilmiştir. Bu potansiyel gluten detoksifikasyon faaliyetleri, gıda güvenliği, maliyet, verimlilik gibi faktörler açısından teoride pozitif sonuçlar vermiştir, ancak daha detaylı *in-vivo* çalışmaların da yapılması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Rosell CM, Barro F, Sousa C, Mena MC. 2014. Cereals for Developing Gluten-Free Products and Analytical Tools for Gluten Detection, *J Cereal Sci*, 59(2014): 354-364.
2. Wieser H, Koehler P. 2008. The Biochemical Basis of Celiac Disease, *Cereal Chem*, 85(1): 1-13.
3. Camarca A, Del Mastro A, Gianfrani C. 2012. Repertoire of Gluten Peptides Active in Celiac Disease Patients: Perspectives for Translational Therapeutic Applications, *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 12(2): 207-219.
4. Gallagher E. (Ed.), 2009. *Gluten-Free Food Science and Technology*, Wiley-Blackwell, Dublin, Ireland, 30, 85, 122 p.
5. Diaz-Amigo C, Popping B. 2012. Gluten and Gluten-Free: Issues and Considerations of Labeling Regulations, Detection Methods and Assay Validation. *JAOAC Int*, 95 (2): 337-348.
6. Michalcová E, Potockál E, Chmelová D, Ondrejovic M. 2012. Study of Wheat Protein Degradation During Germination, *J Microbiol Biotech Food Sci*, 1(6): 1439-1447.
7. Knorr V, Kerpes R, Wieser H, Zarnkow M, Becker T, Koehler P. 2016. Production and Application of Barley Malt Extract with High Peptidase Activity for the Degradation of Gluten in Wort, *Eur Food Res Technol*, 242: 585-597.
8. Johansson E, Malik AH, Hussain A, Rasheed F, Newson WR, Plivelic T, Hedenqvist MS, Gällstedt M, Kuktaite R. 2013. Wheat Gluten Polymer Structures: The Impact of Genotype, Environment and Processing on Their Functionality in Various Applications, *Cereal Chem*, 90(4): 367-376.
9. Shewry P R, Miles M J, Tatham A S. 1994. The Prolamin Storage Proteins of Wheat and Related Cereals. *Prog Biophys Mol Biol*, 61: 37-59.
10. Mika N, Gorshkov V, Spengler B, Zorn H, Rühl M. 2015. Characterization of Novel Insect Associated Peptidases for Hydrolysis of Food Proteins, *Eur Food Res Technol*, 240: 431-439.
11. Cavaletti L, Abbondi M, Brunati M, Taravella A. December 2014. New Proteases Able to Hydrolyze Gluten Peptides and Proteins at Acidic pH, from the Actinomycete *Actinoallomurus*, US Patent 0356345.
12. Comino I, de Lourdes Moreno M, Real A, Rodríguez-Herrera A, Barro F, Sousa C. 2013. The Gluten-Free Diet: Testing Alternative Cereals Tolerated by Celiac Patients, *Nutrients*, 5: 4250-4268.
13. Loponen J. 2006. Prolamin Degradation in Sourdoughs, *Doctoral Thesis*, University of Helsinki, Helsinki, Finland.
14. Caputo I, Lepretti M, Martusciello S, Esposito C. 2010. Enzymatic Strategies to Detoxify Gluten: Implications for Celiac Disease, *Enzyme Res*, 2010(5): 1-9.
15. Koehler P, Wieser H. 2011. Peptidases for degradation of gluten and possible use in dietary therapy, *Proceedings of the 24th Meeting of Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity*, 30 September-2 October, Ancona, Italy, 95-98 p.
16. Hartmann G, Koehler P, Wieser H. 2006. Rapid Degradation of Gliadin Peptides Toxic for Coeliac Disease Patients by Proteases from Germinating Cereals, *J Cereal Sci*, 44(2006): 368-371.
17. Gass JD, Khosla C, Bethune M, Siegel MJ. July 2014. Combination Enzyme Therapy for Digestion of Dietary Gluten, US Patent 8, 778, 338.
18. Siegel MJ, Park M. July 2014. Proteases for Degrading Gluten, US Patent 0205587.
19. Fernandez-Feo M, Wei G, Blumenkranz G, Dewhurst FE, Schuppan D, Oppenheim FG, Helmerhorst EJ. 2013. The Cultivable Human Oral Gluten-degrading Microbiome and Its Potential Implications in Coeliac Disease and Gluten Sensitivity, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 19: 386-394.
20. Montserrat V, Bruins MJ, Edens L, Koning F. 2015. Influence of Dietary Components on *Aspergillus niger* Prolyl Endoprotease Mediated Gluten Degradation, *Food Chem*, 174(2015): 440-445.
21. Bethune MT, Khosla C. 2012. Oral Enzyme Therapy for Celiac Sprue, *Methods Enzymol*, 502: 241-271.
22. Gass J, Ehren J, Strohmeier G, Isaacs I, Khosla C. 2005. Fermentation, Purification, Formulation and Pharmacological Evaluation of a Prolyl Endopeptidase From *Myxococcus xanthus*: Implications for Celiac Sprue Therapy, *Biotechnol Bioeng*, 92(6): 674-684.

23. Plugis NM, Khosla C. 2015. Therapeutic Approaches for Celiac Disease, *Best Pract Res Cl Ga*, 29(2015): 503-521.
24. Kanerva P. 2011. Immunochemical Analysis of Prolamins in Gluten-free Foods, *Academic Dissertation*, University of Helsinki, Helsinki, Finland, 24 p.
25. Wieser H, Koehler P. 2012. Detoxification of Gluten by Means of Enzymatic Treatment, *J AOAC Int*, 95(2): 356-363.
26. Bellir N, Bellir MN, Rouabah L. 2014. Enzymatic Degradation of Gliadin by *Nigella sativa* Seeds Protease: Implications for New Treatment of Celiac Disease, *World J Pharm Sci*, 3(12): 1555-1571.
27. Stoven S, Murray JA, Marietta E. 2012. Celiac Disease: Advances in Treatment via Gluten Modification, *Clin Gastroenterol H*, 10(8): 859-862.
28. Cabrera-Chavez F, Calderon de la Barca AM. 2010. Trends in wheat technology and modification of gluten proteins for dietary treatment of coeliac disease patients, *J Cereal Sci*, 52(2010): 337-341.
29. Loponen J, Mikola M, Katina K, Sontag-Strohm T, Salovaara H. 2004. Degradation of HMW Glutenins During Wheat Sourdough Fermentations, *Cereal Chem*, 81(1): 87-93.
30. Rizzello CG, Curiel JA, Nionelli L, Vincentini O, Di Cagno R, Silano M, Gobbetti M, Coda R. 2014. Use of Fungal Proteases and Selected Sourdough Lactic Acid Bacteria for Making Wheat Bread with an Intermediate Content of Gluten, *Food Microbiol*, 37: 59-68.
31. Angelis MD, Cassone A, Rizzello CG, Gagliardi F, Minervini F, Calasso M, Di Cagno R, Francavilla R, Gobbetti M. 2010. Mechanism of Degradation of Immunogenic Gluten Epitopes from *Triticum turgidum* L. var. durum by Sourdough Lactobacilli and Fungal Proteases, *Appl Environ Microbiol*, 76(2): 508-518.
32. Deora, N. S., Deswal, A., Mishra, H. N., 2014. Alternative Approaches Towards Gluten-Free Dough Development: Recent Trends, *Food Eng Rev*, 6: 89-104.
33. M'hir S, Ziadi M, Chammem N, Hamdi M. 2012. Gluten Proteolysis as Alternative Therapy for Celiac Patients : A mini review. *Afr J Biotechnol*, 11(29): 7323-7330.
34. Zannini E, Pontonio E, Waters DM, Arendt EK. 2012. Applications of microbial fermentations for production of gluten-free products and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 93: 473-485.
35. Luoto S, Jiang Z, Brinck O, Sontag-Strohma T, Kanerva P, Bruins M, Edens L, Salovaara H, Loponen J. 2012. Malt hydrolysates for gluten-free applications: Autolytic and proline endopeptidase assisted removal of prolamins from wheat, barley and rye. *J Cereal Sci*, 56(2012): 504-509.
36. Kerpes R, Knorr V, Procopio S, Koehler P, Becker T. 2016. Gluten-specific peptidase activity of barley as affected by germination and its impact on gluten degradation, *J Cereal Sci*, 68(2016): 93-99.
37. Stenman S. 2011. Coeliac Disease-inducing Gluten In vitro harmfulness and detoxification by germinating cereal enzymes, *Academic Dissertation*, University of Tampere, Tampere, Finland.
38. Lerner, A., Matthias, T., 2015. Food Industrial Microbial Transglutaminase in Celiac Disease: Treat or Trick, *Intern J Celiac Disease*, 3(1): 1-6.
39. Haraszi R, Chassaigne H, Maquet A, Ulberth F. 2011. Analytical Methods for Detection of Gluten in Food-Method Developments in Support of Food Labeling Legislation, *J AOAC Int*, 94(4): 1006-1025.
40. Cabrera-Chavez F, Rouzaud-Sandez O, Sotelo- Cruz N, Calderon De La Barca AM. 2008. Transglutaminase Treatment of Wheat and Maize Prolamins of Bread Increases the Serum IgA Reactivity of Celiac Disease Patients, *J Agric Food Chem*, 56: 1387-1391.
41. Brzozowski B. 2016. Immunoreactivity of wheat proteins modified by hydrolysis and polymerisation, *Eur Food Res Technol*, 242: 1025-1040.
42. Gianfrani, C, Siciliano RA, Facchiano AM, Camarca A, Mazzeo MF, Constantini S, Salvati VM, Maurano F, Mazzarella G, Iaquinto G, Bergamo P, Rossi M, 2007. Transamidation of Wheat Flour Inhibits the Response to Gliadin of Intestinal T Cells in Celiac Disease, *Gastroenterology*, 133(3): 780-789.
43. Heredia, N., Chavez, F. C., Islas-Rubio, A., Calderon, A. M., 2014. Transamidation of Gluten Proteins During the Bread-Making Process of Wheat Flour to Produce Breads with Less Immunoreactive Gluten, *Food Funct*, 5: 1813-1818.

44. Bergamo P, Gianfrani C, Capobianco F, Moscaritolo S, Rossi M. 2011. Transamidation of Wheat: An enzyme strategy to detoxify gluten, Proceedings of the 24th Meeting of *Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity*, 30 Sep-2 Oct, Ancona, Italy, 91-94 p.
45. Cui C, Zhao H, Zhao M, Chai H. 2011. Effects of Extrusion Treatment on Enzymatic Hydrolysis Properties of Wheat Gluten, *J Food Process Eng*, 34(2011): 187-203.
46. Rahaman T, Vasiljevic T, Ramchandran L. 2016. Shear, heat and pH induced conformational changes of wheat gluten – Impact on antigenicity, *Food Chem*, 196 (2016): 180-188.
47. Colgravea ML, Goswamia H, Blundellb M, Howittb CA, Tannerb GJ. 2014. Using mass spectrometry to detect hydrolysed gluten in beer that is responsible for false negatives by ELISA, *J Chromatogr A*, 1370 (2014): 105-114.
48. Hager AS, Taylor JP, Waters DM, Arendt EK. 2014. Gluten free beer-A review, *Trends Food Sci Tech*, 36 (2014): 44-54.
49. Comino I, Real A, Moreno ML, Montes R, Cebolla A, Sousa C. 2013. Immunological determination of gliadin 33-mer equivalent peptides in beers as a specific and practical analytical method to assess safety for celiac patients. *J Sci Food Agric*, 93, 933-943.
50. Pinto A, Nadal P, Henry O, Svobodova M. 2013. Label-Free Detection of Gliadin Food Allergen Mediated by Real-Time Apta-PCR, *Anal Bioanal Chem*, 406:515-524.
51. Mujico JR, Lombard a M, Mena MC, Méndez E, Albar JP. 2011. A highly sensitive real-time PCR system for quantification of wheat contamination in gluten-free food for celiac patients, *Food Chem*, 128(2011): 795-801.

PÜSKÜRTMELİ KURUCUTU İLE MİKROENKAPSÜLE EDİLMİŞ NANE (*MENTHA PIPERITA* VE *MENTHA SPICATA*) ESANSİYEL YAĞININ SALINIM PROFİLİ

Bülent Başıyigit^{1*}, Mustafa Çam²

¹Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa
²Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

Geliş tarihi / Received: 20.09.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 27.10.2016

Kabul tarihi / Accepted: 04.11.2016

Özet

Bu çalışmada gam arabik-maltodekstrin (%38-62) kombinasyonu ve %100 gam arabik nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) esansiyel yağının mikroenkapsülasyonu için kaplama materyali olarak kullanılmıştır. 4 farklı nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) esansiyel yağı püskürtmeli kurutucu ile toz haline getirilmiştir. Mikroenkapsüle haldeki örnekler fanlı etüvlerde 160, 180 ve 200 °C'de belirli aralıklarla örnekleme yapılarak hızlandırılmış depolamaya alınmıştır. Mikroenkapsüle örneklerde kalan yağ miktarı Gaz kromatografisi-Alev iyonizasyon dedektörü (GC-FID) ile belirlenerek örneklerin reaksiyon kinetikleri incelenmiştir. Nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) esansiyel yağ salınımının 0. derece reaksiyon kinetiğine uygun olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mikroenkapsüle edilmiş örneklerin aktivasyon enerjileri, z ve Q10 değerleri birbirinden farklı bulunmuş ve sıcaklık arttıkça örneklerin yarılanma süresi ve desimal azalma süresinin (D) azaldığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, esansiyel yağ, mikroenkapsülasyon, kinetik

RELEASE PROFILE OF MINT (*MENTHA SPICATA* AND *MENTHA PIPERITA*) ESSENTIAL OIL MICROENCAPSULATED BY SPRAY DRYER

Abstract

Gam arabic-maltodextrin-gam arabic (38-62%) combination and 100% gam arabic as wall materials were used for microencapsulation of mint (*Mentha spicata* and *Mentha piperita*) essential oil. Mint (*Mentha spicata* and *Mentha piperita*) essential oil was microencapsulated by spray dryer. Reaction kinetics of these microcapsules were evaluated with accelerated storage. For this purpose, microcapsules were put in oven at 160, 180 and 200 °C and they were taken out at specific times to determine amounts of essential oils by Gas Chromatography- Flame Ionization Dedector (GC-FID). It was determined that release profile of mint (*Mentha spicata* and *Mentha piperita*) essential oil was appropriate to zero-order reaction. The activation energy, z and Q10 values of microcapsules were evaluated different each other. Additionally, it was observed that half-life and decimal reduction time (D) decreased when temperature increased.

Keywords: *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, essential oils, microencapsulation, kinetic

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ bulentbasyigit@harran.edu.tr,

☎ (+90) 530 690 3002,

☎ (+90) 414 318 1583

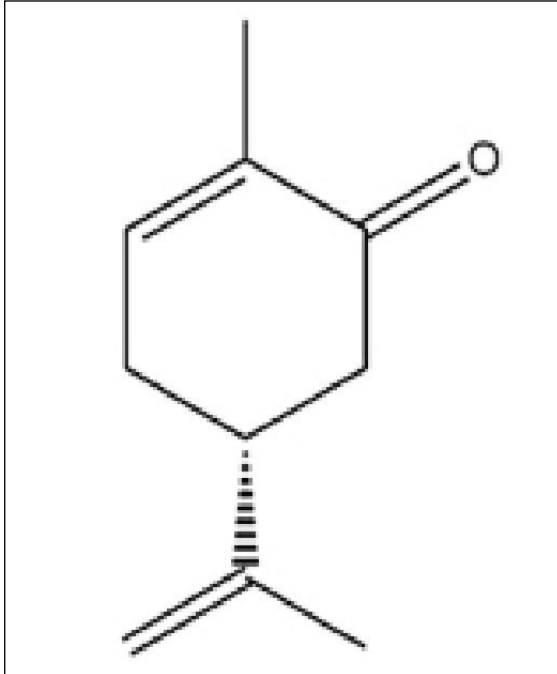
GİRİŞ

Esansiyel yağların aroma terapisinde kullanımı son yıllarda artış göstermektedir. Nane uçucu yağı yatıştırıcı, uyarıcı, antiviral ve antibakteriyel etkiler sergilemektedir (1, 2). Nananin de en çok üzerine çalışılan ve kullanım açısından da en yaygın kısmı esansiyel yağ fraksiyonudur (3).

Mentha türü *Lamiaceae* ailesine ait olup 18 türden oluşmaktadır. Gıda sanayinde yiyecek ve içecek sektöründe tatlandırıcı olarak ve ayrıca antioksidan, antimikrobiyal ve duyuşal özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır (4-6).

Tüm bunlara ilaveten literatürde *Mentha* türlerinin anti-inflamatuar, antiemetik, spazm giderici, ağrı kesici ve uyarıcı etkilerinden dolayı modern tıpta bulantı, bronşit, gaz, anoreksi, ülserli kolit ve karaciğer sorunlarını tedavi etmede yararlandığından bahsedilmiştir (7-9).

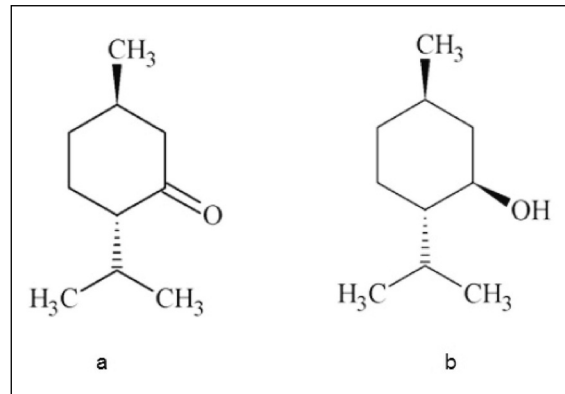
Mentha spicata çok güçlü bir aromaya sahip, çok yıllık sürünen rhizomatous bir bitki olup tüksüzdür (10). *Mentha spicata* esansiyel yağının kompozisyonunun %80'inden fazlasını büyük oksijenli monoterpen bileşiklerden olan carvone (Şekil 1), cis carveol ve limonen oluşturmaktadır (11-14). Bu bileşiklerden carvacrol ve carvone *S. aureus*, *L. Monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7



Şekil 1. Carvone bileşiği yapısı
Figure 1. Structure of carvone compound

karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (15). Ayrıca *Mentha spicata* esansiyel yağının büyük bir kısmını oluşturan carvone bileşiği (16,17) antimikrobiyal etkiye sahiptir ve bu bileşikten tatlandırıcı, koku verici ve inhibitör olarak da yararlanılmaktadır (18).

Fonksiyonel özellikleri üzerinde araştırmalar yapılan *Lamiaceae* familyası üyelerinden biri *Mentha piperita* (19). *Mentha piperita* L. *Mentha aquatica* ve *Mentha spicata* bitkilerinin rastlantısal hibritleşmesi ile ortaya çıkmıştır (20). Farklı yükseklik ve iklim koşullarına adaptasyonu yüksektir (20, 21). Avrupa, Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika başta olmak üzere tüm bölgelerde ekimine rastlanmaktadır (21). Ancak, İran'da bu oran fazladır (22). *Mentha piperita*'nın antiviral, antimikrobiyal, antioksidan (23, 24), anti-ülser, fungusit, antikanserojenik etkiye (25, 26) ve antispazmodik aktiviteye (27) sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada nanenin esansiyel yağ fraksiyonu %0.1-1 arasında olduğu belirtilmiştir (28). Uçucu yağın %79.5 oksijenli monoterpenler, %16.23 monoterpen hidrokarbonlar ve %2.44 siskiterpen hidrokarbonlar olmak üzere %98.71'ini 26 bileşik temsil etmektedir. Bunlar arasında mentol (%33.59) (Şekil 2) ve izo-menton (%33.0) esansiyel yağın büyük bir kısmı oluştururken daha az miktarda limonen (%8.0), piperiton (%3.2), 1,8-sineol (%2.8), linalol (%2.64), izopulegol (%2.4), kariyofilen (%1.95) ve pulegon (%1.6) içermektedir. Ayrıca *Mentha piperita* esansiyel yağının gram pozitif (*S. aureus*, *E. faecalis* ve *L. monocytogenes*) ve gram negatif (*S. enterica*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*) bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu bilinmektedir (29).



Şekil 2. Menthone (a) ve Mentol'ün (b) kimyasal yapıları
Figure 2. Structure of Menthon (a) and Menthol (b) compound

Mentha spicata ve *Mentha spicata* esansiyel yağı gıda, kozmetik, şekerleme, sakız, diş macunu ve ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (30).

Mikroenkapsülasyon işlemi katı, sıvı ya da gaz halinde enkapsüle edilmiş biyoaktif maddelerin kombinasyonlarının birleşme, emilim veya dispersiyonunu içerir. Asıl amaç dış çevrenin sebep olduğu bozulmalara karşı enkapsüle edilecek materyali korumak ve kompozisyonundaki belirli maddelerin kontrollü salınımını yapmaktır (31). Mikroenkapsülasyon materyalin stabilizasyonundan, koku maskeleyici kadar gıdanın birçok alanında kullanılmaktadır (32). Bu tür koku verici uçucu bileşenler ile esansiyel yağların stabilitesi mikroenkapsülasyon tekniği ile istenilen seviyeye getirilebilmekte, yeni işlenmiş gıdaların üretilmesine olanak sağlamaktadır. Elde edilen suda çözünebilir formdaki (instant) tozlar katı gıdalara kolaylıkla uygulanabilmekte, arzu edilen aromaya ve uzun raf ömrüne sahip olmaktadır (33).

Mikroenkapsülasyon işlemi için püskürtmeli kurutma, sprey soğutma, havalı süspansiyon kaplama, ekstrüzyon, santrifüj ekstrüzyon, dondurarak kurutma, koaservasyon, rotasyonlu süspansiyon ayrılması, ko-kristalizasyon, lipozom sıkışması, ara yüzey polimerizasyonu, moleküler inklüzyon vb. gibi bir çok teknik mevcut olmasına rağmen (34-38) püskürtmeli kurutma yöntemi mikroenkapsülasyon için yaygın olarak tercih edilmektedir (39, 40). Ayrıca bu teknik ekonomik olup (41) dondurarak kurutma ile karşılaştırıldığında kurutma masrafları 30-50 kat daha düşüktür (42). Mikroenkapsülasyonda yüksek bir etkinlik ve stabilite için duvar materyali seçimi önemlidir (43). Geniş pH aralığında çoğu yağ ile stabil bir emülsiyon ve aynı zamanda yağ ara yüzünde görünür bir film oluşturma özelliğine sahip gam arabikin (44) duvar materyali olarak bu alanda kullanımı yaygındır (45). Maltodekstrin ise nispeten düşük maliyetli, nötr aroma ve tat, yüksek katı konsantrasyonda düşük viskozite ve oksidasyona karşı iyi bir koruma özelliğine sahip olduğu için ikincil duvar materyali olarak yaygın bir şekilde yararlanılmaktadır (46).

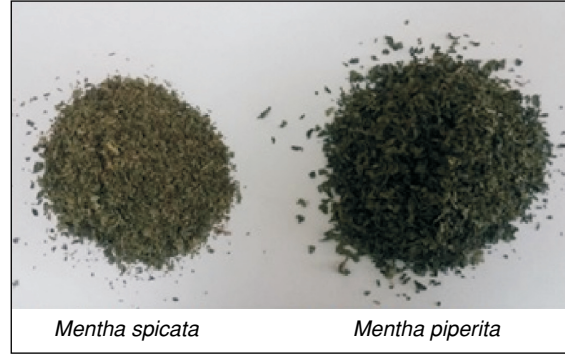
Bu çalışmada gam arabik-maltodekstrin (%38-62) kombinasyonu ve %100 gam arabik kullanılarak nane (*Mentha spicata* ve *Mentha piperita*) esansiyel yağları mikroenkapsül hale getirilmiştir. Mikroenkapsül haldeki örnekler belirli sıcaklıklarda

hızlandırılmış depolamaya alınarak reaksiyon kinetikleri incelenmiştir. Bu kapsamda örneklerin aktivasyon enerjileri, z (Örnekleredeki uçucu birleşiklerin sabit bir sıcaklıkta desimal parçalanma süresininin 10 misli kısılması için bu sabit sıcaklığın ne kadar artırılması gerekmektedir), Q10 (Her 10 °C sıcaklık artışının reaksiyonda meydana getirdiği artış), D (desimal azalma süreleri) değerleri ve yarılanma süreleri saptanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Mentha piperita esansiyel yağı piyasadan (Arifoğlu Baharat) 100 ml'lik ambalajlarda; *Mentha spicata* ise sertifikalı ürünlerden yağ olarak temin edilmiştir. Reaktifler ve solventler analitik saflıkta olup Merck ve Sigma firmalarından temin edilmiştir.



Şekil 3. Çalışmada kullanılan nane türleri
Figure 3. Mint species used in the study

Esansiyel yağ ekstraksiyonu

Mentha spicata ve *Mentha piperita* esansiyel yağlarını elde etmek için cleverger distilasyon cihazı kullanılmıştır. Bu amaçla *Mentha spicata* esansiyel yağı eldesinde örnekler güneşten izole ama hava sirkülasyonlu ortamda kurutulduktan sonra 100 gram örnek tartılıp 250 ml saf su eklenerek 2 saat boyunca distilasyona tabi tutulmuştur. Distile edilen örnekten alınan esansiyel yağ Na_2SO_4 ile kurutulmuştur. *Mentha piperita* esansiyel yağı eldesinde ise piyasadan (Arifoğlu Baharat) alınan esansiyel yağlar herhangi bir safsızlık içermesi ihtimaline karşı *Mentha spicata* örneklerinde yapıldığı gibi 2 saat distile edilmiştir. Distile edilen esansiyel yağ Na_2SO_4 ile kurutulmuştur. Analizler ve mikroenkapsülasyon için esansiyel yağlar +4 °C'de saklanmıştır.

Esansiyel yağ mikroenkapsülasyonu

Ön denemeler kapsamında bir optimizasyon çalışması yapılarak işlem parametreleri belirlenmiş ve sonuç olarak gam arabik-maltodekstrin kombinasyonunun (%38-62) ve %100 gam arabik kullanımının nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) esansiyel yağlarını mikroenkapsüle etmek için optimum noktalar olduğu saptanmıştır. Bu amaçla 24 gram kaplama materyali 100 ml su içerisinde Ultraturax'da 20000 devirde 5 dakika boyunca karıştırılarak çözündürülmüş ve hidrate olması için 8 saat süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda solüsyona nane esansiyel yağı kaplama materyali oranı 1:6 olacak şekilde 4 gram nane esansiyel yağ ilave edilmiş ve tekrar Ultraturax'da homojenize/emülsiyeye edilmiştir. Elde edilen bu solüsyon püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuş ve mikroenkapsüle nane esansiyel yağları elde edilmiştir. Elde edilen mikrokapsüller analizleri yapılabildiği kadar +4 °C'de kapalı şişeler içerisinde saklanmıştır. Üretim sırasında püskürtmeli kurutucu çözelti besleme hızı 8 mL/dakika, aspiratör çalışma hızı %100, kuru hava besleme hızı ise 600 L/saat olarak ayarlanıp önce saf su beslemeye başlanmış ve sistem sıcaklık açısından dengeye geldikten sonra hazırlanan çözelti beslenmiştir. Püskürtmeli kurutucu giriş sıcaklığı 140 °C olarak sabit tutulmuştur. Gam arabik-maltodekstrin kombinasyonunun (%38-62) ve %100 gam arabik kullanılarak hazırlanan *Mentha spicata* esansiyel yağı için püskürtmeli kurutucu çıkış sıcaklıkları sırasıyla 89 ve 92 °C iken *Mentha piperita* esansiyel yağı için ise 85 ve 94 °C olduğu gözlemlenmiştir.

Depolama süresi

Mikroenkapsüle edilmiş örneklerin depolama süresi literatüre not edilmiş bir metodun modifikasyonu ile belirlenmiştir (47). Bu amaçla fanlı etüvlerde

160 °C'de 6'şar saat aralıklarla 24 saat; 180 °C'de 2'şer saat aralıklarla 12 saat; 200 °C'de 1'er saat aralıklarla 8 saat boyunca örnekleme yapılmıştır. İlgili birleşikler için örnekler katı faz mikroekstraksiyon yöntemi (SPME) ile ekstrakte edilmiştir. 0,05 gram mikroenkapsül haldeki örnek 2 mL suda çözüldükten sonra DVB/CAR/PDMS fibere 40° C'de 30 dakika ekstrakte edilmiştir (48). Fibere ekstrakte edilen uçucu maddeleri GC-FID'ye enjekte edilmiştir. Fiberden uçucu maddelerinin desorpsiyonu için 260 °C'de 5 dakika işlem uygulanmış ve ilgili uçucu (*Mentha spicata* için sadece carvone; *Mentha piperita* için ise mentol, menthyl acetate ve menthone bileşiklerinin toplam alanı kullanılmıştır) bileşiğin/bileşiklerin alanı tespit edilmiştir. Örneklerin içerisinde kalan yağ miktarları (%) formül 1'e göre hesaplanmıştır. Uçucu bileşiklerin belirlenmesinde ise standart enjeksiyon metodu uygulanmıştır. Analiz için TR5-MS kolon (60 m x 0.25 mm, 0.25 µm) kullanılmıştır. Çalışma koşulları: dedektör ve enjeksiyon sıcaklıkları sırasıyla 280 ve 260 °C, akış hızı 1 ml/dak olup sıcaklık programı çizelge 1'de verilmiştir.

Aktivasyon enerjisi ve diğer parametrelerin hesaplanması

Arrhenius grafiklerinin eğimlerinden yararlanılarak her bir örneğin aktivasyon enerjileri formül 2'ye göre hesaplanmıştır. Aktivasyon enerjileri ve sıcaklık değerlerinden yararlanılarak Q10 değerleri formül 3'e; aktivasyon enerjileri, sıcaklık ve gaz sabiti değerlerinden yararlanılarak z değerleri formül 4'e göre hesaplanmıştır. Ayrıca yarılanma süresi formül 5'e ve desimal azalma süreleri formül 6'ya göre Çizelge 2'de verilen k değerlerinden yararlanılarak her bir sıcaklık derecesi için hesaplanmıştır.

$$\text{Kalan esansiyel yağ (\%)} = \frac{\text{İlgili sıcaklık ve sürede alınan mikroenkapsül esansiyel yağda bulunan aroma maddesinin alanı}}{\text{Herhangi bir sıcaklık uygulanmamış mikroenkapsül esansiyel yağda bulunan aromaa maddesinin alanı}} \times 100 \quad (1)$$

Çizelge 1. GC-FID sıcaklık programı
Table 1. GC-FID temperature program

| Sıcaklık/dak Temperature/min | Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Bekletme Süresi (dak) Retention Time (min) |
|---------------------------------|-----------------------------------|---|
| - | 40 | 2 |
| 25 | 100 | 0 |
| 7 | 280 | 5 |

$$Eğim = - \frac{Ea}{R} \quad (2)$$

$$\log Q_{10} = \frac{Ea}{T_2 \times T_1} \times 2,185 \quad (3)$$

$$z = \frac{2,303 R (T_2 - T_1)}{Ea} \quad (4)$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{C_o}{2k} \quad (5)$$

$$D = \frac{t_{\frac{1}{2}}}{0,30} \quad (6)$$

Modelleme ve istatistiksel analiz

İstatistiksel analizleri SPSS 10.0.1 (SPSS Inc., Chicago, USA) paket programı ile belirlenmiştir. Mikroenkapsüller içerisinde kalan esansiyel yağ miktarının zamana karşı grafiği Excel programı kullanılarak çizilmiştir. Aktivasyon enerjisi ve z, Q10, D değerlerini hesaplamak için Arrhenius grafiği oluşturulmuştur.

BULGULAR VE TARTIŞMA

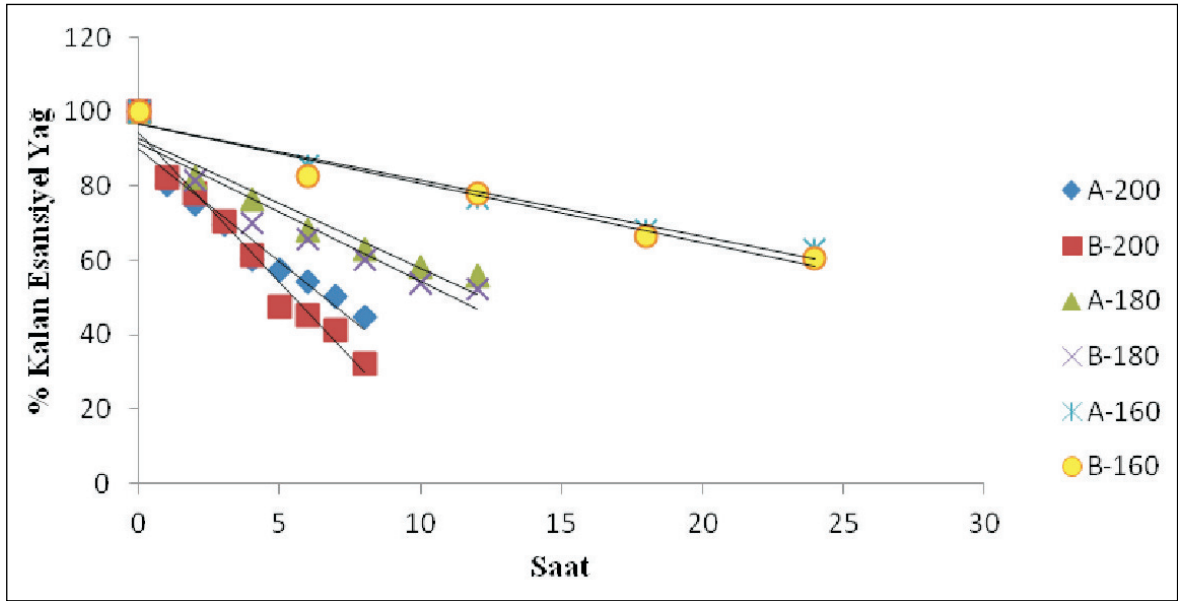
Mikroenkapsüle esansiyel yağlar için reaksiyon kinetiği denemeleri

Mentha spicata ve *Mentha piperita* için üretilen 4 farklı mikroenkapsüle esansiyel yağ 160, 180 ve 200 °C'de hızlandırılmış raf ömrü testine tabi tutulmuştur. Mikroenkapsüller içerisinde kalan yağ miktarı ve zamana karşı oluşturulan salınım profilleri Şekil 4 ve 5'te verilmiştir.

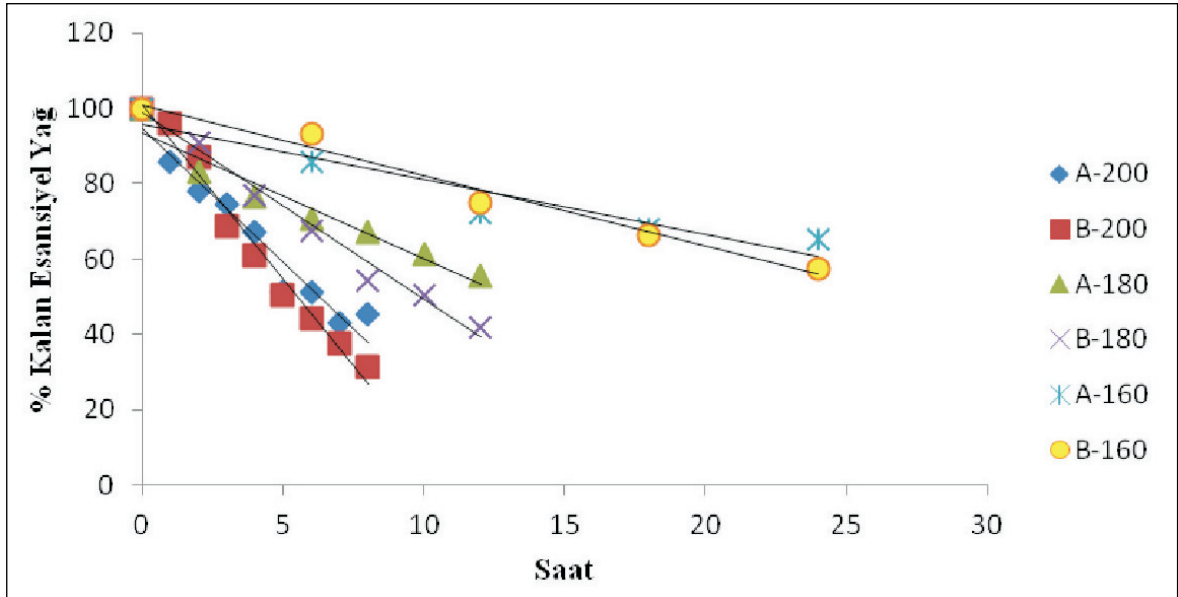
Mikroenkapsül hale getirilen nane esansiyel yağlarının çeşitli sıcaklık derecelerinde salınım kinetikleri incelenmiştir. Buna göre 160, 180 ve 200 °C'de bekletilen mikroenkapsüle esansiyel yağlar belirli aralıklarla alınarak mikroenkapsüllerde kalan esansiyel yağ miktarı tayin edilmiştir. Esansiyel yağların kalan miktarları örneğin türüne, kullanılan kaplama materyalinin çeşidine ve solüsyondaki konsantrasyonlarına göre değişim gösterse de en önemli parametrenin sıcaklık olduğu belirlenmiştir (Şekil 4 ve 5). Sıcaklık arttıkça aynı süre içerisinde kalan nane esansiyel yağ miktarlarının azaldığı görülmüştür. Benzer sonuçlara nane esansiyel yağını kompleks koaservasyon yöntemi kullanarak mikroenkapsüle edildiği çalışmada da rastlanmıştır (49).

Çizelge 2. Çeşitli sıcaklık derecelerinde mikroenkapsüle nane yağları için k değerleri
Table 2. k values for mint oil microencapsulated in various temperatures

| Esansiyel yağ kaynağı Supply of essential oil | Kaplama maddesi oranı (GA-MD%) Coating agent ratio (GA-MD%) | Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Doğrusal denklem ve R ² değeri Linear equations and R ² value | k (saat ⁻¹) k (h ⁻¹) |
|--|--|-----------------------------------|--|---|
| <i>M. spicata</i> | 100-0 | 160 | y = -1.517x + 96.96 R ² = 0.968 | 1.517 |
| <i>M. spicata</i> | 38-62 | 160 | y = -1.583 + 96.61 R ² = 0.961 | 1.583 |
| <i>M. piperita</i> | 100-0 | 160 | y = -1.459 + 95.82 R ² = 0.910 | 1.459 |
| <i>M. piperita</i> | 38-62 | 160 | y = -1.870 + 100.8 R ² = 0.977 | 1.870 |
| <i>M. spicata</i> | 100-0 | 180 | y = -3.471 + 92.79 R ² = 0.924 | 3.471 |
| <i>M. spicata</i> | 38-62 | 180 | y = -3.716x + 91.50 R ² = 0.904 | 3.716 |
| <i>M. piperita</i> | 100-0 | 180 | y = -3.328x + 93.38 R ² = 0.936 | 3.328 |
| <i>M. piperita</i> | 38-62 | 180 | y = -4.959x + 98.6 R ² = 0.936 | 4.959 |
| <i>M. spicata</i> | 100-0 | 200 | y = -8.053x + 94.30 R ² = 0.973 | 8.053 |
| <i>M. spicata</i> | 38-62 | 200 | y = -6.094x + 90.17 R ² = 0.926 | 6.094 |
| <i>M. piperita</i> | 100-0 | 200 | y = -7.085x + 94.662 R ² = 0.957 | 7.085 |
| <i>M. piperita</i> | 38-62 | 200 | y = -9.665x + 100.4 R ² = 0.964 | 9.665 |



Şekil 4. Farklı sıcaklıklarda *Mentha spicata* esansiyel yağı salınım profili
A: 100% gam arabik B: Gam arabik-maltodekstrin (38-62%)
Figure 4. Release profile of *Mentha spicata* essential oil at different temperatures
A: 100% gam arabic B: Gam arabic-maltodextrin (38-62%)



Şekil 5. Farklı sıcaklıklarda *Mentha piperita* esansiyel yağı salınım profili
A: 100% gam arabik B: Gam arabik-maltodekstrin (38-62%)
Figure 5. Release profile of *Mentha piperita* essential oil at different temperatures
A: 100% gam arabic B: Gam arabic-maltodextrin (38-62%)

Her bir grafiğin lineer denklemi ve regresyon katsayısı verilmiştir. Buna göre esansiyel yağ salınımının 0. derece reaksiyon kinetiğine uyduğu belirlenmiştir.

Bu grafiklerin üzerinde $y=ax+b$ şeklinde belirtilen denklemlerin eğimleri (a değeri) reaksiyon hız

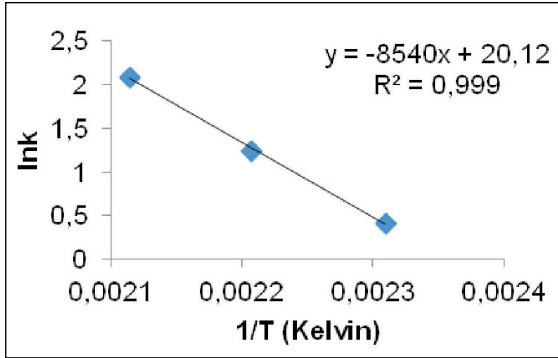
sabiti olan k (saat⁻¹) değerlerini vermektedir. Her bir mikroenkapsüle ürün ve bu ürüne uygulanan sıcaklık için denklem, bu denkleme ait R² ve k değerleri çizelge 2'de verilmiş olup sıcaklık arttıkça hız sabitinin (k) arttığı görülmüştür.

Bu aşamayı takiben *M. spicata* ve *M. piperita*

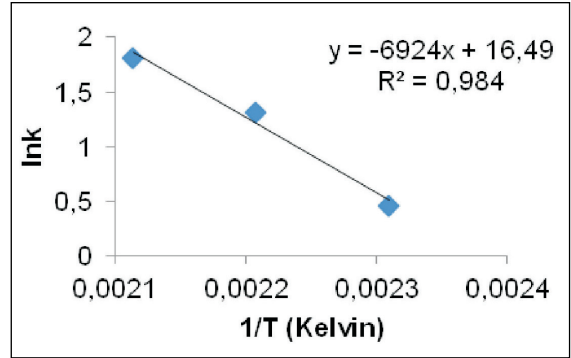
esansiyel yağlarının maltodekstrin ve gam arabik ile kaplanmış mikroenkapsülleri için ilgili sıcaklıklarda Arrhenius grafikleri çizilmiştir. (Şekil 6). Bu grafiklerden yararlanılarak örneklerin aktivasyon enerjileri, z ve Q_{10} değerleri saptanmıştır (Çizelge 3). Örneklerin aktivasyon enerjileri, z ve Q_{10} değerleri kullanılan kaplama materyali ve örneğe göre değiştiği görülmüştür. Gam arabik-maltodekstrin (GA-MD) (%38-62) kombinasyonu ile kaplanmış *Mentha spicata* örneğinde aktivasyon enerjisi en yüksek bulunmuştur. Uçucu birleşiklerin desimal parçalanma süresini kısaltmak için gerekli olan sıcaklık artışı en fazla %100 gam arabik ile kaplanmış *Mentha spicata* örneğinde saptanmıştır. Benzer şekilde nane esansiyel yağını kompleks koaservasyon yöntemi kullanarak mikroenkapsüle edildiği çalışmada örneğin aktivasyon enerjisini 32.6 kJ mol^{-1} olduğu saptanmıştır (49).

Salınım oranı örneğin kimyasal yapısı ve içerdiği aroma bileşiklerinin özellikleri, mikroenkapsül haldeki boyutu, kullanılan duvar materyali ve depolama koşulları gibi çeşitli parametrelere

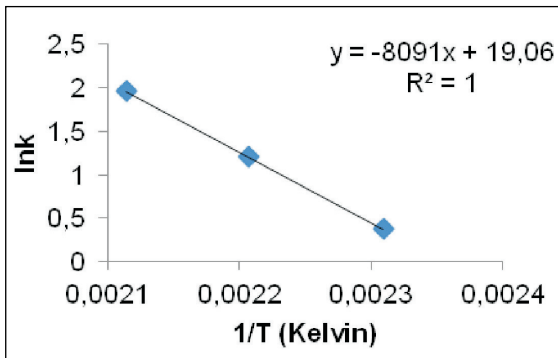
bağlı olduğu literatürde yer almaktadır (50). Sıcaklık arttıkça yarılanma süresi ve dolayısıyla desimal azalma süresinin de azaldığı görülmüştür. Ayrıca, aynı sıcaklık içerisinde sadece gam arabik kullanılarak hazırlanmış mikroenkapsül haldeki nane esansiyel yağı örneklerinin daha yüksek yarılanma ve desimal azalma süresine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4). Bunun sebebi ise daha önceki çalışmalarda da belirtilmiş olduğu gibi gam arabik doğal bir polimer olmanın yanı sıra iyi bir film oluşturma özelliğine sahip olduğundandır (51). Benzer şekilde siyah nane oleoresini enkapsülasyonunda birinci dereceden reaksiyon kinetiği kullanarak yapılmış olan çalışmada gam arabikin daha iyi enkapsülasyon yetisine sahip olduğu belirlenmiştir (52). Fakat *M. spicata* 200 °C'deki örneklerinde gam arabik-maltodekstrin kombinasyonunda aksi bir durum gözlenmiştir. Çalışılan materyallerin sentetik olması ayrıca ortam koşullarındaki stabilitenin değişmesi böyle bir durumu ortaya çıkardığı düşünülmektedir.



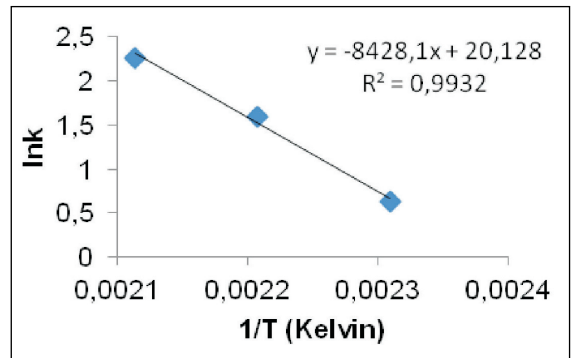
%100 GA ile kaplanan *M. spicata* esansiyel yağı
M. spicata essential oil microencapsulated by GA (100%)



GA-MD (%38-%62) kaplı *M. spicata* esansiyel yağı
M. spicata essential oil microencapsulated by GA-MD (38-62%)



%100 GA ile kaplanan *M. piperita* esansiyel yağı
M. piperita essential oil microencapsulated by GA (100%)



GA-MD (%38-%62) kaplı *M. piperita* esansiyel yağı
M. piperita essential oil microencapsulated by GA-MD (38-62%)

Şekil 6. Mikroenkapsüle esansiyel yağların Arrhenius grafiği
Figure 6. Arrhenius plot of microencapsulated essential oils

Çizelge 3. Mikroenkapsüle esansiyel yağlar için Ea, z ve Q10 değerleri

Table 3. EA, z and Q10 values for microencapsulated essential oils

| Örnekler* Samples* | Aktivasyon enerjisi (kal/mol) Activation energy (cal/mol) | Z değeri (°C) Z value (°C) | Q10 değeri Q10 value |
|-----------------------|--|-------------------------------|-------------------------|
| 1 | 16968 | 55.23 | 1.51 |
| 2 | 13757 | 68.12 | 1.40 |
| 3 | 16076 | 58.29 | 1.48 |
| 4 | 16746 | 55.96 | 1.52 |

*1 ve 2 kodlu örnekler *M. spicata*; 3 ve 4 kodlu örnekler *M. piperita* mikroenkapsüle esansiyel yağlarını göstermektedir. 1 ve 3 kodlu örnekler Gam arabik-Maltodekstrin (38-62%) kombinasyonu ile 2 ve 4 nolu örnekler 100% gam arabik ile üretilmiştir.

*1, 2 and 3,4 represent *M. spicata* and *M. piperita* respectively. 1 and 3 were microencapsulated by gam arabic-maltodextrin (38-62%) of combination. 2 and 4 were microencapsulated only by gam arabic (100%)

Çizelge 4. Mikroenkapsüle esansiyel yağlar için yarılanma ve desimal azalma süreleri

Table 4. Half-life and Decimal reduction time for microencapsulated essential oils

| Esansiyel yağ kaynağı Supply of essential oil | Kaplama maddesi oranı (GA-MD %) Coating agent ratio (GA-MD%) | Sıcaklık (°C) Temperature (°C) | Yarılanma süresi (saat) Half-life (hour) | Desimal azalma süresi (saat) Decimal reduction time (hour) |
|--|---|-----------------------------------|---|---|
| <i>M. spicata</i> | 100-0 | 160 | 32.96 | 109.87 |
| <i>M. spicata</i> | 38-62 | 160 | 31.58 | 105.27 |
| <i>M. piperita</i> | 100-0 | 160 | 34.27 | 114.23 |
| <i>M. piperita</i> | 38-62 | 160 | 26.73 | 89.10 |
| <i>M. spicata</i> | 100-0 | 180 | 14.41 | 48.03 |
| <i>M. spicata</i> | 38-62 | 180 | 13.45 | 44.83 |
| <i>M. piperita</i> | 100-0 | 180 | 15.02 | 50.07 |
| <i>M. piperita</i> | 38-62 | 180 | 10.08 | 33.60 |
| <i>M. spicata</i> | 100-0 | 200 | 6.21 | 20.70 |
| <i>M. spicata</i> | 38-62 | 200 | 8.20 | 27.33 |
| <i>M. piperita</i> | 100-0 | 200 | 7.06 | 23.53 |
| <i>M. piperita</i> | 38-62 | 200 | 5.17 | 17.23 |

Mentha spicata ve *Mentha piperita* örneklerinde yarılanma ömürlerini ve desimal azalma sürelerinin tespitinde içermiş oldukları aroma birleşiklerinin konsantrasyonlarına göre elde edilen sonuçlar çizelge 4'te verilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada nane esansiyel yağı enkapsülasyonunda farklı duvar materyaller kullanılarak mikroenkapsül hale getirilmiş örnekler 27 °C' de 8 hafta depolayama alınmış ve yarılanma süreleri izlenmiştir. Herhangi bir işlem görmemiş nane esansiyel yağının yarılanma süresi en düşük bulunmuştur. Mikroenkapsül haldeki toz örneklerin yarılanma süresi ise herhangi bir işlem görmemiş nane esansiyel yağının yarılanma süresinin 2 kat daha fazla olduğunu saptanmıştır (47). Bu çalışmadan da raf ömrü kısa olan, sıcaklık, ışık vb. parametrelere çok hassas davranış sergileyen nane esansiyel yağının mikroenkapsülasyon işlemi ile stabilitesinin arttığı anlaşılmıştır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Mentha spicata ve *Mentha piperita* esansiyel yağlarının mikroenkapsüle edilmesinde gam arabikin yarılanma süresi ve desimal azalma süresi üzerine daha etkin bir kaplama materyali olduğu belirlenmiştir. Fakat gam arabik kadar iyi bir koruma sergilemese de benzer sonuçlar gam arabik-maltodekstrin kombinasyonunda da görülmüştür. Bu sonuçlara göre gam arabik-maltodekstrin kombinasyonunun sadece gam arabik kullanımına alternatif olarak değerlendirilebileceği saptanmıştır. Çünkü kısıtlı ve pahalı bir kaplama materyali olan gam arabikin kullanımı, yaklaşık gam arabikle aynı koruma gösteren bu kombinasyonu (MD-GA) kullanarak azaltmak mümkün olacaktır.

Mikroenkapsül örneklerin salınım kinetiği üzerine nane esansiyel yağlarının türü, kullanılan kaplama materyalinin çeşidi ve konsantrasyonu etkili olduğu saptanmıştır. Ancak sıcaklığın mikroenkapsül haldeki nane esansiyel yağlarının salınım profili üzerine en önemli parametre olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık arttıkça yarılanma ve desimal azalma süresinin azaldığı görülmüştür.

Mikroenkapsüle nane yağlarının salınım kinetiklerinin incelenmesi neticesinde ürünlerin normal depolama koşullarında içerdikleri esansiyel yağ miktarını uzun süreler boyu koruyacağı sonucuna varılmıştır.

Burada alınan veriler sadece nane esansiyel yağı için değil ışığa, sıcaklığa ve birçok parametreye göre raf ömrü değişen diğer esansiyel yağlar için de benzer araştırmalar yapılmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tamamı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir (TUBITAK, Proje No: 113O471).

KAYNAKLAR

1. Lv J, Huang H, Yu L, Whent M, Niu Y, Sh, H. 2012. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. *Food Chem*, 132(3), 1442-1450.
2. Wang CX, Chen SH L. 2005. Aromachology and its application in the textile field. *Fibres Text East Eur*, 13(6), 41-44.
3. Ciobanu A, Mallard I, Landy D, Brabie G, Nistor D, Fourmentin S. 2013. Retention of aroma compounds from *Mentha piperita* essential oil by cyclodextrins and crosslinked cyclodextrin polymers. *Food Chem*, 138(1), 291-297.
4. Espina L, Garc a-Gonzalo D, Pagán, R. 2014a. Impact of essential oils on the taste acceptance of tomato juice, vegetable soup, or poultry burger. *J. Food Sci*, 79, 1575-1583.
5. Nguyen P, Mittal GS. 2007. Inactivation of naturally occurring microorganisms in tomato juice using pulsed electric field (PEF) with and without antimicrobials. *Chem. Eng. Process*, 46, 360-365.
6. Singh R, Shushni MAM, Belkheir A. 2011. Antibacterial and antioxidant activity of *Mentha piperita* L. *Arab. J. Chem*, 4, 1-20.
7. Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*, 12, 564-582.
8. Iscan G, Kirimer N, Kurkcuoglu M, Baser KHC, Demirci F. 2002. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *J. Agric. Food Chem*, 50 (14), 3943-3946.
9. Moreno L, Bello R, Primo-Yufero E, Esplugues J. 2002. Pharmacological properties of the methanol extract from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Phytother. Res*, 16, 10-13.
10. Jirovetz L, Buchbauer G, Shabi M, Ngassoum MB. 2002. Comparative investigation of essential oil and volatiles of spearmint. *Perfum. Flav*, 27, 16-22.
11. Aggarwal K, Khanuja S, Ahmad A, Santha Kumar T, Gupta VK, Kumar S. 2002. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. *Flavour Fragr J*, 17, 59-63.
12. Younis YM, Beshir SM. 2009. Carvone-rich essential oils from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. schimperii Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. *J Essent Oil Res*, 16, 539-541.
13. Hussain Al, Anwar F, Shahid M, Ashraf M, Przybylski R. 2010. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. *J Essent Oil Res*, 22, 78-84.
14. Şarer E, Toprak SY, Otlu B, Durmaz R. 2011. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Mentha spicata* L. subsp. *Spicata*. *J Essent Oil Res*, 23, 105-108.
15. Shahbazi Y. 2015a. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. *J Pathog*, 1-5.
16. Lucchesi ME, Chemat F, Smadja J. 2004.2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J Chromatogr A*, 1043, 323-327.
17. Oliveira ARMF, Jezler CN, Oliveira RA, Mielke MS, Costa LCB. 2012. Determination of hydro-distillation time and harvest time on essential oil of mint. *Hortic. Bras*, 30, 155-159.
18. Decarvalho CCR, Dafonseca MMR. 2006. Carvone: why and how should one bother to produce this terpene. *Food Chem*, 95, 413-422.
19. Kwon YI, Vattem DA, Shetty, K. 2006. Evaluation of clonal herbs of *Lamiaceae* species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pac J Clin Nutr*, 15(1), 107-118.

20. Vitek S, Nisha S, Vijaylata P, Reyaz MA, Bikram S, Raghbir GC. 2010. GC-MS analysis and anti-microbial activity of essential oil of *Mentha piperita* L. from Kullu-a North Indian region of higher altitude Himalayas. *Int J Drug Dev & Res*, 2(4), 40-46.
21. R. Rajinder Singh, M.A.M. Shushni, A. 2015. Belkheir, Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arab. J. Chem*, 8 (3), 322-328.
22. Eteghad S, Mirzaei H, Pour SF and Kahnmaui S. 2009. Inhibitory Effects of Endemic *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* essential oils on *Escherichia coli* O157: H7. *Res. J.Biol. Sci*, 4(3), 340-344.
23. Schuhmacher A, Reichling J, Schnitzler P. 2003. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. *Phytomedicine*, 10, 504-510.
24. Cosentino M, Bombelli R, Conti A, Colombo ML, Azzetti A, Bergamaschi A, et al. 2009. Antioxidant properties and in vitro immunomodulatory effects of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oils in human leukocytes. *J. Pharm. Sci. Res*, 3, 33-43.
25. Kamel MA, Hamza RZ, Abdel-Hamid NE, Mahmoud FA. 2014. Anti-ulcer and gastro protective effects of fenugreek, ginger and peppermint oils in experimentally induced gastric ulcer in rats. *J. Chem. Pharm. Res*, 6, 451-468.
26. Samarth RM, Panwar M, Kumar M, Kumar A. 2006. Protective effects of *Mentha piperita* Linn on benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenicity and mutagenicity in Swiss albino mice. *Mutagen*, 21, 61-66.
27. Sydney de Sousa AA, Soares PMG, Saldanha de Almeida AN, Maia AR, Prata de Souza E, Sampaio Assreuya AM. 2010. Antispasmodic effect of *Mentha piperita* essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *J. Ethnopharm*, 30, 433-436.
28. Leung AN. 1980. Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics. Wiley Interscience, New York.
29. Smaoui S, Ben Hsouna A, Lahmar A, Ennouri K, Mtibaa-Chakchouk A, Sellem I, X Najah S, Bouaziz M, Mellouli L. 2016. Bio-preservative effect of the essential oil of the endemic *Mentha piperita* used alone and in combination with BacTN635 in stored minced beef meat. *Meat Sci.*, 117, 196-204
30. Lawrence BM. 2006. Mint: The Genus *Mentha*. CRC Press, Boca Raton, FL.
31. Greay SJ, Hammer KA. 2011. Recent developments in the bioactivity of mono and diterpenes: anticancer and antimicrobial activity. *Phytochem. Rev*, 14(1), 1-6.
32. Anal AK, Singh H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci. Technol*, 18 (5), 240-251.
33. Wojtowicz E, Zawirska-Wojtasiak R, Adamiec J, Wasowicz E, Przygonski K, Remiszewski M. 2010. Odor active compounds content in spices and their microencapsulated powders measured by SPME. *J Food Sci*, 75(8), 441-445.
34. Desai KGH, Park HJ. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol*, 23, 1361-1394.
35. Gibbs BF, Kermasha S, Alli I, Mulligan C N. 1999. Encapsulation in the food industry: A review. *Int J Food Sci Nutr*, 50, 213-224.
36. Gouin S. 2004. Micro-encapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Technol*, 15, 330-347.
37. King AH. 1995. Encapsulation of food ingredients: A review of available technology, focusing on hydrocolloids. In S. J. Risch, G. A. Reineccius (Eds.), Encapsulation and controlled release of food ingredients. ACS symposium series, 590, pp. 26-39). Washington, DC: American Chemical Society.
38. Shahidi F, Han XQ. 1993. Encapsulation of food ingredients. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 33, 501-547.
39. Carneiro H, Tonon R, Grosso C, Hubinger M. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng*, 115, 443-451.
40. Fernandes R, Borges S, Botrel D, Oliveira C. 2014. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein-inulin blends as carriers. *Int. J. Food Sci. Technol*, 49, 1522-1529.
41. Carneiro H, Tonon R, Grosso C, Hubinger M. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J. Food Eng*, 115, 443-451.

42. Moreau DL, Rosenberg M. 1996. Oxidative Stability of Anhydrous Microencapsulated Whey Proteins. *J. Food Sci*, 61,39-43.
43. Bakry AM, Abbas S, Ali B, Majeed H, Abouelwafa MY, Mousa A, Liang L. 2016. Microencapsulation of oils: a comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*, 15, 143-182.
44. Kenyon MM. (1995). Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. In S. J. Risch, G. A. Reineccius (Eds.), *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. ACS symposium series (Vol. 590, pp. 42-50). Washington, DC: American Chemical Society.
45. Niu F, Niu D, Zhang H, Chang C, Gu L, Su Y, Yang Y. 2016. Ovalbumin/gum arabic-stabilized emulsion rheology, emulsion characteristics, and Raman spectroscopic study. *Food Hydrocolloid*, 52, 607-614.
46. Otálora MC, Carriazo JG, Iturriaga L, Nazareno MA, Osorio C. 2015. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chem*, 187, 174-181.
47. Sarkar S, Gupta S, Variyar PS, Sharma A, Singhal RS. 2013. Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. *Carbohydr. Polym*, 95(1), 177-182.
48. Yilmaztekin M. 2014. Characterization of potent aroma compounds of cape gooseberry (*Physalis Peruviana* L.) fruits grown in Antalya through the determination of odor activity values. *Int. J. Food Prop*, 17(3), 469-480.
49. Dong Z, Ma Y, Hayat K, Jia C, Xia S, Zhang X. 2011. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. *J. Food Eng*, 104, 455-460.
50. Baranauskiene R, Bylaite E, Zukausaite J, Venskutonis RP. 2007. Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *J. Agric. Food. Chem*, pp. 3027-3036.
51. Bertolini AC, Grosso CRF. 2001. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray drying. *J. Agric. Food. Chem*, 49, 780-785.
52. Shaikh J, Bhosale R, Singhal R. 2006. Microencapsulation of black pepper oleoresin. *Food Chem*, 94, 105-110.

GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİLEN GEMLİK ÇEŞİDİ ZEYTİNLERDE VERTİCİLLIUM SOLGUNLUĞUNUN ZEYTİNYAĞI KALİTE PARAMETRELERİ VE FENOLİK BİLEŞENLERE ETKİSİ

Aslı Yorulmaz^{1*}, Hakan Erinç², Abidin Tatlı³, Aziz Tekin⁴

¹ Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın

² Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde

³ Zer Grup, Manisa

⁴ Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 10.08.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 08.12.2016

Kabul tarihi / Accepted: 12.12.2016

Özet

Çalışmanın amacı Verticillium solgunluğunun zeytinyağı kalite parametreleri ve fenolik bileşenlerine etkisini incelemektir. Bu amaçla, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen Gemlik çeşidine ait 16 farklı örnek değişik yetiştirme alanlarındaki enfekte ağaçlardan hasat edilmiştir. Zeytinler, hastalık şiddetine göre sınıflanmış ve su, yağ ve fenolik içeriklerine göre değerlendirilmiştir. Zeytin örnekleri laboratuvar ölçekli bir sistemle yağa işlenmiş ve örnekler serbest yağ asitleri; peroksit değeri; K₂₃₂, konjuge dien ve ΔE değerleri ile toplam fenol ve fenolik bileşen dağılımı açısından analiz edilmişlerdir. Sonuçlar, hastalık şiddetiyle zeytinlerin su içeriğinin düştüğünü fakat yağ içeriğinin değişmediğini göstermiştir. Peroksit, K₂₃₂, konjuge dien, ΔE değerleri ve toplam fenol miktarı hastalık şiddetiyle genellikle pozitif korele iken, serbest yağ asitleri değişmemiştir. Zeytinyağı örneklerinin hakim fenoliği luteolin olup, *trans* sinamik asit ve luteolin-7-glikozit izleyen fenolikler olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Fenolik, kalite, *Verticillium dahliae* Kleb., zeytinyağı

EFFECT OF VERTICILLIUM WILT IN GEMLIK VARIETY OLIVES CULTIVATED IN SOUTH EAST ANATOLIA ON QUALITY PARAMETERS AND PHENOLIC COMPOUNDS OF VIRGIN OLIVE OILS

Abstract

The aim of the work was to investigate the influence of Verticillium wilt on quality parameters and phenolic compounds of olive oil. For this purpose, 16 different olive samples of Gemlik variety cultivated in South East Anatolia were collected from infected trees from different growing regions. Olives were classified according to the incidence of the disease and evaluated for their water, oil and phenolic contents. Olive samples were processed to olive oil by a laboratory scale mill and analyzed for their free fatty acids; peroxide value; K₂₃₂, conjugated dien and ΔE values; total phenol content and phenolic compound distribution. Results have shown that the water content of olives decreased but oil content didn't change with disease incidence. Peroxide, K₂₃₂, conjugated dien, ΔE values and total phenols were generally positively correlated with disease incidence, whereas free fatty acids were found to remain unchanged. Luteolin was the predominant phenolic of olive oil samples, followed by *trans* cinnamic acid and luteolin-7-glycoside.

Keywords: Olive oil, phenolics, quality, *Verticillium dahliae* Kleb.

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ asliyorulmaz@adu.edu.tr,

☎ (+90) 256 213 75 03,

☎ (+90) 256 213 66 86

GİRİŞ

Zeytin ve zeytinyağı yüzyıllar boyunca insan beslenmesinde ve kültüründe önemli yer tutmuş olan gıda ürünleridir. Zeytin ağacının (*Olea europaea* L.) anavatanı Yukarı Mezopotamya olup, ağırlıklı olarak kuzey ve güney yarımkürenin 30-45 enlem dereceleri arasında yetişebilmektedir. Dünyadaki zeytin ağaçlarının % 97'si Akdeniz havzasında yer almaktadır. Ülkemiz dünyanın önemli zeytin üreticisi ülkelerinden biridir ve zeytin başlıca Marmara, Ege, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Ege bölgelerinde yetiştirilmektedir.

Ülkemizde son yıllarda ağaç sayısının artışı ile birlikte zeytin yetiştiriciliğine olan ilgi ve aynı zamanda zeytin hastalık ve zararlılarına olan duyarlılık da artmıştır. Zeytin ağacında görülen önemli hastalıklardan biri de *Verticillium* solgunluğudur. Hastalık, kısmi veya tam dal kurumaları ile solgunluğa neden olmakta; ağaçta verim düşüklüğü ve ölüme de yol açabilmektedir (1). Hastalık ilk olarak 1946 yılında İtalya'da, sonrasında Kaliforniya, Avrupa ve Asya ülkeleri ile Avustralya'da görülmüştür (2).

Hastalık etmeni, *Verticillium dahliae* Kleb. Hphomycetes sınıfına ait olan toprak kökenli bir fungusdur ve morfolojik özellikleri sebebiyle tanımlanması kolaydır. Toprakta 10 yıldan daha uzun bir süre bulaşık olarak kalabilmektedir (3), bu sebeple de hastalık ile mücadele zorlaşmaktadır. Hastalık, önceki yıllarda pamuk ve sebze gibi fungusun konukçusu bitkilerin yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerde kurulan zeytin plantasyonlarında daha yoğun görülür. Yapılan çalışmalar zeytin bahçelerinde sulamanın yaygınlaşmasıyla hastalığın görülme sıklığının da arttığını ortaya koymuştur (4). Patojen popülasyonunun sulama için kullanılan kanallara yakın alandaki nemli toprakta kuru toprağa kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir (5). Fungus, zeytin ağacı yapraklarının yere dökülmesiyle, toprakta inokulum yoğunluğunu artırır. Hastalık şiddeti zeytin çeşidine, ağacın yaşına, çevresel etmenlere, patojenin hastalık oluşturma yeteneğine bağlıdır (6). Hastalık, önemli düzeyde ekonomik kayba yol açmaktadır ve kontrolü için herhangi bir kimyasal yöntem kullanılmamaktadır. Bu sebeple mücadele yöntemleri daha çok önleyici teknikler üzerine yoğunlaşmıştır (7).

Zeytinyağı, zeytin ağacı meyvelerinden sadece mekanik yollarla elde edilen ve doğal haliyle tüketilen tek bitkisel sıvı yağdır. Yapısında trigliseritler, serbest yağ asitleri, kısmi gliseritler, fosfatitler, renk maddeleri, steroller, aroma maddeleri, fenolik bileşikler ile minör bileşenleri içermektedir. Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil (-OH) grubunun bağlandığı benzen halkasına sahip maddelerdir (8). Zeytinyağının temel antioksidanları karotenler ile hidrofilik ve lipofilik fenoliklerdir. Tokoferoller de içine alan lipofilik fenoller diğer bitkisel yağlarda da bulunabilirken; hidrofilik fenolik maddeler zeytinyağına özgüdür (9). Zeytin meyvesi meyve etinin %1-3'ünü oluşturacak düzeyde fenolik madde içermektedir. Zeytinyağı fenolikleri fiziksel yağ ekstraksiyonu sırasında zeytin meyve fenoliklerinin yağa geçmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Zeytinyağının kalitesi, çeşit, coğrafi üretim alanı, iklim, zirai uygulamalar, hasat yöntemleri, üretim teknolojisi gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Zeytin ağacında görülen hastalık ve zararlılar da yağ kalitesine olumsuz yönde etki etmektedir. *Verticillium* solgunluğunun farklı zeytin çeşitlerinden elde edilen yağ kalitesi ve kompozisyonuna etkisini inceleyen herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Yapılan bu çalışma *Verticillium* hastalığı taşıdığı bilinen ağaçlardan hasat edilen zeytin meyve özelliklerini ve elde edilen yağ kalite parametreleri ile fenolik madde içerik ve bileşenleri inceleyen ilk çalışma niteliğindedir.

MATERYAL VE METOT

Zeytin Örneklerinin Temini

Çalışmada Adana (Merkez, Yumurtalık, Karaisalı, Ceyhan, Tuzla), Osmaniye (Kadirli, Sumbas), Kahramanmaraş (Andırın), Adıyaman (Besni), Mersin (Tarsus, Mut), Hatay (Altınözü), Gaziantep (Nizip) illerinden hasat edilen 16 farklı Gemlik çeşidi zeytin örneği kullanılmıştır. Zeytinler, arazide hastalık tespit edilen ağaçlardan hasat edilmiştir. Hasat edilen meyveler hastalık şiddetine göre sınıflandırılmış olup hastalık şiddeti Sezgin ve ark. (10) tarafından geliştirilen yöntem, zeytin meyvelerine uyarlanarak aşağıda verilen 0-4 skalasına göre Tawsend-Heuberger formülü yardımıyla hesaplanmıştır.

| Skala Değeri | Hastalık Tarifi |
|---------------------|--|
| 0 | Meyve sağlam, lezyon ve çürüme yok %0 |
| 1 | Meyve 1/4'ünde lezyon ve çürüme varsa %25 |
| 2 | Meyve 2/4'ünde lezyon ve çürüme varsa %50 |
| 3 | Meyve 3/4'ünde lezyon ve çürüme varsa %75 |
| 4 | Meyve 4/4'ünde lezyon ve çürüme varsa %100 |

Zeytinyağı Eldesi

Hasat edilen ve hastalık şiddetine göre sınıflandırılan örnekler Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yağ Teknolojisi laboratuvarına getirilmiştir. Zeytin meyveleri geleneksel zeytinyağı üretimine uygun olacak şekilde önce laboratuvar ölçekli diskli kırıcıda kırılmış, sonra oda sıcaklığında 25 dk boyunca malakse edilmiştir. Malaksiyon işlemi için labortauvar tipi dikey karıştırıcı kullanılmış ve karıştırma etkinliğini artırmak üzere paletler monte edilmiştir. Malaksiyon sırasında ezmeye su ilavesi yapılmamıştır. Elde edilen zeytin ezmesi basınç altında preslenerek katı ve sıvı (yağ ve su) faz ayrılmıştır. Sıvı faz 6000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüj edilerek zeytinyağı ve su birbirinden ayrıldıktan sonra elde edilen zeytinyağı örnekleri analizler süresince +4°C'de azot atmosferi altında muhafaza edilmiştir.

Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Zeytin meyvelerinin nem ve yağ içeriği

Zeytinlerin nem içeriğinin belirlenmesi için 10 g zeytin parçalanmış, 105°C'deki etüvde 24 s süresince kurutulmuş, bir desikatörde soğutulmuş, tekrar tartılmıştır. Yağ miktarı ise AOCS Am 2-93 (11) sokselet yöntemine göre n-hekzan kullanılarak belirlenmiştir.

Ham zeytin meyvelerinde ve zeytinyağı örneklerinde fenolik ekstraktların hazırlanması ve fenolik madde bileşimi ile toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi

Zeytin meyvesinden fenolik maddelerin ekstraksiyonunda çekirdeği uzaklaştırılan ve kahve değirmeninde ezilen zeytinden 1.5 g tartılmış, üzerine 20 mL metanol/su (80:20, v/v) karışımı eklenmiştir. Homojenizatörde 3 dk homojenize edildikten sonra, azot altında manyetik karıştırıcıda 3 dakika tutulmuştur. Ardından ekstrakt Whatman 40 filtre kâğıdından süzülümüş ve süzüntüye 20 mL hekzan eklenmiştir. Azot altında manyetik karıştırıcıda 3 dk bekletilen karışımdan ayırma hunisi kullanılarak metanol:su fazı ayrılmıştır (12).

Zeytinyağı örneklerinin fenolik maddelerin ekstraksiyonunda ise deney tüpüne 2.5 g yağ tartılmış üzerine 2.5 mL metanol eklenmiştir. Kapağı kapatıldıktan sonra 1 dk vorteksde karıştırılmıştır. Ardından 5000 rpm'de 2 dk santrifüj yapılmış ve üst faz fenolik madde miktarı ve bileşimi için kullanılmıştır (13).

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için Folin Ciocalteu yöntemi (14) kullanılmıştır. 0.2 mL fenolik ekstrakt üzerine 4.8 mL su eklenmiştir. Daha sonra 0.5 mL Folin çözeltilisinden eklenip 3 dakika karanlıkta bekletilmiş, süre sonunda 1 mL %35'lik (w/v) doymuş sodyum karbonat ilave edilmiştir. 10 ml'ye su ile tamamlandıktan sonra 2 saat karanlıkta bekletilmiş ve 725 nm'de Hitachi U-2800 spektrofotometrede (Tokyo, Japonya) şahide karşılık absorpsiyon ölçülmüştür. Sonuç kafeik asit eşdeğeri olarak (mg kafeik asit/g ekstrakt) verilmiştir. Zeytinyağı örneklerinin fenolik bileşenleri yüksek performans sıvı kromatografi cihazı ile Inertsil (250x4.6 mm², ODS-3, 5 mm, Tokyo, Japonya) kolon kullanılarak belirlenmiştir. Mobil faz %90 su (%0.2'lik (v/v) asetik asit çözeltilisiyle pH 3.1'e ayarlanmış) ve %10 metanol (v/v) karışımıdır. Fırın sıcaklığı 35°C olup, deteksiyon için fotodiyot detektör ile 280 ve 320 nm dalga boyları kullanılmıştır.

Natürel zeytinyağlarının bazı kalite analizleri [Serbest yağ asidi, peroksit değeri, ultraviyole özgül soğurma değerleri (K_{232} konjuge dien, ΔK)]

Serbest yağ asitliği, peroksit değeri, konjuge dien, K_{232} ve ΔK değerleri sırasıyla AOCS Ca 5a-40, Cd 8-53, Ti 1a-64, Ch 5-91 (11) yöntemlerine göre belirlenmiştir. Serbest yağ asitliği (oleik asit cinsinden), etanol:dietil eter (1:1) karışımında çözünen yağ örneğinin sodyum hidroksit çözeltilisi ile titre edilmesiyle belirlenmiştir. Peroksit değeri (meq O₂/kg yağ) yağ örneğinin kloroform:asetik asit (3:2) karışımında çözüldükten sonra potasyum iyodür ile reaksiyonu sokulması; serbest hale gelen iyodun sodyum tiyosülfat ile titre edilerek miktarının bulunması yöntemiyle belirlenmiştir. K_{232} değeri, yağ örneğinin 232 nm'deki özgül absorpsiyon değerinin spektrofotometrik yöntemle belirlenmesi ve 1 nolu eşitliğin kullanılmasıyla elde edilmiştir. Konjuge dien değeri aşağıda verilen 2 nolu eşitlik ile hesaplanmış olup ΔK değeri ise 3 nolu eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır.

(1 nolu eşitlik)

$$K = (E / c \times l)$$

K_{λ} = λ dalga boyundaki özgül soğurma;

E_{λ} = λ dalga boyunda ölçülen soğurma;

c = örnek konsantrasyonu (g/100 mL)

l = kuvarz küvetin uzunluğu (cm)

(2 nolu eşitlik)

$$\text{Konjuge dien (\%)} = 0.84 \times [(A_s / b_c) - K_o]$$

K_o : asit ve ester gruplarının absorptivitesi (asitler için 0.03, esterler için 0.07)

A_s : 232 nm'deki özgül absorpsiyon değeri

b : ölçümde kullanılan spektrofotometrik küvet uzunluğu

c : örnek konsantrasyonu (g/L)

(3 nolu eşitlik)

$$\Delta K = K_m - [(K_{m-4} + K_{m+4}) / 2]$$

K_m : m dalga boyunda özgül soğurma

İstatistik Analiz

Elde edilen veriler, SPSS 15.0 paket programı kullanılarak istatistiki değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizi tekniği ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki fark belirlenerek, bu farklılığın önem derecesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılarak incelenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Zeytin Meyve Özellikleri

Hastalık şiddetinin meyvelerin nem, yağ ve toplam fenolik madde içeriğine etkisi Çizelge 1'de verildiği gibidir. Meyvelerin nem içeriği %45.13-49.04 arasında, yağ içeriği ise %23.44-24.66

arasında değişen değerler almıştır. Hastalık şiddeti arttıkça meyvelerin nem içeriğinin genel olarak düştüğü, yağ içeriğinin ise değişmediği gözlenmektedir. Zeytinlerin toplam fenolik madde içeriği ise 3388.38-7728.77 mg/kg arasında değişen değerler almıştır. Yorulmaz ve ark. (15) farklı zeytin çeşitlerinde fenolik madde içeriğini inceledikleri çalışmalarında Gemlik zeytin çeşidi için ortalama 6610.88 mg/kg düzeyinde toplam fenolik madde tanımlamışlardır. Vinha ve ark. (12) Portekiz'de yetiştirilen zeytin çeşitlerinin fenolik madde miktarlarının 4364 ile 75215 mg/kg arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir. Boskou ve ark. (16) farklı çeşit kahvaltılık zeytinlerden elde edilen çekirdeklere kafeik asit cinsinden 510 ile 2560 mg/kg arasında değişen oranlarda fenolik madde bulunduğunu bildirmişlerdir. Çizelge 1 incelendiğinde, zeytinlerdeki toplam fenolik madde içeriğinin hastalık şiddeti arttıkça düştüğü, ancak hastalığın en şiddetli olduğu örneklerde maksimum değere ulaştığı gözlemlenmektedir.

Zeytinyağı Özellikleri

Hastalık şiddetinin zeytinyağlarının kalite parametreleri ve toplam fenolik madde içeriğine etkisi Çizelge 2'de verildiği gibidir. Zeytinyağı örneklerinin serbest yağ asidi içerikleri %0.91-1.57 arasında değişmiş ve Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı Tebliği'nde natürel birinci sınıf zeytinyağları için belirlenen limitler içinde yer almıştır. Yağ örneklerinin serbest asit içerikleri Vertisilyum solgunluğu hastalık şiddeti ile doğrusal bir ilişki göstermemiştir. Bitkisel yağlarda birincil oksidasyon ürünleri ile ilgili bilgi veren peroksit değeri hastalıklı ağaçlardan elde edilen yağ örneklerinde 8.07-14.20 meq O₂/kg yağ arasında değişen değerleri almış ve Türk Gıda Kodeksi Zeytinyağı Tebliği'nde natürel zeytinyağları için belirlenen

Çizelge 1. Verticillium solgunluğu hastalık şiddetinin meyve nem (%), yağ (%) ve toplam fenolik madde (mg/kg) içeriğine etkisi
Table 1. Effect of Verticillium wilt disease incidence on fruit water (%), oil (%) and total phenol (mg/kg) content

| Hastalık şiddeti Disease incidence | Nem (%) Water (%) | Yağ (%) Oil (%) | Toplam fenolik madde (mg/kg) Total phenolic compounds (mg/kg) |
|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------|--|
| 0 | 49.04 ^a ±0.99 | 24.33 ^a ±1.20 | 5596.26 ^{ab} ±2624.50 |
| 1 | 47.50 ^{bc} ±2.34 | 23.97 ^a ±0.97 | 4642.95 ^a ±701.45 |
| 2 | 45.68 ^a ±1.09 | 24.14 ^a ±1.21 | 3836.59 ^a ±1524.91 |
| 3 | 46.66 ^{ab} ±0.48 | 24.66 ^a ±1.72 | 3388.38 ^a ±1155.44 |
| 4 | 45.13 ^a ±0.69 | 23.44 ^a ±2.14 | 7728.77 ^a ±1225.58 |

^a Aynı sütunda istatistiki olarak farklı örnekler farklı simgeler ile belirtilmiştir ($P < 0.05$).

^a Different superscript letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$).

20 meq O₂/kg'lık limiti aşmamıştır. Peroksit değerleri hastalık şiddeti ile doğru orantılı ilişki göstermiştir. K₂₃₂ değeri yağlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin konjugasyonunu ifade etmektedir ve genel olarak hastalık şiddetiyle artış eğilimi göstermiştir. Konjuge dien değerlerinin 3. hastalık şiddetinde diğerlerinden farklı olarak düşük bir değer gösterse de, hastalık şiddetinin artmasıyla artış gösterdiği çizelgeden gözlemlenmektedir. Zeytinyağı örneklerine ait ΔE değerleri Türk Gıda kodeksinin belirlediği 0.01 değerinin altında olup, hastalık şiddetiyle artış göstermiş ve hastalığın en fazla olduğu 4 skala değerindeki örneklerde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Yağ örneklerinin spektrofotometrik olarak belirlenen toplam fenolik madde içeriği 126.26-270.55 mg/kg arasında değişen değerler almıştır. Garcia ve ark. (13) İspanyol natürel zeytinyağlarının toplam fenolik madde miktarlarının 330-500 mg/kg arasında değiştiğini rapor etmiştir. G mez-Alonso ve ark. (14) yaptıkları çalışmada, Cornicabra zeytin çeşidinden elde edilen yağların ortalama 308 mg/kg (siringik asit cinsinden) düzeyinde fenolik madde içerdiğini saptamışlardır. Aparicio ve Luna (19) 10 ayrı zeytin çeşidinden elde ettikleri yağları incelemişler ve 200 ile 1000 mg/kg arasında değişen değerler tespit etmişlerdir. Yağ örneklerinin toplam fenolik madde içeriği zeytin meyve fenoliklerine uyumlu olarak hastalık şiddeti arttıkça artmış ve en yüksek değere hastalık skalasının en yüksek olduğu değerde ulaşmıştır.

Vertisilyum hastalık şiddetinin elde edilen zeytinyağlarının fenolik madde dağılımına etkisi

Çizelge 3'te verildiği gibidir. Yağ örneklerinde temel olarak 2,4-hidroksifeniletanol (tirozol), siringik asit, *p*-kumarik asit, luteolin-7-glukozit, *trans* sinamik asit, luteolin ve apigenin varlığı tespit edilmiştir. Ocakoğlu ve ark. (20) yaptıkları çalışmada Türk zeytinyağlarında hidroksitirozol, 4-hidroksibenzoik asit, tirozol, 2,3-dihidroksibenzoik asit, 4-hidroksifenilasetik asit, kafeik asit, vanilik asit, vanilin, siringik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, sinamik asit, luteolin ve apigenin varlığı tespit etmişlerdir. Garcia ve ark. (21) iki farklı zeytin çeşidinden üretilen zeytinyağlarının fenolik madde miktarlarını belirlemişler ve natürel zeytinyağının hidroksitirozol, tirozol, vanilik asit, vanilin, 4-(asetoksietil)-1,2-dihidroksibenzen, *p*-kumarik asit, hidroksitirozol ve tirozola bağlı elenolik asitin dialdehidik formu, 1-asetoksinopinesin, pinosin, oleuropein aglukon, luteolin, ligstrosit aglikon ve apigenine sahip olduğu bildirmişlerdir. Brenes (22) yaptığı çalışmada, farklı zeytin çeşitlerinden elde ettiği zeytinyağlarında 3,4-DHPEA-AC (4-(asetoksietil)-1,2-dihidroksibenzen), 3,4-DHPEA-EDA (elenolik asidin hidroksitirozole bağlı dialdehidik formu), *p*-HPEA-EDA (elenolik asidin tirozole bağlı dialdehidik formu), 3,4-DHPEA-EA (oleuropein aglikonu), *p*-HPEA-EA (ligstrosit aglikonu) varlığını tespit etmişlerdir. Çizelge incelendiğinde temel fenoliğin luteolin olduğu ve 228.99-414.24 mg/kg arasında değişen değerler aldığı görülmektedir. Murkovic ve ark. (13) yaptıkları çalışmada beş farklı zeytinyağı örneğini analiz etmişler ve bu yağlarda 1.9-7.0 mg/kg arasında değişen düzeylerde luteolin tespit etmişlerdir. Romani ve ark. (23) ise

Çizelge 2. Verticillium solgunluğu hastalık şiddetinin zeytinyağının kalite parametreleri ile toplam fenol içeriğine etkisi
Table 2. Effect of Verticillium wilt disease incidence on quality parameters and total phenol content of virgin olive oil

| | Hastalık şiddeti Disease incidence | | | | |
|---|------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Serbest yağ asitliği (%) Free fatty acidity (%) | 0.95 ^a ±0.12 | 1.06 ^{ab} ±0.09 | 1.29 ^b ±0.35 | 0.91 ^a ±0.08 | 1.57 ^c ±0.07 |
| Peroksit değeri (meq O ₂ /kg yağ) Peroxide value (meq O ₂ /kg oil) | 9.60 ^{ab} ±1.52 | 8.07 ^a ±0.98 | 12.28 ^{bc} ±4.54 | 12.59 ^{bc} ±1.20 | 14.20 ^c ±1.67 |
| K ₂₃₂ | 1.87 ^a ±0.08 | 1.99 ^b ±0.05 | 2.03 ^b ±0.06 | 1.94 ^{ab} ±0.07 | 2.14 ^c ±0.10 |
| Konjuge dien Conjugated dien | 1.51 ^a ±0.07 | 1.61 ^b ±0.04 | 1.65 ^b ±0.05 | 1.57 ^{ab} ±0.06 | 1.74 ^c ±0.09 |
| ΔE | 0.0019 ^{ab} ±0.0004 | 0.0018 ^a ±0.0003 | 0.0024 ^c ±0.0004 | 0.0022 ^{bc} ±0.0001 | 0.0032 ^c ±0.0002 |
| Toplam fenolik madde (mg/kg) Total phenolic compound (mg/kg) | 103.30 ^a ±18.9 | 126.26 ^a ±47.82 | 130.60 ^a ±68.12 | 188.95 ^a ±24.26 | 270.55 ^b ±145.03 |

^a Aynı satırda istatistiki olarak farklı örnekler farklı simgeler ile belirtilmiştir (P < 0.05).

^a Different superscript letters in the same row indicate significant difference (P < 0.05).

analiz ettikleri zeytinyağlarında 1.08-8.58 mg/L yağ düzeyinde luteolin varlığı belirlemişlerdir. Yorulmaz ve ark. (15) Türk zeytinyağlarının fenolik madde bileşenlerini inceledikleri çalışmalarında Gemlik çeşidi zeytinyağı için ortalama 71.81 mg/kg düzeyinde luteolin tanımlamışlardır. Çalışmada bu değerlerin çok üzerinde luteolin miktarı tanımlanmıştır. Hastalık şiddeti ile luteolin arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir. *Trans* sinnamik asit ve luteolin-7-glikozit luteolinden sonra yağ örneklerinde en fazla bulunan bileşiklerdir. Ancak miktarları oldukça düşüktür. *Trans* sinnamik asit 2.78-4.61 mg/kg, luteolin-7-glikozit ise 1.77-5.14 mg/kg arasında değişen değerler almıştır. G mez-Alonso ve ark. (18) yaptıkları çalışmada *trans* sinnamik asit ve 1-asetoksinpinoresinol toplamının Cornicabra zeytin çeşidinden elde edilen yağlarda ortalama 1.57 mg/kg düzeyinde yer aldığı bildirmişlerdir. Apigenin yağ örneklerinde 0.75-2.39 mg/kg arasında değişen değerler almıştır. Murkovic ve ark. (13) yaptıkları çalışmada zeytinyağı örneklerinde 0.68-1.6 mg/kg düzeyinde apigenin tespit etmişlerdir. Ocakoğlu ve ark. (20) ise farklı çeşitlerden elde ettikleri yağlarda 1.66-24.04 mg/kg düzeyinde apigenin belirlemişlerdir. Tirozol, *p*-kumarik asit, luteolin-7-glikozit, *trans* sinnamik asit hastalık şiddetinden etkilenmezken, diğer fenoliklerin hastalık şiddetinden etkilendiği gözlemlenmektedir. Ancak yağ örneklerinin fenolik

dağılımı ile hastalık şiddeti arasında doğrusal bir korelasyon tespit edilmemiştir.

Mevcut çalışma Verticillium solgunluğunun yağ kalite parametreleri ve fenolik bileşenlere etkisini inceleyen ilk çalışma niteliğindedir. Elde edilen sonuçlar, hastalık şiddetinin yağ kalite parametrelerini olumsuz, ancak toplam fenolik madde içeriğini olumlu yönde etkilediğini ortaya koymuştur. Bulgular, hastalığın bitkide yol açtığı fenolik oluşum mekanizmasını açıklamaya yönelik gerçekleştirilecek olan araştırmalar için kaynak niteliğindedir. Hastalığın, bitkiden elde edilecek yağın trigliserit, yağ asidi, tokoferol ve sterol kompozisyonu gibi diğer bileşenler üzerine etkisi de henüz çalışılmamış konulardır. Benzer çalışmaların ülkemizde yetiştirilen diğer zeytin çeşitleri için de gerçekleştirilmesi hastalığın kalite kaybı sebebiyle yol açtığı ekonomik zarara da dikkat çekmek açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Yolageldi L. 2002. Zeytinde Verticillium solgunluğu. *J. of AARI*, 12(1), 156-173.
2. Ladux JL, Jotayan L, Otero ML, González Vera C, Ortiz J. 2014. Incidence of *Verticillium dahliae* in traditional orchards of the olive 'Arauco' in northwest Argentina (La Rioja). *Acta Hort*, 1057, 127-132.

Çizelge 3. Verticillium solgunluğu hastalık şiddetinin zeytinyağının fenolik madde dağılımına etkisi (mg/kg)

Table 3. Effect of Verticillium wilt disease incidence on phenolic compound distribution of virgin olive oil (mg/kg)

| | Hastalık şiddeti Disease incidence | | | | |
|--|------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Tirozol <i>Tyrosol</i> | 0.65 ^a ±0.42 | 0.89 ^a ±0.49 | 0.43 ^a ±0.20 | 0.57 ^a ±0.21 | 0.66 ^a ±0.57 |
| Siringik asit <i>Syringic acid</i> | 0.34 ^b ±0.11 | 0.23 ^{ab} ±0.13 | 0.36 ^b ±0.10 | 0.22 ^{ab} ±0.05 | 0.14 ^a ±0.10 |
| <i>p</i> -kumarik asit <i>p-coumaric acid</i> | 0.12 ^a ±0.08 | 0.08 ^a ±0.08 | 0.28 ^a ±0.25 | 0.12 ^a ±0.12 | 0.26 ^a ±0.10 |
| Luteolin-7-glikozit <i>Luteolin-7-glycoside</i> | 4.23 ^a ±3.63 | 5.14 ^a ±5.90 | 2.40 ^a ±1.86 | 1.77 ^a ±0.34 | 2.05 ^a ±1.43 |
| <i>Trans</i> sinnamik asit <i>Trans cinnamic acid</i> | 4.61 ^a ±2.20 | 4.40 ^a ±2.36 | 2.78 ^a ±1.27 | 3.13 ^a ±0.98 | 3.50 ^a ±1.49 |
| Luteolin <i>Luteolin</i> | 379.11 ^{bc} ±57.36 | 414.24 ^a ±156.79 | 228.99 ^a ±47.87 | 329.86 ^{abc} ±55.72 | 286.14 ^{ab} ±56.24 |
| Apigenin <i>Apigenin</i> | 1.03 ^a ±0.72 | 1.28 ^a ±0.51 | 0.75 ^a ±0.50 | 1.13 ^a ±0.28 | 2.39 ^a ±1.44 |

^a Aynı satırda istatistiki olarak farklı örnekler farklı simgeler ile belirtilmiştir ($P < 0.05$).

^a Different superscript letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$).

3. Green RJ. 1980. Soil factors affecting survival of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 58, 567-570.
4. Pérez-Rodríguez M, Alcántara E, Amaro M. 2014. The influence of irrigation frequency on the onset and development of Verticillium wilt of olive. *Plant Dis.* 99, 488-495.
5. Pérez-Rodríguez M, Orgaz F, Lorite IJ, Lopez-Escudero FJ. 2015. Effect of the irrigation dose on Verticillium wilt of olive. *Sci Hort*, 197, 564-567.
6. Tatlı A. 2013. Zeytin ağaçlarında vertisilyum solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.). *Zeytin ve Zeytinyağı*, 27, 56-59.
7. Arriagada C, García-Sánchez M, Sampedro I, Aranda E, García-Romera I, Ocampo JA. 2012. Suppressive effect of olive residue and saprophytic fungi on the growth of *Verticillium dahliae* and its effect on the dry weight of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *J Soil Sci and Plant Nutr*, 12, 303-313.
8. Harborne JB, Dey PM. 1989. *Methods in Plant Biochemistry*. Academic Press, London, 414 p.
9. Boskou D. 1996. *Olive Oil Chemistry and Technology*, AOCS Press, Champaign, IL, 161 p.
10. Sezgin E, Karcioğlu A, Esentepe M, Onan E. 1984. Ege Bölgesinde Ticari Amaçla Yetiştirilen Süs Bitkilerinde Görülen Hastalık Olanaklarının Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Bornova Bölge Ziraî Mücadele Arş. Enst., A- 1051023/1 no'lu proje.
11. AOCS. 1989. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press, Champaign.
12. Vinha AF, Ferreres F, Silva BM, Valentão P, Gonçalves A, Pereira JA, Oliveira B, Seabra RM, Andrade PB. 2005. Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chem.*, 89, 561-568.
13. Murkovic M, Lechner S, Pietzka A, Bratacos M, Katzogiannos E. 2004. Analysis of minor components in olive oil. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 61, 155-160.
14. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 58, 966-968.
15. Yorulmaz A, Poyrazoglu ES, Ozcan MM, Tekin A. 2012. Phenolic profiles of Turkish olives and olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 114, 1083-1093.
16. Boskou D. 2006. *Olive Oil Chemistry and Technology*. AOCS Press, Champaign, IL, 268 p.
17. Garcia A, Brenes M, Romero C. 2002. Study of phenolic compounds in virgin olive oils of the Picual variety. *Eur. Food Res. Technol.*, 215, 407-412.
18. Gómez-Alonso S, Salvador MD, Fregapane G. 2002. Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. *J. Agric. Food Chem.*, 50 (23), 6812-6817.
19. Aparicio R, Luna G. 2002. Characterization of monovarietal virgin olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 614-627.
20. Ocañoğlu D, Tokatlı F, Ozen B, Korel F. 2009. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chem.*, 113, 401-410.
21. Garcia A, Brenes M, Martinez F, Alba J, Garcia P, Garrido A. 2001. High performance liquid chromatography evaluation of phenols in virgin olive oil during extraction at laboratory and industrial scale. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 78, 625-629.
22. Brenes M, Hidalgo FJ, Garcia A, Rios JJ, Garcia P, Zamora R, Garrido A. 2000. Pinoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 77, 715-720.
23. Romani A, Pine P, Mulinacci N, Galardi C, Vincieri FF, Liberatore L, Cichejli A. 2001. HPLC and HRGC analyses of polyphenols and secoiridoid in olive oil. *Chromatographia*, 53, 279-284.

EFFECT OF DRYING PROCESS ON PESTICIDE RESIDUES IN GRAPES

Ayşe Özbey^{1*}, Şeyda Karagöz², Ali Cingöz³

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Ömer Halisdemir University, Niğde, Turkey

²Department of Food Technology Zile Vocational High School, Food Technology,

Gaziosmanpaşa University, Zile, Tokat, Turkey

³Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Natural Sciences,

Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey

Received / Geliş tarihi: 03.11.2016

Received in revised form / Düzeltilek Geliş tarihi: 28.11.2016

Accepted / Kabul tarihi: 01.12.2016

Abstract

In this study, drying kinetics of chlorpyrifos, diazinon, dimethoate and methidathion pesticides on grape samples were determined. Grapes were dried under two conditions: by sunlight (for 21 days) and in a ventilated oven at different temperatures (at 50 °C for 72 hrs, at 60 °C for 60 hrs, at 70 °C for 48 hrs, at 80°C for 36 hrs). During sun drying, half-lives of chlorpyrifos, diazinon and methidathion were 5.64, 6.42 and 5.25 days, respectively. The data for dimethoate did not fit 0th, 1st and 2nd order kinetics. During oven-drying, the pesticides followed the first order kinetic model. When the temperature increased, degradation of pesticides raised. The activation energies of dimethoate, diazinon, chlorpyrifos and methidathion were calculated as 42.02, 42.18, 42.01 and 41.08 J/mol, respectively.

Keywords: Grape, oven-drying, pesticides, sun-drying

KURUTMA İŞLEMİNİN ÜZÜMLERDE BULUNAN PESTİSİTLER ÜZERİNE ETKİSİ

Öz

Bu çalışmada üzümde bulunan chlorpyrifos, diazinon, dimethoate ve methidathion pestisitlerinin kurutma kinetikleri belirlenmiştir. Güneşte ve farklı sıcaklıklarda (50°C'de 72 saat, 60°C'de 60 saat, 70°C'de 48 saat, 80°C'de 36 saat süre ile) hava akımlı etüvde kurutma işlemi olmak üzere iki farklı kurutma işlemi uygulanmıştır. Güneşte kurutma işleminde chlorpyrifos, diazinon ve methidathion pestisitlerinin yarılanma ömürleri sırasıyla 5.64, 6.42 ve 5.25 gün olarak bulunmuştur. Dimethoate verileri 0., 1. ve 2. derece kinetik uyumu göstermemiştir. Sıcaklık yükseldikçe pestisitlerin parçalanması artmıştır. Dimethoate, diazinon, chlorpyrifos ve methidathionun aktivasyon enerjileri sırasıyla 42.02, 42.18, 42.01 ve 41.08 J/mol olarak hesaplanmıştır.

Anahtar kelimeler: Üzüm, fırında kurutma, pestisit, güneşte kurutma

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ayse.ozbey@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 225 4305,

☎ (+90) 388 225 0110

INTRODUCTION

Grapes are one of the most popular and the widespread cultural fruit in the world. World's fresh grape production is about the 65 million tons per year and the 7.5 million hectares of the world are dedicated to grapes (1, 2). Grapes are nutritionally important fruit crops of international trade significance and consumed both as fresh and processed products. The use of pesticides can be beneficial in protecting crops, thereby increasing agriculture production. However multiple applications of a variety of pesticides can lead to residues within the food product (3, 4). Since there is need for pesticide treatments on grapes as near as possible to harvest, high residues could be present on grapes at harvest time (5). Raisins are dehydrated grapes manufactured by exposure to sunlight or oven-drying. It is one of the most important and popular dried fruits in the world because of their high nutrition value (6). The different drying processes have different effects on pesticide residues on raw commodity since sun light may additionally photodegrade pesticide residues (7).

Food processing usually causes a decrease in pesticide levels. However, in some cases, residue levels may increase in the final product due to concentration factors of raw commodities in the process of the final product. This concentration effect can be related with water removal for example in the production of dry fruit such as raisins and prunes. Processing factors assist in the dietary-intake assessment of processed commodities (8). They are also used in recommending MRLs for processed products with an existing Codex commodity code, but only if the processing leads to an increase of the residue level (7, 9, 10).

The objectives of this work were to determine the effects of sun-drying and oven-drying on chlorpyrifos, diazinon, dimethoate and methidathion residues on grapes.

MATERIAL AND METHODS

Materials

The Sultana grape samples were supplied from Manisa (Turkey) in September 2012. Chlorpyrifos (98.5%), diazinon (99.0%), dimethoate (98.5%) and methidathion (98.5%) standarts were

purchased from the Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany).

Apparatus and Chromatography

Analysis of pesticides was performed using a Perkin Elmer Clarus 500 GC-MS. The separation was conducted on a CP-Sil 8-ms capillary column (30 m, 0.25 mm id, 0.25 µm film thickness). Helium was used as the carrier gas at the flow rate of 1.3 mL min⁻¹, and the injection volume was 5.0 µL. The injection port temperature was held at 250 °C at the split mode with the split ratio of 1:5. The oven temperature was programmed as follows: 75 °C held for 3.0 min, and then the temperature was increased to 180 °C at a rate of 25 °C min⁻¹ and then the temperature was raised to 300 °C at a rate of 5 °C min⁻¹ and maintained for 3 min. Dedector was operated on the EI (70 eV) ionization mode. Scan mode was fullscan (40 m/z–360 m/z), interface temperature and ion source temperature were 250°C. Processing data was performed using NIST 2008 and Wiley 2002 libraries.

Drying Processes

To evaluate the effect of drying process on pesticide residues, Sultana grape treated with pesticides (chlorpyrifos 45µL/kg, diazinon 50µL/kg, dimethoate 50µL/kg, methidathion 45µL/ kg) through spraying onto surface. To maintain the penetration of pesticides, the grapes were kept in a closed container for 12 hours at room temperature. Then grapes were separated from stems and dried. Grapes were dried under two conditions: by sunlight (for 21 days) and in a ventilated oven at different temperatures (at 50 °C for 72 hrs, at 60 °C for 60 hrs, at 70 °C for 48 hrs, at 80°C for 36 hrs). Moisture content and pesticide analyses were conducted at equal time intervals. Moisture content was determined according to AOAC (11).

Pesticide Analysis

QuECHERS method (12) was used to extract pesticides residues from grapes. Grape samples were homogenized and 15 g of each homogenate was weighed into a 50 mL centrifuge tube. Then 15 mL MeCN was added into tube. Tubes were capped well and shaken vigorously by hand for 45 s. 6 g anhydrous MgSO₄ and 1.5 g NaCl were

added and shaken. Tubes were centrifuged at 3000 rpm for 1 min. Extracts were decanted into the dispersive-SPE tubes containing 0.3 g PSA + 1.8 g anhydrous MgSO₄. Tubes were capped well, shaken by hand for 20 s and centrifuged for 1 min at 3000 rpm. Supernatant were then analysed by GC/MS.

The recoveries were ranged from 88 to 98%. Detection limit was 0.02 mg/kg for all pesticides.

Drying Kinetics

Food processing studies often results in transfer factors or food processing factors (PF) of the pesticide residue in the transition from raw agriculture commodity to the processed product. Processing factors are calculated and considered by JMPR (13) as follows:

$$\text{Processing factors} = \frac{\text{residue level in processed commodity}}{\text{residue level in raw commodity}} \quad (1)$$

In order to determine degradation kinetics, the obtained data were evaluated with zero-order, first-order and second-order kinetic models. All pesticides obey first order kinetic model during drying. The experimental data were fitted according to simple first-order rate:

$$\frac{C}{C_0} = e^{-kt}$$

In this equation, C₀ is the initial concentration of the pesticides, k is the rate constant. Half-lives (t_{1/2}) were calculated from the equation:

$$t_{1/2} = \ln(2) / k$$

The temperature dependence of rate constants was described by the Arrhenius equation. Activation energy of pesticides during oven drying was calculated according to Arrhenius equation:

$$k = A e^{-E_a/RT}$$

E_a: Activation energy

R: Gas constant (8.3145 J mol⁻¹ K⁻¹)

T: Absolute temperature

A: Frequency factor

Since rate constants were determined at two temperatures, the following formula derived from the Arrhenius equation was used to calculate activation energy.

$$\ln(k_1 / k_2) = -E_a/R (1/T_1 - 1/T_2)$$

RESULTS AND DISCUSSION

Sun Drying

The moisture content of the fruits reduced to ~10-12%. Chlorpyrifos, diazinon, methidathion and dimethoate disappeared 73, 92, 82 and 39%, respectively. Processing factors of pesticides are given in Table 1. All pesticides decreased during all drying processes. These results supported by previous work (14).

Figure 1 shows the first order kinetic behaviours of chlorpyrifos, diazinon and methidathion during sun-drying. Half-lives of chlorpyrifos, diazinon and methidathion were 5.64, 6.42 and 5.25 days, respectively. The data for dimethoate did not fit zero, first and second order kinetics.

During sun-drying dimethoate decreased by 39% probably due to not having chromophores in the molecules (15). Chlorpyrifos, diazinon and methidathion reduced considerably because of their chromophores. Table 2 shows the physical-chemical characteristics of pesticides. As seen from the Table 2, hydrolysis and photolysis are the main mechanisms for the decrease during sun drying. We found that diazinon level mostly decreased because it was very sensitive to photodegradation. Chlorpyrifos level was higher than methidation level after drying although chlorpyrifos more sensitive to photodegradation. However chlorpyrifos was least water soluble pesticide and hydrolysis rate was slower than methidation.

Table 1. Processing factors of pesticides

| Process | Dimethoate | Diazinon | Chlorpyrifos | Methidathion |
|------------|------------|----------|--------------|--------------|
| 80 °C | 0 | 0 | 0.09 | 0.02 |
| 70 °C | 0.01 | 0 | 0.04 | 0.06 |
| 60 °C | 0.03 | 0.01 | 0.12 | 0.13 |
| 50 °C | 0.64 | 0.02 | 0.22 | 0.35 |
| Sun-drying | 0.60 | 0.08 | 0.26 | 0.18 |

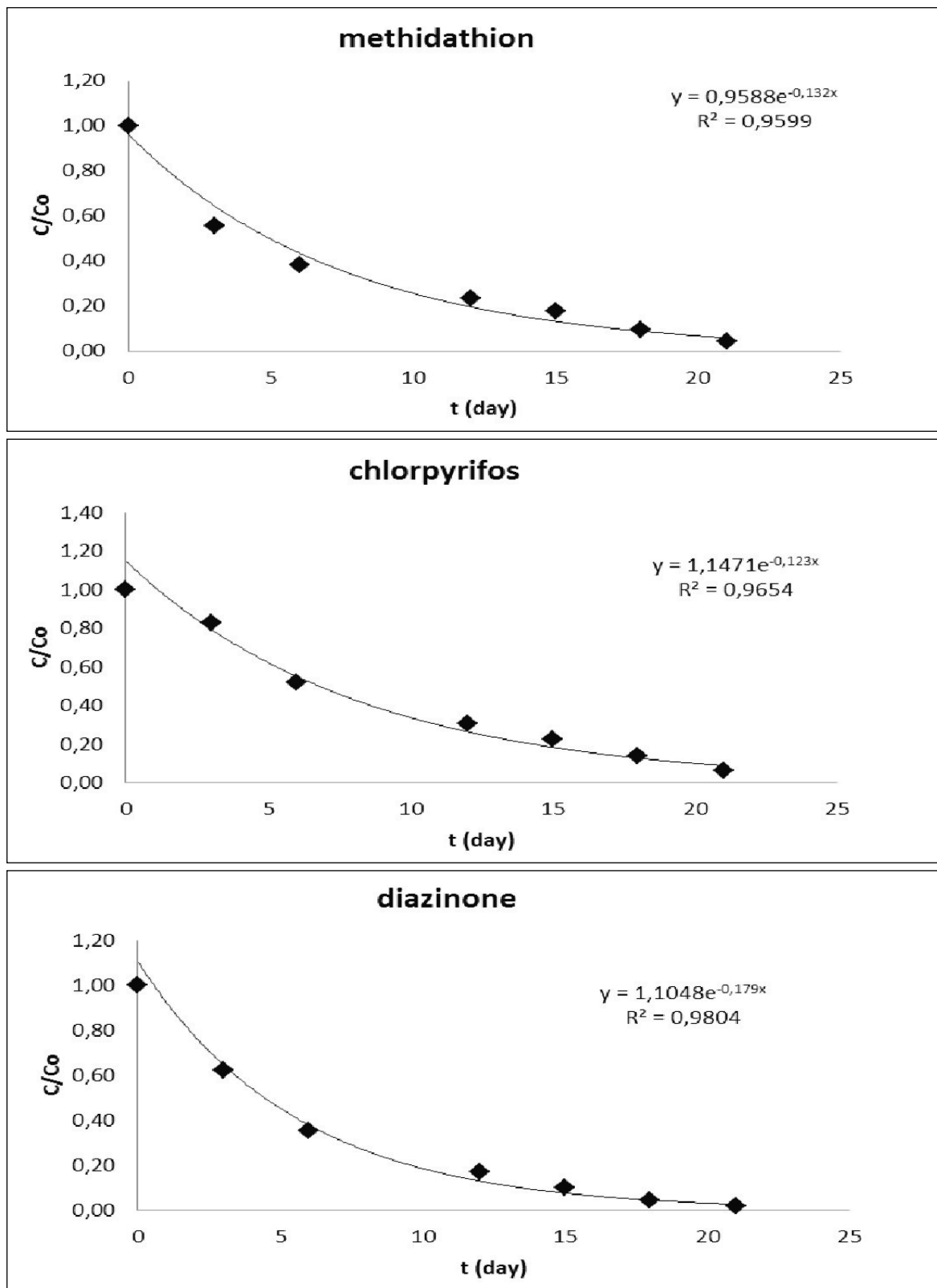


Figure 1. The first order kinetic behaviours of methidathion, chlorpyrifos and diazinon during sun-drying

Table 2. Physico-chemical properties of pesticides

| Parameter | ^a Dimethoate | ^b Diazinon | ^c Chlorpyrifos | ^d Methidathion |
|--|-------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| Solubility in water | 39.8 g/L | 40 mg/L | 0.39 mg/L | 221 mg/L |
| Octanol/water partition coefficient | 0.704 | 3.30 | 5.0 | 2.22 |
| Photolysis characteristics t1/2 (summer) | - | 4 days | 4.2 days | 8.2 days |
| Hydrolysis characteristics t1/2 at pH5 | 72 days | 156 days | 38 days | 37 days |

(^a18, ^b16, ^c17, ^d19)

Table 3. Kinetic models of pesticides at 50 °C and 60 °C

| Pesticides | 50 °C | 60 °C |
|--------------|---|---|
| Dimethoate | $y = 16.635e^{-0.067x}$ $R^2 = 0.975$ | $y = 1.4105e^{-0.11x}$ $R^2 = 0.949$ |
| Diazinon | $y = 1.763e^{-0.078x}$ $R^2 = 0.9506$ | $y = 0.8564e^{-0.153x}$ $R^2 = 0.9689$ |
| Chlorpyrifos | $y = 1.2039e^{-0.044x}$ $R^2 = 0.9395$ | $y = 0.8424e^{-0.072x}$ $R^2 = 0.9607$ |
| Methidathion | $y = 1.1394e^{-0.035x}$ $R^2 = 0.9344$ | $y = 0.9539e^{-0.064x}$ $R^2 = 0.9736$ |

Oven Drying

When the temperature increased, degradation of pesticides raised (Table 1). Drying in the oven at 70 °C and 80 °C cause drastic reduction (above 90%) in short time. Therefore those data were not convenient for kinetic evaluation.

During oven-drying, the pesticides followed the first order kinetic model. Table 3 summarizes the pesticide degradation rate constants and regression coefficients obtained. Half-lives of chlorpyrifos, diazinon, methidathion and dimethoate were respectively 15.75, 8.89, 19.8, 10.35 hours at 50°C and 9.63, 4.53, 10.83, 6.3 hours at 60 °C.

The activation energies of dimethoate, diazinon, chlorpyrifos and methidathion were calculated as 42.02, 42.18, 42.01 and 41.08 J/mol, respectively. There was no information related to activation energies of pesticides for grapes in the literature.

CONCLUSION

As a result, this study showed that the higher the temperature, the fastest the degradation of pesticides in drying processes of grapes. Physical-chemical characteristics of pesticides were not effective on pesticide residues during oven drying. Thermal degradation was the determinative mechanism for oven drying.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by the Scientific Research Projects Unit of Gaziosmanpasa University.

REFERENCES

- Göktürk Baydar N, Akkurt M. 2001. Oil Content and Oil Quality Properties of Some Grape Seeds. *Turk J Agric For*, 25, 163-168.
- Özden Ç. 2005. Kuru Üzüm (Raisins). T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi. 1-5.
- Savant RH, Banerjee K, Utture SC, Patil SH, Dasgupta S, Ghaste MS, Adsule PG. 2010. Multiresidue Analysis of 50 Pesticides in Grape, Pomegranate, and Mango by Gas Chromatography-Ion Trap Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem*, 58, 1447-1454.
- Turgut C, Örnek H, Cutright TJ. 2010. Pesticide residues in dried table grapes from the Aegean region of Turkey. *Environ Monit Assess*, 67, 143-149.
- Cabras P, Garau VL, Pirisi FM, Cubeddu M, Cabitza F, Spanedda L. 1995. Fate of Some Insecticides from Vine to Wine. *J Agric Food Chem*, 43, 2613-2615.
- Fang Y, Zhang A, Wang H, Li H, Zhang Z, Chen S, Luan L. 2010. Health risk assessment of trace elements in Chinese raisins produced in Xinjiang province. *Food Control*, 21, 732-739.

7. Amvrazi E, Albanis T. 2008. Multiclass pesticide determination in olives and their processing factors in olive oil: Comparison of different olive oil extraction systems. *J Agric Food Chem*, 56, 5700-5709.
8. Amvrazi EG. 2010. Report "Fate of Pesticide Residues on Raw Agricultural Crops after Post harvest Storage and Food Processing to Edible Portions". *Pesticides - Formulations, Effects, Fate*. 28, 576-594.
9. González-Rodríguez RM, Rial-Otero R, Cancho-Grande B, González-Barreiro C, Simal Gándara J. 2011. A Review on the Fate of Pesticides during the Processes within the Food Production Chain. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51, 99-114.
10. Ke Keikotlhaile, BM, Spanoghe P. 2011. Pesticide Residues in Fruits and Vegetables. In: Stoytcheva M (ed) *Pesticides - Formulations, Effects, Fate*. Pesticides - *Formulations, Effects, Fate* Available via InTech. <http://www.intechopen.com/books/pesticides-formulations-effects-fate/pesticide-residues-in-fruits-and-vegetables>.
11. AOAC 1997. Official Methods of Analysis of AOAC International (16th. Pub), (930.15). Arlington, VA, USA.
12. Lehotay SJ, De-Kok A, Hiemstra M, Bodegraven P. 2005. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *JAOAC Int*, 88, 595-612.
13. JMPR 2009. JMPR Practices in Evaluation of Pesticide Residue Data. In: Submission and Evaluation of Pesticide Residue Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed. FAO Plant Production and Protection Paper 197. FAO, Rome, p 68.
14. Cabras P, Angioni A. 2000. Pesticide Residues in Grapes, Wine, and Their Processing Products. *J Agric Food Chem*, 48, 967-973.
15. Katagi T. 2004. Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces. *Rev Environ Contam Toxicol*, 182, 181-189.
16. FAO 1988. Diazinon. FAO Specifications For Plant Protection Products
17. FAO 2004. Chlorpyrifos. FAO Specifications For Plant Protection Products
18. FAO 2012. Dimethoate. FAO Specifications For Plant Protection Products
19. Washburn AD. 2003. The Environmental Fate of Methidathion. <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/methidathion.pdf>

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Yüksel, A.K., Yüksel, M., Şat, İ.G.; *Determination of certain physicochemical characteristics and sensory properties of green tea powder (matcha) added ice creams and detection of their organic acid and mineral contents / Yeşil çay tozu (matcha) ilave edilen dondurmaların duyuşal özellikleri ve fizikokimyasal karakteristiklerinin belirlenmesi, organik asit ve mineral içeriğinin tespiti* 116-126

Batun, P., Bakkalbaşı, E., Kazankaya, A., Cavidoğlu, İ.; *Fatty acid profiles and mineral contents of walnuts from different provinces of Van Lake / Van Gölü çevresindeki farklı bölgelerden elde edilen cevizlerin yağ asidi bileşimleri ve mineral içerikleri*..155-162

Meriç, İ.; *Mineral element and nutrient composition of two newly-introduced fish species (Dentex dentex and Seriola dumerili) in recirculating aquaculture system (RAS) / Kapalı devre su ürünleri sisteminde (RAS) yetiştirilen iki yeni balık türüne (Dentex dentex ve Seriola dumerili) ait mineral madde ve besin kompozisyonu* 163-168

Özbey, A., Karagöz, Ş., Cingöz, A.; *Effect of drying process on pesticide residues in grapes / Kurutma işleminin üzümelerde bulunan pestisitler üzerine etkisi* 204-209

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Yaşdağ, T., Tekin, A.; *Ayçiçek ve pirina yağlarının kızartma stabiliteilerinin karşılaştırılması / Comparison of frying stability of sunflower and olive pomace oil* 105-115

Acar-Soykut, E.; *Streptococcus thermophilus 231-X10 fajının kısmi genomik karakterizasyonu / Partial genomic characterization of Streptococcus thermophilus phage 231-X10* 136-144

Yorulmaz A, Koç M, Bircan C; *Farklı ısıtma tekniklerinin fındık ve kanola yağının sterol bileşimine etkisi / Effect of various heating techniques on sterol composition of hazelnut and canola oils* 145-154

Akyıldız, A., Polat, S., Ağçam, E.; *Konveksiyonel ve dondurarak kurutma yöntemlerinin karpuzun bazı kalite özelliklerine etkisi / Effect of conventional and freeze drying methods on some quality properties of watermelon*169-176

Başığit, B., Çam, M.; *Püskürtmeli kurucutu ile mikroenkapsüle edilmiş nane (Mentha piperita ve Mentha spicata) esansiyel yağının salınım profili / Release profile of mint (Mentha spicata and Mentha piperita) essential oil microencapsulated by spray dryer*.....186-196

Yorulmaz, A., Erinc, H., Tatlı, A., Tekin, A.; *Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen Gemlik çeşidi zeytinlerde verticillium solgunluğunun zeytinyağı kalite parametreleri ve fenolik bileşenlere etkisi / Effect of verticillium wilt in Gemlik variety olives Cultivated in South East Anatolia on quality parameters and phenolic compounds of virgin olive oils* 197-203

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Kılıç, Ö., Dinçer, E.A., Erbaş, M.; *Gıdalarda polisiklik aromatik hidrokarbon bileşiklerinin bulunuşu ve sağlık üzerine etkileri / The presence of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in food and effects on health* 127-135

Karademir, E., Yalçın, E.; *Toksik gluten peptitlerin detoksifikasyonunda yeni yöntemler ve gluten toksisitesinin belirlenmesi / New methods for detoxifying of toxic gluten peptides and determination of gluten toxicity* 177-185