



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ELMA SUYUNDA ISIL İZLENİM SÜRESİNCE POLİFENOL OKSİDAZ,  
PEROKSİDAZ NAKT VASYONU VE FENOL KİMLİKLERİNDE  
DEĞİŞİMLERİN FTİR SPEKTROSKOPİSİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

GÖZDE DOĞANAY

Ekim 2019

T.C.  
N DE ÖMER HAL SDEM R ÜN VERS TES  
FEN B L MLER ENST TÜSÜ  
GIDA MÜHEND SL ANAB L M DALI

ELMA SUYUNDA ISIL LEM SÜRES NCE POL FENOL OKS DAZ,  
PEROKS DAZ NAKT VASYONU VE  
FENOL K B LE KLERDEK DE M N FTIR SPEKTROSKOP  
KULLANILARAK BEL RLENMES

GÖZDE DO ANAY

Yüksek Lisans Tezi

Danı man

Dr. Ö r. Üyesi Hande BALTACIO LU

Ekim 2019

**Gözde DOĞANAY** tarafından **Dr. Öğr. Üyesi Hande BALTACIOĞLU** danışmanlığında hazırlanan “Elma Suyunda Isıl İşlem Süresince Polifenol Oksidaz, Peroksidaz İnaktivasyonu ve Fenolik Bileşiklerdeki Değişimin FTIR Spektroskopi Kullanılarak Belirlenmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Hasan USLU

Niğde Ömer Halisdemir Ü. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.

Üye : Doç. Dr. Erkan KARACABEY

Süleyman Demirel Ü. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Hande BALTACIOĞLU

Niğde Ömer Halisdemir Ü. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl.

**ONAY:**

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından ..../..../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun ..../..../20.... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

**Prof. Dr. Murat BARUT**  
**MÜDÜR**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Gözde DOĞANAY

## ÖZET

ELMA SUYUNDA ISIL İLEME SÜRESİNCE POLİFENOL OKSİDAZ,  
PEROKSİDAZ ENZİM İNAKTİVASYONU VE FENOLİK BİLEŞİKLERDEKİ DEĞİŞİMLERİN  
FTIR SPEKTROSKOPİSİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

DOĞAN ANAY, Gözde

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Hande BALTACIOĞLU

Ekim 2019, 60 sayfa

Bu çalışmada farklı sıcaklık (40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C) ve farklı sürede (5, 10, 15, 20, 25, 30 dakika) uygulanan ısıtılma elma suyundaki Polifenol oksidaz ve Peroksidaz enzim inaktivasyonu üzerine etkisi incelenmiştir, fenolik bileşiklerdeki değişim FTIR spektroskopisi ve HPLC ile belirlenmiştir. PPO enziminde 80 °C’de 20 dakika sonunda % 99 enzim inaktivasyon sağlanırken, POD enziminde 80 °C’de 20 dakika sonunda % 93,29 inaktivasyon sağlanmıştır. Genellikle 70 °C ve 80 °C sıcaklıkta toplam fenolik ve antioksidan aktivitede artış belirlenmiştir. 80 °C’de 20 dakika ısıtılma işleminden sonra toplam fenolik madde miktarı  $668,41 \pm 12,70$  mg GAE/ kg yağına karşılık,  $EC_{50}$  değeri  $24,28 \pm 0,69$  mg/ml olarak belirlenmiştir. Bu durum enzim inaktivasyonunun sağlanmasıyla ilişkilendirilmiştir. HPLC ile elma suyunda belirlenen fenolik bileşikler katekin, klorojenik asit, epikatekin ve kamferol olmuştur. FTIR spektrumları incelendiğinde ısıtılma uygulaması sonucunda fenolik bileşiklerde bir değişim gözlenmemiştir. HPLC sonuçları ile FTIR sonuçları paralellik göstermektedir.

*Anahtar Sözcükler:* Elma suyu, enzim inaktivasyonu, fenolik bileşikler, FTIR, HPLC, ısıtılma, polifenol oksidaz, peroksidaz

## SUMMARY

### DETERMINATION OF INACTIVATION OF POLYPHENOL OXIDASE (PPO), PEROXIDASE (POD) AND CHANGES IN PHENOLIC COMPOUNDS IN APPLE JUICE DURING THERMAL TREATMENT BY FTIR SPECTROSCOPY

DO ANAY, Gözde

Ni de Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Hande BALTACIO LU

October 2019, 60 pages

In this study, the effect of thermal treatment with different temperatures (40, 50, 60, 70, 80 ° C) and different times (5, 10, 15, 20, 25, 30 minutes) on Polyphenol oxidase and Peroxidase enzyme was investigated and the change in phenolic compounds was determined by FTIR spectroscopy and HPLC in apple juice. Enzyme inactivation generally increased with increasing temperature and time. In PPO enzyme, 99% enzyme inactivation was achieved after 20 minutes at 80 °C, whereas in POD enzyme 93.29% inactivation was achieved after 20 minutes at 80 °C. Generally, an increase was determined at 70 °C and 80 °C in total phenolic content and antioxidant activity. After 20 minutes thermal treatment at 80 °C, total phenolic content was determined as  $668.41 \pm 12.70$  mg GAE / kg fresh weight,  $EC_{50}$  value was  $24.28 \pm 0.69$  mg / ml. This has been associated with achieving enzyme inactivation. The phenolic compounds identified in apple juice by HPLC were catechin, chlorogenic acid, epicatechin and kaempferol. When FTIR spectra were examined, no change in phenolic compounds was observed as a result of thermal treatment. HPLC result and FTIR result were found to be parallel.

*Keywords:* Apple juice, enzyme inactivation, FTIR, HPLC, peroxidase, phenolic compounds, polyphenol oxidase, thermal treatment

## ÖN SÖZ

Yüksek Lisans tez çalışmamın her aamasında bana yol gösteren, ara tırmamın gerçekte tirilmesi ve de erlendirilmesinde katkılarını esirgemeyen; bana her konuda destek olan ve bilimsel bir bakı açısı kazanmamı sa layan de erli danı man hocam Sayın Dr. Ö r. Üyesi Hande BALTACIO LU' na

Çalışmam sırasında öneri ve bakı açılarıyla önemli katkılarda bulunan Tez jürisinin de erli üyeleri Sayın Prof. Dr. Hasan USLU ve Sayın Doç. Dr. Erkan KARACABEY'e

Çalışmalarım sırasında bilgi ve deneyimini esirgemeyen sayın bölüm hocalarıma,

Tez için kullandı ımız elmaları temin eden Mehmet Ali GÖK'e

Beraber çalışmaktan her zaman keyif aldım, tez çalışmamın laboratuvar aamasında yardımlarını esirgemeyen Yüksek Lisans ö rencisi Emine Melike AH N'e

Çalışmamın ba ından beri deste ini hiçbir zaman esirgemeyen ve sevgisiyle hep yanımda olan anneme ve tüm aileme te ekkürlerimi sunarım.

## Ç NDEK LER D Z N

ÖZET .....	iv
SUMMARY .....	v
ÖN SÖZ .....	vi
Ç NDEK LER D Z N .....	vii
Ç ZELGELER D Z N .....	ix
EK LLER D Z N .....	x
S MGE VE KISALTMALAR .....	xi
BÖLÜM I.....	1
G R .....	1
BÖLÜM II .....	2
KAYNAK ARA TIRMASI.....	2
2.1 Elma.....	2
2.2 Enzim.....	5
2.2.1 Polifenol oksidaz (PPO) enzimi.....	6
2.2.2 Peroksidaz (POD) enzimi.....	8
2.3 Isıl İ leme Uygulamalarının Elma Suyunda PPO ve POD Enzimlerine Etkisi .....	10
2.4 Fenolik Maddeler .....	12
2.4.1 Fenolik asitler.....	13
2.4.2 Flavonoidler .....	14
2.5 Fourier Dönü üm Kızıl Ötesi (FTIR) Spektroskopisi.....	15
2.6 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi.....	18
2.7 Isıl İ leme Uygulamasının Elma Suyundaki Fenolik Bile ikler ve Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi .....	22
BÖLÜM III .....	25
DENEYSEL ÇALI MALAR.....	25
3.1 Materyal .....	25
3.2 Yöntem.....	25
3.2.1 Isıl İ leme uygulaması .....	25
3.2.2 Kalan polifenoloksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	26

3.2.3 Kalan peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	26
3.2.4 Toplam fenolik madde tayini .....	27
3.2.5 DPPH yöntemiyle antioksidan aktivite tayini .....	27
3.2.6 Fenolik madde de ğeriminin FTIR spektroskopisi kullanılarak belirlenmesi ...	28
3.2.7 HPLC yöntemi ile fenolik madde belirlenmesi.....	28
3.2.8 Verilerin analizi .....	29
BÖLÜM IV .....	30
BULGULAR VE TARTI MA .....	30
4.1 Isıl ğilim Sonrasında Elma Suyunda Kalan PPO Enzim Aktivitesi .....	30
4.2 Isıl ğilim Sonrasında Elma Suyunda Kalan POD Enzim Aktivitesi .....	32
4.3 Isıl ğilim le Toplam Fenolik Maddeki De ğerim.....	34
4.4 Isıl ğilim le Antioksidan Aktivitedeki De ğerim .....	38
4.5 FTIR Çalışmaları .....	41
4.6 HPLC Çalışmaları.....	44
BÖLÜM V .....	46
SONUÇLAR .....	46
KAYNAKLAR .....	48
EKLER.....	57
ÖZ GEÇM .....	60

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fenolik asitlerin sınıflandırılması.....	14
Çizelge 2.2. Flavonoidlerin sınıflandırılması .....	15
Çizelge 3.1. Gradient programı.....	29
Çizelge 4.1. Isıl i lem süresince elde edilen EC <sub>50</sub> de erleri .....	39
Çizelge 4.2. HPLC ile belirlenen fenolik bile ikler ve miktarları .....	44



## EKLER DİZİNİ

ekil 2.1. 2016-2017 yılında elma üretiminde önemli ülkeler .....	3
ekil 2.2. 2010 yılında meyve suyuna işlenen meyve miktar dağılımı (%) .....	4
ekil 2.3. Fenol halkası .....	13
ekil 4.1. Isıl işlem sonunda kalan PPO enzim aktivitesi .....	31
ekil 4.2. Isıl işlem sonunda kalan POD enzim aktivitesi .....	33
ekil 4.3. Toplam fenolik madde standart eğrisi .....	35
ekil 4.4. Isıl işlem süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişim .....	36
ekil 4.5. Isıl işlem süresince EC <sub>50</sub> değerindeki değişim .....	39
ekil 4.6. Elma suyu örneklerinin FTIR spektrumları .....	42
ekil 4.7. Elma suyunun ayrı tırlımı FTIR spektrumları .....	43

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
dak	Dakika
°	Derece
g	Gram
kg	Kilogram
ml	Mililitre
mg	Miligram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
C	Santigrat
rpm	Dakika devir sayısı
nm	Nanometre
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FC	Folin-Ciocaltaeu
FTIR	Fourier Dönü üm Spektroskopisi
FW	Taze A ırlık
GAE	Gallik Asit E de eri
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MH	Hafif Isı
PEF	Vurgulu Elektrik Alan
POD	Peroksidaz
PPO	Polifenol Oksidaz
PLSR	Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu
VCEAC	C Vitamini Antioksidan Kapasite E de eri

## BÖLÜM I

### G R

Meyvelerin ve sebzelerin i lenmesinde gıda kalitesinin sa lanması için enzimlerin inaktive edilmesi oldukça önem ta ımaktadır. Polifenol oksidaz (PPO) ve Peroksidaz (POD) kaynaklı enzimatik esmerle meye ba lı olarak meydana gelen renk de i imleri, meyve suyunda kaliteyi etkileyen önemli bir problem olarak görülmektedir. Günümüzde meyve suyu üretiminde mikroorganizma ve enzimlerin inaktivasyonu için genellikle ısı i lem kullanılmaktadır. Ancak, ısı i lemler sırasında seçilen parametrelere göre gıdanın besinsel ve duysal özellikleri olumsuz etkilenmektedir. Bu nedenle ısı i lem ile enzim inaktivasyonu sa lanırken meyve sularında önemli bioaktif bile enlerden olan fenolik bile i klerin de i iminin de belirlenmesi önemlidir.

Yapılan bu çalı mada ülkemizde meyve suyu sektöründe en fazla üretilen elma suyuna, ısı i lem uygulamasının etkisi incelenmi tir. Bu amaçla ısı i lem uygulamasının meyve sularının kalitesini olumsuz etkileyen PPO ve POD enzimleri üzerine etkisi ara tırılmı tir. Bu çalı mada ilk defa Red Chief elma çe idine ısı i lemin etkisi ara tırılmı tir. Bununla birlikte ısı i lem uygulamasının fenolik bile i kler üzerine etkisi belirlenmi tir. Bu amaçla toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenirken, antioksidan aktivite tayini DPPH yöntemiyle tespit edilmi tir. Ayrıca bireysel fenolik bile i klerin ısı i lem ile de i imi yaygın kullanılan HPLC yöntemiyle ve FTIR spektroskopisiyle belirlenmi tir.

Son yıllarda FTIR spektroskopisi meyve veya meyve suyu gibi çe itli gıdalarda farklı kalite özelliklerini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. FTIR spektroskopisi fenolik bile i k gibi çe itli biyoaktif bile enlerin belirlenmesinde hızlı, ekonomik, güvenilir ve kolay bir metot olarak önem kazanmaya ba lamı tir. Bu çalı ma ile ısı i lem uygulamasının hem PPO ve POD gibi enzimatik esmerle meden sorumlu enzimlere etkisi hem de fenolik bile i klere etkisinin belirlenmesi amaçlanmı tir.

## BÖLÜM II

### KAYNAK ARA TIRMASI

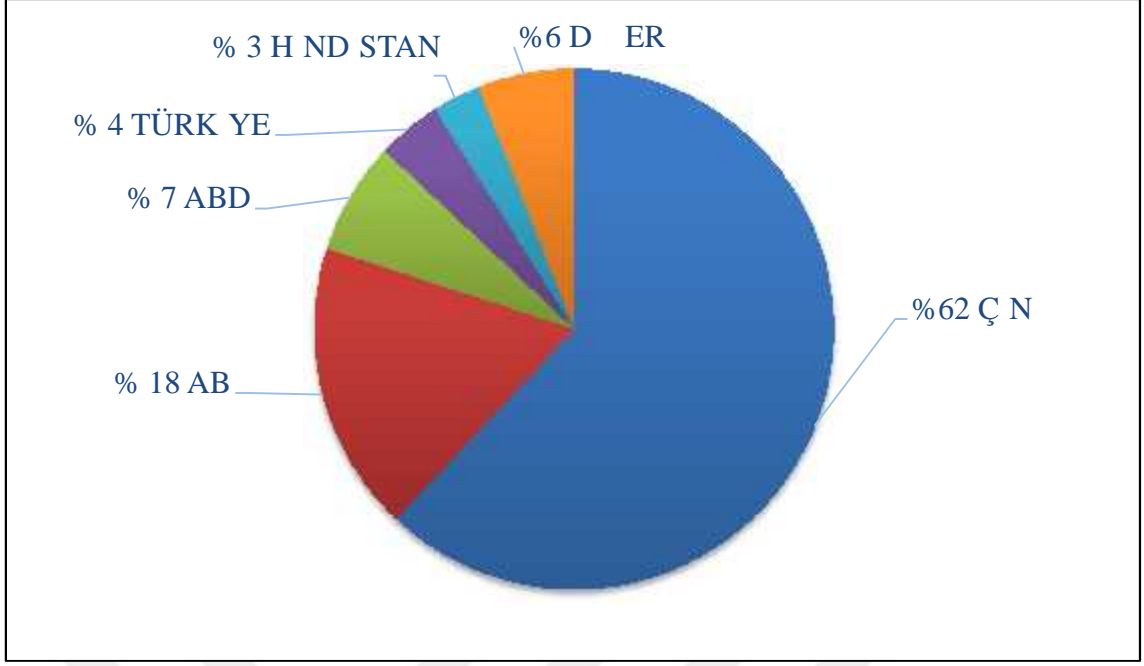
#### 2.1 Elma

Elma, Rosaceae familyasından olup *Malus communis* L. cinsindedir. Genel olarak, elmalar %85 su, %11 karbonhidrat, %2 diyet lif, %0,6 yağ, %0,5 organik asit ve %0,3 proteinden oluşur. Malik asit en fazla bulunan asittir, ayrıca fenolik asitler (kafeik ve klorojenik gibi) ve vitaminler de mevcuttur (Van der Sluis, 2005).

Elma, lezzetli ve ekonomik olması, kolay bulunabilmesi ve sağlık üzerine olumlu etkileri bakımından en çok tüketilen gıdalardan biridir. İnsan beslenmesinde monosakkaritlerin, minerallerin, diyet lifinin, çeşitli biyolojik aktif bileşenlerin, C vitamini ve doğal antioksidan olarak bilinen fenolik bileşenlerin kaynağıdır (Erdogan ve Demirci, 2014).

Ülkemizde sıklıkla tüketilen elmanın anavatanı Orta Asya ve Kafkasya olarak bilinmektedir. Türklerin yaşadıkları bölgelere göre elma “Alma” veya “Almıla” gibi farklı isimlendirilse de zamanla Türklerin hepsi elmaya ‘alma’ demişlerdir. Türkiyede ekolojik şartların uygunluğu nedeniyle Kuzey Anadolu, Karadeniz kıyı bölgesi ile İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgeleri elmanın önemli yetiştiricilik alanlarını oluşturmaktadır (Küçükkömürler ve Karakuş, 2009). Türkiye’de toplam elma üretiminin %20,4’ü Isparta’da gerçekleştirilirken, Isparta’yı Karaman (%13,6) ve Niğde (%12) illeri takip etmektedir (Anonim, 2018).

Dünyada toplam meyve üretiminin yaklaşık %12’sini oluşturan elma, muzdan sonra ikinci sırada yer alan önemli bir türdür. Aynı zamanda dünyada ticareti en fazla yapılan ve tüketici talebinin hızlı değişimi gösterdiği meyvelerdendir. 2017 yılı verilerine göre dünya elma üretimi ekil 2.1.’de gösterilmektedir (Anonim, 2018).

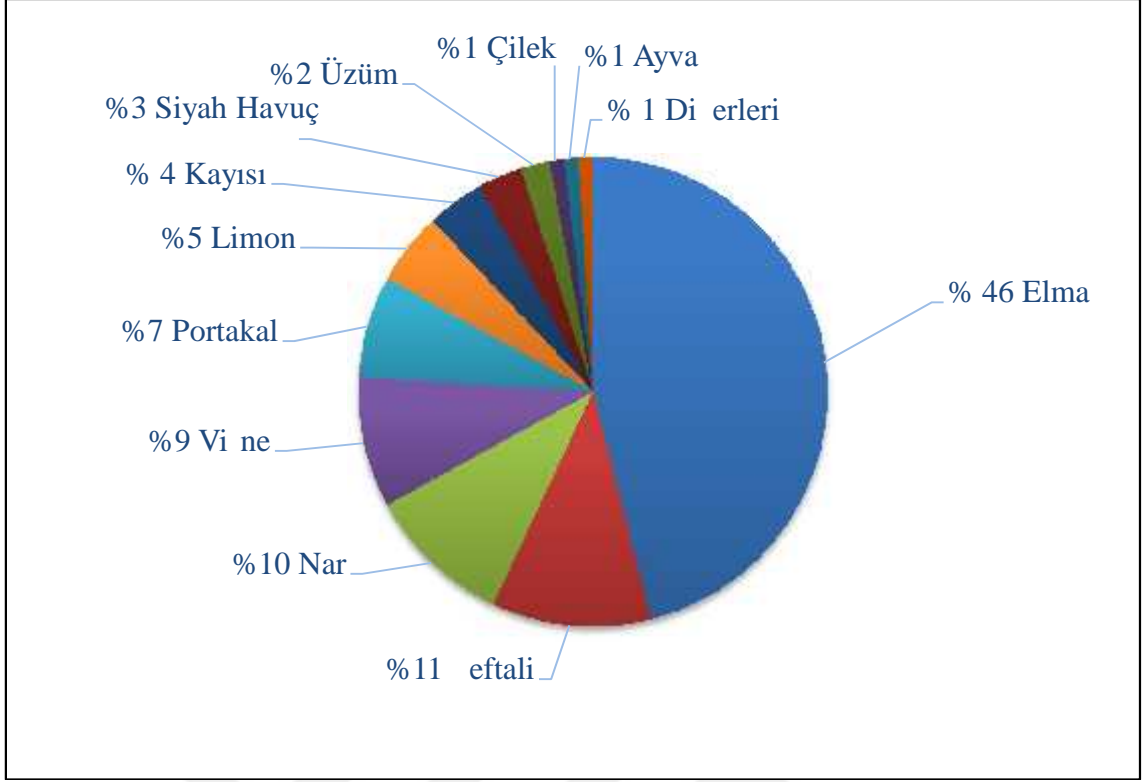


**ekil 2.1.** 2016-2017 yılında elma üretiminde önemli ülkeler (Anonim, 2018)

Türkiye, dünya elma üretiminde önemli ülkelerden biri olup ilk be ülke arasında yer almaktadır (Anonim, 2018). Dünya’da elma çeşitlerinin sayısı 6500’ü aşmaktadır. Ülkemizde ise bu sayı 460’ı bulmaktadır. Bunlar arasında kalite ve verim yönünden yüksek ve ticari anlamda yetiştiricileri yapılanların sayısı çok azdır (Yıkar, 2003).

Elma kullanım alanına göre taze tüketimi içeren “sofralık” ve işlenerek tüketiciye sunulan “sanayi tipi” olmak üzere iki genel başlık altında toplanabilir. Sofralık elmalar taze piyasada tüketilenler ve ihracat pazarlarına sevk edilenler olarak ayrılırken; sanayi tipi elmalar meyve suyu, arap, sirke, reçel, marmelat, dondurulmuş, kurutulmuş vs. ekinde sınıflandırılabilir (Bulantekin ve Kuşçu, 2016).

Ülkemizde meyve suyu ve benzeri ürünlere işlenen başlıca meyveler elma,eftali, kayısı, vişne ve portakaldır. Bunlar içerisinde meyve suyu üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılan elma, önemli üretim payına sahiptir (Anonim, 2011). Türkiye’de 2010 yılında meyve suyuna işlenen meyvelerin miktar dağılımı ekil 2.2’de gösterilmektedir.



**ekil 2.2.** 2010 yılında meyve suyuna i lenen meyve miktar da ılımı (%) (Anonim, 2011)

Ülkemiz meyve suyu sanayisinde i lenen meyvelerde en büyük payı yaklaşık % 46 ile elma almaktadır. İkinci sırada yer alan eftaliyi, son dönemde hızlı bir artış göstererek payını % 10'a çıkaran nar izlemektedir. Bunların ardından ise sırasıyla vi ne, portakal ve kayısı gelmektedir (Anonim, 2011).

Elmada bulunan A, C ve E vitaminleri dışında fitokimyasal grubu içerisinde yer alan flavonoidler de antioksidan özellik taşımaktadır. Flavonoidler fenolik bileşikler olarak bilinen ve diyetle yaygın olarak bulunan polifenollerdir (Işıkolu, 2001; Wardlaw vd., 2004).

Elmada yer alan bu maddelere bağlı olarak yapılan Epidemiyolojik çalışmalarda, elma tüketimine bağlı olarak astım, diyabet, kalp ve bazı kanser hastalık risklerinin azaldığı belirtilmiştir (Boyer ve Liu, 2004). Yapılan bir araştırmada, günde 110 g ve üzerinde elma yiyen erkeklerde, 18 g'dan daha az elma yiyenlere göre kalp krizi riskinin % 49 oranında azaldığı görülmüştür (Hertog vd., 1993; Yinrog ve Foo, 2000). Zhao vd. (2013) yaptıkları bir çalışmada günde bir elma tüketiminin koroner arter hastalığı,

damar tıkanıklığı gibi damar hastalıklarına bağlı kan damarlarında önemli etkide bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Knekt vd., (2002) flavonoidlerin etkili antioksidan olması ve bazı kronik hastalıklara karşı koruyabilmesinden, Finlandiya'da 10.000 kişi üzerinde çalışmaları ve elma tüketimiyle Tip-2 diyabet hastalığı riskinin azaldığını gözlemlemiştir. Bu durum elma kabuğunda yüksek miktarda bulunan kuersetin alımı ile ilişkili bulunmuştur. Balasuriya ve Rupasinghe (2012) elma kabuğuyla yaptıkları araştırmada, kabukta bulunan polifenollerin hipertansiyona neden olan enzimi inhibe ederek yüksek tansiyonu önlediğini ortaya koymuşlardır. Gosse vd. (2005) elmadaki prosiyanidinlerin kanser hücrelerine antagonistik etkide bulunduğunu ve antitümör etki gösterdiğini in vivo çalışmalarıyla tespit etmişlerdir.

## **2.2 Enzim**

Enzimler bitkilerin metabolizması ve fizyolojisinde gerekli olan biyokatalizörlerdir. Meyve ve sebzelerde, hasat sonrası çoğu enzim aktif kalmaktadır. Her ne kadar bu durum hasat sonrası depolama sırasında olgunlaşma manının gerçekleşmesi için istenirse de, renk, flavor, doku ve besin değeri gibi kalite özelliklerinde istenmeyen değişikliklere de yol açabilmekte ve ürünü dezavantajlı duruma getirmektedir.

Meyve ve sebzelerde kalitede renk değişimine katılan iki enzim meyveler için çok önemlidir. Bu enzimler PPO ve POD enzimleridir. Bu enzimler olgunlaşma sırasında renk değişimine neden olarak ürünün raf ömrünü kısaltmaktadır.

Meyve ve sebzelerde bulunan doğal enzimlerden olgunlaşma teknolojisi açısından en önemlisi kuşkusuz PPO enzimidir. Doğrama, parçalama, ezme gibi işlemler veya başka bir mekanik etki sonucu oluşan zedelenme yerlerinde rengin hızla esmerleşip kararması bu enzimlerin istenmeyen etkilerinin sonucudur. Meyve ve sebzelerin bazı ürünlere olgunlaşmasında sadece doğal enzimler rol oynamaz. Prosesin gereğine göre bazen ticari enzim preparatları kullanılmaktadır (Terefe vd., 2014).

### 2.2.1 Polifenol oksidaz (PPO) enzimi

PPO, Uluslararası Biyokimya Birli inin sınıflandırılmasında monofenol monoooksijenez (EC 1.14.18.1) ve kate ol oksidaz (EC 1.10.3.1) olarak yer almı tır. Monofenol oksidaza tirozinaz, fenolaz, monofenol oksidaz ve kresolaz gibi geleneksel isimler verilmi tir. Kate ol oksidaz ise difenol oksidaz, o-difenolaz, fenolaz, polifenoloksidaz ve tirozinaz olarak adlandırılmı tır. PPO'lar bakır içeren oksidoredüktazlardır. Substratları fenolik bile iklerdir. Substratlarını oksijen e li inde esmer renkli bile iklere oksitlemektedirler. Bu olay gıda teknolojisinde “enzimatik esmerleme” olarak bilinmektedir. Özellikle bitkiler âleminde yaygın olarak bulunan PPO'lar hayvansal dokular ve küf mantarlarında da bulunmaktadır (Önez, 2006). PPO pek çok reaksiyon katalizleyebilir. Bir monofenol olan p-kresolü, difenol 4-metil kate ole okside ederlerken, bir o-difenol olan kate olü ise o-benzokinona parçalarlar. Bu olay gıda teknolojisinde enzimatik esmerleme olarak da bilinmektedir.

Bakır içeren bir enzim olan PPO iki farklı reaksiyon katalizler:

- i) monofenollerin o-difenollere hidroksilasyonu
- ii) o-difenollerin o-kinonlara dehidrojenasyonu

Bu aktivitelerden ilki monofenolaz (hidroksilaz veya kresolaz) ve ikincisi ise difenolaz (kate olaz veya oksidaz) aktivitesi olarak adlandırılır. Her iki reaksiyonda da oksijen yardımcı substrat olarak kullanılır. Olu an o-kinonlar daha sonra enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucu kahverengi-siyah renkteki melanin pigmentlerine dönü ür. Bitki ve funguslardan elde edilen PPO'lar hem monofenolleri (p-kresol, tirozin gibi) hem de difenolleri (kate ol ve o-dihidroksifenilalanin gibi) okside ederler. Ancak, bu etki PPO'nın elde edildi i kayna a göre de i kenlik gösterir (Önez, 2006).

PPO, bitki ve hayvan dokularında yaygın olarak görülen bir enzimdir. Bitkilerde tüm kısımlarda bulunabilirken, geli mi hayvanlarda deri, saç, tüy ve gözlerde bulunur. PPO enzimleri bitkisel dokularda öncelikle latent (inaktif) formlar halinde sentezlenmekte ve zamanla çe itli etkenlerle, örne in dokuda do al olarak bulunan proteazlar veya etilen gibi birtakım solunum metabolitlerince aktif hale getirilmektedirler (Cemero lu vd., 2001).

Bitkilerdeki PPO da ılımı, birçok ara tırıcı tarafından incelenmi ve son yıllarda farklı kaynaklardan da izole edilmi ve üzerinde çalı malar yapılmı tır. PPO aktivitesine rastlanan gıda ürünleri: bu day unu, makarna, enginar, biber, trabzon hurması, baklagil, kakao çekirde i, soya, yabani pirinç, ilek, mantar, karidesler, ıstakoz ve yengeç bunlardan bazılarıdır. Bitkilerdeki PPO miktarı e it, kültürel i lemler, olgunluk ve ya a ba lı olarak de i mektedir. Yapılan alı malarda en yüksek enzimatik aktivite üzüm kabuklarında, bazı elma kültürlerinde ve di er bazı meyvelerde görülmü tür (Gökkaya, 2009).

Sa lıklı meyve ve sebze dokularında, PPO enzimlerinin, substratları olan fenolik bile iklerle teması yok denecek kadar sınırlıdır. Bunun ba lıca nedeni, enzim ve substratlarının bitkisel hücrenin farklı kısımlarında yer almalarıdır. PPO enzimlerinin bir kısmı sitoplazmada serbest halde bulunurken, büyük bir kısmı hücrenin tilakoid ve kloroplast gibi unsurlarında, membrana ba lı olarak bulunmaktadır. Buna kar ın, fenolik bile iklerin neredeyse tamamı vakuollerde yo unla mı halde bulunmaktadır. Örne in elmalarda bulunan fenolik bile iklerin % 97' sinin vakuollerdeki hücre özsuyu içerisinde bulundu u belirtilmektedir. Ancak doku olgunla masının ileri a amalarında hücredeki pektinazların faaliyetiyle, doku kontrollü ve sınırlı bir ekilde do al olarak de i imlere u rar. Ayrıca, hasat, ta ıma ve i leme sırasındaki etkiler veya uygulanan e itli i lemlerle hücre ve buna ba lı olarak doku bütünlü ü bozulmaktadır. Böylece enzimler kendi subsratları olan fenolik bile iklerle ve havadaki oksijenle bir araya gelerek birçok üründe istenmeyen esmerle me reaksiyonlarına sebep olmaktadır. Bu durum ürünün i lenmesi sırasında önemlidir ve esmerle me reaksiyonlarını önlemek için gerekli bazı tedbirler alınmalıdır (Cemero lu vd., 2001).

Meyve ve sebzelerde (özellikle meyve sularında) PPO'ları inaktive etmek için kullanılan en yaygın yöntem ısıl i lem uygulamalarıdır. Genel olarak, PPO' ın 70-90 °C sıcaklıklara maruz kalması katalitik aktivitelerini yok eder, ancak inaktivasyon için gerekli olan zaman ürüne ba lıdır (Christiane vd., 2008).

Di er önlemlerden biri ise kesilmi meyve ve sebzelerde kahverengile meyi önlemek için askorbik asit, tiyol bile ikleri ve sülfidler gibi bazı bile iklerin ilavesidir. Gıdaların esmerle mesi, oksijenin uzakla tırılması, asitlendirme, siklodekstrin ve

polivinilpirolidon gibi kompleks olu turucu maddelerle fenollerin uzakla tırılması ile önlenabilir (Önez, 2006).

Enzimatik esmerle meyi önleyici olarak kullanılan en etkin kimyasal hiç ku kusuz ülkemizde de yaygın olarak kullanılan SO<sub>2</sub>'dir. Ancak, özellikle son yıllarda bu kimyasalın bazı astımatik reaksiyonlara neden oldu unun belirlenmesiyle, kullanımına FDA tarafından önemli sınırlamalar getirilmi tir. Bu nedenle, SO<sub>2</sub>'ye alternatif kimyasalların bulunması çalı maları büyük bir yo unluk kazanmı tır. Halen SO<sub>2</sub> kadar etkin bir kimyasal bulunamamı olsa da, özellikle askorbik asit ve türevlerinin ısı uygulaması ve birtakım ba ka kimyasallarla kombine edilerek SO<sub>2</sub>'ye alternatif olarak kullanılması üzerinde durulmaktadır (Cemero lu vd., 2001).

### 2.2.2 Peroksidaz (POD) enzimi

POD'lar (EC 1.11.1.7), peroksidaz enzimlerinin de dâhil oldu u, büyük bir enzim sınıfı olan oksidoredüktazlar grubundan bir enzim toplulu udur. Yüksek yapılı bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Özellikle bitkiler âleminde çok yaygındır ve bitkilerin geli mesinde çok önemli rollere sahiptirler. Meyve ve sebzelerin i lenmesinde önemle dikkate alınan enzimlerden birisidir. Sebzeler, meyvelere göre daha fazla peroksidaz aktivitesine sahiptirler. Bitkisel dokularda kısmen stoplazmada çözünmü formda, kısmen de hücre duvarına ba lı olarak çözünmez formda bulunan bu enzim peroksidasyon, hidroksilasyon veya oksidasyon reaksiyonlarını katalizleyebilir (Cemero lu vd., 2001).

POD'ların optimum sıcaklıkları ve optimum pH dereceleri, ba ta kökenine ba lı olarak çe itli faktörlere göre de i mektedir. Örne in optimum sıcaklı ın patateslerde 55 °C, karnabaharda 35-40 °C oldu u belirtilmektedir. Aynı ekilde optimum pH derecesinin ye il fasulye kökenli olanlarda 5,0 muz kökenli olanlarda ise 5,0-6,0 arasında de i ti i saptanmı tır (Cemero lu vd., 2001).

Peroksidazlar a a ıda verilen tipteki reaksiyonları katalize ederler;



Bu peroksidatik reaksiyonda;

R:  $H^+$ ,  $CH_3$ ,  $C_2H_5$

AH<sub>2</sub>: indirgenmi formda hidrojen donörü

A: Oksitlenmi formda hidrojen donörü

Bu açıklamaya göre; POD enzimleri bir hidrojen donörü eli inde, peroksitleri parçalayan reaksiyonu katalize ederler. Bu halde temel substratı peroksitlerdir ve bunların ba ında hidrojen peroksit gelir. Yukarıda de inildi i gibi, metil veya etil hidrojen peroksit gibi organik peroksitler de substrat olarak kullanılmaktadır. Di er taraftan çok sayıda çe itli bile ikler hidrojen donörü olarak görev alabilmektedir. Bunlar arasında askorbat, fenoller, aminler veya benzer organik bile ikler sayılabilir. Donör substratlar arasında bulunan bazı maddeler bu enzim eli inde belirli amaçlarla kullanılabilir. POD, hidrojen peroksit varlı ında fenolik bile iklerin oksidasyonunu katalizleyerek kahverengi bozunma ürünlerinin olu umuna öncülük eder (Cemero lu vd., 2001).

POD enzimi yukarıda belirtilen ve ba lıca aktivitesi olan “peroksidatif etki” yanında birtakım yan aktivitelere de sahiptir. Bunlardan en önemlisi hiç ku kusuz  $H_2O_2$  olmadan da yürüyebilen “oksidatif etki” dir. Ancak bu defa  $O_2$  ve  $Mn^{+2}$  veya fenol gibi birtakım kofaktörlere ihtiyaç vardır. POD enzimi, H donörü bulunmayan ortamlarda adeta katalaz enzimi gibi davranarak hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanması reaksiyonunu da katalize edebilmektedir. Bu etki ekli ise “katalitik etki” olarak adlandırılmaktadır. Bu enzimin bir di er ve sonuncu aktivitesi ise “hidroksilatif etki” eklidir. Bu etki yoluyla;  $O_2$  veya monofenolik bile iklerden aynen polifenol oksidaz enzimlerinin yaptı ı gibi difenolik bile ikler olu turulmaktadır. Ancak farklı olarak POD enzimi hidroksilasyon yetene ini gösterebilmek için bir hidrojen donörüne ihtiyaç duymaktadır (Cemero lu vd., 2001).

POD ısıya en dirençli enzim olması dolayısıyla, ısıl i lem sonucunda e er inaktif olmu ise di er enzimlerin hepsinin inaktif oldu u dü ünülmektedir. Bundan dolayı sebzelerin ha lanma yeterlili inde POD enziminin inaktivasyonu bir kriterdir (Cemero lu vd., 2001). Isıya en direçli enzim olmasının yanında enzimin kökenine, bulundu u meyve ve sebzeye göre direnci de i iklik gösterebilir. Örne in, patates POD’ ı  $95\text{ }^\circ\text{C}$ ’ de 10

dakikada tamamen inaktif oldu u halde, lahana kökenli olanlar 120 °C' de 10 dakika sonunda ba langıç aktivitesinin %0,3' ünü koruyabilmektedir (Bahçeci, 2003).

### **2.3 Isıl İ lemler Uygulamalarının Elma Suyunda PPO ve POD Enzimlerine Etkisi**

Meyve suyu üretiminde uygulanan i lemler sırasında enzimatik esmerle meye ba lı olarak meydana gelen renk de i imleri, meyve suyunda kaliteyi etkileyen önemli bir problem olarak görülmektedir. Gıdalarda renk kalitesini etkileyen en önemli enzim PPO ve POD enzimleridir. Moleküler oksijen ve PPO varlı nda, do al fenolik bile ikler okside olmakta ve daha sonra bu bile ikler enzimatik olmayan polimerizasyon ile kahverengi pigmentlere dönü mektedir. Enzimatik esmerle me, elma, kayısı, eftali, armut, muz, üzüm, patates, kıvırcık salata ve mantarda belirgin ekilde görülmektedir (Cemero lu vd., 2001).

Gıdalarda kalite kayıplarına neden olan enzimleri inaktif hale getirmek için çe itli yöntemler uygulanmaktadır. Isıl i lemler enzim inaktivasyonunda gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan yöntemlerdir (Adams, 1991). Literatürde ısıl i lemler uygulaması ile elma PPO ve POD inaktivasyonu üzerine çalı malar bulunmaktadır. Do al enzimler, farklı termal kararlılıklara sahip izoenzimlerden oluşabilmektedir. Bu nedenle farklı meyvelerde veya aynı meyvenin farklı çe itlerinde inaktivasyon süreleri ve sıcaklıkları farklılık göstermektedir (Yemenicio lu vd., 1997).

Yemenicio lu vd. (1997), 6 farklı elma çe idinden (Golden Delicious, Starking Delicious, Granny Smith, Gloster, Starcrimson ve Amasya) elde edilen PPO'nun ısıl parametrelerini belirlemek için üç farklı sıcaklık (68, 73, 78 °C) kullanı mlardır. 78 °C' de Amasya elması PPO' u ısıya en dirençsiz enzim olup, Starking Delicious çe idi PPO' u ısıya karşı en dirençli enzim olarak bulunmu tur. Isıl inaktivasyon kineti i birinci dereceden bulunmu tur. Hız sabitleri 78 °C' de  $15,99-28,27 \times 10^{-2}/\text{dak}$ , aktivasyon enerjisi 54,7-77,2 kcal/mol, z de eri 7,1-10,0 °C arasında de i mektedir. Elmadan elde edilen PPO' un di er meyvelerden elde edilene göre ısıya karşı daha dirençli oldu u bildirilmi tir.

Krapfenbauer vd. (2006), sekiz farklı elma çe idinden üretilen elma sularına (Florina, Gala, Golden Delicious, Idared, Jonagold, Pilot, Pinova ve Topaz) yüksek sıcaklıkta

(60-90 °C) ve kısa süreli (20-100 s) (HTST) ısıtma uygulamalarıdır. Isıtma koşullarının elma sularında enzimatik esmerleşme ve serum ayrılması üzerindeki etkisini belirlemek için, PPO ve pektinesteraz aktivitesi analiz edilmiştir. Bu sonuçlara göre 60 °C’ de, PPO aktivitesinde önemli bir azalma olmamıştır. Ancak 20, 50 ve 100 s ısıtma süresinden sonra 70 °C’ de enzim aktivitesinde önemli bir azalma olduğu belirlenirken, ısıtma süresi arasında bir fark gözlenmemiştir. PPO enzimi 80 °C’ de tamamen inaktive olurken, pektinesteraz enziminin aktivitesinin yarıya düştüğü ve 90 °C’ de bile tamamen inaktivasyon sağlanamadığı belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek PPO aktivitesi Idared ve Florina cinsi elmalardan üretilen meyve suyunda bulunmuştur.

3 farklı elma çeşidinde (Red Fuji, Granny Smith ve Golden Delicious) PPO enziminin membrana bağlı formunun ısıl stabilitesinin belirlendiği bir çalışmada, Granny Smith PPO enzimi 25-45 °C sıcaklık aralığında üç çeşit arasında en fazla ısıya dayanıklı enzim iken, Red Fuji PPO enziminin 65 °C’ de en çok stabil kalan enzim olduğu belirlenmiştir (Liu vd., 2017).

Yi vd. (2017), yüksek basınçlı ısıtma (HPP; 600 MPa, 3 dak) ile ısıtma (85 °C, 5 dk) meyve suyu kalitesine (renk, şekerler, asitler ve enzimler) etkilerini incelemiştir. Bu çalışma için kullanılan elma çeşitleri; Pink Lady, Granny Smith ve Jonagold olarak seçilmiştir. HPP ile donatılan elma suyu renginin ısıtma ile kıyasla daha iyi bir şekilde kaldığı belirlenmiştir. Şeker ve organik asitler, HPP ve ısıtma ile donatılan meyve suyu kalitesine (renk, şekerler, asitler ve enzimler) etkilerini incelemiştir. Bu çalışma için kullanılan elma çeşitleri; Pink Lady, Granny Smith ve Jonagold olarak seçilmiştir. HPP ile donatılan elma suyu renginin ısıtma ile kıyasla daha iyi bir şekilde kaldığı belirlenmiştir. Şeker ve organik asitler, HPP ve ısıtma ile donatılan meyve suyu kalitesine (renk, şekerler, asitler ve enzimler) etkilerini incelemiştir. Üç elma çeşidi arasında Pink Lady en yüksek şeker/asit oranını gösterirken Granny Smith en düşük şeker/asit oranını göstermiştir. Bununla birlikte, PPO ve POD enzimi ısıtma ile tamamen inaktif hale getirilirken, PPO ve POD basınca dayanıklı bulunmuş ve HPP’den sonra kalan aktivite (>% 50) tespit edilmiştir.

Niu vd. (2010), yaptıkları bir çalışmada hafif ısıtma (MH) ile ısıtma görmüş elma dilimlerinden elde edilen bulanık elma sularının kalitesi değerlendirilmiştir. MH ısıtması sırasıyla 25, 35, 45, 55 ve 65 °C’ de 20 dakikada su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Bulanık elma suyunda 55 °C’ de hafif ısıtma uygulaması ile PPO enziminin minimum kalıntı aktivitesi % 66,4 iken, 65 °C ise % 38,6 bulunmuştur.

Yapılan başka bir çalışmada, Royal Gala cinsi elmadan elde edilen meyve suyuna termosonikasyon (TS: 1,3 W / mL, 58 °C, 10 dakika), darbeleri elektrik alan (PEF: 24,8

kV/cm, 60 darbe, 169 µs i lem süresi, 53.8 °C) ve ısı i lem (75 °C, 20 dakika) uygulanmı ve i lem görmü meyve suları 30 gün boyunca 3 °C ve 20 °C'de depolanmı tır. Royal Gala elma suyu TS ve PEF i lemlerinden sonra sırasıyla kalan PPO aktivitesi %14,9 ile %17,7 oranında belirlenmi tır. Ancak ısı i lemden sonra kalan PPO aktivitesi %3,2 oranında bulunmu tur. TS ve ısı i lem görmü numuneler için depolama sırasında PPO aktivitesinde önemli bir de i klik (p <0,05) kaydedilmemi tır. PEF ile muamele edilmi meyve suyu için, PPO aktivitesi 3°C ve 20 °C' de depolama sırasında kademeli olarak % 17,7' den 11,5–13,5' e dü mü tür (Sulaiman vd., 2016).

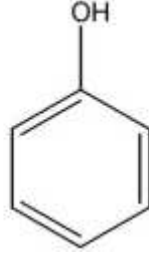
Dubey vd. (2006), yaptıkları bir çalı mada hint elması çe itleri olan Golden delicious (HP), Golden delicious (JK), Red delicious ve Royal delicious kullanmı tır. Pulp haline getirilen elmalar tülbentle süzülüp 15 dk sanrifüj edilmi tır. Uygulanan ısı i lem parametreleri 40, 50, 60 ve 70 °C'de 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dakikadır. Golden HP ve Red delicious cinsinde POD enzimi 70 °C' de 10 dakika sonunda inaktif olurken, Golden JK ve Royal delicious 70 °C de 5 dakika sonunda inaktif olmu tur. Royal cinsinde 50 °C' 10 ve 25 dk ısı i lem sonrasında enzim aktivasyonunda belli oranda artı görülmü tür. Aynı ekilde Red delicious cinsinde 50 °C' de 25 dakikada enzim aktivasyonunda artı belirlenmi tır.

Riener vd. (2007), elma suyuna geleneksel pastörizasyon (72°C, 26 sn) uygulayarak POD ve PPO inaktivasyonu üzerindeki etkilerini ara tırmı lardır. Çalı mada Jonagold Red cinsi elmalar kullanılmı tır. Pastörizasyon sonunda POD' ın kalıntı aktivitesi % 52 ve PPO' ın ise % 54 olarak belirlenmi tır.

## **2.4 Fenolik Maddeler**

Fenolik bile ikler bitkiler tarafından sentezlenen ikincil metobolitlerdir (Karadeniz ve Ek i, 2001). Bu bile ikler genellikle bitkilerin yaprak, çiçek, meyve gibi dokularında glikozitler ekinde, odunsu dokularında aglikonlar ekinde, çekirdeklerinde ise her iki formda bulunabilmektedir (Shahidi ve Nacz, 1995). Fenolik bile ikler yapılarında bir veya birden fazla hidroksil grubu içeren bir aromatik halkaya sahip olmakta ve bitkiler aleminde en yaygın bulunan maddeler grubunu olu turmaktadır. Do al kaynaklardan, 8000'den fazla fenolik bile ik izole edilmi tır (Luthria, 2008). Fenolik bile ikler daha

yaygın ismiyle polifenoller, benzen halkası içeren maddelerdir. Bilindi i gibi hidroksi benzen ço unlukla “fenol” adı ile anılmaktadır. Buna göre en basit fenolik bile ik, bir tane hidroksil grubu içeren benzendir ve fenol olarak isimlendirilmektedir. Di er tüm fenolik maddeler bunlardan türemi lerdir (Cemero lu vd., 2001). ekil 2.3’ de fenol halkası gösterilmi tir.



**ekil 2.3.** Fenol halkası

Fenolik bile ikler bitkiler aleminde çok yaygındır, birçok meyve ve sebze de bulunmaktadır. Meyveler, sebzelere oranla daha yüksek fenolik bile ik içermektedir. Ayrıca fenolik bile ikler; insan sa lı ı açısından olumlu etkileri, meyve sebzelerin kendine özgü renklerinin ve lezzetinin olu masında katkıda bulunmaları, gibi birçok açıdan önem ta ımaktadır (Cemero lu vd., 2001). Fenolik bile ikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılmaktadırlar (Karadeniz ve Ek i, 2001).

#### **2.4.1 Fenolik Asitler**

Fenolik asitler, genel olarak serbest halde bulunmamaktadır. Fenolik asitlerin, fenolik hidroksil grupları da çok aktif olup, ekerlerle bile erek glikozitleri olu turmaktadırlar (Cemero lu vd., 2001). Fenolik asitlerin meyvelerdeki miktarları olgunluk durumuna ve depolama süresine göre de i mektedir. Fenolik asitlerin sınıflandırılması Çizelge 2.1’ de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.1.** Fenolik asitlerin sınıflandırılması (Karadeniz ve Ek i, 2001)

A. Fenolik Asitler		
Grup adı	Ba lıcaları	
A.1. Hidroksisınamik asitler	o-Kumarik asit	p-Kumarik asit
	Kafeik asit	Ferulik asit
	izoferulik asit	Sinapik asit
A.2. Hidroksibenzoik asitler	m-hidroksibenzoik asit	p-hidroksibenzoik asit
	o- hidrobenzoik asit	-Rezorsilik asit
	Sirinjik asit	Gentisik asit
	Vanillik asit	zovanilikasit
A.3. Hidrosisınamik asit	Klorojenik asit	Neoklorojenik asit
	Kutarik asit	Kriptoklorojenik asit
	zoklorojenik asit	p- Kumaroilquinik asit
	Kaftarik asit	

Hidroksisınamik asitler ise C6-C3 fenilpropan yapısında dırlar. Fenilpropan halkasına ba lanan OH grubunun konumu ve yapısına göre farklı özellik gösterirler (Bravo, 1998). Hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenilmetan yapısına sahiptirler. Bitkisel gıdaların yapısında genellikle iz miktarlarda (10 ppm kadar) bulunur veya hiç bulunmayabilirler (Cemero lu vd., 2001).

#### 2.4.2 Flavonoidler

Bikilerden elde edilen ve genellikle sarı renkli olmaları nedeniyle latince 'sarı' anlamına gelen 'flavus' sözcü ünden türetilerek "flavonoid" adını almı lardır (Kahraman vd., 2002). Flavonoidler, 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C6-C3-C6) yapısında dır. Flavonoidlerin yapısındaki OH grupları, reaktif özelliklerinden dolayı kolaylıkla glikozitlenir (Nizamlio lu ve Nas 2010). Çizelge 2.2'de flavonoidlerin sınıflandırılması gösterilmi ir.

**Çizelge 1.2.** Flavonoidlerin sınıflandırılması (Karadeniz ve Ek i, 2001)

B. Flavonoidler		
Grup adı	Ba lıcaları	
B.1. Antosiyanidinler	Pelergoidin	Siyenidin
	Petunidin	Delfinidin
	Malvidin	Peonidin
B.2. Kate inler	(+)-Kate in	(-)-Epikate in
	(+)-Gellokate in	(-)-Epigallokate in
B.3. Lökoantosiyanidinler	Lökoantosiyanidin	Lökoantodelfrinidin
B.4. Flavonoller	Kamferol	Kuersetin
	Mirisetin	zorarnetin
B.5. Flavonlar	Apigenin	Luteolin
B.6. Flavononlar	Narincenin	Hesperitin
	Eriyodiktol	zosekuranetin
B.7. Prosiyanidinler	Prosiyanidin dimer	P. Oligomer
	P.polimer	
B.8. Dihidrokalonlar	Floridzin	Floretin

Flavonoidler gıdalarda en yaygın bulunan polifenollerdir. Bugüne kadar en az 5000 tane fenolik madde tanımlanmış olup bunların 2000' den fazlası doğal flavonoidlerdir. (Shahidi ve Naczki, 1995). Flavonoidlerin serbest radikalleri yakalama, demir ve bakır gibi minerallerle elat yapma, damar sertliğini önleme gibi antioksidan özellikleri vardır (Okçu ve Keleş 2009).

## 2.5 Fourier Dönüüm Kızıl Ötesi (FTIR) Spektroskopisi

Son yıllarda çok popüler hale gelen tekniklerden biri de FTIR spektroskopisidir. FTIR spektroskopisi fenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif bileşenlerin belirlenmesinde hızlı, ekonomik, güvenilir ve kolay bir metot olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. FTIR spektroskopisi bir titreşim spektroskopisi tekniğidir ve moleküllerin döndükleri ve titreşimleri frekanslara bağlı olarak özel ayırık enerji seviyelerine sahip olmaları prensibine dayanmaktadır. Bu yöntem nispeten düşük maliyeti ile kısa ölçüm

süresine sahiptir. FTIR spektroskopisinin fenolik bileşiklerin belirlenmesinde kullanımını üzerine çalışmalarda artı gözlenmektedir (Ricci vd., 2015).

FTIR spektroskopisi, hızlı ve hassas sonuç vermesi, kullanım kolaylığı, tecrübeye ihtiyaç duymaması, örneğe zarar vermemesi, küçük miktar örnek ile bile sonuç verebilmesi, boyama-i aretleme gibi ek madde veya kimyasal kullanımına gerek duymaması, maliyet ve zaman tasarrufu açısından diğer yöntemlere göre büyük üstünlük sağlaması gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir (Ertugay ve Başlar, 2011).

FTIR spektroskopisi karbonhidratlar, proteinler, yağ asitleri, nükleik asitler ve polisakkaritler gibi birçok kimyasal bileşiklerin belirlenmesi ve yapılarının aydınlatılması için kullanılan yöntemlerden biridir (Çırak, 2017).

FTIR spektroskopisi, matematiksel Fourier dönüşümü ile 11000 cm<sup>-1</sup>’den 400 cm<sup>-1</sup>’e kadar ırdalanan kızılötesi yarı spektrumunu esas alan analitik bir yöntemdir. Kızılötesi bölge yakın, orta ve uzak olmak üzere 3’e ayrılmaktadır. Yakın dalga boylu kızılötesi (NIR); 14.000 cm<sup>-1</sup> ile 4.000 cm<sup>-1</sup>, orta dalga boylu kızılötesi (MIR); 4000 cm<sup>-1</sup> ile 400 cm<sup>-1</sup> ve uzak dalga boylu kızılötesi (FIR); 400 cm<sup>-1</sup> ile 40 cm<sup>-1</sup> arasındadır (Stuart, 2004).

Gıdalarda bulunan kimyasal bağların gerilme, büzülme ve bükülme gibi titreimsel hareketleri sayesinde kızılötesi ırdalanan absorbe edilmektedir. Bu titreimsel hareketler ve absorpsiyon sebebi ile spektral pikler meydana gelmektedir (Çırak, 2017). Kimyasal analizler genelde MIR’de yapılır (Stuart 1997).

Bueneo vd. (2017), arabanın fenolik içeriğini, esas olarak üzümde bulunan fenolik bileşiklerin miktarına bağlı olduğunu ve üzüm kabuğundaki fenoliklerin ekstrakte edilebilirliğini belirlemede FTIR spektroskopisinden yararlandıklarını söylemişlerdir.

Ragupathi vd. (2011), yaptıkları bir çalışmada Hindistan’ın Mannar Körfezi altındaki deniz yosunlarının polifenol içeriğini ölçmek için FTIR spektroskopisi tekniğini kullanıp fenolik bileşikler hakkında temel bilgileri ortaya koymuştur. Fenolik bileşik standartlarına karşılık gelen FTIR spektrumları dalga boyu galik asit için 669, 763, 1025, 1100 ve 1627 cm<sup>-1</sup>, vanilin için 668, 1498, 1534, 1617, 1654 ve 3392 cm<sup>-1</sup>, tannik

asit için 669, 860, 1172, 1511 ve 1627  $\text{cm}^{-1}$  ve p-kumarik asit için 669, 1124, 1171  $\text{cm}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Buna göre deniz yosunları ekstraktları için belirlenen bantların p-kumarik asit bantları ile uyumlu bulunduğunu belirlenmiştir.

Lu vd. (2011), dört soğan çeşidinin (kırmızı, beyaz, sarı ve tatlı) ve arpacık soğanının toplam fenolik içeriği (TPC) ve toplam antioksidan kapasitesini (TAC), FTIR spektroskopisi (4000–400  $\text{cm}^{-1}$ ) kullanarak belirlemiştir. Aynı zamanda TPC'yi ölçmek için Folin Ciocalteu (FC) deneyi, antioksidan aktivite için; (DPPH) metodu, Trolox referans antioksidan kapasitesi (TEAC) deneyi ve ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) gibi geleneksel yöntemleri kullanmıştır. Örneklerin TPC ve TAC tahmin etmek için en küçük kısmi kareler (PLS) yöntemi uygulanmıştır. 1800-750  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayıları arasındaki bantlar (parmak izi bölgeleri) biyokimyasal bileşimleri, özellikle karbonhidrat, lipid, protein sekonder yapılarını ve bitkilerin polifenol kısımlarını yansıttığını ifade etmiştir. 1618  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısındaki belirgin tepe, C-C uzaması polifenolik bileşenlerde yüksek seviyelerde bulunan fenil halkasını ifade eder. FTIR spektroskopisi ile TAC ve TPC'nin tahmini değerleri, TEAC, FRAP, DPPH ve FC analizleriyle ölçülen referans değerleri ile iyi korelasyon katsayıları ( $r > 0.95$ ) vermiştir. Genel olarak, FTIR spektroskopisinin çeşitli soğanların ve arpacık soğanının antioksidan kapasitesini, geleneksel kimyasal analizlerde elde edilene benzer bir hassasiyetle tahmin etmek için kullanılabilirliği ifade edilmiştir.

Tahir vd. (2017), yaptıkları bir çalımda baldaki fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivitenin belirlenmesi için, FTIR-ATR ve Raman spektroskopisi kısmi en küçük kareler regresyonu (PLSR) ile kombine olarak incelenmiştir. FTIR sonucuna göre 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$  arasında yer alan bantlar, karbonil gruplarının C-O ve C-C germe hareketine bağlıdır ve bu bölge fenolik moleküllerle ilişkilendirilmiştir. FTIR-ATR ve Raman spektroskopisinin, baldaki fenolik bileşikleri ve antioksidan etkinlikleri ölçmek için basit, hızlı ve tahribatsız yöntemler olduğunu göstermiştir.

Okur vd. (2019), yaptıkları çalımda vişne posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) (30, 60 ve 90 sn için 900 W), yüksek hidrostatik basınç (HHP) (20 °C'de 1, 5 ve 10 dakika için 400 ve 500 MPa) ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) (% 100 güç, 5, 10 ve 15 dakika için) gibi yeni yöntemler uygulamıştır. Ekstraktların fenolik içeriğini belirlemede FTIR

spektrometresi kullanılmırlardır. FTIR sonuçlarına göre, farklı ekstraksiyon teknikleri uygulandıında fenolik bileşiklerin kimyasal yapılarında önemli bir yapısal değişiklikler görülmemiştir. 1800 - 750  $\text{cm}^{-1}$  (parmak izi bölgeleri) dalga sayıları arasında pozitif olarak bulunan bantlar, bitkilerde bulunan polifenollerle ilgilidir. Aromatik halkanın C-H germe titreimleri sonucu bant 3000–3300  $\text{cm}^{-1}$ ’den 2800  $\text{cm}^{-1}$ ’e kadar uzayabildiği belirlenmiştir. 1730  $\text{cm}^{-1}$  civarında bir bant, karbonil grubunun germe titreimine balaanmıştır ve sadece hidrolize edilebilir tanenler için mevcut denilmiştir. 1500–1150  $\text{cm}^{-1}$  aralığı CH (fenoller) ve OH deformasyon titreimlerinden kaynaklanan absorpsiyonları içerir. 1014  $\text{cm}^{-1}$  de bulunan bant ise, piran halkasının OH ikame edicisi için uzanan C = O esnemesini ifade eder ve epikatein ile ilişkilendirilmiştir.

## 2.6 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

Fenolik maddeleri belirlemek için birçok farklı yöntem geliştirilmiştir. Elma ve elma sularında toplam fenolik içeriği geniş bir aralıkta değerlendirir. Elma ve elma sularında fenolik bileşiklerin belirlenmesinde genellikle HPLC (high performance liquid chromatography, yüksek performanslı sıvı kromatografisi) kullanılmaktadır (Biedrzycka ve Amarowicz 2008). Polifenolik bileşiklerin tanımlanması için, kolonda alıkonulma sürelerine göre gerçekleştirilmektedir (Gökten, 2012).

Genel olarak kromatografi bir sabit dairesel hareketli faz olmak üzere birbiriyle karşıt olan iki fazlı bir sistemde ayrılması ve saflaştırılmasıdır. Çeşitli maddelerin hareketli faz yardımıyla, sabit faz üzerinde, farklı hızlarla hareket etmeleri prensibine dayanmaktadır. Hareketli faz, sabit faz üzerinde sürüklenerek örnek bileşenlerinin ayrılmasını sağlar. HPLC birimleri; hareketli (taşıyıcı) faz, pompa, enjektör, kolon, dedektör ve verileri kaydeden bilgisayardan oluşmaktadır. HPLC pompası, sistemde mobil fazın enjektör, kolon ve dedektör boyunca sürekli sabit akımını sağlayan sıvı kromatografinin önemli kısımlarından biridir. Kromatografik süreç, numunenin kolona enjeksiyon edilmesiyle başlar. Numune bileşenlerinin ayrılması kolon kısmında gerçekleştirilmektedir. Dedektör, cihazdan geçen bir maddenin varlığını tespit ederek bilgisayar ekranına bununla ilgili sinyal gönderen bölümdür. HPLC’de kullanılan dedektör tiplerinden bazıları UV (ultraviyole), RI (refraktif indeks), FD (flüoresan detektör), MS (mass spektrofotometri)’dir (Akkaya, 2016).

Kalinowska vd. (2014), yaptıkları bir çalı mada, elmada bulunan fenolik bile iklerle ilgili bilgileri derleme olarak özetlemi lerdir. Literatürde daha çok elmaların kabuk kısımlarıyla ilgili çalı malar oldu unu ifade etmi lerdir. Genel olarak, elma kabu u ete göre toplam fenolik bile ikler açısından daha zengindir ancak bazı bireysel fenolik bile iklerin elma çe idine ba lı olarak ette kabuktan daha fazla bulundu u ifade edilmi tir. Bu çalı malardan bazılarında elmada bulunan fenoliklerden klorojenik asit Idared cinsinde kabuk kısmında 7,15 mg/100 g YA bulunurken, meyve eti kısmında 11,69 mg/100 g YA, Golden Delicious kabuk kısmında 17-37g mg/kg YA, meyve etinde 29-57 mg/kg YA, Granny Smith kabukta 6-60g mg/kg YA, etinde 28-71 mg/kg YA olarak belirlenmi tir. Kate in için Golden Delicious cinsinde kabuk kısmında 66-164 mg/kg YA, 28-49 mg/kg YA, Granny Smith kabuk kısmında 374-486 mg/kg YA, meyve etinde 136-182 mg/kg olarak belirlenmi tir. Epikate in için Fuji cinsinin kabuk kısmında  $2,5 \pm 0,14$  mg/100g YA, meyve etinde  $0,37 \pm 0,015$  mg/100g YA, Elstar cinsinde kabukta  $4,2 \pm 0,07$  mg/100g YA, meyve etinde  $0,7 \pm 0,04$  mg/100g YA olarak belirlendi i söylenmi tir.

McGhie vd. (2005), yaptıkları çalı mada farklı co rafi bölgeden tedarik edilen Yeni Zelanda'da ticari olarak yeti tirilen 10 farklı elma çe idinde polifenol konsantrasyonunu HPLC kullanarak ölçmü tür. Tespit edilen flavonoller (kuersetin türevleri), sinamik asitler (klorojenik asit), dihidrokolik (floridzin); flavanoller (kate in ve epikate in), antosiyaninler (siyanidin 3-galaktosit) ve prosiyanidinlerdir. Elma etinde bulunan toplam fenolikler 1089- 337  $\mu$ g/g YA aralı ındadır. Bütün elmadaki toplam fenolik ise 263,1- 97,7 mg/elma olarak hesaplanmı tir.

Türkiye'de yeti tirilen bazı elma çe itlerinin ba lıca fenolik bile ikler HPLC ile incelenmi tir. Elma türlerindeki meyve eti ve kabuk kısımları homojen ekilde ayrılı mı , %70 metanolla ekstrakte edilmi ve elde edilen elma suları seyreltilerek kullanılmı tır. HPLC analizleri sonucuna göre elma sularında kate in (9,09-115,30 mg/l), klorojenik asit (41,10-276,3 mg/l), epikate in (3,38-6,76 mg/l), kafeik asit (3,04-79,09 mg/l) ve floridzin (0,52-20,13 mg/l) tespit edilmi tir (Karaman, 2008).

Pearson vd. (1999), yaptıkları bir çalı mada 6 farklı ticari elma suyunun ve Red Delicious cinsi elmanın toplam fenolik madde miktarını ve fenolik bile imini HPLC ile incelemi lerdir. Toplam fenolik madde miktarı meyve suyunda 181,7- 48,4 mg/l olarak

belirlenmiştir. Bütün bir elmada 482,4 mg/l iken, kabuk kısmında 2075,6 mg/l bulunmuştur. Ticari elma suyundaki fenolik bileşenlerden katekin (33,8-7,6 mg/l), klorojenik asit (58,3-17,0 mg/l) ve rutin (7,8-1,1 mg/l) aralığında belirlenmiştir. Red Delicious cinsi elmadaki katekin miktarı (228,2 mg/l), klorojenik asit miktarı (66,6 mg/l) ve rutin miktarı (20,7 mg/l) olarak belirlenirken, kabuk kısmındaki miktarlar sırasıyla (654,3-74,3- 222,4 mg/l) olarak belirlenmiştir.

Karadeniz vd. (2001), 3 farklı çeşitten ve (Amasya, Golden, Starking) 5 farklı yöreden ardarda 3 yılda temin edilen elmalardan hazırlanan 45 elma suyu örneğinde fenolik madde kompozisyonunu araştırmışlardır. Elmalar yıkama, ayıklama, presleme ve filtrasyon gibi işlemlerden sonra işlenip 97 °C sıcaklıkta 20 dakika pastörize edilmiş ve hemen 20 °C'ye soğutulmuştur. Fenolik bileşenlerin kantitatif analizi için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Bulgulara göre elma suyunda konsantrasyonu en yüksek fenolik bileşik klorojenik asittir (62,3-342,6 mg/l). Bunun yanı sıra epikatekin (5,3- 240,1 mg/l), floretinlikozit (5,5-60,0 mg/l), floridzin (6,9-29,7 mg/l) ve p-kumarik asit (1,1-16,0 mg/l) izlenmiştir. Elma suyunda fenolik madde miktarı öncelikle meyve çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Fenolik madde miktarı en çok Amasya çeşidinde olup, bunu Starking izlenmiştir. Golden ise, floretinlikozit hariç fenolik bileşik miktarı en düşük elma çeşididir. Yeti me yılına göre de elma suyundaki fenolik madde miktarı değişmektedir. Fenoliklerden klorojenik asit 1991 yılı örneklerinde daha yüksektir (197,7 mg/l). Bunun yanı sıra 180,7 mg/l ile 1992 ve 164,3 mg/l ile 1990 yılı örnekleri izlenmiştir. Elma suyundaki fenolik madde kompozisyonu çeşit ve yıldan önemli düzeyde etkilenmekteyken, yöreden etkilenmemektedir.

Markowski ve Płocharski (2005), elmalardaki fenolik bileşenlerin içeriğini belirlemek ve işlenmiş ürünlerini değerlendirme amacıyla Jonagold, Sampion, Idared ve Topaz cinsi elmaları kullanmışlardır. Elmaların fenolik bileşik içeriğini HPLC ile belirlenmiştir. Berrak elma suları üretimi, 50 °C' de Panzym MK ile veya 20 °C' de Rohapect MA Plus ile enzimatik olarak gerçekleştirilmiştir. Meyveler de en yüksek fenolik asit içeriğini Idared (346 mg/kg) cinsinde bulunmuştur. En yüksek miktarda kuersetinlikozit içeriğini Jonagold (87 mg/kg) ve Topaz (83 mg/kg) cinslerindedir. Berrak meyve suları üretimi sırasında fenolik kayıplarının çok yüksek olduğu bulunmuştur. Panzym MK ile üretilen berrak meyve sularının, toplam fenolik içeriğini başlangıca göre % 40 oranında bulunurken, Rohapect MA Plus ile üretilen berrak meyve sularının, toplam fenolik

içeri i ba langıca göre % 20 oranında bulunmu tur. Berrak suların üretimi sırasında sıcaklı ın fenolik içerik üzerinde güçlü bir etkisi oldu u ifade edilmi tir.

Lee vd. (2003), yaptıkları bir çalı mada altı elma çe idinin ana fenolik fitokimyasalları tanımlanmı ve bunların toplam antioksidan aktivitesine katkıları belirlenmi tir. Antioksidan aktivite 2,2 -azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü kullanılarak belirlenmi ve C vitamini antioksidan kapasite e de eri (VCEAC) olarak ifade edilmi tir. Altı elmadaki majör fenolik ve C vitamini konsantrasyonları a a ıdaki gibidir (mg/100g taze elma a ırlı ı): kuersetin glikozitler, 13,20; prosiyanidin B2, 9,35; klorojenik asit, 9,02; epikate in, 8,65; floretin glikozitler, 5,59; C vitamini, 12,80. Bu bile iklerin nispi VCEAC de erleri, kuersetin (3,06)> epikate in (2,67)> prosiyanidin B2 (2,36)> floretin (1,63)> C vitamini (1,00)> klorojenik asit (0,97) olarak belirlenmi tir. Bu nedenle, ana fenoliklerin ve C vitamininin 100 g taze elmanın toplam antioksidan kapasitesine tahmini katkısı: kuersetin (40,39 VCEAC)> epikate in (23,10)> prosiyanidin B2 (22,07)> C vitamini (12,80)> floretin (9,11)> klorojenik asit (8,75) olarak sıralanmı tur. Sonuca göre kuersetin, epikate in ve prosiyanidin B2 gibi flavonoidlerin, elmaların toplam antioksidan aktivitesine C vitamininden daha fazla katkıda bulundu u belirlenmi tir.

Erzincan yerli elması olan Ak Sakı ve Kara Sakı elma çe itlerinin meyvelerinin kimyasal bile imi belirlenmi tir. Bu elmalar liyofilizatörde -50°C' de 24-36 saat süreyle dondurularak kurutulmu tur. Kurutulan elmalarda (tüm meyve, meyve eti ve kabuk) fenolik bile iklerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde HPLC kullanılmı tur. Elmaların toplam fenolik madde miktarını belirlemede Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmı , de erler 25,00-11,63 mg GAE/g kuru madde aralı ında bulunmu tur. En yüksek toplam fenolik madde miktarı, Kara Sakı elmasının kabu unda, en dü ük toplam fenolik madde miktarı Ak Sakı elmasının meyve etinde tespit edilmi tir. Elma çe itleri, ferulik asit ve hidroksisinnamik asit bakımından anlamlı farklılık göstermi tir (p<0,001). Epikate in en fazla Kara Sakı elmasının kabu unda, p-kumarik asit en az Kara Sakı elmasının meyve etinde bulunmu tur. Hidroksisinnamik asit, Ak Sakı ve Kara Sakı elma çe itlerinin sadece kabuklarında tespit edilmi tir. Sakı elmasının her iki çe idinin kabuklarında bulunan toplam fenolik madde ve fenolik bile ikler, elma etine ve meyvesine göre daha fazla oldu u belirlenmi tir (Gök en, 2012).

## 2.7 Isıl İlemin Uygulamasının Elma Suyundaki Fenolik Bileşikler ve Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi

Isıl ilemin etkinliğini belirlemek için sadece enzim inaktivasyonuna bakmak yeterli değildir. Enzim inaktivasyonu ile birlikte uygulanan prosesin gıdanın kalite parametreleri üzerindeki etkisi de incelenmelidir. Özellikle yüksek sıcaklıklardaki ısıl ilemler gıdanın besinsel ve duyuşsal özellikleri üzerinde olumsuz etkilere sahiptirler. Yüksek sıcaklığın etkisiyle gıdanın uçucu tat-koku maddeleri, vitaminler ve diğer besin öğeleri (fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi) kaybı, tekstür bozuklukları gibi olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır.

Antioksidanlar, oksidasyondan kaynaklanan acılaşmayı ve diğer tat bozulmalarını geciktirme veya önleme özelliğine sahip olan maddelerdir. Tokoferoller, askorbik asit, flavonoidler ve fenolik asitler en önemli doğal antioksidan gruplarıdır. Antioksidanların oksidatif stres sonucu oluşan dejeneratif ve yaşla ilgili çeşitli hastalıkları önlemedeki rolünün anlaşılmasıyla bu maddelere olan ilgi artmıştır (Tavman vd., 2009).

Meral (2016), derleme çalışmasında farklı ısıl ilemin uygulamalarının fenolik bileşikler üzerine etkisini araştırmıştır. Fenolik bileşenlerin ısıya duyarlı ve kompleks bileşenler olduğunu ve ısıtma ileminin toplam fenolikleri, flavonoidleri ve antioksidan aktiviteyi etkilediğini belirlenmiştir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerine ısıl ilemin etkisini araştıran çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazı çalışmalar, ısıl ilemin hücre duvarı ve hücre matriksinin yapısının bozulması nedeniyle fenolik asitlerin miktarının arttığını ifade ederken bazı çalışmalar ise ısıl ilemin fenolik bileşenlerde ve antioksidan aktivitede azalma veya bir değişiklik olmadığını ifade etmektedir.

Aguilar-Rosas vd. (2007), yaptıkları bir çalışmada elma suyunda geleneksel bir yöntem olan yüksek sıcaklık-kısa süreli (HTST) pastörizasyon uygulamalarıdır. Termal pastörizasyon, 30 saniye boyunca 90 °C’de gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre termal pastörizasyon ile toplam fenolik maddede %32,2’lik bir azalma belirlenmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada Golden delicious cinsi elmalara ısıl ilemin (90 °C 1 dak) uygulamalarıdır. Toplam fenolik maddede kayıp ısıl ilemin sonrasında % 21-26 arasında

tespit edilmi tir (Ba lar ve Erturgay, 2013). Yapılan ba ka bir çalı mada HTST pastörizasyonunun (85 °C, 30 s; 90 °C, 15 s) bulanık elma suyunun fenolik içeri i üzerine dü ük bir etkisi oldu u saptanmı tir. Isıl i lem uygulanmı elma sularında 60 gün depolama ile toplam fenolik maddede azalma belirlenmi tir, bunun nedeninin fenolik bile iklerin termal olarak stabil olmaması oldu u belirtilmi tir (Nayak vd., 2017).

He vd. (2016), yaptıkları bir çalı mada elma suyuna 80 °C 30 dakika ve 90 °C 30 saniye su banyosunda ısıl i lem uygulamı lardır. Elma suyunun fenolik bile ik içeri i, HPLC yöntemiyle belirlenmi tir. Toplam fenolik madde miktarında 80 °C'lik i lemden sonra % 1,35 artı belirlenirken, 90 °C'de ısıl i lem gören elma suyu örneklerinde % 9,82 azalı belirlenmi tir.

Francini ve Sebastiani (2013), yaptıkları derleme çalı masında bazı elma çe ilerinin toplam fenolik madde miktarlarından bahsetmi lerdir. Gala ve Panaia kırmızıısı çe itlerinde sırasıyla (56 ve 221 mg GAE/100g ıslak a ırlık) toplam fenolik belirlemi lerdir. Idared ve Rome Beauty elmalarının kabuklarındaki fenolikler (588,9 ve 500,2 mg GAE /100 gr) yüksek seviyedeyken, meyve etinde (75,7 ve 93,0 mg GAE/100 gr) daha dü ük oldu unu söylemi lerdir.

etkovi vd. (2008), yaptıkları bir çalı mada farklı elma çe itlerini (Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn) kullanarak elde ettikleri elma posasının fenolik ve antioksidan kapasitesini ara tırmı lardır. Toplam fenolik madde FC yöntemiyle belirlenirken, antioksidan aktiviteyi belirlemede DPPH radikalinden yararlanmı lardır. Toplam fenolik madde 4,22 - 8,67 mg/g aralı nda olup, en yüksek toplam fenolik 8.67 mg/g ile Reinders cinsinde belirlenmi tir. Sonuçlara göre EC<sub>50</sub> de erleri sırasıyla 9,22 ± 0,45 mg/ml, 6,33 ± 0,31 mg/ml, 9,50 ± 0,47 mg/ml, 12,22 ± 0,6 mg/ml, 7,95 ± 0,39 mg/ml olarak belirlenmi tir. Elma posaları arasında Reinders cinsinin, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldu u belirlenmi tir.

Yıldırım vd. (2019), yaptıkları bir çalı mada Isparta ili E irdir ilçesinden temin edilen be farklı elma (Starking Delicious, Golden Delicious, Pink Lady, Arap Kızı ve Granny Smith) çe itinin meyve eti ve kabuk kısmının antioksidan kapasitesini DPPH ve TFM yöntemiyle belirlemi lerdir. Analiz sonuçları incelendi inde, toplam fenolik madde

meyve eti kısmında en fazla Arap Kızı cinsinde 657,1 mg/100g GAE, en düşük ise Starking Delicious 399,0 mg/100g GAE cinsinde belirlenmiştir. Kabuk kısmında ise fenolik miktarı en fazla Granny Smith 1692,5 mg/100g GAE, en düşük ise Golden Delicious 929,7 mg/100g GAE olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite meyve eti kısmında sırasıyla (%44,42; %47,06; %32,52 %51,33; %49,54) olarak belirlenirken, kabuk kısmında sırasıyla (%73,51; %77,28; %66,67; %74,23; %87,21) olarak tespit edilmiştir.

Bahukhandi vd. (2018), çalılarında Hindistan'ın Uttarkand (Batı Himalaya) bölgesindeki farklı yerlerinde yeti en üç geleneksel elma çeşidinin (Benoni, Fanny ve Rymerin) fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitelerini araştırmışlardır. Çalıların sonucunda fenolik madde (0,94-7,00 mg/g GAE) aralığında belirlenmiştir ve en yüksek fenolik madde Mukhwa bölgesinde yeti en Rymerin cinsinde 7,00 mg/g GAE belirlenmiştir. Antioksidan aktivite ise (DPPH, 4,99-14,06 mmol/kg FW) aralığında olup, en yüksek aktivite Mukhwa bölgesinde yeti en Rymerin 14,06 mmol/kg FW olarak belirlenmiştir.

Literatürde elma suyunda çeşitli sıcaklık ve süre parametrelerine bağlı olarak uygulanan ısı ile lenin enzim aktivitesi üzerine etkisinin belirlendiği çalılar bulunuyorken, fenolik maddedeki ve antioksidan aktivitedeki değişimin belirlendiği çalılar sınırlıdır. Bu çalımla ile hafif ısı (80 °C) uygulaması ve uzun sürelerinde enzim aktivitesi, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ile FTIR spektroskopisi ve HPLC kullanılarak fenolik bileşiklerin deşimini incelenmiştir.

## BÖLÜM III

### DENEYSEL ÇALI MALAR

#### 3.1 Materyal

Bu çalı mada kullanılacak taze elma (*Malus domestica*) yerel üreticilerden sa lanmı tır. Çalı mada Red Chief çe idi elma kullanılmı tır. Meyveler, meyve suyu eldesinden önce 4°C sıcaklıkta depolanmı tır. Yıkanmı ve kâ it havlu ile kurutulmu meyveler dörde kesilip, çekirdek evleri ayrılmı ve blenderdan (Arnica AA 1233 GH21530 Orbital Mix, Türkiye) geçirilmı tir. Elde edilen meyve suyu 4 katlı tülbentten süzölmü tür. Taze sıkılmı meyve suları kontrol olarak ayrılmı tır.

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 Isıl i lem uygulaması

Elde edilen taze meyve suyu farklı sıcaklık ve sürenin meyve suyu üzerine etkisini belirlemek için ısıl i leme tabi tutulmu tur. 200 ml meyve suyu 7 cm çap ve 9,5 cm uzunlu a sahip cam beher içine konularak, cam beher su banyosu (Yüksel Kaya Makine, YKM-AS209, Türkiye) içine yerle tirilmı tir. Isıl i lem sırasında örnek içinde sıcaklı ın e it da ılımını sa layabilmek için laboratuvar tipi özel mekanik karı tırıcı ( solab, 615.01.001, GmbH, Germany) kullanılmı tır. Meyve suyuna farklı sıcaklıklarda (40, 50, 60, 70 ve 80°C) ve farklı sürelerde (5, 10, 15, 20, 25, 30 dakika) ısıl i lem uygulanmı tır. lem boyunca örnek sıcaklı ı dijital sıcaklık ölçer kullanılarak kontrol edilmi tir. Cam beher içine konulan meyve suyu sıcaklı ı istenen de ere ula tı nda ısıl i lem ba latılmı tır. Örnekler enzim aktivitesinin ölçümü için ısıl i lemin hemen sonrasında buzlu su banyosuna alınmı tır. Her bir uygulama üç kez tekrarlanmı tır.

### 3.2.2 Kalan polifenoloksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

naktivasyon sonunda PPO enzim aktivitesi ölçümleri Baltacıo lu vd. (2015) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek, spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla Thermo Scientific marka Evolution 300 model (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) spektrofotometre kullanılmıştır. PPO enzim aktivitesi 420 nm dalga boyunda absorbans artışı ölçülerek belirlenmiştir. Test tüplerine konulacaklar aşağıda listelenmiştir:

	Test	ahit
50 mM (pH=6,5) potasyum fosfat tamponu	2,00 ml	2,30 ml
0,25 M katekol (K- fosfat tamponu içinde çözünmü )	0,30 ml	0,30 ml
Örnek	0,30 ml	0,00 ml

Reaksiyon, örnek ilavesi ile başlanır. Tüp içeriği vorteks ile karıştırıldıktan sonra absorbans değerleri 3 dakika boyunca 5 saniyede bir kaydedilmiştir. Aktivite ölçümü sıcaklığı  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  olarak sağlanmıştır. PPO enzim aktivitesi zamana karşı çizilen  $A_{420}$  grafiğinin ilk doğrusal kısmının eğiminin belirlenmesiyle, birim zamanda absorbanstaki 0,001'lik değişim olarak ifade edilmiştir. Kalan enzim aktivitesi kontrolün aktivitesine oranla yüzde olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.3 Kalan peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

naktivasyon sonunda POD enzim aktivitesi ölçümleri spektrofotometrik yöntemle Abid vd. (2014) tarafından kullanılan yöntemde gerçekleştirilerek belirlenmiştir. Bu amaçla Thermo Scientific marka Evolution 300 model (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) spektrofotometre kullanılmıştır. POD aktivitesi substrat olarak pirogallol kullanılarak belirlenmiştir. Tüp içerisine 1 mL örnek, 1,52 mL 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6), 0,32 mL %5 pirogallol ve 0,16 mL 0,147 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  karıştırılmıştır. Reaksiyon  $\text{H}_2\text{O}_2$  ilavesi ile başlatılacaktır ve absorbansdaki artış 3 dakika boyunca 5 saniyede bir kaydedilmiştir. Aktivite ölçümü sıcaklığı  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  olarak belirlenmiştir. Enzim aktivitesi zamana karşı çizilen  $A_{420}$  grafiğinin ilk doğrusal kısmının eğiminin belirlenmesiyle, birim zamanda absorbanstaki 0,001'lik değişim olarak ifade edilmiştir. Kalan enzim aktivitesi kontrolün aktivitesine oranla yüzde olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.4 Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu metoduna göre yapılmı tır (Singleton ve Rossi, 1965). Standart olarak gallik asit kullanılmı tır. Gallik asit kalibrasyon e risi için, gallik asidin 5 farklı konsantrasyonu hazırlanmı tır. Meyve suyu (1:5) % 1 HCl içeren % 80'lik metanol ile çözülmü tür. Karı ım 4 saat boyunca 40 rpm devirde çalkalanmı ve berrak kısmın ayrılması için 9000 devirde, +4 C'de, 15 dakika santrifüj (Nüve marka NR 800R model, Türkiye) edilmi , elde edilen berrak kısım tüp içine alınmı tır. Toplam fenolik tayini için 100 µl örnek üzerine 0,75 ml Folin- Ciocalteu çözeltisi (suda, %10'luk) eklenmi ve oda sıcaklı ında 5 dakika bekletilmı tir. Daha sonra 0,75 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (suda, 75g/L) ilave edilerek kuvvetlice karı tırılmı tır. Oda sıcaklı ında karanlıkta 1 saat bekletilmı ve süre sonunda 725 nm'de çözeltilerin absorbansları okunmu tur. Aynı i lemler kalibrasyon e risi için hazırlanmı farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltilerine de uygulanmı tır. Ekstraktların absorbansları, çizilen gallik asit kalibrasyon e risinden okunarak toplam fenolik madde konsantrasyonu e de er gallik asit olarak hesaplanmı tır (mg GAE/kg ya a ırlık).

### 3.2.5 DPPH yöntemiyle antioksidan aktivite tayini

Serbest radikal yakalama etkinli i deneyi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak Blois'in metoduna göre çalı ılmı ve a a ıdaki prosedür uygulanmı tır (Blois, 1958).

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktlardan 100'er µl alınması

3,9 ml 0,1 mM DPPH (%80 metanolde hazırlanan) çözeltisi ile karı tırılması

Vorteksleme

Oda ko ulla rında karanlıkta 30 dakika bekletme

517 nm'de absorbansların okunması

Örnek yerine 0,1 ml %80'lik metanol kullanılarak aynı artlarda kontrol olarak kullanılmı ve kontrolün absorbansı günlük olarak ölçülmü tür. ahit olarak %80

metanol kullanılmı tır. % DPPH radikali giderme aktivitesi Denklem 3.1' e göre hesaplanmı tır:

$$\% \text{ DPPH Radikalı Giderme Aktivitesi} = \frac{\text{Kontrolün Absorbansı} - \text{Örnek Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} \times 100 \quad (3,1)$$

Örneklerin farklı konsantrasyonlarına karşı hesaplanan % inhibisyon değerleri ile çizilen grafikten linear regresyon ile % 50 inhibisyona neden olan antioksidan derişimleri elde edilmiş ve sonuçlar EC<sub>50</sub> (mg/ml) olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.6 Fenolik Madde Değeri İminin FTIR Spektroskopisi Kullanılarak Belirlenmesi

Uygulanan inaktivasyon yönteminin fenolik madde içeriğine etkisi Fourier Dönüşüm Kızıl Ötesi (FTIR) spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin absorpsiyon spektrumu Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında bulunan ATR hücresine sahip FTIR spektroskopisi (Bruker, Almanya) kullanılarak, 2 cm<sup>-1</sup> çözünürlükte 128 tarama yapılarak 400-4000 cm<sup>-1</sup> bölgesinde elde edilmiştir. Ekstraksiyon solventinin (metanol, %80) karışımının bantları kapatmasından dolayı örnekler dondurularak kurutucuda kurutulduktan sonra (önce etüvde metanol uçurulmuş), okuma kurutulmuş örnekte gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.7 HPLC Yöntemi ile Fenolik Madde Belirlenmesi

Elma suyunun fenolik içeriğini belirlemek için HPLC yöntemi uygulanmıştır (Kuçucu ve Bulantekin, 2016). Ekstrakt eldesi için, öncelikle 15'er ml falkon tüplerinde 2 g elma suyu üzerine % 80'lik metanol (%1'lik HCl içeren) çözeltisi ilave edilerek 10 ml hacme tamamlanmış ve oda sıcaklığında, 100 rpm'de 240 dak çalkalanması ile ekstraksiyon sağlanmıştır. Sonrasında ekstrakt 9000 rpm, 15 dak, +4 C'de santrifüj edilerek, elde edilen süzüntüden tüp içine alınmıştır. Enjeksiyondan önce ekstraktlar, 0,45µm teflon membran filtreden geçirilmiş ve kahverengi iğnelere doldurulmuştur. Daha sonra, iğnelerdeki ekstraktların 20 µl'si SIL-10AD vp otomatik örnekleme sistemi ile HPLC'ye (Shimadzu Corporation, Kyoto Japan) enjekte edilmiştir. HPLC sistemi bir pompa (LC-10ADvp), degazer (DGU- 14A), kontrol fırını (CTO-10Avp), bir

detektörden (DAD dedektör ( $\lambda_{\max}=278\text{nm}$ )) olu maktadır. Polifenolikler Agilent Eclipse XDB-C18 kolonu kullanılarak ((250x4,60 mm), 5 mikron ) ayrılma tır. Kolon sıcaklığı 30 °C' dir. Ayrım ikili çözücü sistemiyle gradient program uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz % 3 asetik asit (A) ve metanolden (B) olu maktadır. Akış hızı çalışma boyunca 0,8 ml/dakikadır. Gradient programı Çizelge 3.1' e göre uygulanmıştır.

**Çizelge 2.1.** Gradient programı

Süre (dakika)	A (%)	B (%)
0	93	7
20	72	28
28	75	25
35	70	30
50	70	30
60	67	33
62	58	42
70	50	50
73	30	70
75	20	80
80	0	100
81	93	7

HPLC' de elde edilen standart kromatogramı EK 1' de gösterilmiştir.

### 3.2.8 Verilerin Analizi

Veriler Minitab (17 versiyon, Minitab Inc., State College, PA, ABD) paket programı kullanılarak % 95 güvenlik aralığında analiz edilmiş olup verilerin analizinde genel lineer model kullanılmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıkların tespiti için Tukey's çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Her bir deney en az üç kez tekrarlanmıştır.

## BÖLÜM IV

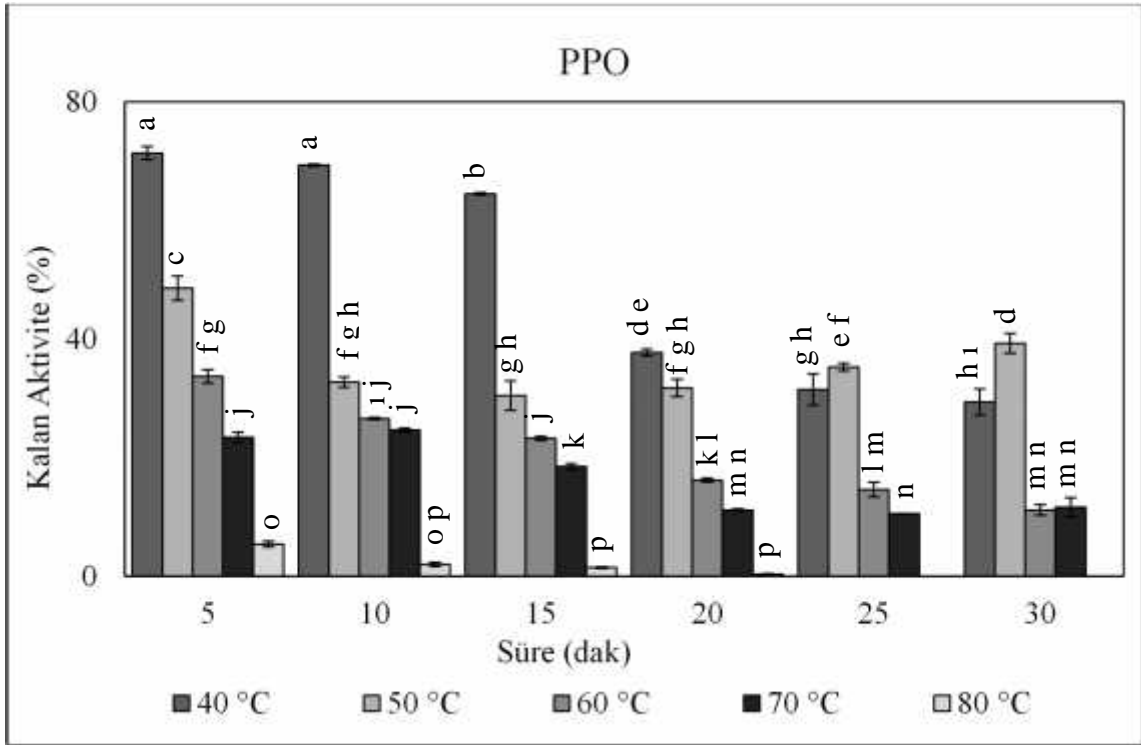
### BULGULAR VE TARTI MA

#### 4.1 Isıl İ lem Sonrasında Elma Suyunda Kalan PPO Enzim Aktivitesi

Gıdalarda kalite kayıplarına neden olan enzimleri inaktif hale getirmek için çe itli yöntemler uygulanmaktadır. Isıl i lem uygulamaları enzim inaktivasyonunda gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan yöntemdir (Adams, 1991).

PPO aktivite ölçümünde, substratın harcama veya ürün olu um oranı belirlenmektedir. Reaksiyon hızlarının ölçülmesi için en kolay yöntem ürün olu umunun belirlenmesidir. Ürün olu umu, kinonlardan olu an renkli bile iklerin optik yo unlu unun ölçülmesiyle spektrofotometrik olarak belirlenmektedir. PPO aktivite ölçümünde en uygun substrat kate oldur (Toralles vd., 2005). PPO aktivite ölçümünde kullanılacak optimum substrat konsantrasyonu, farklı substrat konsantrasyonlarında reaksiyon hızları belirlenerek ölçülmü tür. Ön denemeler sonucunda elde edilen verilere göre, enzim aktivitesinin belirlenmesi için optimum substrat konsantrasyonu 0,25 M kate ol olarak seçilmi tir.

Sıcaklı ın enzim aktivitesi üzerine etkisini belirlemek için farklı sürelerde elma suyu örneklerine ısıl i lem uygulanmı tir. Isıl i lem öncesi ve sonrasında PPO enzimlerinin aktiviteleri belirlenmi tir. Kalan enzim aktivitesi kontrolün aktivitesine oranla yüzde olarak ifade edilmi tir. Buna göre uygulanan sıcaklık ve süreye göre kalan enzim aktivitesinde gözlenen de i iklikler PPO enzimi için ekil 4.1' de verilmi tir.



Grafikteki farklı harfler (a, b, c...), de erler arasında önemli bir fark oldu unu göstermektedir.

#### ekil 4.1. Isıl i lem sonunda kalan PPO enzim aktivitesi

Elma suyuna uygulanan ısıl i lem sonucunda, enzim aktivitesindeki de i im incelendi inde sıcaklı ın, sürenin ve sıcaklık-süre etkile iminin PPO enzim aktivitesi üzerine etkisi önemli bulunmu tur ( $p < 0,05$ ). 40 °C sıcaklıkta 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dakika uygulanan ısıl i lem sonrasında kalan PPO enzim aktivitesi sırasıyla %  $71,37 \pm 1,11$ ; %  $69,33 \pm 0,18$ ; %  $64,49 \pm 0,18$ ; %  $37,73 \pm 0,55$ ; %  $31,47 \pm 2,63$  ve %  $29,36 \pm 2,23$  olarak belirlenmi tir. Aynı sıcaklık de erinde 5, 10 ve 15 dakikada enzim aktivitesindeki azalma yava ken, 20, 25 ve 30 dakikalık süre sonunda enzim inhibisyonunda artı hızlanmı tir.

Kalan enzim aktivitesi, 50 °C sıcaklıkta ısıl i lemden sonra artan sürelerde sırasıyla %  $48,55 \pm 2,05$ ; %  $32,71 \pm 0,85$ ; %  $30,45 \pm 2,46$ ; %  $31,74 \pm 1,46$ ; %  $35,27 \pm 0,66$  ve %  $39,26 \pm 1,68$  olarak saptanmı tir. Bu sıcaklık de erinde uzun i lem süreleri sonunda (25 ve 30 dakika) enzim aktivitesinde artı gözlenmi tir. Bunun nedeni enzim konformasyonunda gözlenen de i im olabilir.

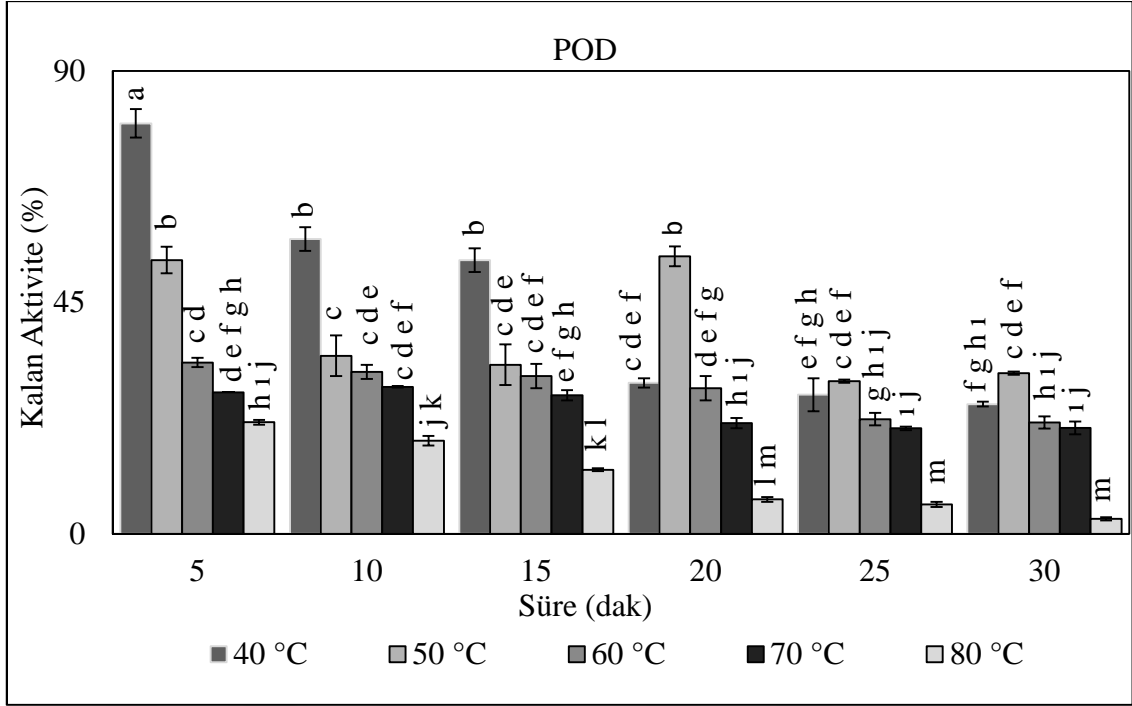
60 °C sıcaklıkta ve 5 dakika sonunda kalan aktivite %  $33,68 \pm 1,13$  iken, 30 dakika sonunda bu de er %  $11,15 \pm 0,88$  olarak belirlenmi tir. 70 °C sıcaklıkta 5 dakika

uygulanan ısıl işlemden sonra kalan aktivite de eri %  $23,41 \pm 0,88$  bulunmu tur. Aynı sıcaklıkta 30 dakika sonunda bulunan de er %  $11,61 \pm 1,61$  olarak tespit edilmi tir. 80 °C sıcaklıkta ise 5 dakikalık ısıl işlemden sonra %  $5,40 \pm 0,47$  aktivite gözlenirken, 20 dakika sonunda % 99 inaktivasyon sa lanmı tir. Elma suyunda PPO enzim aktivitesinin sıcaklık ve süreye ba lı oldu unu ve genellikle artan sıcaklık ve süre arasında önemli bir etkile im ( $p < 0,05$ ) oldu u gözlenmi tir.

Benzer şekilde yapılan çalı malarda genellikle artan sıcaklık ve süre ile PPO aktivitesinin azaldı ı belirlenmi tir. Yapılan benzer çalı malardan birinde Royal gala cinsi elmadan elde edilen meyve suyuna 75 °C sıcaklıkta 20 dakika ısıl işlem uygulanmı tir. Sonuçlara göre kalan PPO enzim aktivitesi % 3,2 olarak tespit edilmi tir (Sulaiman vd., 2016). Yi vd. (2017), yaptıkları bir çalı mada Pink Lady, Granny Smith ve Jonagold çe itlerinden üretilen meyve suyuna 85 °C sıcaklıkta 5 dakika ısıl işlem uygulamı lardır. İşlem sonrasında bu sıcaklık ve süre de erinde PPO enzim aktivitesi belirleyememi lerdir. Bir ba ka çalı mada elma dilimlerine 25 °C, 35 °C, 45 °C, 55 °C ve 65 °C sıcaklıkta 20 dakikalık hafif ısı uygulaması yapılmı tir. Bu dilimlerden bulanık meyve suyu üretilmi tir. Elma suyunda 55 °C’ de ısı uygulaması sonucu PPO enziminin minimum kalıntı aktivitesi % 66,4 iken, 65 °C ise % 38,6 bulunmu tur (Niu vd., 2010). Krapfenbauer vd. (2006), sekiz farklı elma çe idi (Florina, Gala, Golden Delicious, Idared, Jonagold, Pilot, Pinova ve Topaz) kullanarak sekiz farklı elma suyuna yüksek sıcaklıkta (60-90 °C) ve kısa süreli (20-100 s) (HTST) ısıl işlem uygulamı lardır. Bu sonuçlara göre 60 °C’ de, PPO aktivitesinde önemli bir azalma olmamı tir. Ancak 20, 50 ve 100 s ısıtma süresinden sonra 70 °C’ de enzim aktivitesinde önemli bir azalma oldu u bulunurken ısıtma süresi arasında bir fark gözlenmemi tir. PPO enzimi 80 °C’ de ise tamamen inaktivasyon sa lanmı tir. Bu çalı malarda bulunan sonuçlar, literatürde belirlenenler sonuçlar ile benzer bulunmu tur.

#### **4.2 Isıl İşlem Sonrasında Elma Suyunda Kalan POD Enzim Aktivitesi**

Elma suyu örneklerine farklı sıcaklık ve sürelerde ısıl işlem uygulanmı tir. Kalan enzim aktivitesi kontrolün aktivitesine oranla yüzde olarak ifade edilmi tir. Buna göre uygulanan sıcaklık ve süreye göre kalan enzim aktivitesinde gözlenen de i iklikler POD enzimi için ekil 4.2’ de verilmi tir.



Grafikteki farklı harfler (a, b, c...), de erler arasında önemli bir fark oldu unu göstermektedir.

#### ekil 4.2. Isıl i lem sonunda kalan POD enzim aktivitesi

Sıcaklı m, sürenin ve sıcaklık-süre etkile iminin POD enzim aktivitesi üzerine etkisi önemli bulunmu tur ( $p < 0,05$ ). 40 °C sıcaklıkta 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dakika uygulanan ısıl i lem sonrasında kalan POD enzim aktivitesi sırasıyla %  $79,81 \pm 2,75$ ; %  $57,33 \pm 2,29$ ; %  $53,21 \pm 2,29$ ; %  $29,35 \pm 0,91$ ; %  $27,06 \pm 3,21$ ; %  $25,22 \pm 0,45$  olarak belirlenmi ve artan süre ile POD enziminin aktivitesinin azaldı ı görülmü tür. Kalan enzim aktivitesi, 50 °C sıcaklıkta ısıl i lemden sonra artan sürelerde sırasıyla %  $53,24 \pm 2,59$ ; %  $34,63 \pm 3,96$ ; %  $32,90 \pm 3,96$ ; %  $53,95 \pm 1,90$ ; %  $29,68 \pm 0,31$ ; %  $31,25 \pm 0,31$  olarak ölçülmü tür. Bu sıcaklık de erinde 20 dakika süren ısıl i lemden sonra POD enzim aktivitesinde artı gözlenmi tir. Benzer ekilde Dubey vd. (2006) tarafından, Royal delicious cinsinde 50 °C 10 ve 25 dk ısıl i lem sonrasında enzim aktivitesinde belli oranda artı görülmü tür. Aynı ekilde Red delicious cinsinde de 50 °C de 25 dakikada enzim aktivitesinde artı belirlenmi tir. Bunun nedeni enzim konformasyonunda gözlenen de i im olabilir.

60 °C sıcaklıkta 5 dakika sonunda kalan aktivite %  $33,33 \pm 0,90$  iken, 30 dakika sonunda %  $21,65 \pm 1,18$  olarak tespit edilmi ve artan süre normlarıyla lineer bir azalı görülmü tür. 70 °C sıcaklıkta 5 dakika sonunda kalan POD aktivitesi ise %  $27,50 \pm 0,01$  olup, artan süre ile kalan aktivite azalı göstermi ve 30 dakika sonunda %  $20,65 \pm 1,25$

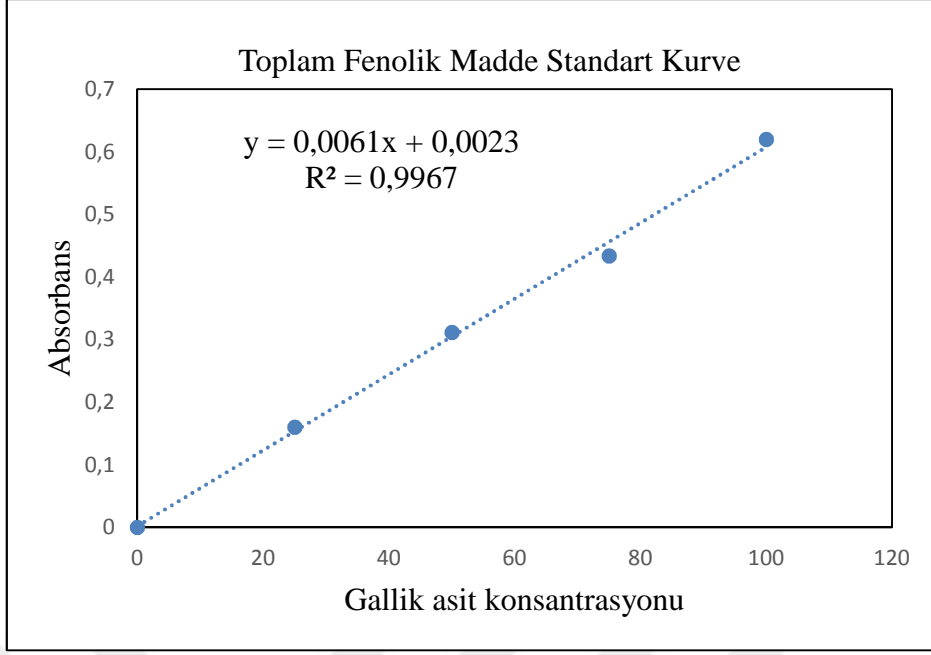
olarak bulunmu tur. 80 °C de ise 5 dakika sonunda kalan aktivite % 21,71 ± 0,46 olarak ölçülmü tür. Aynı sıcaklıkta 20 dakika sonunda % 93,29 inaktivasyon belirlenirken, 25 ve 30 dakikalık ısıl i lem sürelerinde elde edilen inaktivasyon arasında önemli bir fark belirlenememi tir (p > 0,05). Yani genel olarak bakıldı ında 80 °C' de 20 dakika sonunda yeterli inaktivasyon sa landı ı söylenebilmektedir.

Yi vd. (2017), yaptıkları bir çalı mada Pink Lady, Granny Smith ve Jonagold çe itlerinden üretilen meyve suyuna 85 °C sıcaklıkta 5 dakika ısıl i lem uygulamı lardır. lem sonrasında bu sıcaklık ve süre de erinde POD enzim aktivitesi belirlenememi tir. Bir ba ka çalı mada Golden delicious JK cinsinden üretilen elma suyunda 70 °C 5 dakika sonunda, Red delicious cinsinde 70 °C 10 dakika sonunda, Royal delicious cinsinde 70 °C 5 dakika sonunda enzim inaktivasyonu sa landı ı belirlenmi tir (Dubey vd., 2006). Elde edilen veriler literatür ile uyumlu bulunmu tur.

Genel olarak sonuçlar incelendi inde Elma suyunda POD enzim aktivitesinin sıcaklı a ve süreye ba lı oldu u ve genellikle artan sıcaklık ve süre arasında önemli bir etkile im (p < 0,05) oldu u gözlenmi tir. Aynı zamanda elde edilen veriler de erlendirildi inde POD enzimi PPO' ya kıyasla ısıl i leme daha dirençli oldu u belirlenmi tir.

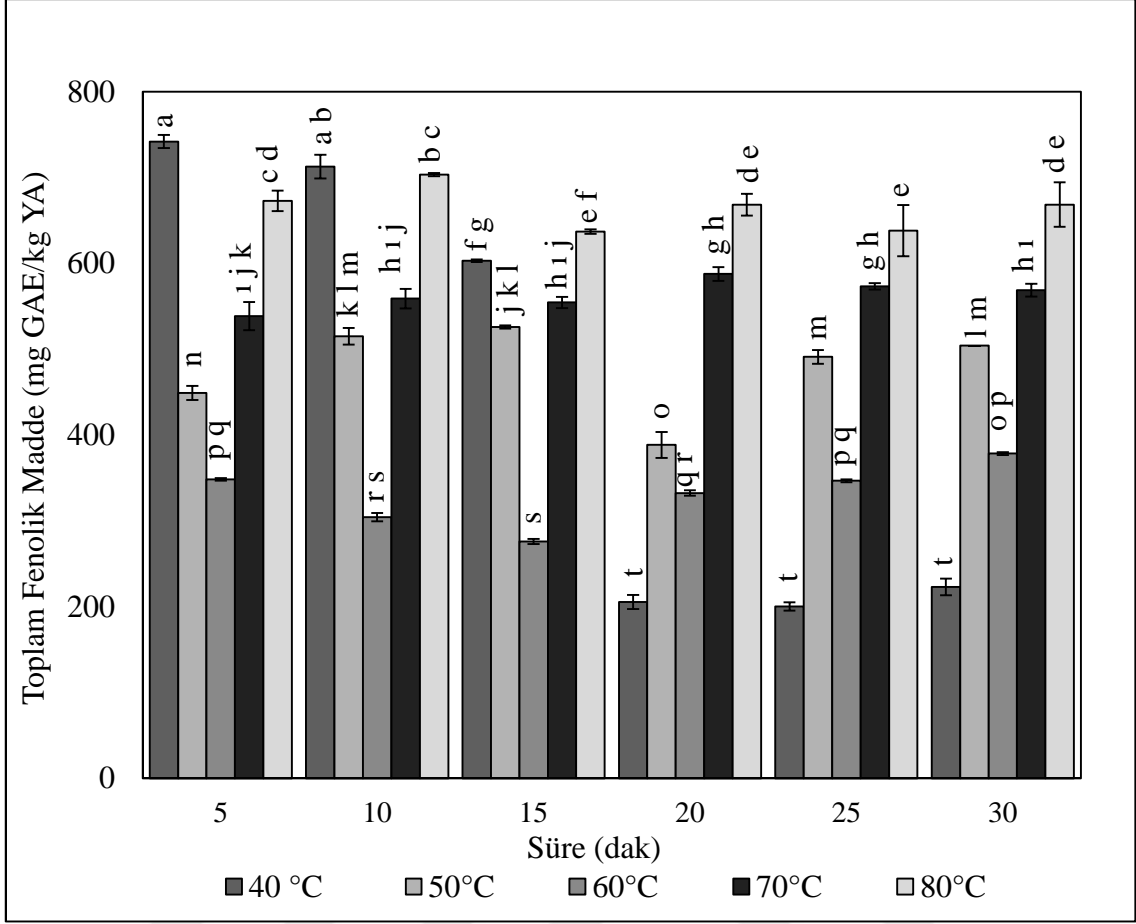
#### **4.3 Isıl i lem ile Toplam Fenolik Maddeki De i im**

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocaltaeu yöntemi kullanılarak yapılmı tır. Standart olarak gallik asit kullanılıp, gallik asit konsantrasyonlarına kar ı absorbanlar ölçülerek bir standart çalı ma e risi olu turulmu tur. Toplam fenolik madde standart e risi ekil 4.3' de gösterilmektedir.



**ekil 4.3.** Toplam fenolik madde standart e ri si

Örneğin toplam fenolik madde miktarı analizinde bu standart e ri kullanımı ve sonuçlar gallik asit e de eri olarak hesaplanmı tır (mg GAE/kg ya a ırlık). Elma suyunda toplam fenolik maddedeki de i im ekil 4.4' de gösterilmektedir.



Grafikteki farklı harfler (a, b, c...), de erler arasında önemli bir fark oldu unu göstermektedir.

#### ekil 4.4. Isıl i lem süresince toplam fenolik madde miktarındaki de i im

Isıl i lem uygulamasında sıcaklı ın, sürenin ve sıcaklık-süre etkile iminin toplam fenolik madde üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmu tur ( $p < 0,05$ ). Taze elma suyunda  $404,13 \pm 6,20$  mg GAE/kg ya a ırlık olarak toplam fenolik madde belirlenmi tir.

40 °C 'de toplam fenolik madde de i imi artan süreye göre sırasıyla  $741,984 \pm 7,71$ ;  $712,90 \pm 13,81$ ;  $603,18 \pm 1,55$ ;  $205,67 \pm 8,08$ ;  $200,334 \pm 4,90$ ;  $223,23 \pm 9,73$  mg GAE/kg ya a ırlık olarak belirlenmi tir. 40 °C' de 5, 10, 15 dakika sonunda kontrole göre toplam fenolik maddede artı belirlenirken aynı sıcaklık de erinde 20, 25, 30 dakika sonunda toplam fenoliklerde azalı tespit edilmi tir. Kısa i lem sürelerinde gözlenen bu artı ın ısıl i lem ile hücre duvarı ve hücre matriksinin yapısının bozulması nedeniyle fenolik bile ik miktarının artmasından kaynaklandı ı dü ünülmektedir. Artan süreye ba lı olarak fenolik bile iklerdeki azalmanın, uzun i lem süreleri sonucunda

açı a çıkan bu maddelerin yapısının bozulmasına sebep olmasından kaynaklandı ı söylenebilmektedir.

50 °C' de toplam fenolik madde de i imi artan süreye göre sırasıyla 449,25 ± 8,17; 515,16 ± 9,61; 525,96 ± 1,88; 388,64 ± 15,05; 491,24 ± 8,01; 504,21 ± 0,1 mg GAE/kg ya a ırlık olarak belirlenmi tir. Genel olarak bakıldı ında kontrol örne ine göre fenolik bile iklerde artı gözlenmi ancak 20 dakikada gözlenen azalı ın PPO ve POD enzim aktivitesindeki artı nedeniyle olabilece i dü ünülmektedir.

60 °C' de fenolik madde de i imi artan süreye göre sırasıyla 348,53 ± 1,51; 304,28 ± 4,84; 276,14± 3,07; 332,52 ± 3,17; 346,81 ± 1,57; 378,52 ± 1,61 mg GAE/kg ya a ırlık olarak belirlenmi tir. Genel olarak kontrol örne ine göre fenolik madde de azalı belirlenmi tir. Bunun nedeni PPO ve POD enzim aktivitesinin yüksek olması ile sıcaklı ın fenolik bile ikler üzerindeki olumsuz etkisinden kaynaklanabilmektedir.

70 C' de toplam fenolik maddedeki de i im artan süre parametrelerine göre sırasıyla 538,54 ± 16,29; 559,05 ± 11,34; 554,57 ± 6,45; 587,64 ± 8,15; 573,39 ± 3,71; 568,74 ± 7,48 mg GAE/ kg ya a ırlık olarak bulunmu tur. 80 C' de de i im artan süre parametrelerine göre sırasıyla 672,83 ± 11,80; 703,51 ± 1,79; 636,99 ± 2,63; 668,41 ± 12,70; 638,21 ± 29,89; 668,42 ± 25,96 mg GAE/ kg ya a ırlık olarak belirlenmi tir. Yüksek sıcaklık uygulamaları sonucu toplam fenolik madde de i imi kontrol örne ine kıyaslanınca artı oldu u tespit edilmi tir. Bunun nedeninin elma suyunda enzim inaktivasyonunun sa lanmasından dolayı, fenolik bile iklerin substrat olarak kullanılamaması olabilece i dü ünülmektedir.

Aguilar-Rosas vd. (2007), yaptıkları bir çalı mada elma suyuna 90 °C' de 30 saniye boyunca termal pastörizasyon uyguladı lar. Sonuçlara göre toplam fenolik maddede %32,2'lik bir azalma belirlenmi tir. Yapılan bir ba ka çalı mada Golden delicious cinsi elmalara ısı i lem (90 °C 1 dak) uyguladı lar. Toplam fenolik maddedeki kayıp ısı i lem sonrasında % 21-26 arasında tespit edilmi tir (Ba lar ve Erturgay, 2013). He vd. (2016), yaptıkları bir çalı mada elma suyuna 80 °C 30 dakika ve 90 °C 30 saniye su banyosunda ısı i lem uyguladı lar. Toplam fenolik madde miktarında 80 °C' lik i lemden sonra % 1,35 artı belirlenirken, 90 °C' de ısı i lem gören elma suyu örneklerinde % 9,82 azalı belirlenmi tir. Literatürdeki çalı malara baktı ımızda

yüksek sıcaklıkta (90 °C) kısa i lem sürelerinde toplam fenolik maddenin azaldı ı görülmekteyken, bu çalı mada oldu u gibi hafif ısı ( 80 °C) uygulamalarında ve uzun i lem sürelerinde toplam fenolik maddenin arttı ı görülmü tür. Szalzo vd. (2004), yaptıkları bir çalı mada Moro cinsi portakal sularını 80 °C’ de 1 dakika pastörize etmi tir. Isıl i lem sonucu portakal sularında, kafeik asit, klorojenik asit ve toplam hidroksisinamik asitlerin miktarının arttı ı belirlenmi tir. Bu durum katabolizma içinde yer alan ve inaktivasyona neden olan enzimlerin aktif bölümlerinin ısıl i lem ile alıkonulması ekinde açıklanmı tır.

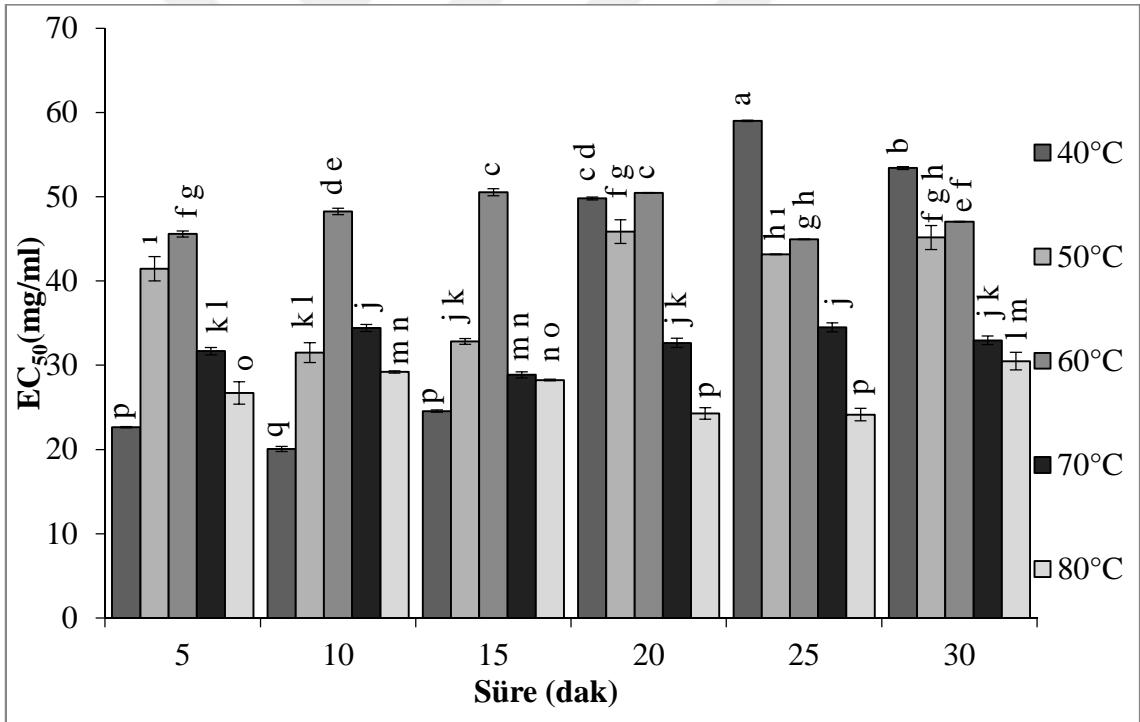
#### **4.4 Isıl i lem ile Antioksidan Aktivitedeki De i im**

Örneklerin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemi kullanılarak belirlenmi , örnek miktarına kar ı hesaplanmı olan yüzde inhibisyon de erleri, lineer regresyon analizi uygulanarak bir grafi e aktarılmı ve e rinin denklemi kullanılarak EC<sub>50</sub> de eri (radikalin %50’sinin inhibisyonunu sa layan miktar) hesaplanmı tır. Bu de erin küçük olması, antioksidan aktivitenin yüksek oldu unu göstermektedir (Cemero lu vd., 2010). Çizelge 4.1’ de ısıl i lem süresince farklı sıcaklık ve sürelerde elde edilen EC<sub>50</sub> de erleri gösterilmektedir. Isıl i lem sonunda ekstrakte edilen elma suyu örneklerinin EC<sub>50</sub> de erlerindeki de i im ekil 4.5’ de gösterilmektedir.

**Çizelge 3.1.** Isıl i lem süresince elde edilen EC<sub>50</sub> de erleri

t (süre)	Sıcaklık (°C)				
	40	50	60	70	80
5	22,6528 ± 0,07 <sup>p</sup>	41,45 ± 1,45 <sup>i</sup>	45,60 ± 0,36 <sup>f,g</sup>	31,68 ± 0,44 <sup>k,l</sup>	26,71 ± 1,32 <sup>o</sup>
10	20,05 ± 0,30 <sup>a</sup>	31,51 ± 1,17 <sup>k,l</sup>	48,27 ± 0,38 <sup>d,e</sup>	34,43 ± 0,42 <sup>j</sup>	29,22 ± 0,14 <sup>m,n</sup>
15	24,56 ± 0,11 <sup>p</sup>	32,82 ± 0,35 <sup>j,k</sup>	50,54 ± 0,4 <sup>c</sup>	28,87 ± 0,36 <sup>m,n</sup>	28,25 ± 0,08 <sup>o</sup>
20	49,81 ± 0,16 <sup>c,d</sup>	45,87 ± 1,40 <sup>f,g</sup>	50,49 ± 0,03 <sup>c</sup>	32,65 ± 0,56 <sup>i,k</sup>	24,29 ± 0,70 <sup>p</sup>
25	59,03 ± 0,07 <sup>a</sup>	43,18 ± 0,04 <sup>h,i</sup>	44,95 ± 0,02 <sup>g,h</sup>	34,50 ± 0,54 <sup>j</sup>	24,15 ± 0,74 <sup>p</sup>
30	53,42 ± 0,17 <sup>b</sup>	45,17 ± 1,42 <sup>f,g,h</sup>	47,0418 ± 0,02 <sup>e,f</sup>	32,96 ± 0,50 <sup>i,k</sup>	30,48 ± 1,04 <sup>l,m</sup>

Grafikteki farklı harfler (a, b, c...), de erler arasında önemli bir fark oldu unu göstermektedir.



Grafikteki farklı harfler (a, b, c...), de erler arasında önemli bir fark oldu unu göstermektedir.

**ekil 4.5.** Isıl i lem süresince EC<sub>50</sub> de erindeki de i im

Antioksidan aktivitedeki de i ime, sıcaklı ın, sürenin ve sıcaklık-süre etkile iminin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmu tur ( $p < 0,05$ ). Kontrol örne inin EC<sub>50</sub> de eri

31,78 ± 1,46 mg/ml olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik maddenin artmasına bağlı olarak genel anlamda antioksidan aktivite de artmaktadır.

40 °C’ de artan süre de erlerine göre EC<sub>50</sub> de erleri sırasıyla 22,65 ± 0,07; 20,05 ± 0,30; 24,56 ± 0,11; 49,80 ± 0,16; 59,02 ± 0,07; 53,42 ± 0,17 mg/ml olarak belirlenmiştir. İlk üç süre (5, 10 ve 15 dakika) parametrelerinde antioksidan aktivitede artışı, daha sonraki sürelerde antioksidan aktivitede azalışı görülmüştür. Bu durum toplam fenolik miktarının deşimine bağlıdır. Etkovi vd. (2008), yaptıkları çalışmada farklı elma çeşitlerini (Pinova, Reinders, Jonagold, Iduna, Braeburn) kullanarak elde ettikleri elma posasının fenolik ve antioksidan kapasitesini araştırmışlardır. Sonuçlara göre toplam fenolik madde en yüksek 8,67 mg/g ile Reinders cinsinde belirlenirken, en düşük EC<sub>50</sub> de erleri 6,33 ± 0,31 mg/ml olarak yine Reinders cinsinde belirlenmiştir. Bu cinsin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması toplam fenolik ile ilişkilendirilmiştir.

50 °C’ de 5 dakika sonunda EC<sub>50</sub> de erleri 41,45 ± 1,44 mg/ml olarak bulunurken 30 dakika sonunda 45,17 ± 1,41 olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklık de erindeki tüm sürelerde kontrole göre EC<sub>50</sub> de erlerinde bir artış belirlenmiştir ve bu durum antioksidan aktivitede azalışı olduğunu göstermiştir. Antioksidan aktivite 15. dakikaya kadar artarken bu süreden sonraki ölçümlerde azalma gözlenmiştir. Bu deşim toplam fenolik madde miktarında gözlenen deşim ile paralellik göstermektedir.

60 °C’ de 5 dakika sonunda EC<sub>50</sub> de eri 45,59 ± 0,36 mg/ml olarak bulunurken, 30 dakika sonunda 47,04 ± 0,02 mg/ml olarak bulunmuştur. Bu sıcaklık de erinde ki süre parametrelerinde antioksidan aktivitede azalışı belirlenmiştir. Bu durumun toplam fenolik madde miktarının azalışına bağlıdır.

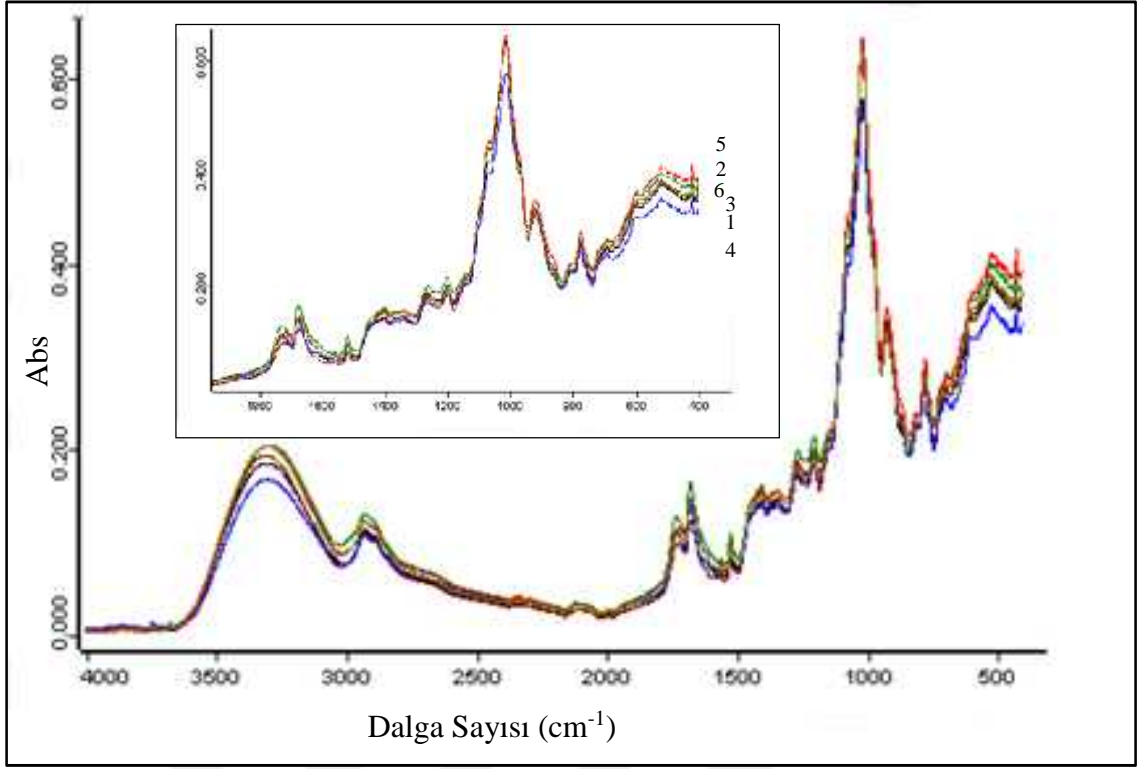
70 °C’ de artan süreyle birlikte EC<sub>50</sub> de erleri sırasıyla 31,67 ± 0,44; 34,42 ± 0,42; 28,86 ± 0,35; 32,65 ± 0,55; 34,50 ± 0,54; 32,95 ± 0,50 olarak belirlenmiştir. EC<sub>50</sub> de erleri incelendiğinde elde edilen de erler kontrol de erine yakın bulunmuştur. Antioksidan aktivitenin yüksek olması toplam fenolik madde miktarının yüksek olması ile ilişkilendirilebilir.

80 °C’ de EC<sub>50</sub> de erleri 5 dakika ısıtılma sonunda 26,70 ± 1,31 mg/ml olarak bulunmuken, 20 dakika sonunda 24,28 ± 0,69 mg/ml olarak belirlenmiştir. 25 dakikalık ısıtılma süresi sonunda elde edilen değer arasında önemli bir fark belirlenmemiştir (p > 0,05). Bu sıcaklık değerinde genel olarak antioksidan aktivitede artış görülmüştür. Bunun nedeninin yeterli (> %90) enzim inaktivasyonunun sağlanması ve toplam fenolik madde miktarının artması olduğu söylenebilmektedir.

Bahukhandi vd. (2018), yaptıkları bir çalışmada Hindistan’ın farklı yerlerinde yetiştirilen üç geleneksel elma çeşidinin (Benoni, Fanny ve Rymerin) fenolik madde içeriğini ve antioksidan kapasitesini araştırmışlardır. Antioksidan aktivite (DPPH, 4,99–14,06 mmol/kg YA) aralığında olup, en yüksek fenolik madde ve antioksidan aktivite 14,06 mmol/kg YA Mukhwa bölgesinde yetiştirilen Rymerin cinsi olarak belirlenmiştir. Yıldırım vd. (2019), yaptıkları çalışmada Isparta ilinden temin edilen beş farklı elma (Starking Delicious, Golden Delicious, Pink Lady, Arap Kızı ve Granny Smith) çeşidinin meyve eti ve kabuk kısmının antioksidan kapasitesini DPPH yöntemiyle belirlemişlerdir. Analiz sonuçları incelendiğinde antioksidan aktivite meyve eti kısmında sırasıyla (% 44,42; % 47,06; % 32,52 % 51,33; % 49,54) olarak belirlenirken, kabuk kısmında sırasıyla (% 73,51; % 77,28; % 66,67; % 74,23; % 87,21) olarak tespit edilmiştir.

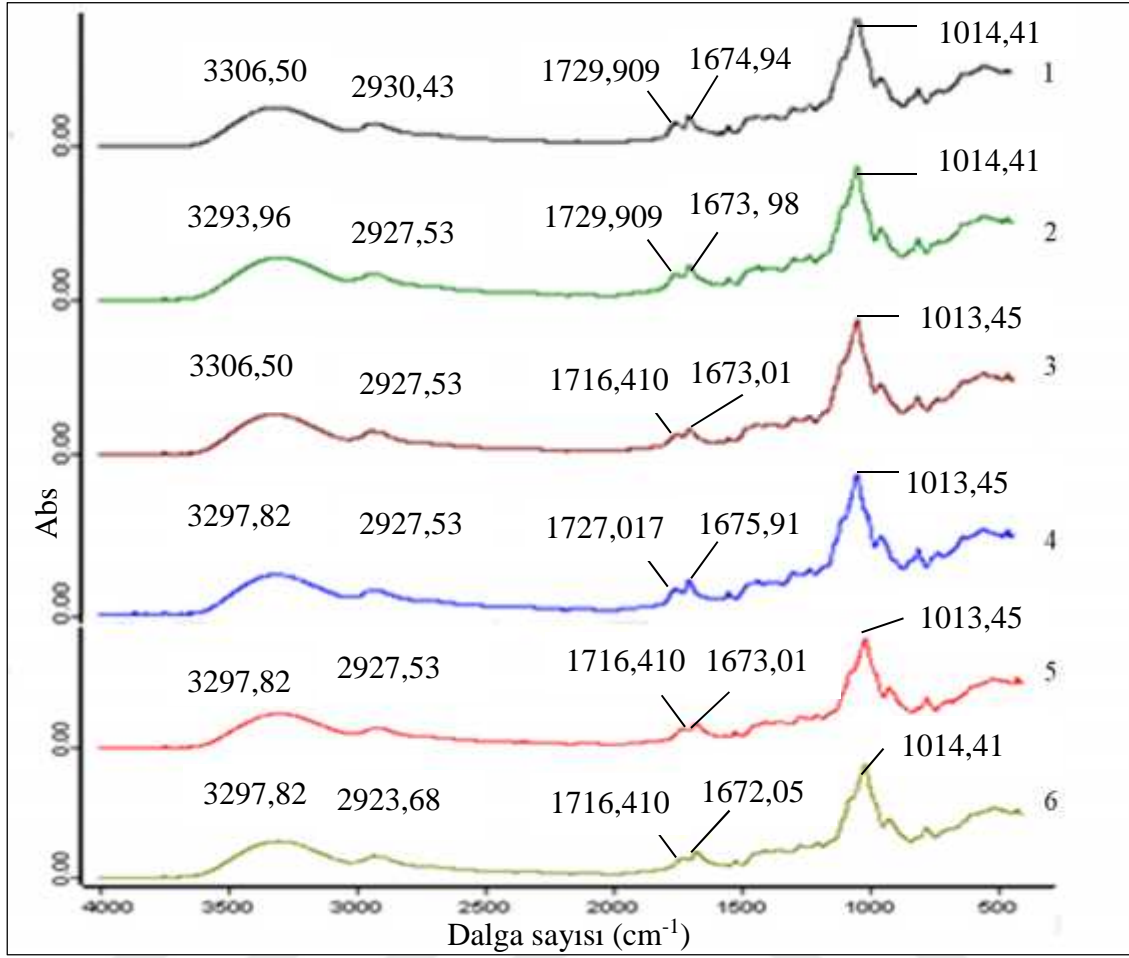
#### **4.5 FTIR Çalışmaları**

Bu çalışmada fenolik bileşiklerin FTIR spektroskopisi kullanılarak analizi yapılmıştır. Bu amaçla farklı sıcaklık (40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C ve 80 °C) ve sabit sürede (20 dk) ısıtılma uygulanmış örneklerde FTIR spektroskopisi kullanılarak fenolik bileşikler incelenmiştir. Kontrol örneği olarak ısıtılmamış elma suyu ekstraktı alınarak oda sıcaklığında (25 °C) FTIR spektrumları belirlenmiştir. Farklı sıcaklık ve sabit süredeki elma suyu örneklerinin FTIR spektrumları ekil 4.6 ve ayrı ayrı FTIR spektrumları ekil 4.7’ de gösterilmektedir.



**ekil 4.6.** Elma suyu örneklerinin FTIR spektrumları

FTIR spektrumlarına bakıldı ında 1. spektrum kontrol örne ini (taze meyve suyu), 2. spektrum 40 °C 20 dakika, 3. spektrum 50 °C 20 dakika, 4. spektrum 60 °C 20 dakika, 5. spektrum 70 °C 20 dakika ve 6. spektrum 80 °C 20 dakika ısı i lem uygulanmı elma suyu örneklerini ifade etmektedir.



**ekil 4.7.** Elma suyunun ayrı tırlımı FTIR spektrumları

1800 - 750  $\text{cm}^{-1}$  (parmak izi bölgeleri) dalga sayıları arasında pozitif olarak bulunan bantlar, bitkilerde bulunan polifenollerle ilgilidir (Okur vd., 2019). Lu vd. (2011), dört so an çe idinin toplam fenolik içeri ini FTIR spektroskopisi kullanarak belirlemi lerdir. 1618  $\text{cm}^{-1}$ 'de bulunan belirgin tepe, C-C uzaması polifenolik bile enlerde yüksek seviyelerde bulunan fenil halkasını ifade etti i söylenmi tir. Tahir vd. (2017), bir çalı masında baldaki fenolik bile iklerin belirlenmesi için, FTIR spektrofotometresini kullanmı lardır. Sonuçlara göre 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$ 'deki bantlar, karbonil gruplarının C-O ve C-C germe hareketine ba lanmı ve bu bölge fenolik moleküllerle ili kilendirilmi tir. 1715-1680  $\text{cm}^{-1}$  bölgesindeki bantlar, literatürde aril (hidroksibenzoik asitler) ve / veya , -doymamı (hidroksisinamik asitler) karboksilik asit yapıları (C=O) germe titre imlerinden kaynaklandı ı belirtilmektedir. Ayrıca 1720  $\text{cm}^{-1}$  civarındaki bant klorojenik asit olarak gösterilmektedir (Abbas vd., 2017). Okur vd. (2019), vi ne posasından fenolik bile iklerin ekstraksiyonu için farklı metodlar uygulandı ve elde edilen ekstraktların fenolik bile ik içeri i FTIR spektroskopisi

kullanılarak belirlenmiştir. 3000-3300  $\text{cm}^{-1}$  hatta 2800  $\text{cm}^{-1}$ 'e kadar uzayan bantların, aromatik halkanın C-H germe titremlerinden kaynaklandığı belirtilmiştir. 1500-1150  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki bantların CH (fenoller) ve OH titremleri nedeniyle olduğu rapor edilmiştir. 1014  $\text{cm}^{-1}$ 'de bulunan bant, piran halkasının OH ikamesinin C-O esnemesini ifade etmiş ve özellikle epikatein ile ilişkilendirilmiştir. FTIR sonuçları incelendiğinde farklı sıcaklık, sabit süre uygulanan ısı ile ilgili fenolik bileşik içeriğinde bir değişim neden olmadığı gözlemlenmiştir.

#### 4.6 HPLC Çalışmaları

Elma suyunun fenolik içeriğini belirlemek ve farklı sıcaklık ve süre parametrelerinde değişimini incelemek için HPLC kullanılmıştır. Kontrol elma suyu örneği ve farklı koşullarda işlem gören elma sularında belirlenen fenolik bileşikler ve miktarları Çizelge 4.2'de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.2.** HPLC ile belirlenen fenolik bileşikler ve miktarları

Numune	Katein (mg/kg)	Klorojenik asit (mg/kg)	Kafeik asit (mg/kg)	Epikatein (mg/kg)	Kamferol (mg/kg)
Kontrol	6,0	21,5		14,5	3,0
40 °C 20 dk	1,5	2,5	0,5	<LOQ	4,5
50 °C 20 dk	4,5	7,5		7,0	4,0
60 °C 20 dk	3,5	9,5		8,0	3,0
70 °C 20 dk	8,0	16,5		27,0	4,0
80 °C 20 dk	11,5	24,5		34,0	3,5

(Epikatein için LOD: 0,3 mg/L LOQ: 0,8 mg/L)

HPLC ile kontrol taze elma suyunda belirlenen fenolik bileşikler katein, klorojenik asit, epikatein ve kamferoldur ve miktarları sırasıyla 6,0 mg/kg, 21,5 mg/kg, 14,5 mg/kg ve 3,0 mg/kg olarak ölçülmüştür. Genel olarak bakıldığında artan sıcaklığa bağlı olarak fenolik bileşiklerde artış görülmüştür. 40 °C'de 20 dakika ısı ile ilgili işlem sonunda fenolik bileşiklerdeki değişim incelendiğinde katein ve klorojenik asit kontrole göre azalış gösterirken, kamferol miktarında artış belirlenmiştir. Aynı sıcaklık değerinde kafeik asit 0,5 ppm olarak belirlenmiştir. Bu durum düşük sıcaklık uygulaması ile bağlı

halde bulunan fenolik bileşimlerin, serbest forma geçmesiyle açıklanmıştır. 50 °C 20 dakika sonunda katein, klorojenik asit, epikatein kontrole göre azalış gösterirken kamferolde artış belirlenmiştir. 60 °C sıcaklıkta işlem sonunda katein, klorojenik asit, epikatein kontrole göre azalış gösterirken kamferol miktarında değişim olmamıştır. 70 °C ve 80 °C’ de 20 dakikada gerçekleştirilen ısıtma işlemi sonunda fenolik bileşimlerde artış belirlenmiştir. Bu durum toplam fenolik madde miktarındaki artışla paralellik göstermektedir. Bunun nedeninin enzim inaktivasyonunun sağlanması sonucu fenolik bileşimlerin substrat olarak kullanılamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Karaman (2008), Türkiye’ de yetiştirilen bazı elma çeşitlerinin başlıca fenolik bileşimlerini HPLC yöntemiyle incelenmiştir. HPLC analizleri sonucuna göre elma sularında katein (9,09-115,30 mg/l), klorojenik asit (41,10-276,3 mg/l), epikatein (3,38-6,76 mg/l), kafeik asit (3,04-79,09 mg/l) ve floridzin (0,52-20,13 mg/l) tespit edilmiştir. Pearson vd. (1999), yaptıkları bir çalışmada 6 farklı ticari elma suyunun fenolik bileşimini HPLC yöntemiyle incelenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı meyve suyunda 181,7- 48,4 mg/l olarak belirlenmiştir. Ticari elma suyundaki fenolik bileşimlerden katein (33,8-7,6 mg/l), klorojenik asit (58,3-17,0 mg/l) ve rutin (7,8-1,1 mg/l) aralığında belirlenmiştir. Karadeniz vd. (2001), 3 farklı çeşitten (Amasya, Golden, Starking) ve 5 farklı yöreden ardarda 3 yılda temin edilen elmalardan hazırlanan 45 elma suyu örneğine 97 °C 20 dakika ısıtma işlemi uygulanmış ve fenolik madde kompozisyonunu araştırmışlardır. Bulgulara göre elma suyunda konsantrasyonu en yüksek fenolik bileşik klorojenik asit (62,3-342,6 mg/l) olmuştur. Bunu epikatein (5,3- 240,1 mg/l), floretinlikozit (5,5-60,0 mg/l), floridzin (6,9-29,7 mg/l) ve p-kumarik asit (1,1-16,0 mg/l) izlemektedir. Elma suyundaki fenolik madde miktarının öncelikle meyve çeşidine bağlı olarak değiştiği söylenmiştir.

Markowski ve Płocharski (2005), elmalardaki fenolik bileşimlerin içeriğini ve miktarını ürünlerini değerlendirme amacıyla Jonagold, Sampion, Idared ve Topaz cinsi elmaları kullanmışlardır. Meyvelerde en yüksek fenolik asit içeriği Idared (346 mg/kg) cinsinde bulunmuştur. En yüksek miktarda kuersetin glikozit içeriği Jonagold (87 mg/kg) ve Topaz (83 mg/kg) cinslerindedir. Berrak meyve suları üretimi sırasında fenolik kayıplarının çok yüksek olduğu bulunmuştur. Buna göre elma suyunda bulunan fenolik bileşimler literatürde yapılan çalışmalarda belirlenenler ile benzerlik göstermektedir.

## BÖLÜM V

### SONUÇLAR

Yapılan bu çalı mada, Red Chief cinsinden üretilen elma suyuna, farklı sıcaklık (40, 50, 60, 70, 80 °C) ve sürelerde (5, 10, 15, 20, 25, 30 dakika) ısıl i lem uygulamasının meyve sularının kalitesini olumsuz etkileyen PPO ve POD enzim inaktivasyonu üzerine etkisi belirlenmi ve fenolik bile iklerin de i imine etkisi ara tırılmı tır.

Genellikle artan süre ve sıcaklı a ba lı olarak PPO ve POD enzimlerinin aktivitesinde azalı belirlenmi tir. PPO enzimin aktivitesinde 80 °C sıcaklıkta 5 dakikalık ısıl i lemden sonra % 5,40 ± 0,47 aktivite gözlenirken, 20 dakika sonunda % 99 enzim inaktivasyonu sa lanmı tır. POD enzim aktivitesinde 80 °C 'de 5 dakika sonunda kalan aktivite % 21,71 ± 0,46 iken, 20 dakika sonunda % 93,29 inaktivasyon belirlenirken, 25 ve 30 dakikalık ısıl i lem sürelerinde elde edilen inaktivasyon arasında önemli bir fark belirlenmemi tir (p > 0,05). Yani genel olarak bakıldı ında 80 °C' de 20 dakika sonunda yeterli inaktivasyon sa landı ı söylenebilmektedir. Aynı zamanda elde edilen veriler de erlendirildi inde POD enzimi PPO' ya kıyasla ısıl i leme daha dirençli oldu u belirlenmi tir.

Genel olarak toplam fenolik madde miktarında de i imine bakıldı ında dü ük sıcaklık uygulamalarında bazı parametrelerde artı bazı parametrelerde azalı belirlenmi tir. Bu durum fenolik bile iklerin ısıya duyarlı olup sıcaklıktan etkilenmesiyle ve yapıdaki enzimlerin aktiflik durumuyla ili kilendirilmi tir. 70 °C' de toplam fenolik maddedeki de i im artan süre parametrelerine göre sırasıyla 538,54 ± 16,29; 559,05 ± 11,34; 554,57 ± 6,45; 587,64 ± 8,15; 573,39 ± 3,71; 568,74 ± 7,48 mg GAE/ kg ya a ırlık olarak bulunmu tur. 80 °C' de de i im artan süre parametrelerine göre sırasıyla 672,83 ± 11,80; 703,51 ± 1,79; 636,99 ± 2,63; 668,41 ± 12,70; 638,21 ± 29,89; 668,42 ± 25,96 mg GAE/ kg ya a ırlık olarak belirlenmi tir. Yüksek sıcaklık uygulamaları sonucu toplam fenolik madde de i imi kontrol örne ine kıyaslanınca artı oldu u tespit edilmi tir. Bunun nedeninin elma suyunda enzim inaktivasyonunun sa lanmasından dolayı, fenolik bile iklerin substrat olarak kullanılamaması olabilece i dü ünülmektedir.

Isıl i lem uygulamasından sonra genellikle antioksidan aktivitedeki de i im toplam fenolik madde de i miyle ili kili bulunmu tur. 80 °C' de EC<sub>50</sub> de erleri 5 dakika ısıl i lem sonunda 26,70 ± 1,31 mg/ml olarak bulunurken, 20 dakika sonunda 24,28 ± 0,69 mg/ml olarak belirlenmi tir. 25 dakikalık ısıl i lem süresi sonunda elde edilen de er arasında önemli bir fark belirlenememi tir (p > 0,05). Bu sıcaklık de erinde genel olarak antioksidan aktivitede artı görülmü tür. Bunun nedeninin yeterli (> %90) enzim inaktivasyonunun sa lanması ve toplam fenolik madde miktarının artı ı oldu u söylenebilmektedir.

FTIR spektrumları incelendi inde farklı sıcaklık, sabit süre uygulanan ısıl i lem sonucunda fenolik bile ik içeri inde bir de i im gözlenmemi tir. Parmak izi bölgesi incelendi inde spesifik bantların epikate in ve klorojenik asitle uyumlu oldu u belirlenmi tir. HPLC sonuçları ile FTIR sonuçları paralellik göstermektedir.

HPLC ile fenolik bile ikler incelenmi , kontrol elma suyunda belirlenen fenolik bile ikler kate in, klorojenik asit, epikate in, kamferol olmu tur ve miktarları sırasıyla 6,0 mg/kg, 21,5 mg/kg, 14,5 mg/kg ve 3,0 mg/kg olarak ölçülmü tür. Genel olarak artan sıcaklı a ba lı olarak fenolik bile iklerde artı görülmü tür. 40 °C' de 20 dakika ısıl i lem sonunda fenolik bile iklerdeki de i im incelendi inde kate in ve klorojenik asit kontrole göre azalı gösterirken, kamferol miktarında artı belirlenmi tir. 50 °C 20 dakika sonunda kate in, klorojenk asit, epikate in kontrole göre azalı gösterirken kamferolde artı belirlenmi tir. 60 °C sıcaklıkta i lem sonunda kate in, klorojenk asit, epikate in kontrole göre azalı gösterirken kamferol miktarında de i iklik olmamı tur. 70 °C ve 80 °C' de 20 dakikada gerçekte tirilen ısıl i lem sonunda fenolik bile iklerde artı belirlenmi tir. Bu durum toplam fenolik madde miktarındaki artı la paralellik göstermektedir.

Yapılan çalı ma sonucunda elma suyuna uygulanacak en uygun parametre 80 °C 20 dakikalık ısıl i lem uygulaması olmu tur. Bu parametrelerde PPO ve POD enzimlerinde yeterli enzim inaktivasyonu (>%90) sa lanmı , aynı zamanda fenolik bile iklerde ve antioksidan aktivitede artı belirlenmi tir.

## KAYNAKLAR

Abbas, O., Compère, G., Larondelle, Y., Pompeu, D., Rogez, H. and Baeten, V., “Phenolic compound explorer: A mid-infrared spectroscopy database”, *Vibrational Spectroscopy* 92, 111-118, 2017.

Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M.M. Wu, T., Lei, S., Khan, M.K. and Zeng, X., “Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice”, *Ultrasonics Sonochemistry* 21, 984-990, 2014.

Adams, J.B., “Review: Enzyme inactivation during heat processing of foodstuffs”, *International Journal of Food Science and Technology* 26(1), 1-20, 1991.

Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martin-Belloso, O. and Ortega-Rivas, E., “Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds”, *Journal of Food Engineering* 83, 41-46, 2007.

Akkaya, D.E., Piyasada satılan bazı elma sularında HPLC yöntemiyle HMF (Hidroksimetilfurfural) tayini, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 2016.

Anonim., “Tarım Ürünleri Piyasaları”, <https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge>, 2018.

Anonim., “Türkiye meyve suyu v.b. ürünler sanayi raporu”, <https://www.meyed.org.tr>, 2011 (Erişim tarihi: 15 Mart 2015).

Awad, M.A.A., De Jager and van Westing, L.M., “Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: Characterisation of Variation”, *Scientia Horticulturae* 83, 249-263, 2000.

Bahçeci, S., Dondurularak muhafaza edilen bazı sebzelerde peroksidaz ve lipoksigenaz enzimlerinin termal inaktivasyon ve reaksiyon ko ullarının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2003.

Bahukhandı, A., Dhyanı, P., Bhatt, I.D., and Rawal, R.S., “Variation in polyphenolics and antioxidant activity of traditional apple cultivars from west himalaya, uttarakhand”, *Horticultural Plant Journal* 4(4), 151-157, 2018.

Balasuriya, N. and Rupasinghe, H.P.V., “Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract”, *Food Chemistry* 135(4), 2320-2325, 2012.

Baltacıo lu, H., Bayındırlı, A., Severcan, M. ve Severcan, F., “Effect of thermal treatment on secondary structure and conformational change of mushroom polyphenol oxidase (PPO) as food quality related enzyme: A FTIR study”, *Food Chemistry* 187, 263-269, 2015.

Ba lar, M., ve Ertugay, M.F., “The effect of ultrasound and photosonication treatment on polyphenoloxidase (PPO) activity, total phenolic component and colour of apple juice”, *International Journal of Food Science and Technology* 48, 886-892, 2013.

Biedrzycka, E. and Amarowicz R., “Diet and Health: Apple polyphenols as antioxidants”, *Food Reviews International* 24, 235-251, 2008.

Blois, M.S., “Antioxidant determinations by the use of stable free radical”, *Nature*, 1199-1200, 1958.

Boyer, J. and Liu, R.H., “Apple phytochemicals and their health benefits”, *Nutrition Journal* 3-5, 2004.

Bulantekin, Ö. ve Ku çu, A., “Elmada bulunan fitokimyasallar ve di er bile enlerin insan sa lı na yararları”, *VII. Bahçe Ürünlerinde Muhafaza ve Pazarlama Sempozyumu*, 4-7 Ekim, 2016.

Cemero lu B., Gıda Analizleri, *Gıda Teknolojileri Derne i Yayınları*, No:34, 2010.

Cemero lu, B., Yemenicio lu, A., ve Özkan, M., Meyve ve sebzelerin bile imi so ukta depolanmaları, *Gıda Teknolojisi Derne i Yayınları*, No:24, Ankara, 2001.

etkovi , G., anadanovi -Brunet, J., Djilas, S., Savatovi , S., Mandi , A. and Tumbas, V., “Assessment of polyphenolic content and in vitro antiradical characteristics of apple pomace”, *Food Chemistry* 109(2), 340-347, 2008.

Christiane, Q., Mendes Lopes, M.L., Fialho, E., and Valente-Mesquita, V.L., “Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control”, *Food Reviews International* 24(4), 361-375, 2008.

Çırak, O., Fourier Transfrom Infrared (FT -IR) ile sütte tür tayini yapılması, Yüksek Lisans Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, stanbul, 2017.

Dubey, A., Diwakar, S.K., Rawat, S.K., Kumar, P., Batra, N., Joshi, A. and Singh, J., “Characterization of ionically bound peroxidases from apple (*Mallus pumilus*) fruits”, *Preparative Biochemistry and Biotechnology* 37(1), 47-58, 2007.

Erdo an, S.S. ve Demirci, M., “Elmanın fenolik bile en ve lif içeri i” *Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Ara turma Enstitüsü*, Gıda Teknolojisi Bölümü 43(1-2), 41-52, 2014.

Escarpa, A. and Gonzalez, M.C., “High-Performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties”, *Journal Of Chromatography A* 823, 331-337, 1998.

Francini, A. and Sebastiani, L., “Phenolic compounds in apple (*Malus x domestica* Borkh.): Compounds characterization and stability during postharvest and after processing”, *Antioxidants* 2(3), 181-193, 2013.

Gosse, F., Guyot, S., Roussi, S., Lobstein, A., Fischer, B., Seiler, N. and Raul, F., “Chemopreventive properties of apple procyanidins on human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a rat model of colon carcinogenesis”, *Carcinogenesis* 26(7), 1291-1295, 2005.

Gökkaya, Ö., Beyaz kiraz meyvesi (Starks Gold) polifenol oksidaz enziminin karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 2009.

Gök en, G., Ak sakı ve kara sakı elmalarının fenolik bile ikler inin HPLC ile analizi, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 2012.

Guyot, S., Le Bourvellec, C., Marnet, N. and Drilleau, J.F., “Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity”, *LWT-Food Science and Technology* 35(3), 289-291, 2002.

He, Z., Tao, Y., Zeng, M., Zhang, S., Tao, G., Qin, F. and Chen, J., “High pressure homogenization processing, thermal treatment and milk matrix affect in vitro bioaccessibility of phenolics in apple, grape and orange juice to different extents”, *Food Chemistry* 200, 107-116, 2016.

Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Van De Putte, B., “Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices”, *Journal Of Agricultural And Food Chemistry* 41, 1242-1246, 1993.

I ıksolu u, K., Flavonoidler ve sa lık, *Damla Matbaacılık*, Ankara, 86-100, 2001.

Kalinowska, M., Bielawska, A., Lewandowska-Siwkiewicz, H., Priebe, W. and Lewandowski, W., “Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties”, *Plant Physiology and Biochemistry* 84, 169-188, 2014.

Karadeniz, F., ve Ek i, A., “Elma suyunda fenolik madde da ılımı üzerine ara tırma”, *Tarım Bilimleri Dergisi* 7(3), 135-141, 2001.

Karaman, ., Türkiye’de yeti tirilen bazı elma çe itlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan özellik gösteren ba lıca bile enlerinin kar ıla tırılması, Y.Lisans Tezi, *stanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, stanbul, 2008.

Kahraman, A., Serteser, M., ve Köken, T., “Flavonoidler”, Afyon Kocatepe Üniversitesi, *Kocatepe Tıp Dergisi* 3, 01-08, 2002.

Kannan, R.R.R., Arumugam, R. and Anantharaman, P., “Fourier transform infrared spectroscopy analysis of seagrass polyphenols”, *Current Bioactive Compounds* 7(2), 118-125, 2011.

Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A. and Aromaa, A., “Flavonoid intake and risk of chronic diseases”, *The American Journal of Clinical Nutrition* 76(3), 560-568, 2002.

Krapfenbauer, G., Kinner, M., Gössinger, M., Schönlechner, R. and Berghofer, E., “Effect of thermal treatment on the quality of cloudy apple juice”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(15), 5453-5460, 2006.

Kuç u, A., ve Bulantekin, Ö., “The effects of production methods and storage on the chemical constituents of apple pekmez”, *Journal of Food Science and Technology* 2016.

Küçükkömürler, S., ve Karaku , S. ., “Elma, sa lık ve kültür”, *Tarım Bilimleri Ara turma Dergisi* 2(1), 183-186, 2009.

Lee, K.W., Kim, Y.J. Kim, D.O., Lee, H.J. and Lee, C.Y., “Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(22), 6516-6520, 2003.

Liu, F., Han, Q., and Ni, Y., “Comparison of biochemical properties and thermal inactivation of membrane-bound polyphenol oxidase from three apple cultivars (*Malus domestica* Borkh)”, *International Journal of Food Science and Technology* 2017.

Lo Scalzo, R., Iannocari, T., Summa, C., Morelli, R. and Rapisarda, P., “Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice”, *Food Chemistry* 85(1), 41-47, 2004.

Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H.M., Ross, C.F., Powers, J.R., Tang, J. and Rasco, B.A., “Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy”, *Food Chemistry* 129, 637-644, 2011.

Luthria, D., “Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using liquid extractor”, *Food Chemistry* 107, 745-752, 2008.

Manach, C. and Donovan, J., “Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans”, *Free Radical Research* 38, 771-785, 2004.

Markowski, J. and Płocharski W., “Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products”, *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 14(2), 2006.

McGhie, T. K., Hunt M. and Barnett, L.E., “Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(8), 3065-3070, 2005.

Meral, R., “Farklı Isıl i lem uygulamalarının fenolik bile enler üzerine etkisi”, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi/ Journal of The Institute of Natural and Applied Sciences* 21(1), 55-67, 2016.

Nayak, P.K., Rayaguru, K. and Krishnan, K.R., “Quality comparison of elephant apple juices after high-pressure processing and thermal treatment”, *Journal Science Food Agricultural* 97, 1404-1411, 2017.

Niu, S., Xu, Z., Fang, Y., Zhang, L., Yang, Y., Liao, X. and Hu, X., “Comparative study on cloudy apple juice qualities from apple slices treated by high pressure carbon dioxide and mild heat”, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11(1), 91-97, 2010.

Nizamlio lu, N.M. ve Nas, S., “Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bile ikler; yapıları ve önemleri”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 5(1), 20-35, 2010.

Nogales-Bueno, J., Baca-Bocanegra, B., Rooney, A., Hernández-Hierro, J.M. Byrne, H.J. and Heredia, F.J., “Study of phenolic extractability in grape seeds by means of ATR-FTIR and Raman spectroscopy”, *Food Chemistry* 232, 602-609 2017.

Okçu, Z. ve Kele , V., “Kalp-Damar hastalıkları ve antioksidanlar”, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 40(1), 153-160, 2009.

Okur, ., Baltacıo lu C., Baltacıo lu H., Alpas H. ve A çam E., “Evaluation of the effect of different extraction techniques on sour cherry pomace phenolic content and antioxidant activity and determination of phenolic compounds by FTIR and HPLC”, *Waste and Biomass Valorization* 2019.

Pearson, D.A., Tan, C.H., German, J.B., Davis, P.A. and Gershwin, M.E., “Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation”, *Life Sciences* 64, 1913-1920, 1999.

Ricci, A., Olejar, K.J., Parpinello, G.P., Kilmartin, P.A. and Versari, A., “Application of fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in the characterization of tannins”, *Applied Spectroscopy Reviews* 50, 407-442, 2015.

Riener, J., Noci, F. Cronin, D.A., Morgan, D.J. and Lyng, J.G., “Combined effect of temperature and pulsed electric fields on apple juice peroxidase and polyphenoloxidase inactivation”, *Food Chemistry* 109(2), 402-407, 2008.

Shahidi, F. and Naczk, M., Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications, *Lancaster: Technomics*, USA, 312, 1995.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A., “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents”, *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158, 1965.

Stuart, B. and Ando, D.J., Biological applications of infrared spectroscopy, *John Wiley and Sons*, 1997.

Stuart, B., Infrared Spectroscopy: Fundamentals and applications, *John Wiley and Sons*, 2004.

Sulaiman, A., Farid, M., and Silva, F.V., “Quality stability and sensory attributes of apple juice processed by thermosonication, pulsed electric field and thermal processing”, *Food Science and Technology International* 23(3), 265-276, 2016.

Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Zhihua, L., Jiyong, S., Zhai, X., Wang, S. and Mariod, A.A., “Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy”, *Food Chemistry* 226, 202-211, 2017.

Tavman, ., Kumcuo lu, S. ve Akkaya, Z., “Bitkisel ürünlerinden atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu”, *Gıda Dergisi* 34(3),175-182, 2009.

Van Der Sluis Aa., A chain analysis of the production of ‘healthy’ apple juice. The Case Of Polyphenolic Antioxidants, PhD Thesis, *Wageningen University*, 2005.

Walia, M., Kumar S. and Agnihotria, V.K., “UPLC-PDA quantification of chemical constituents of two different varieties (golden and royal) of apple leaves and their antioxidant activity”, *Journal Science Food Agriculture* 2015.

Wardlaw, Gm., Hampl, Js. and Disilvestro, Ra., Carbohydrates, Perspectives in Nutrition, *Mc Graw Hill*, New York, 137-176, 2004.

Yemenicio lu, A., Özkan, M. ve Cemero lu, B., “Heat inactivation kinetics of apple polyphenoloxidase and activation of its latent form”, *Journal of Food Science* 62(3), 508-510, 1997.

Yıkar, E., “Elma”, *Tarımsal Ekonomi Ara tırma Enstitüsü Yayınları*, 4(7), 1-4, Ankara, 2003.

Yıldırım, M., Benzer, F., Çimen, M., Barı , D., Yıldırım H., Sanyürek, N.K. ve Karakavuk, E., “İsparta’da yeti en bazı elma çe itlerinin meyve eti, kabuk ve çekirdek yuvasındaki antioksidan kapasitesinin belirlenmesi”, *International Journal of Pure and Applied Sciences* 5(1), 31-36, 2019.

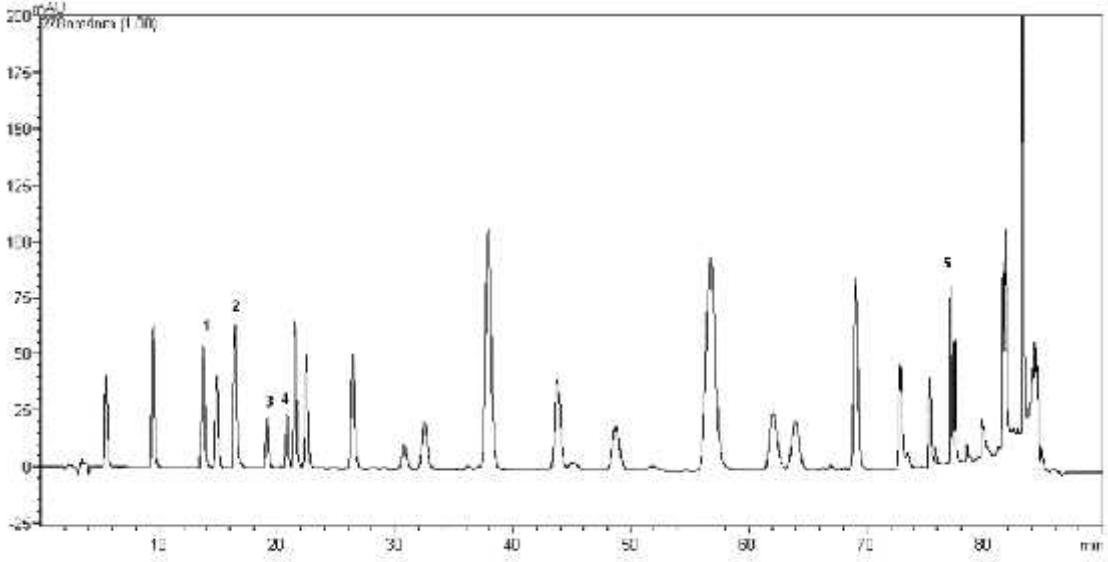
Yınrog, L. and Foo, L.Y., “Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace”, *Food Chemistry* 68, 81-85, 2000.

Yi, J., Kebede, B.T., Hai Dang, D.N., Buvé, C., Grauwet, T., Van Loey, A., Hu, X. and Hendrickx, M., “Quality change during high pressure processing and thermal processing of cloudy apple juice”, *LWT- Food Science and Technology* 75, 85-92, 2017.

Zhao, S., Bomser, J., Joseph, E.L. and DiSilvestro, R.A., “Intakes of apples or apple polyphenols decrease plasma values for oxidized low-density lipoprotein/beta2-glycoprotein I complex”, *Journal of Functional Foods* 5(1), 493-497, 2013.

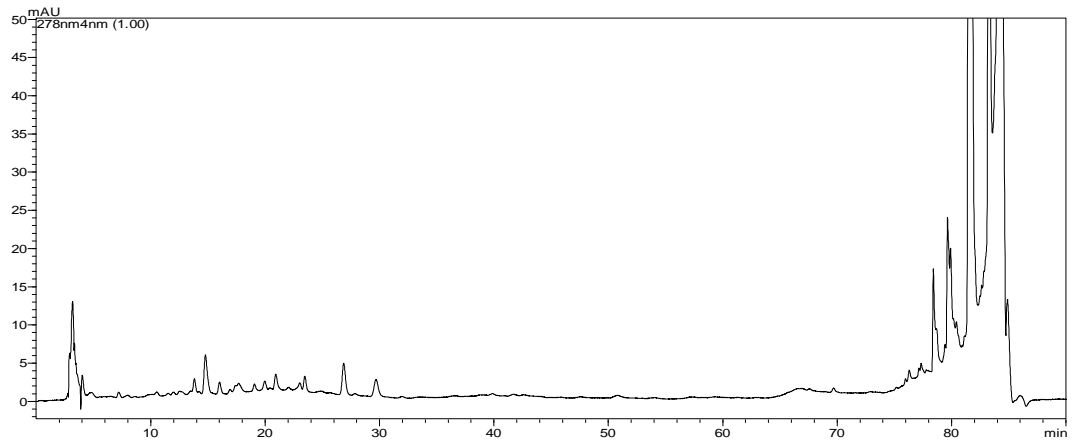
## EKLER

EK 1. Standart kromatogram

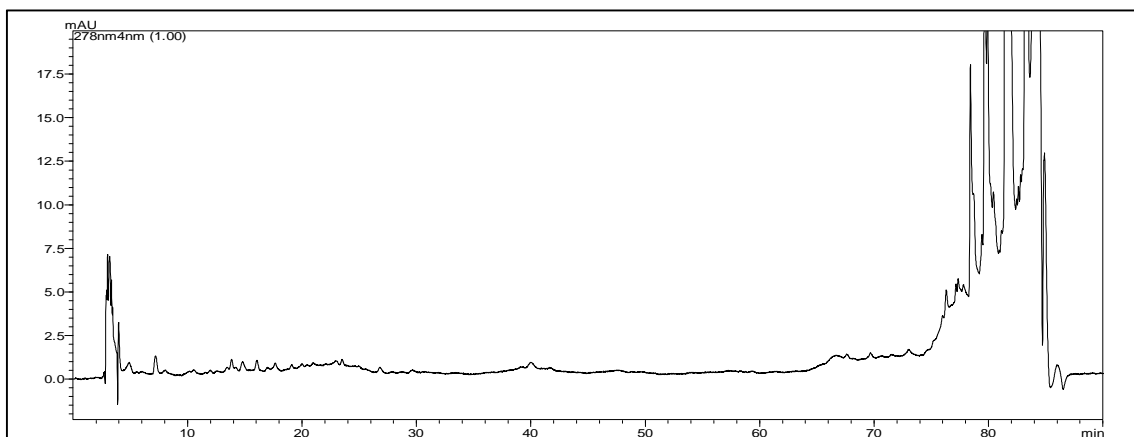


1:kate in 2:klorojenik asit 3:kafeik asit 4:epikate in 5: kamferol

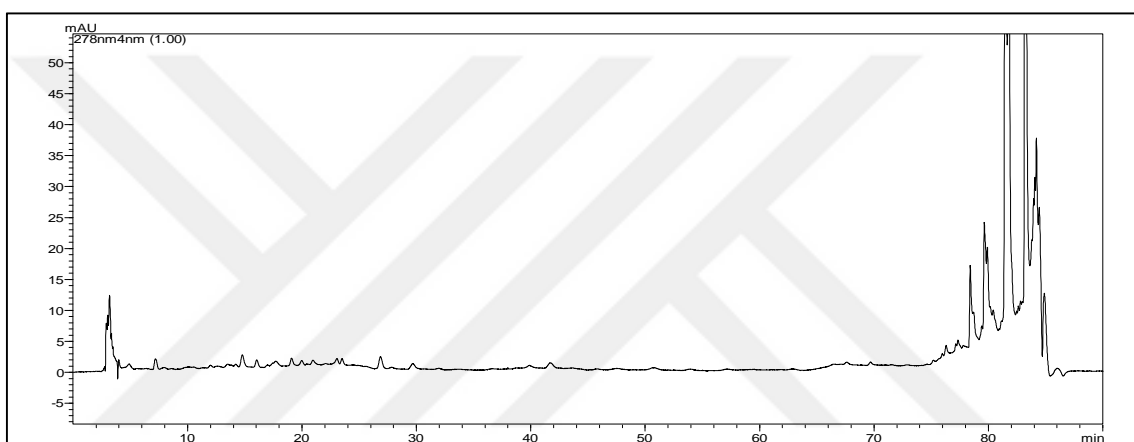
EK 2. Kontrol Numune kromatogramı



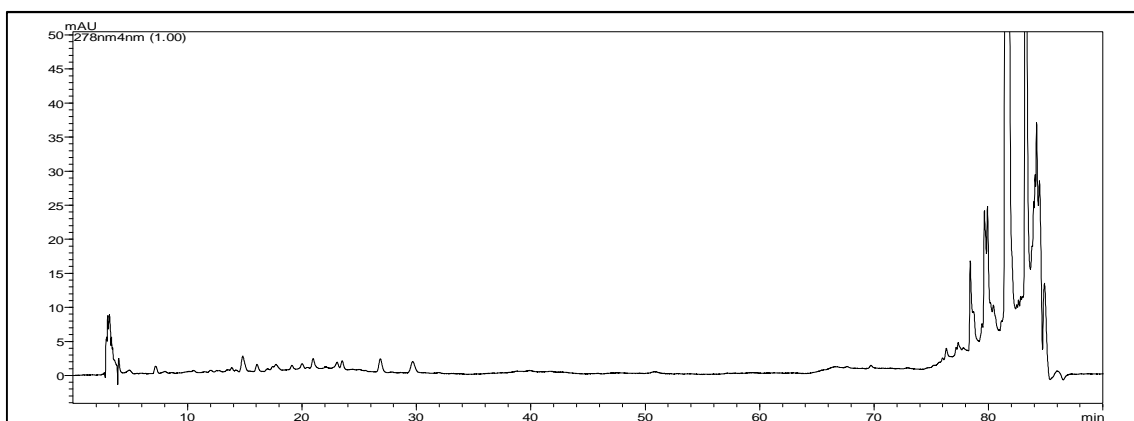
EK 3. 40 °C-20 dk



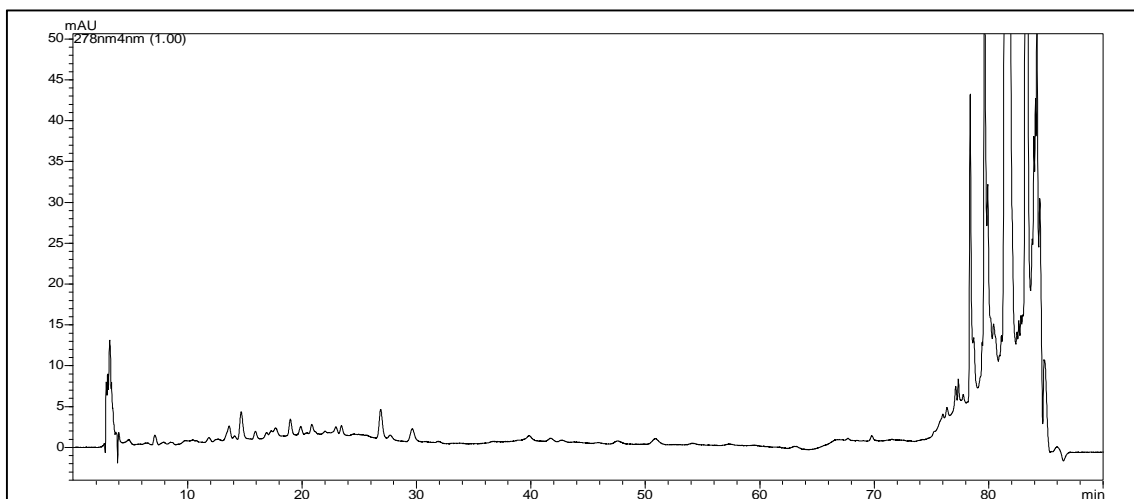
EK 4. 50 °C-20 dk



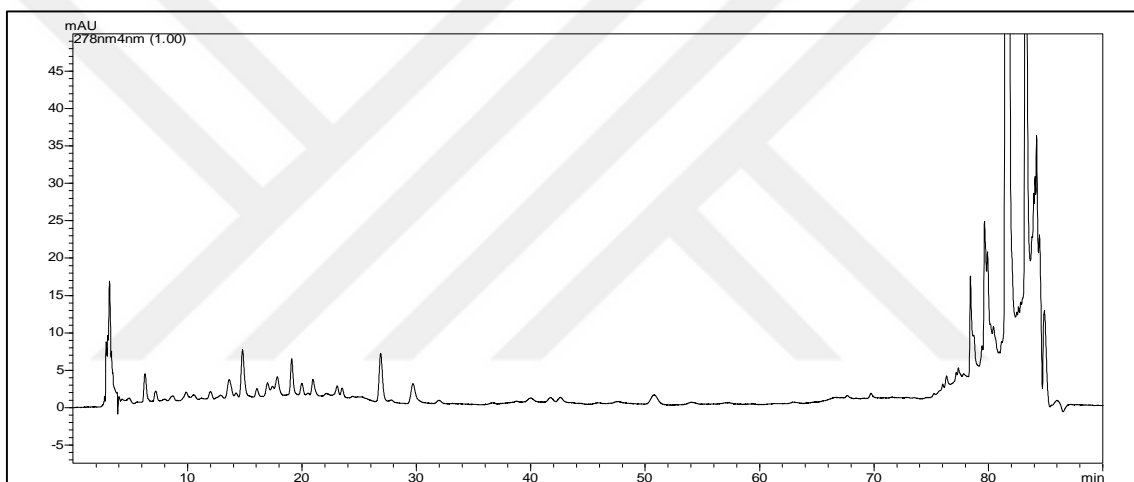
EK 5. 60 °C-20 dk



EK 6. 70 °C-20 dk



EK 7. 80° C-20 dk



## ÖZ GEÇM

Gözde DO ANAY 21.04.1995 tarihinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Mersin’de tamamladı. 2013 yılında girdiği Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden 2017 yılında mezun oldu. Aynı yıl Niğde Ömer Halis Demir Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde Yüksek Lisans Öğrenimine başladı. Bilim dalındaki ilgi alanı Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisidir.

