

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

**TİYOLLERİN PATATESTKİ ESMELEŞME
REAKSİYONLARI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTEYE
ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

İnci CERİT

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Omca DEMİRKOL

Temmuz 2020

BEYAN

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



İnci CERİT

07.07.2020

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimin her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen ve hep arkamda duran, beni teşvik eden ve aynı titizlikle beni yönlendiren değerli danışman hocam Doç. Dr. Omca Demirkol'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmam süresince beni yönlendiren Tez İzleme Komitesi üyeleri değerli hocalarım Doç. Dr. Ayşe Avcı ve Doç. Dr. Hakime Hülya Orak'a, beni motive eden ve destek veren sevgili arkadaşım Selime Mutlu ve çalışma arkadaşlarıma, laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığına, hammadde temininde yardımcı olan Niğde Patates Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü ve Dr. Levent Abdullah Ünlenen'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm hayatım boyunca yanımda olan, sevgisini hiç esirgemeyen, üzerimde sonsuz hakları bulunan annem Günay Çantık'a, 2014 yılında kaybettiğim babam Orhan Çantık'a ve kardeşim Yasin Çantık'a, hayatıma girdiği andan beri beni asla yalnız bırakmayan, her zaman beni cesaretlendiren kıymetli eşim Yusuf Cerit'e ve canım oğlum Yiğit Raşit Cerit'e teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2017-50-02-022) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	6
2.1. Tiyoller ve Özellikleri.....	6
2.2. Enzimatik Esmerleşme.....	8
2.3. Enzimatik Esmerleşmeyi Önlemek için Tiyollerle Yapılan Çalışmalar.....	13
2.4. Enzimatik Olmayan Esmerleşme ve Akrilamid.....	19
2.5. Akrilamid Oluşumunu Önlemek için Tiyollerle Yapılan Çalışmalar.	27
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Kimyasal malzemeler.....	32
3.1.2. Örneklerin hazırlanması.....	32

3.1.3. Kızartma işlemi.....	33
3.1.3.1. Patates/yağ oranı belirlenmesi.....	33
3.1.3.2. Kızartma sıcaklığı ve süresinin belirlenmesi.....	33
3.2. Analiz Yöntemleri.....	34
3.2.1. Renk analizi.....	34
3.2.2. Nem tayini.....	34
3.2.3. Toplam yağ tayini.....	35
3.2.4. Polifenol oksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	35
3.2.5. Tiyol analizi.....	36
3.2.5.1. Tiyol analizi için HPLC koşulları.....	37
3.2.6. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde analizleri için örnek ekstraksiyonu.....	37
3.2.7. DPPH radikal süpürme aktivitesi.....	38
3.2.8. Demir iyonu indirgeme potansiyeli.....	38
3.2.9. Bakır iyonu indirgeme kapasitesi.....	39
3.2.10. Toplam fenolik madde tayini.....	39
3.2.11. Askorbik asit analizi.....	40
3.2.11.1. Askorbik asit analizi için HPLC şartları.....	40
3.2.12. Akrilamid analizi.....	41
3.2.12.1. Akrilamid analizi için LC-MS/MS şartları.....	42
3.2.13. Şeker analizi.....	42
3.2.13.1. Şeker analizi için HPLC şartları.....	43
3.2.14. İstatistiksel analiz.....	43

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	44
4.1. Taze Patatesin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	44
4.2. Patatesin Kızartma Koşullarının Belirlenmesi.....	48
4.3. Renk Değerleri ve Polifenol Oksidaz Aktivitesi.....	50
4.4. Kalıntı Tiyol İçeriği.....	60
4.5. Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde İçeriği.....	66
4.5.1. DPPH radikal süpürme aktivitesi.....	67

4.5.2. Demir iyonu indirgeme potansiyeli.....	71
4.5.3. Bakır iyonu indirgeme kapasitesi.....	74
4.5.4. Toplam fenolik madde içeriği.....	77
4.6. Askorbik Asit İçeriği.....	81
4.7. Şeker İçeriği.....	89
4.8. Akrilamid İçeriği.....	92
BÖLÜM 5.	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	103
KAYNAKLAR	108
EKLER.....	122
ÖZGEÇMİŞ.....	125

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AA	: Askorbik asit
CUPRAC	: Bakır iyonu indirgeme kapasitesi
CYS	: Sistein
DHA	: Dehidroaskorbik asit
DETAPAC	: Dietilenetriamin pentaasetik asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
FC	: Folin-Ciocalteu
FeSO ₄	: Demir (II) sülfat
FRAP	: Demir iyonu indirgeme potansiyeli
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
GC	: Gaz kromatografisi
GC-MS	: Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
GSH	: Glutasyon
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LC/MS-MS	: Sıvı kromatografi/Kütle spektrometresi-Kütle spektrometresi
NAC	: N-asetilsistein
NPM	: N-(1- Pirenil) maleimid
PPO	: Polifenol oksidaz
PVP	: Polivinilpirolidon
-SH	: Sülfidril
TFM	: Toplam fenolik madde
TPTZ	: 2,4,6-Tripiridil-s-triazin
Troloks	: (±)-6- hidroksi-106 2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit
U	: Unite
ΔE	: Toplam renk değişimi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Esmerleşme reaksiyonunun basitleştirilmiş şeması.....	9
Şekil 2.2. Akrilamid metabolizması.....	21
Şekil 2.3. Akrilamid oluşumuna neden olan kimyasal reaksiyonlar.....	22
Şekil 2.4. Maillard reaksiyon sistemine alternatif akrilamid oluşum yolları.....	23
Şekil 2.5. Merkaptan varlığında muhtemel akrilamid kaybolma mekanizması..	27
Şekil 4.1. Kızartma süresi boyunca elde edilen sıcaklık değişimi.....	52
Şekil 4.2. Depolanan ve kızartılan patateslerin L^* değerlerindeki değişim.....	54
Şekil 4.3. Depolanan ve kızartılan patateslerin a^* değerlerindeki değişim.....	54
Şekil 4.4. Depolanan ve kızartılan patateslerin b^* değerlerindeki değişim.....	56
Şekil 4.5. Depolanan ve kızartılan patateslerin ΔE değerlerindeki değişim.....	58
Şekil 4.6. Depolanan patateslerin PPO değerlerindeki değişim.....	60
Şekil 4.7. Depolanan ve kızartılan patateslerin tiyol içeriklerindeki değişim....	62
Şekil 4.8. GSH, CYS ve NAC'nin HPLC ile analizinde kullanılan standart eğriler.....	63
Şekil 4.9. Miks standarda ait kromotogram görüntüsü.....	64
Şekil 4.10. GSH, CYS ve NAC'ye daldırılmış örneklerin kromotogramları.....	65
Şekil 4.11. DPPH analizi için oluşturulan standart eğri.....	67
Şekil 4.12. Depolanan ve kızartılan patateslerin DPPH değerlerindeki değişim	69
Şekil 4.13. FRAP analizi için oluşturulan standart eğri.....	71
Şekil 4.14. Depolanan ve kızartılan patateslerin FRAP değerlerindeki değişim.	73
Şekil 4.15. CUPRAC analizi için oluşturulan standart eğri.....	74
Şekil 4.16. Depolanan ve kızartılan patateslerin CUPRAC değerlerindeki değişim.....	76
Şekil 4.17. TFM analizi için oluşturulan standart eğri.....	77

Şekil 4.18. Depolanan ve kızartılan patateslerin TFM değerlerindeki değişim..	80
Şekil 4.19. Depolanan ve kızartılan patateslerin AA içeriklerindeki değişim....	85
Şekil 4.20. AA analizi için oluşturulan standart eğri.....	86
Şekil 4.21. AA standardına ait kromotogram görüntüsü.....	86
Şekil 4.22. Örneğe ait AA kromotogram görüntüsü.....	87
Şekil 4.23. Şeker analizi için oluşturulan standart eğri.....	91
Şekil 4.24. Miks şeker standartına ait kromotogram görüntüsü.....	92
Şekil 4.25. Örneğin şeker içeriğine ait kromotogram görüntüsü.....	92
Şekil 4.26. Akrilamid standartına ait kromotogram görüntüsü.....	94
Şekil 4.27. Örneğin akrilamid içeriğine ait kromotogram görüntüsü.....	94
Şekil 4.28. Akrilamid analizi için oluşturulan standart eğri.....	95
Şekil 4.29. Kızartılan patateslerin akrilamid içeriklerindeki değişim.....	98
Şekil 4.30. Kızarmış patateslerin L* değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki....	99
Şekil 4.31. Kızarmış patateslerin a* değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki....	99
Şekil 4.32. Kızarmış patateslerin b* değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki....	100
Şekil 4.33. Kızarmış patateslerin ΔE değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki...	100
Şekil 4.34. Kızarmış patateslerin tiyol içeriği ile akrilamid arasındaki ilişki.....	101
Şekil 4.35. Kızarmış patateslerin AA içerikleri ile akrilamid arasındaki ilişki...	102

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan tiyollerin kimyasal yapısı, molekül formülü ve ağırlığı.....	7
Tablo 4.1. Taze kesilmiş patatese ait renk, nem, şeker, tiyol, PPO aktivite, AA, TFM ve antioksidan aktivite değerleri.....	46
Tablo 4.2. Depolanan ve kızartılan patateslerin L* değerleri.....	50
Tablo 4.3. Depolanan ve kızartılan patateslerin a* değerleri.....	53
Tablo 4.4. Depolanan ve kızartılan patateslerin b* değerleri.....	55
Tablo 4.5. Depolanan ve kızartılan patateslerin ΔE ve PPO değerleri.....	57
Tablo 4.6. Depolanan ve kızartılan patateslerin kalıntı tiyol içerikleri.....	61
Tablo 4.7. Depolanan ve kızartılan patateslerin DPPH değerleri.....	68
Tablo 4.8. Depolanan ve kızartılan patateslerin FRAP değerleri.....	72
Tablo 4.9. Depolanan ve kızartılan patateslerin CUPRAC değerleri.....	75
Tablo 4.10. Depolanan ve kızartılan patateslerin TFM değerleri.....	79
Tablo 4.11. Depolanan ve kızartılan örneklerin AA içerikleri.....	83
Tablo 4.12. Örneklerin akrilamid içerikleri.....	97

ÖZET

Anahtar kelimeler: Tiyoller, patates, esmerleşme reaksiyonları, akrilamid, antioksidan aktivite

Bu çalışmada, taze kesilmiş patatesler farklı konsantrasyonlarda (%0,5; %1,0; %2,0) tiyol çözeltileri [glutasyon (GSH), sistein (CYS) ve N-asetilsistein (NAC)] ile muamele edilmiş, oda sıcaklığında 48 saat boyunca depolanmış ve depolama sırasında meydana gelen enzimatik esmerleşme reaksiyonuna tiyol çözeltilerinin etkisi incelenmiştir. Tiyol çözeltilerinin etkinliğini karşılaştırmak amacıyla %1,0 oranında sodyum metabisülfite pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ayrıca, tiyol çözeltileri ile muamele edilen patatesler, 180°C sıcaklıkta 6 dakika boyunca derin yağda kızartılmış ve ısı işlem uygulamasının enzimatik olmayan esmerleşmeye etkisi belirlenmiştir. Depolama ve kızartma işlemleri sonunda patateslere renk, kalıntı tiyol miktarı, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve askorbik asit (AA) analizleri uygulanmıştır. Ayrıca depolanmış patateslerin polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesi, kızartılmış patateslerin ise akrilamid içeriği belirlenmiştir.

Yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde farklı konsantrasyonlarda kullanılan tiyol çözeltileri, patateslerin renk değerleri üzerinde etkili olmuş ve PPO enzim aktivitesini azaltmıştır. CYS'nin %1,0 (CYS1.0) ve %2,0 (CYS2.0) konsantrasyonları enzim aktivitesini tamamen durdurmuştur. GSH ile muamele enzimatik esmerleşmeyi önlemede etkili olmamıştır. Kalıntı tiyol miktarının, CYS ve NAC'ye daldırılan örneklerde yüksek, GSH grubunda çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Uygulanan tiyol çözeltileri antioksidan aktiviteyi artırmış ve AA içeriklerinde önemli koruma sağlamıştır. Kızartılan patateslerin renklerindeki karama CYS1.0, GSH2.0, CYS2.0, NAC2.0 örneklerinde önlenmiştir. Kalıntı tiyol miktarı, CYS ve NAC gruplarında kızartmayla birlikte azalırken GSH grubunda artış görülmüştür. Hiçbir işlem uygulanmayan kontrol grubu oldukça yüksek akrilamid içeriğine sahip olduğu halde GSH2.0, CYS0.5, NAC2.0, CYS2.0 ve CYS1.0 örneklerinde %62-70 oranında azalma tespit edilmiştir.

Özet olarak, bu çalışmayla taze kesilmiş patateslerin 48 saatlik depolanması sırasında tiyol çözeltilerinin enzimatik esmerleşmeyi etkili bir şekilde durdurabileceği aynı zamanda tiyol, antioksidan aktivite ve AA içeriğinin artırılabilmesi gösterilmiştir. Ek olarak, potansiyel kanserojen olarak sınıflandırılan ve derin yağda kızartmayla patatesten oldukça yüksek miktarda oluşan akrilamid bileşeninde, yaklaşık %70 oranında azalma sağlanabileceği tespit edilmiştir. Ticari olarak kolay ulaşılabilir ve ucuz olan, ayrıca sağlığa faydalı biyoaktif bileşen içeriğine katkı sağlayan CYS ve NAC'nin patatesteki esmerleşme reaksiyonlarını önlemede sülfite yerine kullanılabilmesi, bu araştırmanın en önemli çıktısını oluşturmaktadır.

EFFECTS OF THIOLS ON BROWNING REACTIONS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POTATO

SUMMARY

Keywords: Thiols, potato, browning reactions, acrylamide, antioxidant activity

In this study, fresh-cut potatoes were treated with different concentrations (%0,5; %1,0; %2,0) of thiol solutions [glutathione (GSH), cysteine (CYS) and N-acetylcysteine (NAC)] and stored for 48 hours at room temperature. The effects of thiols on the enzymatic browning reaction which occurred during the storage were examined. Potassium metabisulphite (%1,0) was used to compare effectiveness of thiol compounds. In addition, thiol-treated potatoes were deep fried for 6 minutes at 180°C and the effect of heat treatment on non-enzymatic browning was determined. Color, residual thiol content, antioxidant activity, total phenolic content and ascorbic acid analysis were applied to potatoes during the storage and frying process. Moreover, polyphenol oxidase (PPO) enzyme activity of fresh-cut potatoes and acrylamide content of fried potatoes were investigated.

When the results of the analysis were evaluated, the thiol solutions used in different concentrations affected the color values of the potatoes and reduced the PPO enzyme activity. The 1,0% and 2,0% of CYS (CYS1.0, CYS2.0) concentrations completely stopped the enzyme activity, but GSH treatment was not effective on preventing enzymatic browning. It was detected that the amount of residual thiol was high in the samples immersed in CYS and NAC solutions and low in GSH treated ones. Thiol solutions increased the antioxidant activity and provided significant preservation in ascorbic acid contents. Darkening of fried potatoes was prevented in CYS1.0, GSH2.0, CYS2.0 and NAC2.0 samples. During frying process, the amount of residual thiol decreased in the CYS and NAC groups, however it increased in GSH group. While the untreated control sample had very high acrylamide content, there was a 62-70% reduction in GSH2.0, CYS0.5, NAC2.0, CYS2.0 and CYS1.0 samples.

In summary, this study has shown that thiol solutions can effectively protect the enzymatic browning of fresh-cut potatoes during 48 hours of storage and also increase the antioxidant activity, thiol and ascorbic acid content of the samples. In addition, it has been determined that approximately 70% reduction can be achieved in acrylamide which is classified as potential carcinogen and found high amounts in fried potatoes. The most important outcome of this research is that CYS and NAC, which are commercially accessible and inexpensive, can be used as potential sulphite substitutes to prevent browning reactions in potatoes.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Gıdalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları endüstride önemli bir problem oluşturmaktadır. Enzimatik esmerleşme, meyve ve sebzelerde polifenol oksidaz (PPO) enzimi tarafından gerçekleştirilen ve kahverengi pigmentlerin oluşumuyla sonuçlanan kimyasal bir reaksiyondur. Enzim, bitkilerdeki fenolik maddeleri, oksijen ile hızla okside etmekte ve esmer renkli bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır. Esmerleşme reaksiyonları, fermente çay yaprakları, siyah üzüm gibi bazı ürünlerde duysal özellikleri geliştirmekle birlikte, meyve ve sebzelerde yumuşamaya neden olmakta, lezzet ve renge zarar vermektedir. Soyma, kesme, dilimleme gibi işlemlerle hücre duvarı ve hücre membran bütünlüğü kaybolduğunda ise reaksiyon çok daha hızlı gerçekleşmektedir (Martinez ve Whitaker, 1995).

Mikrobiyal kontaminasyondan sonra gıda bozulmalarının en önemli sebebi oksidasyondur ve PPO enziminin sebep olduğu enzimatik esmerleşme, en temel oksidatif reaksiyondur. PPO, oksijen varlığında monofenollerin difenollere hidroksilasyonu ve difenollerin kinonlara oksidasyonu reaksiyonlarını katalizlemektedir. Son aşamada ise kinonlar enzimatik olmayan polimerizasyon reaksiyonu ile yüksek molekül ağırlıklı ve koyu renkli melaninlere dönüşür (Martinez ve Whitaker, 1995; Queiroz ve ark., 2008).

Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu (Maillard), aminoasit, peptid veya proteinlerin yapısında bulunan serbest amino grubu ile indirgen şekerlerin serbest aldehit ve keton grupları arasındaki reaksiyonla başlamaktadır ve esmer renkli azotlu polimerlerin (melanoidinler) oluşmasıyla tamamlanmaktadır. Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları, ekmek kabuğu gibi ürünlerde istenilen renk, tat ve kokuyu

sağlarken bazı süt ürünlerinde istenmeyen koku ve tat oluşumuna sebep olmaktadır. Reaksiyon hızı, amino bileşiği ile şekerin özelliklerine göre değişmektedir. Karbonil grubu bloke edilmiş şekerler bu tepkimeyi vermezler (Köksel, 2007). Maillard reaksiyonu oldukça kompleks bir yapıya sahiptir ve çok sayıda oluşum yolu tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır. Ek olarak Maillard reaksiyonları asitlik ve pH, sıcaklık ve süre, su aktivitesi, şeker ve aminoasitler gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Bemiller ve Whistler, 1997; Burdurlu ve Karadeniz, 2002). Maillard reaksiyonunun kontrol altına alınması ile ilgili çalışmalarda bu faktörler göz önünde bulundurulmaktadır.

Maillard reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerden biri, akrilamid bileşenidir. Uluslararası Kanseri Araştırma Merkezi (IARC, 1994) akrilamidi insanlar için olası kanserojen (2A grubu) olarak sınıflandırmıştır. Nişasta içeren çeşitli kızarmış ve fırınlanmış gıdalarda kanser oluşturma potansiyeline sahip akrilamidin oluşum mekanizması farklı hipotezlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak akrilamid oluşumu için en güçlü hipotez, ısıtılma işlemi gören gıdalarda bazı aminoasitler ile şekerler arasında Maillard reaksiyonu sonucu ortaya çıkan ürünlerden meydana geldiğidir. Akrilamid oluşumu için sıcaklığın 120°C'yi geçmesi gerektiği ve ortam sıcaklığı arttığında akrilamid miktarının arttığı bildirilmektedir. Özellikle patates cipsi, patates kızartması, ekmek ve işlenmiş tahıl ürünlerinde yüksek sıcaklıkla birlikte akrilamid meydana gelmektedir (Pedreschi ve ark., 2004; Pedreschi ve ark., 2005).

Gıdalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşmeyi önlemek için günümüze kadar birçok farklı çalışma yapılmıştır. Enzimatik esmerleşmeyi önlemek için yapılan çalışmaları, fiziksel ve kimyasal prosesler olarak kategorize etmek mümkündür. Fiziksel proseslerde sıcaklığın modifikasyonu ve oksijen konsantrasyonunun azaltılması iki temel uygulamadır. Haşlama, dondurma, modifiye atmosfer paketlenme, PPO aktivitesinin azaltılması ve durdurulmasında kullanılan fiziksel yöntemlerdir. Antioksidan ve şelatlayıcı ajanlar, asitlendirici maddeler meyve ve sebzelerdeki oksidasyon olayını kısıtlayan kimyasal PPO inhibitörleri olarak kullanılmaktadır. Enzimatik esmerleşmeyi engellemek amacıyla kullanılan inhibitörler arasında sülfütlü ajanlar, askorbik asit, tiyoller gibi bileşikler yer

almaktadır. Ancak sülfitle ajanlar enzimatik esmerleşmeyi engellemek konusunda yardımcı oldukları kadar insan sağlığını da tehdit ettikleri için kullanımları yasal olarak sınırlandırılmıştır. Bunlar dışında enzimatik esmerleşmeyi önlemede kullanılan değişik biyopolimerlerden üretilen yenilebilir film ve kaplamalar da literatürde yerini almaktadır (Queiroz ve ark., 2008; Richard-Forget ve ark., 1992). Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonunu engellemek için de araştırmacılar tarafından farklı çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar genel hatlarıyla, Maillard reaksiyonuna katılan indirgen şekerlerin ortamdan uzaklaştırılması, amino gruplarının modifikasyonu, kükürtdioksit, sülfite veya sülfidril grubu içeren aminoasitlerin kullanımı, esmerleşmeyi önleyen L-aspartik asit ve L-glutamik asit gibi çözeltilerin kullanılması, bazı antioksidan ve asitlik sağlayıcı bileşiklerin eklenmesi olarak sıralanabilir (Burdurlu ve Karadeniz, 2002).

Çeşitli inhibitörler arasında tiyol grubuna ait glutatyon (GSH), sistein (CYS) ve N-asetilsisteinin (NAC), enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşmeyi önlemede oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Tiyoller, sülfidril (-SH) grubu içeren bileşiklerdir ve merkaptan olarak karakterize edilirler. Tiyollerin önemli bir üyesi olan CYS, elzem olmayan aminoasitler grubunda iken NAC, CYS'in bir türevidir. GSH ise glutamik asit, CYS ve glisin aminoasitlerinin bir araya gelmesiyle oluşan bir tripeptittir. Sülfidril grubu içeren bu bileşikler farklı biyokimyasal ve kimyasal proseslerde yer alırlar. Antioksidan ve antitoksik etkileri, bu bileşiklerin indirgen madde, oksijen radikallerini temizleme, hücresel detoksifikasyon indükleyici özelliklerinden kaynaklanmaktadır. -SH grubu içeren aminoasit ve peptidler, esmerleşme reaksiyonlarını önlemek için sülfidler yerine gıdalarda kullanımları tercih edilmektedir ve literatürde tiyollerin gıdalardaki esmerleşme reaksiyonlarını önlediğine dair bazı çalışmalar bulunmaktadır (Demirkol ve Ercal, 2011; Dudley ve Hotchkiss, 1989; Friedman, 1994).

Patates dünyada en çok üretimi yapılan başlıca mahsullerden biridir ve 2016 yılı verilerine göre dünyada üretimi 375 milyon tonu geçmiştir (FAO, 2018). Gelişmiş ülkelerin birçoğunda patatesin kişi başı tüketimi fazla olduğundan, vitamin ve besleyicilik bakımından diğer gıdalara göre diyeteye etkisi oldukça fazladır. Patates,

yaklaşık olarak %80 su ve %20 katı madde içermekle birlikte bu değerler çeşitten çeşite değişebilmektedir. Kuru maddenin yaklaşık %18'i karbonhidrat ve %2'si proteindir. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) veri tabanına göre 100 gram patates, günlük alınması gereken %4 kalori, %33 C vitamini ihtiyacını (patateste en fazla bulunan vitamin), %12 potasyum ihtiyacını karşılamaktadır. Bunun dışında flavanoller, antosiyaninler, fenolik asitler, tokoferoller ve karotenoidler gibi önemli besin maddelerini de içermektedir (Naverre ve ark., 2009).

Patates enzimatik esmerleşmeye hassas gıdalardan biridir ve kesilen yüzeydeki esmerleşme önemli kalite kayıplarına sebep olmaktadır. Bu nedenle enzimatik esmerleşmeyi önlemek için gıda endüstrisi etkili yollar aramaktadır. Reaksiyon, patatesin yüzeyinde gri veya kahverengi renkler oluşturmakta ve inhibitörler ile muamele edilmezse bu renkler dakikalar içinde ortaya çıkmaktadır. Enzimatik olmayan esmerleşme sonucu akrilamid oluşumu, kızartılarak tüketilen patates ürünlerinde bir diğer önemli problemdir. Asparajin aminoasiti ve indirgen şekerler, akrilamid oluşumunda en önemli öncül bileşiklerdir. Asparajin patateste en fazla bulunan aminoasittir ve toplam aminoasidin üçte birini oluşturmaktadır. Bu nedenle kızarmış patates ürünleri günlük akrilamide maruz kalmaya büyük katkı sağlamaktadır (Halford ve ark., 2012; Rocculi ve ark., 2007). Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA), Haziran 2015'de yayınladığı raporda gıdalardaki akrilamid varlığının bazı kanser türlerinin oluşum riskini tüm yaş gruplarında artırdığını bildirmiştir. Ağız yoluyla alındığında, akrilamid sindirim sisteminden absorbe edilmekte ve bütün organlara dağılmaktadır. Akrilamid, çoğunlukla GSH ile konjugasyonu sonucu metabolize olurken aynı zamanda glisidamide dönüşümü de vücutta gerçekleşebilmektedir. Glisidamid oluşumu, genotoksisite ve kanserojenliğin altında yatan temel sebep olduğu düşünülmektedir (EC, 2017; EFSA, 2016; Mesias ve ark., 2018). Akrilamid çeşitli gıdalarda bulanabildiğinden, bu bileşiğe maruz kalmak, toplumsal bir sağlık sorunu haline gelmiştir. İçerdiği yüksek akrilamid oranıyla göze çarpan patates ürünlerinde akrilamid oluşumunu engellemek için farklı stratejiler geliştirilmektedir. Bunlardan biri de sülfidril grubu içeren bileşiklerin gıdalara eklenmesidir (Hidalgo ve ark., 2011).

Bu tezin amacı; tüketim miktarı açısından önemli bir gıda olan patatesin tiyol çözeltilerine daldırıldıktan sonra enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme üzerine etkisini belirlemektir. Çalışma iki aşamalı olarak planlanmıştır: İlk aşamada tiyol çözeltilerine daldırılan taze kesilmiş patateslerin 48 saat boyunca renk, PPO enzim aktivitesi, kalıntı tiyol miktarı, DPPH radikal süpürme aktivitesi, demir iyonu indirgeme potansiyeli (FRAP), bakır iyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC), toplam fenolik madde miktarı (TFM), askorbik asit (AA) miktarı belirlenmiştir. İkinci kısımda ise çözeltilere daldırılan patatesler 180°C’de 6 dakika boyunca derin yağda kızartılmış ve kullanılan çözeltilerin kızartma sonrası Maillard reaksiyonuna etkisini tespit etmek amacıyla patateslere, renk, şeker ve akrilamid analizi uygulanmıştır. Ayrıca kullanılan tiyollerin kızartılmış patateslerin antioksidan aktivite (DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP analizi, CUPRAC analizi), TFM, AA ve kalıntı tiyol miktarına etkisinin belirlenmesi de bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

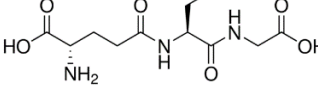
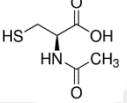
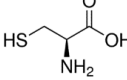
2.1. Tiyoller ve Özellikleri

Tiyoller, alkollerin -2 değerlikli oksijeni yerine -2 değerlikli kükürt geçmiş türevleridir. Genel formülleri R-SH olup merkaptan olarak da adlandırılırlar. Hücrelerde birçok indirgenme-yükseltgenme tepkimesinde yer alırlar. Düşük molekül ağırlıklı tiyoller, kolay okside olmaları ve hızlı rejenerasyonları sayesinde birçok biyokimyasal ve farmakolojik reaksiyonda önemli role sahiptir. Kimyasal yapıları, molekül formülleri ve molekül ağırlıkları Tablo 2.1.'de verilen GSH, CYS ve NAC önemli tiyol türleridir.

Glutatyon (γ -L-glutamil-L-sisteinil glisin), düşük molekül ağırlıklı en önemli tiyollerden biridir. Bitki, hayvan ve mikroorganizma dokularında hücre içinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Sentezlenmesi iki aşamada gerçekleşmektedir: İlk aşamada γ -glutamilsistein sentetaz enzimi ile glutamat ve CYS bağlanırken ikinci aşamada glutatyon sentetaz enzimi, glisinin γ -glutamilsisteine eklenme reaksiyonunu katalizler ve sonucunda bir tripeptit olan GSH oluşmaktadır. Suda çözünebilir bir antioksidan olan GSH, glutatyon-askorbat döngüsü boyunca reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde ve glutatyon peroksidaz enzimine elektron verici olarak görev yapmaktadır. Ek olarak, ağır metallerin ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda glutatyon-S-transferaz enzimi GSH'i kullanarak bağlanmayı sağlamaktadır. Protein ve DNA sentezinde görev alması da GSH'in önemli işlevlerinden bir diğeri olarak sıralanabilir. Sahip olduğu bu farklı özellikleri sayesinde GSH'in, literatürde farklı uygulamalarda kullanıldığını görmek mümkündür. Bira ve şarap gibi ürünlerde tadı stabilize etme ve antioksidan olarak, gıda ambalajlarında oksidasyonu engelleyici olarak, kozmetik endüstrisinde yaşlanma karşıtı ve reaktif oksijen türlerini azaltıcı olarak, tıpta ise gözle ilgili

hastalıkları koruyucu olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Demirkol ve Ercal, 2011; Schmachet ve ark., 2017; Zagorchev ve ark., 2013).

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan tiyollerin kimyasal yapısı, molekül formülü ve ağırlığı

Kodu	Tiyol	Kimyasal yapısı	Molekül formülü	Molekül ağırlığı
GSH	Glutasyon, γ-L-glutamyl-L-sisteinil glisin		C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	307,32
NAC	N-asetil-L-sistein		C ₅ H ₉ NO ₃ S	163,19
CYS	Sistein		C ₃ H ₇ NO ₂ S	121,15

CYS, kükürt içeren iki aminoasitten biridir ve aminoasitler arasında en ilgi çekici, fonksiyonel olarak çeşitlilik ihtiva edenidir. İnsan vücudunda, CYS diğer bir kükürtlü aminoasit olan metiyoninden sentezlenebildiği için yarı esansiyel aminoasit olarak sınıflandırılmaktadır. CYS, GSH'in öncül maddesidir ve sentezindeki kısıtlayıcı olan aminoasittir. CYS, içerdiği tiyol grubu (-SH) nedeniyle, hem GSH sentezinde proton donörü olarak rol oynar hem de onun biyolojik aktivitesinden sorumludur. Çoğu tiyol gibi, CYS de redoks reaksiyonlarına katılmaktadır ve oksidasyonu ile sistin oluşurken -SH grupları arasında bir disülfid bağı meydana gelmektedir. Bu reaksiyon geri dönüşümlüdür ve disülfid bağının indirgenmesiyle iki CYS molekülü yeniden oluşmaktadır. CYS'nin gıda endüstrisinde hamur şartlandırılmasında, et aroması üretilmesinde, esmerleşmeyi önleyici ajan olarak çok çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır (Piste, 2013; Zagorchev ve ark., 2013). Bu teze konu olan diğer bir tiyol bileşiği NAC, GSH sentezini artırmakta, detoksifikasyonu sağlamakta ve aynı zamanda serbest radikalleri temizleyici olarak direkt etki göstermektedir. Serbest oksijen radikalleri tarafından üretilen hastalıklarda tedavi edici rol oynamaktadır ve güçlü antioksidan özelliği vardır. Besin takviyesi olarak kullanılan NAC, önemli bir sülfidril kaynağıdır. Hücre içi GSH seviyesini artırarak ve mitokondriyal membran depolarizasyonunu azaltarak oksijene bağlı

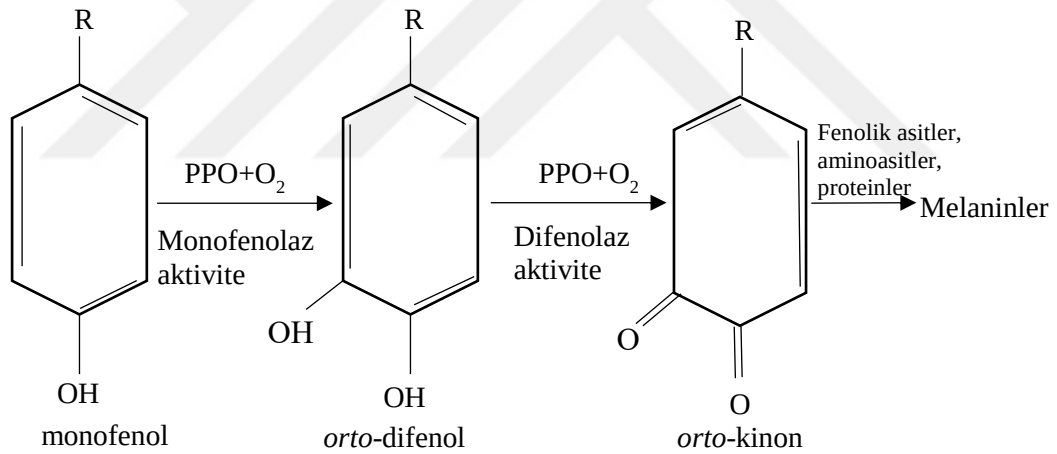
genotoksisiteyi ve hücre ölümünü engelleyebilmektedir. NAC'nin E vitamini ya da esansiyel yağ asitleri ile kombinasyonu, reaktif oksijen türlerini önemli ölçüde azaltmaktadır. Yapılan çalışmalar, NAC'nin kimyasal toksisiteye karşı olan koruyucu etkisinin hem nükleofil hem de -SH donorü olarak ikili rolünden kaynaklandığını göstermektedir. NAC uzun yıllardır kronik bronşit tedavisinde mukolitik ajan olarak da kullanılmaktadır (Demirkol ve Cagri-Mehmetoglu, 2008; Mokhtari ve ark., 2017).

Bu tez kapsamında yukarıda özellikleri sayılan tiyollerin hem esmerleşmeye karşı etkisi hem de antioksidan aktivite ve AA gibi biyoaktif bileşen içeriğine katkısı incelenmiştir. Bunlarla ilgili literatür araştırmalarına aşağıda yer verilmiştir.

2.2. Enzimatik Esmerleşme

Gıda bozulmalarının en önemli sebeplerinden biri olan enzimatik esmerleşme, meyve ve sebzelerin hem besleyici değerlerini hem de duyuşal özelliklerini etkilemektedir (Ioannou ve Ghoul, 2013; Jang ve ark., 2002). Enzimatik esmerleşmeden sorumlu enzim olan PPO, 2 farklı reaksiyonu katalizlemektedir. İlk reaksiyonda monofenollerin difenollere hidroksilasyonu (monofenolaz aktivite), ikincisinde ise difenollerin kinonlara oksidasyonu (difenolaz aktivite) gerçekleşmektedir. Kinonların enzimatik olmayan polimerizasyonu ile de yüksek molekül ağırlıklı pigmentler olan melaninler oluşmakta ve gıdanın rengi kararmaktadır (Şekil 2.1.). Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği Komitesi (NC-IUBMB) tarafından PPO'lar, monofenol monooksigenazlar (E.C. 1.14.18.1) ve kateşol oksidaz (E.C.1.10.3.1) ile lakkazları (E.C.1.10.3.2) içeren, oksijeni kullanarak difenollerin oksidasyonunu katalize edenler olarak alt sınıflara ayrılmışlardır. Spesifik substrat ve etki mekanizmalarına dayanarak yapılan sınıflandırmaya göre ise PPO'lar tirozinazlar, kateşol oksidazlar ve lakkazlar şeklinde gruplandırılmaktadır. Tirozinazlar hem monofenolaz hem de difenolaz aktiviteye sahiptir. Kateşol oksidazlar, *o*-difenollerin *o*-kinonlara oksidasyonunu katalize etmektedir. Lakkazlar ise aromatik bileşikleri geniş spektrumda okside edebilme yeteneğine sahiptir (Taranto ve ark., 2017). Normal şartlarda substratlar vakuollerde, enzim ise

sitoplazmada bulunmaktadır. Ancak kesme, yaşlanma, yarananma, patojenlerle etkileşimler, hasat sonrası depolama gibi işlemler sonucu hücre bütünlüğü bozulduğunda enzim ve substrat bir araya gelerek oksijen varlığında reaksiyon gerçekleşir. PPO enziminin substratları, bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahip aromatik halka içermektedir ve bu substratlara üzüm ve çayda yoğun olarak bulunan kateşin, elma, patates, ayçiçeği, patlıcanda bulunan klorojenik asit, buğdayda bulunan ferulik asit örnek olarak verilebilir. Bazı PPO substratları meyve sebzelerde doğal olarak sentezlenir ve bu gıdalar enzimatik esmerleşmeye çok elverişlidir. Literatürde enzimatik esmerleşmeyi önlemek için yapılan çalışmalar kimyasal (antioksidan, şelat ajanları), fiziksel (haşlama, dondurma), kontrollü atmosfer, yenilebilir film ve kaplama, ısıl işlem uygulanmayan teknolojiler (yüksek hidrostatik basınç, ultrasonikasyon) olarak kategorize edilebilmektedir (Espín ve ark., 1998; Peñalver ve ark., 2005; Queiroz ve ark., 2008).



Şekil 2.1. Esmerleşme reaksiyonunun basitleştirilmiş şeması (Taranto ve ark., 2017)

Enzimatik esmerleşmeyi önlemek için yapılan fiziksel uygulamalardan biri olan haşlama işlemi, suda ve buharda haşlama olarak gruplandırılabilir ve uygulanan tekniğe göre sıcaklık, süre parametreleri değişebilmektedir. Bu uygulama enzim sistemini inaktive ederek oksidasyonu engellemektedir. Ancak, pişmiş tat oluşturması, besinsel ve tekstürel değer kaybına sebep olması dezavantajları olarak sıralanabilir. Dondurarak muhafaza işlemi ile enzim inhibisyonu sağlanarak PPO enziminin sebep olduğu oksidasyon reaksiyonları engellenebilmektedir. Dondurma

esnasında enzimatik reaksiyonlar için uygun olan su aktivitesi düşmekte ve PPO aktivitesini kaybetmektedir (Lavelli ve Caronni, 2010; Queiroz ve ark., 2008). Ancak gıdalar dondurulduğunda, tekstürde geri dönüşümsüz değişimler olduğu için, bu yöntem çözündürmeden kullanılabilecek gıdalarda uygulanabilir bir tekniktir. Oksidasyon reaksiyonları ve PPO'nun aktivitesi için oksijen gereklidir ve depolama atmosferinin oksijen konsantrasyonunu değiştirmek, genellikle enzimatik esmerleşmeyi kontrol etmek için kimyasal muamele ile kombine edilerek uygulanan bir diğer fiziksel yöntemdir. Ortamdaki oksijen, karbondioksit ya da azot gazıyla yer değiştirilerek kalite kaybı olmadan, enzimatik esmerleşmeden korunma sağlanabilmektedir. Yenilebilir film ve kaplamalar, raf ömrünü uzatmak amacıyla gıdalarda kullanılmakta, oksidatif reaksiyonlara ve fiziksel strese karşı iyi bir bariyer oluşturmaktadır. Bu teknoloji, nem ve aroma kaybında düşüş sağlarken, renk değişimi ve gaz transferini de geciktirerek depolama süresince genel kabul edilebilirliği artırmaktadır. Kaplanan ürünün dış ortamla ilişkisi kesildiği için modifiye atmosfer sağlanarak enzimatik esmerleşme geciktirilmektedir. Yine bu uygulama, esmerleşme önleyici ajanlar, koruyucular gibi katkı maddeleri ile de kombine edilebilmektedir. Yüksek hidrostatik basınç, ultrasonikasyon, darbeli elektrik alanı gibi ısı işlem uygulanmayan teknolojilerde de ışık, basınç ya da elektrik gibi uygulamalar ile esmerleşmeye sebep olan enzimlerin inaktivasyonu sağlanabilmektedir. Bu teknolojilerden en çok kullanılan yüksek hidrostatik basınçtır ancak yöntemin daha dirençli olan enzimleri tamamen inaktive etmek yerine mikroorganizmaların inaktivasyonunda daha etkili olduğu görülmüştür. Ultraviyole, gama, görünür ışık gibi farklı kaynakların kullanıldığı uygulamalarda da genel olarak benzer sonuçlar olduğu rapor edilmiştir (Ioannou ve Ghoul, 2013; Olivas ve Barbosa-Cánovas, 2005).

Enzimatik esmerleşmeyi azaltma ya da durdurmada kullanılan metotlar arasında en basit ve uygulanabilir olanı kimyasal ajanlar ile muameledir. Özellikle sülfite uygulamasının enzim aktivitesini inhibe edici en etkili kimyasal olduğu bilinmektedir. Ancak, FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi), sülfitletlerin etlerde, B1 vitamin kaynağı olarak tanımlanan gıdalarda, tüketiciye çiğ olarak servis edilen ya da satılan meyve ve sebzelerde kullanımını yasaklamıştır (FDA, 2018). Bu nedenle

araştırmacılar, farklı PPO inhibitörleri üzerinde çalışmaya yoğunlaşmışlardır (Iyidoğan ve Bayindirli, 2004; Rocculi ve ark., 2007; Son ve ark., 2000; Tsouvaltzis ve Brecht, 2017).

Kullanılan kimyasal ajanlar, etki mekanizmalarına göre şelatlayıcılar, asitliği artıranlar, sertliği artıranlar ve antioksidanlar olarak gruplandırılmaktadır. PPO enzimi, aktivite gösterebilmek için bakır iyonuna ihtiyaç duyar. Bu nedenle, ortamda iki değerlikli katyonları bağlayabilen bir şelatlayıcı ajanın olması PPO aktivitesinin azalmasını sağlamaktadır. Kojik asit, sitrik asit, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) şelatlayıcı ajanlara örnek olarak verilebilir. Asitliği düzenleyici ajanlar ise, ortam asitliğini artırarak PPO'nun aktivitesinin azaltılmasını ya da pH'ı 3'ün altına indirerek inhibisyonunu amaçlamaktadır. En sık kullanılanları sitrik asit, eritorbik asit ve AA'dır. Kalsiyum tuzları (kalsiyum laktat, kalsiyum klorit, kalsiyum askorbat), hücre duvarını güçlendirmede kullanılan en iyi ajanlardır. Bu uygulama ile hücre duvarlarının tahrip olması ve PPO'nun vakuollerdeki polifenollerle teması engellenmektedir. Antioksidanlar, oksijen ile reaksiyona girerek esmerleşmenin başlamasını engellerken aynı zamanda ara ürünlerle de tepkimeye girerek zincir reaksiyonunu kırmakta ve melaninlerin oluşumunu önlemektedir. Antioksidanların etkileri pH, su aktivitesi, sıcaklık, ışık ve atmosfer kompozisyonu gibi çevresel faktörlere bağlıdır. Literatürde en çok rapor edilenler, heksilrezorsinol, NAC, CYS, AA ve GSH'dir. Gıda endüstrisinde kullanımı en yaygın olan ise AA'dır (Ioannou ve Ghoul, 2013; Oms-Oliu ve ark., 2006).

Farklı inhibitörler arasında tiyol grubuna ait GSH, CYS ve NAC, enzimatik esmerleşmeyi önlemede oldukça etkili bileşiklerdir. CYS gibi tiyollerin inhibisyon mekanizması kompleks olmakla birlikte araştırmalarda farklı hipotezler dile getirilmektedir. Enzimatik esmerleşmenin önlenmesi için temel olarak öne sürülen 3 mekanizma vardır: Bunlar, esmerleşme reaksiyonunda ara bileşik olan kinonlara karşı nükleofilik aktivite göstererek renksiz bileşik oluşturması, PPO'ya karşı inhibisyon etkisi ve kinonları polifenollere indirgeme yeteneği olarak sıralanmaktadır. İlk mekanizma Ali ve ark. (2016) tarafından yapılan marulun esmerleşmesi üzerine sülfütlü bileşikler (sodyum bisülfid ve sodyum sülfid), CYS, AA

ve sitrik asitin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yer almaktadır. İncelenen esmerleşme karşıtı ajanların mekanizmasını açıklayabilmek için maruldan elde edilen enzim ekstraktı ile kateşol, kinonların oluşması için 60 s boyunca reaksiyona sokulmuş, daha sonra ortama inhibitör çözeltiler eklenmiştir. Sülfütlü bileşikler, düşük konsantrasyonda dahi (%0,5) oluşan rengi anında indirgerken CYS'nin etkisi konsantrasyona bağlı olarak değişmiştir. Konsantrasyonun yüksek olduğu ortamda ($\geq 1,0$) oluşan renk kaybolmuş ancak reaksiyon 120 saniye sonra başlamıştır. Bu da CYS'nin kinonlarla reaksiyona girdiğini ancak sülfütlere göre daha yavaş gerçekleştiğini göstermektedir. Düşük konsantrasyonda ise (%0,5) CYS, PPO'ya karşı rekabetçi inhibitör gibi davranmıştır. Yine aynı çalışmada inhibitör eklenmiş ve eklenmemiş reaksiyon karışımlarının UV-VIS spektrumları incelenmiştir. Reaksiyon karışımına CYS eklendiğinde ortamda kinon ürününe ait pik tamamen kaybolmuş ve sadece kateşole ait pik görülmüştür. Bu da ortamdaki kinonun ya kateşole dönüştüğünü ya da renksiz bileşikler oluşturduğunu açıklamaktadır.

İkinci mekanizmaya göre PPO, CYS tarafından direk inhibe edilmektedir. Çünkü sahip olduğu -SH grubu enzimin aktif kısmında bulunan bakıra karşı güçlü affinite göstererek enzimi inhibe etmektedir. Buna ek olarak, enzimatik oksidasyon sonucu oluşan kinonlara bağlanan CYS, renksiz CYS-kinon bileşikler oluşturmaktadır (yukarıda mekanizması açıklanmıştır). Açığa çıkan CYS-kinon yapısının da PPO'ya karşı bir inhibitör özelliği gösterdiği bilinmektedir (Nicolas ve ark., 1994). Altunkaya ve Gökmen (2008) tarafından yapılan çalışmada marulun enzimatik esmerleşmesi üzerine AA, CYS, okzalik asit ve sitrik asit inhibitörlerinin etkisi incelenmiştir. CYS'nin ve AA'nın yarışmalı (substrat yerine bağlanma), okzalik asit ve sitrik asitin ise yarışmasız (enzim-substrat kompleksine bağlanma) PPO inhibitörleri olduğu, ayrıca en etkili olanın CYS olduğu rapor edilmiştir.

Üçüncü mekanizma ise yine oksidasyon sonucu oluşan CYS-kinon bileşikleriyle ilişkilidir. Oluşan CYS-kinon bileşikler ortamdaki kinonlarla enzimatik olmayan reaksiyona girerek fenollerin rejenerasyonunu sağlamaktadır. Bu mekanizma konsantrasyona bağlıdır. Eğer CYS:fenol oranı birin üzerindeyse ortamdaki fenollerin tümü renksiz CYS-kinon bileşiklerine dönüşür. Ancak eğer oran birin

altındaysa bu sefer ortamda yüksek oranda bulunan kinonlar, CYS-kinon bileşiklerini ile reaksiyona girer ve koyu renkli pigmentler oluşur. Böylelikle fenollerin degradasyonu önlenirken aynı zamanda daha koyu renkli ürün elde edilmiş olur (Richard-Forget ve ark., 1992). Özellikle antioksidan olarak bilinen fenollerin degradasyonunun önlenmesi beslenme açısından önemlidir, ancak bu durumda daha koyu renk oluşumu dikkate alınmalıdır. Yukarıdaki mekanizmalar toplu olarak incelenirse, tiyollerin enzimatik esmerleşmeyi önleme reaksiyonlarının karmaşık olduğu ve inhibitör konsantrasyonuna bağımlı olduğu söylenebilir.

2.3. Enzimatik Esmerleşmeyi Önlemek için Tiyollerle Yapılan Çalışmalar

Meyve ve sebzelerin enzimatik esmerleşmeye olan hassasiyeti, duyu özelliklerinin ve kalite parametrelerinin korunması gibi sebeplerden dolayı özellikle taze kesilmiş gıdalar için bazı koruyucu uygulamalara ihtiyaç vardır. Bu konuda tiyollerin enzimatik esmerleşmeyi önleme mekanizmaları Bölüm 2.2.'de açıklanmıştır. Bu kısımda, patates ve diğer gıdalar üzerinde tiyollerin etkisi ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar özetlenmiştir.

Enzimatik esmerleşmenin tiyoller tarafından engellenmesinin araştırıldığı ilk çalışmalardan biri Friedman ve Bautista'nın (1995) yaptığı çalışmadır. Bu çalışmada PPO'nun inhibisyonuna karşı sülfid yerine kullanılabilecek sülfidril bileşiklerinin (tiyoller) dehidre patates (süspansiyon) varlığında ve yokluğunda etkisi belirlenmiştir. GSH, CYS, NAC, sodyum sülfid ve bazı diğer tiyoller için PPO aktivitesini %50 azaltacak konsantrasyonlar (I_{50} değerleri) tespit edilmiştir. Çalışmada sadece enzim varlığında tiyollerin I_{50} değerleri, patates süspansiyonu içerisinde gösterdiği değerlerden çok daha düşük olmuştur. Ayrıca tiyollerin etkinliği de iki ortam arasında farklılık göstermiştir. Bunun muhtemel sebeplerinin heterojen patates süspansiyonundan dolayı substratların ve inhibitörlerin PPO'ya karşı yavaş difüzyonu, PPO'nun nişasta granüllerine bağlanması, tiyollerle karbonhidratlar ve dehidroaskorbik asit (DHA) arasındaki reaksiyon olabileceği belirtilmiştir. Ancak CYS, NAC ve GSH'in PPO inhibisyonunu önemli derecede artırdığı rapor edilmiştir.

Gunes ve Lee (1997), CYS (%0,5), AA (%5,0), potasyum metabisülfid (%0,1), CYS-sitrik asit (%0,5 + %2,0) ile taze kesilmiş patatesleri muamele etmişlerdir. Patatesler 5 dakika boyunca çözeltilere daldırılmış ve 13 gün depolanmıştır. Renk değerleri sonuçlarına göre CYS-sitrik asit karışımı en iyi inhibitör etkisi gösterirken, AA ve sülfid ile muamele edilen örneklerin L* değerlerinde önemli bir değişiklik olmamış ancak sadece CYS çözeltisi kullanımı kararmaya sebep olmuştur.

Son ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, taze kesilmiş elma dilimleri 36 farklı bileşik ile muamele edilmiş ve parlaklık değerlerindeki değişim (ΔL) incelenmiştir. Esmerleşme karşıtı ajanlar karboksilik asitler, AA türevleri, sülfür içeren aminoasitler, fenolik asitler ve diğerleri olarak 5 gruba ayrılmıştır. Elma dilimleri 3 dakika boyunca farklı konsantrasyonlarda hazırlanan solüsyonlarda bekletilmiş ve oda sıcaklığında 3 saat depoladıktan sonra L* değerleri ölçülmüştür. Tiyol çözeltilerinden CYS, NAC ve GSH'in %1,0 konsantrasyonları ile muamele edilen örneklerde ΔL değerlerinde hiçbir değişiklik olmazken referans olarak kullanılan AA çözeltisine daldırılan örneklerin ΔL değerleri artış göstermiştir. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar, esmerleşmeye karşı etkili olan her bileşiğin güvenlik, maliyet ve ulaşılabilirliği açısından değerlendirildiğinde farklı güçlü ve zayıf yönlerinin olduğunu ancak okzalik asidin pratikte kullanım için güçlü potansiyele sahip olabileceğini belirtmişlerdir.

Özoğlu ve Bayındırlı (2002), bulanık elma suyuna AA, CYS, izoaskorbik asit, sorbik asit, benzoik asit, sinamik asit ve β -siklodekstrin ilave etmiş ve oda sıcaklığında 25 saat boyunca renk, A_{420} ve PPO enzim aktivitesi değerlerini incelemişlerdir. CYS'nin 1-1,8 mM konsantrasyonlarında inhibisyon için oldukça etkili olduğunu ancak daha düşük konsantrasyonda (0,3 mM) fenol rejenerasyonu sebebiyle koyu renk oluşumunu tetiklediğini belirlemişlerdir. Yüksek konsantrasyondaki CYS, istenmeyen kokuya sebep olduğu için düşük konsantrasyonda diğer ajanlarla kombinasyonunun yapılabileceğini rapor etmişlerdir. Bu nedenlerle çalışmada ayrıca yüzey-yanıt yöntemi kullanılmış ve AA (0,49 mM)-CYS (0,42 mM)-sinamik asit (0,05 mM) kombinasyonunun daha iyi sonuçlar verdiği ifade edilmiştir.

Ibrahim ve ark. (2004), kıyılmış taze lahananın depolama kalitesine esmerleşme karşıtı ajanların kullanılmasının etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada lahanalar, %1,0 AA, %0,1 sodyum metabisülfid, %0,5 CYS+%0,1 sitrik asit ve %0,1 asetik asit çözeltilerine 30 saniye daldırılmış ve renk ile duyuşal özelliklerindeki değişim 0°C’de 10 günlük depolama süresince incelenmiştir. En iyi sonucun %0,1 sodyum metabisülfid çözeltisiyle alındığı, ardından %0,1 asetik asit çözeltisi geldiği, AA ile sitrik asit+CYS çözeltisinin depolama kalitesine karşı bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir.

Oms-Oliu ve ark. (2006), taze kesilmiş armut dilimlerini NAC (%0-3), GSH (%0-3), AA (%0-3) ve 4-hekzilresorkinol (%0-2) çözeltilerine ayrı ayrı ve kombine şekilde 2 dakika boyunca daldırmışlar ve 28 gün boyunca 4°C’de depolamışlardır. Yapılan renk, PPO aktivitesi ve sertlik analizleri sonuçlarına göre, taze kesilmiş armut dilimlerini enzimatik esmerleşmeye karşı 28 gün boyunca koruyan minimum konsantrasyondaki çözelti %0,75 oranındaki NAC olmuştur. Ayrıca, 4-hekzilresorkinol ve AA çözeltileri depolama boyunca esmerleşmeyi tamamen önleyemezken, %0,75 oranındaki GSH çözeltisi 21 gün boyunca koruma sağlayabilmiştir. %1 NAC ve %1 GSH kombine edildiğinde ise daha etkili inhibisyon görülmüş ancak armutların sertliğinde hafif azalma meydana geldiği belirtilmiştir.

Rocculi ve ark. (2007), enzimatik esmerleşmeyi önlemede etkili ajanlardan olan sitrik asit, AA ve CYS’ni, patatesin kararmasını önlemek için kullanmışlar ve %0,5, %1,0 ve %2,0 olacak şekilde 3 farklı konsantrasyonda hazırladıkları çözeltilere, patatesleri oda sıcaklığında 3 dakika süre ile daldırılmışlardır. Yirmi dört saatin sonunda bütün çözeltiler kontrolden daha yüksek L* değerine sahip olurken çözelti konsantrasyonu arttıkça L* değerlerinde artış görülmüştür. CYS çözeltilerine daldırılan örnekler taze örneklerle çok yakın sonuç verirken, AA ve sitrik asit çözeltilerine daldırılan örneklerde aşırı beyazlama olduğu tespit edilmiştir.

Altunkaya ve Gökmen (2008), taze maruldan PPO enzimi izolerek inhibitör madde olarak AA, CYS, sitrik asit, okzalik asit ile muamele etmişlerdir. Çalışmada ayrıca,

bu çözeltilerin marulun antioksidan aktivite ve TFM'ye etkisi 6 saat boyunca 4°C ve 25°C'de incelenmiştir. PPO aktivitesine karşı en etkili bileşiğin CYS olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite ve TFM 6 saatlik depolama süresince tüm gruplarda azalırken, 4°C'de saklanan örneklerde değerlerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. AA ve CYS'nin, antioksidan aktive ve fenolik madde miktarını artırdığı, sitrik ve okzalik asitin ise kontrol örnekleriyle benzer sonuçlara sahip olduğu belirtilmiştir.

Alandes ve ark. (2009), taze kesilmiş elma, armut ve kavun dilimlerini farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları NAC, GSH, kalsiyum laktat ve malik asit kombinasyonuna daldırmışlardır. Meyveler 10°C sıcaklıkta 1 dakika süreyle çözeltilere daldırılmış ve 4°C'de 4 hafta depolanmışlardır. Renk, tekstür, mikrobiyal gelişim, asitlik analizi gerçekleştirilen meyvelerden elma ve armutta depolama boyunca L* değerlerinde azalma görülmüş ancak antioksidan çözeltisiyle muamele edilen ve edilmeyen grup arasında fark görülmemiştir. a* değerleri ise her iki meyvenin kontrol grubunda daha yüksek olmuştur ki bu da muamele edilen örneklerin esmerleşmesinin engellendiğini göstermektedir. PPO aktivitesi düşük olan kavunda, iki grup arasında ve depolama süresinde renkte önemli değişiklik olmamıştır. Diğer sonuçlar da değerlendirildiğinde, araştırmacılar bu kombinasyonun taze kesilmiş meyvelerin kalitesinin korunarak raf ömrünün artırılmasında kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Ghidelli ve ark. (2013), enginarın ekstrakt ve taze kesilmiş dilimlerinde, antioksidanların esmerleşmeye karşı etkisini incelemiştir. AA, sitrik asit, perasetik asit, kalsiyum klorit, siklodekstrin, CYS, hekzametafosfat ve 4-hekzilresorkinolü farklı konsantrasyonlarda hazırlamış ve örneklerle 3 dakika boyunca muamele etmiştir. Ekstraktların 450 nm absorpsanları ve renk değerlerine göre en etkili olan ajanlar, AA, CYS, 4-hekzilresorkinol ve sitrik asit olmuştur. Çalışmanın ilk aşamasında enginar ekstraktlarında etkili olan bu ajanlar, ikinci aşamasında taze kesilmiş enginar dilimlerinde kullanılmış ve renk değerleri incelenmiştir. Ayrıca panelistler tarafından görseelliğin değerlendirildiği bir duyusal analiz uygulanmıştır. Kontrol, AA ve 4-hekzilresorkinol gruplarında depolamadan 1 gün sonra dahi

duyusal özellikler limitin altında kalırken %0,5 ve üzeri konsantrasyondaki CYS çözeltileriyle muamele edilen örnekler raf ömrünü 4 güne kadar artırmıştır.

Xia (2013), mantarların kurutulması sırasında oluşan esmerleşme reaksiyonunun GSH muamelesi ile engellenmesi üzerine yaptığı çalışmasında, öncelikle mantardan ekstrakte ettiği PPO enzimini farklı konsantrasyonlarda GSH ile reaksiyona sokmuştur. PPO aktivitesinin engellendiği en düşük konsantrasyon %0,08 olarak belirlenmiş bunun üzerine dilimlenen mantarları bu konsantrasyondaki GSH çözeltisine 5 dakika süre ile daldırmış ve farklı sıcaklıklardaki hava ile kurutmuştur. Kontrol örneklerinin L* değerleri uygulanan sıcaklık arttıkça düşmüş, buna karşın GSH ile muamele edilenlerde bir değişiklik olmamış ve mantarın baştaki renginin korunduğu bildirilmiştir.

Wu (2014), üzüm suyunun enzimatik esmerleşmesi üzerine GSH'in etkisini incelemiştir. Üzüm suyundan ekstrakte edilen PPO enzimi, farklı konsantrasyonlardaki (%0,01-0,06) GSH çözeltisi ile muamele edilmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında depolandıktan sonra enzim aktivitesine bakılmıştır. PPO aktivitesi %0,04 konsantrasyondaki GSH muamelesi ile %99,4 oranında inaktive edilmiştir. Çalışmanın sonraki aşamasında bu konsantrasyondaki GSH, taze sıkılmış üzüm suyuna eklenmiş ve 6 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Depolama sonunda kontrol örneğinin L* değeri %13,51 artarken GSH ile muamele edilen üzüm suyunda artış yalnızca %1,81 olarak rapor edilmiştir.

Colantuono ve ark. (2015), çalışmalarında taze kesilmiş şeftalinin kalite özelliklerini korumak için bazı antioksidan bileşikler kullanmışlardır. Şeftaliler dilimlendikten sonra AA (%2), CYS (%0,5), kalsiyum laktat (%1) ve farklı kombinasyonlardaki çözeltilere 3 dakika süre ile daldırılmış ve 8 gün boyunca 5°C'de depolanmıştır. Depolama boyunca şeftalilerin kimyasal, fiziksel, enzimatik ve duyusal özellikleri incelenmiştir. Bütün muameleler arasında, sadece CYS kalite özellikleri üzerine pozitif etki etmiştir. Esmerleşme ve PPO aktivitesi, CYS uygulanan örnekte diğerlerine göre daha düşük bulunmuştur. AA uygulaması, C vitamini içeriğini artırırken renk değişimi tüm örneklerde oldukça az görülmüştür. Sonuç olarak

CYS'nin şeftalilerinin soğuk depolanmasında görsel kaliteyi korumak için faydalı olabileceği rapor edilmiştir.

Ali ve ark. (2016), CYS'nin farklı konsantrasyonlarının, Çin ağacı meyvesinde antioksidan aktivite, lipid peroksidasyonu ve esmerleşme üzerine etkisini incelemişlerdir. Meyveler %0, %0,25, %0,50, %0,75 ve %1,0 oranlarında CYS çözeltilerine 5 dakika süreyle daldırılmış ve 5°C'de 28 gün boyunca depolanmıştır. TFM, DPPH radikal süpürme aktivitesi, AA içeriği, PPO enzim aktivitesi, malondialdehit miktarı, peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi 7 günlük periyotlarla analiz edilmiştir. Depolama ile birlikte antioksidan aktivite, fenolik madde, AA miktarı, CAT ve SOD aktiviteleri tüm gruplarda azalırken, PPO ve POD aktivitesi artış göstermiştir. Ancak CYS ile muamele edilen gruplarda daha yüksek antioksidan aktivite ve daha düşük lipid oksidasyonu ile esmerleşme olduğu bildirilmiş, en uygun çözeltinin de %0,25 CYS çözeltisi olduğu ifade edilmiştir.

Ali ve ark. (2016), patatesteki enzimatik esmerleşmenin önlenmesinde yapısal farklılıkları olan 5 aminoasidin etkisini araştırmışlardır. Glisin, valin, metiyonin ve fenilalaninin yüksek konsantrasyonları (glisin için ≥ 100 mM, diğerleri için ≥ 1.0 M) patates esmerleşmesini başlatırken düşük konsantrasyonları esmerleşmeyi azaltıcı etki göstermiştir. Glisinin kinonlar ile kondensasyonu sonucu açığa çıkan bileşik renkli olduğu için yüksek oranda glisin renkte artışa sebep olmuştur. Ancak, kinonlarla reaksiyona girerek renksiz bileşikler oluşturan CYS, diğer dört aminoasitten farklı olarak konsantrasyonu arttıkça esmerleşmeyi azaltmıştır.

Li ve ark. (2017) yaptıkları çalışmalarında, taze kesilmiş patatese CYS, sitrik asit, AA ve ultrasonikasyon uygulayarak esmerleşmeyi önlemeyi amaçlamışlardır. %0,05 CYS, %0,20 sitrik asit, %0,08 AA ve 120 W gücündeki ultrasonikasyon, esmerleşmeyi önleyen optimum konsantrasyonlar olarak belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında yüzey yanıt yönteminde bu konsantrasyonlar baz alınarak, en iyi kombinasyonun %0,06 CYS, %0,19 sitrik asit, %0,09 AA ve 130 W ultrasonikasyon

olduğu tespit edilmiştir. Bu kombinasyon ile 15 günlük depolama sonunda, PPO aktivitesi kontrol örneğinin %64,40'ı olduğu rapor edilmiştir.

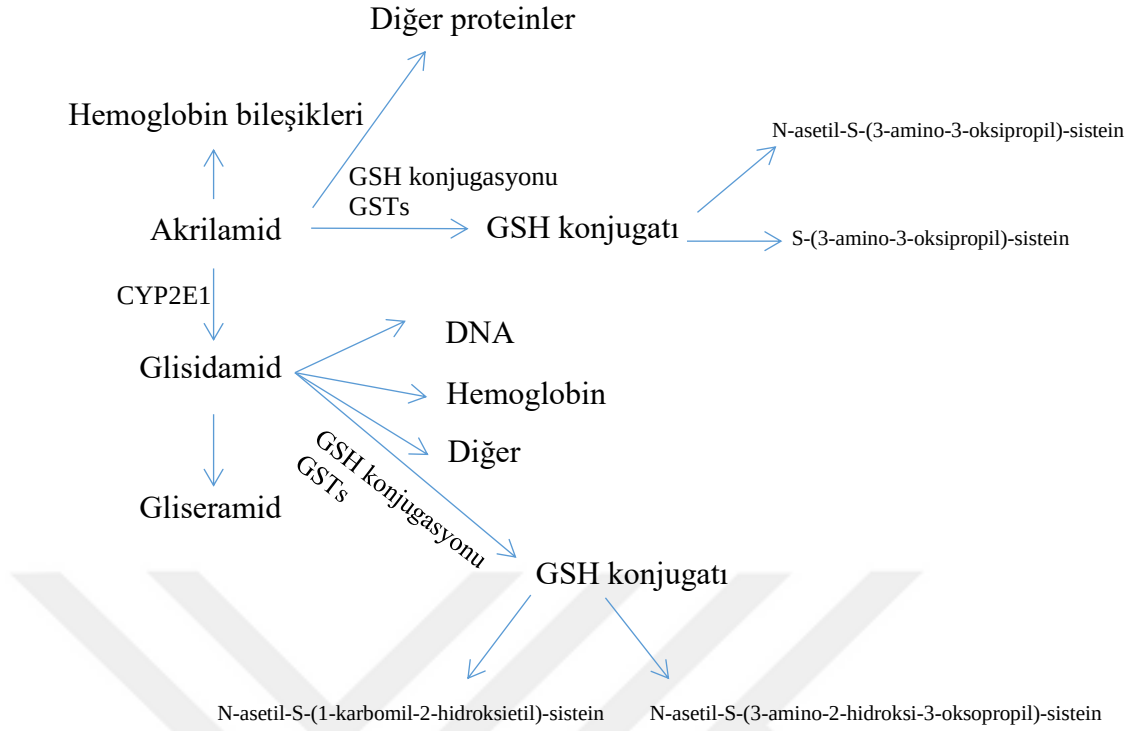
Ali ve ark. (2018), Çin ağacı meyvesine %0,25 metiyonin (MN) ve %0,25 CYS'yi ayrı ayrı ve birlikte uygulayarak kontrollü atmosferde (%1 O₂ ve %5 CO₂) 28 gün boyunca depolamışlardır. Esmerleşmeyi önlemede kontrollü atmosfer şartlarında yalnızca CYS, yalnızca metiyonin ve CYS + metiyoninden daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca CYS, daha yüksek AA, TFM, DPPH aktivitesi, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesi göstermiştir.

2.4. Enzimatik Olmayan Esmerleşme ve Akrilamid

Akrilamid suda çözünürlüğü yüksek olan ve diğer organik moleküllerle orta derecede reaktivite gösteren bir bileşiktir. Kâğıt, boya, plastik üretimi gibi birçok endüstriyel alanda ve suların arıtılmasında kullanılan akrilamid, 1950'lerden beri araştırılmaktadır. Akrilamid monomerlerinin kullanımı ve solunmasıyla insan sağlığına zararı arasındaki ilişki ilk olarak 1960'larda keşfedilmeye başlanmıştır. Yüksek oranda akrilamid monomerlerine kronik olarak maruz kalan bireylerde, kas güçsüzlüğü ve reflekslerde kayıp gibi nerotoksik etkiler görülmüştür. Bunun üzerine, 1970 ve 1980'lerde temas ya da sindirim yoluyla akrilamide maruziyet, farelerde kemik iliğinde kromozom bozukluklarına ve sıçanlarda tumor oluşumuna neden olduğu belirlenmiş ve akrilamidin kanserojen madde olabileceği ihtimali ortaya çıkmıştır. Ayrıca memeli hücrelerinde kimyasal modifikasyon sonucu, mutajen ve karsinojen potansiyeli daha yüksek olan glisidamide dönüştüğü de araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır. 1997 yılında İsveç'te Hallandsas tüneli yapımında kaza ile sulara akrilamid karışması sonrasında bölgedeki balık ölümlerinin artışı, tünel işçilerindeki nörotoksik şikâyetler, araştırmacıları akrilamid ile ilgili çalışmaların yapılmasına yönlendirmiştir. Ancak beklemeyen şekilde, çalışma alanlarında akrilamide maruz kalmayan bireylerde de akrilamid türevi bileşiklerin tespit edilmesi, akrilamidin farklı bir kaynağı olduğunun göstergesi olmuştur. 2002 yılında, yüksek karbonhidrat içeriğine sahip olan ve yüksek sıcaklıkta pişirilen gıdalarda,

düşük ancak tespit edilebilir akrilamid varlığı keşfedilmiştir (Akgün ve Arıcı, 2018; Bethke ve Bussan, 2013; Tareke ve ark., 2002).

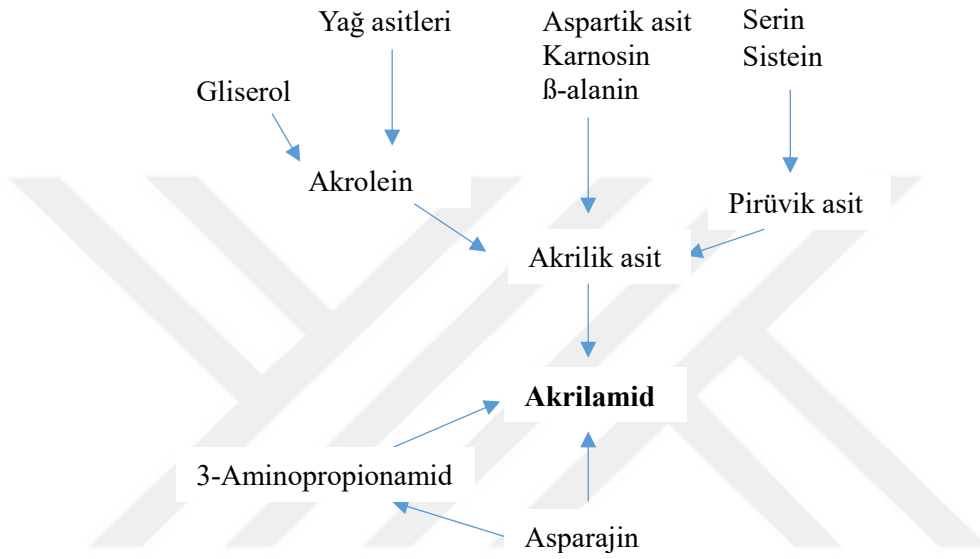
Akrilamid metabolizması, yıllardır insanlar, sıçanlar ve fareler üzerinde yapılan toksikokinetik çalışmalar ile incelenmektedir. Akrilamid vücuda alındıktan sonra hızlıca absorbe edilmekte ve tüm vücuda kolayca dağılmaktadır. Karaciğer, kalp, beyin, böbrekler gibi birçok organda bulunabilen akrilamid, plasenta ve anne sütü aracılığıyla fetüs ve yenidoğanlara da kolayca transfer olabilmektedir. Akrilamid, CYP2E1 enzimi aracılığıyla ya glisidamide okside olmakta ya da GSH ile konjugasyonu gerçekleştirmektedir. Hem akrilamid hem de glisidamid hemoglobin, serum albümin, DNA veya enzimlere bağlanabilmektedir. Glisidamid, DNA ve proteinlere karşı akrilamiddan daha reaktiftir. Glisidamid ve akrilamidin GSH konjugatları merkapturik asit konjugatlarına dönüşmekte ve bu bileşikler idrarla atılmaktadır (Şekil 2.2.). İnsanlardaki toksikokinetik çalışmalar, absorbe edilen akrilamidin %60'ının idrarla GSH-konjugatı şeklinde atıldığını ve alınan dozun sadece %4,4'ünün akrilamid şeklinde kaldığını göstermektedir. Kandaki akrilamid ve glisidamid ile hemoglobin arasında oluşan bileşikler ve idrarda merkapturik asit metabolitleri akrilamid maruziyetinin biyomarkerları olarak kullanılmaktadır. Hemoglobin bileşikleri uzun dönem maruziyetin (son 4 ay), merkapturik asit bileşikleri ise kısa dönem (birkaç saatten birkaç güne kadar) maruziyetin göstergesidir (Capuano ve Fogliano, 2011; Friedman, 2015). Akrilamid, insanlarda kanıtlanmış nörotoksik etkileri ve kemirgenlerde kanıtlanmış nörotoksik ve kanserojen etkisi ile Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından “insan için olası kanserojen” olarak sınıflandırılmıştır. Bunun üzerine Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, Kanada, Avrupa Birliği ülkelerinde akrilamid “ciddi problem” olarak ele alınmıştır (Serpen, 2010).



Şekil 2.2. Akrilamid metabolizması. GSTs: glutatyon-S-transferaz (Capuano ve Fogliano, 2011).

Araştırmalar, akrilamidin farklı oluşum yolları olmakla birlikte, temel mekanizma olarak özellikle asparajin varlığında Maillard reaksiyonu sırasında oluştuğunu göstermektedir. Akrilamidin Maillard reaksiyonuna bağlı oluşumu, literatürde farklı mekanizmalarla açıklanmaktadır. Parker ve ark. (2012), çalışmasında akrilamid mekanizmasını genel aminoasit ve asparajine bağlı olarak 2 temel oluşum yoluna ayırmıştır. Genel aminoasit reaksiyonuna göre, herhangi bir aminoasit indirgen bir şeker ile reaksiyona girerek Schiff bazı oluşturmaktadır. Bu Schiff bazı, yeniden düzenlenerek Amadori bileşiği meydana gelmektedir. Amadori bileşiği, dehidrasyon ve parçalanma sonucu oldukça yüksek reaktiviteye sahip dikarbonil veya hidroksikarbonil ara bileşiklerini oluşturmaktadır. Bu ara bileşikler, bir aminoasitle birleşerek renk ve aromada değişikliğe yol açan Maillard reaksiyon ürünlerini meydana getirmektedir. Ancak eğer buradaki aminoasit asparajin ise bir seri reaksiyon sonucu akrilamid açığa çıkmaktadır. Direkt asparajine bağlı olan yolunda ise, asparajin ve indirgen şeker Schiff bazını oluşturmaktadır. Bu Schiff bazı, moleküller arası siklozasyon ve dekarboksilasyon ile dekarboksillenmiş amadori ürünlerine çevrilmektedir. Bu ürün, iki farklı yoldan akrilamid meydana

aspartik asit, karnosin ve beta-alaninin akrilik aside çevrilmesi ve akrilik asitin aminasyonu ile ortamdaki akrilamid varlığı artabilmektedir. Serin veya CYS'nin dehidrasyon ve desülfidasyonu sonucu pürivik asit oluşmakta ve pürivik asitin indirgenmesi ile de laktik asit açığa çıkmaktadır. Laktik asit dehidrasyonu sonucu akrilik asit oluşmakta ve yine son ürün akrilamid meydana gelmektedir (Şekil 2.4.) (Yaylayan ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2005).



Şekil 2.4. Maillard reaksiyon sistemine alternatif akrilamid oluşum yolları (Yaylayan, 2005).

Patates, akrilamid oluşumuna oldukça yatkın bir üründür. Hem akrilamidin öncü maddelerini (asparajin ve indirgen şeker) içermekte hem de akrilamid ile ilişkili olan Maillard reaksiyonunun olduğu yüksek sıcaklıklarda pişirilmektedir. Bu nedenle patatesteki akrilamid oluşumunu engellemek için kullanılacak tüm potansiyel stratejiler akrilamid oluşumuna sebep olan öncül maddelerinin azaltılması veya Maillard reaksiyonun engellenmesi olarak iki grupta toplanabilir. Ancak, Maillard oluşumu patates ürünlerinde renk ve tat maddelerinin meydana gelmesi için gereklidir bu nedenle araştırmacılar son ürün kalitesini bozmadan akrilamidi azaltma stratejileri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Hammadde seçimi, akrilamid oluşumunu engellemek ya da azaltmak için dikkat edilecek noktaların başında gelmektedir. Kızartmada kullanılan patatesin cinsine, yetiştiği koşullara, iklim şartlarına ve hasat zamanına göre bileşenlerin miktarı değişmektedir. Patatesin asparajin içeriği indirgen

şeker içeriğine göre nispeten daha fazladır. Bu nedenle akrilamid oluşumunda sınırlayıcı olan faktör indirgen şeker miktarıdır. Çalışmalarda düşük şeker içerikli, yüksek kuru maddeli ve orta derecede büyüklüğe sahip patateslerin kızartmalık olarak daha uygun olduğu rapor edilmektedir (Medeiros Vinci ve ark., 2012; Serpen ve Gökmen, 2009; Shojaee-Aliabadi ve ark., 2013).

Akrilamid oluşumunu etkileyen önemli parametlerden biri de patatesin depolama şartlarıdır. Hasattan sonra patatesler, tüm yıl boyunca ihtiyacı karşılamak için uzun süreli depolanmaktadır. Depolama sırasında patatesteki çimlenmenin engellenmesi önemlidir. Bunun için alınacak önlemlerden biri çimlenmeyi engelleyen kimyasal ajanların kullanımı olabilir, ama bu çok tercih edilen bir yöntem değildir. Diğer yöntem ise düşük sıcaklıkta depolamadır. Ancak patates 8°C ve altında depolandığında indirgen şeker miktarında ciddi artış olmakta, bu da kızartma sırasında akrilamid miktarını artırmaktadır. Bu nedenle hasat edilen patateslere uygun depolama sıcaklığının uygulanması akrilamid azaltma stratejileri arasında yer almaktadır (Gökmen ve ark., 2007; Grob ve ark., 2003). Kızartma sırasındaki sıcaklık, süre ve ürün/yağ oranı, akrilamid miktarını etkileyen önemli proses şartları olarak sıralanabilir. Yüksek sıcaklık ve süre, patatesteki kızartma sırasında koyu renkli ürünler elde edilmesine ve akrilamid miktarının da artmasına neden olmaktadır. Ancak patatesler düşük sıcaklıkta kızartıldığında (140°C ve altında) kızartma süresi uzamakta ve yağ miktarı artmaktadır. Bu nedenle, hem kalitenin korunması hem de akrilamid miktarının azaltılması için uygun sıcaklık ve pişirme süresinin belirlenmesi gerekmektedir. Optimum ürün/yağ oranının belirlenmesi de önemli olan kriterlerden bir diğeridir (Fiselier ve ark., 2006; Grob ve ark., 2003; Romani ve ark., 2009).

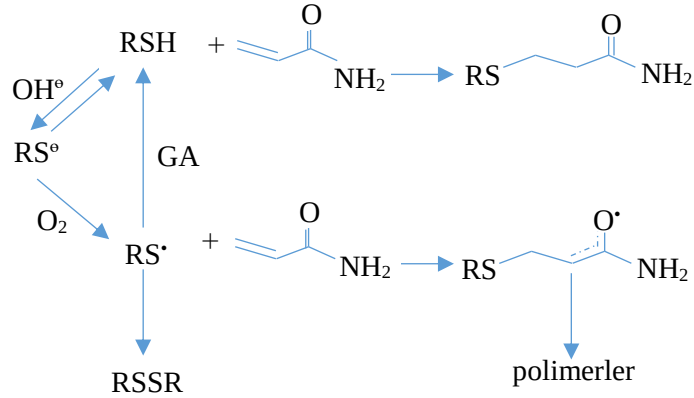
Hammadde seçimi, depolama şartları, kızartma sıcaklığı ve süresi gibi faktörlerle akrilamid miktarında azaltma sağlanabileceği gibi kızartma öncesi patatesleri farklı katkılarla muamele etmek engelleme stratejilerinde kullanılan bir diğer yaklaşımdır. Bu konuda literatürde farklı çalışmalar bulunmaktadır. Organik asitler, iyonlar, aminoasitler, antioksidanlar ve asparajinaz enzimi kullanılan katkıları arasında öne çıkanlardır ve herbiri farklı mekanizmalarla açıklanmaktadır. Organik asitler, düşük pH'da asparajinin amino grubunu protonlamakta ve asparajinin bir karbonil bileşiği

ile reaksiyona girmesini engellemektedir. Böylelikle anahtar ara bileşik olan Schiff bazı oluşmamakta, bu da akrilamid açığa çıkmasını engellemektedir (Mestdagh ve ark., 2008). Bir ve iki değerlikli katyonlar ile muamele (Na^+ ve Ca^{2+}) akrilamid oluşumunu etkili bir şekilde azaltmaktadır. Bu iyonlar asparajine bağlanmakta ve yine Schiff bazı oluşumunu engellemektedir (Gökmen ve Şenyuva, 2007; Ou ve ark., 2008). Glisin, lizin, CYS gibi aminoasitlerin eklenmesi, asparajin yerine bu aminoasitlerin yarışmalı reaksiyona girmesi veya Michael katılma reaksiyonu vermesi sonucu akrilamide kovalent bağlanmasıyla akrilamid miktarı azaltılabilmektedir (Anese ve ark., 2009; Ou ve ark., 2008). Diğer bir katkı maddesi olan antioksidanlar, Maillard reaksiyonunu etkilemekte ve akrilamid oluşumunu negatif ya da pozitif olarak değiştirmektedir. Çalışmalarda antioksidan olarak kullanılan farklı ekstraktların akrilamid oluşumunu azalttığı, etkili olmadığı veya pozitif yönde etkilediği görülmüştür (Hamzalıoğlu ve Gökmen, 2016; Serpen ve Gökmen, 2009; Zhang ve ark., 2005). pH değişimindeki farklılıklar, bileşenlerin kimyasal yapıları, ekstraktlardaki aminoasit varlığı gibi sebepler çalışmalarda farklı sonuçlar alınmasının nedenleri olarak rapor edilmiştir (Medeiros Vinci ve ark., 2012; Mestdagh ve ark., 2009). Asparajini, aspartik asit ve amonyağa çeviren asparajinaz enziminin kullanılması gıdalardaki akrilamid oluşumunu engelleyen bir diğer stratejidir. Bu enzim hamur bazlı ürünlerde asparajini kolaylıkla parçalayarak akrilamid azalmasını sağlarken patates dilimlerinde substrat ve enzim teması daha az olacağı için haşlama gibi ek bir işlemle bu yöntem uygulanabilmektedir (Pedreschi ve ark., 2008).

Tiyoller ile muamele, akrilamid azaltma stratejileri arasında potansiyel uygulamalardan biridir. Akrilamid engelleme mekanizmaları üstüne literatürde özellikle model sistemler üzerinden yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Tiyoller içerisinde araştırmalarda en çok kullanılan bileşik CYS'dir. CYS'nin akrilamid oluşumunu engellenmesinde iki temel mekanizmaya sahip olduğu rapor edilmektedir. İlk mekanizmaya göre ortamdaki glukoz için asparajin ile yarışmalı reaksiyona girmekte ve böylelikle Maillard reaksiyonunu engelleyerek akrilamid açığa çıkmasını azaltmaktadır. Diğer mekanizmaya göre CYS, oluşan akrilamid ile Michael katılma reaksiyonu vererek akrilamidi ortamdan uzaklaştırmaktadır. Fakat

CYS, Maillard reaksiyonunda düşük reaktiviteye sahip olan aminoasit olarak kategorize edilmektedir. Ayrıca –SH gruplarının, konjüge vinil bileşiklerine karşı –NH₂ gruplarından 100-300 kat daha reaktif oldukları rapor edilmektedir. Bu nedenle, sülfidril bileşikleri için akrilamid azalmasında etkili olanın ikinci mekanizma olduğu belirtilmektedir (Adams ve ark., 2010; Augustine ve Bent, 2019; Claeys ve ark., 2005; Friedman, 2003).

Hidalgo ve ark. (2010), merkaptanların akrilamid eliminasyonunda reaksiyon yollarını belirlemek için benzil merkaptan ve NAC'yi akrilamid ile yüksek sıcaklıkta kontrollü atmosferde reaksiyona sokmuşlardır. Çalışma azot ve oksijen ortamında olmak üzere iki aşamalı yapılmıştır. Azot gazı altındaki reaksiyonda iki merkaptan da akrilamid azaltılmasında etkili olurken NAC, benzil merkaptandan daha yüksek reaktivite göstermiştir. Benzil merkaptan ve akrilamid arasındaki ilişki oksijenli ortamda incelendiğinde, azotlu ortama göre daha fazla akrilamidin kaybolduğu görülmüştür. Bunun sebebi araştırıldığında, merkaptan oksijen varlığında kolaylıkla dibenzilsülfite okside olmuş ve bu bileşik kromatografik olarak tespit edilmiştir. Ancak oluşan dibenzilsülfitin akrilamidin yok olmasından sorumlu olmadığı da belirlenmiştir. Asıl sebebin merkaptanların disülfide dönüşümü sırasında ortaya çıkan tiyolil (RS[•]) radikalinin akrilamid ile reaksiyona girmesi olduğu tahmin edilmiştir. Bu hipotezi kanıtlamak için oksijenli ve azotlu ortamdaki karışımlara antioksidan madde olarak gallik asit eklenmiştir. Gallik asit eklenmesiyle azotlu ortamdaki akrilamid azalması aynı kalırken oksijenli ortama eklendiğinde akrilamid kaybında azalma görülmüştür. Gallik asit merkaptanı korumuş ve böylelikle fazla akrilamid kaybını engellemiştir (Şekil 2.5.). Bu çalışmayla bazı antioksidanların akrilamid inhibisyonunu engelleyebileceği gösterilirken oksijence zenginleştirilmiş ortamın akrilamid azaltılmasında potansiyel bir yol olabileceği vurgulanmıştır.



Şekil 2.5. Merkaptan varlığında muhtemel akrilamid kaybolma mekanizması. GA: gallik asit, RS⁻: nükleofil, RS[•]: tiyolil radikali, RSSR: disülfid, RSH: tiyol (Hidalgo ve ark., 2010).

Hidalgo ve ark. (2011), akrilamid azalmasında amino ve sülfidril gruplarının kombine etkisini incelemişlerdir. Model ortamda, GSH, CYS, NAC, glutamik asit (Glu) ve Glu + NAC ile akrilamid çözeltisi karıştırılmış, ısıtılmış ve sonrasında akrilamid içeriği tespit edilmiştir. Çalışmada GSH ve CYS, hem amino hem sülfidril grubuna sahip olan, NAC sadece sülfidril grubuna sahip olan ve Glu + NAC karışımı ise hem amino hem sülfidril grubuna ayrı ayrı moleküllerde sahip olan bileşik olarak kullanılmıştır. Akrilamid bileşiğini yok etmede sıralama CYS > GSH > NAC >>Glu şeklinde belirtilmiştir. Nükleofiller hem amino hem de sülfidril grubuna aynı molekülde sahip olduğunda daha etkili olmuş hatta molekülde bu iki grup birbirine ne kadar yakınsa akrilamid kaybı o kadar yüksek oranda gerçekleşmiştir. Glu + NAC, ortama sadece düşük konsantrasyonda eklendiğinde pozitif interaksyon gösterirken yüksek konsantrasyonlarda bireysel olarak gösterdikleri etkileri toplamı daha yüksek olmuştur. Çalışmanın sonucuna göre araştırmacılar, akrilamid azaltılmasında kullanılacak nükleofillerin hem amino hem de sülfidril grubu içermesi gerektiğini, ayrıca bu iki grubun birbirine mümkün olduğunca yakın olması gerektiğini vurgulamışlardır.

2.5. Akrilamid Oluşumunu Önlemek için Tiyollerle Yapılan Çalışmalar

Akrilamidin insanlarda kanıtlanmış nörotoksik etkileri ve kemirgenlerde kanıtlanmış nörotoksik ve kanserojen etkisi ile “insan için olası kanserojen” olarak sınıflandırılması sonrasında gıdalarda oluşan akrilamidi azaltma stratejilerine ihtiyaç

duyulmuştur. Özellikle 2000'li yıllardan bu yana akrilamidi azaltma yöntemleri üzerinde farklı çalışmalar bulunmaktadır. Tiyollerin akrilamid üzerine etkisi ile ilgili mekanizmalar yukarıda anlatıldığı gibidir. Bu kısımda, patates ve diğer gıdalardaki akrilamid oluşumu üzerinde tiyollerin etkisi ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar özetlenmiştir.

Claeys ve ark. (2005), asparajin-glukoz model sistemi oluşturmuş ve bu sistemde CYS, lizin, glutamin ve alanin aminoasitlerinin etkilerini incelemişlerdir. Model sistem karışımı, 160-200°C arasında farklı sıcaklıklarda ısıtılmış ve soğutulduktan sonra akrilamid içeriği belirlenmiştir. Ortama CYS ve lizin eklenmesiyle akrilamid içeriğinin azaldığı, glutaminin akrilamid oluşumunu artırdığı, alaninin ise hiçbir etkide bulunmadığı rapor edilmiştir.

Kim ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada akrilamid azalmasında glutamik asit, glisin, CYS ve lizin etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, model sistem (glukoz ve asparajin), model atıştırmalık sistem (un, su, asparajin, glukoz), ticari atıştırmalık (un, patates, nişasta ve diğer bileşenler) ve patates cipsi ürünlerine aminoasitler eklenerek sıcaklık uygulanmış ve daha sonra akrilamid miktarı belirlenmiştir. Model sistemde glisin, CYS ve lizin akrilamid miktarını %95, %91 ve %87 oranında azaltırken glutamik asit %20'den daha az etkide bulunmuştur. Model ve ticari atıştırmalık sistemlerinde lizin ve glisin akrilamid miktarını azaltırken sisteinin etkisinin çok az olduğu tespit edilmiştir. Patatesler %3 lizin ve %3 glisin çözeltilerine 1 dakika süre ile daldırılıp kızartıldığında yaklaşık %80 oranında akrilamidin yok olduğu rapor edilmiştir.

Ou ve ark. (2008), patates cipsinde akrilamid oluşumunu önlemek için sodyum bisülfid, kalsiyum klorür ve CYS'nin etkisini incelemişlerdir. Öncesinde glukoz-asparajin model sistemine ferulik asit, kateşin, sodyum bisülfid, kalsiyum klorür ve CYS eklenmiş, ısıtılmış ve akrilamid içeriği tespit edilmiştir. En etkili olan üç ajana (sodyum bisülfid, kalsiyum klorür ve CYS) patatesler 2,5 dakika süre ile daldırılmış ve 150°C'de 10 dakika kızartma işlemi uygulanmıştır. Akrilamid miktarının azalmasında en etkili olan bileşik CYS, daha sonra kalsiyum klorür olmuştur.

Tekstür sonuçlarına göre CYS kırılabilirliği etkilememiş ancak kalsiyum klorür artırmıştır. Buna rağmen panelistler tarafından kabul gördüğü için ve ayrıca bu üç bileşik içinde CYS daha pahalı olduğu için endüstriyel boyutta CaCl_2 denenmiş ve başarılı sonuç alındığı rapor edilmiştir.

Mestdagh ve ark. (2008), bazı katkıların patates model sisteminde akrilamid oluşumuna etkilerini ve mekanizmalarını incelemiştir. Ortama eklenen sitrik, asetik ve laktik asit pH'ı düşürerek akrilamid oluşumunu engellerken glisin, lisin ve CYS pH'ı etkilemeden akrilamid miktarını azaltmıştır. Glutamin ise akrilamid oluşumunu artırdığı belirtilmiştir. Model sisteme NaCl eklendiğinde herhangi bir etkinin olmadığı görülmüştür. En etkili olan aminoasit CYS olmuş ve akrilamid miktarını %92 oranında azaltmıştır. Ancak bu azaltma stratejilerinin gerçek gıda matrislerinde uygulanması gerektiği vurgulanmıştır.

Zeng ve ark. (2009), 15 farklı vitaminin patatesteki akrilamid miktarının azaltılmasındaki rolünü incelemişlerdir. Öncelikle model sistemde (asparajin ve glukoz) ve gıda model sisteminde (atıştırmalık ürünler) vitaminlerin inhibisyon etkisi tespit edilmiştir. Daha sonra en etkili olan piridoksal, nikotinik asit ve AA çözeltilerine (%1) patates dilimleri daldırılmış ve kızartılmıştır. Bu çalışmada, CYS çözeltisi (%1) pozitif kontrol olarak kullanılmış ve %60 oranında akrilamid inhibisyonu sağladığı belirtilmiştir.

Adams ve ark. (2010) tarafından, akrilamidin model sistem üzerindeki stabilitesi ve bazı nükleofillerle reaktivitesi araştırılmıştır. Ortam pH'ı ve tampon türünün akrilamid miktarına etkisi incelendiğinde farklı tamponların akrilamid miktarını farklı etkilediği görülmüştür. Ayrıca ortam pH'ı arttıkça akrilamid miktarında azalma tespit edilmiştir. Yüksek pH'ın akrilamid polimerizasyonunu artırabileceği rapor edilmiştir. Nükleofillerin (AA, lisin, butilamin, CYS, NAC, serin, arjinin) Michael katılma reaksiyonu ile akrilamid miktarını azalttığı ve en etkili olanın CYS olduğu belirlenmiştir. CYS, akrilamid ile reaksiyonu sonucunda hem tek eklenmiş (sistein-S- β -propionamid) hem de çift eklenmiş ürün oluşturmuştur. Lisin, arjinin, serin ve AA

gibi diğer nükleofiller de akrilamid inhibisyonuna katkıda bulunmuş ancak daha az etkili oldukları görülmüştür.

Casado ve ark. (2010), bazı katkıları kullanarak zeytinin sterilizasyonu esnasında oluşan akrilamidin azaltılmasını hedeflemişlerdir. Bunun için öncelikle zeytin model sistemi oluşturmuşlar ve farklı tuzlar (sodyum bisülfid, sodyum klorür, sodyum borat, magnezyum klorür, kalsiyum klorür vb.), farklı aminoasitler (glisin, lisin, CYS, arjinin, metiyonin, serin vb.), farklı zeytin polifenoller (hidroksitrozol ve 3,4-dihidrokdifenil glükol) ekleyerek 121°C’de 30 dakika sterilizasyon sonrasında akrilamid miktarını incelemişlerdir. Tuzlar arasında en etkili olan ajan sodyum bisülfidin 50 mM konsantrasyonu olmuştur. Aminoasitler arasında ise CYS, akrilamid miktarında %50 azalma sağlamıştır. Daha sonraki aşamada siyah salamura zeytinlere sodyum bisülfid, CYS, NAC, GSH, metionin, arjinin, propil gallat eklenmiş ayrıca yeşil çay, sarımsak, biberiye, kekik gibi doğal bitkilerin de etkisi incelenmiştir. Sodyum bisülfid (25 mM) duyuşal özellikleri etkilemeden akrilamid miktarını azaltmada en etkili ajan olmuştur. CYS (50 mM), NAC (50 mM) ve GSH (25 mM) bileşenleri de sodyum bisülfid kadar etkili olmuş ancak istenmeyen koku oluşumuna sebep oldukları belirtilmiştir.

Yuan ve ark. (2011), asparajin/glukoz ve asparajin/fruktoz model sistemlerinde sodyum klorür, sodyum bisülfid, AA, CYS ve alisin farklı konsantrasyonlarda ekleyerek mikrodalgada ısıtılma işlem uygulamışlardır ve akrilamid miktarındaki değişimi incelemişlerdir. Sodyum klorür en yüksek konsantrasyonda (%1,5) glukoz sisteminde yaklaşık %25 akrilamid azalması gösterirken CYS ve sodyum bisülfid aynı konsantrasyonda kullanıldığında ortamda hiç akrilamid kalmamıştır. AA’nın %1,5 konsantrasyonu fruktoz sisteminde %100 yok olma sağlarken aksine glukoz sisteminde akrilamid oranında %100 artışa sebep olmuştur. Ortama eklenen alisin akrilamid miktarında %51’e kadar azalma sağlarken glukoz sisteminde çok etkili olmadığı görülmüştür.

Ismail ve ark. (2013) yaptıkları çalışmalarında patates cipsinde akrilamid oluşumuna ve organoleptik özelliklerine farklı muamelelerin etkisini belirlemişlerdir. Patatesler

kızartılmadan önce farklı çözeltilerle (sitrik asit, kalsiyum klorür, magnezyum klorür, sodyum klorür, glisin, arjinin, glutamin, CYS) haşlama işlemi uygulanmıştır. Ayrıca bu çözeltilere ek olarak bazı fenolik maddelerin çözeltilerine direk daldırma işlemi de uygulanmıştır. Çalışmada yağa eklenen bitkilerin akrilamid oluşumuna etkisi de araştırılmıştır. Birçok kimyasal ajan ve bitki, akrilamid miktarında önemli azalma sağlamış, bunlardan biri olan CYS çözeltisiyle haşlama işlemi %97,17 azalma belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmelere bakıldığında en yüksek değerler sodyum klorür, magnezyum klorür ve glutamine ait olurken, en düşük değerler ise sitrik asit ve CYS ile haşlama işlemine tabi tutulan patateslerde elde edilmiştir.

Wu (2014), GSH'in üzüm suyunda enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarını önlemesiyle ilgili yaptığı çalışmasında 0,008 g GSH 20 mL üzüm suyuna eklenmiştir. Üzüm suları 100°C'de 15 dakika bekletilmiş ve sonrasında 80°C'de 36 saate kadar depolanmıştır. GSH eklenen meyve sularında L* değerindeki değişim %0,74 iken kontrol grubunda %6,92 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmayla akrilamidin oluşum yollarından biri olan enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının GSH ile muamele edilen üzüm sularında engellenebileceği gösterilmiştir.

Narita ve Inouye (2014) tarafından yapılan araştırmada, konserve kahveye uygulanan ısıtma işlemi esnasında açığa çıkan akrilamidin farklı ajanlarla azaltılması araştırılmıştır. Bu amaçla 190 g kahveye, sterilizasyon işleminden önce ditiotreitol, sistin, glukoz, AA, kateşin, kazein fosfopeptid, β -siklodekstrin ve 20 adet aminoasit 200 mg olacak şekilde ayrı ayrı eklenmiş ve 121°C'de 6 dakika sterilizasyon uygulanmıştır. Sterilizasyon sonrası örneklerin akrilamid içerikleri incelendiğinde aminoasitlerden CYS, akrilamidi %90 azaltırken ditiotreitol %50 azalma sağlamıştır. CYS, daha sonra arpa çayı ve sütli konserve kahveye uygulanmış ve akrilamid miktarları %90'nın üzerinde azalmıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde oldukça sık tüketilen kahvenin akrilamid içeriği CYS ve ditiotreitol ile etkili şekilde azaltılabileceği, üstelik uygulamanın üreticiler için de oldukça kolay ve basit olduğu rapor edilmiştir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal malzemeler

Asetonitril, etanol, metanol, kloroform, n-hekzan, potasyum iyodür, hidroklorik asit, sodyum hidroksit, metafosforik asit, sodyum metabisülfid, gallik asit ($\geq 98.0\%$), triton X-100, demir (III) klorür, potasyum fosfat, sodyum asetat, formik asit, hekzasiyanoferrat, çinko sülfat Merck'den (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Asetik asit, fosforik asit ve borik asit Fisher (St. Louis, MO, ABD) firmasından, AA ($\geq 99.0\%$), GSH ($\geq 98.0\%$), CYS (97%), NAC ($\geq 99.0\%$), demir (II) sülfat heptahidrat, N-(1- Pirenil) maleimid (NPM), 2,2-difenil- 1-pikrilhidrazil (DPPH), ($\pm$)-6- hidroksi-106 2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Trolaks, 97%), neokuprin, bakır (II) klorit, amonyum asetat, Tris-HCl, serin, dietilenetriamin pentaasetik asit (DETAPAC), polivinilpirolidon (PVP-40), katekol, 2,4,6-tris (2-piridil) -S-triazin (TPTZ) ise Sigma'dan (St. Louis, MO, ABD) satın alınmıştır.

3.1.2. Örneklerin hazırlanması

Bu tezde materyal olarak kullanılan "Agria" cinsi patatesler, 2018 yılının mart ayında, ikinci kısmında kullanılan patatesler ise 2019 yılının mart ayında Niğde Patates Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Olgunlaştıktan sonra hasat edilen patatesler, çözeltilere daldırma işlemi uygulanıncaya kadar 10°C'ye ayarlı iklimlendirme kabini (Mikrotest, Türkiye) depolanmıştır. Kabuğu soyulan patatesler paslanmaz çelik sanayi tipi patates dilimleme aleti (Emir Endüstriyel Mutfak Ürünleri, İstanbul) kullanılarak 9 mm x 9 mm ebatlarında kesilmiştir. Boyları ise cetvel yardımıyla 5 cm olacak şekilde ayarlanmıştır. Fazla nişastanın

uzaklaştırılması amacıyla musluk suyu altında 1 dakika yıkanmış ve peçete ile hafif kurulanmıştır. Hazırlanan patates dilimleri GSH, CYS, NAC, sülfite ve kontrol olarak 5 gruba ayrılmıştır. Tiyol çözeltilerine daldırılacak patatesler de kendi aralarında 3 farklı gruba (GSH0.5, GSH1.0, GSH2.0, CYS0.5, CYS1.0, CYS2.0, NAC0.5, NAC1.0, NAC2.0) bölünmüştür. Farklı konsantrasyonlardaki tiyol çözeltileri oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) hazırlanmış, her 300 mL solüsyona 100 g patates olacak şekilde sürekli karıştırılarak 1 dakika boyunca daldırma işlemi uygulanmıştır. Ayrıca tiyol çözeltilerinin etkilerini karşılaştırmak için sodyum metabisülfite çözeltilisi de (%1,0) kullanılmıştır. Hiçbir işlem uygulanmayan örnek kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Fazla çözeltinin uzaklaşması için örnekler 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra çalışmanın ilk kısmında kullanılacak örnekler 24 ve 48 saat boyunca iklimlendirme kabininde (Mikrotest, M15, Türkiye) oda sıcaklığında depolanmıştır. Depolama periyotları sonunda ise analizlerde kullanılmak üzere -18°C derin dondurucuda saklanmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında kullanılacak patatesler de yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Kızartılan patateslere ait analiz sonuçları, oda sıcaklığında 1 saat bekletilen taze kesilmiş patateslerle karşılaştırılmıştır.

3.1.3. Kızartma işlemi

3.1.3.1. Patates/yağ oranı belirlenmesi

Kızartma sırasında kullanılacak patates/yağ oranı literatür araştırması yapılarak belirlenmiştir. Çalışma, 1 litre yağda 100 gram patates kızartılacak şekilde tasarlanmıştır (Fiselier ve ark., 2006; Grob ve ark., 2003).

3.1.3.2. Kızartma sıcaklığı ve süresinin belirlenmesi

Bu çalışmada tek bir başlangıç sıcaklığı kullanılmıştır ve gerçek kızartma koşullarını yansıtmak amacıyla 180°C olarak belirlenmiştir (Romani ve ark., 2008). Derin yağda kızartma işleminde marketlerden temin edilen ayçiçek yağı kullanılmıştır. Kızartma işlemi için sıcaklığı ayarlanabilir ($\text{max}:190^{\circ}\text{C}$), 1,5 litre yağ kapasiteli Fakir, Gala marka ev tipi fritöz tercih edilmiştir. Yağın sıcaklığını proses boyunca ölçmek

amacıyla datalogger (V&A Instruments, 601-TK, Çin) ve K tipi problu termokupl (WRNM102-A) kullanılmıştır. Ölçüm esnasında datalogger bilgisayara yazılım aracılığıyla bağlanmış ve sıcaklık verileri 5 saniyede bir olmak üzere kaydedilmiştir. Cihaza bağlı olan termokupl, fritözün üstten ve kenarlarından orta noktasına gelecek şekilde yerleştirilerek ortalamayı yansıtan verilerin alınması amaçlanmıştır.

3.2. Analiz Yöntemleri

3.2.1. Renk analizi

Patateslerin yüzey renk değerleri (L^* , a^* , b^*) PCE-CSM 7 (İngiltere) renk tayin cihazı ile belirlenmiştir. Cihazın kalibrasyonu için beyaz ve siyah plakalar kullanılmıştır. L^* değeri aydınlık-karanlık, a^* değeri kırmızılık-yeşillik, b^* değeri ise sarılık-mavilik değerlerini ifade etmektedir. Patates dilimlerindeki toplam renk değişimi (ΔE) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\Delta E = \sqrt{(L(o) - L)^2 + (a(o) - a)^2 + (b(o) - b)^2} \quad (3.1)$$

$L(o)$, $a(o)$ ve $b(o)$ ham patatesteki CIE renk değerlerini, L , a ve b ise farklı periyotlarda depolanmış veya kızartılmış patateslerdeki renk değerlerini belirtmektedir.

3.2.2. Nem tayini

Patateslerde nem tayini AOAC-925.10 metoduna göre yapılmıştır. Homojen hale getirilen patatesler etüv kullanılarak 130°C 'de 3 saat kurutulmuş ve sabit tartıma getirilerek nem miktarı hesaplanmıştır (AOAC, 1990). Bu analiz, çalışmadaki tüm sonuçlar kuru madde üzerinden verildiği için gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Toplam yağ tayini

Toplam yağ tayini için Soxhlet metodu kullanılmıştır. Kurutulan ve sabit tartıma getirilen patatesler kartuşlara konulmuş ve üzerine petrol eteri eklenmiştir. Gerhardt (SE412, Almanya) otomatik ekstraksiyon cihazıyla analiz tamamlanmıştır (AACC, 1986). Kızartma süresinin belirlenmesi aşamasında patateslerin çektiği yağ miktarını belirlemek için bu analiz uygulanmıştır.

3.2.4. Polifenol oksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Polifenol oksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde Birdal'ın (2011) çalışmasında kullandığı metot modifiye edilerek uygulanmıştır. 2,5 g patates, %1 polivinilprolidon (PVP) ve %0,25 triton X-100 içeren 5 mL fosfat tamponu (0,05 M, pH: 6,3) içerisinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenaz, 4 kat tülbenkten süzildükten sonra filtrat 30 dakika boyunca santrifüj (Hettich Universal 320R, Almanya) edilmiş (4°C, 9000 rpm) ve toplanan süpernatant ham enzim ekstraktı olarak kullanılmıştır. Örnek küvetine, 2,8 mL fosfat tamponu (0,05 M), 0,1 mL substrat çözeltisi (0,05 M fosfat tamponu kullanılarak hazırlanmış 0,1 M kateşol) ve 0,1 mL ham ekstrakt ilave edilmiş, kör hazırlamak için ise 2,9 mL fosfat tamponu (0,05 M) ve 0,1 mL substrat çözeltisi kullanılmıştır. Spektrofotometrede (Shimadzu UV-1240, Japonya) 420 nm dalga boyunda 3 dakika boyunca her 30 saniyede bir absorbans kaydedilmiştir. Aktivite ünite (U) birimi olarak 1 mL enzim çözeltisi başına 1 dakikada absorbansta meydana gelen 0,001 birimlik değişim kullanılmıştır (U/ mL). Enzim aktivitesini hesaplamada aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{Aktivite} \left(\frac{\text{U}}{\text{mL}} \right) = \frac{E}{0,001} * \frac{1}{\text{He}} * \text{Hrk} * \text{Sf} \quad (3.2)$$

E: Reaksiyon karışımında aktiviteden kaynaklanan absorbans değişiminin süreye karşı işlenmesiyle elde edilmiş olan absorbans-süre eğrisinin başlangıçtaki doğrusal kısmının eğimi ($\Delta\text{abs}/\text{dak}$)

0,001: Abs/dak değerinin üniteye çevrilmesi için kullanılan sabit değer

He: Enzim ekstraktının, reaksiyon karışımı içerisindeki hacmi (mL)

Hrk: Reaksiyon karışımının toplam hacmi (mL)

Sf: Seyreltme faktörü

3.2.5. Tiyol analizi

Patateslerin GSH, CYS ve NAC içerikleri Winters ve ark. (1995) tarafından geliştirilen ve Demirkol ve ark. (2004) tarafından modifiye edilen yöntemle göre belirlenmiştir. Kızartılmış patateslerin ekstraktları hazırlanmadan önce yağ alma işlemi uygulanmıştır. Bunun için 5 g patates, blender ile parçalanmış ve 50 mL petrol eteri:dietil eter karışımı (1:1) eklenmiştir. Ultraturrax (IKA, T18, Almanya) ile 12000 rpm devir hızında 2,5 dakika boyunca karıştırılmıştır. Santrifüj (4°C, 5 dakika, 5000 rpm) ile üst faz ayrımı gerçekleştirildikten sonra altta kalan katı kısma tekrar eter karışımı eklenerek karıştırma ve santrifüj aşamaları tekrar edilmiştir. Yağı alınmış katı kısımdan eterin uzaklaştırılması amacıyla örnekler etüvde kurutulmuş (30°C, 24 saat) daha sonra havanda öğütülerek toz haline getirilmiştir (Sun-Waterhouse ve ark., 2013).

Örnekler gerekli miktarlarda tartılarak serin-borat tampon (SBB) çözeltisi içerisinde homojenize edilmiştir. SBB çözeltisi, 15,74 g TrisHCl; 0,618 g Borat; 0,525 g Serin ve 0,393 g DETAPAC 1 litre saf suda çözündürülerek hazırlanmıştır (pH:7). 4°C’de, 9000 rpm’de, 10 dakika süre ile santrifüjlenen örneklerin üstte toplanan sulu kısmı analizde kullanılmak üzere başka tüpe aktarılmıştır. Ekstraktlardaki tiyol bileşiklerinin HPLC’de tespit edilebilmesi için floresan dedektör kullanılmış, bu nedenle türevlendirmeleri yapılmıştır. Süpernatanttan GSH için 250 µL, CYS için 50 µL ve NAC için 50 µL alınmış, son hacim 250 µL olacak şekilde seyreltilmiştir ve 750 µL NPM (1 mM, asetonitrilde çözünmüş) çözeltisi ile 5 dakika boyunca tüplerin ağzı kapalı olacak şekilde reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyonu durdurmak için 10 µL 2 N HCl çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmıştır. Örnek hazırlama işlemlerinin tüm aşamalarında, örnekleri içeren tüpler granül buz dolu beher içerisinde bekletilmiştir. Hazırlanan numuneler 0,45 µm çaplı naylon filtrelerden geçirilerek, dolgu maddesinin çapı 5 µm, iç çapı 4,6 mm ve uzunluğu 250 mm olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kolonuna (Reliasil ODS-1 C₁₈, Orochem,

Naperville, ABD) enjekte edilmiştir. Sonuçlar, 100 g kuru maddede μmol GSH, CYS ve NAC olarak ifade edilmiştir.

3.2.5.1. Tiyol analizi için HPLC koşulları

Örneklerin tiyol içeriklerini belirlemede kullanılan HPLC sistemi (Hitachi, Tokyo, Japonya) L-2130 pompa, L-2300 fırın, L-2200 otomatik örnekleme sistemi ve Chromaster-5440 floresan dedektör içermektedir. Dedektörün eksitasyon dalga boyu (λ_{ex}) 330 nm ve emisyon dalga boyu (λ_{em}) ise 376 nm olarak ayarlanmıştır. Kullanılan mobil faz, %70 asetonitril ve %30 su karışımından oluşurken pH ayarlamada (yaklaşık olarak 2,5) her 1 litre için 1 mL asetik asit ve 1 mL o-fosforik asit ilave edilmiştir. Kolon sıcaklığı 20°C, mobil fazın akış hızı 1mL/dakika ve enjeksiyon hacmi ise 5 μL olarak belirlenmiştir. 125-2500 nM aralığında miks standart solüsyonları (GSH, CYS ve NAC) hazırlanarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ($r^2_{\text{GSH}}=0,999$, $r^2_{\text{CYS}}=0,999$, $r^2_{\text{NAC}}=0,993$). Ayrıca HPLC’de bu metot için tespit limiti (limit of detection) ve tayin limiti (limit of quantification) belirlenmiştir. Öncelikle pik elde edilebilen en düşük konsantrasyon tespit edilmiştir (0,10 μM). Bu konsantrasyonda 10 farklı standart GSH, CYS ve NAC miks çözeltisi hazırlanmıştır. Standart çözeltilerin konsantrasyonları belirlendikten sonra standart sapması (σ) kullanılarak tespit limiti “3 x σ ” tayin limiti ise “10 x σ ” formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Tespit ve tayin limiti GSH için; 0,05 μM ve 0,16 μM , CYS için; 0,03 μM ve 0,11 μM , NAC için; 0,06 μM ve 0,19 μM olarak belirlenmiştir (Türk Akreditasyon Kurumu, 2019).

3.2.6. Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde analizi için örnek ekstraksiyonu

Patateslerin antioksidan aktivite içeriği DPPH radikal süpürme aktivitesi, demir iyonu indirgeme potansiyeli (FRAP) ve bakır iyonu indirgeme kapasitesi (CUPRAC) yöntemleri kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

Toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktivite analizlerinde kullanılan ekstraktları hazırlarken Capanoglu ve ark. (2008) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Kızartılmış patateslerde ekstrakt hazırlanırken yağı alınmış örnekler kullanılmıştır. Kısaca, 2 g örnek tartılarak 3 mL %75'lik metanol çözeltisi eklenmiş, homojenize edilmiş ve 15 dakika ultrasonik su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra 9000 rpm'de, 4°C'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst faz ayrıldıktan sonra kalan katı kısma tekrar 3 mL %75'lik metanol çözeltisi eklenmiş ve ekstraksiyon yöntemi tekrarlanmıştır. Son hacim 10 mL olacak şekilde üst fazlar birleştirilmiş ve analizlerde kullanmak üzere -18°C'de saklanmıştır.

3.2.7. DPPH radikal süpürme aktivitesi

Elektron transferine dayanan yöntemlerden biri olan bu metot, mor renkli kromojenik DPPH radikalının antioksidan tarafından indirgenmesi prensibine dayanır. Radikal yakalama kapasitesi, 515-528 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Teknik olarak hızlı ve basit olan bu yöntemle, bitki ve gıdaların serbest radikal giderici etkisi belirlenmektedir (Albayrak ve ark., 2010; Magalhães ve ark., 2008). DPPH radikal süpürme aktivitesi için ekstraktlardan 200 µL alınarak küçük deney tüpüne aktarılmış ve üzerine 3 mL, 0,051 mM DPPH çözeltisi (%75 metanolde çözünmüş) eklenmiş ve vortex yardımıyla karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika karanlık ortamda bekletildikten sonra karışım küvetlere aktararak 517 nm'de absorbans değeri okunmuş ve sonuçlar 100 g kuru maddede troluks eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir ($r^2=0,991$). Kontrol absorbansı için örnek yerine 200 µL %75'lik metanol çözeltisi konulmuştur. Cihazın sıfırlama işlemi %75'lik metanol ile yapılmıştır (Brand-Williams ve ark., 1995).

3.2.8. Demir iyonu indirgeme potansiyeli tayini

Fe^{+3} 'ün düşük pH'da Fe^{+2} 'ye indirgenmesi ile renkli ferrous-tripirydyltriazine kompleksi oluşur. Oluşan demir tuzu oksidan olarak kullanılır. FRAP yöntemi pH:3,6'da gerçekleştirilir. Antioksidanların varlığında ferric-tripirydyltriazine kompleksi Fe^{+2} 'ye indirgenir. Fe^{+3}/Fe^{+2} redoks çiftinin redoks potansiyelinden daha

düşük potansiyelli birçok bileşik Fe^{+3} 'ü indirgeyebilmektedir. Bu nedenle sonuçlar yüksek çıkabilmektedir. Yöntem basit, hızlı ve maliyeti düşük olduğu için sıklıkla kullanılmaktadır (Albayrak ve ark., 2010). FRAP değerlerini belirlemek için Benzie ve Strain, (1996) tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. Analiz için hazırlanan ekstraktlardan 100 μL alınmış ve FRAP reaktifinden (300 mM asetat tamponu (pH 3,6), 10 mM TPTZ, 20 mM $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$, 10:1:1) 1,8 mL, distile sudan 1,2 mL eklenmiştir. Karışım 37°C 'de 15 dakika bekletildikten sonra 593 nm'de absorbans ölçülmüştür. Standart grafiği demir (II) sülfatın (FeSO_4) farklı konsantrasyonları hazırlanarak oluşturulmuş ve sonuçlar 100 g kuru madde üzerinden verilmiştir ($r^2=0,995$).

3.2.9. Bakır iyonu indirgeme kapasitesi

Bu metot, örnekte bulunan antioksidanlar tarafından Cu^{2+} 'nin Cu^{1+} 'e indirgenmesi prensibine dayanmaktadır. Cu^{1+} kromojenik bir ayıraç olan neokuprin ile kompleks oluşturur. AA, ürik asit ve gallik asit için yöntem birkaç dakika içinde tamamlanırken daha kompleks moleküller için 30-60 dak. gerekmektedir. Ayrıca diğer metotlardan farklı olarak CUPRAC reaktifi, tiyol türü antioksidanları da okside edebilecek hıza sahiptir (Albayrak ve ark., 2010; Apak ve ark., 2007). CUPRAC analizi için Apak ve ark. (2004) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Buna göre küçük deney tüpü içerisine toplamda 1,1 mL olacak şekilde distile su ve örnek ekstraktı konulmuştur. Daha sonra 1 mL 10^{-2} M $\text{CuCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$, 1 mL $7,5 \times 10^{-3}$ M neokuprin ve 1 mL amonyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) tampon çözeltisi eklenmiştir. Tüplerin ağzı kapatılmış ve 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 450 nm'de absorbansları kaydedilmiştir. Standart olarak troloks kullanılmış ve sonuçlar 100 g kuru maddede troloks eşdeğeri cinsinden ($r^2=0,997$) hesaplanmıştır.

3.2.10. Toplam fenolik madde tayini

Folin-Ciocalteu (FC) reaktifinin kimyasal yapısı net olarak bilinmese de fosfomolibdik/ fosfotungstik asit kompleksini içerdiği kabul edilmektedir. FC analizi alkali ortamda fenolik ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenuma elektron

transferi prensibine dayanmaktadır. Transfer sonrası oluşan mavi renkli kompleks 750-765 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmektedir. Genel olarak gallik asit referans standart olarak kullanılır ve sonuçlar GAE olarak ifade edilir (Magalhães ve ark., 2008). TFM analizinde Wojdyło ve ark. (2007) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Hazırlanan ekstrakttan 100 µL alınmış ve küçük deney tüpüne aktarılmıştır. Ardından ticari halde hazır bulunan FC ayıracından 200 µL, distile sudan ise 2 mL eklenmiştir. Karıştırılarak 3 dakika bekletilmiş, daha sonra %20 Na₂CO₃ (ağırlık/hacim) çözeltisinden (suda) 1 mL eklenmiş ve 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda absorbanslar 765 nm’de okunmuştur. Standart olarak GAE kullanılmış ve kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Örnekte bulunan fenolik bileşik miktarı 100 g kuru maddede mg GAE olarak verilmiştir ($r^2=0,991$).

3.2.11. Askorbik asit analizi

Kızarmış patateslerin AA içerikleri Lee ve Coates (1999) yöntemi modifiye edilerek belirlenmiştir. Ekstraksiyon için 2 g örnek tartılmış ve 4 mL %2,5 metafosforik asit çözeltisinde 2 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra aşağıdaki gibi 3 aşamalı santrifüj işlemi uygulanmıştır:

- İlk aşama: 9000 rpm, 4°C, 20 dakika
- İkinci aşama: 12000 rpm, 4°C, 10 dakika
- Üçüncü aşama: 18000 rpm, oda sıcaklığı, 10 dakika

Üst faz elde edildikten sonra örnek, 0,45 µm çaplı filtrelerden geçirilerek viallere doldurulmuş ve dolgu maddesinin çapı 5 µm, iç çapı 4,6 mm ve uzunluğu 250 mm olan HPLC kolonuna (Reliasil ODS-1 C₁₈, Orochem, Naperville, USA) enjekte edilmiştir. Sonuçlar, 100 g kuru maddede mg AA olarak ifade edilmiştir.

3.2.11.1. Askorbik asit analizi için HPLC şartları

Örneklerin AA içeriklerini belirlemede kullanılan HPLC sistemi (Hitachi, Tokyo, Japonya) L-2130 pompa, L-2300 fırın, L-2200 otomatik örnekleme sistemi ve L-2455 PDA (Photo Diode Array) dedektör içermektedir. Dedektörün dalga boyu 244

nm olarak ayarlanmıştır. Mobil faz olarak %0,1 isokratik formik asit çözeltisi kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 20°C, mobil fazın akış hızı 0,5 mL/dak ve enjeksiyon hacmi ise 10 µL olarak belirlenmiştir. 0-100 ppm aralığında AA standart çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur ($r^2=0,999$). Her bir örnek üçer defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır. Ek olarak, cihazın bu analiz için tespit limiti ve tayin limiti tiyol analizinde kullanılan yöntemle göre belirlenmiştir. Pik elde edilen en düşük konsantrasyon tespit edilerek (2 ppm) bu konsantrasyonda 10 farklı standart çözeltisi hazırlanmıştır. Bu standart çözeltiler kullanılarak tespit limiti 0,62 ppm, tayin limiti ise 1,86 ppm olarak hesaplanmıştır (Türk Akreditasyon Kurumu, 2019).

3.2.12. Akrilamid analizi

Kızarmış patateslerin ekstraksiyonu için öncelikle örnekler liyofilizatör (Labconco, Freezone, ABD) yardımıyla 24 saat boyunca -50°C’de dondurularak kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler öğütülmüş ve falkon tüplerine 1 g (%0,01 hassasiyette) olarak tartılmıştır. Daha sonraki analiz aşamaları Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği’ne ait laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminde solvent olarak 10 mM formik asit çözeltisi kullanılmış ve her bir örnek üzerine 9,5 mL eklenmiştir. Durultma sağlamak amacıyla 250 µL Carrez-I ve 250 µL Carrez-II çözeltileri ilave edilmiştir. Carrez-I ve Carrez-II çözeltileri, sırasıyla 15 g potasyum hekzasiyanoferrat ve 30 g çinko sülfatın 100 mL suda çözündürülmesiyle elde edilmiştir. Örnekler, beş dakika boyunca vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 8000 rpm hızında 4 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen üst faz başka bir tüpe aktarılarak üzerine 5 mL solvent eklenmiş ve ekstraksiyon yöntemi 2 kez daha tekrarlanmıştır. Toplanan üst faz buzdolabında bekletilerek 4°C’ye soğutulmuş ve tekrar santrifüjlenerek son hali elde edilmiştir. Bir mililitre hacmindeki ekstrakt (1/100 seyreltme yapılmış) daha önceden koşullandırılmış Oasis MCX katı faz ekstraksiyon kartuşundan 1 damla/sn akış hızında geçirilmiştir. İlk 8-10 damla atılmış daha sonraki damlalar vida kapaklı viallerde toplanmıştır. Kızarmış patateslerde akrilamid konsantrasyonları kuru madde üzerinden hesaplanmıştır. Her

bir örnek ikişer defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır (Yıldız ve ark., 2017).

3.2.12.1. Akrilamid analizi için LC/MS-MS şartları

Akrilamid, Agilent Ultivo Triple Quadropole MS ile Agilent 1260 HPLC’de pozitif iyonlaştırma modunda analiz edilmiştir. Kromatografik ayırım, Atlantis T3 (4,6 x 150 mm, 3 µm) kolonda, 40°C’de gerçekleştirilmiştir ve mobil faz olarak 0,5 mL/dk akış hızında 10 mM formik asit çözeltisi kullanılmıştır. Analiz 8 dk’da tamamlanmış ve akrilamid için alıkonma süresi 5,15 dk olarak görülmüştür. Elektrosprey iyonlaştırıcı kaynağı koşulları şu şekildedir: Kapiler voltaj, 2,0 kV; nozıl voltaj, 500 V; iyonlaştırıcı sıcaklığı, 250°C; sheath gazı sıcaklığı, 350°C; buharlaştırıcı gazı (azot) akış hızı, 5 L/dk; sheath gazı akış hızı 11 L/dk ve nebulizer basıncı, 60 psi. Akrilamid, iki kanaldan çoklu reaksiyon izleme yapılarak belirlenmiştir. Ana iyon $[M + H]^+$ olarak 72 kütlesi ve parçalanma ürünleri olarak 55 ve 44 kütleleri izlenmiştir. Örneklerdeki akrilamid konsantrasyonları 1-100 ng/mL (1, 2, 5, 10, 20, 50 and 100 ng/mL) konsantrasyonlarında hazırlanan kalibrasyon eğrisi aracılığıyla hesaplanmıştır ($r^2=0,999$). Tespit limiti 3 ppb, tayin limiti ise 10 ppb olarak belirlenmiştir.

3.2.13. Şeker analizi

Taze patatesin içerdiği glukoz, fruktoz ve sakkaroz içerikleri Serpen ve Gökmen (2009) tarafından kullanılan yönteme göre belirlenmiştir. Öncelikle patateslerden 5 g tartılmış ve üzerine 1 mL Carrez-I ve 1 mL Carrez-II çözeltileri eklenmiştir. Carrez-I ve Carrez-II çözeltileri, sırasıyla 15 g potasyum hekzasiyanoferrat ve 30 g çinko sülfatın 100 mL suda çözündürülmesiyle elde edilmiştir. Ardından 70°C’deki saf su ile 25 mL’ye tamamlanarak 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Ekstrakte edilen şekerleri ayırmak için 4°C, 13,130 g, 10 dakika koşulları kullanılarak santrifüj işlemi uygulanmıştır. Berrak ekstrakt elde etmek için santrifüj sonrası 0,45 µm çapında naylon filtrelerden geçilen örnek, viallere doldurularak dolgu maddesinin

çapı 5 µm, iç çapı 4,6 mm ve uzunluğu 250 mm olan HPLC kolonuna (GL sciences, Inertsil NH₂, Tokyo, Japonya) enjekte edilmiştir.

3.2.13.1. Şeker analizi için HPLC şartları

Taze örneğin şeker içeriğini belirlemede kullanılan HPLC sistemi (Hitachi, Tokyo, Japonya) L-2130 pompa, L-2300 fırın, L-2200 otomatik örnekleme sistemi ve L-2490 refraktif indeks dedektör (RID) içermektedir. Sonuçlar, kg kuru maddede g olarak ifade edilmiştir. Mobil faz olarak asetronitril:su (85:15) çözeltisi kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 40°C, mobil fazın akış hızı 0,8 mL/dak ve enjeksiyon hacmi ise 10 µL olarak belirlenmiştir. 0-1000 ppm aralığında glukoz, fruktoz ve sakkaroz standart çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur ($r^2_{glukoz}=0,993$, $r^2_{fruktoz}=0,990$, $r^2_{sakkaroz}=0,990$). Taze örnek üç defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır (Anese ve ark., 2009). Bu metot için tespit ve tayin limitini belirlemede tiyol analizindeki yöntem kullanılmıştır. Glukoz, fruktoz ve sakkaroz çözeltileri için sırasıyla tespit limitleri 0,04 g/kg, 0,05 g/kg, 0,08 g/kg tayin limitleri ise 0,14 g/kg, 0,16 g/kg, 0,27 g/kg olarak belirlenmiştir.

3.2.14. İstatistiksel analiz

Bu tez kapsamında çözeltilere daldırma ve kızartma işlemleri 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz için SPSS (versiyon 11.5, SPSS Inc., ABD) paket programı kullanılmıştır. Depolama periyodu boyunca ve depolama periyotları (1., 24. ve 48. saat) arasındaki örneklerde farkın önemli olup olmadığı ANOVA testi ile belirlenirken farkların önem düzeyleri Duncan's çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Yine hem kızartma öncesinde hem de kızartma sonrasında örnekler arasındaki farkın önem düzeyi Duncan's çoklu karşılaştırma testi ile kızartma işleminin etkisi ise bağımsız örneklem T-testi analizi kullanılarak belirlenmiştir.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Taze Patatesin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Türkiye’de ve dünyada kızartmalık patates endüstrisinde “Agria” cinsi patatesler oldukça yaygın kullanıldığı için bu tez kapsamında tercih edilmiştir. Patatesin soyulup dilimlendikten hemen sonraki renk, nem, şeker, tiyol, PPO aktivite, AA, TFM ve antioksidan aktivite değerlerine ilişkin DPPH, FRAP, CUPRAC sonuçları Tablo 4.1.’de gösterilmiştir. Renk değerlerine ait veriler incelendiğinde L* değeri 75,42, a* değeri 3,89, b* değeri ise 28,29 olarak kaydedilmiştir. Patatesin diğer sebze ve meyveler gibi nem oranı yüksektir ve bu değer %82,01 olarak belirlenmiştir. Yüksek oranda kuru madde içeren patatesler kullanılarak yapılan kızartma işlemlerinde verimin arttığı bilinmektedir. Ancak, patatesin nem içeriği %25’ten fazla olduğunda cipslerde sert tekstür elde edildiği rapor edilmiştir (Shojaee-Aliabadi ve ark., 2013; Vivanti ve ark., 2006). Bu çalışmada kullanılan Agria cinsi patatesin %17,99’luk kuru madde içeriği ile kızartmalık olarak uygun olduğu görülmektedir.

Ham maddenin içerdiği şeker oranı özellikle kızartma sırasında en önemli kalite kriterlerinden birini oluşturmaktadır. Patatesin yaş ve kuru ağırlık üzerinden hesaplanan şeker içeriği glukoz, fruktoz ve sakkaroz için (g/kg) sırasıyla 1,34; 0,64; 1,46 ve 7,45; 3,16; 8,16 olarak belirlenmiştir. Yang ve ark. (2016), yaptıkları çalışmalarında 3 farklı patates çeşitinin şeker oranını belirlemişlerdir. Agria çeşidine ait patatesin glukoz miktarı 0,69 g/kg, fruktoz miktarı 0,69 g/kg, sakkaroz miktarı ise 1,31 g/kg olarak kaydedilmiştir. Serpen ve Gökmen (2009) ise kuru madde üzerinden glukoz miktarını 3,41 g/kg, fruktoz miktarını ise 2,12 g/kg olarak tespit etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada farklı patates çeşitleri içerisinde Agria’nın toplam indirgen şeker içeriği 2,11 g/kg olarak bulunurken glukoz miktarı 1,23 g/kg olarak bulunmuştur ve kullanılan farklı çeşit patateslerin genel olarak fruktoz miktarının

glukoza göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Shojaee-Aliabadi ve ark., 2013). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar literatürle paralellik göstermektedir.

Tablo 4.1. Taze kesilmiş patatese ait renk, nem, şeker, tiyol, PPO aktivite, AA, TFM ve antioksidan aktivite içerikleri

Patatesin özellikleri			
L*	75,42±0,93	GSH (μmol/100 g)	1,29±0,11
a*	3,89±0,21	CYS (μmol/100 g)	-
b*	28,29±1,80	NAC (μmol/100 g)	1,59±0,17
%Nem	82,01±0,24	AA (mg/100 g)	85,53±4,44
Glukoz (g/kg)	7,45±0,32	TFM (mg GAE/100 g)	276,72±21,00
Fruktoz (g/kg)	3,16±0,24	DPPH (mg troluks/100 g)	28,78±0,43
Sakkaroz (g/kg)	8,16±0,08	FRAP (mg FeSO₄/100 g)	139,14±10,32
PPO (U/mL)	460,00±50,00	CUPRAC (mg troluks/100 g)	812,15±7,37

Taze kesilmiş meyve ve sebzelerde, kabuk soyma ve dilimleme işlemiyle oluşan doku hasarı; enzim, fenolik bileşikler ve havanın oksijenini bir araya getirerek istenmeyen enzimatik esmerleşme reaksiyonlarının meydana gelmesine sebep olmaktadır. Esmerleşmeden sorumlu en önemli enzim PPO'dur ve patatese uygulanan ön işlemler (soyma, kesme) sonrasındaki aktivitesi 460,00 U/mL olarak belirlenmiştir. Mercimek ve ark. (2015), patatesten PPO enzimini izole etmiş ve aktivitesindeki değişimi incelemişlerdir. PPO aktivitesi, kateşol substratı kullanılarak 0. dakika 343 U/mL olarak belirlenirken 5 dakika sonunda 1340 U/mL değerine ulaşmıştır. Meyve ve sebzelerde bulunan birçok farklı fenolik bileşik PPO enziminin substratı olarak görev yapmaktadır. Kullanılan materyale göre fenolik bileşiklerin türü ve miktarı oldukça geniş aralıkta değişmektedir. Dopamin, kateşol, klorojenik asit, kafeik asit, tirozin PPO için literatürde kullanılan farklı substratlardır ve enzim

aktivitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Wai Wong ve ark., 2012). Bu çalışmada, patatestey yaygın şekilde bulunan kateşol substratı kullanılmıştır.

Gıdalardaki tiyol konsantrasyonu, yetiştirme koşulları, mevsimsel ve coğrafi farklılıklar, bitki türü, proses, depolama ve hazırlama koşulları gibi faktörlerden etkilenmektedir. Biyoaktif bileşikler olan tiyollerden bu çalışmada kullanılan patates çeşitinde, kromatografik olarak GSH (1,29 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$) ve NAC (1,59 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$) belirlenirken CYS tespit edilememiştir. Zencefil, kuşkonmaz, ıspanak gibi sebzelerle karşılaştırıldığında patatestey bulunan tiyol miktarı oldukça düşüktür. Demirkol ve ark. (2004), farklı gıdalarla yaptıkları çalışmalarında patatestey tiyollerden sadece GSH'yi (0,5 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ (yeniden hesaplanmış) tespit etmiştir. Yine patatesin GSH ve CYS içeriğinin artırılmasının amaçlandığı bir çalışmada, kontrol örneğinde GSH miktarı yaklaşık 30 nmol/g, CYS içeriği ise yaklaşık 0,4 nmol/g olarak belirlenmiştir (Stiller ve ark., 2007). Patatesteki tiyol içeriği, yapılan çalışmalarda farklılık gösterse de ortak özellik olarak miktarlarındaki düşüklükle göze çarpmaktadır.

Patates, metabolizma için ucuz enerji kaynağı olması nedeniyle Avrupa ve diğer birçok ülkede en yaygın tüketilen sebzedir. Bu nedenle bazı sebze ve meyvelere göre daha az askorbik asit içerse de tüketim miktarına bakıldığında günlük C vitamini alımının önemli bir kısmını karşılamaktadır. Patates çeşitleri, depolama şartları, hasat şekli ve iklim şartları gibi birçok etken gıdaların C vitamini miktarını etkilemektedir ancak çiğ patatesteki miktarının yaş ağırlık üzerinden ortalama 20 mg/100 g olduğu bilinmektedir (Brown, 2005). Yine farklı patates çeşitleri ile yapılan bir çalışmada AA içeriklerinin 13,1 ile 31,2 mg/100 g aralığında değiştiği belirlenmiştir (Cornacchia ve ark., 2011). Bu çalışmada kullanılan patatesteki C vitamini içeriği kuru maddede 85,53 mg/100 g, yaş ağırlık olarak ise 15,40 mg/100 g olarak ortalama değere yakın miktarda tespit edilmiştir.

Fitokimyasallar, meyve, sebze ve diğer bitkisel kökenli gıdalarda bulunan biyoaktif bileşiklerdir ve genellikle karotenoidler, fenolikler, alkaloidler ya da organosülfürler olarak sınıflandırılmaktadır. İnsan beslenmesinde oldukça fazla tüketilen patates, bu fitokimyasallar arasında önemli bir yere sahip olan fenolik bileşikleri içermektedir.

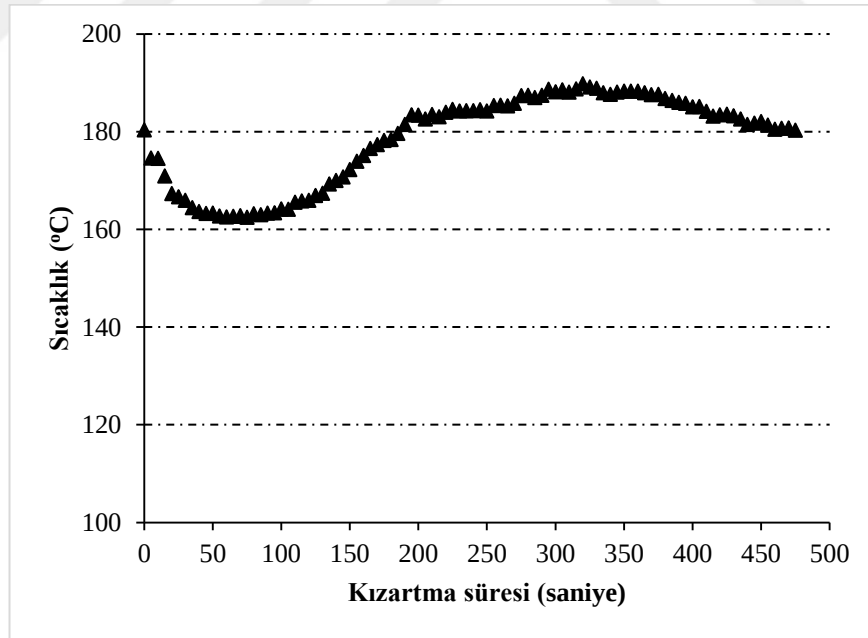
Fenolik asitler, patatestte en baskın bulunan fenolik bileşiklerdir. Patatestteki fenolik asitlerin %90'ını kafeik asit ve kinik asitin esteri olan klorojenik asit oluşturmaktadır. Bunun dışında kafeik asit, ferulik asit, gallik asit ve kumarik asitin de patatestte düşük miktarlarda var olduğu rapor edilmiştir. Flavonoidlerden ise en çok kateşini, daha sonra kuersetin ve kaempferol rutinozu barındırmaktadır (Akyol ve ark., 2016). Bu çalışmada patatesin TFM içeriği spektrofotometrik olarak belirlenmiştir ve kuru madde üzerinden 276,72 mg GAE/100 g, yaş ağırlık üzerinden hesaplandığında ise 49,81 mg GAE/100 g olarak bulunmuştur. Farklı çeşitte patateslerin kimyasal kompozisyonlarının incelendiği bir çalışmada Agria çeşiti için belirlenen TFM miktarının 37,2 mg GAE/100 g yaş ağırlık olduğu rapor edilmiştir (Cabezas-Serrano ve ark., 2009). Song ve ark. (2010), Amerika'da sıklıkla tüketilen 27 sebzenin fenolik maddesini ve antioksidan kapasitesini araştırdıkları çalışmalarında patatesin TFM miktarını yaş ağırlık üzerinden 24,2 mg GAE/100 g olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada sebzelerin TFM içeriklerinin diyet katkısı incelenmiş ve patatesin diğer çoğu sebze göre fenolik madde miktarı düşük olmasına rağmen diyet katkısının çok yüksek (%24,8) olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebi, Amerikan beslenmesinde patates tüketiminin önemli bir yer tutması olarak açıklanmıştır. Bu çalışmada, TFM içeriğinin yanında patatesin antioksidan kapasitesi, 3 farklı yöntemle belirlenmiştir. Patatesin antioksidan aktivitesi, örneklerin kuru madde içeriklerine göre hesaplandığında DPPH radikal süpürme aktivitesine göre 28,78 mg Troloks/100 g, FRAP yöntemine göre 139,14 mg FeSO₄/100 g ve CUPRAC yöntemine göre 812,15 mg Troloks/100 g olarak tespit edilmiştir. Cabezas-Serrano, ve ark. (2009), 5 farklı patates çeşitinin taze kesilmiş ürün olarak uygunluğunu inceledikleri çalışmalarında patateslerin kimyasal kompozisyonlarını belirlemişlerdir. Agria çeşiti patatesin antioksidan aktivitesi (DPPH radikal süpürme yöntemi ile) 18,8 mg Troloks/100 g yaş ağırlık olarak rapor edilmiştir ki bu değer çalışmamızda bulunan değerden (5,18 mg Troloks/100 g yaş ağırlık) daha yüksektir. Aslında patatesin antioksidan kapasitesinin, ıspanak, kuşkonmaz gibi sebzelerden çok daha düşük olduğu bilinmektedir, ancak yüksek tüketim oranı biyoaktif bileşiklerin alımına önemli katkıda bulunmaktadır (Song ve ark., 2010).

4.2. Patatesin Kızartma Koşullarının Belirlenmesi

Bu çalışmada, kızartma işleminde uygulanacak patates/yağ oranı ve kızartma sıcaklığı literatür araştırmalarına dayanarak belirlenmiştir. Kızartma yağına eklenen patatesin miktarı başlangıç sıcaklığındaki düşüşü belirlemekte ve bu da ürünün kalitesini etkileyen en önemli kriterlerden biri olmaktadır. Genel kural olarak, yağa eklenen patates miktarı, sıcaklığı 140°C'nin altına düşürmemelidir. Sıcaklık düştükçe kızartma süresi uzamakta ve patatesler yumuşak, yağlı olmaya meyil göstermektedir. 200 g/L patates/yağ oranı (%20), sıcaklığın 130°C'lere kadar düşmesine neden olmaktadır. Fiselier ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada 2 litre yağ 170°C ve 190°C'lerde farklı miktarlarda patates eklemişlerdir. Patates miktarı arttıkça kızartma yağının son sıcaklığının düştüğü, kızartma süresinin uzadığı ve akrilamid oranının da azaldığı belirlenmiştir. Kızartma sırasında oluşan akrilamidin tamamına yakını kızartmanın ikinci yarısında meydana geldiği bilinmektedir. Bu nedenle patates/yağ oranı arttığında sıcaklık düşmüş ve akrilamid daha az oluşmuştur. Ancak ürünler duyusal olarak değerlendirildiğinde kabul edilebilir limitin son sıcaklığın 140-145°C'ye ulaştığı ürünler (~200 g patates /2 L yağ) olduğu belirlenmiştir. Patates yağ oranında %10 kuralı hem sıcaklığın kontrolünde hem de verimde genel olarak kabul edilen değerdir. Bu nedenlerden dolayı, 100 gram patates kızartmak için 1 L yağ kullanılması tercih edilmiştir. Kızarmış patatesten akrilamid oluşumu uygulanan sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Yağın sıcaklığı arttıkça oluşan akrilamid miktarı da artmaktadır. Literatürde çok farklı sıcaklıklarda patates kızartma çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada gerçek kızartma koşullarını yansıtmak amacıyla sıcaklık 180°C olarak belirlenmiştir (Romani ve ark., 2008).

Veri kaydedici kullanarak kızartma süresince her 5 saniyede bir kaydedilen sıcaklık verileri Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Elde edilen son sıcaklıklar 3., 4., 6. ve 8. dakikalarda sırasıyla 175,5°C, 183,6 C, 178,8°C ve 180,3°C olarak belirlenmiştir. Kızartmanın başlangıcında yağın sıcaklığı, patates dilimlerinin fritöz içine atılmasıyla birlikte hızlı bir şekilde düşüş gösterse de 160°C'nin altına düşmediği görülmektedir. Yaklaşık üç dakika sonrasında ise tekrar 180°C'ye ulaşmıştır. Ayrıca kızartma sırasında uygulanacak süreyi belirlemek amacıyla patatesler 3, 4, 6 ve 8

dakika boyunca kızartılmış, ürünlere renk, kuru madde, toplam yağ analizleri uygulanmıştır. Renk analizi sonuçlarına göre, işlem uygulanmayan patatesin L^* değeri 75,42 olarak ölçülmüştür. Kızartmanın ilk 3 dakikasında parlaklık değerinde önemli bir azalma gözlenmemiştir. Ancak 4., 6. ve 8. dakikalarda L^* değerlerinin 72,81, 69,02 ve 65,07 olduğu kaydedilmiştir. Kızartma süresinin uzamasıyla birlikte patateslerin rengindeki kararma giderek artmıştır ve farkın önemli olduğu görülmüştür. Patateslerin a^* değerleri incelendiğinde 3., 4. ve 6. dakikalarda taze örneğe göre önemli bir değişiklik olmadığı görülmüş, sekizinci dakikada ise kırmızılık artmıştır. Taze patatesin nem değeri %82,01 olarak belirlenmiştir. Nem değeri kızartma süresi arttıkça azalmış ve 8 dakika sonunda %55,79'a kadar düşmüştür. Toplam yağ analizi sonuçları kuru madde üzerinden hesaplanmış ve taze patatesten yağ içeriği %0,90 bulunmuştur. Kızartmanın 3. ve 4. dakikalarında yağ oranı değişmezken, 4. dakikadan sonra hızla artmış ve 6 dakika sonunda %14,25, 8 dakika sonunda ise %15,29'a ulaşmıştır. Yapılan tüm analizler değerlendirildiğinde kızartma süresinin 6 dakika olmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.1. Kızartma süresi boyunca elde edilen sıcaklık değişimi

4.3. Renk Değerleri ve PPO Aktivitesi

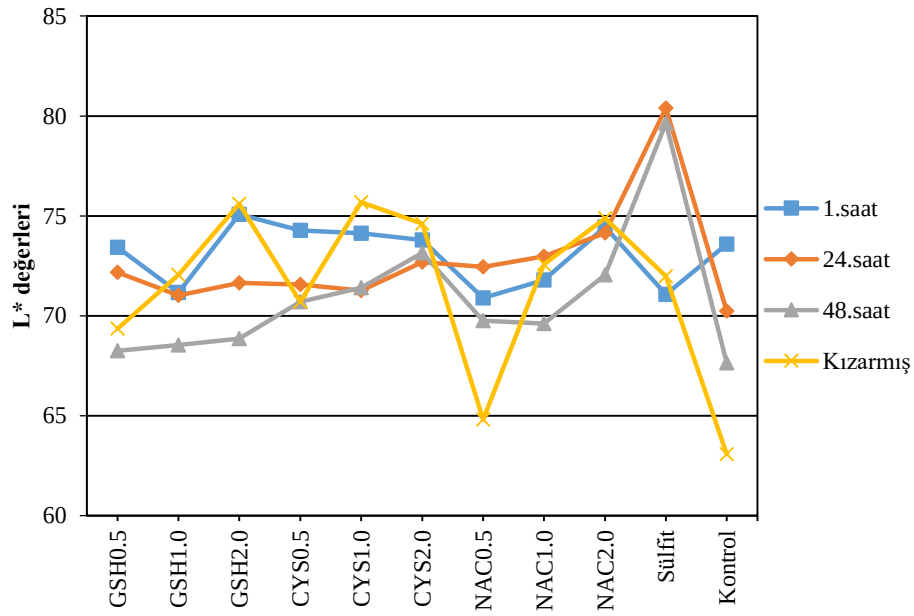
Patatesler soyulup dilimlendikten sonra GSH, CYS ve NAC'nin farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerine daldırılmış ve fazla çözeltinin uzaklaşması için 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında depolanan patateslerin 24. ve 48. saatte analizleri gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında depolama esnasında nem kaybı ve renkte kararın nedeniyle depolama 48 saatte sonlandırılmıştır. Ayrıca, derin yağda kızartma sonrasındaki değişimleri belirlemek için oda sıcaklığında 1 saat bekletilen patatesler 180°C'de 6 dk süre ile kızartılmıştır. Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmamış olup sodyum metabisülfid çözeltisine daldırılan örnekler tiyol çözeltilerinin etkinliğini karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır. Tüm gruplara ait örneklerin parlaklığını gösteren L* değerleri Tablo 4.2.'de, değişimleri ise Şekil 4.2.'de verilmiştir. Daldırma işleminden 1 saat sonra örneklerin L* değerleri 70,89-75,07 arasında değişmektedir. Depolamanın 24. ve 48. saatlerinde örneklerin parlaklığında azalma görülürken sülfid ile muamele edilen örnekte önemli artış görülmüştür. Sülfidin ağartıcı etkisi her iki depolama periyodunda en yüksek L* değerine sahip olmasını sağlamıştır. Benzer bir sonuç Cárcel ve ark. (2010) tarafından hurmanın kurutulması esnasında potasyum metabisülfid çözeltisine daldırılan örneklerde tespit edilmiştir. 48. saatin sonunda en düşük L* değerine kontrol grubu sahip olurken en yüksek değerler sülfitten sonra sırasıyla CYS2.0 ve NAC2.0 ile muamele edilen örneklerde kaydedilmiştir. Vilas-Boas ve Kader (2006), taze kesilmiş muz dilimlerinin depolanmasında daldırma çözeltilerinin etkisini incelemiştir. Muz dilimleri %1 CaCl₂ + %1 AA ve farklı oranlarda CYS içeren çözeltilere 2 dakika süre ile daldırılmış ve depolanmıştır. CYS'nin düşük konsantrasyonlarda kullanıldığı çözeltilerde (<%0,5) muz dilimlerinde pembe rengin oluşması artarken, konsantrasyon %1 olduğunda esmerleşme 7 güne kadar inhibe edilmiş ve daha yüksek L* değerleri elde edilmiştir.

Tablo 4.2. Depolanan ve kızartılan patateslerin L* değerleri

Muamele	L* değerleri			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	73,43±1,57 ^{abcA}	72,18±0,24 ^{bcA}	68,25±0,35 ^{deB}	69,35±1,50 ^{d*}
GSH1.0	71,17±0,86 ^{bcA}	71,02±0,02 ^{bcA}	68,54±0,17 ^{deB}	72,05±1,30 ^{bc}
GSH2.0	75,07±1,10 ^{aA}	71,64±1,13 ^{bcB}	68,86±0,16 ^{deC}	75,60±1,02 ^a
CYS0.5	74,27±0,80 ^{abA}	71,57±1,60 ^{bcB}	70,70±4,98 ^{cdB}	70,70±1,13 ^{cd*}
CYS1.0	74,13±1,58 ^{abA}	71,27±1,74 ^{bcB}	71,41±2,70 ^{cB}	75,68±0,90 ^a
CYS2.0	73,79±1,76 ^{abcA}	72,68±0,45 ^{bcA}	73,15±0,50 ^{bA}	74,61±0,36 ^a
NAC0.5	70,89±1,92 ^{cB}	72,45±2,27 ^{bcA}	69,75±2,20 ^{cdeB}	64,80±0,89 ^{c*}
NAC1.0	71,79±0,97 ^{bcA}	72,97±2,66 ^{bcA}	69,62±1,38 ^{cdeB}	72,58±0,83 ^b
NAC2.0	74,45±1,4 ^{abA}	74,15±1,14 ^{bA}	72,04±1,63 ^{abB}	74,89±1,39 ^a
Sülfite	71,07±1,05 ^{bcB}	80,40±2,91 ^{aA}	79,64±1,95 ^{aA}	71,98±1,38 ^{bc}
Kontrol	73,58±0,93 ^{abcA}	70,24±1,61 ^{cB}	67,64±0,90 ^{cC}	63,07±0,38 ^{f*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu göstermektedir. * işareti ise kızartma işlemi sonrasında farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir.

Kızartma işlemiyle patateslerde görülen renk değişikliği L* değerlerine yansımıştır. Patatesin yüksek sıcaklıkta kızartılması sonucunda oluşan esmerleşme reaksiyonu, L* değerlerinin azalmasına sebep olmaktadır. En düşük L* değeri kontrol örneğinde, en yüksek L* değerleri ise CYS1.0, GSH2.0, CYS2.0, NAC2.0 çözeltilerine daldırılıp kızartılan örneklerde görülmüştür. Kızartma sırasında L* değerinin azalması patateslerin kararması anlamına gelmektedir (Serpen ve Gökmen, 2009). Ancak tiyol çözeltileri ile kararma önemli derecede önlenmiştir ki yukarıda bahsi geçen tiyollere daldırılan örneklerin kızartma öncesi ve sonrası parlaklık değerleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p<0,05$).



Şekil 4.2. Depolanan ve kızartılan patateslerin L* değerlerindeki değişim

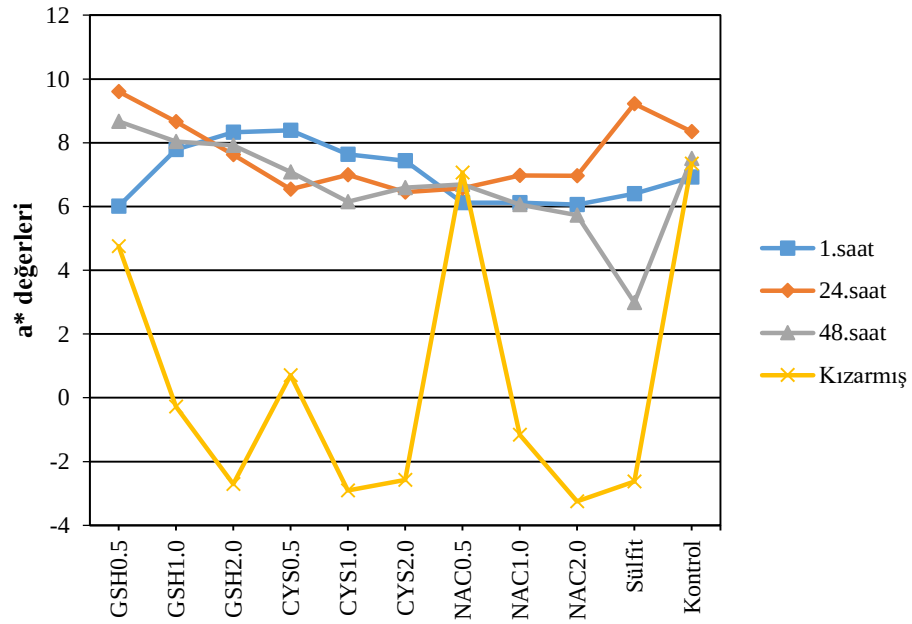
Oda sıcaklığında depolanan ve kızartılan patateslerin a^* değerleri Tablo 4.3.'de, değişimleri ise Şekil 4.3.'de verilmiştir. Depolanan örneklerin a^* değerlerine bakıldığında uygulamalar arası farklılıklara göre 1. saatte 6,01-8,39, 24. saatte 6,45-9,60, 48. saatte ise 2,99-8,64 arasında değiştiği belirlenmiştir. 1. saatte örnekler arasında fark genel olarak az olurken 24. saatte en yüksek değere sahip olan örnek, GSH0.5 ile muamele edilen patates olduğu görülmektedir. Depolamanın sonunda sülfür çözeltilisine daldırılan örnekte düşüş olurken diğer örneklerin a^* değerleri depolama süresince istatistiksel olarak önemli değişiklik göstermemiştir. a^* değerindeki artış kırmızılığın arttığını belirtmektedir. Sülfür ile muamele edilen örneğin daha düşük a^* değerine sahip olmasının sebebinin yine ağartıcı etkisinden olduğu düşünülmektedir. Kızartma işlemiyle NAC0.5 ve kontrol grubu hariç diğer örneklerin a^* değerlerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Patates cipslerinde enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu sebebiyle kızartma süresi arttıkça kırmızılık (CIE a^* parametresi) artmaktadır. Tüketici tercihleri doğrultusunda bakıldığında, pratik olarak CIE a^* parametresinin 20 değerinden yüksek olması patates cipslerinde altın sarısından ziyade kahverenginin ağırlık kazanmaya başladığını belirtmektedir (Serpen, 2010). Çalışmada hiçbir örneğin a^* değeri bu kritik değeri geçmemiş aksine tiyol ile muamele edilen örneklerin birçoğunun a^*

değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bu sonuç kızartılmış patateslerde istenilen bir durumdur.

Tablo 4.3. Depolanan ve kızartılan patateslerin a* değerleri

Muamele	a* değerleri			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	6,01±0,84 ^{cC}	9,60±0,30 ^{aA}	8,67±0,66 ^{aB}	4,75±2,34 ^b
GSH1.0	7,79±0,86 ^{abA}	8,66±0,80 ^{abcA}	8,04±0,35 ^{abA}	-0,28±0,01 ^{cd*}
GSH2.0	8,33±0,74 ^{aA}	7,63±0,76 ^{cdA}	7,92±1,08 ^{abcA}	-2,71±0,66 ^{ef*}
CYS0.5	8,39±0,56 ^{aA}	6,54±1,60 ^{dA}	7,08±0,83 ^{cdA}	0,71±0,02 ^{c*}
CYS1.0	7,64±0,65 ^{abcA}	6,99±0,33 ^{dA}	6,15±0,55 ^{efA}	-2,91±0,90 ^{ef*}
CYS2.0	7,44±0,62 ^{abcA}	6,45±0,38 ^{dA}	6,59±0,23 ^{defA}	-2,58±0,92 ^{ef*}
NAC0.5	6,12±0,68 ^{cA}	6,57±0,42 ^{dA}	6,69±0,33 ^{deA}	7,06±0,98 ^a
NAC1.0	6,12±0,52 ^{cA}	6,97±0,08 ^{dA}	6,06±0,30 ^{efA}	-1,16±0,67 ^{de*}
NAC2.0	6,06±0,81 ^{cA}	6,96±0,75 ^{dA}	5,73±0,16 ^{fA}	-3,25±0,50 ^{f*}
Sülfite	6,42±0,21 ^{bcB}	9,22±0,97 ^{abA}	2,99±0,54 ^{gC}	-2,63±0,80 ^{ef*}
Kontrol	6,92±0,57 ^{abcA}	8,35±1,81 ^{bcA}	7,51±0,52 ^{bcdA}	7,34±1,63 ^a

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu göstermektedir. * işareti ise kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir.



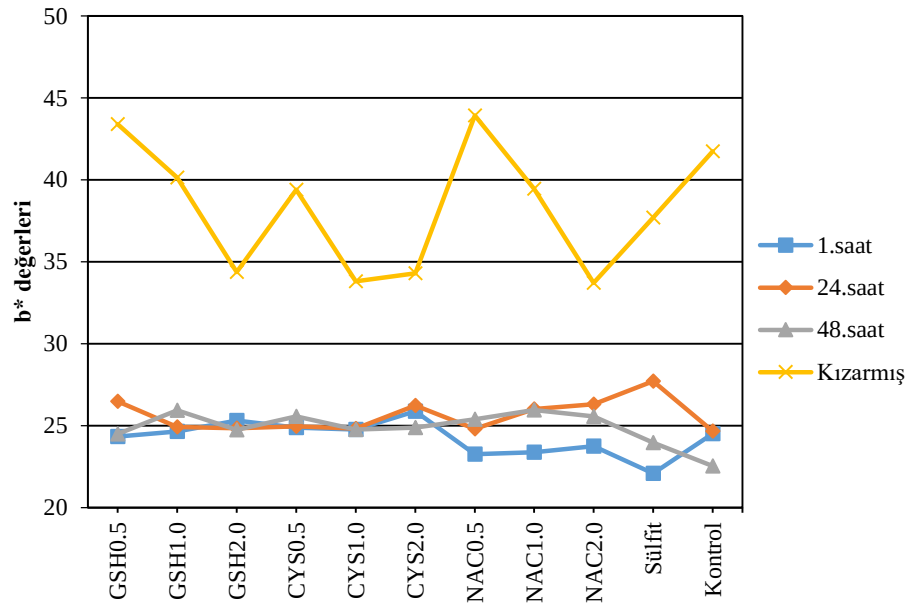
Şekil 4.3. Depolanan ve kızartılan patateslerin a* değerlerindeki değişim

Patateslere ait b* değerleri ise Tablo 4.4. ve Şekil 4.4.'de verilmiştir. b* değerleri 1. saatte 22,08-25,87; 24. saatte 24,66-27,71; 48. saatte ise 22,53-25,96 arasında değişmektedir. Enzimatik esmerleşmenin etkisini belirlemek için 48 saat boyunca depolanan patateslerin b* değerlerinde hem satır hem de sütun boyunca farkın genellikle önemli olmadığı görülmektedir. Yani depolama sırasında patateslerin b* değerleri değişmemiş, ayrıca örnekler arasında da önemli farklar oluşmamıştır. Ancak kızartma işlemiyle tüm grupların b* değerlerinde artış gözlenmiştir ve bu durum sarılığın arttığını göstermektedir.

Tablo 4.4. Depolanan ve kızartılan patateslerin b* değerleri

Muamele	b* değerleri			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	24,33±1,84 ^{abA}	26,48±0,56 ^{abA}	24,49±0,39 ^{abA}	43,40±0,27 ^{a*}
GSH1.0	24,64±1,21 ^{abA}	24,92±1,15 ^{bA}	25,93±0,59 ^{aA}	40,15±1,14 ^{abc*}
GSH2.0	25,32±1,05 ^{abA}	24,85±0,01 ^{bA}	24,75±0,62 ^{abA}	34,38±1,71 ^{de*}
CYS0.5	24,88±1,10 ^{abA}	24,96±1,43 ^{bA}	25,57±2,70 ^{aA}	39,40±4,17 ^{bc*}
CYS1.0	24,77±1,06 ^{abA}	24,83±0,22 ^{bA}	24,77±0,63 ^{aA}	33,81±3,82 ^{e*}
CYS2.0	25,87±2,02 ^{aA}	26,23±0,04 ^{abA}	24,88±0,29 ^{aA}	34,29±4,02 ^{de*}
NAC0.5	23,26±1,11 ^{bcA}	24,81±0,13 ^{bA}	25,38±0,45 ^{aA}	43,93±0,98 ^{a*}
NAC1.0	23,37±1,08 ^{bcB}	26,01±0,93 ^{abA}	25,96±0,24 ^{aA}	39,45±1,09 ^{bc*}
NAC2.0	23,75±1,40 ^{bcA}	26,30±0,68 ^{abA}	25,57±0,70 ^{aA}	33,71±1,50 ^{e*}
Sülfite	22,08±0,26 ^{cC}	27,71±1,45 ^{aA}	23,97±1,12 ^{abB}	37,70±1,92 ^{cd*}
Kontrol	24,51±1,80 ^{abA}	24,66±1,32 ^{bA}	22,53±0,94 ^{bA}	41,75±1,65 ^{ab*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu göstermektedir. * işareti ise kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. Depolanan ve kızartılan patateslerin b* değerlerindeki değişim

Görünüş tüketicilerin gıda kalitesi algısında önemli bir faktördür ve taze kesilmiş ürünlerin görünüşü enzimatik esmerleşme sırasında oluşan renk bileşiklerinden dolayı olumsuz açıdan etkilenmektedir. ΔE değeri, iki renk arasındaki farklılığı temsil etmektedir ve 4-6 arasında değiştiğinde, gözle algılanabilir seviyeye geldiği düşünülmektedir (Cabezas-Serrano ve ark., 2009). Bu çalışmada ΔE değerleri, patates kesildikten hemen sonraki rengi ile 24 ve 48. saatlerdeki renk değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Patateslerin enzimatik esmerleşmesi sonucunda toplam renk değişimini ifade eden ΔE değerleri Tablo 4.5. ve Şekil 4.5.'te görüldüğü gibidir.

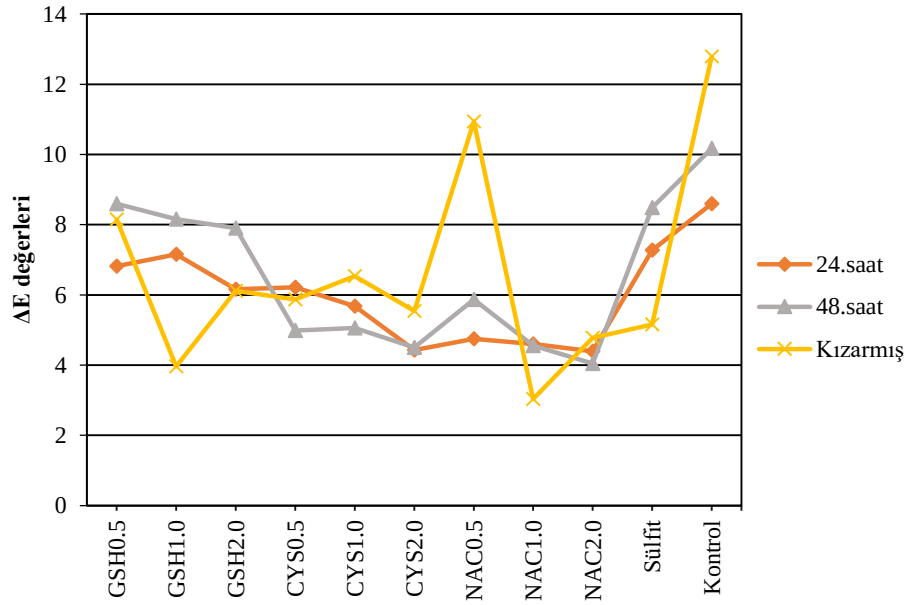
Her iki depolama periyodunda da en yüksek ΔE değerleri hiçbir işlem uygulanmamış kontrol grubunda ardından ise sülfitle muamele edilen grupta belirlenmiştir. Hesaplama aynı L_0 değerlerinin kullanıldığı düşünüldüğünde sülfite ile muamele edilen örnekteki yüksek L^* değeri, ΔE değerindeki farkı açıklamaktadır. NAC ve CYS çözeltileri ile muamele edilen örneklerde (NAC0.5 hariç) depolama sonunda en az renk değişimi olduğu tespit edilmiştir. Ancak GSH çözeltisine daldırılan ve depolanan örneklerde diğer tiyol ile muamele edilen örneklere göre daha yüksek ΔE değerleri saptanmıştır. Kızarmış patateslerin ΔE değerleri incelendiğinde ise en yüksek değer yine kontrol grubunda olduğu (12,79), en düşük değerlerin ise NAC1.0 (3,03), GSH1.0 (3,96) ve NAC2.0 (4,78) örneklerinde olduğu

görülmektedir. Cornacchia ve ark. (2011), 4 farklı patatesin taze kesilmiş patates olarak kullanımına uygunluğunu karşılaştırmıştır. Patatesleri 5°C ve 20°C’de depolamışlar ve ΔE değerlerindeki değişimi incelemişlerdir. Altı günlük depolama boyunca patateslerin ΔE değerleri artmış ve en yüksek değerin yaklaşık 15 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 20°C’de depolanan patateslerin bir çeşitinde değişim 1. gün sonunda, diğerlerinde ise 2. gün sonunda fark edilebilir düzeye geldiği rapor edilmiştir. Benzer olarak çalışmamızda da kontrol grubundaki değişimin 24 saat sonunda fark edilebilir seviyeye (8,6) geldiği görülmektedir.

Tablo 4.5. Depolanan ve kızartılan patateslerin ΔE ve PPO değerleri

Muamele	ΔE			PPO (U/ml)	
	24.saat	48.saat	Kızarmış	24.saat	48.saat
GSH0.5	6,82±0,03 ^{bc}	8,60±0,29 ^{ab*}	8,15±1,16 ^b	1695±5 ^a	1990±40 ^{b*}
GSH1.0	7,16±0,32 ^b	8,16±0,02 ^{b*}	3,96±0,69 ^{de}	1180±40 ^c	1700±30 ^{c*}
GSH2.0	6,16±0,39 ^{bc}	7,90±0,92 ^b	6,12±1,14 ^c	1420±120 ^b	2015±65 ^{b*}
CYS0.5	6,22±0,24 ^{bc}	4,99±0,44 ^{c*}	5,87±1,10 ^{cd}	725±5 ^d	1220±20 ^{e*}
CYS1.0	5,68±0,02 ^{cd}	5,06±0,94 ^c	6,54±2,86 ^{bc}	105±0 ^f	-
CYS2.0	4,43±0,51 ^d	4,50±0,65 ^c	5,54±1,05 ^{cd}	-	-
NAC0.5	4,75±0,48 ^d	5,87±1,02 ^{bc}	10,94±0,59 ^a	1095±0 ^c	1950±20 ^{b*}
NAC1.0	4,60±0,32 ^d	4,56±1,77 ^c	3,03±0,87 ^e	495±0 ^e	1480±40 ^{d*}
NAC2.0	4,39±0,04 ^d	4,05±0,59 ^c	4,78±1,33 ^{cde}	-	180±30 ^f
Sülfite	7,27±0,18 ^b	8,49±0,08 ^{ab*}	5,16±0,80 ^{cd}	-	-
Kontrol	8,60±0,28 ^a	10,17±0,92 ^{a*}	12,79±0,98 ^a	1090±35 ^c	3225±25 ^{a*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasındaki istatistiki farkın önemli olduğunu göstermektedir. * işareti depolama günleri arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir.



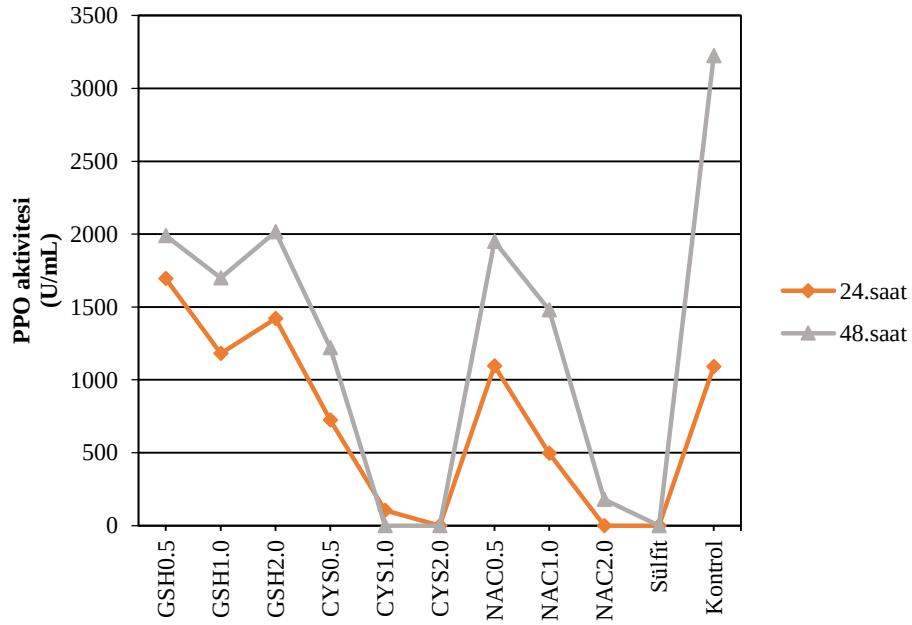
Şekil 4.5. Depolanan ve kızartılan patateslerin ΔE değerlerindeki değişim

Yapılan bir çalışmada, tiyollerin renk değişimi üzerine etkisinin konsantrasyona bağlı olduğu CYS kullanılarak gösterilmiştir (Richard-Forget ve ark., 1992). CYS ortamda yeterli miktarda olduğunda (CYS-fenol oranı 1'den büyük ise), renk değişimi, renksiz CYS-kinon bileşikler oluşturularak engellenebilmektedir. Ancak CYS-fenol oranı 1'den azsa, aşırı miktarda kinon oluşumunun CYS-kinon ürünlerini kookside edeceği ve bu olayın fenol rejenerasyonu ile birlikte renkte kararmaya sebep olacağı belirtilmiştir. Bu çalışmada kullanılan tiyol çözeltileri aynı ağırlık/hacim oranında hazırlanmıştır fakat GSH diğer tiyollerden daha yüksek moleküler ağırlığa sahip olduğu için molar konsantrasyonu daha düşük olmuştur. Bu nedenle patateslerin renginde daha fazla kararmaya sebep olmuş olabilir. Dolayısıyla, GSH ile muamele edilmiş numunelerde gözlenen esmerleşme artışının sebeplerinden biri, seçilen tiyol konsantrasyonlarının olabileceği düşünülmektedir.

Fenolik maddeler, bitkiler tarafından virüs, bakteri, böceklerle karşı kendilerini korumak için sentezledikleri bileşiklerdir ve patates fenolik madde açısından zengindir. Patateste oldukça yüksek oranda bulunan klorojenik asit gibi fenolik bileşikler, PPO tarafından kinon ve diğer bileşiklere okside edilmekte ve sonuç olarak esmerleşme meydana gelmektedir (Akyol ve ark., 2016). Tablo 4.5. ve Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi, işlem uygulanmamış patateslerdeki PPO aktivitesi, 48 saatlik

depolama boyunca artmaktadır. Tiyol ile muamele edilmiş patateslerin (GSH0.5 ve GSH2.0 hariç), kontrol grubuna göre daha düşük enzim aktivitesine sahip oldukları belirlenmiştir. Örnekler arasında PPO aktiviteleri karşılaştırıldığında GSH çözeltilerinin en az inhibisyon sağladığı açıkça görülmektedir. Tam tersine, CYS1.0 ve CYS2.0 gruplarında 48 saat sonunda PPO aktivitesi tamamen durdurulmuştur. NAC2.0 çözeltisi PPO aktivitesini 24 saat sonunda tamamen inhibe etmiş, 48 saat sonunda ise çok az artış görülmüştür. Gacche ve ark. (2006), elmadan izole edilen PPO aktivitesinin inhibe edilmesinde farklı konsantrasyonlarda (0-5mM) CYS'nin etkisini incelemiştir. Hiçbir işlem uygulanmayan kontrol örneğinde aktivite 968 U/mg olarak bulunurken artan CYS konsantrasyonu ile inhibisyon da artmış ve 5 mM CYS konsantrasyonunda 136 U/mg'a kadar azalmıştır. Ancak bunun 4 saatlik depolama süresince geçerli olduğunu, daha sonraki süreçte esmerleşmenin tekrar görüldüğünü belirtmişlerdir. Sebebinin ise CYS'nin (-SH) havadaki oksijenle sistine (-S-S-) okside olması ve PPO'nun yeniden aktivite göstermesi olarak açıklamışlardır. Friedman ve Bautista (1995), Russet cinsi patates süspansiyonlarında PPO aktivitesini %50 azaltmak için gereken sülfid, CYS, NAC ve GSH miktarlarını sırasıyla 0,18; 0,28; 0,29 ve 0,52 mmol/L olarak belirlemiştir. PPO inhibitörlerinin etkinliği, bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Eissa ve ark. (2006), elma suyuna uygulanan düşük konsantrasyonda CYS ve GSH'in esmerleşme üzerine aynı inhibisyon etkisi gösterdiğini ancak yüksek konsantrasyondaki GSH'in sodyum metabisülfitten farklı olmadığını vurgulamışlardır. Malta eriğinden izole edilen PPO'nun tiyol çözeltileri ile inhibisyonun incelendiği bir başka çalışmada, farklı konsantrasyonlarda GSH, CYS ve NAC çözeltileri ile PPO reaksiyona sokulmuş ve aktivitedeki değişim izlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça inhibisyonun da arttığı görülürken 0,1 mM konsantrasyonda, enzimi inaktive etme derecesi CYS>GSH>NAC şeklinde olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada en etkili tiyol olan CYS'nin farklı konsantrasyonlarda esmerleşme üzerine etkisine bakıldığında ise 0,3 mM CYS, model ortamdaki esmerleşmeyi tamamen inhibe etmiştir (Ding ve ark., 2002). Yapılan çalışmalarda sonuçlar arasındaki bazı farklılıklar görülmesinin başlıca sebebi, gıda matrislerinin farklılığıdır. PPO inhibisyonu hakkında genel sonuçlar çıkarmadan önce tiyollerin etkisi, her bir gıda türünde ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Ayrıca tiyollerin dehidroaskorbik asit (DHA) ile reaksiyonu ve

PPO'nun patates nişasta granüllerine bağlanması, enzimatik esmerleşmenin inhibisyonundaki ortaya çıkan farklılıkların diğer sebepleri olarak sıralanabilmektedir (Friedman ve Bautista, 1995). Bu çalışmada, CYS'nin enzim üzerindeki inhibisyon etkisinin oldukça yüksek olması (sülfid kadar) önemli bir sonuç olarak değerlendirilmektedir.



Şekil 4.6. Depolanan patateslerin PPO değerlerindeki değişim

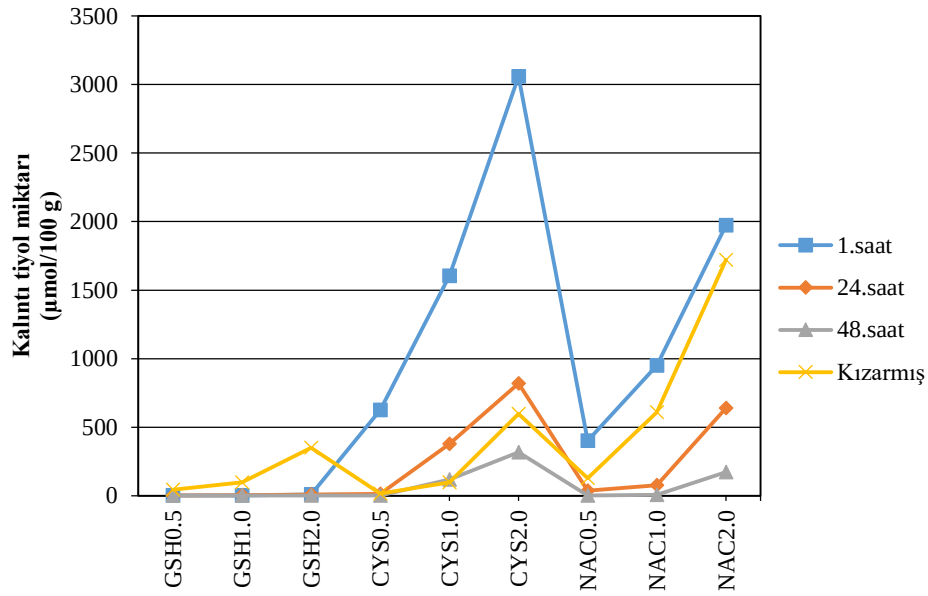
4.4. Kalıntı Tiyol İçeriği

Tiyol bileşiklerinin -SH fonksiyonel grubu, sülfürün en reaktif ve indirgenmiş halini içermektedir. Merkaptan olarak da adlandırılan tiyoller, hücreleri birçok farklı türdeki oksidatif hasara karşı korumaktadır. GSH, CYS ve NAC, farklı biyolojik uygulamalarda en önemli tiyol türlerinden birkaçını oluşturmaktadır. Tiyollerin önemli uygulama alanları, gıdaların antioksidan kapasitesini artırması ve mukolitik ajan olarak kullanılmasıdır (Mokhtari ve ark., 2017; Öztürk ve ark., 2017). Bu çalışmada tiyoller, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan esmerleşme karşıtı ajan olarak kullanılmıştır. Tablo 4.6. ve Şekil 4.7.'de tiyol çözeltilerine daldırılıp çıkartılan örneklerin 1, 24 ve 48 saat sonundaki tiyol içerikleri gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Depolanan ve kızartılan patateslerin kalıntı tiyol içerikleri

Muamele	Tiyol içeriği (μmol/100 g)			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	1,48±0,15 ^{bA}	1,52±0,09 ^{cA}	0,80±0,15 ^{bB}	43,09±4,96 ^{c*}
GSH1.0	1,71±0,02 ^{bB}	2,55±0,01 ^{bA}	0,45±0,23 ^{bC}	97,48±20,61 ^{b*}
GSH2.0	9,31±1,21 ^{aA}	7,58±0,10 ^{aB}	1,95±0,17 ^{aC}	350,53±25,07 ^{a*}
CYS0.5	625,84±53,44 ^{cA}	13,85±0,59 ^{cB}	1,69±0,18 ^{cC}	14,26±1,89 ^{c*}
CYS1.0	1603,83±87,11 ^{bA}	377,74±42,17 ^{bB}	117,29±3,16 ^{bC}	97,39±0,01 ^{b*}
CYS2.0	3059,91±114,40 ^{aA}	819,11±67,00 ^{aB}	315,99±7,78 ^{aC}	597,08±8,32 ^{a*}
NAC0.5	401,46±92,39 ^{cA}	36,61±6,16 ^{cB}	2,22±0,46 ^{bC}	128,41±1,22 ^{c*}
NAC1.0	950,08±35,78 ^{bA}	76,10±6,94 ^{bB}	4,97±1,21 ^{bC}	608,29±53,01 ^{b*}
NAC2.0	1973,84±114,84 ^{aA}	640,23±41,11 ^{aB}	171,70±10,19 ^{aC}	1720,74±173,00 ^a
Sülfıt	-	-	-	-
Kontrol	1,29±0,11; 1,59±0,17	-	-	-

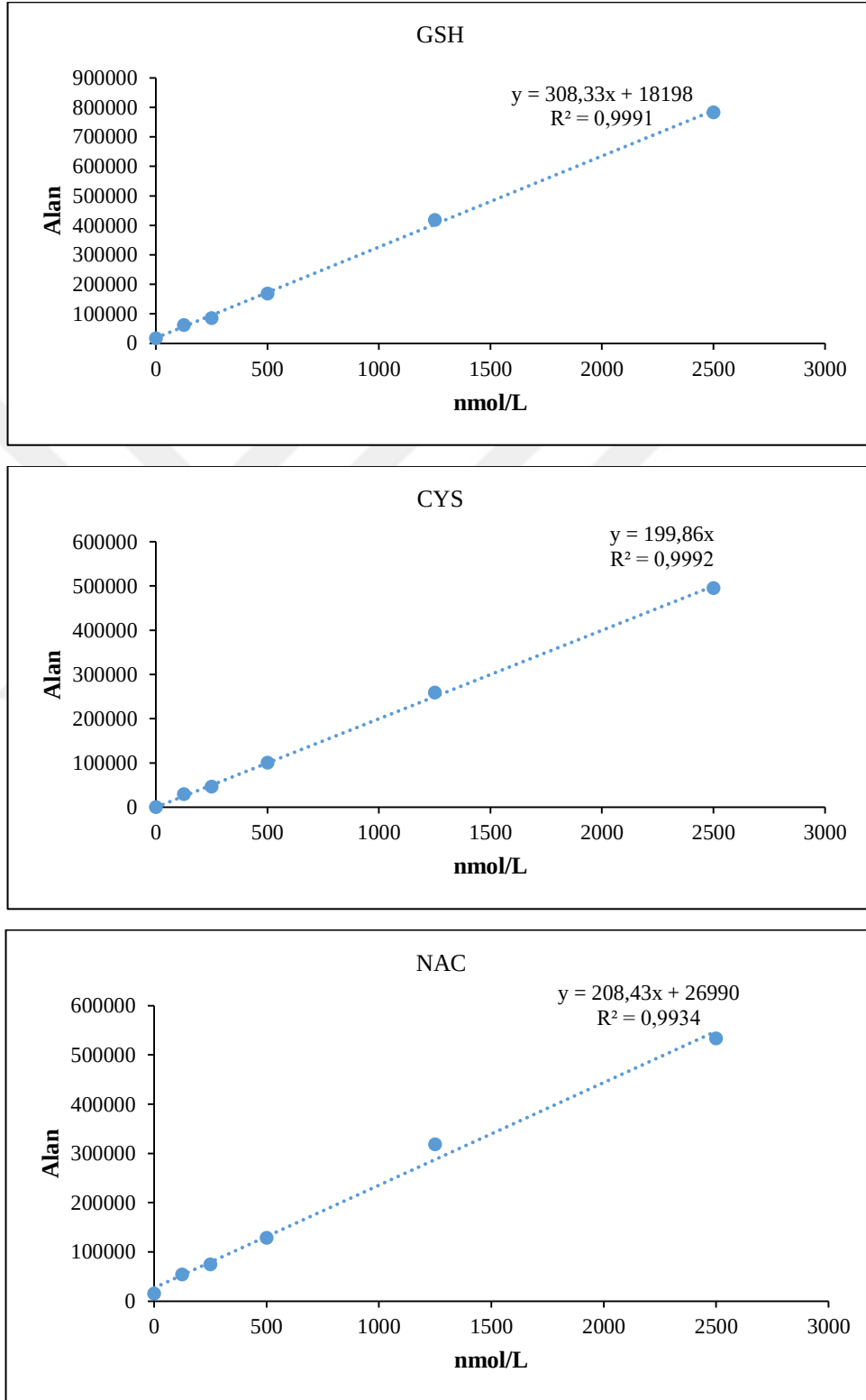
Farklı olan küçük harfler aynı depolama günündeki aynı tiyol grupları arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki istatistiki farkın önemli olduğunu göstermektedir. * işareti ise kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir. Kontrol grubunda 1. saatte GSH miktarı 1,29 μmol/100 g, NAC miktarı ise 1,59 μmol/100 g'dır.



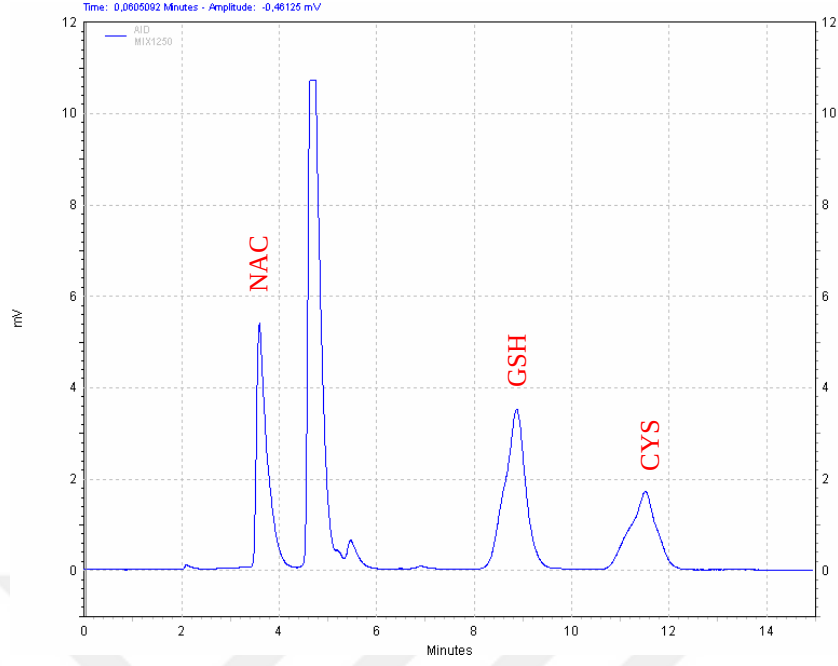
Şekil 4.7. Depolanan ve kızartılan patateslerin tiyol içeriklerindeki değişim

Örneklerin tiyol içeriklerini hesaplarken kullanılan standart eğrileri Şekil 4.8.’deki gibi oluşturulmuştur. Ayrıca miks standart ve tiyol çözeltilerine daldırılan örneklerden bazılarına ait kromotogram görüntüleri de Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.’da verilmiştir. HPLC aracılığıyla tiyollerin ayrımı ve tespit edilmesi, NPM ile türevlendirme işlemi yapılarak gerçekleştirilmiştir (Demirkol ve ark., 2004). Daldırma işleminden bir saat sonra %2,0 konsantrasyonda tiyol çözeltilerinin kullanıldığı örneklerde 9,31 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ GSH, 3059,91 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ CYS ve 1973,84 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ NAC tespit edilmiştir. Kimyasal yapılarındaki farklılıklarından dolayı her bir tiyol bileşiğine istatistiksel analiz ayrı ayrı uygulanmıştır. Depolama boyunca tüm gruplarda kalıntı tiyol miktarının uygulanan konsantrasyonlarla doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. Fakat kalıntı GSH miktarının, CYS ve NAC ile karşılaştırıldığında çok düşük olduğu görülmektedir. Benzer bir sonuç, El Hosry ve ark. (2009) tarafından beyaz şaraba GSH ekledikleri çalışmalarında da rapor edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda eklenen GSH, depolamanın 0. gününde dahi %73’e kadar azalmayla sonuçlanmıştır. GSH oksijene karşı hassastır ve gıdalarda depolama, hazırlama ya da proses esnasında kolaylıkla okside olabilmektedir. Domates ve zencefilin kurutulması ve beyaz şarabın 8 ay boyunca depolanması esnasında önemli oranlarda GSH kaybı yaşandığı, literatürde yapılan diğer

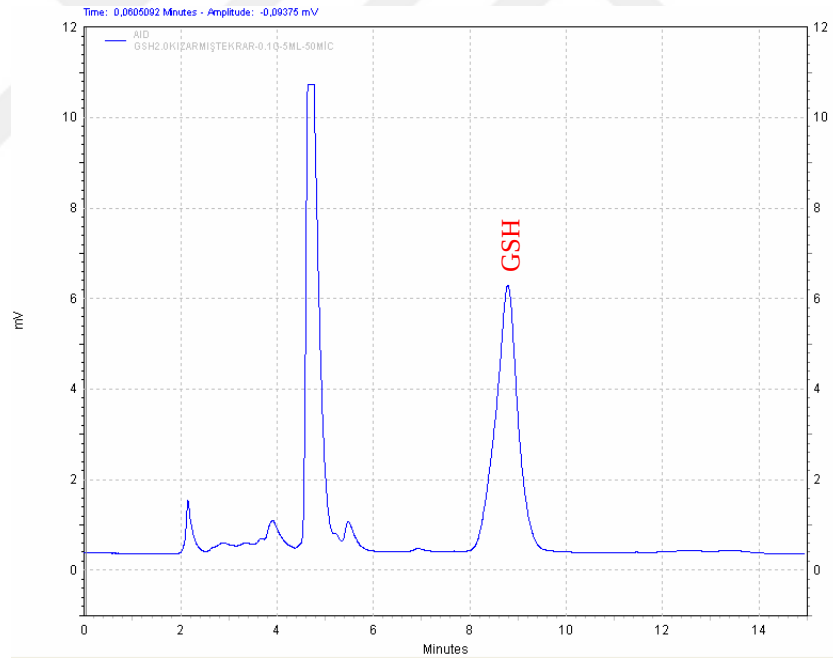
araştırmalarda da rapor edilmiştir (Demirkol ve Ercal, 2011; Ferreira-Lima ve ark., 2016; Gümüşay ve ark., 2015).

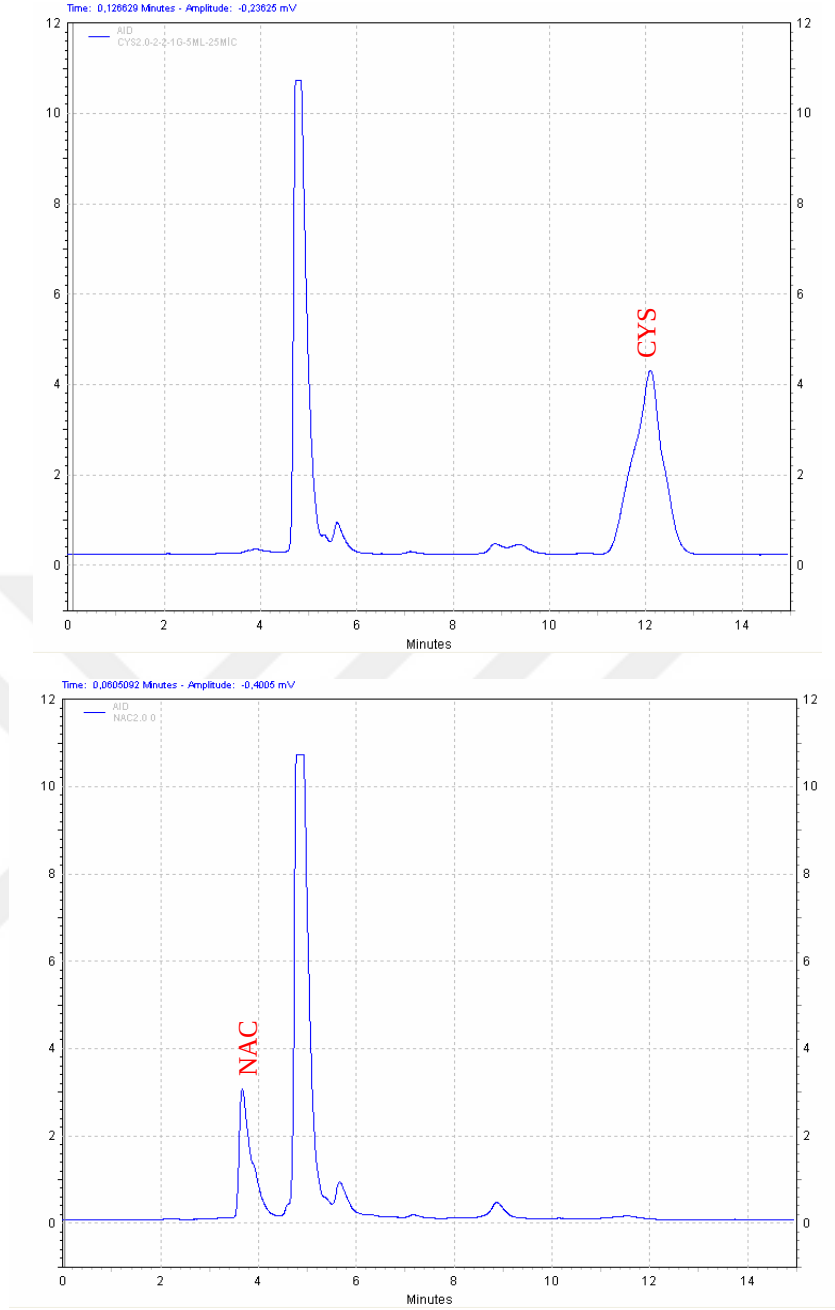


şekil 4.8. GSH, CYS ve NAC'nin HPLC ile analizinde kullanılan standart eğriler



Şekil 4.9. Miks standarda ait kromatogram görüntüsü





Şekil 4.10. GSH, CYS ve NAC'ye daldırılmış örneklerin kromatogram görüntüleri

CYS ve NAC çözeltilerine daldırılan ve depolanan örneklerde de depolama boyunca önemli oranda azalma görülmektedir. CYS2.0 ve NAC2.0 ile muamele edilen örneklerde 48 saat sonunda tiyol miktarları sırasıyla 315,99 $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ 'a (%89,6), 171,70 $\mu\text{mol}/100 \text{ g}$ 'a (%91,3) azaldığı belirlenmiştir. Gorny ve ark. (2002), taze kesilmiş armut dilimlerini %2 AA, %1 kalsiyum laktat ve %0,5 CYS çözeltisine daldırılmış ve 0°C 'de depolarken kalıntı miktarlarını incelemiştir. Armut

dilimlerinin çözeltiyle muameleden hemen sonra AA ve CYS içeriğinin kontrol örneklerinden önemli derecede fazla olduğu rapor edilmiştir. Fakat depolamanın 3. gününde hem AA hem de CYS miktarı, kontrol örneklerindeki seviyeye kadar düşmüştür. CYS'nin, enzimatik esmerleşme inhibisyon mekanizmasındaki rolünün bu azalmaya sebep olabileceğini açıklamışlardır. Ayrıca, çözeltilerin meyve dokusunda, yüzeyden kısa bir mesafeye penetre etmesi ancak örneklerin bütün bir dilim olarak analize alınması, daldırma işleminin hemen sonrasında bile, kalıntı miktarının meyve dokusunda çok az miktarda bulunmasının sebebi olabileceğini belirtmişlerdir. Enzimatik esmerleşme esas olarak yüzeyde olduğu için çözeltilerin çoğunluğunun yüzeyde kalmasının da faydalı olduğu düşünülmektedir.

Kızartma işleminden önce (1. saat) ve sonra elde edilen örneklerin tiyol miktarı Tablo 4.6.'da gösterilmiştir. Her bir örneğin tiyol içeriğinin, hem kızartma işlemi öncesi hem de sonrasında daldırma çözeltilerinin konsantrasyonuyla doğru orantılı olduğu görülmektedir. NAC çözeltisi ile muamele edilen örneklerin kızartma sonrasında kalıntı tiyol miktarlarının diğer tiyollerle karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. CYS ve NAC çözeltilerine daldırılan örneklerin kızartma işlemi sonrasında tiyol içerikleri azalırken GSH çözeltilerine daldırılan örneklerde beklenenin aksine artış gözlenmiştir. Böyle bir durum beklenmediği için tekrar aynı çeşit patates temin edilmiş ve deney bir kez daha tekrarlanmıştır ve aynı sonuç elde edilmiştir. Kızartma sırasında GSH'in açığa çıkması, ısı işlem sırasında farklı bir reaksiyonun olduğunu göstermektedir. Bu durumun, ayrı bir araştırma konusu olarak ele alınması gerektiği düşünülmektedir.

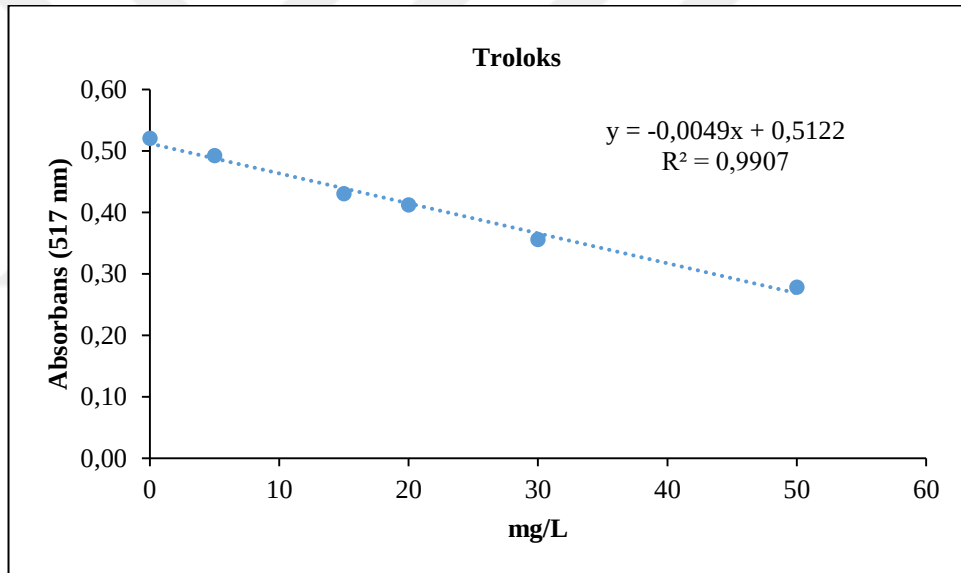
4.5. Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Patates, pirinç, buğday ve mısırdan sonra insan beslenmesi için en önemli dördüncü tarımsal üründür. Makrobesin (karbonhidrat ve protein), mikrobesein (C vitamini, potasyum, magnezyum) ve fitokimyasal kaynağı olan patates, yüksek verim ve besleyici değeri ile bilinmektedir. Tüketim oranı da dikkate alındığında, insan beslenmesinde antioksidan kaynağı olarak önemli yer tutmaktadır. Patatesin antioksidan içeriğini, polifenoller, AA, karotenoidler, tokoferoller ve selenyum

oluşturmaktadır (Furrer ve ark., 2018; Perla ve ark., 2012). Ayrıca, tiyollerin gıdaların antioksidan kapasitesine pozitif etkisi de bilinmektedir. Bu nedenle, bu tez kapsamında tiyol çözeltilerine daldırılıp çıkartılan taze kesilmiş patateslerin 48 saat depolanması sırasında antioksidan aktivite ve TFM değerlerindeki değişim incelenmiştir. Antioksidan aktivite değerlerinin belirlenmesinde 3 ayrı yöntem (DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve CUPRAC) kullanılmıştır.

4.5.1. DPPH radikal süpürme aktivitesi

DPPH radikal süpürme aktivitesini hesaplamada, troloks standart eğrisi kullanılmıştır (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. DPPH analizi için oluşturulan standart eğri

Örneklerin Tablo 4.7.'de verilen sonuçlarına göre, 1. saat sonunda DPPH radikal süpürme aktivitesi, kontrol grubunda 28,13 mg troloks/100 g olurken, tiyol çözeltilerine daldırılıp çıkarılan örneklerde 33,33-203,47 mg troloks/100 g değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Sülfite ve tiyol çözeltilerine daldırma, tüm örneklerde DPPH radikal süpürme aktivitesini artırmıştır (Şekil 4.12.). Özellikle NAC çözeltisine daldırılan örneklerin, önemli derecede yüksek aktiviteye sahip oldukları görülmektedir. Daldırma çözeltilerinin konsantrasyonunun artmasıyla, patateslerin DPPH radikal süpürme eğilimi de artmıştır. 48 saat sonunda tüm gruplarda

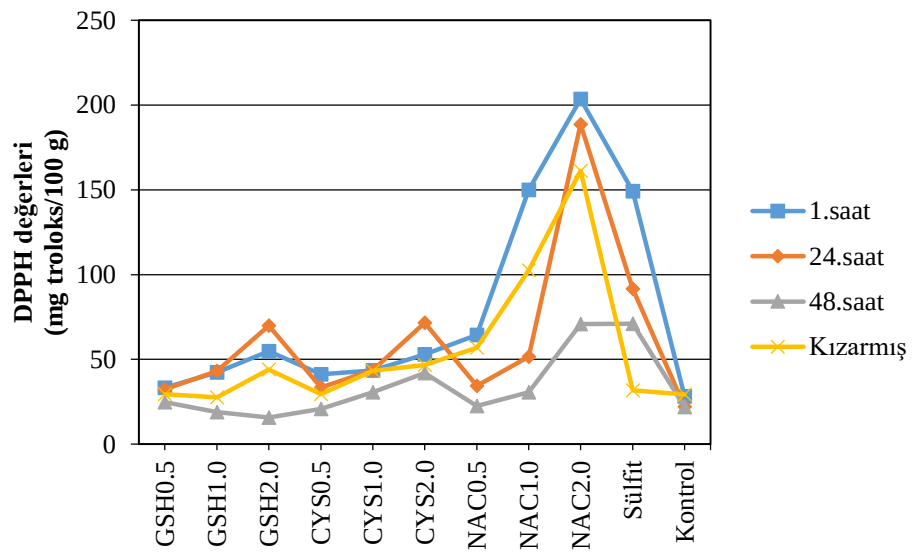
antioksidan aktivite azalırken en yüksek temizleme aktivitesine NAC2.0 (70,90 mg troluks/100 g) ve sülfite (71,10 mg troluks/100 g) ile muamele edilen örnekler sahip olmuştur. Sülfite antioksidan kapasiteyi artırıcı etkisinin olduğu, yapılan araştırmalarda rapor edilmektedir. Bu çalışmalardan birinde, kırmızı ve beyaz şarap örneklerine eklenen sodyum metabisülfite ABTS, DPPH ve FRAP değerleri üzerine etkisi incelenmiştir. Sülfite antioksidan kapasiteye pozitif etkisi olduğu ve konsantrasyon arttıkça şarapların antioksidan aktivitesinin de arttığı bildirilmiştir (Di Mattia ve ark., 2015).

Tablo 4.7. Depolanan ve kızartılan patateslerin DPPH değerleri

Muamele	DPPH değerleri (mg troluks/100 g)			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	33,33±4,60 ^{fgA}	32,41±0,71 ^{fA}	24,84±1,01 ^{dB}	29,50±1,94 ^c
GSH1.0	42,38±4,76 ^{eA}	43,07±0,27 ^{eA}	19,01±0,58 ^{fB}	27,63±2,75 ^{e*}
GSH2.0	54,82±5,52 ^{dB}	69,98±3,26 ^{eA}	15,66±0,62 ^{hC}	44,12±0,48 ^{d*}
CYS0.5	41,15±3,86 ^{efA}	33,49±0,66 ^{fB}	20,76±1,05 ^{efC}	29,45±2,09 ^{e*}
CYS1.0	43,53±1,15 ^{eA}	43,69±1,39 ^{eA}	30,57±1,50 ^{eB}	43,36±4,06 ^d
CYS2.0	52,86±2,15 ^{dB}	71,68±0,71 ^{eA}	41,90±0,21 ^{hC}	46,75±1,13 ^d
NAC0.5	64,47±4,49 ^{eA}	34,42±1,61 ^{fB}	22,60±0,61 ^{deC}	56,91±5,77 ^{e*}
NAC1.0	149,87±8,24 ^{baA}	51,58±1,23 ^{dB}	30,57±1,18 ^{eC}	102,57±0,47 ^{b*}
NAC2.0	203,47±5,18 ^{aA}	188,71±0,71 ^{aB}	70,90±3,04 ^{aC}	161,20±5,19 ^{a*}
Sülfite	149,22±3,38 ^{baA}	91,62±0,54 ^{hB}	71,10±1,50 ^{aC}	31,70±2,73 ^{e*}
Kontrol	28,13±0,31 ^{gA}	22,20±0,27 ^{gB}	22,02±0,89 ^{gB}	29,36±0,98 ^c

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki istatistikî farkın önemli olduğunu göstermektedir. * işareti kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistikî açıdan önemli olduğunu göstermektedir.

Gacche ve ark. (2006), CYS'nin elmadan izole edilen PPO üzerindeki inhibe edici etkisini belirledikleri çalışmalarında DPPH radikaline karşı etkisini de incelemiştir. Farklı konsantrasyonlarda hazırladıkları CYS çözeltilerini DPPH radikali ile muamele etmişler ve CYS konsantrasyonu arttıkça % indirgeme aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. CYS çözeltisi 5 mM olduğunda indirgeme kapasitesi %82,2'ye ulaşmıştır. Bu çalışmaya benzer olarak tez kapsamında kullanılan tiyol çözeltilerinin antioksidan aktiviteyi istatistiksel olarak önemli derecede artırdıkları söylenebilir.



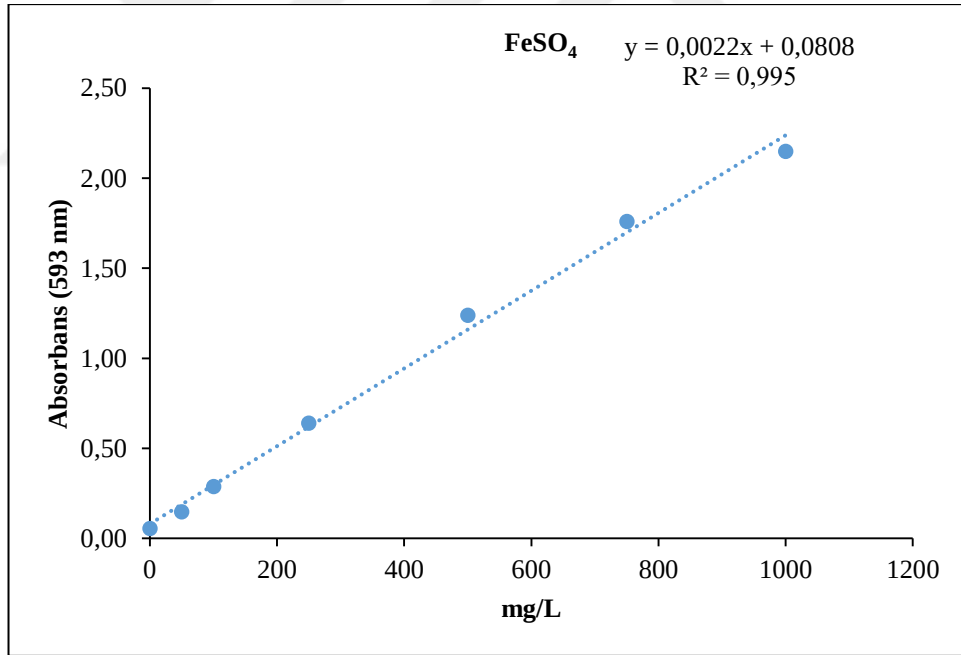
Şekil 4.12. Depolanan ve kızartılan patateslerin DPPH değerlerindeki değişim

Kızartma öncesi patateslerin antioksidan aktivitesi ne kadar fazla olursa ısıtma sonrası da o kadar yüksek olacağı düşünülmektedir. Yapılan birçok çalışma fitokimyasal alımı ile çeşitli hastalıklar (kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet vb.) arasında negatif korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır. Patatesten izole edilen fitokimyasalların, eritrositlerin oksidatif hasarını ve akut karaciğer hastalığını önlediği, ratlarda meme kanserini azalttığı, kalp ve göz sağlığına iyi geldiği rapor edilmiştir (Tian ve ark., 2016). Patates çiğ olarak tüketilemediğinden haşlama, kaynatma, fırınlama, mikrodalga ve kızartma gibi farklı işlemlerle pişirilmektedir. Bu pişirme şartları birbirinden oldukça farklıdır ve fiziksel görünüş, kimyasal kompozisyonu önemli derecede etkilemektedir. Literatürde, patatesin, farklı pişirme yöntemleri sonrasında içerdiği fenolik madde ve antioksidan aktivitesinin

belirlendiği çalışmalar mevcuttur. Ayrıca farklı çözeltilerle muamelenin, patatesin kızartma sonrası biyoaktif özelliklerine etkisinin incelendiği araştırmalar da bulunmaktadır (Babu ve ark., 2017). Ancak tiyol çözeltilerine daldırılıp kızartılan patateslerin antioksidan aktivitesindeki değişimi belirleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez kapsamında, derin yağda kızartma işleminin patates dilimlerinin antioksidan aktivite ve TFM içeriklerine etkisi incelenmiştir. Kızartma sonrası DPPH değerleri 27,63-161,20 mg troloks/100 g aralığında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 4.7.). GSH0.5, CYS1.0, CYS2.0 ve kontrol patateslerinde kızartma öncesi ve sonrası istatistiksel olarak fark görülmezken diğer örneklerin aktivitesinde azalma gözlenmiştir. En yüksek değer NAC2.0 ile muamele edilmiş örneğe ait olmuştur. Tian ve ark. (2016), farklı pişirme metotlarının patatesin DPPH radikal süpürme aktivitesine etkisini incelemişlerdir. Uygulanan pişirme yöntemlerinin farklı sonuçlar verdiği çalışmada, kızartma işlemi sonrası antioksidan aktivitede değişiklik olmadığı rapor edilmiştir. Pişirme sırasında uygulanan sıcaklık, Maillard reaksiyonu, Strecker degradasyonu, ester ve glikozitlerin hidrolizi gibi birçok farklı kimyasal reaksiyon meydana gelmektedir. Bu reaksiyonlar sırasında bazı yeni antioksidan bileşikler açığa çıkarken bazı fitokimyasallar da yok olmaktadır. Aradaki fark ise antioksidan aktivitenin artmasını veya azalmasını belirlemektedir. Başka bir araştırmada, farklı pişirme yöntemlerinin patatesteki DPPH radikal süpürme aktivitesine etkisi incelenmiş ve kızartma işlemi sonrasında antioksidan aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Antioksidan aktivitedeki artışın sebebi, pişen örneklerde antioksidan bileşiklerin hücre matrisinden daha kolay ekstrakte edilebilmesi olarak açıklanmıştır (Blessington ve ark., 2010). Ancak çalışmalarda verilen sonuçların kuru madde veya yağ ağırlık üzerinden olması sonuçları önemli derecede etkilemektedir. Yukarıdaki çalışmalardan ilki sonuçları kuru madde üzerinden verirken ikincisi yağ ağırlık üzerinden değerlendirmiştir. Bu tez çalışmasında da kızartma esnasında patatesteki nem değerleri yaklaşık %80'lerden %50'lere düşmektedir ki bu oran sonuçları önemli düzeyde etkilemektedir.

4.5.2. Demir iyonu indirgeme potansiyeli

Demir iyonu indirgeme potansiyeli (FRAP) yöntemine ait standart eğrisi Şekil 4.13.'de verilmiştir. Fe^{+3} indirgeyebilme kapasitesini ölçen FRAP sonuçlarına göre 1, 24 ve 48 saat sonrasındaki değerler sırasıyla 144,61-1353,79 mg $\text{FeSO}_4/100$ g, 101,96-591,12 mg $\text{FeSO}_4/100$ g ve 80,00-183,25 mg $\text{FeSO}_4/100$ g aralığında değişmektedir (Tablo 4.8.). NAC2.0 çözeltisi ile muamele edilen örneklerin FRAP değerleri tüm depolama periyotlarında en yüksek olurken, 24 saat sonunda kontrol örneği, 48 saat sonunda ise GSH1.0, GSH2.0 ve CYS0.5 çözeltilerine daldırılan patatesler en düşük değerleri göstermiştir. Kalıntı GSH miktarı çok düşük olduğu için, GSH ile muamele edilen örneklerin FRAP değerlerinde anlamlı bir artış olmadığı düşünülmektedir (Şekil 4.14.). Genel olarak, DPPH radikal süpürme aktivitesi ve FRAP sonuçları uyumluluk göstermektedir.

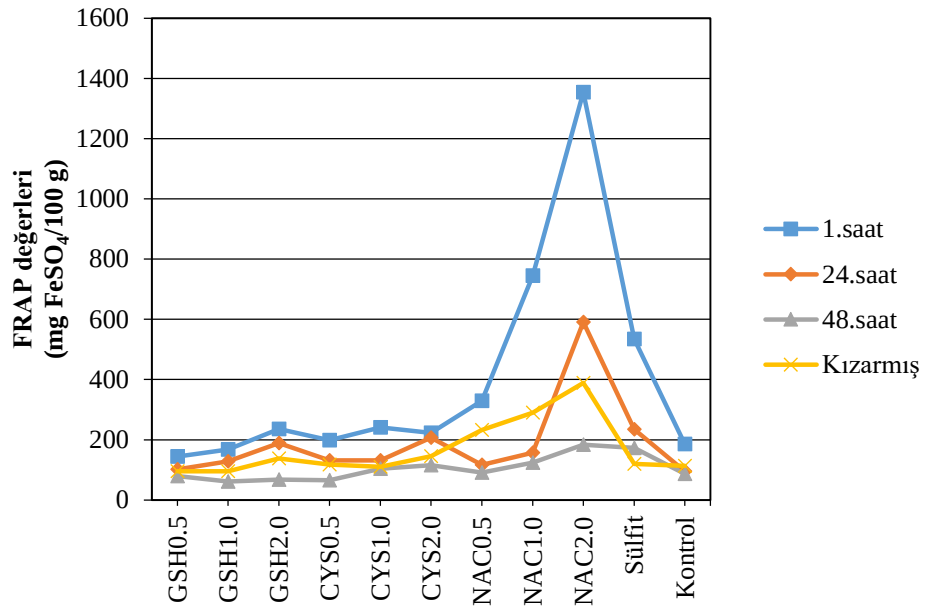


Şekil 4.13. FRAP analizi için oluşturulan standart eğri

Tablo 4.8. Depolanan ve kızartılan patateslerin FRAP değerleri

Muamele	FRAP değerleri			
	(mg FeSO ₄ /100 g)			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	144,61±8,41 ^{gA}	101,96±2,19 ^{ghB}	80,00±2,83 ^{gC}	95,93±5,97 ^{e*}
GSH1.0	167,87±8,52 ^{fgA}	127,96±4,30 ^{fb}	61,60±3,97 ^{hC}	95,89±10,11 ^{e*}
GSH2.0	235,73±4,82 ^{efA}	188,57±9,50 ^{dB}	67,66±1,30 ^{hC}	138,23±11,43 ^{d*}
CYS0.5	198,48±11,36 ^{efgA}	131,40±7,30 ^{fb}	65,50±4,56 ^{hC}	118,10±13,21 ^{e*}
CYS1.0	240,99±19,33 ^{eA}	131,75±7,75 ^{fb}	103,59±5,52 ^{eC}	109,95±10,55 ^{e*}
CYS2.0	223,48±17,86 ^{efA}	206,92±6,28 ^{cA}	115,71±9,16 ^{dB}	145,73±9,67 ^{d*}
NAC0.5	329,48±10,93 ^{dA}	116,94±2,73 ^{fgB}	91,04±4,68 ^{fc}	232,74±9,85 ^{c*}
NAC1.0	744,57±11,61 ^{bA}	156,89±1,19 ^{eB}	124,16±2,60 ^{cC}	289,77±9,85 ^{b*}
NAC2.0	1353,79±44,64 ^{aA}	591,12±6,20 ^{aB}	183,25±3,62 ^{aC}	389,00±16,12 ^{a*}
Sülfite	534,34±21,43 ^{cA}	234,71±2,19 ^{bB}	172,64±8,01 ^{bC}	120,09±11,79 ^{e*}
Kontrol	185,86±12,50 ^{efgA}	94,90±2,60 ^{hB}	87,14±1,72 ^{fgB}	113,53±2,40 ^{e*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki istatistikî farkın önemli olduğunu göstermektedir. * işareti kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistikî açıdan önemli olduğunu göstermektedir.



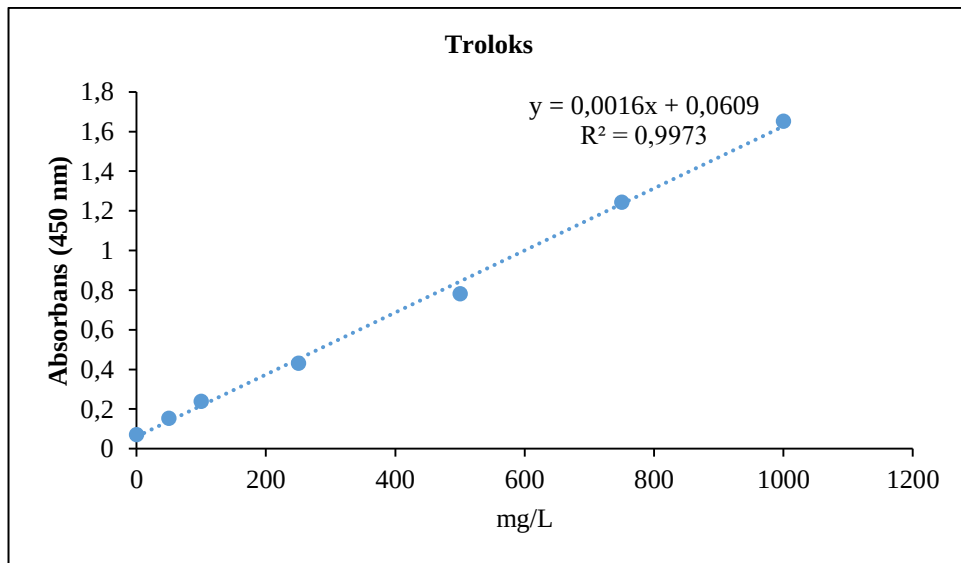
Şekil 4.14. Depolanan ve kızartılan patateslerin FRAP değerlerindeki değişim

Kızarmış patateslerin FRAP sonuçlarına bakıldığında en düşük değer 95,89 mg FeSO₄/100 g olarak, en yüksek değer ise 389,00 mg FeSO₄/100 g olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.8.). Kızartma işlemiyle tüm örneklerin FRAP değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Tiyol çözeltilerinden GSH2.0, CYS2.0, NAC0.5, NAC1.0 ve NAC2.0, patateslerin FRAP değerlerini kontrol örneğine göre önemli derecede artırmıştır. En düşük değerler ise GSH0.5, GSH1.0, CYS0.5, CYS1.0, sülfite ve kontrol örneklerinde görülmüştür. FRAP analizi sonuçları genel olarak incelendiğinde, DPPH sonuçları ile benzer olarak NAC ile muamele edilen örneklerde, kontrol grubundan çok daha yüksek değerler saptanmıştır. Kita ve ark. (2013), kırmızı ve mor patateslerden elde edilen cipslerde, kızartma işleminin antosiyanin ve antioksidan aktivitesine etkisini belirledikleri çalışmasında, FRAP değerlerinin patates çeşitlerine göre değişiklik gösterdiğini ancak kızartma işlemi sonrasında tüm örneklerde azaldığını rapor etmiştir. Babu ve ark., (2017), *Caralluma fimbriata* (bir çeşit kaktüs) polifenollerinin, kızarmış patateslerin akrilamid miktarı, lipid oksidasyonu ve besleyici özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. Yapılan çalışmada patatesler, kaktüs ekstraktına 15 dakika boyunca daldırılmış ve daha sonra 190°C’de kızartma işlemi uygulanmıştır. Bu çalışmaya benzer olarak, antioksidan aktivite sonuçlarına göre kontrol grubu %43,7 DPPH radikal süpürme aktivitesine

sahip olurken kaktüs ekstraktı uygulanmış örnekte bu değer %80,6 olarak rapor edilmiştir. Yapılan başka bir araştırmada, bir tür kekik olan oregano bitkisinin ekstrakt ve tozu, kızartma sonrasında patateslere uygulanmıştır. Cipslere eklenen bitkinin antioksidan etkisini belirlemek için cipsler 63°C’de depolanmış ve peroksit değerleri karşılaştırılmıştır. Oregano bitkisinin depolamanın 6.gününe kadar sentetik bir antioksidan olan ter-Bütilhidrokinon (TBHQ) kadar etkili olduğu belirlenmiştir (Lolos ve ark., 1999).

4.5.3. Bakır iyonu indigeme kapasitesi

Bakır iyonu indigeme kapasitesi (CUPRAC) metodu, Cu(II)-neokuprin kompleksinin Cu(I)-neokuprin formuna dönüştürülmesi ve renk değişiminin 450 nm dalga boyunda ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. CUPRAC yöntemi ile oluşturulan standart eğrisi Şekil 4.15.’te, patateslere ait değerler ise Tablo 4.9.’da verilmiştir. 1. saat sonunda CUPRAC değerleri 598,61-850,35 mg troluks/100 g değerleri arasında değişmektedir. En yüksek değerler GSH2.0 (850,35 mg troluks/100 g) , CYS2.0 (841,67 mg troluks/100 g) ve kontrol (836,46 mg troluks/100 g) örneklerinde görülürken en düşük değer NAC2.0 (598,61 mg troluks/100 g) ile muamele edilmiş patatesten belirlenmiştir. Depolama süresi uzadıkça CUPRAC değerlerinde azalma görülmüş, 24. ve 48. saatteki en yüksek değer CYS2.0 örneğine ait olmuştur.



Şekil 4.15. CUPRAC analizi için oluşturulan standart eğrisi

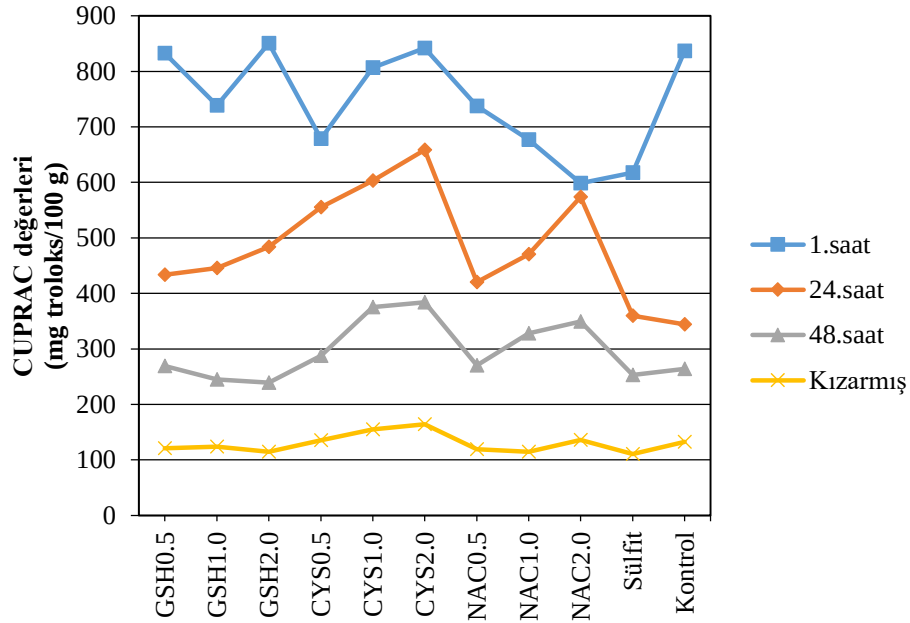
Tablo 4.9. Depolanan ve kızartılan patateslerin CUPRAC değerleri

Muamele	CUPRAC değerleri			
	(mg troloks/100 g)			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	832,99±10,22 ^{abA}	433,38±7,52 ^{efB}	269,29±0,63 ^{cC}	121,08±3,74 ^{bc*}
GSH1.0	738,66±4,91 ^{cdA}	445,69±7,15 ^{cB}	245,18±8,21 ^{fC}	123,60±2,00 ^{bc*}
GSH2.0	850,35±8,02 ^{aA}	484,04±9,46 ^{dB}	239,38±11,36 ^{fC}	114,43±4,77 ^{bcd*}
CYS0.5	678,47±1,00 ^{efA}	555,07±4,99 ^{dB}	287,89±6,08 ^{dC}	135,63±8,69 ^{b*}
CYS1.0	806,94±29,46 ^{abcA}	603,13±9,04 ^{bB}	375,09±10,10 ^{aC}	155,21±7,99 ^{a*}
CYS2.0	841,67±44,19 ^{aA}	658,52±7,03 ^{aB}	384,02±5,05 ^{aC}	164,23±8,86 ^{a*}
NAC0.5	737,50±9,70 ^{cdA}	420,12±13,50 ^{fB}	270,18±1,89 ^{cC}	119,47±1,62 ^{bcd*}
NAC1.0	676,74±20,35 ^{efA}	470,31±6,03 ^{dB}	327,77±8,84 ^{cC}	114,91±11,77 ^{cd*}
NAC2.0	598,61±4,91 ^{gA}	574,01±10,04 ^{cB}	349,49±15,11 ^{bC}	135,73±5,69 ^{bcd*}
Sülfid	617,71±20,15 ^{gA}	359,52±1,42 ^{gB}	252,77±5,05 ^{efC}	110,75±9,56 ^{d*}
Kontrol	836,46±17,19 ^{abA}	344,37±8,08 ^{gB}	264,08±3,72 ^{cC}	132,23±7,06 ^{bcd*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki istatistikî farkın önemli olduğunu göstermektedir. * işareti kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistikî açıdan önemli olduğunu göstermektedir.

Bu sonuçlardan açıkça görülmektedir ki CUPRAC değerlerindeki değişim, DPPH ve FRAP değerlerindeki değişime benzememektedir (Şekil 4.16.). Bunun sebebinin yöntemler arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Güngör ve ark. (2011), tiyollerin troloks eşdeğeri antioksidan kapasitelerini (TEAC), FRAP ve CUPRAC metotlarını kullanarak karşılaştırmıştır. GSH, CYS ve NAC'ye ait TEAC_{FRAP} değerlerini 0,07; 0,14 ve 0,48, TEAC_{CUPRAC} değerlerini ise 0,57; 0,39 ve 0,43 olarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda tiyol türü antioksidanlara en uygun yöntemin CUPRAC olduğu rapor edilmiştir. Ek olarak, Mazor ve ark. (2006), Fe⁺³'ü indirgeyemeyen GSH'in FRAP yöntemiyle hassas şekilde tespit

edilemeyeceğini ve GSH'in -SH grubunun NAC'den daha zayıf bir indirgeyici olduğunu öne sürmüşlerdir. Bu sebeplerden dolayı, bu çalışmada en yüksek FRAP ve CUPRAC değerlerinin farklı örneklerle ait olduğu düşünülmektedir.



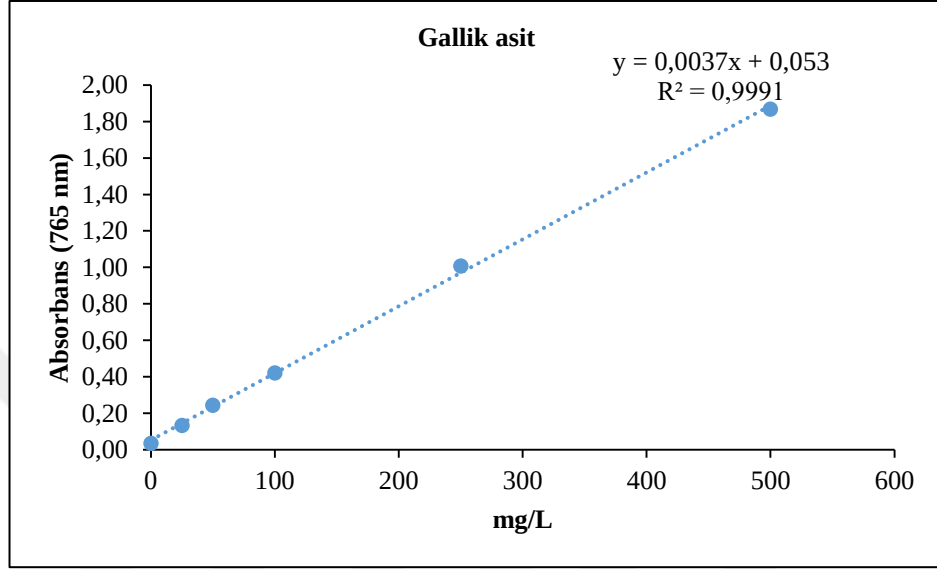
Şekil 4.16. Depolanan ve kızartılan patateslerin CUPRAC değerlerindeki değişim

Kızarmış patateslerin antioksidan aktivitesi, CUPRAC metoduna göre 110,75-165,23 mg trolox/100 g değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 4.10.). Verilerden de anlaşılacağı gibi CUPRAC metoduna göre örnekler arasında çok büyük farklılıklar bulunmamaktadır ancak kızartma sonrası tüm örneklerin CUPRAC değerlerinde önemli derecede azalma görülmüştür. Kızartma sonrası en yüksek değerler CYS1.0 ve CYS2.0 ile muamele edilen örneklerde belirlenmiştir. Daha önce belirtildiği gibi CUPRAC metodu diğer iki antioksidan aktivite yönteminden farklı sonuç göstermiştir. Bu farklılığın GSH, CYS ve NAC'nin indirgeme kapasitelerinin Fe^{+3} ve Cu^{+2} radikallerine karşı farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5.4. Toplam fenolik madde miktarı

Patateste en fazla bulunan fenolik bileşikler fenolik asitlerdir ve klorojenik asit %90'ını oluştururken ferulik asit, gallik asit ve kumarik asit ise patateste 0-5 mg/100

g aralığında bulunabilmektedir. Flavonoidlerden ise en çok kateşini daha sonra kuersetin ve kaempferol rutinozu barındırmaktadır (Akyol ve ark., 2016). Bu çalışmada patateslerin TFM miktarı Folin Ciocalteu reaktifi (FCR) ile belirlenmiştir. Gallik asit ile oluşturulan standart eğrisi Şekil 4.17.'de verilmiştir.



Şekil 4.17. TFM analizi için oluşturulan standart eğrisi

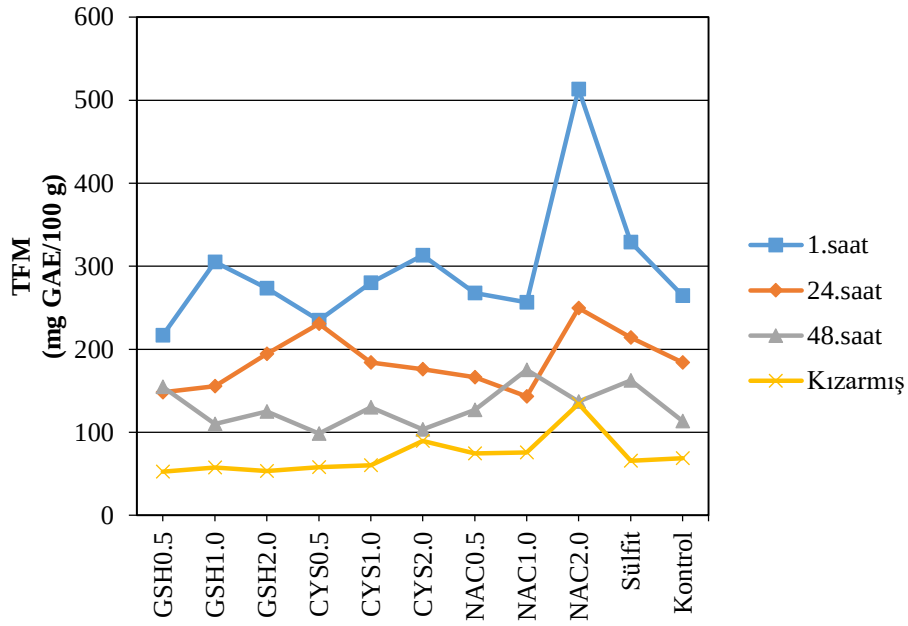
Çözeltilere daldırılan ve 1 saat bekletildikten sonra analizi yapılan patateslerin TFM miktarlarına bakıldığında, 216,86 mg GAE/100 g ile 513,31 mg GAE/100 g arasında değiştiği görülmektedir (Tablo 4.10.). En düşük değer GSH0.5, en yüksek değer ise NAC2.0 ile muamele edilen örneklerde tespit edilmiştir. FCR birçok araştırmacı tarafından TFM tayininde kullanılan spektrofotometrik bir yöntemdir, ancak AA, indirgen şeker ya da bazı diğer bileşikler ortamın rengini maviye çevirebilmektedir (Perla ve ark., 2012). Tez kapsamında tüm uygulamalarda aynı çeşit patatesin kullanıldığı göz önünde bulundurulduğunda 1. saatte örnekler arasındaki farklılık AA içeriğinden kaynaklanıyor olabilir. Buna ek olarak Altunkaya ve Gökmen (2008), yaptıkları çalışmalarında marulu farklı inhibitör maddelerle (AA, CYS, okzalik asit, sitrik asit) muamele etmiş ve bu bileşiklerin enzimatik esmerleşme, antioksidan aktivite ve TFM içeriğine etkisini buzdolabı ve oda sıcaklığında 6 saat süre ile incelemiştir. AA ve CYS'nin, marulun TFM ve antioksidan aktivitesini her iki depolama sıcaklığında da artırdığı belirtilmiştir. Bu artışın sebebinin fenolik bileşiklerin O-H bağlarını zayıflatan ve daha yüksek antioksidan etki göstermesini

sağlayan sülfürün pozitif konjugasyonu olabileceği şeklinde açıklamışlardır (Bassil ve ark., 2005). Yine bu çalışmada kullanılan sülfid çözeltisinin de 1. saatteki TFM içeriğini kontrol örneğine göre önemli oranda artırdığı görülmektedir. Bunun sebepleri, polifenollerin oksidasyonunun önlenmesi ve sülfidin sülfata okside olurken kinonların fenollere rejenerasyonu olarak sıralanabilir. Beyaz şarapta kullanılan sülfidin TFM üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, hem sodyum sülfid hem de sodyum metabisülfid TFM değerlerine pozitif etkide bulunmuştur (Di Mattia ve ark., 2015; Nardini ve Garaguso, 2018). Depolama süresinin artmasıyla tüm örneklerin fenolik madde miktarında azalma meydana gelmiştir ve bu beklenen bir durumdur. Bununla birlikte, artan tiyol konsantrasyonu ile TFM'nin de artacağı düşünülmüştür ancak bu sonuç sadece 1. saat sonundaki CYS ve NAC ile muamele edilen örnekler için söylenebilir (Şekil 4.18.). CYS gibi tiyollerin, polifenol degradasyonuna karşı farklı mekanizmalara sahip olduğu bilinmektedir. İlki tiyol varlığında enzimin yarışmacı inhibisyonudur. Bir diğeri ise ortamda yeteri kadar CYS olmadığında kinonların okside olarak fenollere rejenerasyonudur. Ortamda yeteri kadar CYS olduğunda ise fenolik bileşikler CYS-kinon bileşiklerine dönüşmektedir. Bu karmaşık reaksiyonlardan dolayı beklenen sonuçların elde edilemediği düşünülmektedir. Altunkaya ve Gökmen (2009) tarafından CYS'nin marulun esmerleşmesini engellediği halde beklenen şekilde fenolik bileşik degradasyonunu engellemede pozitif etkide bulunmadığı rapor edilmiştir. Benzer olarak, bu tez çalışmasında da CYS2.0 ile muamele, 48 saat sonunda PPO aktivitesini tamamen inhibe etmiş ancak fenolik madde içeriğinde önemli bir artışa sebep olmamıştır.

Tablo 4.10. Depolanan ve kızartılan patateslerin TFM değerleri

Muamele	TFM			
	(mg GAE/100 g)			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	216,86±16,26 ^{gA}	148,17±2,97 ^{ghB}	154,88±5,33 ^{bB}	52,66±6,02 ^{d*}
GSH1.0	304,98±4,06 ^{bcdA}	155,49±5,92 ^{gB}	110,05±5,68 ^{efC}	57,52±5,68 ^{d*}
GSH2.0	273,69±14,02 ^{deA}	194,47±2,49 ^{dB}	125,16±7,64 ^{dC}	53,26±2,18 ^{d*}
CYS0.5	234,82±3,42 ^{fgA}	230,72±5,92 ^{bA}	98,39±1,14 ^{gB}	58,12±2,94 ^{d*}
CYS1.0	280,08±8,13 ^{cdeA}	184,22±2,97 ^{deB}	129,92±3,01 ^{cdC}	60,33±1,82 ^{d*}
CYS2.0	313,12±21,00 ^{abA}	176,12±8,04 ^{efB}	103,32±6,83 ^{fgC}	89,53±6,63 ^{b*}
NAC0.5	267,62±10,67 ^{efA}	166,46±1,11 ^{fB}	127,13±6,65 ^{dC}	74,63±1,14 ^{c*}
NAC1.0	256,61±15,88 ^{efA}	143,21±10,23 ^{hC}	175,07±5,59 ^{aB}	75,77±4,79 ^{c*}
NAC2.0	513,31±6,10 ^{aA}	249,79±7,85 ^{aB}	137,14±7,44 ^{cC}	134,19±5,72 ^{a*}
Sülfite	329,17±9,48 ^{bA}	214,00±3,53 ^{cB}	162,27±4,27 ^{bC}	65,52±9,02 ^{d*}
Kontrol	264,75±2,71 ^{efA}	183,96±5,04 ^{deB}	113,50±3,45 ^{cC}	68,92±6,83 ^{d*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki istatistikî farkın önemli olduğunu göstermektedir. * işareti kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistikî açıdan önemli olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.18. Depolanan ve kızartılan patateslerin TFM değerlerindeki değişim

Kızartma işlemi uygulanan patateslerin TFM değerleri Tablo 4.10.'da verilmiştir. Buna göre en yüksek TFM değeri NAC2.0 (134,19 mg GAE/100 g) ile muamele edilmiş örnekte, en düşük değer ise GSH0.5 (52,66 mg GAE/100 g) ile muamele edilen örnekte tespit edilmiştir. GSH0.5, GSH1.0, GSH2.0, CYS0.5, CYS1.0 ve sülfür gruplarının kontrolden farklı olmadığı diğer bir ifadeyle kızartılmış patateslerde TFM miktarına katkı sağlamadığı belirlenmiştir (Şekil 4.18.). Ayrıca kızartma işlemi sonrası tüm gruplarda TFM'nin azaldığı gözlenmiştir. Tudela ve ark. (2002) patatesleri farklı yöntemlerle pişirmiş ve fenolik maddelerindeki değişimi incelemiştir. 190°C'de 4 dakika kızartılan patateslerin kuersetin ve kafeik asit türevleri çiğ patatese göre %28-45 aralığında azalmıştır. Patateste toplam fenolik bileşiklerin %90'nını oluşturan klorojenik asitin farklı pişirme işlemleriyle değişiminin incelendiği bir çalışmada haşlanan patateste %35, mikrodalga ile pişirmede %55 oranında klorojenik asit kalırken ticari kızartılmış patateslerde hiç kalmadığı rapor edilmiştir (Dao ve Friedman, 1992). Yapılan araştırmalar, patatesteki fenolik bileşenlerin farklı pişirme işlemleriyle azaldığını göstermektedir. Bu çalışmalarda ya pişirme sıcaklığı ya pişirme süresi ya da ikisinin birden yüksek olduğu görülmektedir. Ancak düşük sıcaklık veya süre kombinasyonu ile optimum şartlar sağlandığında patatesteki fenolik bileşiklerin miktarı artırılabilir.

(Navarre ve ark., 2010; Perla ve ark., 2012). Kızartma işleminde de düşük sıcaklık uygulanabilir ancak bu durumda pişirme süresinin artırılması gerekmektedir. Düşük sıcaklık uzun süre ise patateslerin yağ absorpsiyonu arttığından tüketilebilirliği etkilenmektedir (Pedreschi ve ark., 2008). Sun-Waterhouse ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, patatesler farklı fenolik maddeler (elma fenoller, rutin ve kuersetin) eklenmiş bulamaçlarla kaplanmış, kızartılmış ve lipid oksidasyonu ile antioksidan içeriğine etkileri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre eklenen fenoller, hem oksidasyonu azaltmış hem de patateslerin fenolik madde miktarını artırarak daha sağlıklı ürünler elde edilmesini sağlamıştır. Tez kapsamında kullanılan tiyollerin TFM miktarını kontrol grubuna göre konsantrasyona bağlı olarak artırdığı görülmektedir. Bu artışın sebebi daha önce açıklandığı gibi sülfürün pozitif konjugasyonu ile fenolik bileşiklerin O-H bağlarını zayıflatması ve daha yüksek antioksidan etki göstermesi olabilir.

4.6. Askorbik Asit İçeriği

Askorbik asit, daha yaygın bilinen ismiyle C vitamini, insan beslenmesinde önemli bir besin ögesidir. Elektron vericisi ve antioksidan olarak görev yapması, en önemli fizyolojik fonksiyonlarını oluşturmaktadır. Kollojen oluşumu, demir absorpsiyonu, kanser oluşumunu önlemesi, sinirsel fonksiyonların devam ettirilmesi gibi vücuttaki birçok olayla doğrudan ilişkisi bulunmaktadır. Patates dünya çapında önemli bir C vitamini kaynağıdır ve Avrupa'da diyet ile alımın yaklaşık %20'sini karşılamaktadır. Patates sadece nispeten yüksek AA içeriğiyle değil aynı zamanda depolanabilmesiyle de tutarlı bir kaynak oluşturmaktadır. Bu nedenle patates ürünlerinin AA içeriğindeki herhangi bir iyileştirmenin insan beslenmesine faydalı olacağı düşünülmektedir (Love ve Pavek, 2008). Bu tez çalışmasında, taze kesilmiş patatesler tiyol çözeltilerine daldırılmış ve 1. 24. ve 48. saat sonundaki AA içerikleri incelenerek kullanılan tiyol çözeltilerinin AA içeriğinin korunmasında etkili olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. AA, hücre içinde hidrojen peroksit (H_2O_2) veya süperoksit radikali (O_2^-) ile okside olmakta ve DHA'ya dönüşmektedir. Oluşan DHA ise GSH sayesinde tekrar AA'ya rejenere edilmektedir. Bu mekanizmaya göre GSH, glutatyon redüktaz enzimi ile okside glutatyon ($GSSH$) dönüştürülürken aynı

zamanda DHA'yı de AA'ya indirgemektedir. Foyer ve Halliwell, 1976 yılında glutatyon-askorbat mekanizmasını araştırmaya başlamasıyla, GSH'in AA'yı koruyucu etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar literatürde yerini almıştır (Davey ve ark., 2000; Foyer ve Halliwell, 1976). Buradan yola çıkarak bu çalışmada da patateslerin AA içeriklerindeki değişim incelenmiştir.

Taze kesilmiş patateslere ait AA içerikleri HPLC yardımıyla tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.11.'de verilmiştir. Ayrıca kalibrasyon eğrisi, AA standardıyla oluşturulmuş ve Şekil 4.20.'da gösterilmiştir. Standart ve örneğe ait kromatogram görüntülerinde, 8. ve 9. dakika arasında AA'ya ait pik elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.21. ve Şekil 4.22.). Bu tezde kullanılan taze patatesin AA içeriği kuru maddede 85,53 mg/100 g olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1.). Çözeltilere daldırılıp çıkarıldıktan 1 saat sonra analize alınan örneklerin AA içeriklerinde farklılık oluşmuştur. En yüksek AA değerinin sülfid çözeltisine daldırılan örnekte olduğu (86,08 g/100 g) ve 1 saat sonunda değişiklik göstermeği tespit edilmiştir. Ancak 1. saat sonunda kontrol örneğin AA içeriği 37,19 mg/100 g olarak belirlenmiştir ve taze örnek ile karşılaştırıldığında %57 oranında azalma olduğu görülmektedir. Tiyo çözeltilerine daldırılan örneklerin bir saat sonundaki AA içerikleri ise 37,80-81,48 mg/100 g aralığında değişmektedir ve tümü kontrolden daha yüksektir. Patatese uygulanan kabuk soyma, dilimleme gibi ön işlemler AA oksidasyonunu hızlandırmış ve önemli oranda azalmaya sebep olmuştur.

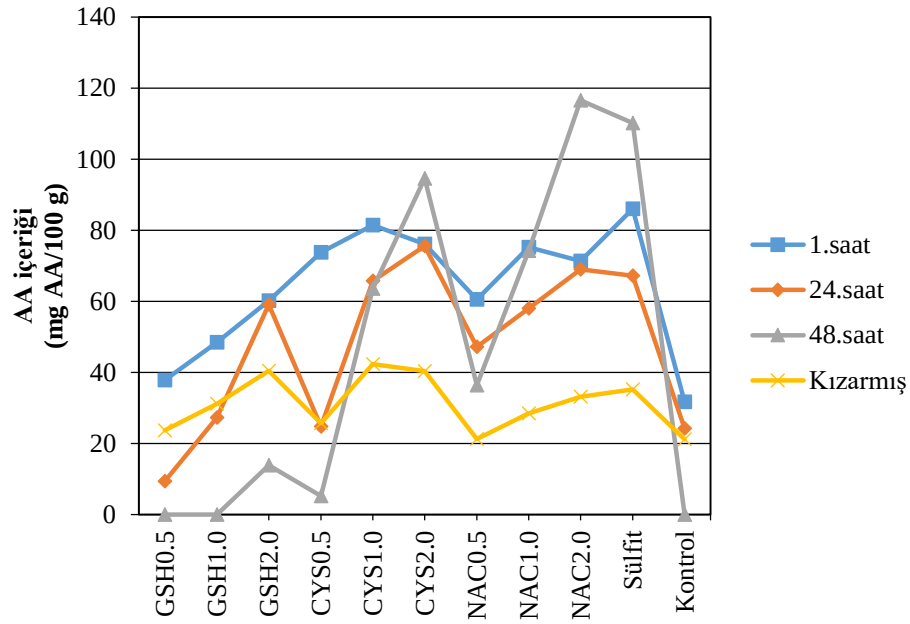
Tablo 4.11. Depolanan ve kızartılan örneklerin AA içerikleri

Muamele	AA içeriği (mg AA/100 g)			
	1.saat	24.saat	48.saat	Kızarmış
GSH0.5	37,80±2,41 ^{eA}	9,31±0,96 ^{gB}	-	23,65±1,08 ^{fg*}
GSH1.0	48,47±0,32 ^{dA}	27,26±0,91 ^{fB}	-	31,17±1,17 ^{cdc*}
GSH2.0	60,21±3,13 ^{cA}	59,08±0,64 ^{cdA}	13,87±1,72 ^{eB}	40,44±2,12 ^{ab*}
CYS0.5	73,78±6,62 ^{abA}	24,74±2,33 ^{fB}	5,24±0,71 ^{eC}	25,69±0,15 ^{efg*}
CYS1.0	81,48±3,02 ^{abA}	65,75±2,06 ^{bcdB}	63,65±3,02 ^{cB}	42,34±1,00 ^{a*}
CYS2.0	76,11±0,11 ^{abB}	75,64±0,10 ^{aB}	94,60±0,53 ^{bA}	40,35±3,86 ^{ab*}
NAC0.5	60,58±4,66 ^{cA}	47,25±0,24 ^{eB}	36,39±4,42 ^{dC}	21,24±2,66 ^{g*}
NAC1.0	75,22±1,29 ^{abA}	58,03±6,45 ^{dB}	74,28±4,06 ^{cA}	28,43±1,87 ^{def*}
NAC2.0	71,36±2,10 ^{bcB}	69,04±2,26 ^{abB}	116,64±1,65 ^{aA}	33,10±1,58 ^{cd*}
Sülfıt	86,08±2,51 ^{aB}	67,23±3,44 ^{abcC}	110,19±5,82 ^{abA}	35,23±3,69 ^{bc*}
Kontrol	37,19±0,02 ^{eA}	24,19±0,62 ^{fB}	-	21,15±0,75 ^{g*}

Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasında, büyük harfler ise satır boyunca depolama günleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu göstermektedir. * işareti ise kızartma işlemi sonrasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğunu göstermektedir.

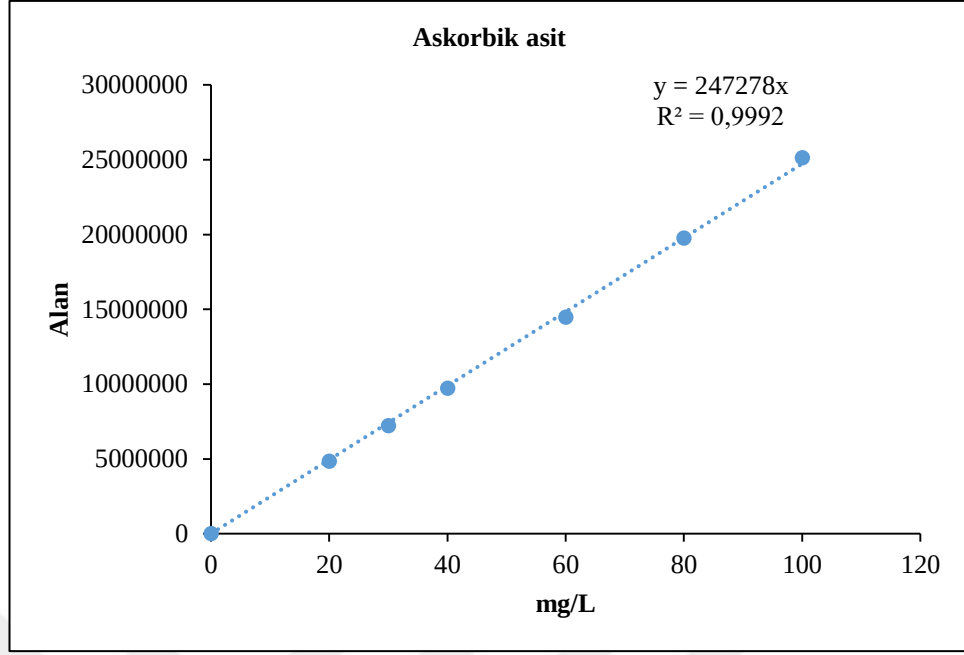
Depolama sırasında AA değişimlerine bakıldığında, 24 saat sonunda tüm tiyol çözeltilerinin %2 konsantrasyonları ile muamele edilen örneklerin başlangıçtaki AA içeriklerini koruduğu gözlenmiştir. Depolamanın sonunda ise kontrol ile benzer olarak GSH0.5 ve GSH1.0 ile muamele edilen örneklerde AA tamamen tükenmiştir. Bunun sebebi GSH çözeltilisine daldırılan patateslerde kalıntı tiyol miktarının yok denecek kadar az olması olabilir. Literatürde tiyol çözeltilerinin, depolama sırasında AA kaybını koruduğuna ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Sonni ve ark., (2011), model beyaz şarap sisteminde GSH ve GSH/AA çiftinin antioksidan mekanizmasını incelemişlerdir. Yüksek konsantrasyonda GSH (860 mg/L) ve AA (500 mg/L)

varlığında, 45°C’de depolamada GSH, AA azalmasını geciktirmiş ve AA degradasyon ürünlerinin şarap flavanol bileşikleriyle reaksiyonunu inhibe etmiştir. Ancak GSH tükenmek üzere olduğunda yine farklı polimerik pigmentlerin oluşumu indüklenmiştir. Diğer bir çalışmada, portakal suyunun 45°C’de depolanmasında düşük dozda CYS ve NAC eklendiğinde (2,5 mM ve altında) yalnızca CYS AA degradasyonunu azaltırken konsantrasyon artışıyla korumanın da arttığı rapor edilmiştir (Naim ve ark., 1993). “Gola” çin ağacı meyvesi (litchi fruit) hasat sonrası farklı oranlarda CYS çözeltileri (%0,0, %0,25, %0,50, %0,75 ve %1,0) ile muamele edilmiş ve 5°C’de 28 gün boyunca depolanmıştır. CYS çözeltisi uygulanan meyvelerin AA kaybını kontrol örneğine göre yaklaşık 2,25 kat daha fazla koruduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi, CYS’nin AA’nın oksidatif degradasyonunu engellediği için olabileceği şeklinde açıklanmıştır (Ali ve ark., 2016). Yapılan bir diğer çalışmada ise 2°C’de 3 hafta depolama sonrasında turpgillerden olan sebzelerde (brokoli gibi) AA kaybı minimum olurken diğer sebze türlerinde yüksek kayıp meydana geldiği rapor edilmiştir. AA içeriğini muhafaza edebilme yeteneğine göre sebzeler, yüksek muhafaza (brokoli, %95’den fazla); orta derecede muhafaza (bezelye, ıspanak, turp, %65-70); düşük muhafaza, (kuşkonmaz ve yeşil fasülye; %25-30) olarak kategorize edilmiştir. AA’yı yüksek oranda koruyabilen sebzelerin toplam sülfür ve GSH içeriğinin yüksek olduğu ve DHA’yı AA’ya indirgeme mekanizmasının etkili olabileceği vurgulanmıştır (Albrecht ve ark., 1990; Lee ve Kader, 2000).

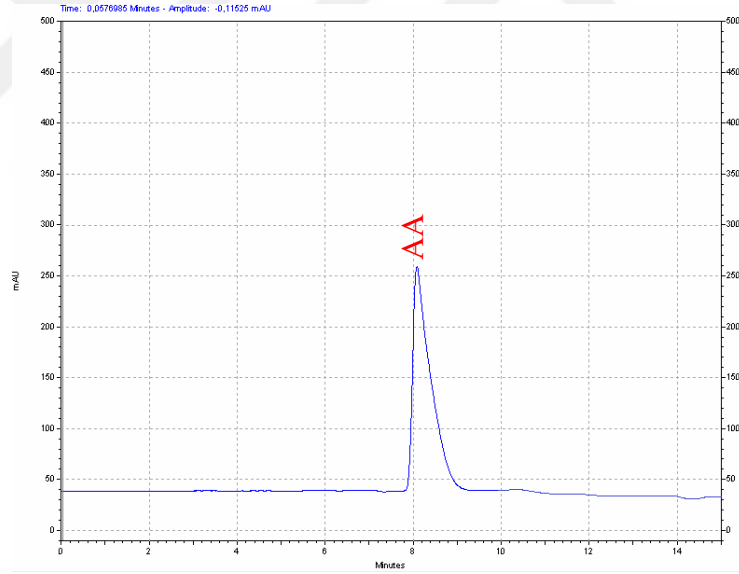


Şekil 4.19. Depolanan ve kızartılan patateslerin AA içeriklerindeki değişim

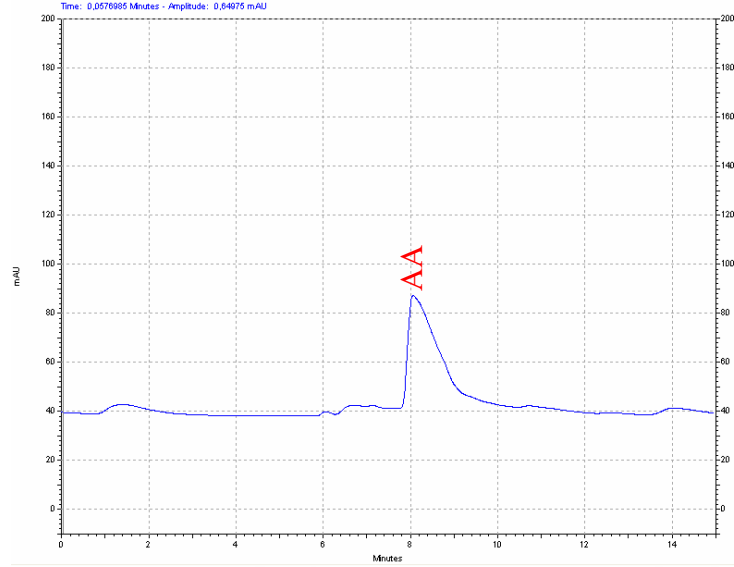
CYS2.0, NAC2.0 ve sülfüt çözeltisine daldırılmış örneklerin 48 saat sonrasındaki AA içerikleri sırasıyla 94,60, 116,64 ve 110,19 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Hesaplamalar kuru madde üzerinden yapıldığı halde bu örneklerin AA miktarı beklenenden farklı olarak artış göstermiştir. Yapılan bazı çalışmalarda tiyollerin AA içeriğini artırabildiğine dair bilgiler verilmiştir. Onlardan birinde, Cánovas ve ark., (2020) meyve bazlı bebek mamalarının depolanması sırasında CYS içeriğinin AA degradasyonuna etkisini incelemiştir. Farklı sıcaklıklarda depolanan 36 farklı bebek mamasının 33 tanesinde CYS ve AA arasında güçlü korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Bunun sebebinin CYS'nin DHA'yı AA'ya indirgemesinin, DHA'nın diketogulonik asite (DHA hidroliz ürünü) dönüşümünden daha hızlı olması olarak açıklamışlardır. Yine yapılan başka bir çalışmada, GSH, CYS ve HCY'nin (homosistein) DHA'ya, AA'ya indirgeme potansiyelinin olduğu kanıtlanmıştır (Park, 2001). Tüm bu çalışmalar, yüksek kalıntı tiyol konsantrasyonu içeren çözeltilere daldırılan örneklerdeki AA artışını açıklamaktadır.



Şekil 4.20. AA analizi için oluşturulan standart eğri



Şekil 4.21. AA standardına ait kromatogram görüntüsü



Şekil 4.22. Örneğe ait AA kromotogram görüntüsü

Patates, akrilamid oluşması açısından riskli bir besin olmakla birlikte metabolizma için ucuz enerji kaynağı olması nedeniyle Avrupa ve diğer birçok ülkede en yaygın tüketilen sebzedir. Bu nedenle bazı sebze ve meyvelere göre daha az C vitamini içerse de tüketim miktarına bakıldığında günlük C vitamini alımının önemli bir kısmını karşılamaktadır. Çiğ patatesteki C vitamini miktarı 8-30 mg/100 g olarak rapor edilmiştir. Ancak patates çiğ olarak tüketilemediğinden ve ısı uygulaması C vitamini degradasyonuna sebep olduğundan dolayı, farklı pişirme proseslerinin C vitamini üzerine etkileri araştırılmaktadır. Yapılan bir çalışmada patatesteki C vitamini içeriğinde suda kaynatmada %77-88, derin yağda kızartmada %55-79, basınçlı pişirmede %56-60, ağır ateşte pişirmede %50-63, fırında pişirmede %33-51 ve mikrodalgada pişirmede ise %21-33 oranında kayıp yaşandığı bildirilmiştir. Çalışmadaki veriler değerlendirildiğinde patatesi, fırında ya da mikrodalgada pişirme önerilmiştir (Han ve ark., 2004). Ancak özellikle fast-food endüstrisi düşünüldüğünde patatesin en önemli tüketim şekillerinden birinin derin yağda kızartma olduğu bilinmektedir. Bu nedenle kızartma sonucunda oluşan AA kaybının mümkün olduğunca engellenmesi tüketicilerin sağlığını korumak açısından önemli katkı sağlayacaktır.

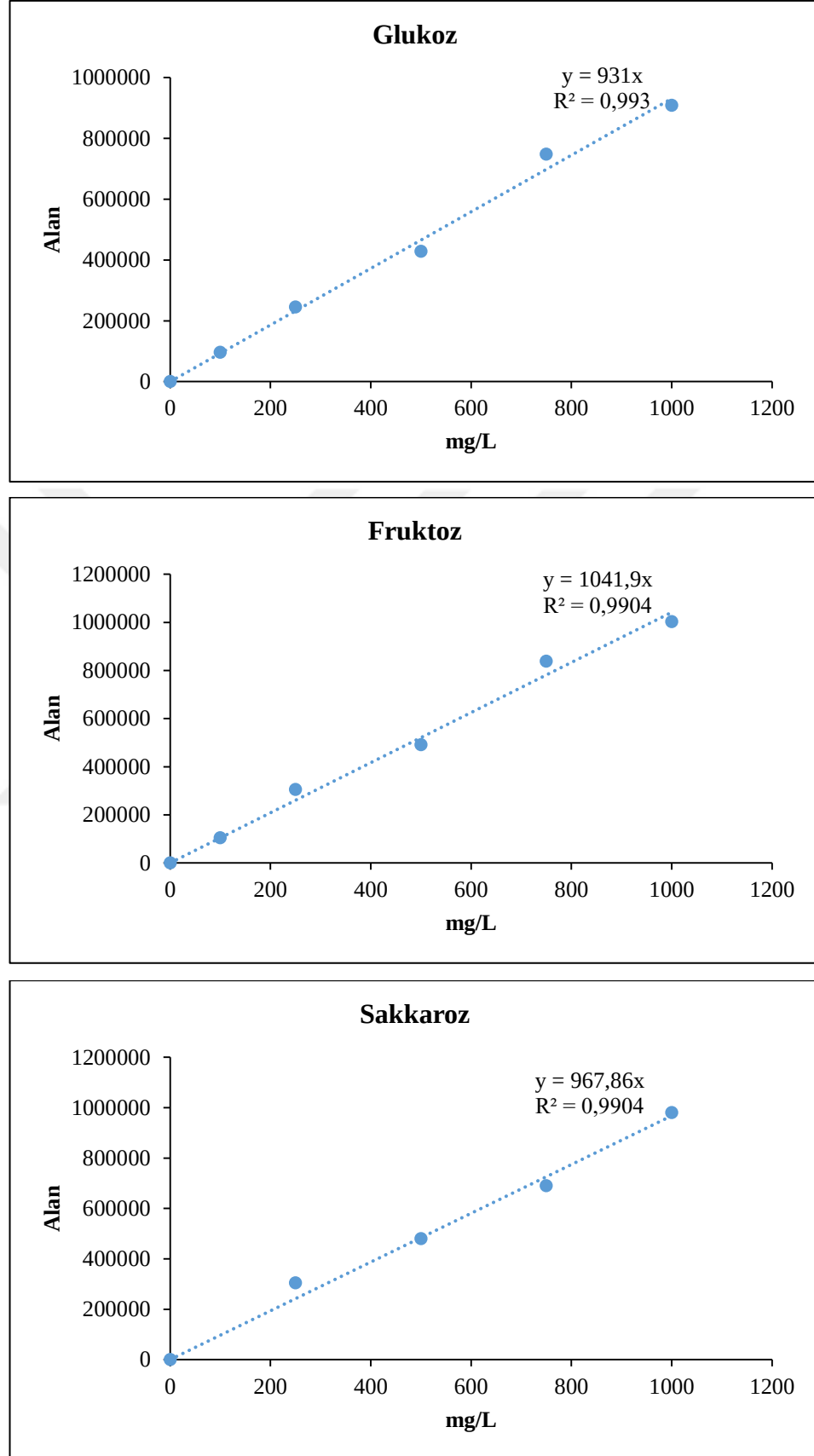
Derin yağda, 180°C sıcaklıkta, 6 dakika kızartılan patates dilimlerinin AA içerikleri Tablo 4.11.'de verilmiştir. En düşük AA içeriği kontrol örneğinde olurken (21,15 mg/100 g), en yüksek değerler ise CYS1.0 (42,34 mg/100 g), CYS2.0 (40,35 mg/100 g) ve GSH2.0 (40,44 mg/100 g) ile muamele edilen örneklerde tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu çözeltilerin, sülfite ile muamele edilen örneklerden daha fazla AA içerdiği de belirlenmiştir. Haase ve Weber (2003) tarafından yapılan çalışmada kızartma işlemi sırasında patates dilimleri ve cipsindeki AA kaybı incelenmiştir. Patates dilimlerinde kesme sonrası AA kaybı görünmezken kızartma öncesi uygulanan haşlama işlemiyle önemli oranda kayıp gözlenmiştir. Patates cipslerinde ise dilimleme ve yıkama sonrası AA içeriği 88,4 mg/100 g'dan 69,4 mg/100 g'a inmiştir. Her iki örnekte de kızartma işlemi AA içeriğini azaltırken DHA içeriğinin artışına sebep olmuştur. Tüm proses boyunca toplam AA kayıpları patates dilimleri için %52, patates cipsleri için ise %26 olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmadaki AA kaybının kontrol grubunda %75 oranıyla (taze örneğe göre) oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Isıl işlem sonucu oluşan AA kaybı kızartma sıcaklığı ve süresinden oldukça fazla etkilenmektedir. Yapılan bir çalışmada 4 farklı sıcaklık ve sürede derin yağda kızartma işleminde 140°C'de 13 dakika, 160°C'de 7 dakika ve 180°C'de 4 dakika sonucunda AA kaybı yaklaşık %31, %19 ve %32 değerlerinde olurken 120°C'de 24 dakika kızartmada %45 kayıp elde edildiği bildirilmiştir. Evde ya da endüstriyel şartlarda (haşlama ve ön kızartma) kızartma sonrası AA kaybının %17-52 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Ancak kızartma öncesi ürünün hazırlama aşamasındaki farklılıklar da son ürünlerdeki AA kaybını etkileyen önemli faktörlerden bir diğeridir (Rojas-Gonzalez ve ark., 2006). Bu çalışmada 1. saat sonunda patateslerin AA içeriklerindeki farklılık kızartma sonrası değerleri etkilemektedir. Taze örneğe göre karşılaştırma yapıldığında tüm prosesin etkisi belirlenmektedir. Ancak sadece kızartma işlemi sırasındaki AA kaybının etkisini incelemek için 1. saat sonundaki değerlerle karşılaştırma yapmak daha doğru olabilir. 1. saat sonundaki verilere göre özellikle GSH grubunda azalmanın daha düşük olduğu dikkat çekmektedir. Kızartma sırasında beklenmedik şekilde açığa çıkan GSH, ısıl işlem ile oluşacak AA kaybını korumada etkili olduğu düşünülmektedir. Tiyollerin AA'yi koruma özelliği olduğu birçok çalışmada belirtilmektedir (Davey ve ark., 2000). Naim ve ark. (1997), portakal suyunun pastörizasyon ve depolanması sırasında tiyol

ile muamele edilmesinin esmerleşme, AA degradasyonu ve kabul edilebilirlik üzerine etkisini incelemiştir. Proses öncesi portakal sularına 4 mM'dan az GSH, CYS veya NAC eklendiğinde, pastörizasyon esnasında AA azalması inhibe edilirken meyve suyunun kabul edilebilirliğinin de arttığı rapor edilmiştir.

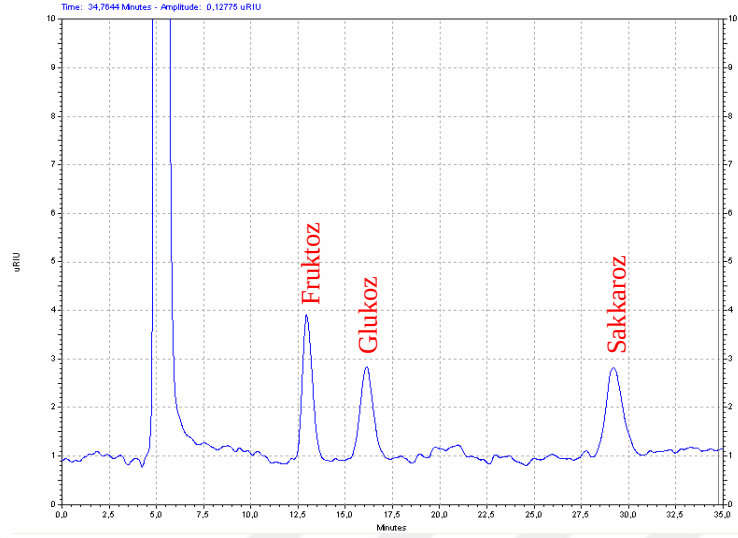
4.7. Şeker İçeriği

Patates ürünlerinde, akrilamid oluşumunun büyük bir bölümü indirgen şeker ve asparajine bağlı reaksiyon sonucunda gerçekleşmektedir. Her patates, mutlaka şeker ve asparajin içermektedir. Ancak bu bileşenlerden akrilamid oluşumu için sıcaklığın 120°C üzerine çıkması ve düşük nem içeriğinin sağlanması gerekmektedir. Kızartma prosesinin son safhalarında bu şartların gerçekleşmesi için mükemmel ortam oluşmaktadır. Araştırmalar, tahıl ürünlerinde akrilamid oluşumunda sınırlayıcı faktörün asparajin, patates ürünlerinde ise indirgen şeker olduğunu göstermektedir. Asparajin patatesten en çok bulunan aminoasit türüdür ve miktarı indirgen şeker içeriğinden genel olarak daha fazladır. Bu nedenle miktarı daha az olan indirgen şeker, patates ürünlerinde sınırlayıcı faktör olmakta ve akrilamid oluşumu ile yüksek korelasyon göstermektedir. De Wilde ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada patatesin toplam indirgen şeker miktarı 0 g/kg'dan 26 g/kg'a çıktığında oluşan akrilamid miktarının 0 mg/kg'dan 2,5 mg/kg'a arttığı belirlenmiş ayrıca 160 örnekle yapılan bu çalışmada indirgen şeker ve akrilamid arasındaki korelasyon katsayısı 0,84 olarak rapor edilmiştir (Bethke ve Bussan, 2013; Rifai ve Saleh, 2020). Bu çalışmada taze patatesin şeker miktarı HPLC yardımıyla refraktif indeks dedektörü kullanılarak belirlenmiş ve standart eğrileri (glukoz, fruktoz ve sakkaroz) Şekil 4.23.'de gösterilmiştir. Ayrıca standart ve örneğe ait kromatogram görüntüleri de sırasıyla Şekil 4.24. ve 4.25.'te verilmiştir. Patatesin yaş ve kuru ağırlık üzerinden hesaplanan şeker içeriği glukoz, fruktoz ve sakkaroz için sırasıyla 1,34; 0,64; 1,46 ve 7,45; 3,16; 8,16 g/kg olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1.). İndirgen şeker içeriği incelendiğinde glukoz miktarı fruktozun yaklaşık 2 katıdır ve indirgen şeker toplamı ise kilogram kuru maddede 10,61'dir. Bu değer yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında Shojaee-Aliabadi ve ark. (2013) ile benzer, Serpen ve Gökmen (2009), Yang ve ark. (2016), Amrein ve ark. (2004)'dan ise yüksek olduğu tespit

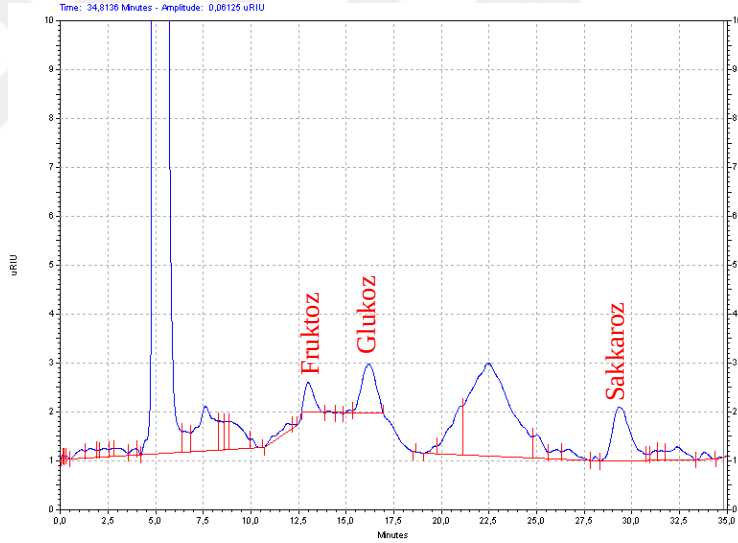
edilmiştir. Çalışmalarda aynı çeşite ait patatesler (Agria) kullanılmasına rağmen arada farklılıkların olduğu görülmektedir. Bu farklılıklar birçok faktöre bağlı olabilir. Örneğin, çalışmada kullanılan patatesin depolama şartları incelendiğinde hasat edildikten sonra 5 ay boyunca 10°C’de depolandığı bilinmektedir. Patates oda sıcaklıklarında depolanırsa çimlenme çok hızlı görülmektedir. Bu nedenle üreticiler depolanma sürecini düşük sıcaklıkta gerçekleştirmektedir. Düşük sıcaklıkta (4°C) patateslerin şeker konsantrasyonu artmaktadır ancak 10°C depolamada şeker konsantrasyonunun artış gösterip göstermediğiyle ilgili farklı çalışmalar mevcuttur. Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, 3 farklı çeşit patates 30 hafta boyunca 4°C ve 8°C sıcaklıkta depolanmış ve 2 haftalık periyotlarla glukoz, fruktoz ve akrilamid analizleri gerçekleştirilmiştir. Depolama sıcaklığının şeker miktarı üzerinde etkili olduğu, 4°C’de depolanan patateslerde şeker miktarının arttığı ancak 8°C’de depolanan örneklerde 30 hafta boyunca değişiklik olmadığı kaydedilmiştir. Amrein ve ark. (2004), Agria çeşiti patatesi 240 gün boyunca 8°C’de depolamıştır. Depolamanın 180. gününe kadar patateslerdeki indirgen şeker miktarının azaldığını, asparajin miktarının ise değişmediğini ancak 150. günden sonra çimlenmenin görüldüğünü rapor etmişlerdir. Gökmen ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada ise “Agria” ve “Russet Burbank” çeşitlerine ait patatesler, $9\pm1^{\circ}\text{C}$ ve 90 ± 5 bağıl nemde 6 ay boyunca farklı atmosfer şartlarında depolanmışlardır. Russet Burbank çeşiti patatesin indirgen şeker miktarında değişiklik görülmezken Agria’nın glukoz miktarı 2,3 katına, fruktoz miktarı ise 2,5 katına çıktığı rapor edilmiştir. Yine hasat yılları arasında farklı patateslerin şeker içeriği değişiminin incelendiği bir çalışmada Agria cinsine ait patateste hasat yılları arasında şeker içeriği %113 farklılık oluştururken asparajin içeriğinin ise önemli derecede değişmediği rapor edilmiştir. Nem ve sıcaklık gibi iklimsel farklılıklar da şeker metabolizması üzerinde çok önemli farklılıklar oluşturmaktadır (Amrein ve ark., 2004). Ticari patates üreticileri, asparajin ve indirgen şeker içeriği düşük çeşitleri tercih etmektedir. Patates kızırtmasına uygun çeşitler için şeker içeriğinde bir üst limit getirilmese de taze örnekte 3 g/kg’dan az olması gerektiği tavsiye edilmektedir (Yang ve ark., 2016). Bu çalışmadaki kullanılan patatesin toplam indirgen şeker içeriği taze örnekte 1,98 g/kg değeriyle tavsiye edilen değer aralığında olduğu görülmektedir.



Şekil 4.23. Şeker analizi için oluşturulan standart eğriler



Şekil 4.24. Miks şeker standartına ait kromatogram görüntüsü



Şekil 4.25. Örneğin şeker içeriğine ait kromatogram görüntüsü

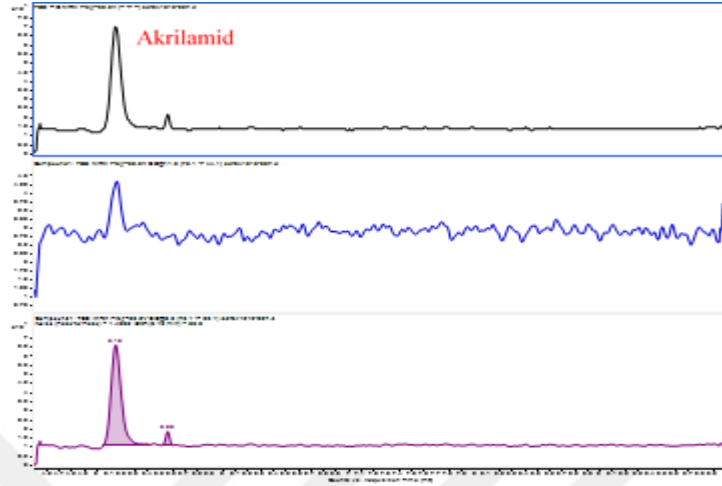
4.8. Akrilamid İçeriği

2002 yılında patates endüstrisi, patates kızartması, patates cipsi ve diğer patates ürünlerinin yüksek sıcaklıkta pişirilmesiyle iz miktarda akrilamid oluşabileceğini fark etmiştir. Daha sonra akrilamidin nörotoksin ve muhtemel kanserojen olarak tanımlanmasıyla sağlık kaygısı artmış ve bu durum dünya çapında araştırmacıları gıdalarda akrilamidin oluşması, varlığı ve yaygınlığı hakkında araştırma yapmaya

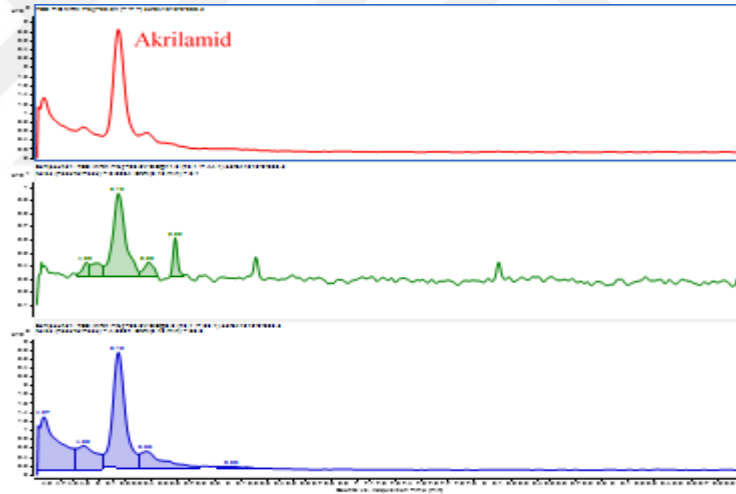
teşvik etmiştir (Bethke ve Bussan, 2013). Kahvaltılık gevrekler, kahve, ekmek, bisküvi ve patates ürünleri önemli oranda akrilamid içeren gıdalardır ancak patates kızartması ve patates cipsinin diğer ürünlere göre hem akrilamid içeriği hem de tüketim oranı oldukça yüksektir. EFSA'nın 2015 yılında yayınladığı rapora göre patates kızartması tüketicilerine bakıldığında, gençler ve yetişkinlerin günde ortalama 67 g patates kızartması tükettiği görülmektedir. Bu nedenle özellikle patates ürünlerinin akrilamid içeriğinin azaltılması toplumun günlük akrilamid alımını önemli oranda azaltacaktır.

Akrilamid tespit edilmesinde uygun yöntemin seçilmesi gıdanın matrisine, yapısına, fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Literatürde akrilamid miktarını belirlemek için GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS, elektrokinetik kapiler kromatografi yöntemi, biyosensör kit yöntemi, yakın kızılötesi spektroskopisi gibi çeşitli uygulamalar mevcuttur. Bunlardan en sık kullanılanların ise GC, GC-MS, HPLC, LC-MS/MS yöntemleri olduğu belirtilmektedir (Akgün ve Arıcı, 2018). Bu çalışmada örneklerdeki akrilamid miktarını belirlemek için sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) tekniği kullanılmıştır. Bu teknikte sıvı kromatografi ünitesinden ayrıştırılmış analitler iyonlaştırılarak MS/MS ünitesine gönderilmektedir. MS/MS ünitesinde iyonlar ilk kuadropolden kütle/yük (m/z) oranlarında ayrıştırılarak girişim hücresine (collision cell) yönlendirilmektedir. Burada yüksek saflıkta azot gazı ile çarpıştırılan moleküller parçalanarak ikinci kuadropole gönderilmektedir. İkinci kuadropol ünitesindeki bu ikinci iyonlar da m/z oranlarında ayrıştırılarak kütleli olarak tayin edilmektedir. Aynı m/z oranına sahip pek çok moleköl olabileceken aynı parçalanma iyonlarına sahip moleküllerin doğada bulunma oranı 1/10000'dir. Bu sayede kesin ve hassas sonuçlar elde edilmektedir. Bu yöntemin yüksek seçiciliğine rağmen gıda matrislerinin karmaşıklığından dolayı numune hazırlama aşamasında daha yoğun temizleme adımı gerekmektedir (Aksoy, 2006). Bunun için çalışmada MCX katı faz ekstraksiyon kartuşu kullanılmış ve böylelikle patates kızartmasındaki akrilamid içeriğini belirlemek için daha temiz ekstrakt elde edilmiştir. Yapılan kromatografik analiz sonrasında elde edilen standart ve örneğe ait kromatogram görüntüleri Şekil 4.26. ve Şekil 4.27.'deki gibidir. Alıkonma süresi 5,15 dakika olarak görülen akrilamidin,

patates örneklerinde hemen hemen standart kadar iyi ayrıştırıldığı ve sağlam sonuçlar verdiği görülmektedir.



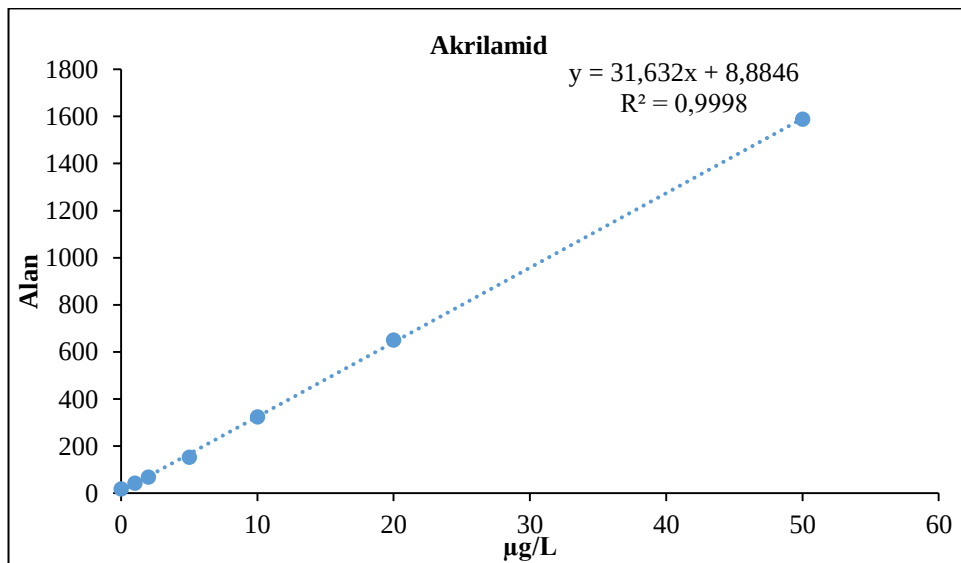
Şekil 4.26. Akrilamid standartına ait kromotogram görüntüsü



Şekil 4.27. Örneğin akrilamid içeriğine ait kromotogram görüntüsü

LC-MS/MS ile oluşturulan akrilamid kalibrasyon eğrisi (0-50 $\mu\text{g/L}$) Şekil 4.28.'de verilmiştir. Hiçbir işlem uygulanmayan kontrol örneğinin akrilamid içeriği kuru maddede 17,95 mg/kg belirlenmiştir (Tablo 4.12.). Yang ve ark. (2016) kızartma işleminin ve patates çeşitlerinin, patates kızartmasında akrilamid oluşumuna etkisini inceledikleri çalışmalarında 190°C'de kızartma işlemi sonrasında akrilamid içeriğinin yaklaşık 9 mg/kg'a kadar çıktığını tespit etmişlerdir. Patates çeşitleri içinde Agria'da ise yaklaşık 6 mg/kg akrilamid belirlenmiştir. Farklı şekillerde patatesin (silindir

veya rendelenmiş) farklı sıcaklık ve sürelerde kızartıldığı başka bir çalışmada, akrilamid miktarının (160-180°C sıcaklık ve 2-5 dk) 20 mg/kg'a kadar çıkabildiği rapor edilmiştir (Taubert ve ark., 2004). Yine Granda ve ark. (2005), patates cipslerini kızartma öncesi farklı şeker ve asparajın çözeltileriyle muamele etmişlerdir. Yüksek şeker ve asparajın içeren örneklerdeki akrilamid miktarının 28 mg/kg'a kadar çıktığını ancak bu değerin yapılan çoğu benzer çalışmadan yüksek olduğunu açıklamışlardır. Friedman (2003) ise patates kızartmasında akrilamid miktarının 0,2-12 mg/kg aralığında olabileceğini rapor etmiştir. Literatürde bu çalışmada tespit edilen değere yakın veriler olmakla birlikte yapılan diğer araştırmalardaki akrilamid değerlerinden genel olarak üstünde olduğu söylenebilir. Bunun en önemli sebeplerinden biri yukarıda bahsedilen hammaddeki indirgen şeker içeriği olabilir. Ancak şeker içeriğinin ortalama değerlerden çok yüksek olmadığı düşünüldüğünde uygulanan proses şartları (sıcaklık ve süre) diğer önemli sebepleri oluşturmaktadır. Kızartma sıcaklığı çok yüksek olduğunda (yaklaşık 200°C ve üzeri) oluşan akrilamidin degrade olduğu ve bu nedenle azaldığı bilinmektedir. 175°C ve üzeri sıcaklık ise akrilamid miktarının maksimuma ulaşmasına neden olmaktadır (Granda ve ark., 2005; Medeiros Vinci ve ark., 2012). Çalışmada kullanılan 180°C kızartma sıcaklığı, gerçek kızartma koşullarını yansıtmak amacıyla uygulanmıştır, bu da yüksek akrilamid miktarının nedenlerinden birini oluşturabilir (Romani ve ark., 2008).



Şekil 4.28. Akrilamid analizi için oluşturulan standart eğri

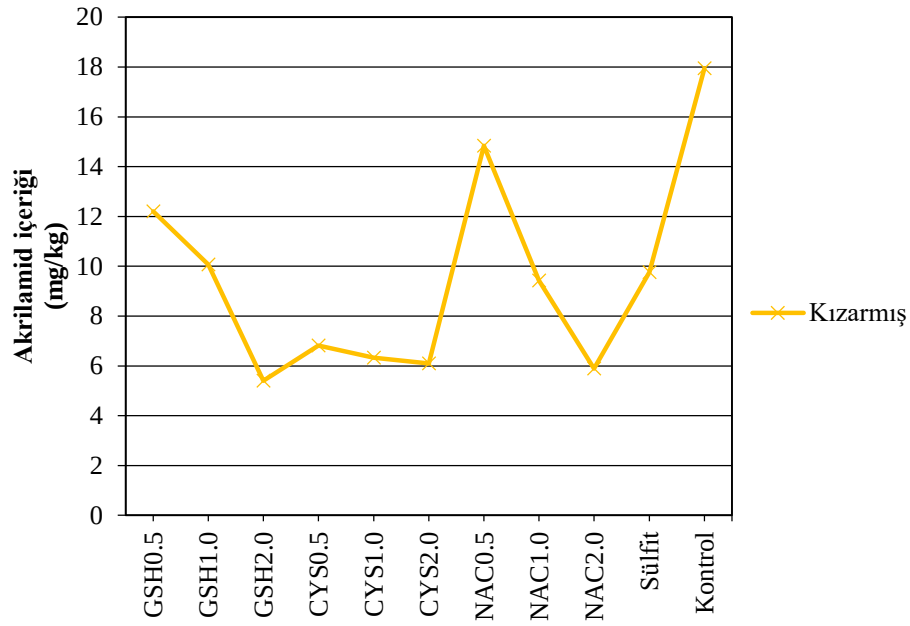
Tiyol çözeltilerine daldırılan örnekler kızartma sonrası incelendiğinde, tüm patateslerdeki akrilamid miktarı kontrole göre azalma göstermiştir. En etkili olanların GSH2.0 (5,40 mg/kg), CYS0.5 (5,78 mg/kg), NAC2.0 (5,89 mg/kg), CYS2.0 (6,10 mg/kg) ve CYS1,0 (6,33 mg/kg) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.12. ve Şekil 4.29.). Bu örnekler değerlendirildiğinde akrilamid miktarında yaklaşık %62-70 arasında bir azalma söz konusu olduğu görülmektedir. Ou ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, patates cipsinin akrilamid içeriğine etkisini incelemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda (%0,1; %0,3 ve %0,5) CaCl_2 , NaHSO_3 ve CYS çözeltilerini kullanmışlardır. Kızartma sonucunda hiçbir çözeltiliye daldırılmayan kontrol örneğinin akrilamid miktarı 5,43 mg/kg bulurken, CYS %0,1, %0,3, %0,5 çözeltilerine daldırılan cipslerin akrilamid miktarları ise 0,88 mg/kg, 0,49 mg/kg ve 0,0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Sülfid çözeltilisinin kullanılan en yüksek konsantrasyonunda (%0,5) akrilamid miktarı 2,86 mg/kg olarak belirlenmiştir. Narita ve Inouye (2014), konserve kahvenin akrilamid içeriğine 20 farklı aminoasit ilavesinin etkisini araştırmış ve 121°C'de 6 dakika ısı uygulaması sonucunda yalnızca LYS (Lisin) ve CYS eklenen kahvelerin akrilamid içeriğinde azalma olduğu tespit edilmiştir. CYS'nin içerdiği -SH grubu sayesinde akrilamid oranındaki azalma %90 olduğu rapor edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, amino ve sülfidril grubu içeren bileşiklerin akrilamid azaltılmasındaki rolü araştırılmıştır. Araştırmada, hem amino hem de sülfidril grubunu aynı molekülde içeren bileşik; GSH ve CYS, yalnızca sülfidril grubu içeren bileşik; NAC, yalnızca amino grubu içeren bileşik; Glu (Glutamik asit), hem amino hem de sülfidril grubunu farklı molekülde içeren bileşik olarak da NAC+Glu kullanılmıştır. Akrilamid içeriğini düşürme oranının CYS>GSH>NAC>>Glu sırasıyla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca akrilamid azaltma stratejilerinde kullanılacak nükleofillerin hem amino hem de sülfidril grubu içermesi gerektiği ve bu iki grubun bileşikte olabildiğince yakın olması gerektiği vurgulanmıştır (Hidalgo ve ark., 2011). Benzer olarak bu çalışmada, düşük konsantrasyonda (%0,5) akrilamid azalma oranı sıralamasının CYS>GSH>NAC şeklinde olduğu görülmektedir. Yüksek konsantrasyonda (%2,0) ise her üç tiyol çözeltilisinin de akrilamid miktarını benzer oranda azalttığı tespit edilmiştir. Avrupa Komisyonu (EU), gıda işletmecileri için bazı zorunlu uygulama kuralları getirmiş ve gıdalardaki akrilamid miktarının azaltılması için bir ölçüt (benchmark level)

belirlemiştir. Ölçüt, akrilamid azaltma stratejilerinin etkinliğini belirlemek için oluşturulan performans göstergesi olarak tanımlanmıştır. Bu ölçüt, patates cipsleri, kahve, ekmek, kahvaltılık gevrek gibi birçok gıdada belirlenirken patates kızartması için 0,5 mg/kg olarak karar verilmiştir (EU, 2017). Bu çalışmada uygulanan azaltma stratejileri, akrilamid miktarını önemli ölçüde azaltmakla birlikte hiçbir örnekte Avrupa Komisyonu'nun patates kızartması için belirlediği seviyeye inilememiştir. Bunun en önemli sebebinin kontrol örneğinde oluşan akrilamid miktarının fazlalığı olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.12. Örneklerin akrilamid içerikleri

Muamele	Akrilamid içeriği (mg/kg)	Azalma oranı (%)
	Kızarmış patates	Kızarmış patates
GSH0.5	12,20±1,78 ^{abc}	32,01
GSH1.0	10,07±1,47 ^{bed}	43,88
GSH2.0	5,40±0,73 ^d	69,91
CYS0.5	6,82±1,05 ^{cd}	61,99
CYS1.0	6,33±0,21 ^{cd}	64,72
CYS2.0	6,10±0,10 ^{cd}	66,02
NAC0.5	14,84±3,55 ^{ab}	17,32
NAC1.0	9,42±3,00 ^{bed}	47,51
NAC2.0	5,89±0,19 ^d	67,18
Sülfite	9,76±0,20 ^{bed}	45,61
Kontrol	17,95±2,70 ^a	0,00

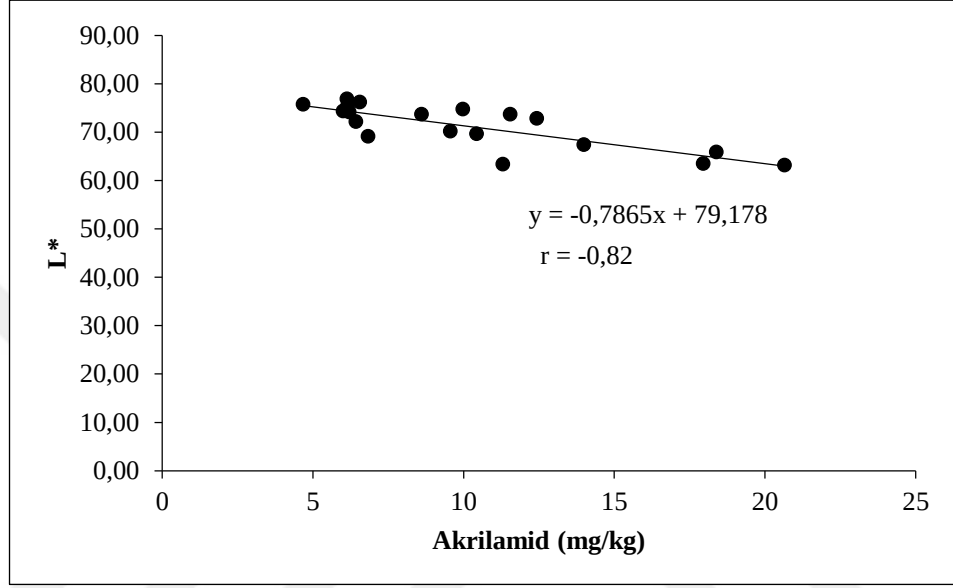
Farklı olan küçük harfler sütun boyunca örnekler arasındaki farkın istatistikî açıdan önemli olduğunu göstermektedir.



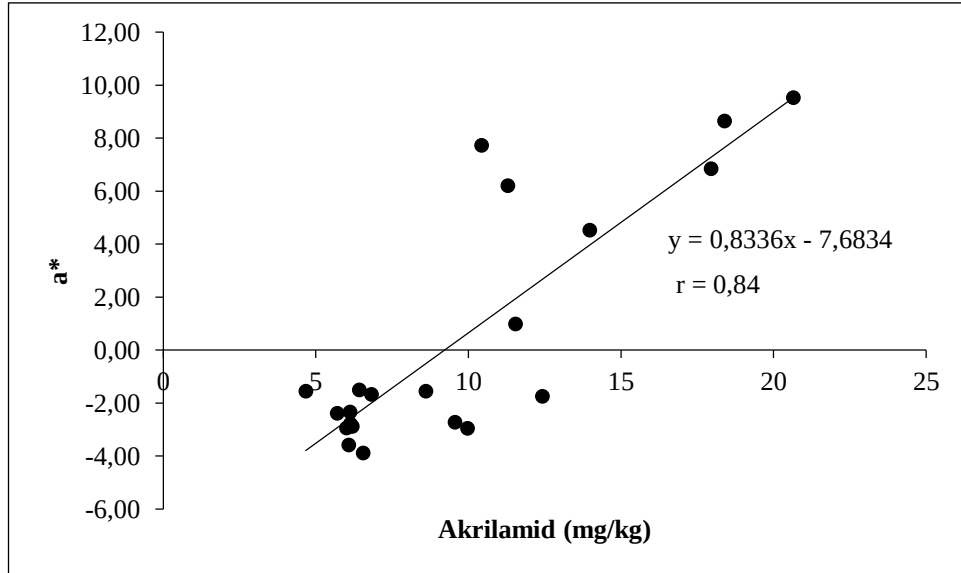
Şekil 4.29. Kızartılan patateslerin akrilamid içeriklerindeki değişim

Patatesin kızartılması sonucu oluşan akrilamid ile diğer veriler arasında (L^* , a^* , b^* , ΔE , tiyol, AA, TFM ve antioksidan aktivite içerikleri) ilişki olup olmadığını belirlemek için lineer regresyon analizi yapılmıştır. Şekil 4.30.'da görüldüğü gibi L^* değeri ile akrilamid arasında negatif doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir ($r=-0,82$). Yine Şekil 4.31. ve 4.32.'de akrilamid içeriği ile a^* ve b^* değerleri arasında belirlenen korelasyon katsayıları 0,84 ve 0,77'dir. Toplam renk değişimini ifade etmekte kullanılan ΔE değeri ise a^* ve b^* değerleri ile aynı eğilim içerisinde olmuş ve r değeri 0,66 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.33.). Bu veriler değerlendirildiğinde, renk değerleriyle akrilamid oluşumu arasında güçlü bir ilişkinin varlığından söz etmek mümkündür. Maillard reaksiyonu sonucunda kahverengi melanoidinlerin oluşması, patates cipslerindeki yüzey renginin akrilamid konsantrasyonu için bir gösterge olabileceği düşünülebilir. L^* , a^* , b^* değerlerine göre yüzey rengi ile akrilamid konsantrasyonu arasındaki ilişki bazı araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Pedreschi ve ark. (2006), patates kızartmasıyla yaptıkları çalışmalarında, akrilamid içeriği arttıkça L^* değeri azalmış ve kırmızılığı gösteren a^* değeri ise artış göstermiştir ve aralarında linear bir korelasyon olduğu ifade edilmiştir. Serpen (2010), patates cipsinde korelasyon katsayılarını akrilamid ve L^* değeri arasında -0,730, a^* değeri arasında 0,885, ΔE değeri arasında ise 0,787 olarak

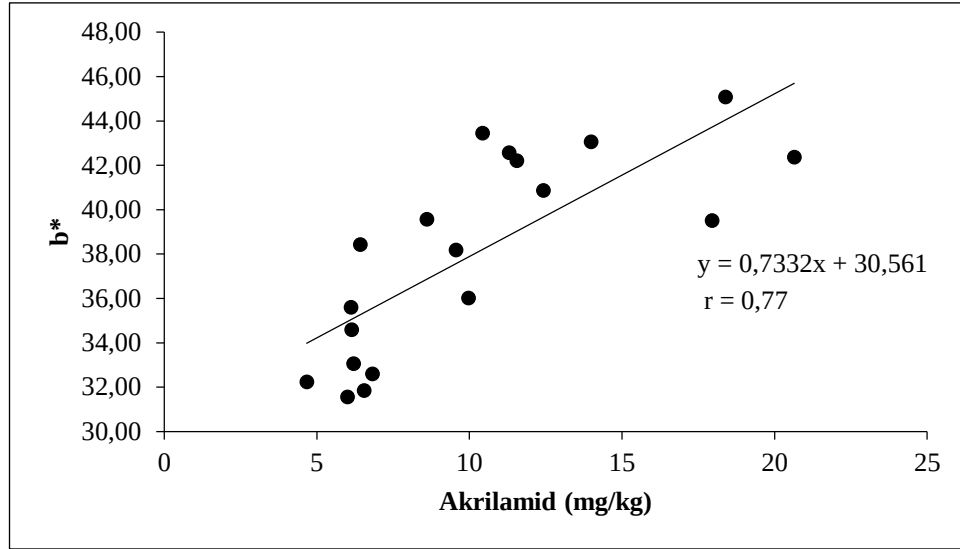
rapor etmiştir. b^* değerinin ise zayıf bir korelasyon gösterdiği ($r=0,261$) ifade edilmiştir. Akrilamid konsantrasyonu ile yüzey rengi arasında yüksek bir ilişki olduğuna dair benzer sonuçlar literatürde daha birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Granda ve ark., 2005; Mestdagh ve ark., 2008; Pedreschi ve ark., 2007).



Şekil 4.30. Kızarmış patateslerin L^* değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki ($n=21$)

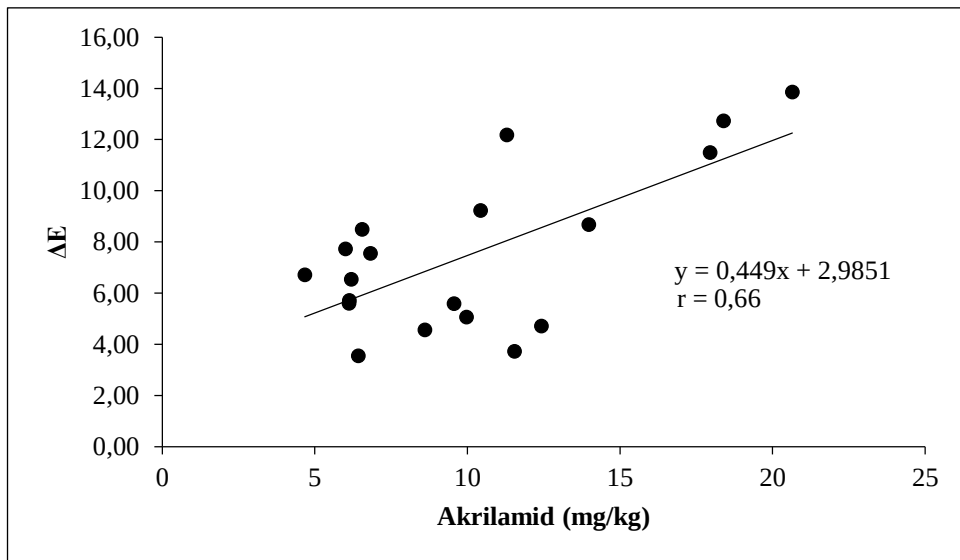


Şekil 4.31. Kızarmış patateslerin a^* değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki ($n=21$)

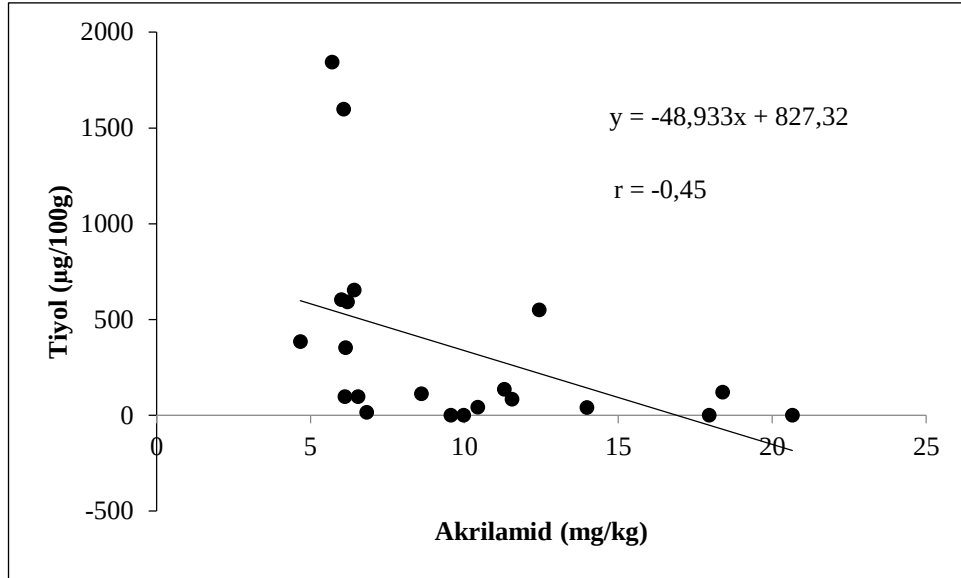


Şekil 4.32. Kızarmış patateslerin b* değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki (n=21)

Patateslerin tiyol içerikleri ile akrilamid miktarları arasındaki ilişkiye bakıldığında zayıf bir negatif korelasyon ($r=-0,45$) olduğu görülmektedir (Şekil 4.34.). İlişkinin negatif olması beklenen bir durumdur çünkü tiyol miktarı arttıkça akrilamid içeriğinin azalması beklenmektedir. Ancak katsayının düşük olması kalıntı tiyol içeriklerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Eğer her tiyol kendi içerisinde değerlendirilse korelasyon katsayıları GSH, CYS ve NAC için sırasıyla -0,91, -0,71 ve -0,78 olarak hesaplanmaktadır ve oldukça yakın bir ilişkinin varlığı göze çarpmaktadır.

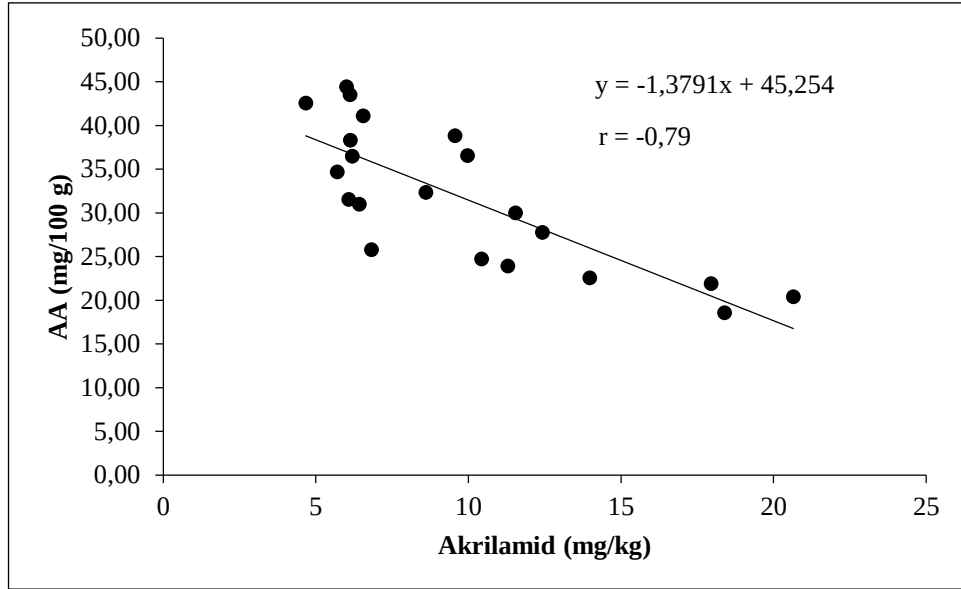


Şekil 4.33. Kızarmış patateslerin ΔE değerleri ile akrilamid arasındaki ilişki (n=21)



Şekil 4.34. Kızarmış patateslerin tiyol içeriği ile akrilamid arasındaki ilişki (n=21)

Bu çalışmada yapılan bir diğer değerlendirmeye AA ve akrilamid arasında negatif ve güçlü bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.35.). Bunun anlamı patatesin içeriğindeki AA miktarı arttıkça daha az akrilamid oluştuğudur. Bu konuda yapılan çalışmalardan birinde model ortama AA eklenmesiyle akrilamid içeriğinde %19'luk bir azalma olduğu belirlenmiştir (Adams ve ark., 2010). Yapılan diğer araştırmalarda da AA'nın akrilamid oluşumunu baskıladığı rapor edilmiştir (Zeng ve ark., 2009). Ancak çalışmamızdaki AA-akrilamid ilişkisinin direk mi oluştuğu yoksa tiyollerin koruyucu etkisinden mi kaynaklandığı konusunda net bir yorum yapabilmek mümkün görünmemektedir. Akrilamid ile toplam antioksidan kapasite arasındaki ilişki ilk defa Serpen ve Gökmen (2009) tarafından incelenmiştir. Yapılan çalışmada akrilamid ile antioksidan kapasite arasında yakın bir doğrusal ilişki tespit edilmiştir ($r=0,83$). Bu yakın ilişki, akrilamid ve antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin Maillard reaksiyonunun benzer evrelerinde benzer hızlarda oluştukları şeklinde açıklanmıştır. Bu çalışmada, TFM, DPPH radikal süpürme aktivitesi, FRAP ve CUPRAC değerleri ile akrilamid arasındaki korelasyon katsayıları sırasıyla -0,21, -0,31, -0,19 ve -0,28 olarak hesaplanmıştır. Bu veriler değerlendirildiğinde akrilamid ile hem toplam antioksidan kapasite hem de TFM arasında yakın bir ilişki kurulamadığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.35. Kızarmış patateslerin AA içerikleri ile akrilamid arasındaki ilişki (n=21)

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında, taze kesilmiş patateslerin oda sıcaklığında 48 saat depolanması sırasında meydana gelen enzimatik esmerleşmeye tiyollerin etkisi incelenmiştir. Bunun için farklı konsantrasyonlarda tiyol çözeltilerine daldırılan örneklerin 1, 24 ve 48. saatlerde renk ve PPO enzim aktivitesi analizleri gerçekleştirilmiştir. Ek olarak, kalıntı tiyol miktarı, antioksidan aktivitesi, TFM ve AA miktarlarındaki değişim de tespit edilmiştir. Çalışmanın diğer aşamasında ise taze kesilmiş ve tiyol çözeltilerine daldırılmış patatesler, 180°C sıcaklıkta 6 dakika boyunca ayçiçek yağında kızartılmış ve ısıl işlem uygulamasının enzimatik olmayan esmerleşmeye (renk ve akrilamid) etkisi belirlenmiştir. Taze kesilmiş patateslerde yapılan analizler (kalıntı tiyol miktarı, antioksidan aktivite, TFM, AA) kızartılmış patateslere de uygulanmıştır.

Araştırma sonunda elde edilen verilere göre;

- Renk analizi sonuçlarına göre taze kesilmiş patateslerin depolama sonunda L* değerleri azalırken (sülfite grubu hariç) en yüksek değerler CYS2.0 ve NAC2.0 örneklerinde tespit edilmiştir. a* değerleri depolama süresi boyunca genel olarak değişiklik göstermemiş, depolama sonunda en yüksek a* değeri GSH ile muamele edilmiş gruplarda belirlenmiştir. Taze kesilmiş patateslerin b* değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Kızartma işlemi, kontrol örneğinin L* değerinde azalmaya sebep olurken CYS1.0, GSH2.0, CYS2.0, NAC2.0 ile muamele edilen örneklerde kararma önlenmiştir. Tiyol ile muamele edilen örneklerin birçoğunun a* değerlerinde azalma, b* değerlerinde ise artış tespit edilmiştir.

- İki renk arasında farklılığı temsil eden ΔE değeri, depolama sonunda, en yüksek kontrol grubunda en düşük ise CYS ve NAC ile muamele edilen örneklerde tespit edilmiştir. Kızarmış patateslerin ΔE değerleri incelendiğinde en yüksek değer yine kontrol grubunda olduğu, en düşük değerlerin ise NAC1.0, GSH1.0 ve NAC2.0 örneklerinde olduğu görülmektedir.

- PPO aktivitesi, hiçbir işlem uygulanmayan kontrol grubunda 48 saatlik depolama boyunca artmıştır. Tiyol ile muamele edilmiş patateslerin genel olarak kontrol grubuna göre daha düşük enzim aktivitesine sahip oldukları belirlenmiştir. Örnekler arasında PPO aktiviteleri karşılaştırıldığında, GSH çözeltilerinin en az inhibisyon sağladığı belirlenmiştir. CYS1.0 ve CYS2.0 ile muamele edilen örneklerde, 48 saat sonunda PPO aktivitesi tamamen durdurulmuştur. NAC2.0 çözeltisi PPO aktivitesini 24 saat sonunda tamamen inhibe etmiş, 48 saat sonunda ise çok az artış görülmüştür.

- Taze kesilmiş patatesler kalıntı tiyol miktarı açısından incelendiğinde, 1.saat sonunda GSH ile muamele edilen örneklerdeki tiyol içereğinin diğer gruplara göre çok düşük olduğu tespit edilmiştir. Depolama boyunca tüm örneklerdeki tiyol içeriği azalmıştır. NAC çözeltisi ile muamele edilen örneklerin kızartma sonrasında kalıntı tiyol miktarlarının diğer tiyollerle karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Kızartma sonunda CYS ve NAC çözeltilerine daldırılan örneklerin tiyol içerikleri azalırken GSH çözeltilerine daldırılan örneklerde beklenenin aksine artış gözlenmiştir.

- Antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanılan DPPH radikal süpürme aktivitesi, sülfid ve tiyol çözeltilerine daldırılan tüm örneklerde artmıştır. Özellikle NAC çözeltisine daldırılan örneklerin, önemli derecede yüksek aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Daldırma çözeltilerinin konsantrasyonun artmasıyla, patateslerin DPPH radikal süpürme eğilimi de artmıştır. 48 saat sonunda tüm gruplarda antioksidan aktivite azalırken en yüksek temizleme aktivitesine NAC2.0 ve sülfid ile muamele edilen örnekler sahip olmuştur. Kızartma işlemiyle DPPH radikal süpürme aktivitesindeki

değişime bakıldığında, GSH0.5, CYS1.0, CYS2.0 ve kontrol patateslerinde kızartma öncesi ve sonrası istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Diğer örneklerin aktivitesinde azalma gözlenmiştir. En yüksek değerin, NAC2.0 ile muamele edilmiş örneğe ait olduğu belirlenmiştir.

- Diğer bir antioksidan belirleme yöntemi olan FRAP analizi sonuçlarına göre, NAC2.0 çözeltisi ile muamele edilen örneklerin antioksidan aktivite değerleri tüm depolama periyotlarında en yüksek olurken, 24 saat sonunda kontrol örneği, 48 saat sonunda ise GSH1.0, GSH2.0 ve CYS0.5 çözeltilerine daldırılan patatesler en düşük değerleri göstermiştir. Kızartma işlemiyle tüm örneklerin FRAP değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Tiyo çözeltileri, patateslerin FRAP değerlerini kontrol örneğine göre önemli derecede artırmıştır. FRAP analizi sonuçları genel olarak incelendiğinde, DPPH sonuçları ile benzer olarak NAC ile muamele edilen örneklerde, kontrol grubundan çok daha yüksek değerler saptanmıştır.

-Bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi olan CUPRAC değerleri, 1.saat sonunda en yüksek GSH2.0, CYS2.0 ve kontrol örneklerinde görülürken en düşük değer NAC2.0 ile muamele edilmiş patatesten belirlenmiştir. Depolama süresi uzadıkça CUPRAC değerlerinde azalma görülmüş, 24. ve 48.saatteki en yüksek değer CYS2.0 örneğine ait olmuştur. Kızartma işlemiyle tüm örneklerin CUPRAC değerleri önemli oranda azalmıştır ancak örnekler arasında çok önemli fark oluşmamıştır. Kızartma sonrası en yüksek değerler CYS1.0 ve CYS2.0 ile muamele edilen örneklerde belirlenmiştir.

- Taze kesilmiş ve tiyo çözeltilerine daldırılmış patateslerin TFM miktarları incelendiğinde, 1. saat sonunda en düşük değer GSH0.5, en yüksek değer ise NAC2.0 ile muamele edilen örneklerde tespit edilmiştir. Hem depolama hem de kızartma ile birlikte TFM miktarı azalmıştır. Kızartma sonrasında en yüksek TFM değeri NAC2.0 ile muamele edilmiş örnekte, en düşük değer ise GSH0.5 ile muamele edilen örnekte tespit edilmiştir. GSH0.5, GSH1.0,

GSH2.0, CYS0.5, CYS1.0 ve sülfite ile muamele, kızartılmış patateslerde TFM miktarına katkı sağlamamıştır.

- Depolama sırasında AA değişimlerine bakıldığında, 24 saat sonunda tüm tiyol çözeltilerinin %2 konsantrasyonları ile muamele edilen örneklerin başlangıçtaki AA içeriklerini koruduğu belirlenmiştir. Depolamanın sonunda ise kontrol ile benzer olarak GSH0.5 ve GSH1.0 ile muamele edilen örneklerde AA tamamen tükenmiştir. CYS2.0, NAC1.0, NAC2.0 ve sülfite çözeltilisine daldırılmış örneklerin 48 saat sonrasındaki AA içerikleri beklenenden farklı olarak artış göstermiştir. Isıl işlem ile kızarmış patateslerin AA miktarı azalmıştır. En düşük AA içeriği kontrol örneğinde olurken en yüksek değerler ise CYS1.0, CYS2.0 ve GSH2.0 ile muamele edilen örneklerde saptanmıştır.

- Tiyol çözeltilerine daldırılan örneklerin kızartma sonrası akrilamid içerikleri incelendiğinde, tüm patateslerdeki akrilamid miktarı kontrole göre azalma göstermiştir. En etkili olanların GSH2.0, CYS0.5, NAC2.0, CYS2.0 ve CYS1.0 olduğu tespit edilmiştir.

- Yapılan lineer regresyon analizlerine göre, L^* , a^* , b^* , ΔE ve AA sonuçları ile akrilamid arasında yüksek korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan L^* , ΔE , AA ile negatif korelasyon, a^* ve b^* ile pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. Antioksidan kapasite ve TFM sonuçları değerlendirildiğinde ise akrilamid ile aralarında yakın bir ilişki kurulamamıştır.

Özetle, analiz sonuçlarının tümü değerlendirildiğinde farklı konsantrasyonlarda kullanılan tiyol çözeltileri, renk değerlerini korumuş, PPO enzim aktivitesini engellemiş, CYS1.0, CYS2.0 ve NAC2.0 ile muamele enzim aktivitesini durdurmuştur. Enzim aktivitesini engellemede GSH ile muamele etkili olmamıştır. Kalıntı tiyol miktarı, CYS2.0 ve NAC2.0 örneklerinde yüksek olurken GSH grubunda yok denecek kadar azalmıştır. Tiyol çözeltileri depolama boyunca antioksidan aktiviteyi artırmıştır. AA içerikleri depolama boyunca korunmuş hatta

CYS2.0, NAC1.0, NAC2.0 ve sülfite daldırılmış örneklerde artış gözlenmiştir. Kızartılan patateslerdeki değişimlere bakıldığında, CYS1.0, GSH2.0, CYS2.0, NAC2.0 örneklerinde kararma önlenmiştir. CYS ve NAC kalıntı miktarı kızartmayla azalırken GSH içeriklerinde artış meydana gelmiştir. Antioksidan aktivitede kontrol örneğine göre artışlar görülürken özellikle NAC2.0 ile muamele edilen örnekler en yüksek değerlere sahip olmuştur. AA'daki azalma, tiyol çözeltileriyle muamele edilen örneklerde kontrol grubuna göre daha fazla engellenmiştir. Akrilamid içeriğinde ise GSH2.0, CYS0.5, NAC2.0, CYS2.0 ve CYS1.0 örneklerinde %62-70 arasında bir azalma elde edilmiştir.

Bu çalışmayla taze kesilmiş patateslerin 48 saatlik depolanması sırasında, uygulanan tiyol çözeltileriyle esmerleşmeye karşı etkili bir koruma sağlanacağı ayrıca antioksidan aktivite ve AA içeriklerinin de önemli oranda artırılacağı belirlenmiştir. Yine patateslerin kızartılması sırasında oluşan ve önemli sağlık sorunlarına yol açma potansiyeli bulunan akrilamid bileşeninde yaklaşık %70 azalma sağlanabileceği tespit edilmiştir. Tüm sonuçlar hem ekonomik yönleri hem de etki oranları ile değerlendirildiğinde, CYS ve NAC tiyollerinin patateslerde sülfite yerine kullanılabilme potansiyelinin ortaya konulması bu çalışmanın en önemli sonucunu oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

- AACC. (1986). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists*. Minneapolis.
- Adams, A., Hamdani, S., Lancker, F. Van, M jri, S., & De Kimpe, N. (2010). Stability of acrylamide in model systems and its reactivity with selected nucleophiles. *Food Research International*, 43(5), 1517–1522. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.033>
- Akgün, B., & Arıcı, M. (2018). Akrilamid ; toksisitesi , azaltma teknikleri ve analiz yöntemleri. *Journal of Food and Feed Science-Technology*, 20, 12–21.
- Aksoy, A. (2006).  rnek hazırlamada kati faz ekstraksiyonu metodu, 20(3), 259–269.
- Akyol, H., Riciputi, Y., Capanoglu, E., Caboni, M. F., & Verardo, V. (2016, June 1). Phenolic compounds in the potato and its byproducts: An overview. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms17060835>
- Alandes, L., Quiles, A., Pérez-Munuera, I., & Hernando, I. (2009). Improving the quality of fresh-cut apples, pears, and melons using natural additives. *Journal of Food Science*, 74(2), 90–96. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01061.x>
- Albayrak, S., Saėdi , O., Aksoy, A., & Kelimeler, A. (2010). Bitkisel  r nlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler The assays used for assessing antioxidant capacities of herbal products and foods. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4), 401–409. Retrieved from <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/236232>
- Albrecht, J. A., Schafer, H. W., & Zottola, E. A. (1990). Relationship of total sulfur to initial and retained ascorbic acid in selected cruciferous and noncruciferous vegetables. *Journal of Food Science*, 55(1), 181–183. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06047.x>
- Ali, H. M., El-Gizawy, A. M., El-Bassiouny, R. E. I., & Saleh, M. A. (2016). The role of various amino acids in enzymatic browning process in potato tubers, and identifying the browning products. *Food Chemistry*, 192, 879–885. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.100>
- Ali, S., Khan, A. S., & Malik, A. U. (2016). Postharvest L-cysteine application delayed pericarp browning, suppressed lipid peroxidation and maintained antioxidative activities of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 121, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.07.015>

- Ali, S., Khan, A. S., Malik, A. U., Nawaz, A., & Shahid, M. (2018). Postharvest application of antibrowning chemicals modulates oxidative stress and delays pericarp browning of controlled atmosphere stored litchi fruit. *Journal of Food Biochemistry*, 43(3), e12746. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12746>
- Altunkaya, A., & Gökmen, V. (2008). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.046>
- Amrein, T. M., Schönbachler, B., Rohner, F., Lukac, H., Schneider, H., Keiser, A., ... Amadò, R. (2004). Potential for acrylamide formation in potatoes: Data from the 2003 harvest. *European Food Research and Technology*, 219(6), 572–578. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1025-z>
- Anese, M., Bortolomeazzi, R., Manzocco, L., Manzano, M., Giusto, C., & Nicoli, M. C. (2009). Effect of chemical and biological dipping on acrylamide formation and sensory properties in deep-fried potatoes. *Food Research International*, 42(1), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.09.008>
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemist. Washington.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Ozyürek, M., Celik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... Ozyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1496–547. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17909504>
- Apak, R., Güçlü, K., Ozyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970–7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- Augustine, D. A., & Bent, G.-A. (2019). Reducing acrylamide exposure: a review of the application of sulfur-containing compounds - A Caribbean Outlook. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 9(3), 192–209. <https://doi.org/10.9734/ejnfs/2019/v9i3330058>
- Babu, P. A. S., Aafrin, B. V., Archana, G., Sabina, K., Sudharsan, K., Sivarajan, M., & Sukumar, M. (2017). Effects of polyphenols from *Caralluma fimbriata* on acrylamide formation and lipid oxidation—An integrated approach of nutritional quality and degradation of fried food. *International Journal of Food Properties*, 20(6), 1378–1390. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1210161>
- Bassil, D., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2005). Oxidation of caffeic acid in the presence of L-cysteine: Isolation of 2-S-cysteinylicaffeic acid and evaluation of its antioxidant properties. *Food Research International*, 38(4), 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.009>

- Bemiller, J. N., & Whistler, L. (1997). Carbonhydrates. In O. R. Fennema (Ed.), *Food Chemistry* (3. Edition, pp. 205–208). Marcel Dekker. Retrieved from http://drasalehi.iauq.ac.ir/assets/subdomains/drasalehi/file/Marcel Dekker,_Food Chemistry, 3rd Edition_%5B1997_ISBN0824793463%5D.pdf
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bethke, P. C., & Bussan, A. J. (2013). Acrylamide in Processed Potato Products. *American Journal of Potato Research*, 90(5), 403–424. <https://doi.org/10.1007/s12230-013-9321-4>
- Birdal, C. (2011). *Bazı sebze ve meyvelerdeki polifenol oksidaz enzim aktivitesi üzerine ultrason ve ultraviyole ışınlarının inhibisyon etkisinin incelenmesi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi
- Blessington, T., Nzaramba, M. N., Scheuring, D. C., Hale, A. L., Reddivari, L., & Miller, J. C. (2010). Cooking methods and storage treatments of potato: effects on carotenoids, antioxidant activity, and phenolics. *American Journal of Potato Research*, 87(6), 479–491. <https://doi.org/10.1007/s12230-010-9150-7>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brown, C. R. (2005). Antioxidants in potato. *Amer J of Potato Res*, 82, 163.
- Burdurlu, H. S., & Karadeniz, F. (2002). Gıdalarda maillard reaksiyonu. *Gıda*, 27(2), 77–83.
- Cabezas-Serrano, A. B., Amodio, M. L., Cornacchia, R., Rinaldi, R., & Colelli, G. (2009). Suitability of five different potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) to be processed as fresh-cut products. *Postharvest Biology and Technology*, 53(3), 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.009>
- Cánovas, J. A., Gea-Botella, S., Borrás, F., Martí, N., Valero, M., Saura, D., ... Laencina, J. (2020). Vitamin C loss kinetics and shelf life study in fruit-based baby foods during post packaging storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100453>
- Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., & de Vos, R. (2008). Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 964–973. <https://doi.org/10.1021/jf072990e>
- Capuano, E., & Fogliano, V. (2011, May 1). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.002>

- Cárcel, J. A., García-Pérez, J. V., Sanjuán, N., & Mulet, A. (2010). Influence of pre-treatment and storage temperature on the evolution of the colour of dried persimmon. *LWT - Food Science and Technology*, 43(8), 1191–1196. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2010.04.011>
- Casado, F. J., Sánchez, A. H., & Montañó, A. (2010). Reduction of acrylamide content of ripe olives by selected additives. *Food Chemistry*, 119(1), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.06.009>
- Claeys, W. L., DeVleeschouwer, K., & Hendrickx, M. E. (2005). Effect of amino acids on acrylamide formation and elimination kinetics. *Biotechnology Progress*, 21(5), 1525–1530. <https://doi.org/10.1021/bp050194s>
- Colantuono, F., Amodio, M. L., Colelli, S., & Castillo Garcia, S. (2015). Application of antioxidant compounds to preserve fresh-cut peaches quality. *ISHS Acta Horticulturae 1084:VIII International Peach Symposium*.
- Cornacchia, R., Cabezas-Serrano, A. B., Amodio, M. L., & Colelli, G. (2011). Suitability of 4 potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) to be processed as fresh-cut product. Early cultivars. *American Journal of Potato Research*, 88(5), 403–412. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9206-3>
- Dao, L., & Friedman, M. (1992). Chlorogenic Acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11), 2152–2156. <https://doi.org/10.1021/jf00023a022>
- Davey, M. W., Montagu, M. Van, Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., ... Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 825–860. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(20000515\)80:7<825::aid-jsfa598>3.3.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(20000515)80:7<825::aid-jsfa598>3.3.co;2-y)
- De Wilde, T., De Meulenaer, B., Mestdagh, F., Govaert, Y., Vandeburie, S., Ooghe, W., ... Verhé, R. (2005). Influence of storage practices on acrylamide formation during potato frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6550–6557. <https://doi.org/10.1021/jf050650s>
- Demirkol, O., Adams, C., & Ercal, N. (2004). Biologically important thiols in various vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8151–8154. <https://doi.org/10.1021/jf040266f>
- Demirkol, O., & Cagri-Mehmetoglu, A. (2008). Biologically important thiols in various organically and conventionally grown vegetables. *Journal of Food and Nutrition Research*, 47(2), 77–84.
- Demirkol, O., & Ercal, N. (2011). Hnadbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods. In L. M. L. Nollet & T. Fidel (Eds.) (pp. 69–87). CRC Press.
- Dudley, E. D., & Hotchkiss, J. H. (1989). Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase. *Journal of Food Biochemistry*, 13(1), 65–75. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1989.tb00385.x>

- EU. (2017). *Commission Regulation (EU) 2017/2158: establishing mitigation measures and benchmark levels for the reduction of the presence of acrylamide in food*. *Official Journal of the European Union* (Vol. 2017). https://doi.org/http://eur-lex.europa.eu/pri/en/oj/dat/2003/l_285/l_28520031101en00330037.pdf
- EFSA. (2016). *Scientific Opinion on acrylamide in food*. *EFSA Journal* (Vol. 13). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4104>
- El Hosry, L., Auezova, L., Sakr, A., & Hajj-Moussa, E. (2009). Browning susceptibility of white wine and antioxidant effect of glutathione. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2459–2463. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02036.x>
- Espín, J. C., García-Ruiz, P. A., Tudela, J., Varón, R., & García-Cánovas, F. (1998). Monophenolase and Diphenolase Reaction Mechanisms of Apple and Pear Polyphenol Oxidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 2968–2975. <https://doi.org/10.1021/jf971045v>
- FAO. (2014). Statistical database. Retrieved March 27, 2017, from <http://www.fao.org/faostat>
- Ferreira-Lima, N. E., Burin, V. M., Caliari, V., & Bordignon-Luiz, M. T. (2016). Impact of pressing conditions on the phenolic composition, radical scavenging activity and glutathione content of Brazilian *Vitis vinifera* White Wines and evolution during bottle ageing. *Food and Bioprocess Technology*, 9(6), 944–957. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1680-7>
- Fiselier, K., Bazzocco, D., Gama-Baumgartner, F., & Grob, K. (2006). Influence of the frying temperature on acrylamide formation in French fries. *European Food Research and Technology*, 222(3–4), 414–419. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0046-6>
- Foyer, C. H., & Halliwell, B. (1976). The Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: A Proposed Role in Ascorbic Acid Metabolism. *Planta* (Vol. 133).
- Friedman, M. (1994). Improvement in the Safety of Foods by SH-Containing Amino Acids and Peptides. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 3–20.
- Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4504–4526. <https://doi.org/10.1021/jf030204+>
- Friedman, M. (2015). Acrylamide: Inhibition of formation in processed food and mitigation of toxicity in cells, animals, and humans. *Food and Function*, 6(6), 1752–1772. <https://doi.org/10.1039/c5fo00320b>
- Friedman, M., & Bautista, F. F. (1995). Inhibition of polyphenol oxidase by thiols in the absence and presence of potato tissue suspensions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), 69–76. <https://doi.org/10.1021/jf00049a014>

- Furrer, A. N., Chegeni, M., & Ferruzzi, M. G. (2018). Impact of potato processing on nutrients, phytochemicals, and human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(1), 146–168. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1139542>
- Ghidelli, C., Mateos, M., Rojas-Argudo, C., & Pérez-Gago, M. B. (2013). Antibrowning effect of antioxidants on extract, precipitate, and fresh-cut tissue of artichokes. *LWT - Food Science and Technology*, 51(2), 462–468. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.12.009>
- Gökmen, V., Akbudak, B., Serpen, A., Acar, J., Turan, Z. M., & Eriş, A. (2007). Effects of controlled atmosphere storage and low-dose irradiation on potato tuber components affecting acrylamide and color formations upon frying. *European Food Research and Technology*, 224(6), 681–687. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0357-2>
- Gökmen, V., Palazoğlu, T. K., & Şenyuva, H. Z. (2006). Relation between the acrylamide formation and time–temperature history of surface and core regions of French fries. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 972–976. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2005.08.030>
- Gökmen, V., & Şenyuva, H. Z. (2007). Effects of some cations on the formation of acrylamide and furfurals in glucose-asparagine model system. *European Food Research and Technology*, 225(5–6), 815–820. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0486-7>
- Granda, C., Moreira, R. G., & Castell-Perez, E. (2005). E : Food Engineering and Physical Properties Effect of Raw Potato Composition on Acrylamide Formation in Potato Chips. *Food Engineering and Physical Properties*, 70(9), 519–525.
- Grob, K., Biedermann, M., Biedermann-Brem, S., Noti, A., Imhof, D., Amrein, T., ... Bazzocco, D. (2003). French fries with less than 100 µg/kg acrylamide. A collaboration between cooks and analysts. *European Food Research and Technology*, 217(3), 185–194. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0753-9>
- Gunes, G., & Lee, C. Y. (1997). Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *Journal of Food Science*, 62(3), 572–575. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb04433.x>
- Gümüşay, Ö. A., Borazan, A. A., Ercal, N., & Demirkol, O. (2015). Drying effects on the antioxidant properties of tomatoes and ginger. *Food Chemistry*, 173, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.162>
- Haase, N. U., & Weber, L. (2003). Ascorbic acid losses during processing of French fries and potato chips. *Journal of Food Engineering*, 56(2–3), 207–209. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00252-2](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00252-2)
- Halford, N. G., Muttucumaru, N., Powers, S. J., Gillatt, N., Hartley, L., Elmore, S. J., ... Stephen, J. (2012). Concentrations of free amino acids and sugars in nine potato varieties : effects of storage and relationship with acrylamide formation concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48), 12044–12055

- Hamzalıoğlu, A., & Gökmen, V. (2016). Interaction between bioactive carbonyl compounds and asparagine and impact on acrylamide. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*, 355–376. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802832-2.00018-8>
- Han, J. S., Kozukue, N., Young, K. S., Lee, K. R., & Friedman, M. (2004). Distribution of ascorbic acid in potato tubers and in home-processed and commercial potato foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6516–6521. <https://doi.org/10.1021/jf0493270>
- Hidalgo, F. J., Delgado, R. M., & Zamora, R. (2010). Role of mercaptans on acrylamide elimination. *Food Chemistry*, 122(3), 596–601. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.016>
- Hidalgo, F. J., Delgado, R. M., & Zamora, R. (2011). Positive interaction between amino and sulfhydryl groups for acrylamide removal. *Food Research International*, 44(4), 1083–1087. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.013>
- IARC. (1994). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risks of chemicals to humans, 60. International Agency for Research on Cancer (IARC)389–433..
- Ibrahim, R., Osman, A., Saari, N., & Rahman, R. A. (2004). Effects of anti-browning treatments on the storage quality of minimally processed shredded cabbage. *Food, Agriculture & Environment*, 2(2), 54–58.
- Ioannou, I.; Mohamed, G. (2013). Prevention of enzymatic browning in fruits and vegetables. *European Scientific Journal*, 9(30), 310–341. <https://doi.org/doi:10.1021/bk-1989-0405.ch003\r10.1021/bk-1989-0405.ch003>
- Ioannou, I., & Ghoul, M. (2013). Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *European Scientific Journal*, 9(30), 1857–7881. <https://doi.org/doi:10.1021/bk-1989-0405.ch003\r10.1021/bk-1989-0405.ch003>
- Iyidoğan, N. F., & Bayindirli, A. (2004). Effect of l-cysteine, kojic acid and 4-hexylresorcinol combination on inhibition of enzymatic browning in Amasya apple juice. *Journal of Food Engineering*, 62(3), 299–304. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00243-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00243-7)
- Jang, M. S., Sanada, A., Ushio, H., Tanaka, M., & Ohshima, T. (2002). Inhibitory effects of “Enokitake” mushroom extracts on polyphenol oxidase and prevention of apple browning. *LWT - Food Science and Technology*, 35(8), 697–702. <https://doi.org/10.1006/FSTL.2002.0937>
- Kim, C. T., Hwang, E.-S., & Lee, J. H. (2005). C : Food chemistry and toxicology reducing acrylamide in fried snack products by adding amino acids. *Food Chemistry and Toxicology*, 70(5).
- Kita, A., Bakowska-Barczak, A., Hamouz, K., Kułakowska, K., & Lisińska, G. (2013). The effect of frying on anthocyanin stability and antioxidant activity of crisps from red- and purple-fleshed potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 32(2), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.006>

- Köksel, H. (2007). Karbonhidratlar. In İ. Saldamlı (Ed.), *Gıda Kimyası* (pp. 72–74). Hacettepe Üniversitesi.
- Lavelli, V., & Caronni, P. (2010). Polyphenol oxidase activity and implications on the quality of intermediate moisture and dried apples. *European Food Research and Technology*, 231(1), 93–100. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1256-0>
- Lee, H. ., & Coates, G. . (1999). Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled orange juice: a storage study. *Food Chemistry*, 65(2), 165–168. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00180-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00180-0)
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology* (Vol. 20). Retrieved from www.elsevier.com/locate/postharvbio
- Li, L., Bai, J., Wu, M., Zhao, M., Wang, R., Guo, M., ... Liu, T. (2017). Studies on browning inhibition technology and mechanisms of fresh-cut potato. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13263>
- Lolos, M., Oreopoulou, V., & Tzia, C. (1999). Oxidative stability of potato chips: Effect of frying oil type, temperature and antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(11), 1524–1528. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199908\)79:11<1524::AID-JSFA401>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199908)79:11<1524::AID-JSFA401>3.0.CO;2-H)
- Love, S. L., & Pavek, J. J. (2008). Positioning the potato as a primary food source of vitamin C. *American Journal of Potato Research*, 85(4), 277–285. <https://doi.org/10.1007/s12230-008-9030-6>
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>
- Martinez, M. V., & Whitaker, J. R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Science and Technology*, 6(6), 195–200. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)89054-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)89054-8)
- Medeiros Vinci, R., Mestdagh, F., & De Meulenaer, B. (2012). Acrylamide formation in fried potato products - Present and future, a critical review on mitigation strategies. *Food Chemistry*, 133(4), 1138–1154. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.001>
- Mercimek, H. A., Guzeldag, G., Ucan, F., Guler, K. C., Karaman, M., & Karayilan, R. (2015). Inhibition of polyphenol oxidase purified from potato (*Solanum tuberosum*). *Romanian Biotechnological Letters*, 20(6), 10961–10968.
- Mesias, M., Delgado-Andrade, C., Holgado, F., & Morales, F. J. (2018). Acrylamide content in French fries prepared in households: A pilot study in Spanish homes. *Food Chemistry*, 260, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.140>

- Mestdagh, F., De Wilde, T., Castelein, P., Németh, O., Van Peteghem, C., & De Meulenaer, B. (2008). Impact of the reducing sugars on the relationship between acrylamide and Maillard browning in French fries. *European Food Research and Technology*, 227(1), 69–76. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0694-9>
- Mestdagh, F., Van Peteghem, C., & De Meulenaer, B. (2009). A farm-to-fork approach to lower acrylamide in fried potatoes. *IV Potatoes (Food 3, Special Issue 2 Edn)*. Global Science Books, 66-75. Retrieved from http://www.academia.edu/download/45190482/FOOD_3SI266-75o.pdf
- Mokhtari, V., Afsharian, P., Shakhoseini, M., Kalantar, S. M., & Moini, A. (2017a). A review on various uses of N-acetyl cysteine. *Cell Journal*, 19(1), 11–17. <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4872>
- Mokhtari, V., Afsharian, P., Shakhoseini, M., Kalantar, S. M., & Moini, A. (2017b). A review on various uses of N-acetyl cysteine. *Cell Journal*, 19(1), 11–17. <https://doi.org/10.22074/CELLJ.2016.4872>
- Naim, M., Schutz, O., Zehavi, U., Rouseff, R. L., & Haleva-Toledo, E. (1997). Effects of orange juice fortification with thiols on *p*-vinylguaiacol formation, ascorbic-acid degradation, browning, and acceptance during pasteurization and storage under moderate conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1861–1867. <https://doi.org/10.1021/jf9608884>
- Naim, M., Wainish, S., Zehavi, U., Peleg, H., Rouseff, R. L., & Nagy, S. (1993). Inhibition by thiol compounds of off-flavor formation in stored orange juice. 1. Effect of L-cysteine and N-acetyl-L-cysteine on 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(9), 1355–1358. <https://doi.org/10.1021/jf00033a002>
- Narita, Y., & Inouye, K. (2014). Decrease in the acrylamide content in canned coffee by heat treatment with the addition of cysteine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(50), 12218–12222. <https://doi.org/10.1021/jf5035288>
- Navarre, D. A., Shakya, R., Holden, J., Kumar, S., Navarre, D. A., Holden, J., ... Kumar, S. (2010). The effect of different cooking methods on phenolics and vitamin c in developmentally young potato tubers. *Am. J. Pot Res*, 87, 350–359. <https://doi.org/10.1007/s12230-010-9141-8>
- Naverre, D. A., Goyer, A., & Shakya, R. (2009). Nutritional value of potatoes: Vitamin, phytonutrient. In J. Singh & L. Kaur (Eds.), *Advances in Potato Chemistry and Technology* (pp. 395–423). Burlington: Academic Press. Retrieved from [https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=j6cmAxf6ofoC&oi=fnd&pg=PA395&dq=Nutritional+value+of+potatoes:+vitamin,+phytonutrient,+and+mineral+content,+pp.+395424.+In:+Advances+in+Potato+Chemistry+and+Technology+\(Eds.+J.,+Singh.,+L.,+Kaur\).+Elsevier,+](https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=j6cmAxf6ofoC&oi=fnd&pg=PA395&dq=Nutritional+value+of+potatoes:+vitamin,+phytonutrient,+and+mineral+content,+pp.+395424.+In:+Advances+in+Potato+Chemistry+and+Technology+(Eds.+J.,+Singh.,+L.,+Kaur).+Elsevier,+)
- Nicolas, J. J., Richard-Forget, F. C., Goupy, P. M., Amiot, M., & Aubert, S. Y. (1994). Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2), 109–157. <https://doi.org/10.1080/10408399409527653>

- Olivas, G. I., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7–8), 657–670. <https://doi.org/10.1080/10408690490911837>
- Oms-Oliu, G., Aguiló-Aguayo, I., & Martín-Belloso, O. (2006). Inhibition of browning on fresh-cut pear wedges by natural compounds. *Journal of Food Science*, 71(3), 216–224. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15644.x>
- Ou, S., Lin, Q., Zhang, Y., Huang, C., Sun, X., & Fu, L. (2008a). Reduction of acrylamide formation by selected agents in fried potato crisps on industrial scale. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(1), 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.008>
- Ou, S., Lin, Q., Zhang, Y., Huang, C., Sun, X., & Fu, L. (2008b). Reduction of acrylamide formation by selected agents in fried potato crisps on industrial scale. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(1), 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.008>
- Özoğlu, H., & Bayındırlı, A. (2002). Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*, 13(4–5), 213–221. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00011-7](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00011-7)
- Öztürk, S., Cerit, İ., Mutlu, S., & Demirkol, O. (2017). Enrichment of cookies with glutathione by inactive yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*): Physicochemical and functional properties. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.019>
- Park, J. B. (2001). Reduction of dehydroascorbic acid by homocysteine. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1525(1–2), 173–179. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(00\)00186-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(00)00186-0)
- Parker, J. K., Balagiannis, D. P., Higley, J., Smith, G., Wedzicha, B. L., & Mottram, D. S. (2012). Kinetic model for the formation of acrylamide during the finish-frying of commercial French fries. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 60, pp. 9321–9331). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/jf302415n>
- Pedreschi, F., Kaack, K., & Granby, K. (2004). Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *LWT - Food Science and Technology*, 37(6), 679–685. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.001>
- Pedreschi, F., Kaack, K., & Granby, K. (2006). Acrylamide content and color development in fried potato strips. *Food Research International*, 39(1), 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.06.001>
- Pedreschi, F., Kaack, K., & Granby, K. (2008). The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. *Food Chemistry*, 109(2), 386–392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.057>
- Pedreschi, F., Kaack, K., Granby, K., & Troncoso, E. (2007). Acrylamide reduction under different pre-treatments in French fries. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1287–1294. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.04.014>

- Pedreschi, F., Moyano, P., Kaack, K., & Granby, K. (2005). Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International*, 38(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.07.002>
- Peñalver, M. J., Fenoll, L. G., Rodríguez-López, J. N., García-Ruiz, P. A., García-Molina, F., Varón, R., ... Tudela, J. (2005). Reaction mechanism to explain the high kinetic autoactivation of tyrosinase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 33(1–2), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2005.02.002>
- Perla, V., Holm, D. G., & Jayanty, S. S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT - Food Science and Technology*, 45(2), 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.005>
- Piste, P. (2013). Cysteine-master antioxidant. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 3(1), 143–149. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03374>
- Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol Oxidase: characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International*, 24(789287775), 361–375. <https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- Richard-Forget, F. C., Goupy, P. M., & Nicolas, J. J. (1992). Cysteine as an Inhibitor of Enzymic Browning. 2. Kinetic Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11), 2108–2113. <https://doi.org/10.1021/jf00023a014>
- Rifai, L., & Saleh, F. A. (2020). A Review on acrylamide in food: occurrence, toxicity, and mitigation strategies. *International Journal of Toxicology*, 109158182090240. <https://doi.org/10.1177/1091581820902405>
- Rocculi, P., Galindo, F. G., Mendoza, F., Wadsö, L., Romani, S., Rosa, M. D., & Sjöholm, I. (2007). Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1), 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.08.002>
- Rojas-Gonzalez, J., Avallone, S., Brat, P., Trystram, G., & Bohuon, P. (2006). Effect of deep-fat frying on ascorbic acid, carotenoids and potassium contents of plantain cylinders. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57(1–2), 123–136. <https://doi.org/10.1080/09637480600658393>
- Romani, S., Bacchiocca, M., Rocculi, P., & Dalla Rosa, M. (2008). Effect of frying time on acrylamide content and quality aspects of French fries. *European Food Research and Technology*, 226(3), 555–560. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0570-7>
- Romani, S., Bacchiocca, M., Rocculi, P., & Dalla Rosa, M. (2009). Influence of frying conditions on acrylamide content and other quality characteristics of French fries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 582–588. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2008.10.001>

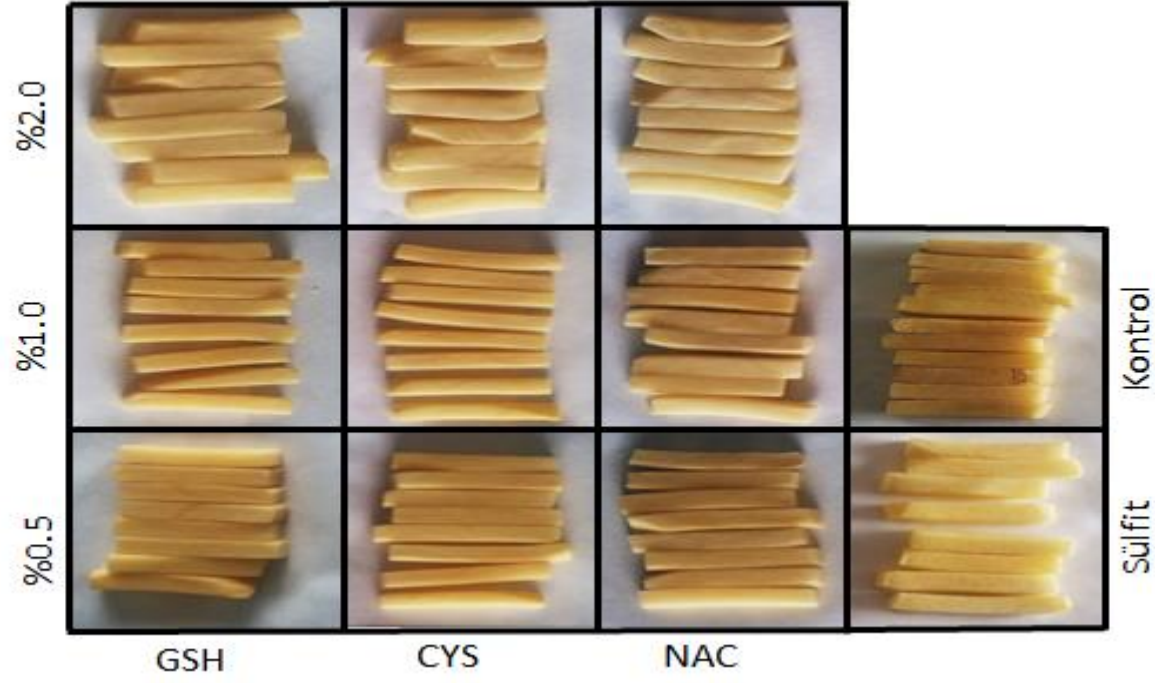
- Schmacht, M., Lorenz, E., & Senz, M. (2017). Microbial production of glutathione. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(6), 0. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2277-7>
- Serpen, A. (2010). *Model ortamda ve patates kızartmasında gerçekleşen Maillard reaksiyonunun akrilamid, renk ve antioksidan kapasite açısından yapay sinir ağı kullanılarak modellenmesi.*
- Serpen, A., & Gökmen, V. (2009a). Evaluation of the Maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and color. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 589–595. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.11.003>
- Serpen, A., & Gökmen, V. (2009b). Evaluation of the Maillard reaction in potato crisps by acrylamide, antioxidant capacity and color. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 589–595. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.11.003>
- Shojaee-Aliabadi, S., Nikoopour, H., Kobarfard, F., Parsapour, M., Moslehishad, M., Hassanabadi, H., ... Dahaghin, E. (2013). Acrylamide reduction in potato chips by selection of potato variety grown in Iran and processing conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(10), 2556–2561. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6076>
- Son, S. M., Moon, K. D., & Lee, C. Y. (2000). Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2071–2074. <https://doi.org/10.1021/jf991397x>
- Son, S. M., Moon, K. D., & Lee, C. Y. (2001). Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*, 73(1), 23–30. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00274-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00274-0)
- Song, W., Derito, C. M., Liu, M. K., He, X., Dong, M., & Liu, R. H. (2010). Cellular antioxidant activity of common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6621–6629. <https://doi.org/10.1021/jf9035832>
- Sonni, F., Clark, A. C., Prenzler, P. D., Riponi, C., & Scollary, G. R. (2011). Antioxidant Action of Glutathione and the Ascorbic Acid/Glutathione Pair in a Model White Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3940–3949. <https://doi.org/10.1021/jf104575w>
- Stiller, I., Dancs, G., Hesse, H., Hoefgen, R., & Bánfalvi, Z. (2007). Improving the nutritive value of tubers: Elevation of cysteine and glutathione contents in the potato cultivar White Lady by marker-free transformation. *Journal of Biotechnology*, 128(2), 335–343. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2006.10.015>
- Sun-Waterhouse, D., Xue, D., & Wadhwa, S. (2013). Effects of Added Phenolics on the Lipid Deterioration and Antioxidant Content of Deep-Fried Potato Fritters. *Food and Bioprocess Technology*, 6(11), 3256–3265. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-1001-8>

- Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M. M., Pavan, S., & Montemurro, C. (2017). Polyphenol oxidases in crops: Biochemical, physiological and genetic aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2). <https://doi.org/10.3390/ijms18020377>
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998–5006. <https://doi.org/10.1021/jf020302f>
- Taubert, D., Harlfinger, S., Henkes, L., Berkels, R., & Schömig, E. (2004). Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2735–2739. <https://doi.org/10.1021/jf035417d>
- Tian, J., Chen, J., Lv, F., Chen, S., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2016). Domestic cooking methods affect the phytochemical composition and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes. *Food Chemistry*, 197, 1264–1270. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.049>
- Tsouvaltzis, P., & Brecht, J. K. (2017). Inhibition of enzymatic browning of fresh-cut potato by immersion in citric acid is not solely due to pH reduction of the solution. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.12829>
- Tudela, J. A., Cantos, E., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2002). Induction of antioxidant flavonol biosynthesis in fresh-cut, potatoes. Effect of domestic cooking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5925–5931. <https://doi.org/10.1021/jf020330y>
- Türk Akreditasyon Kurumu. (2019). *Metodun geçerli kılınması ve doğrulanması için bilgilendirme kılavuzu*.
- U.S. Food and Drug Administration. (2018). *Elektronik code of federal regulations* (Vol. 3). <https://doi.org/10.1515/ptse-2017-0003>
- Vilas-Boas, E. V. D. B., & Kader, A. A. (2006). Effect of atmospheric modification, 1-MCP and chemicals on quality of fresh-cut banana. *Postharvest Biology and Technology*, 39(2), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.09.010>
- Vivanti, V., Finotti, E., & Friedman, M. (2006). Level of acrylamide precursors asparagine, fructose, glucose, and sucrose in potatoes sold at retail in Italy in the United States. *Journal of Food Science*, 71(2), 81–85. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08886.x>
- Wai Wong, C., Manohan, D., & Chen Wai, W. (2012). Characterization of Polyphenol Oxidase in Sweet Potato Creation of a Root Targeted Delivery Vehicle for fertilizers using cellulose from agricultural waste biomass View project Characterization of Polyphenol Oxidase in Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* (L.)). *Journal for the Advancement of Science & Arts* (Vol. 3). Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/301546284>

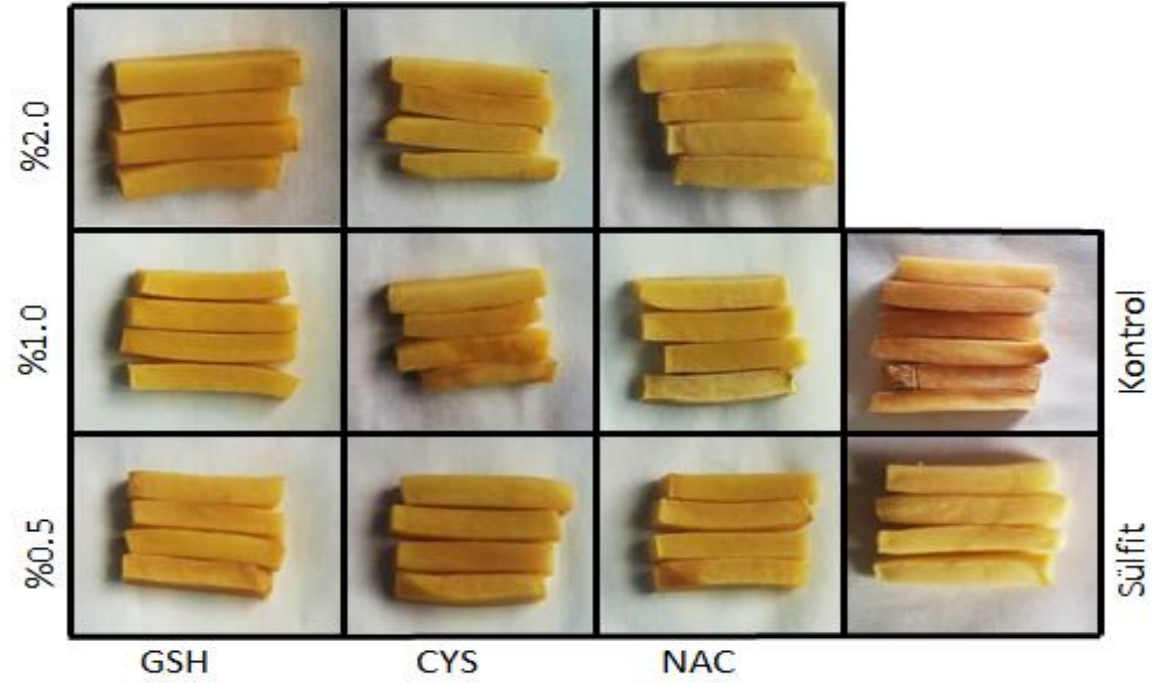
- Winters, R. A., Zukowski, J., Ercal, N., Matthews, R. H., & Spitz, D. R. (1995). Analysis of glutathione, glutathione disulfide, cysteine, homocysteine, and other biological thiols by high-performance liquid chromatography following derivatization by N-(1-Pyrenyl)maleimide. *Analytical Biochemistry*, 227(1), 14–21. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.1246>
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>
- Wu, S. (2014). Glutathione suppresses the enzymatic and non-enzymatic browning in grape juice. *Food Chemistry*, 160, 8–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.088>
- Xia, Z. (2013). Anti-browning of mushroom (*Agaricus bisporus*) slices by glutathione during hot air drying. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5(8), 1100–1104.
- Yang, Y., Achaerandio, I., & Pujolà, M. (2016). Influence of the frying process and potato cultivar on acrylamide formation in French fries. *Food Control*, 62, 216–223. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2015.10.028>
- Yaylayan, V. A., Locas, C. P., Wnorowski, A., & O'Brien, J. (2005). Mechanistic pathways of formation of acrylamide from different amino acids. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 561, 191–203. https://doi.org/10.1007/0-387-24980-X_15
- Yaylayan, V. A., Wnorowski, A., & Perez Locas, C. (2003). Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1753–1757. <https://doi.org/10.1021/jf0261506>
- Yıldız, H. G., Palazoğlu, T. K., Miran, W., Kocadağlı, T., & Gökmen, V. (2017). Evolution of surface temperature and its relationship with acrylamide formation during conventional and vacuum-combined baking of cookies. *Journal of Food Engineering*, 197, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.001>
- Yuan, Y., Shu, C., Zhou, B., Qi, X., & Xiang, J. (2011). Impact of selected additives on acrylamide formation in asparagine/sugar Maillard model systems. *Food Research International*, 44(1), 449–455. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.025>
- Zagorchev, L., Seal, C. E., Kranner, I., & Odjakova, M. (2013). A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 7405–7432. <https://doi.org/10.3390/ijms14047405>
- Zeng, X., Cheng, K. W., Jiang, Y., Lin, Z. X., Shi, J. J., Ou, S. Y., ... Wang, M. (2009). Inhibition of acrylamide formation by vitamins in model reactions and fried potato strips. *Food Chemistry*, 116(1), 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.093>
- Zhang, Y., Zhang, G., & Zhang, Y. (2005, May 20). Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: Review and recent developments. *Journal of Chromatography A*. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.03.123>

EKLER

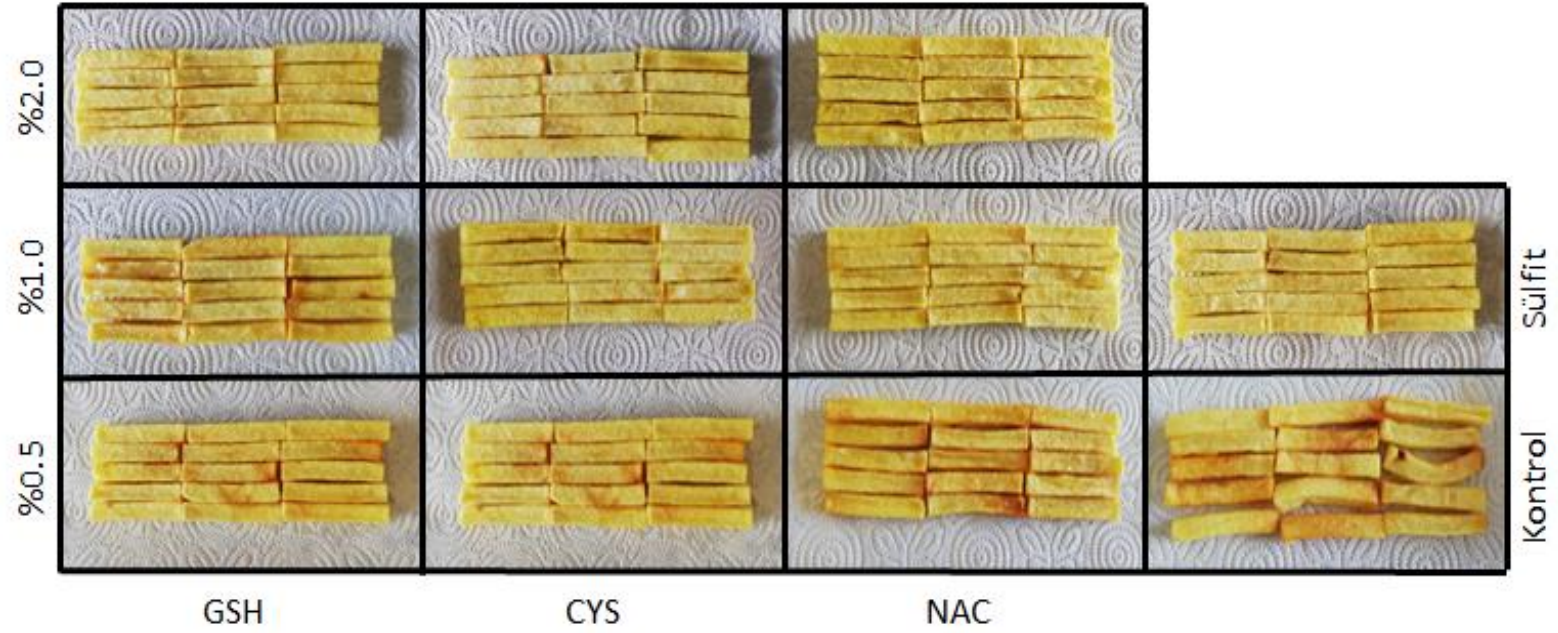
EK 1: Taze kesilmiş patateslerin 1. saat sonundaki görüntüleri



EK 2: Taze kesilmiş patateslerin 48. saat sonundaki görüntüleri



EK 3: Patateslerin 180°C’de 6 dakika kızartıldıktan sonraki görüntüleri



ÖZGEÇMİŞ

İnci Cerit, 06.10.1989'da Sakarya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Sakarya'da tamamladı. 2007 yılında Sakarya Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2007 yılında başladığı Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nü 2012 yılında bitirdi. 2013 yılında Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. Aynı yıl Sakarya Üniversitesi'nde Araştırma Görevlisi olarak atandı. Yüksek lisans eğitimini 2015 yılında tamamladı. Hemen ardından Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde doktora eğitimine başladı. Halen Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır. Lisansüstü eğitimi sırasında SCI kapsamında 6 adet, hakemli dergilerde ise 3 adet yayın yapmıştır. Uluslararası kongrelerde 3 adet sözlü sunum, 11 adet poster sunum gerçekleştirmiştir. Ulusal kongrelerde ise 2 adet poster sunumu vardır.