

Elma Suyunda Esmerleşme Düzeyi ile Doğal Etkenler Arasındaki İlişki*

Feryal KARADENİZ¹

Aziz EKŞİ¹

Geliş Tarihi : 17.06.2001

Özet: Amasya, Golden ve Starking varyetelerinden hazırlanan elma sularında belirlenen esmerleşme derecesi (440 nm deki absorbans) sırasıyla 0.548-0.771 (ortalama 0.435), 0.170-0.427 (ortalama 0.306) ve 0.219-0.461 (ortalama 0.346) arasında değişmektedir. Esmerleşme derecesinde çeşide ve yıla bağlı farklar önemli iken yöreye bağlı farklar önemsizdir. Polifenol miktarı ile esmerleşme derecesi arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Anahtar Kelimeler: Elma, elma suyu, esmerleşme indeksi, polifenol

Relationship Between Browning Level of Apple Juice and Natural Factors

Abstract: The ranges of browning levels (absorbance at 440 nm) found for apple juices produced from Amasya, Golden and Starking varieties, respectively, were as follows: 0.548-0.771 (average 0.435), 0.170-0.427 (average 0.306) and 0.219-0.461 (average 0.346). Cultivar and crop years significantly affected the browning levels of apple juices, while growing region did not have a significant effect. There has been a linear correlation between total polyphenol contents and browning levels of apple juice.

Key Words: Apple, apple juice, browning index, polyphenol

Giriş

Renk esmerleşmesi, elma suyunda başlıca kalite ölçütlerinden birisidir (Welter ve ark. 1991). Kaliteyi olumsuz yönde etkileyen bu değişimin minimum düzeyde tutulması gereklidir. Bu değişmeye yol açan iki tepkmeden birisi enzimatik oksidasyon, diğeri ise kimyasal esmerleşmedir. Kimyasal esmerleşme daha çok depolama sıcaklığı ve süresi ile ilişkilidir. Buna karşılık enzimatik esmerleşme özellikle proses sırasında ortaya çıkmaktadır (Eskin ve ark. 1976, Ekşi 1989).

Enzimatik esmerleşmenin substratı fenolik bileşiklerdir. Tepkime, o-difenoloksidaz (o-DFO) veya p-difenoloksidaz (p-DFO, lakkaz) enzimi tarafından katalize edilmektedir. Bunlardan o-DFO bir yandan monofenolikleri o-difenolliklere dönüştürürken (monofenolaz veya krezolaz etki) bir yandan da o-difenollikleri o-kinonlara (kateşolaz etki) dönüştürebilmektedir (Bruchmann 1976, Ekşi ve Cemeroglu 1986). Buna karşılık p-DFO enzimi orto- ve para-difenollikleri o-kinonlara dönüştürmektedir. Optimum pH aralığı o-DFO için 5.0-7.0, p-DFO için ise 6.0-6.5 arasındadır (Bruchmann 1976).

Enzimatik esmerleşmenin birinci basamağı difenoliklerden o-kinon oluşmasıdır. İkinci basamakta o-kinon veya difenolün ikincil hidrosilizasyonu ile trihidroksibenzen, üçüncü basamakta trihidroksibenzen ve o-kinonların tepkimesi ile hidrosikinon oluşmaktadır. Dördüncü basamakta ise hidrosikinonların polimerizasyonu ile

koyu renkli melanin oluşmaktadır (Mathew ve Parpia 1971, Eskin ve ark. 1976).

Bulgulara göre esmerleşme hızı enzim aktivitesi ve fenolik dağılımı ile ilişkilidir. PFO aktivitesi elma çeşidine göre değişmekte (Vamos-Vigyazo ve ark. 1976, Keleş 1986, Janowitz-Klapp ve ark. 1989, Lee ve ark. 1990), meyvenin olgunlaşması sürecinde azalmakta (Coseteng ve Lee 1987, Lee ve ark. 1990) ve yetiştirme yılından da etkilenmektedir (Vamos-Vigyazo ve ark. 1976, Lee ve ark. 1990). Ayrıca meyvenin kabuğundaki PFO aktivitesi etinden daha yüksek bulunmaktadır. (Janowitz-Klapp ve ark. 1989, Sıddıq ve ark. 1992) ve zedelenen meyvede PFO aktivitesi artmaktadır (Van-Lelyveld ve ark. 1984).

Fenolik bileşiklerin PFO substratı olarak önceliği konusunda bir çok araştırma vardır. Van Buren ve Robinson (1969)'a göre PFO oksidasyonu ile özellikle klorojenik asit ve flavon kaybı artmaktadır. Bruchmann (1976), klorojenik asidin bağlı oksidasyon hızının diğer fenoliklerden yüksek olduğunu aktarmaktadır. Keleş (1987a)'ın bulgularına göre de PFO etkisi öncelikle klorojenik aside yönelmektedir. Bunu 4-metilcateşol, kafeik asit ve (+) cateşin izlemektedir. Buna karşılık prosiyanidinler enzimatik oksidasyona duyarlı değildir (Cheynier ve Ricardo da Silva 1991). Oleszek ve ark. (1989)'na göre ise, fenoliklerin tek başına oksidasyon hızı cateşin, epikateşin, floretin ksiloglikozit, klorojenik asit ve prosiyanidin sırasını izlemektedir. Ancak fenoliklerin

* Doktora Tezi'nden hazırlanmıştır. Ankara Üniv. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

¹ Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü-Ankara

birlikte olduğu durumda sinerjetik etki ortaya çıkmaktadır (Oleszek ve ark. 1989, Osmianski ve Lee 1991).

Enzimatik esmerleşme derecesinin öncelikle enzime ya da substrata mı bağlı olduğu konusundaki bulgular ise çelişkilidir (Vamos-Vigyazo ve ark. 1976, Lee ve ark. 1990). Ancak enzimatik oksidasyon hızı bunlardan başka ortamın pH değeri, O₂ konsantrasyonu ve oluşan o-kinon ile de ilişkilidir (Richard-Forget ve ark. 1992). Örneğin, birincil oksidasyonda klorojenik asitten oluşan o-kinonlar kateşinden oluşarlara göre daha aktif ve daha esmerdir. Buna karşılık ikincil oksidasyonda oluşan bileşikler o-kinonlara göre kateşinde daha koyu, klorojenik asitte daha açık renklidir (Rouet-Mayer ve ark. 1990). Kafeik asitten oluşan o-kinonlar da stabil değildir ve hızlıca kondensasyon bileşiklerine dönüşmektedir (Cheynier ve Moutounet 1992).

Kalite kaybına yol açan enzimatik esmerleşmenin önlenmesi için ısı ile enzim inaktivasyonu, kimyasalla (sülfid, borat vb) enzim inhibisyonu, pH değerinin düşürülmesi (sitrik asit ile) ve oksijenin harcanması (C vitamini ile) ve substratın metilleştirilmesi gibi yöntemler uygulanmaktadır (Eskin ve ark. 1976, Ekşi ve Cemeroğlu 1986, Keleş 1987b, Ekşi 1989).

Bu araştırmanın amacı, elma suyunda enzimatik esmerleşme ile meyve çeşidi, yetiştirme yılı ve yetiştirme yöresi gibi doğal faktörler arasındaki ilişkinin ortaya konulmasıdır.

Materyal ve Yöntem

Araştırma materyali, değişik 3 çeşidi (Amasya, Golden, Starking), değişik 3 yetiştirme yılını (1991, 1992, 1993) ve değişik 5 yetiştirme yöresini (Ankara, Bursa, Ereğli, Korkuteli, Tokat) kapsayan 45 elma suyu örneğinden oluşmaktadır. Elma suyu örnekleri Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Meyve Suyu Pilot İşletmesinde hazırlanmıştır.

Elma suyu için uygulanan başlıca işlemler sırası ile yıkama, ayıklama, öğütme, presleme, tortu ayırma, şişeleme, pastörizasyon (yaklaşık 97 °C de 20 dakika) ve soğutma (20 °C) dir. Hazırlanan örnekler analiz edilene kadar oda sıcaklığında depolanmıştır.

Elma suyunda esmerleşme derecesi Welter ve ark (1991) tarafından tanımlanan yöntemle belirlenmiştir. Yönteme göre elma suyunun 440 nm dalga boyundaki absorbans değeri ölçülmekte ve bu değer (A-440 veya E-440) esmerleşme derecesi olarak ifade edilmektedir.

Örneklere ayrıca polifenol miktarı belirlenmiştir. Bu amaçla Tanner ve Brunner (1978) tarafından tanımlanan ve bu bileşiklerin Folin-Ciocalteu ayırıcı ile oluşturdukları rengin spektrofotometre ile ölçümü esasına dayanan metot kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Elma suyu örneklerinde esmerleşme düzeyi

Elma suyu örneklerinde saptanan ve esmerleşme derecesini yansıtan 440 nm deki absorbans ölçümlerinin değişim aralığı ile ortalama değerleri çeşit, yöre ve yıla göre Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1'deki verilere göre 45 elma suyu örneğinde ortalama 0.362 olan esmerleşme derecesi 0.170 ile 0.548 arasında değişim göstermektedir.

Amasya çeşidi örneklerde esmerleşme derecesi ortalama 0.435 tir. Bunu 0.346 değeri ile Starking ve 0.306 değeri ile Golden izlemektedir.

1992 yılı örneklerinde 0.404 olan esmerleşme derecesi, 1990 yılı örneklerinde 0.350 ve 1991 yılı örneklerinde ise 0.330'dur. Tokat yöresi örneklerinde 0.384 olarak belirlenen ortalama esmerleşme derecesi, Korkuteli yöresi örneklerde 0.377, Bursa yöresi örneklerde 0.365, Ereğli yöresi örneklerde 0.362 ve Ankara yöresi örneklerde 0.323 tür.

Esmerleşme düzeyinin doğal etkenlerle ilişkisi

Elma suyu örneklerindeki esmerleşme, daha öncede değinildiği gibi daha çok enzimatiktir. Örneklerin tümüne aynı proses akışı uygulandığı için en azından örnekler arasındaki farkların enzimatik esmerleşmeden kaynaklandığı varsayılmaktadır.

Çizelge 1. Elma suyu örneklerinde esmerleşme derecesi (N=45)

Birincil etken	İkincil etken	Esmerleşme derecesi (A-440)		
		Min.	Max.	Ortalama
Elma Çeşidi	Amasya	0.311	0.548	0.435
	Golden	0.170	0.427	0.306
	Starking	0.219	0.441	0.346
Yetiştirme Yılı	1990	0.234	0.547	0.350
	1991	0.170	0.498	0.330
	1992	0.313	0.548	0.404
Yetiştirme Yöresi	Ankara	0.219	0.415	0.323
	Bursa	0.203	0.523	0.365
	Ereğli	0.170	0.482	0.362
	Korkuteli	0.234	0.548	0.377
	Tokat	0.256	0.547	0.384
Genel		0.170	0.548	0.362

Elma çeşidine, yetiştirme yılına ve yetiştirme yöresine göre ortaya çıkan esmerleşme farklarının önemli olup olmadığının saptanması için Çizelge 1'de özetlenen bulgulara uygulanan varyans analizi sonucuna göre çeşide ve yıla bağlı farklar önemli, yöreye bağlı farklar önemsizdir (Çizelge 2). Çeşit, yıl ve yöre etkilerinin de önemli değildir ve bu nedenle sisteme dahil edilmemiştir.

Farkların hangi çeşitler ve yıllar arasında hangi düzeyde önemli olduğunun belirlenmesi için bulgulara TUKEY testi uygulanmıştır (Kesici ve Kocabaş 1989). Test sonuçları Çizelge 3'te özetlenmiştir.

Çizelge 3'teki değerlere göre Amasya ile Golden ve Starking elma suları arasındaki farklar $P < 0.01$ düzeyinde önemli iken, Golden ve Starking arasındaki fark önemli bulunmamaktadır. Ayrıca 1990 yılı ile 1991 yılı arasındaki fark önemli değildir. Buna karşılık 1990 ile 1992 arasındaki fark $P < 0.05$, 1991 ve 1992 arasındaki fark ise $P < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Elma suyunda esmerleşme düzeyi ile polifenol miktarı arasındaki ilişki

Elma suyu örneklerinde aynı zamanda toplam polifenol miktarı da belirlenmiş ve bulgular Çizelge 4'te özetlenmiştir.

Görüldüğü gibi toplam polifenol miktarı en fazla olan Amasya çeşidinden elde edilen elma suyudur (ortalama 870 mg/l). Bunu Starking ve Golden izlemektedir (sırası ile 630 mg/l ve 529 mg/l). Bu sıra, Çizelge 1'deki esmerleşme derecesine göre olan sıra ile uyum göstermektedir.

Toplam polifenol miktarının ortalaması yıllara göre 613-759 mg/l arasında değişirken, yörelere göre 603-745 mg/l arasında bulunmuştur.

Üç çeşidi, üç yılı ve beş yöreyi kapsayan toplam 45 elma suyu örneğindeki esmerleşme derecesi ile polifenol miktarı arasındaki korelasyon katsayısı 0.61 dir ve $P < 0.001$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 2. Elma suyunun esmerleşmesinde doğal etkenlere bağlı faktörler

Kaynak	N-1	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	P
Çeşit	2	130 923	65 461	17.99	< 0.01
Yıl	2	46 691	23 346	6.41	< 0.01
Yöre	4	19 981	4995	1.37	> 0.05

Çizelge 3. Elma suyundaki esmerleşme derecesinde çeşit ve yöreye bağlı farklar

Çeşit	Amasya	Golden	Starking
Amasya	-	0.129**	0.089**
Golden	-	-	0.004
Yıl	1990	1991	1992
1990	-	0.020	0.054*
1991	-	-	0.074**

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

Çizelge 4. Elma suyu örneklerinde toplam polifenol miktarı (N=45)

Birincil etken	İkincil etken	Toplam polifenol (mg/l)		
		Min.	Max.	Ortalama
Elma çeşidi	Amasya	602	1138	870
	Golden	363	806	529
	Starking	467	963	630
Yetiştirme yılı	1990	439	1138	759
	1991	387	834	613
	1992	363	1009	658
Yetiştirme yöresi	Ankara	439	866	603
	Bursa	387	1035	681
	Ereğli	455	871	649
	Korkuteli	456	1095	745
	Tokat	363	1138	704

Sonuç

Farklı 3 yılı, farklı 3 çeşidi ve farklı 5 yöreyi kapsayan toplam 45 elma suyu örneğinde 440 nm dalga boyundaki absorbans olarak belirlenen esmerleşme derecesi 0.170-0.548 arasında değişmektedir.

Bulgulara göre esmerleşme derecesi en yüksek olan Amasya elma suyudur (0.435). Bunu Starking (0.346) ve Golden elma suları (0.306) izlemektedir. Çeşide bağlı olarak ortaya çıkan farklar varyans analizine göre önemlidir.

1990 yıllı örneklerinde 0.350 olan ortalama esmerleşme derecesi, 1991 yılı örneklerinde 0.330, 1992 yılı örneklerinde 0.404'tür. Varyans analizine göre yetiştirme yılına bağlı bu farklar da önemlidir.

Yöreye göre esmerleşme derecesi 0.323 ile 0.384 arasında değişmektedir. Varyans analizine göre yöreye bağlı farklar önemsizdir.

Bulgular, esmerleşme derecesi ile polifenol miktarı arasındaki ilişkinin ($r=0.61$) de önemli ($P < 0.001$) olduğunu doğrulamaktadır.

Kaynaklar

- Bruchmann, E. E. 1976. *Angewandte Biochemie*. Verlag Eugen Ulmer, s. 1-255, Stuttgart.
- Cheyrier, V. and J. M. Ricardo da Silva, 1991. Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing transcaffeoyltartaric acid and polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 39 (6) 1047-1049.
- Cheyrier, V. and M. Moutounet, 1992. Oxidative reactions of caffeic acid in model systems containing polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 40 (11) 2038-2044.
- Coseteng, M. Y. and C. Y. Lee, 1987. Changes in apple polyphenol oxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *J. Food Sci.*, 52 (4) 983-989.
- Ekşi, A. 1989. Gıdalarda kimyasal bileşim değişimleri ve kontrolü. Birinci Uluslararası Gıda Sempozyumu. s. 89-96, Uludağ Üniv. Ziraat Fakültesi Yayını, Bursa.

- Ekşi, A. ve B. Cemeröğlu, 1986. Gıdalarda enzimatik esmerleşme olayı ve önlenmesinde C vitamininin işlevi. Vitaminlerin Sağlığımızdaki Önemi Sempozyumu, s. 107-114, Roche Yayını, İstanbul.
- Eskin, N. A. M., H. M. Henderson und R. J. Townsend, 1976. Biochemie der Lebensmittel. Hüthig Verlag, s. 1-230. Heidelberg.
- Janowitz-Klapp, A., F. Richard and J. Nicolas, 1989. Polyphenol oxidase from apple, partial purification and some properties. *Phytochemistry*, 28 (11) 2903-2907.
- Keleş, F. 1986. Amasya ve Golden elmalarının polifenol oksidazları üzerinde çalışmalar: Genel özellikler. *Doğa*, 10 (2) 224-234.
- Keleş, F. 1987a. Amasya ve Golden elmalarının polifenoloksidazları üzerinde araştırmalar: Substrat spesifikliği, *Doğa*, 11 (1) 1-6.
- Keleş, F. 1987b. Gıdalarda enzimatik esmerleşme ve kontrolü. *Doğa*, 11(1) 105-121.
- Kesici, T. ve Z. Kocabaş, 1998. Biyoistatistik. Ankara Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayını:79. Ankara. 359 s.
- Lee, C. Y., V. Kagan, A. W. Jaworski and S. K. Brown, 1990. Enzymatic browning in relation to phenolic compounds and polyphenoloxidase activity among various peach cultivars. *J. Agric. Food Chem.*, 38 (1) 99-101.
- Mathew, A. G. and H. A. B. Parpia, 1971. Food browning as a polyphenol reaction. *Advances in Food Research*. Vol: 19, s. 75-132. Academic Press, New York.
- Oleszek, W., C. Y. Lee and K. R. Price, 1989. Apple phenolics and their contribution to enzymatic browning reactions. *Acta Soc. Bot. Poloniae*, 58 (2) 273-283.
- Osmianski, J. and C. Y. Lee, 1991. Enzymatic oxidation of phloretin glucoside in model system. *J. Agric. Food Chem.*, 39 (6) 1050-1052.
- Richard-Forget, F. C., M. A. Rouet - Mayer, P. M. Goupy, J. Philippon and J. J. Nicolas, 1992. Oxidation of chlorogenic acid, catechins and 4-methylcatechol in model solutions by apple polyphenoloxidase. *J. Agric. Food Chem.*, 40 (11) 2114-2122.
- Rouet-Mayer, M. A., J. Ralambosoa and J. Philippon, 1990. Roles of o-quinones and their polymers in the enzymic browning of apples. *Phytochemistry*, 29 (2) 435-440.
- Siddiq, M., N. K. Sinha and J. N. Cash, 1992. Characterization of polyphenoloxidase from Stanley plums. *J. Food Sci.*, 57 (5) 1177-1179.
- Tanner, H. and H.R. Brunner, 1978. *Getraenke Analytik*. Verlag Heller Chemie-und Verwartungs gesellschaft.s.1-206. Schwaebisch Hall.
- Vamos-Vigyazo, L., I. Gajzago, V. Nadudvari-Markus and K. Mihalvi, 1976. Studies into the enzymic browning and the polyphenol-polyphenoloxidase complex of apple cultivars. *Confructa*, 21 (1-2) 24-35.
- Van Buren, J. P. and W. B. Robinson, 1969. Formation of complexes between protein and tannic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 17 (4) 772-777.
- Van Lelyveld, L. J., C. Gerrisch and R. A. Dixon, 1984. Enzyme activities and polyphenols related to mesocarp discoloration of avocado fruit. *Phytochemistry*, 23 (8) 1531-1534.
- Welter, C. C., E. Hartman und M. Frei, 1991. Produktion von hellen Trübsaefen (cloudy juice). *Flüss Obst.*, 58 (5) 230-233.