

Taze Kesilmiş Baklada Yüksek Dozda Sitrik Asit Uygulamalarının Polifenol Enzim Aktivitesi ve Kalite Üzerine Etkisi

M. Ufuk KASIM, Rezzan KASIM

Kocaeli Üniversitesi, Arslanbey Meslek Yüksekokulu, Kocaeli

Geliş (Received): 17.02.2016

Kabul (Accepted): 17.05.2016

ÖZET: Bu çalışmada farklı sitrik asit dozlarının baklada renk ve kalite özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla % 2, % 4 ve % 6 sitrik asit içeren çözeltiler hazırlanarak, taze kesilmiş bakla örnekleri bu çözeltilere 5 dakika süre ile daldırılmış, destile su içerisine daldırılan örnekler de kontrol amaçlı kullanılmıştır. Daldırma işleminden sonra kapaklı polietilen tereftalat (PET) kutular içerisine, kutu içerisinde yaklaşık 150 g olacak şekilde yerleştirilen örnekler, 5±1°C sıcaklık ve % 85-90 oransal nem içeren soğuk odada depolanmıştır. Depolama süresince 2., 4. ve 7. günlerde depodan çıkarılan örneklerde, renk (L*, a* b*), polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesi, elektrolit sızıntısı, suda çözünür toplam kuru madde (SÇKM) miktarı, ağırlık kaybı ve pH, ölçüm ve analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda sitrik asit uygulamalarının PPO enzim aktivitesini artırarak, kesim yüzeylerinde kararmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca özellikle % 4 ve % 6 dozlarındaki sitrik asit uygulamalarının taze kesilmiş baklada SÇKM miktarının korunmasını sağladığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak baklada kesim yüzeyi kararmasının önlenmesinde sitrik asitin tek başına yeterli olmadığı, bu nedenle diğer antioksidan ve kaplama maddeleri ile birlikte kullanılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Taze-kesme, bakla, sitrik asit, polifenol oksidaz enzimi aktivitesi, renk

The Effects of High Dose Citric Acid Treatments on Polyphenol Enzyme Activity and Quality of Fresh-Cut Broad Bean

ABSTRACT: In this research, the effects of different doses of citric acid treatments on fresh-cut broad bean were investigated. For this aim, the solution of citric acid at the doses of 2%, 4% and 6% was prepared and the broad beans were dipped in this solution for 5 minutes, and also the samples dipped in distilled water were used as control. After dipping process, the samples weighing 150 g were placed in polyethylenetereftalat boxes with cover, and stored in cold storage room at 5±1°C temperature and 85-90% relative humidity. Color (L*a*b*), polyphenoloxidase (PPO) enzyme activity, electrolyte leakage, total soluble solids (TSS), weight loss and pH of samples were determined in fresh-cut broad bean samples at the 2nd, 4th and 7th days during storage period. As results of research, it was found that the citric acid treatments on fresh-cut samples caused cut-edge browning through increasing in PPO activity. Also, TSS of fresh-cut broad bean was maintained by citric acid treatment. Consequently, it was concluded that; the treatments of citric acid alone was not enough against preventing cut-edge browning of broad bean; therefore it should be used together with the other antioxidant agent or coating materials.

Key Words: Fresh-cut, broad bean, citric acid, polyphenol oxidase enzyme activity, color

GİRİŞ

Taze-kesilmiş meyve ve sebzeler; A, C ve E vitaminleri, karotenoidler ve flavonoidler gibi antioksidan maddeler açısından oldukça zengin olduğu ve ayrıca mineral madde kaynağı olarak da oldukça değerli oldukları için son yıllarda taze-kesilmiş meyve ve sebzelere olan ilgi artmıştır (He ve Luo, 2007). Ülkemizde değişik şekillerde- taze bakla, iç bakla-kullanıma sahip olan bakla; yağ asidi oranı (0 g/170 g), kolesterol düzeyi (0 mg/170 g) ve sodyum içeriği (9 mg/170g) oldukça düşük, lif kaynağı (9 g/170 g -% 37); protein (13 g/170 g), fosfor, bakır ve mangan açısından da oldukça zengin, bunların yanı sıra folik asit içeriği de oldukça yüksek olan bir sebze türüdür (Self Nutrition Data, 2016).

Taze-kesilmiş ürünler; minimum işlenmiş ve taze tekstürü korunmuş olan ürünler olarak bilinmektedir. Minimum işleme; dış kabuğun soyulması, kesme, doğrama, yıkama, dezenfekte etme, kurutma ve

paketleme gibi işlemlerin tamamını kapsayan bir işlemler bütünü olup, sonuçta elde edilen ürün yemeye hazır tüketiciye sunulmaktadır. Taze olarak tüketilen meyve ve sebzeler; kanser, kalp hastalıkları, beyin fonksiyon bozukluğu ve katarakt gibi pek çok doku bozulması sonucu oluşan hastalıkların azaltılmasında önemlidir (Suttirak ve Manurakchinakorn, 2010).

Günümüzde; sağlıklı beslenmeye yönelimin artması nedeniyle; taze sebze-meyve tüketimi artmış, taze-kesilmiş ürünlerde ülkemizdeki marketlerde yerini almıştır. Taze kesilmiş ürünler her ne kadar besleyici ve taze olmakla birlikte; taze kesme işlemi ürünlerdeki kabuk gibi koruyucu yapıları ortadan kaldırdığı için fizyolojik bozulmaları, biyokimyasal değişimleri, enzim aktivitesini ve ürünün mikrobiyolojik bozulmasını hızlandırmaktadır. Dolayısıyla bu değişimler taze kesilmiş ürünlerin estetik görünümünü, görsel kalitesini ve pazar değerini sınırlayan en önemli faktörler olarak değerlendirilmektedir (Jeong ve ark., 2008).

Taze kesilmiş meyve ve sebzelerde kesim yüzeyinin kararması, ürünün tüketici tarafından tercih edilmesini önleyen en önemli oksidatif reaksiyondur. Enzimsel esmerleşme adı verilen bu kimyasal reaksiyon; polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidad (POD) olarak adlandırılan iki oksiredüktaz enzim tarafından katalize edilmektedir (Ioannou ve Ghoul, 2013). PPO'nun katalize ettiği ilk reaksiyonda; difenoller nispeten yavaş gerçekleşen bir reaksiyonla monofenollere hidroksile olmakta ve sonuçta renksiz ürünler oluşmaktadır. İkinci ve daha hızlı olan reaksiyonda ise difenoller quinonlara okside edilmekte ve sonuçta renkli ürünler oluşmaktadır (Queiroz ve ark., 2008).

Enzimsel esmerleşme reaksiyonlarının oluşması için; substrat ile enzimin birleşmesi ve ortamda oksijenin olması gereklidir. Taze kesme işleminde enzim ve substrat doğrudan oksijenle temas haline geçtiğinden, kesim yüzeylerinde kararmalar oluşmaktadır. Bu reaksiyonun önlenmesi için değişik yöntemler kullanılmaktadır. Kararmayı önlemede kullanılan kimyasal maddelerden biri de sitrik asit (SA)'tir (Garcia ve Barrett, 2002). SA, kararmayı ortamın asitliğini arttırmak suretiyle önlemektedir. Çünkü PPO enzimi asidik pH'larda inaktif hale geçmektedir. Yapılan çalışmalarda SA tek başına kullanıldığı gibi, askorbik asit veya oksalik asit ile kombine olarak da kullanılmıştır (El-Shimi, 1993; Arias ve ark., 2007; Montero-Calderon ve ark., 2010). Değişik meyvelerde yapılan çalışmalarda sitrik asit ve sitrik asidin chitosan veya aloe ile kombinasyonu kalitenin korunmasında etkili olmuştur (Shirin ve Asghar, 2014). Guava dilimlerinde sitrik asit ile bal çözeltisinin birlikte uygulanması, kaliteyi korurken (Abd El-Moneim ve ark., 2015), elma dilimlerinde sitrik asit ve askorbik asit ile kalsiyum kombinasyonu, kararmayı önlemiştir (Chiabrando ve Giacalone, 2012). Minimal işlenmiş lahanalarda sitrik asit ve MAP uygulaması, raf ömrünü ve pazarlanabilir kaliteyi artırırken (Manolopoulou ve Varzakas, 2014), minimal işlenmiş Hacıömer kestane çeşidine 2mM sitrik asit uygulaması PPO aktivitesini azaltarak raf ömrünü uzatmıştır (Uylaşer ve ark., 2014).

Sitrik asit uygulamalarının taze kesilmiş veya minimum işlenmiş değişik meyve ve sebzelerde kalite üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmakla birlikte, taze kesilmiş baklada sitrik asitin etkilerine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ülkemizde taze-kesilmiş ıspanak ve pırasa gibi sebzeler ile dilimlenmiş elma, tanelenmiş nar vb. ürünler son zamanlarda marketlerdeki yerini almıştır. Dolayısıyla bu çalışmada ülkemizde taze tüketimi yaygın olan ve besin değeri açısından da oldukça önemli bir sebze türü olan; taze tüketiminde kesim yüzeyindeki kararma nedeniyle zorluklarla karşılaşılan ve taze-kesilmiş sebzelere olan ilginin artması nedeniyle ileriki yıllarda taze-kesilmiş ürün pazarına sunulması muhtemel olan baklada, taze kesme ve taze kesilmiş üründe polifenol oksidaz enzim aktivitesi dolayısıyla kararma ve kalite üzerine sitrik asitin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bitkisel Materyal

Çalışmada kullanılan bakla (*Vicia faba* var. Major cv. Sakız) bitkisi Kocaeli Üniversitesi, Arslanbey Meslek Yüksekokulu üretim parsellerinde üretilmiştir. Bakla üretimi amacıyla tohum ekimleri açık tarla şartlarına 2015 yılı Eylül ayında; 40x80 cm sıra üzeri ve arası mesafelerde yapılmıştır. Kış dönemini tarla şartlarında ve fide döneminde geçiren bitkilerden baklalar ilkbahar döneminde; çeşide özgü büyüklüğü aldığı; yaklaşık 15 cm boy ve 1.5-2 cm kalınlığında iken hasat edilmiştir.

Sitrik Asit Uygulaması için Baklaların Hazırlanması

Hasat edilen baklalar hemen laboratuvar şartlarına taşınmış; üzerinde leke olan, zararlı izleri ve depolanamayacak kalitede olan baklalar ayrılmıştır. Seçim işleminden sonra uçları kesilen baklalar yaklaşık 4-5 cm'lik parçalara ayrılmıştır.

Sitrik Asit (SA) Uygulamaları

Taze kesilmiş baklalarda kararmayı önlemek için %2, %4 ve %6 SA içeren çözeltiler hazırlanmış, kontrol olarak ise "destile su" kullanılmıştır. 3 farklı konsantrasyondaki ve 16°C sıcaklıktaki SA çözeltisi ve "destile su" içerisine baklalar 5 dakika süre ile daldırılmıştır. Daldırma işleminden sonra baklalar salata kurutucusu ile 2 dakika süre ile kurutulmuştur.

Ambalajlama ve Depolama Şartları

Taze kesilmiş ve farklı dozlarda SA uygulanmış baklalar 110x110x50 mm boyutlarındaki ve kapaklı polietilentereftalat (PET) ambalajlar içerisine, her ambalajda yaklaşık 150 g örnek olacak şekilde paketlenmiştir. Ambalajlanan örnekler 5±1°C sıcaklık ve %85-90 oransal nem içeren soğuk odada depolanmıştır. Depolama başlangıcında ve depolamanın 2., 4. ve 7. günü depodan çıkarılan örneklerde ölçüm ve analizler yapılmıştır.

Ağırlık Kaybı (%)

Ağırlık kayıplarını belirlemek üzere her uygulamaya ait 3 tekerrür ayrılmış; bu örnekler her analiz döneminde tartılarak depolama süresince ağırlıkta meydana gelen değişimler aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Ağırlık kaybı (%) = $(A_b - A_a) \times 100 / A_b$, formülde A_b , başlangıçta tartılan ağırlığı, A_a ; ise her analiz döneminde yapılan ölçümleri ifade etmektedir.

Suda Çözünür Toplam Kurumadde (SÇKM) Miktarı

Her analiz döneminde; her uygulamada 3 tekerrürlü ve her tekerrür için 2 paralelli olacak şekilde örnek hazırlanarak, ölçümler yapılmıştır. SÇKM ölçümleri; ATAGO-DR-A1 dijital refraktometre (ATAGO Co Ltd, Japan) kullanılarak yapılmış ve % olarak ifade edilmiştir.

pH ölçümleri

Deneme süresince her analiz döneminde baklaların pH'ları ölçülmüştür. Bu amaçla her tekerrüden 5 g örnek alınarak 20 mL destile su içerisinde 30 dakika bekletildikten sonra doğrudan pH metre ile pH okuması yapılmıştır.

Elektrolit Sızıntısı (ES)

Elektrolit sızıntısını (ES) belirlemek için her uygulamaya ait tekerrürlerdeki baklalarda 1 cm kalınlığında disk şeklinde örnekler hazırlanmıştır. Alınan örnekler ayrı ayrı olmak üzere 50 mL destile su ile iki kez yıkandıktan sonra, 50 mL destile su içerisinde 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra EC metre ile iletkenlik değerleri ölçülen örnekler, derin dondurucuda dondurulup, çıkarılarak çözülmeye bırakılmıştır. Tamamen çözülmüş ve çözelti sıcaklığı 18°C'ye ulaşan örneklerde tekrar iletkenlik değerleri ölçülmüştür. Yapılan ölçümlerden ES, oranlama yöntemi ile hesaplanmıştır (Kasım ve Kasım, 2015a).

Renk Ölçümleri

Renk ölçümleri (L^* , a^* ve b^* değerleri) Minolta CR-400 (Konica Minolta Inc. Osaka, Japan) renk ölçer ile, D65 lamba ve 8 mm başlık kullanılarak yapılmıştır. Cihaz, ölçüm yapmadan önce beyaz kalibrasyon plakası ($L^*=97.52$, $a^*=-5.06$, $b^*=3.57$) kullanılarak kalibre edilmiştir. L^* (0=siyah, 100= beyaz), a^* (+kırmızı, - yeşil) ve b^* (+sarı, -mavi) renk koordinatları CIELAB renk sistemine göre belirlenmiştir. Hue açısı (h°); $a > 0$ ve $b > 0$ olduğunda, $h^\circ = \tan^{-1}(b/a)$; $a < 0$ ve $b < 0$ olduğunda $h^\circ = 180^\circ - \tan^{-1}(b/a)$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Doygunluk indeksi ($Dİ$), ölçülen a^* ve b^* değerleri kullanılarak, $Dİ = 100 - \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$ formülüyle hesaplanmıştır (Kasım ve Kasım, 2015b).

Polifenoloksidaz (PPO) Enzim Aktivitesi

Polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesini ölçmek için, homojenize edilmiş 5 g bakla örneği litresinde 5 g polivinilpirolidon içeren ve pH'sı 7 olan 0.1 M 15 mL fosfat tampon çözeltisi ile ultraturax homojenizatörde 15 dakika homojenize edilmiştir. Homojenat Whatman No 1 filtre kağıdı ile filtre edilmiş ve filtrat enzim ekstraksiyonunda kullanılmıştır. PPO enzim aktivitesi, 410 nm'de artan absorbansın başlangıca oranı temelinde dayanan spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Soliva ve ark., 2000). Fosfat tampon çözeltisi pH 7 (0.1 M, 1.95 mL), 1 mL 0.1 M kateşol (substrat) ve 50 µL enzim ekstraktı test tüpüne alınarak karıştırılmıştır. Karışım hızla spektrofotometre kuvetine konulmuştur. 410 nm dalga boyunda absorbans, 25° sıcaklıkta 5 dakika süreyle, UV-spektrofotometre (UV Mini 1240, UV-VIS Spektrofotometre, Shimadzu, Japan) kullanılarak belirlenmiştir (Arnok ve ark., 2010).

İstatistiksel Analiz

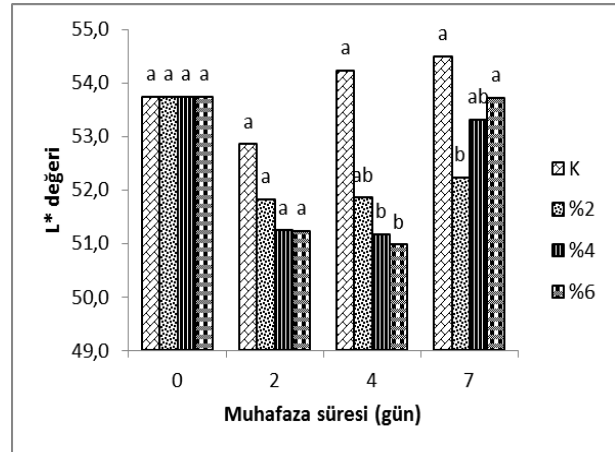
Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre ve 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve yürütülmüştür. Elde

edilen veriler ANOVA (Windows için MINITAB) programı ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar MSTAT programı kullanılarak Duncan çoklu karşılaştırma testi ile $p \leq 0.05$ önemlilik düzeyinde karşılaştırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

L^* Değeri

Taze-kesilmiş bakla örneklerinde 7 günlük muhafaza süresince ölçülen L^* değerleri Şekil 1'de verilmiştir. Deneme başlangıcında 53.74 olarak ölçülen L^* değerleri, depolamanın 2. gününde tüm uygulamalarda azalırken; depolamanın 4. ve 7. gününde kontrol grubunda başlangıç değerinin üzerine çıkmış (sırasıyla 54.23 ve 54.40), sitrik asit (SA) uygulaması yapılmış örneklerde ise kontrole göre azalma göstermiştir. Bu azalma depolamanın 2. gününde istatistiksel olarak önemsiz olurken ($p \leq 0.05$), depolamanın 4. gününde kontrol ile % 4 ve % 6 SA uygulamaları arasında; 7. gününde ise kontrol ve % 6 sitrik asit uygulaması ile % 2 SA uygulaması arasındaki farklılık istatistiksel düzeyde önemli bulunmuştur.



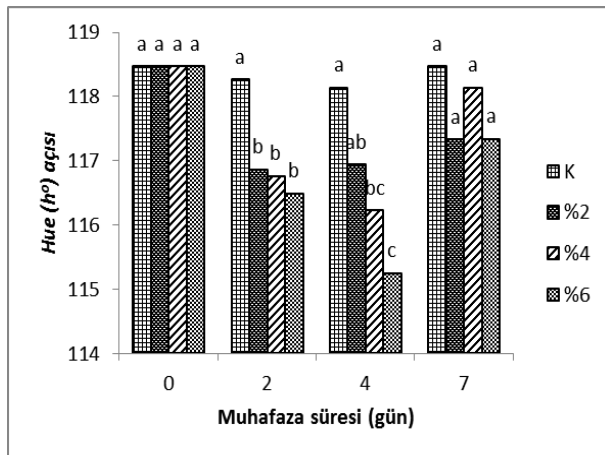
Şekil 1. Taze kesilmiş baklaların muhafaza süresince L^* renk değerlerinde meydana gelen değişimler. Her bir sütun 3 tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistiksel olarak $p \leq 0.05$ düzeyindeki farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

Denemeden elde edilen sonuçlara göre; L^* değerleri en fazla kontrol grubunda korunmuştur. CieLAB renk koordinat sistemine göre, L^* değeri ürünün parlaklığını ifade etmektedir. Dolayısıyla denemede, destile suda 5 dk bekletmenin parlaklığı artırdığı (Şekil 1) tespit edilmiş, SA uygulamalarının depolamanın 4. gününe kadar parlaklık üzerinde negatif etkili olduğu bulunmuştur. Buna karşın denemenin sonucunda, özellikle yüksek dozlarda SA uygulanan örneklerde parlaklık değerleri başlangıç değerine yaklaşmıştır. Chiabrando ve Giacalone (2012), taze kesilmiş ve SA ile birlikte kalsiyum klorür uygulanmış taze-kesilmiş elmalarda L^* değerinin kontrole göre daha yüksek

olduğunu; Manolopoulou ve Varzakas (2014), taze kesilmiş lahanada SA uygulamalarının L^* değerlerinde en az değişikliğe neden olarak parlaklığı koruduğunu; Kasım ve Kasım (2014) ise taze kesilmiş % 0.5 ve % 1 SA uygulanmış karnabaharlarda L^* değerinin kontrol ve % 2 SA uygulamalarına göre daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Yapılan çalışmada ise SA'in tüm dozlarının taze-kesilmiş baklarda parlaklık üzerine olumlu etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Hue Açısı (h^o), a^* ve b^* renk değerleri

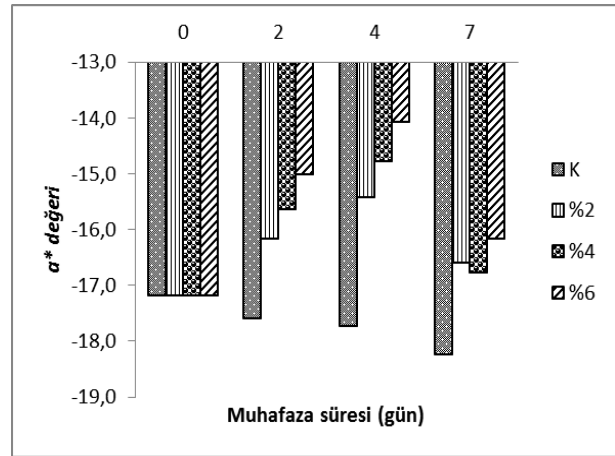
Taze kesilmiş baklara sitrik asit uygulaması; özellikle depolamanın 2. ve 4. gününde hue (h^o) açısı değerlerini kontrole göre önemli oranda azaltmıştır ($p \leq 0.05$, Şekil 2). Kontrol grubundaki örneklerin h^o açısı değerlerinin depolama süresince stabil olduğu (0, 2, 4 ve 7. gün için sırasıyla 118.5, 118.3, 118.1 ve 118.5) dolayısıyla yeşil rengin depolama süresince korunduğu tespit edilmiş; buna karşılık SA uygulanan örneklerde özellikle % 6 SA uygulanmış taze kesilmiş baklarda 115.3 (4. gün)'e kadar azaldığı yani renkte değişimler meydana geldiği saptanmıştır.



Şekil 2. Taze kesilmiş bakların muhafaza süresince Hue (h^o) açısı renk değerlerinde meydana gelen değişimler. Her bir sütun 3 tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

Depolama süresince a^* renk değerlerinin değişimi Şekil 3'te gösterilmiştir. Buna göre, kontrol grubunda yer alan örneklerde a^* değerlerinde depolama süresince artış gözlenirken; SA uygulanmış örneklerde azaldığı; bu azalmanın SA konsantrasyonundaki artışa paralel olarak arttığı ve kontrol grubu ile SA uygulanan örnekler arasındaki farklılığın özellikle depolamanın 4. ve 7. günlerinde istatistiksel olarak $p \leq 0.05$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Depolama başlangıcında -17.83 olarak ölçülen a^* renk değerleri; depolama sonunda kontrol, % 2, % 4 ve % 6 SA uygulamaları için

sırasıyla -18.24, -16.59, -16.76 ve -16.17 olarak değişmiştir.

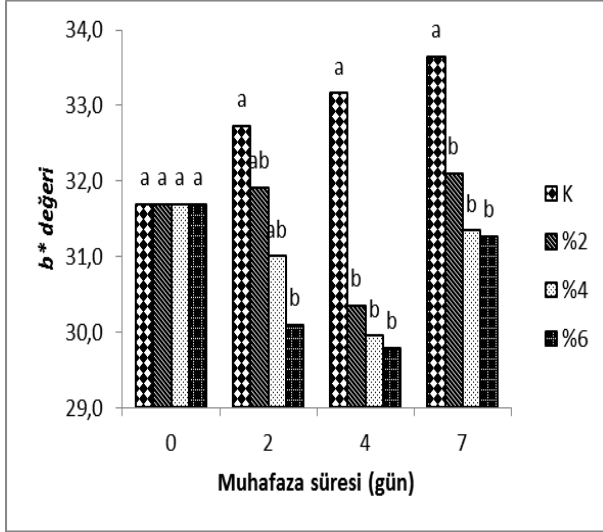


Şekil 3. Taze kesilmiş bakların muhafaza süresince a^* renk değerlerinde meydana gelen değişimler. Her bir sütun 3 tekerrürün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

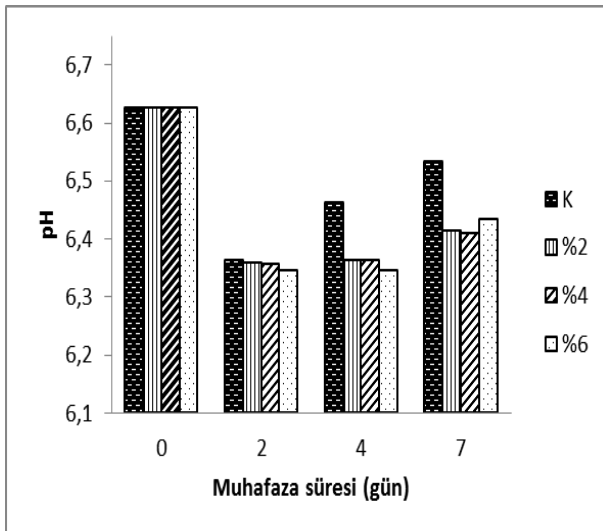
Denemede ölçülen b^* renk değerlerine göre; SA uygulaması örneklerin b^* renk değerlerini özellikle de yüksek dozlarda azaltmıştır. Depolamanın 2. gününden itibaren kontrol ile % 6 SA uygulaması arasındaki farklılık istatistiksel düzeyde önemli bulunurken ($p \leq 0.05$); depolamanın 4 ve 7. günlerinde tüm SA uygulamaları ile kontrol grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli olmuştur. Ayrıca kontrol grubuna ait örneklerdeki b^* değerleri depolama süresince artarken (0, 2, 4 ve 7. günler için sırasıyla; 31.7, 32.7, 33.2 ve 33.7), SA uygulanan örneklerde 4. güne kadar azalma meydana gelmiştir. Depolama süresince b^* değerleri kontrolde 31.7-33.7 arasında değişirken; % 2 SA'de 31.7-32.1; % 4 SA'de 31.7-31.3 ve % 6 SA'de % 31.7-31.3 arasında değişmiştir.

Taze kesilmiş meyve ve sebzelerde yeşil renk kaybı, sararma veya kararma; kesilmiş hücrelerde koruyucu yapının ortadan kalkması sonucu, substratın oksijenle temas etmesi ile enzimlerin aktif hale geçmesi ile dokudaki klorofil parçalanması nedeniyle oluşmaktadır (Bhattacharjee ve ark., 2012). Sitrik asit; taze kesilmiş sebzelerde ortamın asitlendirilerek, pH'nın düşürülmesi dolayısıyla renk değişimine neden olan enzimlerin inaktif hale getirilmesi amacı ile kullanılmaktadır. Toivonen ve Brummel (2008), pH'nın düşürülmesinin optimum pH (pH 7)'de aktif olan klorofilaz enzimini inaktif hale getirdiğini belirtmiştir. Araştırmamızda elde edilen b^* renk değeri sonuçlarına göre (Şekil 4), sitrik asit uygulanan taze kesilmiş baklarda sararmanın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı özellikle yüksek dozlardaki SA uygulamalarının daha etkili olduğu bulunmuştur. Buna karşılık; a^* ve b^* renk değerlerinden hesaplanan hue (h^o) açısı değerinin

ürünlerin gerçek rengini verdiği bilinmektedir. Dolayısıyla her ne kadar b^* renk değerine göre, SA uygulamaları sararmayı kontrole göre azaltmış gibi görünmekle birlikte, hue açısı değerine göre renkte açılmalar meydana geldiği; ancak bu değişimin sararma boyutuna ulaşmadığı gözlenmiştir.



Şekil 4. Taze kesilmiş baklaların muhafaza süresince b^* renk değerlerinde meydana gelen değişimler. Her bir sütun 3 tekrürün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistik olarak $p \leq 0.05$ düzeyindeki farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.



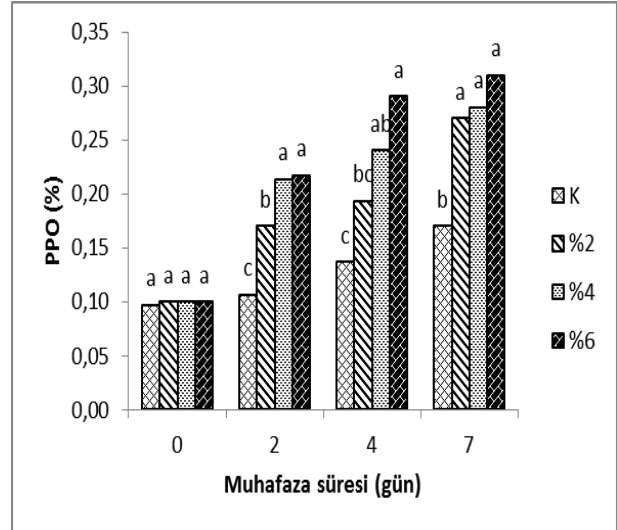
Şekil 5. Deneme süresince örneklerden ölçülen pH değerleri. Her bir sütun 3 tekrürün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistik olarak $p \leq 0.05$ düzeyindeki farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

Ayrıca deneme süresince ölçülen pH değerleri incelendiğinde de sitrik asit uygulamalarına ait örneklerde pH'nın özellikle 4. ve 7. günde kontrole göre önemli oranda az olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5).

Buna karşın SA uygulamalarının pH'yı düşürmekle birlikte renk değişimini önlemede yeterli olmadığı ve kontrol grubuna ait örneklere göre SA uygulanmış örneklerde renkte açılmanın olduğu tespit edilmiştir. Denemede ölçülen b^* ve L^* renk değeri sonuçları; SA uygulanmış örneklerin renginde kontrole göre koyulaşma olduğunu göstermekle birlikte, özellikle a değerlerindeki azalmalara da bağlı olarak yeşil renkte açılmalar olduğu sonucuna varılmıştır.

Polifenol Oksidaz (PPO) Enzim Aktivitesi

Depolama süresince taze kesilmiş ve SA uygulanmış baklalara ait polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesi değerleri Şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 6. Taze kesilmiş baklaların muhafaza süresince polifenol oksidaz (PPO) enzim aktivitesinde meydana gelen değişimler. Her bir sütun 3 tekrürün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistik olarak $p \leq 0.05$ düzeyindeki farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

Deneme başlangıcında PPO aktivitesi % 0.10 olarak ölçülmüş, deneme süresince ise bütün uygulamalarda artış göstermiştir. Bu artışın SA'in yüksek dozları uygulanmış örneklerde daha fazla olduğu belirlenmiştir. PPO aktivitesi depolamanın 4. gününde özellikle % 4 ve % 6 SA uygulamalarında (sırasıyla, % 0.24 ve % 0.29) ve 7. gününde ise tüm SA uygulamalarında (% 2, % 4 ve % 6 SA için sırasıyla % 0.27, % 0.28 ve % 0.31) kontrol grubuna (%0.17) göre oldukça yüksek bulunmuş ve kontrol ile SA uygulamaları arasındaki farklılıkta istatistik düzeyde önemli bulunmuştur. Araştırmamızda SA uygulamalarının taze kesilmiş baklalarda PPO aktivitesini arttırdığı dolayısıyla kesim yüzeylerinde karammaya neden olduğu (Şekil 7) tespit edilmiştir. Taze

kesilmiş ürünlerde, kesim yüzeylerinde meydana gelen sararma, beyazlaşma ve kararma gibi renkle ilgili bozulmalar, ürünün pazarlanamamasına neden olmaktadır. Bu nedenle minimum işlenmiş veya taze kesilmiş ürünlerdeki çalışmaların çoğu bu renk bozulmalarının giderilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan çalışmalarda renk kararmasına neden olan peroksidad ve polifenol oksidaz enzimlerinin aktiviteleri değişik uygulamalar ile azaltılmaya çalışılmış, bu

amaçla kullanılan sitrik asit hem ortamın pH'sını azaltarak hem de PPO enziminin aktif kısmı olan bakırla şelat oluşturarak enzimi inaktive etmektedir (Son ve ark., 2001). Jiang ve ark. (2004) Çin su kestanelerinde 0.02 M (yaklaşık % 0.4) SA'nın PPO enzim aktivitesini uyardığını fakat 0.1 M (yaklaşık % 2) SA'nın PPO enzim aktivitesini önemli oranda engellediğini bulmuştur.



Şekil 7. Farklı dozlarda sitrik asit uygulamalarının baklada kararma üzerine etkisi. K: Kontrol, 2: % 2 sitrik asit (SA), 4: % 4 SA, 6: % 6 SA.

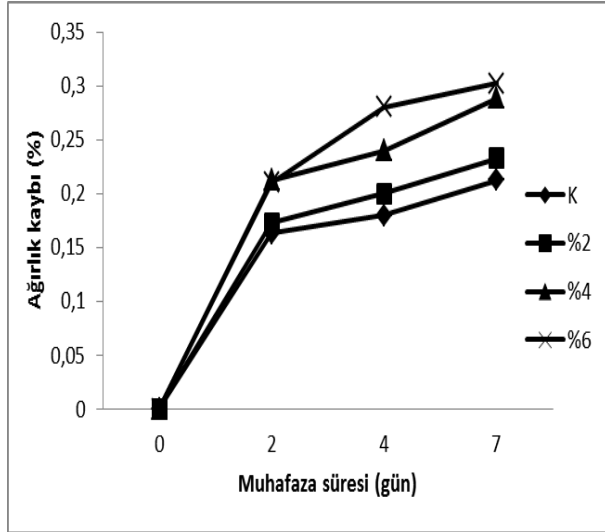
Yine sitrik asitin tek başına veya diğer bileşikler ya da kaplama maddeleri ile kombine uygulandığı çalışmalarda; sitrik asitin değişik meyvelerde, guavada kaliteyi koruduğu (Shirin ve Asghar, 2014; Abd El-Moneim ve ark., 2015), MAP ile birlikte lahanada raf ömrünü ve pazarlanabilir kaliteyi arttırdığı (Manolopoulou ve Varzakas, 2014), kestanelerde PPO enzim aktivitesini azalttığı (Uylaşer ve ark., 2014) tespit edilmiştir. Buna karşılık taze kesilmiş karnabaharlarda kesim yüzeylerinde kararmayı arttırdığı da bulunmuştur (Kasım ve Kasım, 2014). Yapılan çalışmada ise kullanılan bütün sitrik asit dozlarında, kontrole göre PPO aktivitesinin ve dolayısıyla kararmanın arttığı tespit edilmiştir. PPO'nun aktivite gösterdiği pH değerleri 6.0-6.5 iken, pH 4'te enzim aktivitesi minimuma düşmektedir (Oms-Oliu ve ark., 2010). Yapılan pH ölçümlerinde uygulanan sitrik asit dozlarının pH'yı ancak 6'ya düşürdüğü tespit edildiğinden, PPO enzim aktivitesinde belirlenen artışın nedeni olarak düşünülebilir. Fakat, sitrik asitin etkisinin türlere göre hatta tür içindeki çeşitlere göre farklı olduğu tespit edilmiştir. Liberty elma çeşidinde %1 okzalik asit uygulaması, %1'lik sitrik asitten daha etkili bulunmuşken (Son ve ark., 2001), Fuji elma çeşidinde %1 askorbik asit, % 1 sitrik asitten daha başarılı olmuş

(Lee ve ark., 2003), buna karşılık *Golden delicious* elma çeşidinde % 1 sitrik asitin % 1 askorbik asitten daha etkili olduğu saptanmıştır (Pizzocaro ve ark., 1993). Muz meyvelerinde kararmayı önleme bakımından sitrik, okzalik ve askorbik asit arasında önemli bir farklılık yokken (Apintanopong ve ark., 2007), patatesten % 1 askorbik ve sitrik asit uygulaması beyazlık indeksinde en iyi sonucu vermiştir (Rocculi ve ark., 2007). Benzer şekilde marulda 0.1 mM sitrik asit ve okzalik asit kararmayı aynı oranda önlemiştir (Altunkaya ve Gökmen, 2008). Dolayısıyla PPO enzim aktivitesini dolayısıyla kararmayı önlemede kullanılan sitrik asitin türlere ve çeşitlere gören değişen oranlarda kararmayı önleyici veya uyarıcı etkisi olduğu belirlenmiştir. Araştırmamızda da tüm sitrik asit dozlarının PPO enzim aktivitesini artırıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Ağırlık Kaybı

Taze kesilmiş baklalarda 7 günlük depolama süresince ağırlık kaybı değerleri tüm uygulama gruplarında artmıştır (Şekil 8). Depolama sonunda en fazla ağırlık kaybı %6 SA uygulamasında elde edilmiş (% 0.37), bu uygulamayı % 4 SA (% 0.28), % 2 SA (% 0.23) ve kontrol grubu (% 0.21) izlemiştir. Ancak uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel düzeyde

önemli bulunmamıştır. Bitki dokuları % 99-99.5 oransal nem ortamında ve aynı sıcaklık şartlarında, ortam ile denge halinde bulunmakta, su kaybı olmamaktadır (Burton 1982). Fakat atmosferdeki su buhar basıncının azalması, dokudan atmosfere su kaybedilmesine neden olmaktadır. Kesilmemiş-bütün olarak depolanan meyve ve sebzelerde kabuk ve kabuk yüzeyinde bulunan mumsu tabaka, kütüküla tabakası, tüyler vb. koruyucu tabakalar nedeniyle üründen olan su kaybı azaltılmaktadır. Buna karşın, taze kesilmiş ürünlerde koruyucu tabaka ortadan kalktığı için ürün doğrudan doğruya atmosfere açık hale gelmekte, ayrıca kesim nedeniyle metabolizma hızı da arttığından su kayıpları artmaktadır. Ayrıca bakla gibi olgunlaşmamış olarak hasat edilmiş ürünlerde metabolizma hızı da yüksektir. Yapılan çalışmada taze kesilmiş baklarda tüm uygulamalarda su kaybı olmakla birlikte, sitrik asit uygulamalarında su kaybının daha yüksek olduğu, dolayısıyla sitrik asitin su kaybını hızlandırdığı görülmüştür. Her ne kadar tüm uygulamalarda su kaybında artış olmakla birlikte kayıp oranları %0.21-0.30 gibi oldukça düşük düzeyde gerçekleştiğinden, görsel açıdan herhangi bir kalite kaybı gözlenmemiştir.

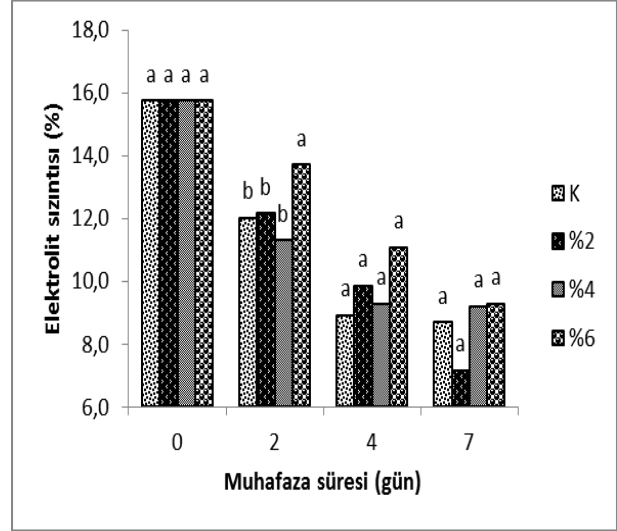


Şekil 8. Taze kesilmiş baklarda muhafaza süresince ağırlıkta meydana gelen değişimler. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

Elektrolit Sızıntısı

Elektrolit sızıntısı; üşüme zararı, fiziksel zararlanma, radyasyon zararı gibi fizyolojik olaylar nedeniyle hücre bütünlüğünün bozulması sonucunda; elektrolitlerin hücreden dışarıya verilmesidir. Taze kesilmiş ürünlerde de bu zararlanmalara benzer şekilde elektrolitlerde sızıntı meydana gelmektedir. Araştırmamızda başlangıçta 15.7 olarak ölçülen sızıntı değeri; depolama süresince bütün uygulamalarda azalmıştır (Şekil 9). Depolama sırasında en yüksek sızıntı değerleri % 6 SA uygulamasına ait örneklerde ölçülmüş; ancak depolamanın 2. gününde bu açıdan % 6 SA ve diğer

uygulamalar arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p \leq 0.05$), 4. ve 7. günde elde edilen farklılıklar istatistiki düzeyde önemsiz olmuştur. Depolama süresince kontrol grubundaki örneklerin sızıntı değerlerinin, SA uygulamalarına göre düşük olduğu bulunmuştur.



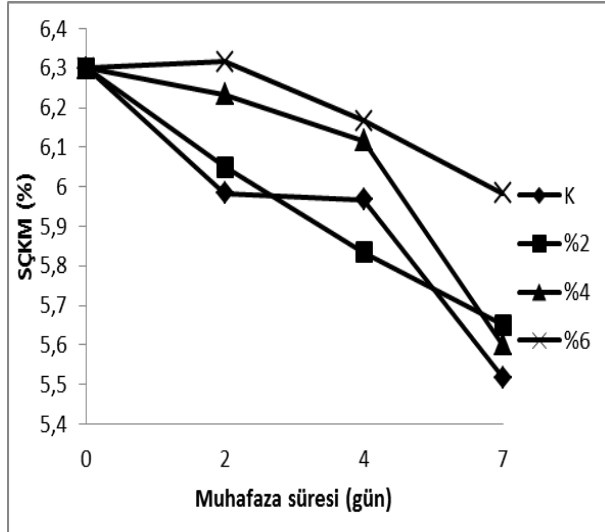
Şekil 9. Taze kesilmiş bakların muhafaza süresince elektrolit sızıntısında (%) meydana gelen değişimler. Her bir sütun 3 tekrerrün ortalamasını ifade etmektedir. Sütunlardaki farklı harflendirmeler ortalamalar arasındaki istatistiki olarak $p \leq 0.05$ düzeyindeki farklılığı göstermektedir. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

Hücre zarı, lipoprotein yapıdadır ve molekül, iyon ve suyun hücre içi ve dışına hareketinde seçici geçirgen bir yapı oluşturmaktadır. Hücre zarı, hücrenin bölünmesi ve hücre içi homeostasisin korunmasında önemlidir. Kuruma, yüksek sıcaklık, üşüme zararı, radyasyon, kimyasal maddeler vb. stresler hücre zarında hasara neden olarak, hücrenin bütünlüğünü bozmaktadır. Hücre hasarının en yaygın belirtileri su ile ıslanmış gibi görünüm, turgor kaybı, elektrolitlerin sızıntısı ve dokudaki renk değişimleridir (Garraway ve ark., 1989). Elektrolit sızıntısı, hücre zarı zararlanmasının dolaylı ölçüsü olarak değerlendirilmektedir. Yapılan çalışmada elektrolit sızıntısı olmakla birlikte, depolama süresince azaldığı belirlenmiş, ancak bu azalma genel olarak kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla sitrik asit uygulamalarının hücresel düzeyde zarara neden olduğu düşünülmüştür.

Suda Çözünür Toplam Kurumadde (SÇKM) Miktarı

Araştırmada yapılan ölçüm sonuçlarına göre suda çözünür toplam kuru madde (SÇKM) miktarı, depolama süresince tüm uygulamalarda azalmıştır (Şekil 10). Fakat en fazla azalma kontrol örneklerinden elde edilirken; bu uygulamayı sırasıyla % 2, % 4 ve % 6 SA uygulamaları izlemiştir. Buna karşılık uygulamalar

arasındaki farklılık istatistiki düzeyde ($p \leq 0.05$) önemli bulunmamıştır. Bitkiler stres şartlarına maruz kaldıklarında metabolizma faaliyetlerinde değişiklikler olmakta ve savunma mekanizması nedeniyle ürün metabolizmasında değişiklikler meydana gelmektedir. Ultraviyole ışınlanması (UV-C) yapılan taze-kesilmiş kavun dilimlerinde kuru maddenin arttığı (Kasım ve Kasım 2014), yine UV-B uygulanmış ve bütün olarak depolanmış domateslerde fruktoz miktarının arttığı (Kasım ve Kasım 2015a) belirlenmiştir. Dolayısıyla özellikle yüksek dozda sitrik asit uygulanmış taze kesilmiş baklalarda SÇKM miktarının kontrole göre yüksek olması, ürünün savunma mekanizmasının bir sonucu olabilir. Taze kesilmiş ve CaCl_2 uygulanmış fasulyelerde depolamanın 4. gününde sakaroz ve fruktoz oranının arttığı tespit edilmiştir (Kasım ve Kasım 2015b). Yapılan çalışmada da benzer şekilde, SÇKM miktarı özellikle yüksek dozda SA uygulanmış örneklerde 4. güne kadar yüksek oranda korunmuş, daha sonra tüm uygulamalarda azalarak, depolama sonunda % 5.5-5.9 arasında değişmiştir.



Şekil 10. Taze kesilmiş baklalarda muhafaza süresince suda çözünür toplam kurumadde (SÇKM, %) miktarında meydana gelen değişimler. K; Kontrol, % 2, 4 ve 6; uygulanan sitrik asit (SA) dozlarını ifade etmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki sitrik asit uygulamalarının, taze kesilmiş baklada polifenol oksidaz aktivitesi dolayısıyla renk değişimleri ve kararma ile kalite üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda sitrik asit uygulamalarının polifenol oksidaz (PPO) aktivitesini arttırdığı dolayısıyla kesim yüzeylerinde kararmaya neden olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde sitrik asit uygulanmış baklalarda, ağırlık kaybı ve elektrolit sızıntısının da yüksek olduğu, dolayısıyla sitrik asitin hücresel düzeyde zararlanmalara neden olduğu

gözlenmiştir. Buna karşın sitrik asit uygulamaları suda çözünür toplam kurumadde (SÇKM) miktarının özellikle yüksek sitrik asit dozlarında korunmasını sağlamakla birlikte, örneklerin yeşil renginde açılmaları neden olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, sitrik asit tek başına uygulandığında taze-baklada kararmayı önlememiştir. Bu nedenle baklada sitrik asitin, diğer antioksidan veya kaplama maddeleri ile birlikte kullanımının araştırılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Moneim, E.A.A., Kamel, H.M., Zaki, Z.A., Abo Rehab, M.E. 2015. Effect of honey and citric acid treatments on postharvest quality of fruits and fresh-cut of Guava. *World Journal of Agricultural Sciences*, 11(5): 225-267.
- Altunkaya, A., Gökmen, V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning antioxidant activity and total phenol content of fresh-lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chem*, 107:1173-9.
- Apintonapong, M., Cheachumluang, K., Suansawan, P., Thongprasert, N. 2007. Effect of antibrowning agents on banana slices and vakum dried slices. *J. Food Agric. Environ.*, 5:151-157.
- Arias, E., Gonzalez, R.O., Lopez-Buesa. P. 2007. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalysed browning reaction. *Journal of Food Science*, 72(8):422-429.
- Arnok, P.C., Ruangviriyachai, C., Mahachai, R., Techawongsrien, S., Chanthai, S. 2010. Optimization and determination of polyphenol oxidase and peroxidase activities in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) pericarb. *International Food Research Journal*, 17: 385-392.
- Bhattacharjee, D., Das, A., Dhua, R.S. 2012. Fresh-cut vegetables: A consumer friendly approach. *Int. Journal of Science and Research (IJSR)*, 3(9):47-50.
- Burton, W.G. 1982. *Postharvest Physiology of Food Crops*. Longman House, Essex UK, London, 339s.
- Chiabrando, V., Giacalone, G. 2012. Effect of antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut apples during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36:133-140.
- El-shimi, N.M. 1993. Control of enzymatic browning in apple slices by using ascorbic acid under different conditions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 43:71-76.
- Garcia, E., Barrett, D.M. 2002. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: Lamiranka, O. (Ed.) *Fresh-cut fruits and vegetables: Science, Technology and Market*. CRC Press. Boca Raton, 267-283.
- Garraway, M.O., Akhtar, M., Wokoma, E.C.M. 1989. Effect of high temperature stress on peroxidase activity and electrolyte leakage in maize in relation to sporulation of *Bipolaris maydis* race. *T. Phytopathology*, 79:800-805.

- He, Q., Luo, Y. 2007. Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. Stewart Postharvest Review, 6:3, www.stewartpostharvest.com
- Ioannou, I., Ghoul, M. 2013. Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. European Scientific Journal, 9(30): 310-341.
- Jeong, H.L., Jin, W.J., Kwang, D.M., Kee, J.P. 2008. Effects of anti-browning agents on polyphenoloxidase activity and total phenols as related to browning of fresh-cut "Fuji" apple. ASEAN Food Science, 15:79-87.
- Jiang, Y., Pen, L., Li, J. 2004. Use of citric acid for shelf life and quality maintenance of fresh-cut Chinese water chestnut. J. Food Eng., 63:325-328.
- Kasim, M.U., Kasim, R. 2015a. Postharvest UV-B treatments increased fructose content of tomato (*Solanum lycopersicon* L. cv. Tayfun F1) harvested at different ripening stages. Food Sci. and Technol., Campinas, 35(4): 742-749.
- Kasim, R., Kasim, M.U. 2015b. Biochemical changes and color properties of fresh-cut green bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv.gina) treated with calcium chloride during storage. Food Sci. and Technol., Campinas, 35(2):266-272.
- Kasim, R., Kasim, M.U. 2014. Biochemical and color changes of fresh-cut melon (*Cucumis melo* L. cv. Galia) treated with UV-C. Food Science and Technology, 34 (3), 547-551.
- Lee, J.Y., Park, H.J., Lee, C.Y., Choi, W.Y. 2003. Extending shelf life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. Lebensm. Wiss. Technol., 36:323-329.
- Manolopoulou, E., Varzakas, T. 2014. Application of antibrowning agents in minimally processed cabbage. Journal of Food & Nutritional Disorders, 3(1): 1-5.
- Montero-Calderon, M., Rojas-Grau, M., Martin-Belloso, O. 2010. Mechanical and chemical properties of Gold cultivar pineapple flesh (*Ananas comosus*). European Food Research and Technology. 230(4):675-686.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, A., Gonzalez, L.A., Vamelo, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, I.H., Munuear, I.P., Fiszman, S., Martin-Belloso, O. 2010. Recent approach using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit; A review. Postharvest Biol. Tech., 57: 139-148.
- Pizzocaro, F., Torreggiani, D., Gilardi G. 1993. Inhibition of apple polyphenol oxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. Journal of Food Processing and Preservation, 17:21-30.
- Queiroz, C., Lopez, M.L.M., Fralho, E., Valente-Mesquita, V.L. 2008. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. Food Reviews International, 24(4):361-375.
- Rocculi, P., Galinda, F.G., Mendoze, F., Wodss, L., Romani, S., Rosa, M.D., Sjöholm, I. 2007. Effects of the application of antibrowning substances on the metabolize activity and sugar composition on fresh-cut potatoes. Postharvest Biol. Tech., 43:151-157.
- Self Nutrition Data, 2016. Nutrition Facts, Broadbeans (fava beans), mature seeds, cooked, boiled, without salt. <http://nutritiondata.self.com/facts/legumes-and-legume-products/4322/2>, Erişim Tarihi: 17/02/2016.
- Shirin, S., Asghar, R. 2014. Effect of natural aloe vera gel coating combined with calcium chloride and citric acid treatments on grape (*Vitis vinifera* L. cv. Askari) quality during storage. American Journal of Food Science and Technology, 2(1):1-5.
- Soliva, R. C., Elez, P., Sebastian, M., Martin, O. 2000. Evaluation of browning effect on avocado purée preserved by combined methods. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 1(4), 261-268. [http://dx.doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00033-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00033-3).
- Son, S.M., Moon, K.D., Lee, C.Y. 2001. Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. Food Chem., 73:23-30.
- Suttirak, W., Manurakchinakorn, S. 2010. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. Walailak J. Sci. &Tech., 7(1):5-14.
- Toivonen, P.M.A., Brummell, D.A. 2008. Biochemical basis of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. Postharvest Biol. Tech., 48: 1-4.
- Uylaşer, V., İncedayı, B., Yıldız, G. 2014. Effects of citric acid and Na-metabisulphide on the shelf-life of minimally processed Hacıömer cv. Chestnut. Int. Journal of Applied Science and Technol., 4(1):127-130.