ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KAPARİ (*Capparis* spp.) ACILIK BİLEŞENLERİ VE FLAVONOİDLERİN PROSES SIRASINDAKİ DEĞİŞİMİ

Oktay YEMİŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2008

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

KAPARİ (*Capparis* spp.) ACILIK BİLEŞENLERİ VE FLAVONOİDLERİN PROSES SIRASINDAKİ DEĞİŞİMİ

Oktay YEMİŞ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Nevzat ARTIK

İşlenmemiş kapari tomurcukları, sahip oldukları acı lezzetten dolayı doğrudan tüketilemezler. Bu nedenle, çoğunu glukosinolatların oluşturduğu istenmeyen bu lezzet bileşiklerini gidermek için tomurcukların yüksek tuz konsantrasyonlarında bekletilmeleri gerekmektedir. Bu çalışma kapari tomurcuklarının salamurada depolama boyunca glukosinolat kompozisyonundaki değişimi belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Glukosinolatlar fotodiyoderey detektörlü, yüksek performanslı sıvı kromatografi tekniği (HPLC) ile saptanmıştır. Toplanan tomurcuklar *Capparis ovata* Desf. var. *herbacea* olarak tür teşhisi yapıldıktan sonra, %15 ve %20 tuz içeren salamuralara işlenmiş ve 10°, 20° ve 30°C'de 90 gün süreyle depolanmıştır. Depolanan örneklerde belirli aralıklarda titrasyon asitliği, pH, laktik asit bakteri (LAB) sayımı, antioksidan aktivite, reflektans renk değerleri ile başlangıç glukosinolatları, flavonoidler ve toplam fenolik madde analizleri gerçekleştirilmiştir.

Depolama sıcaklığının artışı ile, kapari tomurcuklarında titrasyon asitliğinin arttığı ve pH değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Depolamanın 72 saatinin sonunda, her iki tuz konsantrasyonundaki salamuralarda asitlik ve pH gelişimi tamamlanmıştır. Salamuraya işleme öncesi kapari tomurcuklarının LAB sayısı 3.83×10^7 kob/g düzeyinde iken, prosesin 3. gününde bu değer 10 kob/mL düzeyinin altına düşmüştür.

Başlangıç örneklerinde 10'dan fazla farklı glukosinolatın ayrımı gerçekleştirilmiş, ancak bunlardan yalnızca başat glukosinolat tanımlanmıştır. En yüksek konsantrasyondaki 6 adet glukosinolattan, %92.1'ini başat glukosinolat olan glukokapparinin oluşturduğu saptanmıştır. Glukokapparinin başlangıç konsantrasyonu kuru ağırlık bazında 259.69 µmol/g olarak bulunmuştur. %15 tuz içeren salamuralarda 10°, 20° ve 30°C'de depolanan örneklerdeki glukokapparin içeriğinin 10., 5. ve 2. günün sonunda sırasıyla, kuru ağırlık bazında 6.18, 4.43 ve 3.36 µmol/g düzeyine düştüğü saptanmıştır. Gerek %15, gerekse %20 tuz içeren salamurada işlenen örneklerin, glukokapparin içeriklerinin değişiminde önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Verilerin kinetik analizi, 10°–30°C'lik sıcaklık aralığında depolama boyunca kapari tomurcuklarındaki glukokapparinin parçalanmasının, sıfırıncı dereceden kinetik modele uygun olarak meydana geldiğini ortaya koymuştur. Beklendiği üzere, her iki salamura konsantrasyonunda depolanan örneklerde sıcaklık artışı ile glukokapparinin parçalanma hızı artmıştır. Örneğin; %15 tuz konsantrasyonuna sahip salamuralarda depolanan örneklerde, glukokapparinin parçalanmasına ilişkin reaksiyon hız sabitleri (k) 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 1.0387, 2.1961 ve 5.9194 saat^{-1} olarak hesaplanmıştır. %15'lik salamurada depolanan örneklerin aktivasyon enerjileri (E_a), %20'lik salamurada depolanan örneklerin E_a değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. 10°–30°C'lik sıcaklık aralığında glukokapparinin parçalanmasına ilişkin E_a değerleri, %15'lik salamurada depolanan örneklerde 61.9 kJ mol^{-1} ve %20'lik salamurada depolanan örneklerde 44.4 kJ mol^{-1} düzeyinde saptanmıştır.

Kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonu da HPLC ile belirlenmiştir. Başlangıç örneklerinde, rutin (1.45 g/100 g KA) başat flavonoid olarak bulunmuş ve bunu kamferol-3-rutinozit (0.88 g/100 g KA) takip etmiştir. Ayrıca, iz düzeyde de kamferol-3-glukozit (0.02 g/100 g KA) belirlenmiştir. İşlenmemiş tomurcuklarda aglikon formda kamferol ve kuersetin bulunmazken, salamuraya işleme ile bu bileşenler iz miktarda tespit edilmiştir. Kapari tomurcuklarının toplam flavonoid miktarları, 30°C'de 90 günlük depolama sonunda %15'lik ve %20'lik salamurada sırasıyla, %11.1 ve %48.1 oranında azalmıştır. Tüm örneklerde 90 günlük depolamanın sonunda tomurcukların antioksidan aktivite düzeylerinin yaklaşık %50 oranında azaldığı saptanmıştır. Kapari tomurcuklarında parlak yeşilden arzu edilen zeytin sarısına renk dönüşümünün, depolamanın ilk 10 gününde gerçekleştiği belirlenmiştir.

Şubat 2008, 101 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kapari, glukosinolat, flavonoid, işleme, salamura, antioksidan aktivite, toplam fenolik, yüzey rengi

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

CHANGES IN GLUCOSINOLATE AND FLAVONOID CONTENTS OF CAPERS (*Capparis* spp.) DURING PROCESSING

Oktay YEMİŞ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied
Department of Food Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Nevzat ARTIK

Unprocessed caper buds cannot be consumed due to their bitter flavor. Therefore, they need to be stored at high salt concentrations to remove these undesirable flavor compounds, mainly glucosinates. This study was undertaken to monitor the changes in glucosinate composition of caper buds during brinning. The glucosinolates were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with diode array detection. After the identification of the variety as *Capparis ovata* Desf. var. *herbacea*, the buds were brinned in 15% and 20% NaCl concentrations and stored at 10°, 20° and 30°C for 90 days. Periodicaly, samples were drawn from storage and analyzed for titratable acidity, pH, the enumeration of lactic acid bacteria (LAB), antioxidant activity, reflectance color values as well as glucosinolate, flavonoid and total phenolic contents.

The titratable acidity of capers increased and the pH of capers decreased with increasing the storage temperature. After 72 h of storage, no change in acidity and pH was observed in brines at both NaCl concentrations. The number of LAB was 3.83×10^7 cfu/g (caper) before brinning and decreased to below 10 cfu/mL (brine) after 3 days of brinning.

Before brinning, seperation of over 10 glucosinolate peaks was achieved, but only the major glucosinolate was identified. The major glucosinolate was glucocapparin, which accounted for 92.1% of the 6 glucosinolates with the highest concentrations. The initial concentration of glucocapparin was 259.69 μmol/g dw. At 15% NaCl concentrations, the amount of glucocapparin content decreased to 6.18, 4.43 and 3.36 μmol/g dw after 10, 5 and 2 days of storage at 10°, 20° and 30°C, respectively. There was no significant change in glucocapparin contents of caper buds brined in 15% and 20% NaCl concentrations.

Analysis of kinetic data revealed that glucocapparin degradation in caper buds during storage at 10°–30°C was fitted to a zero-order reaction kinetic model. As expected, the degradation of glucocapparin increased with increasing storage temperature at both NaCl concentrations. For example, at 15% salt concentration, the reaction rate constants

(k) for glucocapparin degradation were 1.0387, 2.1961 and 5.9194 h^{-1} at 10°C, 20°C and 30°C, respectively. Higher activation energy (E_a) was obtained at 15% NaCl concentration than 20% NaCl concentration. At 10°–30°C, E_a value for glucocapparin degradation was 61.9 kJ mol^{-1} at 15% NaCl concentration and 44.4 kJ mol^{-1} at 20% NaCl concentration.

Flavonoid composition of capers was also analyzed by HPLC. Before brinning, rutin (1.45 g/100 g DW) was found to be the major flavonoid, followed by kampferol-3-rutinoside (0.88 g/100 g DW). Kampferol-3-glucoside was also determined at trace amount (0.02 g/100 g DW). Although aglycone kaempferol and quercetin were not detected in unprocessed capers, these compounds were detected at trace amounts after brinning. The total flavonoid content of capers after 90 days of storage at 30°C decreased by 11.1% and 48.1% in brines at 15% and 20% NaCl concentrations, respectively. The antioxidant activities of all samples decreased approximately 50% at the end of the brinning. The desirable color changes from bright-green to olive-yellow in caper buds were achieved during the first 10 days of brinning.

February 2008, 101 pages

Key Words : Caper, glucosinolate, flavonoid, processing, brine, antioxidant activity, total phenolic, surface color

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK Tarım, Orman, Veteriner Araştırma Grubu (TOVAG) tarafından 3324 no' lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Çalışmamın her aşamasında beni destekleyen danışman hocam Prof. Dr. Nevzat Artık' a, her ihtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyen, sık sık bilgi ve tecrübelerine başvurduğum Prof. Dr. Bekir Cemeroğlu' na, kinetik parametrelerin hesaplanmasında ve tüm laboratuvar olanakları ile her zaman yanımda olan Doç. Dr. Mehmet Özkan' a, çalışmam boyunca fermentasyon teknolojisi konusunda tecrübelerine başvurduğum Tez İzleme Komitesinin değerli üyeleri Prof. Dr. Filiz Özçelik ve Prof. Dr. Sebahattin Nas' a, kapari tomurcuklarının tür teşhisinde Prof. Dr. Osman Ketenoğlu'na, şeker analizlerinin HPLC ile yapılmasında Doç. Dr. Ender Sinan Poyrazoğlu'na, araştırmamın mikrobiyolojik analizlerinde yardımlarını aldığım nişanlım Gökçe Polat'a, istatistiksel analizlerin yapılmasında ve değerlendirilmesinde bana yardımcı olan Arş. Grv. Yeliz Kaşko'ya, çalışmalarım süresince özverili davranışları ile yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarım Hakan Karaca, Seçil Türksoy, Şule Akbaş, Özay Menteş'e, laborant Önder Yalçın' a, öğrencilerim Burcu Uncu, Özge Turfan, Betül Erkan, Meltem Türkyılmaz ve Nihal Muhacir'e araştırmada kullanılan kapari örneklerini sağlayan Çalışkan Tarım Ürünleri San. ve Tic. Ltd. Şti.'ne ve OSKAP (Osmancık Kapari Kooperatifi)' ne teşekkürlerimi sunarım.

Oktay YEMİŞ
Ankara, Şubat 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT iii
TEŞEKKÜR v
SİMGELER DİZİNİ viii
ŞEKİLLER DİZİNİ ix
ÇİZELGELER DİZİNİ x
1. GİRİŞ 1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ 3
2.1 Kapari Bitkisi 3
2.2 Kapari Bitkisi ve Tomurcuklarındaki Biyoaktif Bileşenler 8
2.2.1 Glukosinolatlar 9
2.2.2 Flavonoidler 26
3. MATERYAL ve YÖNTEM 28
3.1 Materyal 28
3.1.1 Kimyasallar 28
3.2 Yöntem 29
3.2.1 Kapari tomurcuklarının salamuraya işlenmesi 29
3.2.2 Analiz yöntemleri 30
3.2.2.1 Fiziksel analizler 30
3.2.2.1.1 Nem tayini 30
3.2.2.1.2 pH değeri tayini 31
3.2.2.1.3 Renk ölçümleri 31
3.2.2.1.4 Yüz dane ağırlığı 31
3.2.2.2 Kimyasal analizler 31
3.2.2.2.1 Titrasyon asitliği tayini 31
3.2.2.2.2 Şeker tayini 32
3.2.2.2.3 Tuz tayini 33
3.2.2.2.4 Protein tayini 34
3.2.2.2.5 Yağ tayini 34
3.2.2.2.6 Kül tayini 35
3.2.2.2.7 Asitte çözünmeyen kül tayini 35
3.2.2.2.8 Glukosinolatların analizi 35
3.2.2.2.9 Flavonoidlerin analizi 40
3.2.2.2.10 Antioksidan aktivite tayini 41
3.2.2.2.11 Toplam fenolik madde tayini 43
3.2.2.3 Mikrobiyolojik analizler 45
3.2.2.3.1 Laktik asit bakterisi (LAB) sayımı 45
3.2.3 Glukosinolatların parçalanmasına ilişkin kinetik katsayıların saptanması 45
3.2.3.1 Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması 45
3.2.3.2 Aktivasyon enerjisinin (Ea) hesaplanması 46
3.2.3.3 Q10 değerinin hesaplanması 47
3.2.4 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi 48
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 49
4.1 Kapari Tomurcuklarının Başlıca Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri 49
4.2 Kapari Tomurcuklarının İşlenmesi Sırasında pH-titrasyon Asitliği Değişimi 51

4.3 Kapari Tomurcuklarının Salamurada Depolanması Sırasında Laktik Asit Bakteri (LAB) Sayısındaki Değişmeler 56
4.4 Kapari Tomurcuklarının Glukosinalat İçeriği..... 57
4.4.1 Glukosinalatların HPLC analiz sonuçları 57
4.4.2 Salamura yapılmış tomurcuklarda glukosinolatların parçalanmasının izlenmesi 61
4.4.3 Glukosinolatların parçalanmasının kinetik modeli 65
4.5 Kapari Tomurcuklarının Flavonoid İçeriği ve Depolama Sırasındaki Değişim..... 67
4.6 Kapari Tomurcuklarının Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Depolama Sırasında Değişimi..... 80
4.7 Kapari Tomurcuklarının Salamurada Depolanması Sırasında Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler..... 84
5. SONUÇ ve ÖNERİLER..... 87
KAYNAKLAR 91
EKLER
EK 1 Farklı kapari resimleri 98
EK 2 Sülfataz enziminin saflaştırılması 99
ÖZGEÇMİŞ..... 100

SİMGELER DİZİNİ

YA	Yaş ağırlık
KA	Kuru ağırlık
DW	Dry weight
k	Reaksiyon hız sabiti
E_a	Aktivasyon enerjisi
dak	Dakika
Abs	Absorbans
LAB	Laktik asit bakterisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
MeOH	Metanol
GC	Gaz kromatografisi
GC/MS	Gaz kromatografisi/Kütle spektroskopisi
SPME	Katı Faz Mikro Ekstraksiyon
HS	Tepe boşluğu
TEAK	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite
TF	Toplam Fenolik
Kam-3-rut	kamferol-3-rutinozit
Kam-3-glu	kamferol-3-glukozit
Kam	kamferol
Kuer	kuersetin
Mol. Wt.	Molekül ağırlığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kapari işleme akış şeması 6
Şekil 2.2 Glukosinolatların genel yapısı 9
Şekil 2.3 Gıdalarda bulunan bazı glukosinolatların kimyasal formülleri ve molekül ağırlıkları 11
Şekil 2.4 Glukosinolatların genel biyosentez mekanizması 17
Şekil 2.5 Glukosinolatların hidroliz ürünleri 19
Şekil 2.6 Glukosinolatların sülfataz enzimi yardımı ile desülfo forma getirilmesi 26
Şekil 3.1 Glukosinolatların iki aşamalı ekstraksiyon ve saflaştırma işlemi 37
Şekil 3.2 Troloks standart eğrisi 43
Şekil 3.3 Rutin standart eğrisi 44
Şekil 4.1 Kapari tomurcuklarında (T=0) glukosinolat kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı görünümü 58
Şekil 4.2 Glukokapparin miktarının hesaplanmasına ilişkin kalibrasyon eğrisi 60
Şekil 4.3 Standart glukokapparin ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması 61
Şekil 4.4 %15 salamura ile işlenmiş örneklerde glukokapparin miktarındaki azalma 66
Şekil 4.5 %20 salamura ile işlenmiş örneklerde glukokapparin miktarındaki azalma 66
Şekil 4.6 Kapari tomurcuklarında prosesin başında (A) ve sonunda (B) flavonoid kompozisyonuna ilişkin HPLC kromatogramı 68
Şekil 4.7 Standart rutin (kuersetin-3-rutinozit) ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması 70
Şekil 4.8 Standart kamferol-3-rutinozit ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması 70
Şekil 4.9 Standart kamferol-3-glukozit ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması 71
Şekil 4.10 Standart kamferol ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması 71
Şekil 4.11 Standart kuersetin ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması 72
Şekil 4.12 Rutin (Kuersetin-3-rutinozit) standart eğrisi 73
Şekil 4.13 Kaemferol-3-rutinozit standart eğrisi 73
Şekil 4.14 % 15'lik salamura ile işlenmiş kapari flavonoidlerinin 30°C'de proses sırasındaki değişimleri 76
Şekil 4.15 % 20 salamura ile işlenmiş kapari flavonoidlerinin 10°, 20° ve 30°C'de 90 gün sonunda meydana gelen değişim 79
Şekil 4.16 %15 ve %20'lik salamuralarda 90 gün boyunca depolanan kapari tomurcuklarının antioksidan aktivite değişimleri 83
Şekil 4.17 %15 ve %20'lik salamuralarda 90 gün boyunca depolanan kapari tomurcuklarının toplam fenolik içeriğinin değişimleri 83

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Kapari meyvelerinin bileşim unsurları 4
Çizelge 2.2 Gıdalarda bulunan başlıca glukosinolatların sistematik ve yaygın isimleri. 10
Çizelge 2.3 Brassica sebzelerinin glukosinolat içerikleri(µmolg^{-1} kuru ağırlık) 13
Çizelge 2.4 Orta büyüklükteki (8–13 mm) taze kapari tomurcuklarının glukosinolat kompozisyonu (µmol/g YA) 15
Çizelge 2.5 Glukosinolat parçalanma ürünlerinin duyusal özellikleri 20
Çizelge 3.1 Glukosinolatların HPLC ile analizde uygulanan gradient akış programı 39
Çizelge 3.2 Flavonoidlerin HPLC ile analizde uygulanan gradient akış programı 41
Çizelge 4.1 Kapari tomurcuklarının başlıca fiziksel ve kimyasal özellikleri 49
Çizelge 4.2 %15 tuz içeren salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de pH-titrasyon asitliği değişimi 52
Çizelge 4.3 %20 tuz içeren salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de pH-titrasyon asitliği değişimi 54
Çizelge 4.4 %15'lik salamurada işlenmiş örneklerin 30°C'de depolanması boyunca laktik asit bakterisi (LAB) değişimi 56
Çizelge 4.5 Glukokapparinin kalibrasyon eğrisine ilişkin veriler 59
Çizelge 4.6 %15 konsantrasyondaki salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de glukokapparin içeriğinin değişimi (µmol/g KA) 62
Çizelge 4.7 %20 konsatrasyondaki salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de glukokapparin içeriğinin değişimi (µmol/g KA) 64
Çizelge 4.8 Farklı konsantrasyondaki salamura ve farklı sıcaklıklarda işlem görmüş kapari tomurcuklarında glukokapparinin parçalanmasına ilişkin kinetik veriler 67
Çizelge 4.9 % 15 tuz içeren, 30°C'deki salamurada depolanmış kapari tomurcuklarında flavonoidlerdeki değişim (g/100 g KA) 75
Çizelge 4.10 % 20 tuz içeren, 10°, 20° ve 30°C'deki salamurada depolanmış kapari tomurcuklarında flavonoidlerdeki değişim (g/100 g KA) 78
Çizelge 4.11 %15'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının 30°C'de 90 gün depolama sonunda antioksidan (m*M* TEAK) ve toplam fenolik (TF) içeriklerinin değişimi 81
Çizelge 4.12 %20'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının 10°, 20° ve 30°C'de 90 gün depolanması sonucunda antioksidan (m*M* TEAK) ve toplam fenolik (TF) içeriklerinin değişimi 82
Çizelge 4.13 %15 salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının reflektans renk değerleri 85
Çizelge 4.14 %20 salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının reflektans renk değerleri 86

1. GİRİŞ

Lezzet, bir gıda maddesinin tüketilmesi sırasında tüketici tarafından kabul veya reddedilmesinde ve bir bütün olarak tüm kalitesinin belirlenmesinde en önemli parametrelerden bir tanesidir. Gıda maddesinin satın alınması aşamasında ilk izlenim "görünüş-renk" olmakla beraber, lezzet kriteri tüketicinin beklentisini karşılamadığı durumda o gıda maddesinin bir daha satın alınmaması kararına neden olabilmektedir. İşte bu nedenle lezzet, gıda maddesinin en önemli özelliklerinden biri olarak kabul edilmektedir.

Lezzet; koklama, tatma, dokunma duyuları ile acı, sıcaklık ve hatta ses gibi bir çok faktörün bir arada yer aldığı kompleks duyular toplamıdır (Lawless and Heymann 1998). Gıda maddesinin kokusu, o gıda maddesinin uçucu bileşenlerinin, burun boşluğundaki reseptörler tarafından algılanması ile ortaya çıkmaktadır. Gıdadaki uçucu olmayan lezzet bileşenleri, en az uçucu lezzet bileşenleri kadar önemlidir ve bu bileşenler parçalanarak uçucu bileşenlere dönüşmektedir.

Cruciferous sebzelerinin uçucu olmayan lezzet bileşenlerini oluşturan glukosinolatlar, genellikle *Brassica* (*Cruciferae*) familyasındaki bitkilerde yer alan, kükürt (S) ve azot (N) içeren ikincil bitki metabolitleridir. Bu metabolitlerin yapısında β-D-tiyoglukoz grubu, sülfonlanmış oksim grubu ve ayrıca methionin, triptofan veya fenilalaninden türemiş bir yan zincir söz konusudur. Glukosinolatlar suda çözünebilir, anyonik, uçucu olmayan ve ısıya karşı stabil niteliklerde bileşiklerdir. Enzimatik parçalanmaya uğramamış bu başlangıç bileşenlerinin, doğrudan önemli bir biyolojik aktiviteye sahip olduğuna inanılmamaktadır. Bitki dokusu kesme, doğrama, çiğneme gibi çeşitli işlemlerle parçalandığında veya zedelendiğinde glukosinolatlar, dokuda doğal olarak bulunan endojen mirosinaz (tiyoglukozit glukohidrolaz, EC 3.2.3.1) tarafından hidrolize edilmekte ve bu parçalanma sonucunda; pH değeri, depolama koşulları, sıcaklık ve neme bağlı olarak izotiyosiyanatlar, tiyosiyanatlar, nitriller, oksazolidin-2-tiyonlar, hidroksinitriller, epitiyonitriller gibi aroma bileşenleri oluşmaktadır. Enzimatik yolla meydana gelen bu aroma oluşumu, bu grup sebzelerin karakteristik özelliğidir. Sülfür içeren bileşenlerin lezzet üzerine en önemli etkisi, güçlü ve karakteristik bir aromaya

sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Öyle ki, bu bileşenler "ppb" gibi çok düşük eşik değerlerinde bile algılanabilmektedir. Glukosinolatların aksine parçalanma ürünleri, yağda çözünür nitelikte, uçucu, oldukça reaktif, keskin bir tat ve kokuya sahip olup bazılarının antibakteriyel, antifungal, antiprotozal, nematosidal ve alleopatik etkileri vardır. Bugüne kadar 16 familyadan yaklaşık 450 türde 120 farklı glukosinolat saptanmıştır (Fahey *et al*. 2001). Özellikle *Cruciferae* familyasında yer alan brokoli, brüksel lahanası, beyaz lahana, mor lahana, karnabahar gibi *Brassica* sebzeleri günlük hayatımızda çok sık tükettiğimiz glukosinolat kaynaklarıdır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, *Brassica* sebzelerinin tüketimi ile akciğer, pankreas, kolon, rektum, deri, troid, prostat ve mide kanserine yakalanma riski arasında güçlü ters bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bugün dünyada her üç ölümden birinin nedeninin kanser olduğu ve bu hastalığın beslenme ile arasındaki sıkı ilişki göz önüne alındığında, bu biyoaktif bileşenlerce zengin sebzelerin beslenmedeki önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

Bir Akdeniz bitkisi olan kapari (*Capparis* spp.), ülkemizin hemen hemen her bölgesinde doğal olarak yetişmektedir. Tomurcukların yapısında flavonoid ve glukosinolat gibi beslenme açısından çok önemli birçok biyoaktif bileşen bulunmaktadır. Ülkemizin zengin florasınında yer alan bu bitkinin tomurcukları son zamanlarda çok popüler olmuş ve önemli bir ihracat ürünü haline gelmiştir. Yıllara göre değişmekle birlikte, yaklaşık 10 000 tonluk dünya tomurcuk üretiminde başlıca üretici ve/veya ihracatçı ülkeler, sırasıyla İspanya, Fas ve İtalya'dır (Alvarruz *et al*. 1990). Türkiye ise, 3 645 salamura ve 1 881 ton konserve-dondurulmuş halde olmak üzere toplam 5.526 ton ihracat rakamıyla bu alanda gelir elde eden önemli ülkelerden birisidir (Anonim 2003). Eski çağlardan beri çeşni olarak kullanılan tomurcuklar, yapılarında bulunan glukosinolatlar nedeniyle acı bir lezzete sahiptir. Acı lezzete neden olan bu sülfür bileşikleri, tomurcukların salamuraya işlenmesi ile karakteristik lezzet bileşenlerine dönüşmektedir. Bugüne kadar, bir çok değerli besin ögesini yapısında bulunduran bu tomurcukların işlenmesi sırasında meydana gelen değişimi ortaya koyan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Tarafımızdan yürütülmüş bu çalışmada, kapari tomurcuklarının yapısında bulunan acılıktan sorumlu glukosinolatların ve diğer önemli bir bileşen grubu olan flavonoidlerin proses sırasındaki değişimi araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kapari Bitkisi

Kapari bitkisinin genel özellikleri

Kapari (*Capparis* spp.) *Capparaceae* (önceleri *Cappariaceae*) familyasından, tropik/subtropik kökenli, 350'den fazla çeşidi olan, Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere bütün kıtalarda doğal olarak yetişebilen bir bitkidir (Ek 1). Ülkemizde yetiştiği yörelerde farklı isimlerle anılan kapari (kebere, keper, gebere, kedi tırnağı, karga kavunu, menginik, deve dikeni) kurak ve yarı kurak bölgelerde, taşlık, eğimli ve verimsiz alanlarda bile yetişebilen son derece dayanıklı, fazla bakım gerektirmeyen, eski çağlardan beri çeşitli amaçlarla kullanılan ilginç bir biyolojik zenginliktir (Akgül 1996).

Akdeniz kökenli çok yıllık, çalımsı bir bitki olan kaparinin bugüne kadar Türkiye florasında iki türden (*Capparis spinosa* ve *Capparis ovata*) toplam beş farklı çeşidi (C. *spinosa* L. var *spinosa*, C. *spinosa* L. var *inermis*, C. *ovata* Desf. var. *herbacea*, C. *ovata* Desf. var. *canescens,* C. *ovata* Desf. var. *palaestina*) tespit edilebilmiştir (Davis 1982). İklim istekleri bakımından seçici olmayan C*apparis* çeşitleri Türkiye coğrafyasında Denizli, Çorum, Konya, Mersin, Burdur, Gaziantep ve İzmir gibi birçok ilde doğal olarak yetişmektedir. Kaparinin yaklaşık 30-40 yıl gibi çok uzun bir ekonomik ömrü olup gıda maddesi olarak kullanımının yanı sıra, 40 m derinliklere ulaşabilen kök yapısı nedeniyle bu bitkiden erozyon mücadelesinde de yararlanılmaktadır. Tomurcuk hasatı, coğrafi koşullara bağlı olarak Temmuz-Eylül ayları arasında olup, sadece elle yapılmaktadır (Aktan vd. 1999). Toplanan tomurcuklar boyutlarına göre sınıflandırılmakta ve her sınıf ayrı ayrı isimlendirilmektedir. Tomurcuk çaplarına göre 7 mm'den küçük olanlar Non Pareil, 7–8 mm Surfine, 8–9 mm Capucine, 9–11mm Capote, 11–13 mm Fine, 13–14 mm Grosse ve 14 mm'den büyük olanlar Horse Calibre şeklinde adlandırılmaktadır. Non Pareil olarak adlandırılan en küçük tomurcuklar, hem bileşim hem de tekstür açısından en değerli sınıfı oluşturmaktadır (Barbera 1991, Aktan vd. 1999).

Türkiye'de yetişen *Capparis spinosa* ve *Capparis ovata* çeşidi kapari tomurcuklarına ait genel bileşim unsurları Özcan (1996) tarafından belirlenmiş olup Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Kapari meyvelerinin bileşim unsurları* (Özcan 1996)

Bileşim öğesi	Bitki türü	
	C. spinosa	*C. ovata*
Nem (%)	82.70	82.11
Ham protein (%)	19.33	23.67
Ham kül (%)	6.31	6.24
Ham yağ (%)	4.83	3.74
İndirgen şeker (%)	5.52	6.43
pH değeri	4.32	4.28
Ham selüloz (%)	18.09	14.39
Nişasta (%)	3.54	3.26
Toplam karotenoid (mg/kg)	6.67	8.43

**Bileşim unsurları indirgen şeker hariç kuru madde üzerinden verilmiştir.*

Rodrigo *et al*. (1992), *Comun* ve *Mallorquina* çeşidi ham kapari tomurcuklarının kompozisyonu üzerine yaptıkları çalışmada ortalama %79 nem, %1.6 kül, %5.8 protein, %1.6 yağ ile %5.4 oranında ham selüloz, 871 mg/kg Ca, 636 mg/kg Mg, 542 mg/100 g K, 226 mg/kg Na, 13 mg/kg Fe ve 21 mg/100 g P saptamışlardır. Saptanan bu değerlerin tomurcuk çeşidi, büyüklük ve hasat zamanına göre değiştiği görülmüştür. *Comun* çeşidi büyük kapari tomurcuklarının (>8 mm) nem içeriklerinin, küçük tomurcuklara (<8 mm) kıyasla daha fazla olduğu, buna karşın kül miktarının daha az olduğu ve hasat zamanları arasında bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Protein içeriğinin küçük tomurcuklarda (<8 mm) %20-40 oranında daha yüksek olmakla beraber, Ağustos ayında hasat edilen tomurcukların protein miktarının Haziran ayında hasat edilen tomurcuklara kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Buna karşın ham selüloz oranının büyük tomurcuklarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Her iki kapari çeşidine ait küçük tomurcukların, büyük tomurcuklardan daha fazla Ca, Mg ve P içeriğine sahip olduğu ve *Mallorquina* çeşidi kapari tomurcuklarında *Comun* çeşidi kapari tomurcuklarına kıyasla daha fazla miktarda Ca, Mg ve P saptanmıştır.

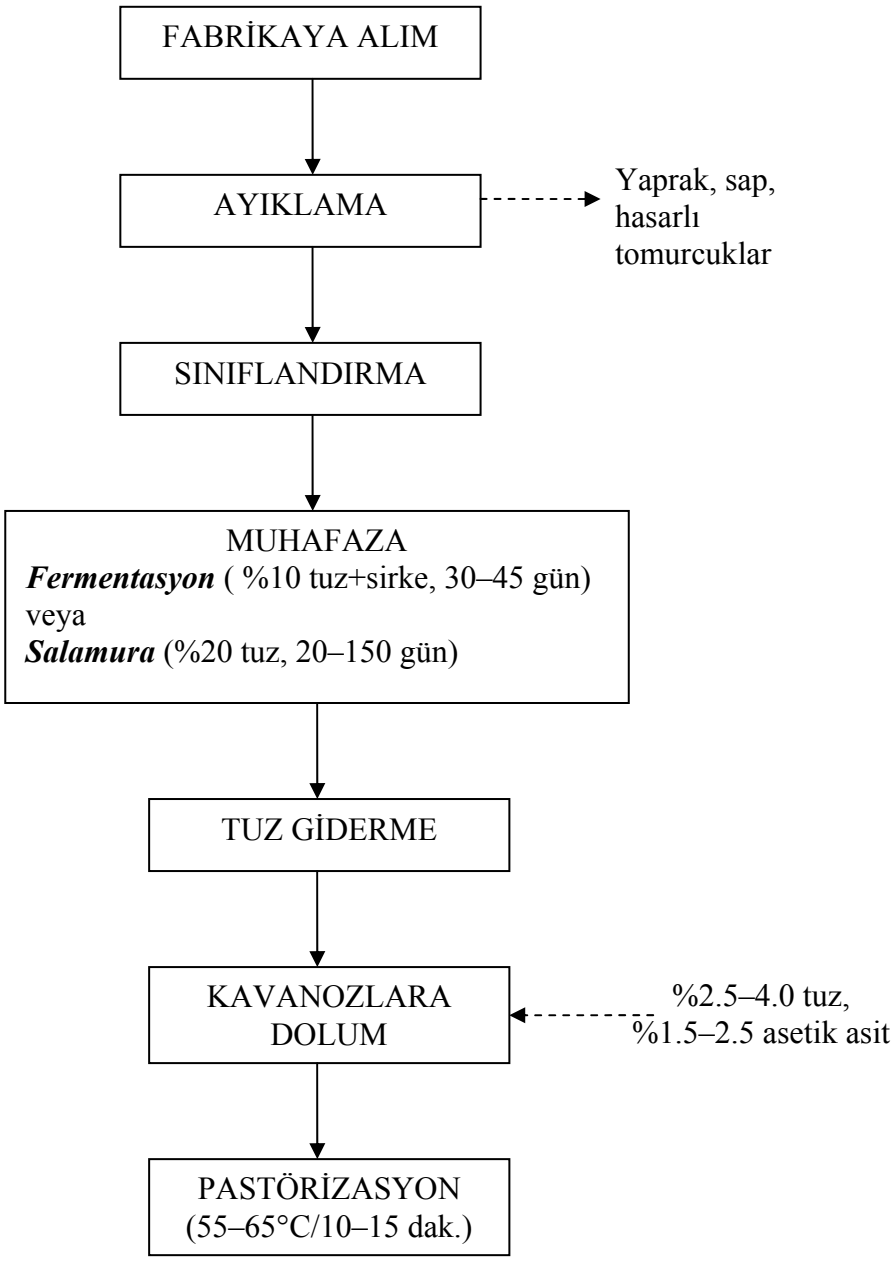
Kapari tomurcuklarının işlenmesi

Dünyanın hemen her kıtasında yetişen bu bitkiden tür ve çeşidine göre değişik amaçlarla yararlanılmaktadır. Nitekim işlenmiş kapari tomurcukları salamuralar/turşular, soğuk ve sıcak soslar, peynirler, dondurulmuş ürünler, vejetaryan gıdalar, tüketime hazır ürünler, mezeler, salatalar, et ve su ürünleri, yumurta ve fırın ürünleri gibi çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır. Eczacılıkta, kozmetik preparatlarda ve insektisit üretiminde kapari bitkisinin çeşitli kısımlarından yararlanılmaktadır. Ayrıca süs bitkisi şeklinde, erozyon kontrolünde ve hayvan beslenmesinde de kullanıldığına dair bilgilere rastlanılmaktadır (Akgül 1996).

Ülkemizde köylüler tarafından toplanan kapari tomurcukları, köy ve ilçedeki bakkallara veya kapari toplayan bayi ve tüccarlara iletilmektedir. Hava alabilir nitelikteki bez torbalarda toplanan tomurcuklar, bekletilmeksizin ya %20 tuz içeren salamuraya alınmakta ya da kuru tuzlama şeklinde bir ön işleme tabi tutulmaktadır. Fabrikaya ulaşan tomurcukların prosesine ilişkin akış şeması Şekil 2.1'de verilmiştir.

Toplanan kapari tomurcuklarının, bileşiminde yer alan glukosinolatlar nedeniyle ham halde tüketilmesi olanaksızdır. Bu amaçla farklı oranlarda tuz içeren salamuralarda laktik asit fermentasyonuna bırakılarak turşuya işlenmekte veya tuzla muhafaza edilmekte ve bu sırada zamanla tipik flavordan sorumlu bileşenler oluşmaktadır. Bugüne kadar kapari tomurcuklarının işlenmesine yönelik aşağıda değinilmiş bulunan birçok araştırma gerçekleştirilmiştir.

Alvarruiz *et al*. (1990) tarafından yapılan çalışmada, 8–13 mm çapındaki kapari tomurcukları %5, %7, %10, %15 ve %20 tuz içeren salamuralarda 30°C'de 90 gün ön işleme tabi tutulmuştur. Bu süre boyunca renk, titrasyon asitliği, pH değeri, indirgen şeker, laktik asit bakterisi (LAB), koliform, maya ve tortu oluşumu incelenmiştir. %7 ve daha yüksek tuz içeren salamuralarla işlenen örneklerde ilk 10 gün içerisinde laktik asit bakterisi sayısının hızla azaldığı saptanmıştır. Aynı şekilde, %7 ve daha yüksek tuz içeren salamuralarla işlenen örneklerde ilk 10 gün içerisinde titrasyon asitliği laktik asit cinsinden %0.25 değerine ulaşırken, %5 tuz içeren salamura ile işlenen örneklerde %0.45 değerine ulaştığı ve 90 günlük depolama boyunca bu değerin değişmediği gözlenlenmiştir.



Şekil 2.1 Kapari işleme akış şeması (Akgül 1996, Aktan vd. 1999)

%7 ve daha yüksek tuz içeren salamuralarda indirgen şeker içeriği tüm depolama boyunca değişmezken, %5 tuz içeren salamuralarda %1'den %0.8'e indiği ve çok az bir düşüş olduğu saptanmıştır. Kapari tomurcuklarının parlak yeşil renklerinin, işleme ile beraber sarımsı bir renge dönüştüğü ve bu dönüşümün düşük tuz konsantrasyonlarında daha hızlı gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca, ön işlem görmüş kapari tomurcuklarının ambalajlanma koşullarının (%3–10 tuz, %0–1.5 asetik asit ve

pastörizasyon) depolama stabilitesi üzerine etkisi de incelenmiş, %10 ve daha yüksek tuz içeren salamura ile depolanan örneklerin, 27 ay boyunca tipik lezzet ve renge sahip oldukları saptanmıştır. Daha düşük tuz konsantrasyonlarında istenmeyen tat ve kokunun oluştuğu ve tekstürün yumuşadığı gözlenmiştir. Son üründe uygulanan 80°C'de 15 dakikalık pastörizasyon işleminin bozulmayı önlediği, pastörize edilmeyen örneklerde daha fazla tuz (%6) ve asit (%1) gerektirdiği, aksi takdirde mikrobiyel gelişim sonucu sarı renkli sediment oluştuğu saptanmıştır. Benzer bir çalışmada, farklı tuz içeren salamuralarda (%0, %4, %7 ve %10) ve %0.35 sodyum asetat tamponu kullanılarak kontrollü fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Tamponlanmış salamura ile gerçekleştirilmiş denemelerde daha hızlı bir fermentasyon ve daha yüksek asitlik değerlerine ulaşılmıştır. %7 ve %10 tuz içeren salamuralarla yapılan fermentasyonlarda mikrobiyel gelişimin daha yavaş olduğu saptanmıştır. İşlenmiş son ürünün depolanmasında özellikle tekstürün korunması açısından %10 tuz konsantrasyonun yeterli olduğu sonucuna varılmıştır (Sanchez *et al*. 1992).

Kapari tomurcukları üzerinde, ülkemizde de bazı çalışmalar yapılmıştır. Nitekim bir araştırmada, Konya ilinden temin edilen *Capparis ovata* Desf. var. *canescens,* ve Mersin ilinden temin edilen *Capparis spinosa* L. var *spinosa* çeşidi kapari tomurcukları $x \leq 8$ mm, 8–13 mm ve $x > 13$ mm olacak şekilde boylama işlemine tabi tutulmuş ve bu tomurcukların fiziksel (nem, pH) ve kimyasal özellikleri (ham protein, ham selüloz, ham yağ, ham kül, asitte çözünmeyen kül, indirgen şeker, C vitamini, toplam karotenoid, nişasta, ham enerji, suda çözünür ekstrakt, alkolde çözünür ekstrakt, eterde çözünür ekstrakt ve mineral madde kompozisyonu) belirlenmiştir (Özcan 1996). Her iki çeşidin orta büyüklükteki tomurcukları, %5, %10, %15 ve %20 tuz içeren salamuraya işlenmiştir. Fermentasyon süresince tuz konsantrasyonunun artmasına paralel olarak LAB sayısının zamanla azaldığı, yalnızca %5 tuz içeren salamuralı örneklerde LAB sayısının arttığı saptanmıştır. Tomurcukların rengi, lezzeti, salamuranın asitliği, pH değeri LAB faliyeti göz önüne alarak en uygun fermentasyon süresinin 40–50 gün arasında olduğu belirlenmiştir. Salamuraya işlemede renk, bileşen ve tipik lezzet açısından *C. ovata* tomurcuklarının, tekstür ve tortu oluşumunun az olması bakımından ise *C. spinosa* tomurcuklarının daha üstün niteliklere sahip olduğu yargısına varılmıştır. Hasat zamanı ve tomurcuk büyüklüğünün, kapari tomurcuklarının kompozisyonu üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Özellikle *C. ovatanın* küçük tomurcuklarının

C. spinosa'ya göre sertlik, ham yağ, ham enerji, askorbik asit, indirgen şeker, toplam karotenoid, nişasta, P, Cu, Fe ve Mn açısından daha avantajlı olduğu belirlenmiştir (Özcan ve Akgül 1998).

Kalkan vd. (1999), *Capparis spinosa* L. var *spinosa* çeşidi kapari tomurcuklarını %10, %12, %14 ve %16 tuz içeren salamuralarda hem doğal fermentasyon hem de saf kültür (*L. plantarum*) kullanarak kontrollü fermentasyon tekniği ile işlemişlerdir. Saf kültür kullanılarak gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda daha fazla ve hızlı bir asitlik gelişimi olduğunu ve dolayısıyla daha iyi bir ürün elde edilebileceğini saptamışlardır.

2.2 Kapari Bitkisi ve Tomurcuklarında Biyoaktif Bileşenler

Bir Akdeniz bitkisi olan kaparinin çiçek tomurcukları, eski çağlardan beri çeşni olarak kullanılagelmektedir (Rodrigo *et al*. 1992). Kapari, tek başına işlenmeden olduğu gibi tüketilebilen bir gıda maddesi değildir; çoğunlukla diğer gıdalar veya ürünlerin üretimine girerek lezzete katkıda bulunur. İşlenmemiş tomurcukların acı lezzeti, glukozitlerin fermentasyonu sonucu oluşan sülfür içeren bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Biberimsi hardala benzeyen bu güçlü flavorun nedeni, dokunun parçalanması ile serbest hale geçen hardal yağı glikoziti olan glukokapparin'dir (Brevard *et al*. 1992).

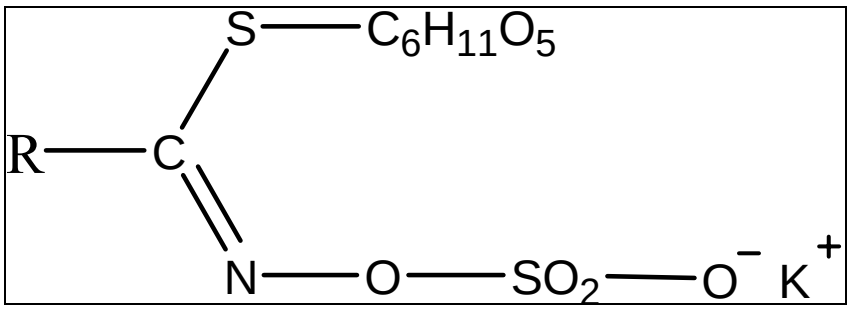
Farklı kapari tür ve çeşitlerinin kök, yaprak, tomurcuk ve tohum gibi değişik kısımlarında alkaloid, flavonoid, glukosinolat, lipit, polifenol gibi farklı grup bileşiklerin varlığı saptanmıştır (Akgül 1996). Özellikle glukosinolatlar ve flavonoidler bitkinin tıbbi ve aromatik etkilerini sağlayan en önemli iki bileşik grubunu oluşturmaktadır. Kapari tomurcuklarındaki doğal aktif bileşik gruplarından olan glukosinolatların ana kaynağı, *Cruciferae* familyasına ait brokoli, kolza tohumu, brüksel lahanası, lahana, karnabahar, tere, turp gibi sebzelerdir. Bugün 100'den fazla glukosinat bilinmektedir (Matthaus and Luftmann 2000). Bu bileşiklerin toksik olmadığı fakat, parçalanma ürünlerinin hayvan beslenmesi ve üremesinde bazı olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu parçalanma ürünlerinin guatr hastalığına ve çeşitli organ ve sistemlerde anormalitelere neden olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan bu familyada yer

alan sebzelerin yapısındaki glukosinatların antikarsinojenik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Mawson *et al*. 1994).

2.2.1 Glukosinolatlar

Glukosinolatların genel yapıları ve adlandırılmaları

Ekonomik öneme sahip *Brassica* sebzelerinin hemen hemen hepsinde bulunan glukosinolatların temel yapısında, β-D-tiyoglukoz grubu, sülfonlanmış oksim (–C=NOH) grubu ve metionin, triptofan, feninalanin veya dallanmış zincirli amino asitlerden türemiş değişken bir yan zincir bulunmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Glukosinolatların genel yapısı

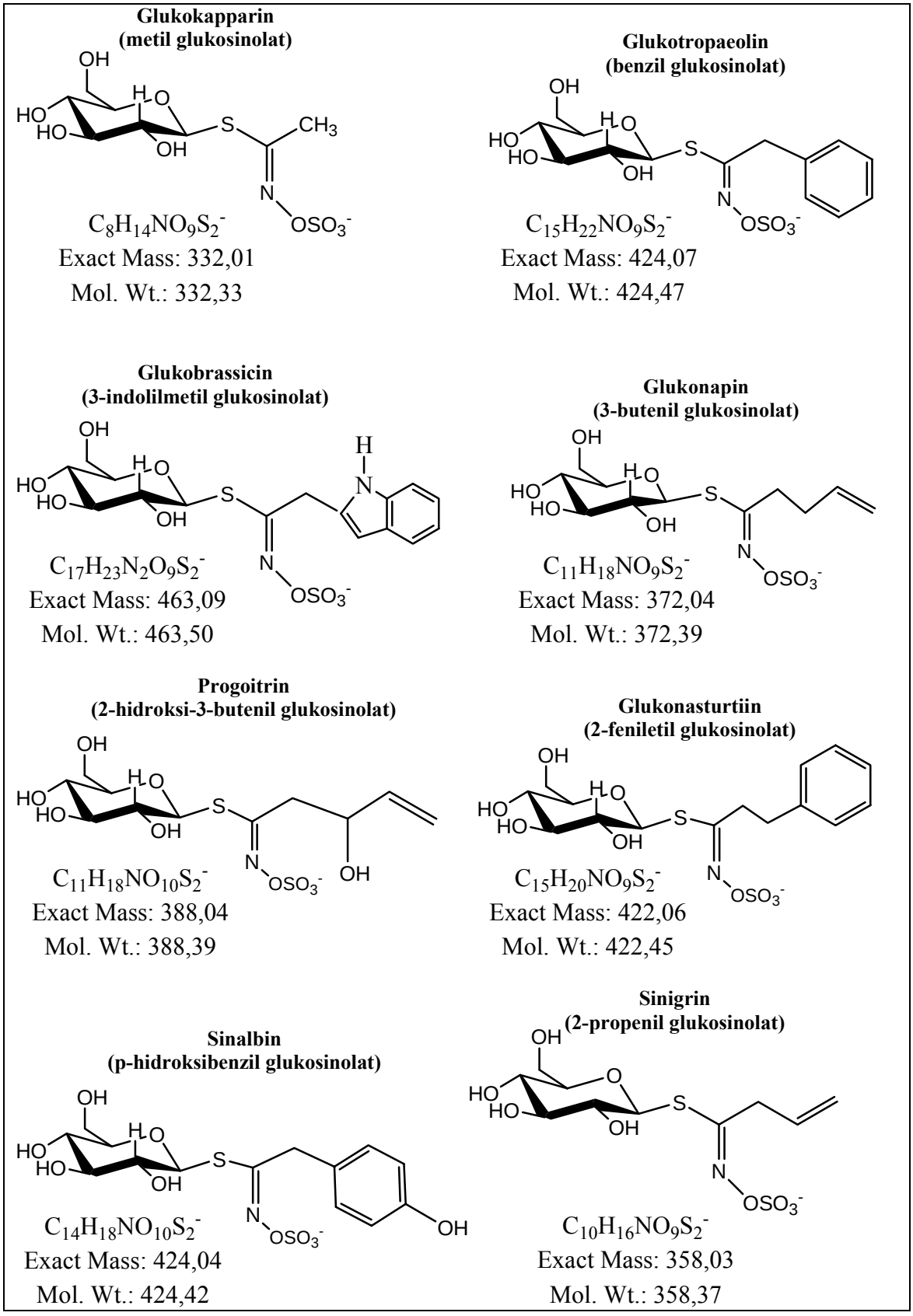
Burada R ile simgelenen yan zincir, oldukça değişken yapıdaki alifatik, aromatik veya heterosiklik yapıdaki amino asitten türemiştir. Yan zincirdeki küçük bir değişiklik, farklı glukosinolatların oluşumuna neden olmaktadır. Bu değişiklik sonucu bugün 100'den fazla üyesi olan büyük bir bileşik grubu oluşmuştur. Glukosinolatların yapısında bulunan sülfat grubu ise, bu bileşene güçlü asidik özellik kazandırmakta ve bitki dokularında bulunan K^+ katyonu tarafından dengelenmiş halde bulunmaktadır (Fahey *et al.* 2001).

Glukosinolatlar önceleri klasik yaygın isimleri ile adlandırılmalarına karşın daha sonraları, sayının artması ile bu terminolojiden vazgeçilmiştir. Yaygın isimlendirmede 'gluko' ön ekine izole edilen bitkinin botanik tür isimleri eklenerek isimlendirme benimsenmektedir (glukoiberin *İberis amara*, glukoerusin *Eruca sativa* gibi). Fakat her

geçen gün glukosinolatların sayısının artması ile bu terminolojinin kullanılması pek mümkün olmamıştır. Daha sonraları terk edilen bu terminoloji yerine, glukosinolat kelimesine aglikon yapının kimyasal adı, ön ek olarak kullanılması önerilmiştir. Bugün konu ile ilgili birçok araştırmada glukosinolatlar, hem yaygın hem de sistematik isimleri ile birlikte kullanıldığı görülmektedir. Gıdalarda bulunan glukosinolatların yaygın ve yan zincirlere göre sistematik isimleri Çizelge 2.2'de, kimyasal formülleri Şekil 2.3'de toplu halde verilmiştir.

Çizelge 2.2 Gıdalarda bulunan başlıca glukosinolatların sistematik ve yaygın isimleri (Fenwick *et al.* 1983; Fahey *et al*. 2001)

Sistematik isim/yan zincir	Yaygın isim
Metil glukosinolat (CH_3–)	Glukokapparin
2-propenil glukosinolat (CH_2=CH–CH_2–)	Sinigrin
3-butenil glukosinolat (CH_2=CH-CH_2–CH_2–)	Glukonapin
4-pentenil glukosinolat (CH_2=CH–CH_2–CH_2–CH_2–)	Glukobrassikanapin
3-metiltiyopropil glukosinolat	Glukoiberverin
4-metiltiyobütil glukosinolat (CH_3–S–CH_2–CH_2–CH_2–CH_2–)	Glukoerusin
3-metilsülfinilpropil glukosinolat (CH_3–SO–CH_2–CH_2–)	Glukoiberin
4-metilsülfinilbütil glukosinolat	Glukorafanin
Benzil glukosinolat	Glukotropaeolin
p-hidroksibenzil glukosinolat	Sinalbin
3-indolmetil glukosinolat	Glukobrassicin
2-hidroksi-3-butenil glukosinolat (CH_2=CH–CHOH–CH_2–)	Progoitrin



Şekil 2.3 Gıdalarda bulunan bazı glukosinolatların kimyasal formülleri ve molekül ağırlıkları

Glukosinolat içeren başlıca bitkiler

Glukosinolatların bitkilerdeki varlığı, dikotiledon (çift çenekli) angiospermlerin belirli familyaları ile sınırlıdır. Bu bileşenler 15 farklı familyada saptanmasına karşın *Capparaceae*, *Cruciferae*, *Moringaceae*, *Resedaceae* ve *Tovariaceae* familyalarında baskındır. Bu familyalar içerisinde de *Cruciferae* (haçlı çiçekliler) familyasında yer alan lahana, brüksel lahanası, brokoli, tere, turp, karnabahar, kolza, hardal ve şalgam ekonomik öneme sahip bitkilerdir. *Cruciferae* familyasının tüm üyelerinde glukosinolat varlığı, bu familyanın sınıflandırılmasında önemli bir kemotaksonomik kriter olarak kullanılmasına neden olmuştur. Ayrıca bu familya dışında, glukosinolatların ara sıra görüldüğü papaya (*Carica papaya* L.) gibi familyalar da söz konusu olmaktadır. Çizelge 2.3'de başlıca *Brassica* sebzelerinin glukosinolat kompozisyonu ve toplam miktarları verilmiştir (Mithen *et al*. 2000).

Glukosinolatların bitkilerin değişik kısımlarındaki dağılımı belirgin bir şekilde farklı olup, en çok tohumda daha sonra kök, yaprak ve saplarda saptanmıştır. Toplam glukosinolat içeriği ve kompozisyonu, bitkinin incelenen kısmına göre değişmektedir. *Brassica* sebzelerinin toplam glukosinolat içeriği 500-2000 μg/g aralığında bulunmakta ve bu değerler çeşit, yetiştirme koşulları, iklim ve tarımsal uygulamalara göre değişebilmektedir (Fenwick *et al*. 1983).

Kolza tohumu, %40 gibi yüksek yağ içeriği ile dünyada en önemli yağlı tohumlardan birisi olmasının yanında, protein ve amino asit kompozisyonu ile de çok önemli bir yem kaynağıdır. Ancak, yapısında bulunan glukosinolatlar yem bitkisi olarak kullanımını sınırlamaktadır. 1970'li yıllarda düşük erusik asit ve glukosinolat içeriğine sahip yeni kültürlerin geliştirilmesi ile bugün Kanola (Canola-Canadian oil) ismi ile yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Toksik bileşikler olmamasına karşın, glukosinolatların hidrolizi sonucu oluşan ürünler, hayvanların gelişimi, üremesi, iç organları üzerinde anormalitelere neden olmaktadır (Fenwick *et al*. 1983, Matthaus and Fiebig 1996, Fahey *et al.* 2001). Bu nedenle, 18 μmol/g'den düşük glukosinolat içeriğine sahip yeni çeşitler geliştirilmiştir (Szmigielska *et al.* 2000).

Çizelge 2.3 Brassica sebzelerinin glukosinolat içerikleri (μmol g^{-1} KA) (Mithen *et al*. 2000)

	Alifatik/aromatik glukosinolatlar										İndolil glukosinolatlar					
Sebze	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	Toplam (1-9)	**10**	**11**	**12**	**13**	Toplam (10-13)	Toplam (1-13)
Karnabahar	0.2	-	0.2	-	0.3	-	-	-	-	0.7	0.1	0.7	0.2	0.1	1.1	1.8
Brüksel lahanası	3.1	7.6	8.2	2.1	0.3	7.0	0.3	-	-	28.3	1.2	4.5	0.9	-	6.6	34.9
Savoy lahanası	4.3	0.3	4.3	0.4	0.3	0.4	-	-	-	10.0	0.4	2.4	1.8	0.1	4.7	14.7
Brokkoli	0.5	6.2	-	5.9	0.3	0.6	-	-	-	13.5	-	2.1	0.2	0.9	3.2	16.7
Mor lahana	1.6	1.2	2.7	0.3	0.1	0.4	-	-	-	6.2	0.1	3.8	0.3	-	4.2	10.4
Beyaz lahana	6.8	0.2	4.2	0.1	0.2	-	-	-	-	11.5	-	3.4	0.4	0.1	3.9	15.4
Çin lahanası	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	0.5	-	1.3	1.5	0.1	2.9	3.4
Turp	-	0.2	-	-	0.2	-	-	4.9	0.7	6.0	0.2	0.3	0.5	-	1.0	7.0
Sarı şalgam	-	2.3	-	-	0.7	-	2.9	-	0.5	6.4	0.2	0.9	0.3	0.9	2.3	8.7

1: glukoiberin, **2**: progoitrin, **3**: sinigrin, **4**: glukoalisin, **5**: glukorafanin, **6**: glukonapin, **7**: glukosturtiin, **8**: 4-metiltiyobutenil glukosinolat, **9**:tanımlanamayan, **10**: 4-hidroksiglukobrassicin, **11**: glukobrassicin, **12**: 4-metoksiglukobrassicin, **13**: neoglukobrassicin.

Kapari glukosinolatları üzerine ilk çalışmalar 1960'lı yıllarda başlamış ve bugün modern analitik teknikler sayesinde bu bileşik grubu tüm detayları ile ortaya konmuştur. Kjaer and Thomsen (1963), farklı kapari çeşitlerinin yaprak, kök ve tohumlarında kağıt kromatografisi tekniği ile kalitatif olarak glukokapparin varlığını tespit etmişlerdir. Gmelin and Kjaer (1970) çalışmalarında, Kolombiya'da yetişen dört çeşit kapari bitkisi yapraklarında kağıt kromatografisi tekniği ile glukosinolat analizi yapmışlar ve başat glukosinolatın glukokapparin (metil glukosinolat) olduğunu saptamışlardır.

Matthaus and Özcan (2002) tarafından yapılan araştırmada, Türkiye'de yetişen 2 farklı kapari çeşidinin (*Capparis ovata* Desf. var. *canescens, Capparis spinosa* L. var *spinosa*) herhangi bir işlem uygulanmadan önceki glukosinolatları incelenmiştir. Bu çalışmada önce kapari örneklerinde enzimatik olarak sülfat grubu yapıdan uzaklaştırılmış, daha sonra ters faz (reverse phase) HPLC ile desulfoglukosinolat formuna dönüştürülmüş bileşenler elue edilmiştir. Burada, ISO (EC Standard method, 1992) tarafından önerilen yöntem kullanılmış ve tanımlamada referans kolza tohumları (BCRRM 367) kullanılarak işlenmemiş kapari tomurcuklarında 12 farklı glukosinolat tanımlanmış ve bunun % 90'ını glukokapparinin oluşturduğu saptanmıştır (Çizelge 2.4). Alkil (R) grubuna bağlı olarak, kapari tomurcuklarında belirlenmiş sinigrin, glukoiberin, glukobrassicin gibi diğer glukosinolatların bitkinin tür ve kısımlarına göre farklılaştığı belirlenmiştir. *C. ovata* Desf. var. *canescens*'in orta büyüklükteki tomurcuklarında 22.08 µmol/g düzeyinde glukokapparin belirlenirken, *C. spinosa* L. var *spinosa*'in orta büyüklükteki tomurcuklarında 10.75 µmol/g düzeyinde glukokapparin tespit edilmiştir. Ayrıca, tomurcuk boyutu küçüldükçe glukokapparin içeriğinin arttığı belirlenmiştir. Aynı araştırıcılar, kapari tohum yağlarının kompozisyonları üzerine yaptıkları diğer bir çalışmada ise, elde ettikleri tohum yağlarının yağ asidi, tokoferol, sterol ve glukosinolat profillerini saptamışlardır. *Capparis ovata* çeşiti tohumların 34.5–84.608 µmol/g KA, *Capparis spinosa* tohumların ise 42.6–88.9 µmol/g KA düzeyinde toplam glukosinolat içeriğine sahip olduklarını saptamışlar ve glukosinolat profilinin %95'inden fazlasını glukokapparinin oluşturduğunu belirlemişlerdir (Matthaus and Özcan 2005).

Çizelge 2.4 Orta büyüklükteki (8–13 mm) taze kapari tomurcuklarının glukosinolat kompozisyonu (μmol/g YA) (Matthaus and Özcan 2002)

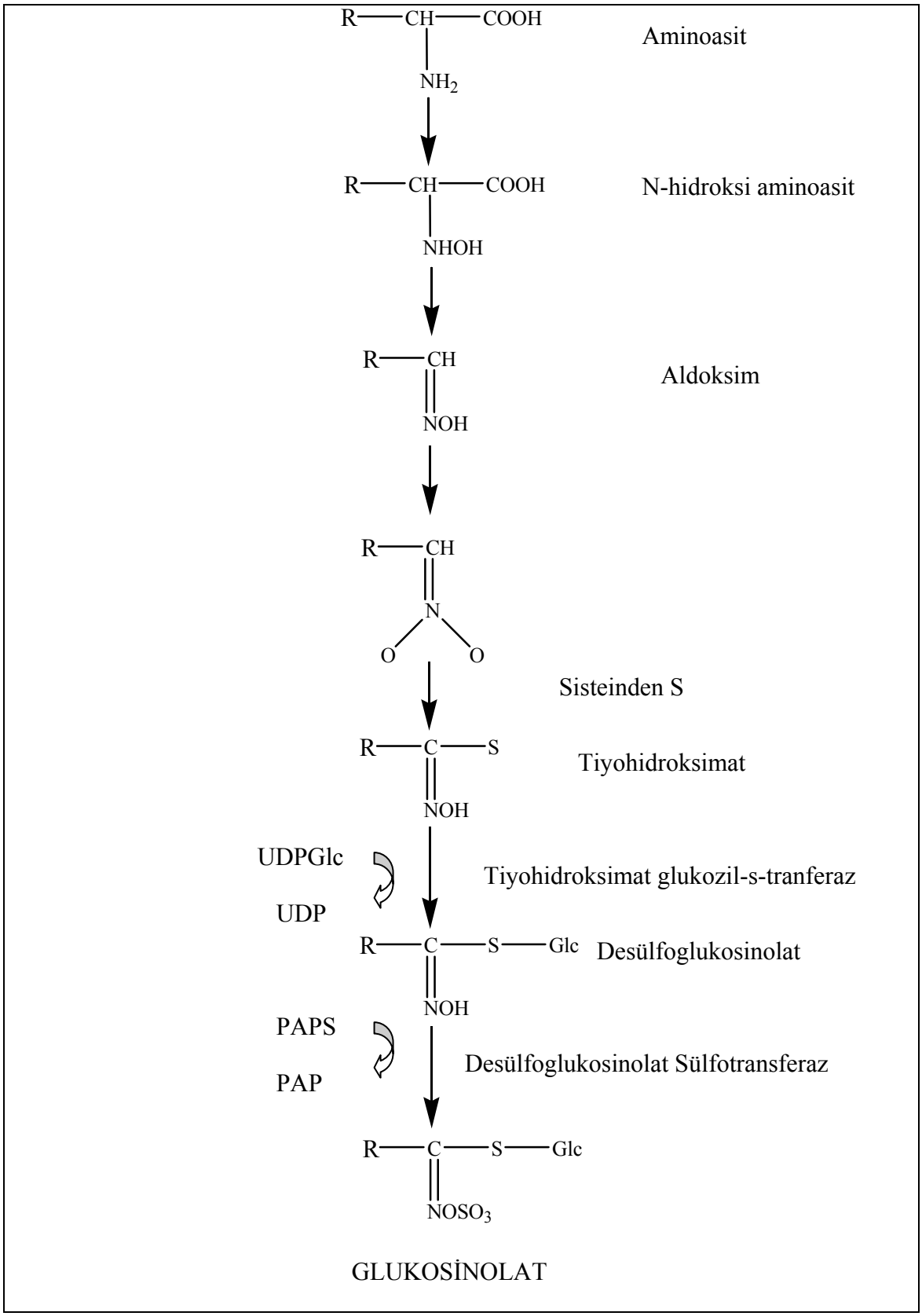
Yaygın ismi	**Radikal (R)**	***C. spinosa* L. var *spinosa***	***C. ovata* Desf. var. *canescens***
Glukokapparin	Metil	10.75	22.08
Glukoiberin	3-metilsülfinilpropil	0.19	0.53
Progoitrin	(2R)-2-hidroksibut-3-enyl	0.21	0.44
Epiprogoitrin	(2S)-2-hidroksibut-3-enyl allil	0.22	1.44
Sinigrin	Allil	0.27	0.00
Glukonapoleiferin	(2R)-2-hidroksipent-4-enyl	0.46	0.80
Glukoalisin	5-metilsülfinilpentil	0.41	0.16
Glukonapin	But-3-enyl	0.25	0.26
4-hidroksiglukobrassicin	4-hidroksi-3-metil	0.07	0.03
Glukobrassicanapin	Pent-4-enyl	0.27	0.15
Glukobrassicin	İndol-3-metil	0.08	0.10
Glukonasturtiin	Phenethyl	0.14	0.36
Toplam		13.29	26.34

Cruciferous sebzeleri, aromatik ve alifatik izotiyosiyanatları oldukça yüksek miktarda içerdiklerinden son zamanlarda popüler hale gelmiştir. Bunlardan brokolide bulunan sülforafan [1-izotiyosiyano-4-(metilsülfünil)-butan], metilsülfünil alkil glukosinolatın (glukorafaninin) enzim veya asit hidrolizi ile oluşmaktadır (Kore *et al*. 1993). Sülforafanın kimyasal koruyucu etkisinin faz II enzimlerini indüklemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu enzimlerin insan organizmasında detoksifikasyon işleminden sorumlu en önemli enzim grubu olduğu bilinmektedir. Sülforofanın hem hayvanlarda *in vivo*, hem de kültür hücrelerinde *in vitro* olarak çeşitli deneysel modellerde çok sayıda tümör oluşumunu inhibe ettiği görülmüştür. Berteli *et al.* (1998) brokoli ile yaptıkları çalışmada, filiz, yaprak ve saplarda sulforafan miktarlarını tespit etmişlerdir. Solvent ekstraksiyonu ile elde ettikleri ekstraktları katı faz ekstraksiyonuna

(SPE) tabi tutarak saflaştırmışlar ve daha sonra RP-HPLC analiz etmişlerdir. En yüksek sülforafan miktarının yaklaşık 110 µg/g düzeyi ile yapraklarda olduğunu saptamışlardır. Glukosinolatların kişi başına ortalama tüketim miktarı Kanada'da 16 mg/gün, İngiltere'de 30 mg/gün ve Japonya'da 112 mg/gün olduğu bildirilmiştir (Troyer *et al*. 2001).

Glukosinolatların biyosentezi

Yapılan çalışmalarda glukosinolatların amino asitlerden sentezlendiği saptanmış ve indol glukosinolatlar hariç yaygın bir biyosentez yolu önerilmiştir (Şekil 2.4). Biyosentezin ilk basamağı aminoasitlerin oksime dönüşmesidir. Yapılan çalışmalarda farklı amino asitlerin dönüşümü sırasında farklı enzimlerin rol aldığı ortaya konmuştur. Burada tirozin ve fenilalaninin ilgili oksimlere dönüşümünden 'Sitokrom P_{450} monoksigenaz' enziminin sorumlu olduğu belirlenmiştir. Glukosinolat sentezinde oksim ve tiyohidroksimat arası biyosentez basamağı tam olarak açıklanamamıştır. Bu basamakta oksimin, bir aci-nitro bileşiğe okside olduğu ve daha sonra da glutatyon-s-transferaz enzimi ile katalizlenerek tiyol vericisi olarak sistein ile konjugat oluşturduğu düşünülmektedir. Oluşan tiyohidroksimat (UDPG) tiyohidroksimat glukoziltransferaz enzimi ile glukozlanarak desülfoglukosinolata dönüşmektedir. Bu bileşen de en son olarak PAPS (3-fosfoadenozin-5-fosfosülfat) desülfoglukosinolat sülfotransferaz enzimi ile sülfatlanarak glukosinolatların biyosentezi yolu tamamlanmaktadır (Matsuo *et al*. 1972, Underhill and Wetter 1973, Fenwick *et al*. 1983).

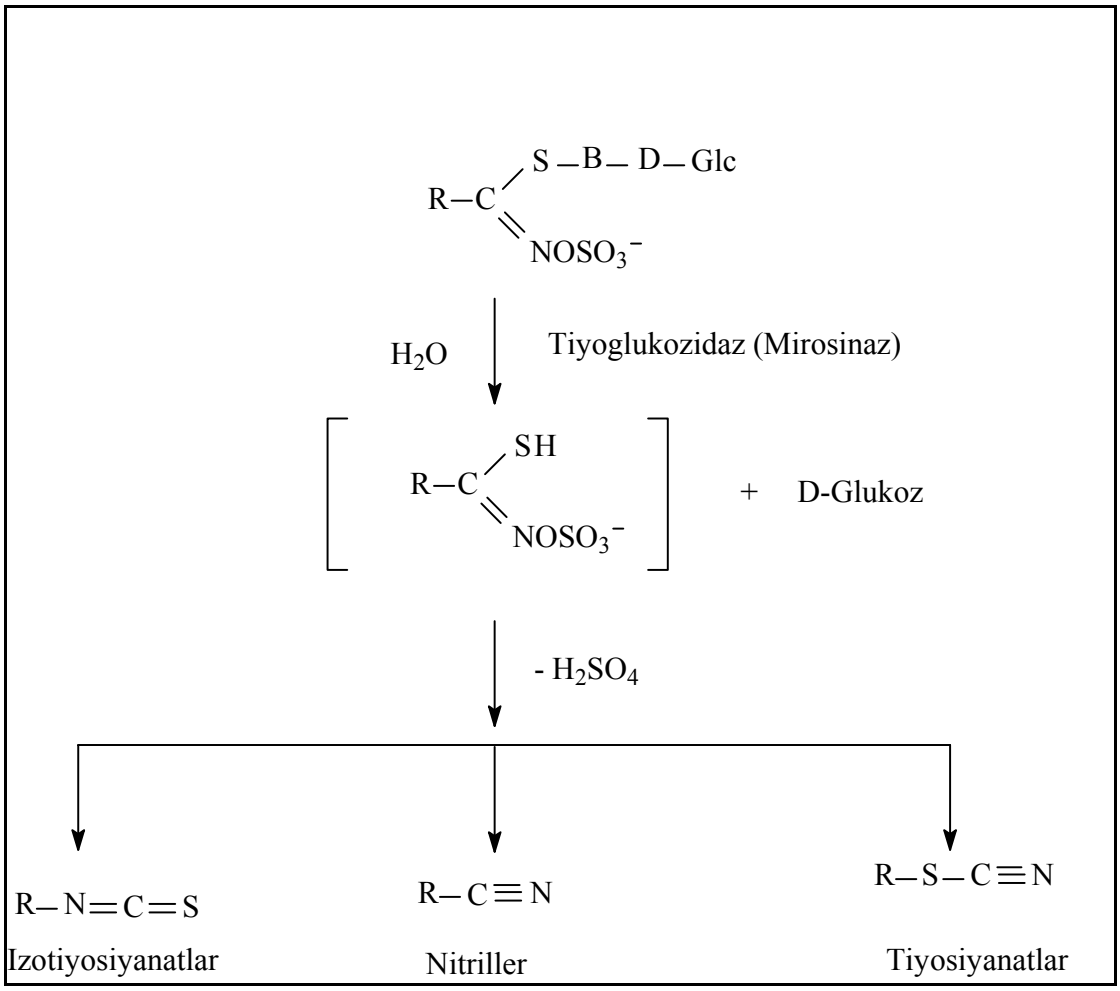


Şekil 2.4 Glukosinolatların genel biyosentez mekanizması (Halkier and Du 1997)

Glukosinolatların hidrolizi

Mirosinaz (tiyoglukohidrolazlar, EC 3.2.3.1), glukosinolatların hidrolitik parçalanmasından sorumlu enzimdir ve mirosin olarak adlandırılan özelleşmiş bitki hücrelerinin vakuollerinde lokalize olmuştur. Bu enzimin mirosin hücreleri tarafından salgılanabileceği gibi, enterik bakteriler veya funguslar tarafından da üretilebileceği saptanmıştır. Glukosinolatlar, doku parçalandığı zaman bitkinin bünyesinde doğal olarak bulunan mirosinaz enziminin etkisiyle özgün aroma ve lezzetten sorumlu bileşiklere dönüşmektedir. Bu bileşiklerin tipik hardal yağı diye nitelendirilen izotiyosiyanatlar, tiyosiyanatlar, nitriller ile oksazolidin-2-tiyonlar, hidroksinitriller, epitiyonitriller olduğu belirlenmiştir. Bitki dokusu zedelendiğinde veya glukozinolat içeren tohuma su eklendiğinde, mirosinazlar tiyoglukozidik bağın hidrolitik parçalanmasını katalize etmekte ve sonuçta D-glukoz ve aglikon yapı oluşmaktadır. Aglikon kısım enzimatik olmayan yolla yeniden düzenlenerek sülfatın ayrılması sonucu olası birkaç üründen birine dönüşmektedir (Şekil 2.5). İzotiyosiyanatlar, tiyosiyanatlar, nitriller ve oksazolodintiyonlar ortam pH'sına, depolama koşullarına, sıcaklık ve neme bağlı olarak oluşmaktadır (Matthaus and Fiebig 1996).

Brassica sebzelerindeki izotiyosiyanatların, insektisidal, bakterisidal, nematosidal, fungisidal antikarsinojenik etkileri üzerine bir çok araştırma gerçekleştirilmiştir. Allil izotiyosiyanat gibi parçalanma ürünleri antimikrobiyel özelliklerinden dolayı, gıdaların muhafazasında kullanılmaktadır (Delaquis and Mazza 1995). Glukosinolat parçalanma ürünlerinin pestisidal (Peterson *et al*. 1998), fungisidal (Pedras *et al*. 1998), bakterisidal (Ono *et al*. 1998) ve nematosidal (Lazzeri *et al*. 1993, Donkin *et al*. 1995) etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Glukoiberin, glukotropaeolin ve glukoerusinin parçalanma ürünlerinin 0.1 mg/mL konsantrasyonlarda bile fungal gelişmeyi %50 oranında inhibe ettiği saptanmıştır (Manici *et al*. 1997).



Şekil 2.5 Glukosinolatların hidroliz ürünleri (Matthaus and Fiebig 1996)

Kapari lezzet bileşenleri

Glukosinolatlar, doku parçalandığı zaman bitkinin bünyesinde doğal olarak bulunan mirosinaz enziminin etkisiyle izotiyosiyanatlar, tiyosiyanatlar, nitriller gibi özgün aroma ve lezzetten sorumlu bileşiklere dönüşmektedir (McDanell *et al*. 1988). Glukosinolat parçalanma ürünlerinin duyusal özellikleri Çizelge 2.5'de verilmiştir. Enzimatik dönüşüm sonucu oluşan bu lezzet bileşenleri, glukosinolatların aksine yağda çözünür nitelikte, uçucu, oldukça reaktif, keskin bir tat ve kokuya sahip olup bazılarının antibakteriyel, antifungal, antiprotozal, nematosidal ve alleopatik etkileri söz konusudur. Uçucu nitelikte olmalarından dolayı çoğunlukla gaz kromatografisi tekniği ile analiz edilmektedirler.

Çizelge 2.5 Glukosinolat parçalanma ürünlerinin duyusal özellikleri (Fenwick *et al*. 1983)

Glukosinolat parçalanma ürünü	**Duyusal nitelikler**
Metil izotiyosiyanat	Göz yaşartıcı, yaban turpu benzeri
Etil izotiyosiyanat	Acı, sarımsak benzeri
İzopropil izotiyosiyanat	Acı
2-propeniletil izotiyosiyanat	Sarımsak benzeri
2-feniletil izotiyosiyanat	Su teresi, sızlama hissi
3-butenil izotiyosiyanat	Acı
Benzil izotiyosiyanat	Sarımsak benzeri
p-hidroksibenzil izotiyosiyanat	Acı
4-metiltiyobutil izotiyosiyanat	Turp benzeri
2-propenil (allil) tiyosiyanat	Acı, göz yaşartıcı, yabanturpu benzeri
2-feniletil nitril	Zayıt su teresi aroması

Brevard *et al*. (1992), işlenmiş kapari tomurcuklarını SDE (Simultaneous Steam-Distilation/Extraction) tekniği ile ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktlar GC ve GC/MS tekniği ile analiz edilmiş ve tomurcukların tüm lezzet profili kütle spektroskopi tekniği ile detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur. Yaklaşık 165 farklı uçucu bileşen belirlenmiş, bunların büyük bir kısmının sülfitler, izotiyosiyanatlar ve tiyosiyanatlar olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, gıdalarda hiç rastlanılmamış elementer kükürt (S_8) varlığına rastlanılmakla beraber, 1310 mg/kg metil izotiyosiyanat, 1050 mg/kg siklo-oktasülfür, 1920 mg/kg oktanoik asit, 150 mg/kg dimetiltrisülfit, 270 mg/kg benzaldehit ve 30 mg/kg düzeyinde dimetildisülfit tespit edilmiştir. Daha sonra, Afsharypver *et al*. (1998), İran'da yetişen *Capparis spinosa* L. var *mucronifolia* çeşidi kapari tomurcuk, yaprak ve köklerinden hidrodistilasyon tekniği ile elde ettiği ekstraktlarda GC ve GC/MS analizi ile flavor profilini incelemişlerdir. Tomurcuklardan elde edilen ekstraktlarda %41.6 metilizotiyosiyanat, %52.2 izopropilizotiyosiyanat, %2.2 oranında sec-bütilizotiyosiyanatdan oluşan tipik flavor bileşenlerini belirlemişlerdir.

Son zamanlarda gaz kromatografisi tekniği için geliştirilmiş, solvent içermeyen SPME (Solid Phase Micro Extraction) ekstraksiyon tekniği ile flavor analizi çok yaygın bir

şekilde kullanılmaya başlanılmıştır. Romeo *et al*. (2007), İtalya'nın Salina adasından toplanmış *C. spinosa* çeşidi işlenmiş kapari tomurcuklarının lezzet profilini HS-SPME/GC-MS tekniği ile incelemişlerdir. Solvent içermeyen bu ekstraksiyon tekniğinde 6 g homojenize kapari tomurcuğu, bu teknik için özel bir 40 mL'lik vial içinde 14.5 mL distile su ile süspansiyon haline getirilmiştir. Süspansiyon, 35°C'de internal standart eklenerek 30 dak süreyle kapalı bir şekilde tutulmuştur. Daha sonra DVB/CAR/PDMS (Divinilylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane) kaplı bir SPME fiberi, bu süspansiyonun tepe boşluğunda 40 dak süreyle 35°C'de uçucu bileşenlerin absorplanması için tutulmuştur. Bu sürenin sonunda, SPME fiber gaz kromotografisi cihazının enjeksiyon ünitesine yerleştirilmiş ve 3 dak süreyle termal desorbsiyon işlemi yapılarak uçucu bileşenler sisteme yüklenmiştir. Bu teknikle toplam 145 adet uçucu bileşen saptanmıştır. Bu bileşenlerin %22.2'sinin aldehit, %21'nin ester ve %8.42'sinin sülfür içeren bileşenlerden oluştuğu görülmüştür. Sülfür bileşenlerinin yaklaşık %91.2'sinin (442 mg/kg) metil izotiyosiyanat ve %3.6'sının (17.42 mg/kg) benzil izoyiyosiyanat olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, Brevard *et al*. (1992)'nın bulgularının aksine uçucu bileşenler arasında elementer kükürt tanımlanmamıştır. Bunun nedeninin farklı ekstraksiyon tekniklerinin kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Glukosinolat içeriğine etki eden faktörler

Bitki yetişitiricileri, *Cruciferous* tohumlarındaki glukosinolatları genetik kontrol yolu ile kolza gibi bazı bitkilerde azaltarak, bazılarında (hardal) ise, zenginleştirerek yeni kültürler geliştirmişlerdir. Böylece daha az guatrojenik nitelikte yem bitkisi elde edilmesi amaçlanmıştır. Günümüzde özellikle Polonya'da düşük hatta sıfır diye nitelendirebileceğimiz glukosinolat içeriğine sahip kolza yetiştiriciliği gerçekleştirilmiş bulunmaktadır. Başarılı bir genetik manipülasyondaki amaç, istenmeyen aglikonları azaltarak veya flavor için gerekli olan glukosinolatların zenginleştirerek glukosinolatların bağıl oranını değiştirmektir (Fenwick *et al.* 1983).

Josefsson (1967), glukosinolat içeriği bakımından yalnızca türler değil çeşitler arasında da büyük farklılıkların olduğu saptamıştır. Bu durum, brüksel lahanası, lahana, çin lahanası, sarı şalgam ve şalgam üzerinde yapılan detaylı çalışmalarda görülmüştür.

Glukosinolat içeriği ve glukosinolat kaynaklı uçucu bileşenler *Brassica* familyasının bazı kültürlerinin tanımlanmasında kullanılabilecek bir veri niteliğindedir. Bir bitkinin glukosinolat içeriği, bitkinin incelenen kısmına bağlı olduğu için glukosinolat ile ilgili bir araştırmada analiz edilen materyalin botaniksel yapısı mutlaka belirtilmelidir (Fenwick *et al.* 1983).

Glukosinolat içeriğinin belirlenmesinde önemli faktörlerden birisi de çevresel faktörlerdir. Siyah hardal ve kolzada glukosinolat içeriğinin artan nitrat uygulaması ile azaldığı saptanmıştır (Fenwick *et al.* 1983). Sulama rejimi de glukosinolat içeriğine etki eden faktörlerden birisidir. Freeman ve Mossadeghi (1973), su teresi üzerine yaptıkları çalışmada su stresinin artması ile glukosinolat içeriğinin arttığını saptamışlardır.

İşleme ve depolamanın glukosinolatlar üzerine etkisi

Cruciferous sebzeleri ham halde, pişmiş, kurutulmuş veya diğer işlenmiş şekillerde tüketilebilir. Günlük hayatta *Brassica* sebzeleri tüketilmeden önce genellikle doğranırlar. Kesme veya dilimleme işlemi ile, sebze dokusunda kompleks reaksiyonlar sonucu glukosinolat miktarı ve bunu takiben parçalanma ürünlerinin miktarı da değişecektir. Ancak, doğrama ile glukosinolat içeriğinin azalmadığı hatta arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Taze dokunun kesilmesi ile mirosinaz enzimi için optimal koşullar oluşmakta ve dolayısıyla yüksek oranda glukosinolat hidrolizi meydana gelmekte, bu da degradasyon ürünleri oluşumu ile sonuçlanmaktadır. MacLeod and MacLeod (1968), pişirmenin glukosinolatlar üzerine etkisini incelemiş, pişirme işleminin, uygulanan yönteme (klasik, mikrodalga, yüksek basınç) ve pişirme yoğunluğuna (sıcaklık, süre) bağlı olarak, glukosinolat bileşen tipini değiştirdiği bununla beraber içeriğinin de % 30-60 oranında azalttığını saptamıştır (Mithen *et al.* 2000). İşleme; haşlama, dondurma veya fermentasyon basamaklarını içerebilir. Tüm bu uygulamalardaki kabuk soyma ve doğrama işlemleri, son ürünün glukosinolat içeriğine etki etmektedir. *Brassica* sebzeleri arasında ticari olarak üretilmiş temel gıda maddelerinden sayılan lahanada; yıkama, kesme ve paketleme, fermente lahanada; yıkama, kesme, fermentasyon, paketleme dondurulmuş lahanada ise; yıkama, kesme, haşlama/pişirme, dondurma, paketleme gibi işlem basamakları söz konusudur (De Vos and Blijleven 1988).

Daxenbichler *et al*. (1980) beyaz lahanadan sauerkraut (lahana turşusu) üretiminde, tüm glukosinolatların 2 haftalık fermentasyon basamağı sırasında tamamen hidrolize olduğunu saptamışlardır. Özellikle dondurma ve kurutma işlemlerinden önce, off-flavor gelişiminin önlenmesi amacıyla uygulanan haşlama işlemi sırasında, istenmeyen katalaz ve peroksidaz enzimleri inaktive olurken, lezzet oluşumundan sorumlu mirosinaz enzimi de inaktive olmaktadır. Brüksel lahanası ve brokoli ile yapılan bir çalışmada, farklı haşlama koşullarında, brokolide büyük glukosinolat kayıpları görülürken brüksel lahanasında ise çok az kayıp saptanmıştır (Goodrich *et al*. 1989).

Glukosinolatların sağlık açısından önemi

Bugün özellikle *Cruciferae* familyasında yer alan sebzelerdeki bu aktif bileşenlerin tıbbi özelliklerini ortaya koyan birçok araştırma mevcuttur. Bu biyoaktif bileşenlerin sağlık açısından hem olumlu hem de olumsuz özellikleri içermesi bu bileşen grubu üzerine çok fazla sayıda araştırma yapılmasına neden olmuştur.

Glukosinolatların parçalanma ürünlerinin, hayvanlar üzerinde toksik ve beslenmeyi olumsuz yönde etkileri söz konusu olabilmektedir. Bugüne kadar doğal olarak meydana gelen toksik bileşikler üzerine yapılmış tartışmalarda, glukosinolatlar ve parçalanma ürünleri hakkında bu savı destekler çok az kanıt ortaya konmuştur. Glukosinolatlar ve hidroliz ürünlerinin fizyolojik özellikleri üzerine, kolza ile besleme deneylerine dayalı birçok araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, tiroid, adrenal bez, böbrek ve karaciğer büyümesi olduğu görülmüş ve kolza unu ile beslenen kümes hayvanlarında karaciğer kanaması (Karaciğer Kanama Sendromu-LHS) olduğu saptanmıştır. Nishie ve Daxenbichler (1980), 3 glukosinolat ve 9 parçalanma ürününün, fareler üzerindeki toksikolojik etkilerini araştırmışlardır. Bu bileşiklerin hiçbirisinin teratojenik etkisi saptanmazken, 2-propenil izotiyosiyanat, 3-metilsülfünilpropil izotiyosiyanat ve 1-siyano-3,4-epitiyobütan'ın embriyotoksik olduğu görülmüştür. Bugün çok sayıda doğal izotiyosiyanatın sitotoksik olduğu saptanmış olup, Yamaguchi (1980) yaptığı çalışmada 5 tane doğal izotiyosiyanatın (metil, n-bütil, 2-metilpropil, 2-propenil ve benzil) mutajenitesini incelemiştir. Bu bileşenlerin hepsinin *Salmonella typhimurium* TA 100 üzerine pozitif sonuçlar verdiği ve 2-propenil'in en fazla etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Fenwick *et al*. 1983).

Cruciferae familyasına ait bitkilerde bulunan doğal 'tiyoglukozitler', guatrojen maddelerin temel kaynağıdır. Nitekim, parçalanma ürünü olan tiyosiyanat iyonu, tiroiddeki iyot konsantrasyonunu düşürmektedir (Cemeroğlu vd. 2004). Tiyosiyanat iyonu, iyotun rekabetçisi olup fareler üzerinde yapılan bir araştırmada beslenmede iyot miktarının artırılması ile guatrojenik etkinin azaldığı saptanmıştır. Greer (1965), guatr hastalığının görülme sıklığının yalnızca %4'nün temel iyot eksikliği ile ilgili olmadığını belirtmiştir. Ayrıca β-hidroksil grup içeren alifatik yan zincire sahip glukosinolatlardan oluşan oksazolidin-2-tiyonlar da guatrojenik özelliğe sahip diğer bir parçalanma ürünüdür. Özellikle 5-viniloksazolidin-2-tiyon'un tiroksin sentezinde doğrudan inhibitör olarak görev yaptığı düşünülmektedir. *Cruciferous* bitkileri ile beslenen birçok insanda endemik guatr hastalığı görüldüğü iddialarına rağmen, bu konuda inandırıcı kanıtlar mevcut değildir. Bu bileşenlerin guatrojenik özelliği çiftlik hayvanlarının *Brassica* yem bitkileri ile beslenmelerinde sınırlayıcı bir faktördür. Özelikle yağlı bir tohum olmasına karşın aynı zamanda çok zengin bir protein kaynağı da olan kolza tohumunun glukosinolat içeriği, hayvan yemi kullanımında bir kriterdir. Ayrıca bu bileşikler bu grup bitki ile beslenen hayvanların sütleri ile indirekt olarak da insanlara geçebilmektedir. Astwood (1943) beslenmede iyot yetersizliği söz konusu olduğunda, tiyosiyanat iyonunun guatr ajanı olarak görev yaptığını saptamıştır. Lahana veya diğer *Brassica* tohumları ile beslenen deney hayvanlarında antitiroid etkilerde artışlar gözlemlenmiştir. Bu duruma neden olan bileşik şalgamdan, daha sonra da diğer *Brassica* tohumlarından izole edilmiş ve (-)5-vinil-2-oksazolidintiyon olarak tanımlanmış ve bu bileşiğin daha sonra tiroksin sentezini interfere ettiği anlaşılmıştır. Daha sonraları 2-propenil izotiyosiyanat, 3-metilsülfünilpropil izotiyosiyanat ve benzil tiyosiyanat'ın guatrojenik olduğu görülmüştür (Fenwick *et al.* 1983).

Temelde yukarıda değinilen hidroliz ürünlerinin insanlarda da guatrojenik etkilerinin olması olasılığına karşın, epidemiyolojik olarak yeterli kanıt söz konusu değildir. Örneğin yetişkin bir insanın günde 150 g brüksel lahanası yemesi durumunda, tiroid hormonlarının düzeyi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Burada pişirme sırasında mirosinaz enziminin inaktive olduğu ve dolayısıyla biyolojik yararlılığının azaldığı düşünülmektedir (Mithen *et al.* 2000).

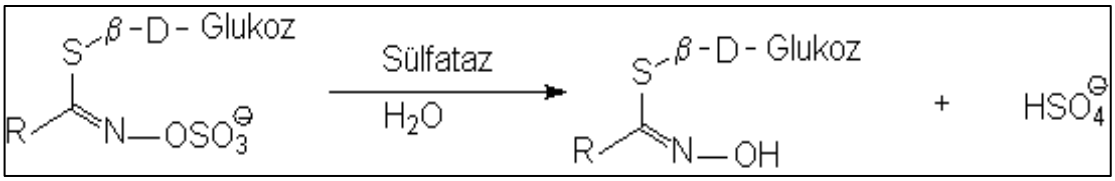
Bugüne kadar glukosinolatların antikarsinojenik etkileri üzerine birçok araştırma gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmalar *Cruciferous* sebzelerinin tüketimi ile kanser riski arasında çok güçlü bir ters ilişki olduğu ortaya koymuştur. Glukosinolatların parçalanma ürünlerinin deney hayvanları üzerine antikarsinojenik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Dünya Kanser Araştırma Fonu, kanser ve beslenmeyi konu alan derlemesinde, *Cruciferous* sebzeleri ile zengin bir diyetle beslenmenin özellikle kolon, rektum, tiroid, akciğer, pankreas, prostat, deri, mide kanserlerine karşı koruyucu etkisi olduğunu bildirmiştir (WCRF 1997, Conaway *et al*. 2002, Keck and Finley 2004).

Glukosinolatların analizi

Glukosinolatların analizinde spektroskopik (Wetter and Youngs 1976), enzim immobilizasyon (Van Etten *et al*. 1974), gravimetrik (McGhee *et al*. 1965), X-ray floresans (Zhao *et al*. 1992), gaz-sıvı kromatografi (GLC) (Heaney and Fenwick 1980, Slomonski and Campell 1987) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Helbeo *et al*. 1980, Minchinton *et al*. 1982, Bjorvist and Hase 1988, Kaushik and Agnihotri 1999) tekniklerinden yararlanılmaktadır. Bu teknikler içinde HPLC tekniği glukosinolatların saptanmasında en yaygın kullanılan ve en güvenilir metottur. Glukosinolatların HPLC ile analizinde 3 temel yöntem bulunmaktadır. Bunlar;

- ✓ Anyonik formdaki glukosinolatlar enzimatik olarak desülfo formuna sokularak (Şekil 2.6) (Minchinton *et al*. 1982),
- ✓ İyonik halde ortama iyon-çiftleme ajanları katılarak, (Ion-Paired Chromatography) (Helbeo *et al*. 1980),
- ✓ Mobil faza spesifik tuzlar katılarak iyon baskılama tekniği (Ion Suppression Chromatography) (Bjorvist and Hase 1988).

Bu üç yöntemden enzimatik yöntem, oldukça spesifik, çok fazla uygulanan ve tavsiye edilen bir yöntem olmasına karşın, bazı glukosinolatların belirlenememesi ve zaman alıcı olması (12 saat) gibi olumsuzluklara sahiptir. Bu enzimatik basamağın çok büyük dikkat gerektirdiği ve özellikle sıcaklık, pH değeri, kullanılan suyun miktarı ve sülfataz enziminin aktivitesi gibi noktaların çok önemli olduğu bilinmektedir.



Şekil 2.6 Glukosinolatların sülfataz enzimi yardımı ile desülfo forma getirilmesi

İyon çiftleme kromatografisinde ise kullanılan iyon çifleme ajanlarının pahalı olması yöntemin en büyük dezavantajdır. Bu yöntemler içerisinde en ekonomik olanının iyon baskılama (ion-suppression) tekniği olduğu saptanmıştır (Bjorvist and Hase 1988, Kaushik and Agnihotri 1999).

2.2.2 Flavonoidler

Fenolik bileşikler diğer adıyla polifenoller, 8000'den fazla bilinen üyesi ile doğada bulunan en yaygın ikincil metabolitlerdir (Harborne 1994). Bitkiler aleminde çok yaygın bulunan bu bileşik grubu, hemen hemen her meyve sebzede az veya çok bulunmakla beraber, meyvelerde sebzelere kıyasla daha çok bulunmaktadır (Cemeroğlu vd. 2004). Fenolik bileşikler, basit moleküler yapıda olabilecekleri gibi, oldukça polimerize maddeler halinde olabilir. Flavonoidler genelde bir veya daha fazla şeker molekülü ile ya hidroksil gruplarına; ya da aromatik C atomuna bağlanmış konjuge formda bulunurlar (Bravo 1998). Flavonoidlerin, antioksidant, lezzet ve boya özelliği gibi farklı fonksiyonları söz konusudur. Ayrıca bitki patojenlerine karşı da antifungal özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Grayer and Harborne 1994). Farklı gıda maddelerindeki fenolik bileşiklerin işlenmesi ve depolanması üzerine yürütülmüş birçok araştırma söz konusudur.

Kaparinin tomurcuklarında ve diğer kısımlarında bulunan önemli bir bileşik grubu da flavonoidlerdir. Rodrigo *et al*. (1992), tarafından *Comun* ve *Mallorquina* çeşidi ham kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonu HPLC ile belirlenmiştir. Baskın flavonoidin rutin olduğu, bununla beraber kamferol-3-rutinozit, kamferol-3-ramnorutinozit, kamferol-3-glukozit flavonoidlerinin de bulunduğu saptanmıştır. *Mallorquina* çeşidi 8 mm'den küçük kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonunun bağıl olarak %53.71'inin rutin olmasına karşın, 8 mm'den büyük

kapari tomurcuklarında bunun %38.08 düzeyinde olduğu görülmüştür. Bu durumun *Comun* çeşidinde farklı olduğu, nitekim küçük tomurcukların daha düşük rutin yüzdesine sahip olduğu saptanmıştır.

Inocencio *et al*. (2000), Akdeniz ülkelerinde yetişen ticari kapari çeşitlerinin (*Capparis spinosa*, *C. sicula* ve *C. orientalis*) flavonoid kompozisyonlarını belirlemişlerdir. Bu çalışmada Fas (7), İspanya (5), Türkiye (3), İtalya (1) ve Yunanistan (1)'dan toplanan 17 işlenmiş ticari kapari örneklerinin HPLC tekniği ile flavonoid içerikleri saptanmıştır. Kapari tomurcuk ekstraktlarının birçoğunda rutin (kuersetin-3-rutinozit) ana bileşen, kamferol-3-rutinozit ikincil bileşen olarak belirlenmiştir. Kamferol-3-ramnosil-rutinozit ise, yalnızca birkaç örnekte iz miktarda saptanmıştır. Örneklerin hepsinde aglikon yapıda kamferol ve kuersetin belirlenmesine karşın, bu değerlerin çok değişken olduğu görülmüştür. Türkiye'den sağlanmış 3 örnekte ortalama taze ağırlık bazında 3.74 mg/g rutin, 1.84 mg/g kamferol-3-rutinozit, 1.33 mg/g kamferol, 1.27 mg/g kuersetin saptanırken, kamferol-3-ramnosil-rutinozit saptanamamıştır. Benzer bir çalışma Giuffrida *et al*. (2002), tarafından İtalya'nın Salina adasından toplanan *Capparis spinosa* L. çeşidi kapari tomurcuklarında gerçekleştirilmiştir. Toplanan tomurcuklar, büyük (>14 mm), orta (9-14 mm) ve küçük (<9 mm) olacak şekilde üç boyuta ayrılmıştır. İşlenmemiş ham örneklerde yaş ağırlık bazında %0.23, salamuraya işlenmiş tomurcuklarda ise %0.13 oranında rutin baskın flavonoid olarak saptanmıştır. Ayrıca tomurcuk büyüklüğü artıkça flavonoid miktarının azaldığı ve yine aynı şekilde salamuraya işleme ile beraber tomurcukların flavonoid içeriklerinin %70-80 oranında azaldığı görülmüştür. Orta büyüklükteki işlenmemiş ham kapari tomurcuklarında kuru ağırlık bazında %1.42 rutin, %1.1 kamferol-3-rutinozit, %0.13 kamferol-3-glukozit, %0.65 kuersetin ve %0.88 kamferol saptanırken, salamuraya işlenmiş örneklerde %0.31 rutin, %0.13 kamferol-3-rutinozit, %0.16 kuersetin ve %0.33 kamferol saptanmıştır. P vitamini aktivitesine sahip olan rutin, kılcal damarların direncini artırıcı ve geçirgenliği azaltıcı etki göstermekte; hipertansiyon, arteriyosklerozda ve ayrıca damarlardaki dolaşım bozukluklarında kullanılmaktadır (Ahmed *et al*. 1972).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Araştırmada, 2005 ve 2006 yılında yürütülmüş ön deneylerden alınan sonuçlar üzerine Denizli ili Sarayköy ilçesinden 2007 yılı temmuz ayında hasat edilen kapari çiçek tomurcukları kullanılmıştır. Bitki örneklerinde, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Ekoloji ve Çevre Biyolojisi Anabilim Dalı'nda tür teşhisi yapılmıştır. Örneklerin yaprak yapısının, oval ve tomurcuklarının tüylü olmasından yola çıkılarak bunların tanısı *Capparis ovata* Desf. var. *herbacea* olarak saptanmıştır. Hasat edilen tomurcuklar bir elekle $x \leq 8$ mm olacak şekilde kalibre edilmiş, elde edilen eş düze örnek kitlesi, hızlı bir şekilde %15 ve %20 tuz içeren salamuralar ile işlenmiştir.

3.1.1 Kimyasallar

Flavonoidlerin tanımlanmasında ve miktarlarının belirlenmesinde eksternal standart olarak rutin (Kuersetin-3-rutinozit, Sigma, R 5143), kamferol-3-rutinozit (Extrasynthese, 1053 S), kamferol-3-glukozit (Extrasynthese, 1243 S), kamferol (Sigma, K 0133) ve kuersetin (Sigma, Q 0125) kullanılmıştır. Glukosinolatların analizinde eksternal standart olarak glukokkapparin (Methylglucosinolate, 0-JS-18-11-05) ve internal standart olarak da glucotropaeolin (Benzylglucosinolate, 16-PM-19-10-99) C2 Bioengineering Aps. (Karlslunde, Danimarka) firmasından temin edilmiştir. Glukosinolatların desülformuna getirilmesinde kullanılan sülfataz enzimi (S 9626-10KU, Helix pomatia) Sigma (St. Louis, A.B.D) firmasından satın alınmıştır. Şekerlerin tanımlanmasında fruktoz, glukoz ve sakaroz (Sigma, St. Louis, A.B.D) standartlarından yararlanılmıştır. HPLC analizlerinde kullanılan asetonitril, su ve metanol HPLC saflığında olup Merck firmasından (Darmstad, Almanya) satın alınmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Kapari tomurcuklarının salamuraya işlenmesi

Kapari tomurcukları, %15 ve %20 tuz içeren iki farklı konsantrasyonda salamuraya alınarak, acılık bileşenlerinin değişimi üç farklı sıcaklıkta (10°C, 20°C ve 30°C) incelenmiştir. %15 salamura ile yapılan deneylerde, hazırlanmış aynı boyuttaki kitleden ($x \leq 8$ mm) 50 mL kapasiteli cam kavanozlara yaklaşık 20 g tomurcuk doldurulup üzerine, dolgu sıvısı olarak %15'lik tuzlu su (salamura) eklenmiştir. Cam kavanozlardaki tüm kapari tomurcuklarının salamuranın altında kalmasına dikkat edilmiş ve kapaklar hermetikli şekilde kapatılarak, sıcaklık salınımı ±0.5˚C olan 10°C, 20°C ve 30°C'ye ayarlanmış inkübatörlere (Sanyo MIR 253, Gunma, Japonya) yerleştirilmiştir. Depolama süresince ozmoz sonucu salamurada gittikçe azalan tuz konsantrasyonuna müdahale edilmemiş ve 6, 12, 18, 24 36, 48, 72, 120 ve 240 saatte acılık bileşenlerinin değişimini izlemek için bir kavanoz örnek ayrılmıştır. Acılık bileşenlerinin parçalanması üç farklı sıcaklıkta incelenmiş olmakla birlikte, tipik lezzet bileşenlerinin oluşumu yalnızca 30°C'de izlenmiş ve bu amaçla 90 gün boyunca belirli aralıklarla bir adet kavanoz örnek alınmıştır. Alınan örneklerin bir kısımında hemen renk, asitlik, pH değeri ve tuz tayini yapılmış, bir kısmı ise 50 mL'lik liyofilizer şişelerine yerleştirilerek -65°C'deki derin dondurucuya (Heto UF 5420, Allerod, Danimarka) yerleştirilmiştir. Denemeler iki tekerrürlü gerçekleştirilmiştir.

Aynı işlem %20 tuz içeren salamurada da yapılmıştır. Ancak bu defa 50 mL'lik küçük şişeler yerine, 1000 mL cam kavanozlara yaklaşık 500 g tomurcuk yerleştirilip kavanozlar, %20'lik tuzlu salamura ile tomurcukları örtecek şekilde tamamlanmıştır. Bu deneyler de iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her on günde bir yapılan tuz tayiniyle salamuraya gerekli miktarda tuz ilave edilerek bu defa tuz konsantrasyonu %20'de sabit tutulmuştur.

Bu çalışmada %15 tuz içeren salamuranın seçilme nedeni, bir süre sonra tuz konsantrasyonunun azalarak dengeye ulaşması ve bu denge tuz konsantrasyonunda laktik asit bakterilerinin en iyi şekilde gelişebilmesidir. Buna karşın %20 tuz içeren salamura kullanımındaki amaç ise, bu tuz konsantrasyonunda herhangi bir fermentasyon

olmamakta ve tomurcuklar adeta tuzla muhafaza edilebilmektedir. Günümüzde kapari tomurcukları bu şekilde işlenmektedir.

Kapari tomurcuklarının her iki konsantrasyonundaki salamura içinde depolanması sürecinde acılık bileşenlerinin değişimi için on gün boyunca alınan örnekler, liyofilizerde (Labconco, FreeZone6Liter, Maryland, A.B.D.) -55°C kollektör, 40°C tabla sıcaklığı ve 0.021 mbar basınç altında 5 gün boyunca dondurularak kurutulmuştur. Kurutulmuş örnekler, porselen havanda toz şeklinde dövülerek analizlerde kullanmak için homojen bir kitle haline getirilmiştir.

3.2.2 Analiz yöntemleri

3.2.2.1 Fiziksel analizler

3.2.2.1.1 Nem tayini

Hiçbir işlem görmemiş kapari çiçek tomurcuklarının nem içeriğinin tayini, vakumlu kurutma dolabında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 85 mm çapındaki aluminyum kurutma kaplarına tartılan bu amaçla kullanılmak için hazırlanmış 2'şer g deniz kumu, önce kurutma dolabında 110°C'de 2 saat süreyle kurutulmuştur. Daha sonra kum içeren bu kurutma kapları desikatöre alınarak soğutulmuş ve kum+kapak dahil edilerek daraları kaydedilmiştir. Diğer taraftan kapari çiçek tomurcukları yüksek devirli blenderde 3 dakika süreyle homojenize edilmiş ve bu kitleden kurutma kaplarına yaklaşık 5'er g örnek ± 0.001 g hassasiyetle tartılmıştır. Bir miktar damıtık su ilave edilip, tartılan kitle cam baget ile iyice ezilerek tamamen homojen bir hale getirilmiş ve baget kuruma kabına yıkanarak geri alınmıştır. Elde edilen homojen kitle ilk önce 90°C'de su banyosunda (Memmert ULM 500, Schwabach, Almanya) kurutma kabındaki suyun önemli bir kısmının uzaklaşması sağlanmış ve sonra vakumlu kurutma dolabına (Heraeus VT 6025, Hanav, Almanya) yerleştirilmiştir. Örnekler burada 70°C'de ve 100 mm Hg basınç altında sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Kurutma işlemi yaklaşık 12 saat sürmüş ve bu süre boyunca devamlı olarak sülfürik asit çözeltisinden saniyede 2 kabarcık geçecek şekilde taze kuru hava verilmiştir. Kurutma işleminin sonunda kurutma kapları desikatöre alınmış ve burada soğutulduktan sonra tartım yapılmıştır. Nem analizi dört paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan

tartımlardan, örneklerdeki yüzde nem miktarı ve toplam kuru madde içeriği hesaplanmıştır. Tanımlanan bu yöntemle nem tayininde, A.O.A.C. (2000) tarafından önerilen 930.04. No'lu yöntem izlenmiştir.

3.2.2.1.2 pH değeri tayini

pH değeri potansiyometrik olarak pH-metre (Inolab pH Level 1, WTW, Weilheim, Almanya) ile saptanmıştır. 20 g kapari örneğine 40 mL damıtık su eklenerek waring blenderde yüksek devirde 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım tülbentten süzülerek elde edilen süzüntü, pH tayininde kullanılmıştır.

3.2.2.1.3 Renk ölçümleri

Bu amaçla, reflektans kolorimetrisi (Minolta CR-300, Osaka, Japonya) kullanılmıştır. Kolorimetre, standart beyaz seramik plaka (L = 97.26, a = + 0.13, b = + 1.71) ile her kullanımdan önce standardize edilmiştir. Kolorimetrede, ışık kaynağı olarak CIE tarafından belirlenen C ışıltıcısı (Illuminant C) ve 8 mm'lik ölçüm alanına sahip başlık kullanılmıştır. Kapari tomurcukları yüksek devirli blenderde homojenize edilmiş ve örnek haznesine yerleştirilerek dört noktadan okuma yapılmıştır. Renk ölçümünde CIE L*a*b* ve CIE L*C*h^o sistemleri kullanılmış ve L*, a*, b*, C* ve h^o değerleri saptanmıştır.

3.2.2.1.4 Yüz dane ağırlığı

Yüz dane ağırlığı, boyutlanmış homojen örnek kitlesinden 100 adet kapari tomurcuğu sayılarak tartılmıştır. Bu işlem 4 defa yapılarak ortalaması alınmıştır.

3.2.2.2 Kimyasal analizler

3.2.2.2.1 Titrasyon asitliği tayini

Titrasyon asitliği, pH-metre ile izlenerek yürütülen titrasyonla saptanmış ve bu amaçla Cemeroğlu (2007) tarafından önerilen işlemler uygulanmıştır. Bu amaçla, 20 g kapari örneğine 40 mL damıtık su eklenerek Waring blenderde (Torrington, A.B.D.) yüksek

devirde 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat tülbentden süzülmüş ve süzüntüden 25 mL alınarak titrasyon asitliği tayininde kullanılmıştır. Titrasyonun son noktası 8.1 olarak seçilmiştir. Titrasyon asitliği, salamuraya işlenmiş örneklerde laktik asit cinsinden g/100 mL, işlem görmemiş örneklerde ise susuz sitrik asit cinsinden g/100 g olarak hesaplanmıştır.

3.2.2.2.2 Şeker tayini

Örnek hazırlama

Şeker analizi Veberic and Stampar (2005) tarafından önerilen HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla, 10 g kapari örneğine 40 mL HPLC saflığında su eklenerek yüksek devirli bir blender yardımı ile 5 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen homojen kitle ilk önce dört katlı bir tülbent yardımı ile süzülmüş, daha sonra kaba filtreden filtre edilmiştir. Elde edilen filtrat 0.45 μm'lik selüloz asetat filtre (Millipore, Bedford, A.B.D) yardımı ile filtre edilerek doğrudan HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Kromatografi koşulları

Bu amaçla Shimadzu (Kyoto, Japan) marka binary (ikili) pompa (LC-10AD), refraktif index dedektör (RID-10A), termostatlı kolon fırınından (CTO-10AS), degasser (DGU-14A) ve sistem kontrol ünitesi (SCL-10A)'den oluşan bir HPLC sistemi kullanılmıştır. Elde edilen kromatogramlar ClassVP5 yazılımı ile değerlendirilmiştir.

Kolon : Nucleogel Sugar Pb, 300 x 7.8 mm, ID, Macherey-Nagel (Düren, Almanya)
Mobil Faz : HPLC saflığında su, izokratik akış
Kolon sıcaklığı : 80°C
Akış Hızı : 0.4 mL/dak.
Detektör : RID (Refractive Index Dedector)
Enjeksiyon Hacmi : 20 μL

Hesaplama

Standart glukoz, fruktoz ve sakaroz şekerlerinden 10000 mg/L düzeyinde stok çözeltiler hazırlanmış ve HPLC'de analiz edilmiştir. Bileşenler geliş sürelerinden yararlanılarak tanımlanmıştır. Örneklerdeki şeker miktarları, standart şeker stok çözeltilerin alanları ile karşılaştırılmış ve örnek miktarı seyreltme faktörü göz önüne alınarak hesaplanmıştır.

$$\text{Şeker miktarı (g/100 g)} = \frac{(A_X)\,(C_S)\,(V)}{(A_S)\,(M)\,(10000)}$$

Burada;

A_X : Örnekteki şeker bileşiğinin pik alanı,

C_S : Standarttaki şeker bileşiğinin konsantrasyonu (mg/L),

V : Toplam ekstrakt hacmi (mL),

A_S : Standart şeker bileşiğinin pik alanı,

M : Örnek miktarı (g).

3.2.2.2.3 Tuz tayini

Salamura ve tomurcuklarda tuz tayini Mohr metodu ile belirlenmiştir. Bu amaçla önce kaba bir filtreden geçirilmiş 1 mL salamura örneği 25 mL'lik ölçü balonunda damıtık su ile seyreltilmiştir. Kapari tomurcuklarında tuz tayininde ise, 5 g kapari örneği 45 mL damıtık su yüksek devirli bir homojenizatör (Waring Blender, Torrington, A.B.D) yardımı ile 3 dakika boyunca parçalanmıştır. Elde edilen kitle kaba filtreden filtre edilmiştir. Buradan 10 mL seyreltik alınıp bir erlenmayere aktarılmış, üzerine 100 mL damıtık su eklendikten sonra 0.1 *N* NaOH ile fenolfitaleyn eşliğinde nötralize edilmiştir. Nötralize edilmiş çözeltiye indikatör olarak 2 mL % 5'lik potasyum dikromat (K_2CrO_4) çözeltisi eklendikten sonra 0.1 *N* gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisi ile kırmızı renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Yapılan harcama miktarından ve aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak tuz konsantrasyonu hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

$$\text{Tuz miktarı \%} = V\,(f)\,(0.005844)\,(S_f)\,(100)$$

V : Titrasyonda harcanan 0.1 *N* $AgNO_3$ miktarı, mL,

f : 0.1 *N* $AgNO_3$ çözeltisinin faktörü,

S_f : Seyreltme faktörü,

0.005844 : 1 mL 0.1 *N* $AgNO_3$ çözeltisinin eşdeğeri 0.005844 g NaCl'dür.

3.2.2.2.4 Protein tayini

Kapari tomurcuklarında protein tayininde A.O.A.C. (2000) tarafından önerilen 955.04. No'lu Kjeldahl yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla yaklaşık 1.5 g homojenize edilmiş kapari örneği tartılmış ve kjeldahl balonlarına aktarılmıştır. Kjeldahl balonlarına 25 mL derişik sülfirik asit eklenmiş ve sonra yakma ocağında 2 saat süreyle yakılmıştır. Balonların soğumasından sonra damıtma işlemi yapılmış ve toplanan destilat 0.1 *N* NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Aşağıda verilen eşitlik yardımıyla protein oranı (%) hesaplanmıştır.

$$\text{Örnekteki protein \%} = \frac{(V_1 - V_2)\,(6.25)\,(0.0014)}{\text{Örnek miktarı, g}}\,(100)$$

V_1 : Destilat toplama kabına konmuş olan 0.1 *N* H_2SO_4 çözeltisi miktarı, mL

V_2 : Destilatın geri titrasyonunda harcanan 0.1 *N* NaOH çözeltisi miktarı, mL

3.2.2.2.5 Yağ tayini

Tomurcukların yağ içeriği soxhlet ekstraksiyon metodu ile saptanmıştır. Yaklaşık 15 g homojenize edilmiş kapari örneği ekstraksiyon kartuşuna tartılmış ve 105°C'deki etüvde 2 saat süreyle tutularak kısmi bir kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Diğer taraftan 120°C'deki etüvde 2 saat tutulan ekstraksiyon balonları, soğutulduktan sonra daraları alınmıştır. Kartuşlar ekstraktöre yerleştirilmiş 150 mL hekzan ile 6 saat boyunca geri soğutuculu özel sistemde ekstrakte edilmiştir. Bu sürenin sonunda ekstraksiyon balonundaki kalıntı hekzan uçurulmuş ve balon, desikatörde soğutularak tartım yapılmıştır. Tartılan örnek miktarı ile balondaki kalıntı ağırlığından yararlanılarak

yüzde ham yağ oranı hesaplanmıştır. Tanımlanan bu yöntemle yağ tayininde A.O.A.C. (2000) tarafından önerilmiş bulunan 991.36. No'lu yöntem izlenmiştir.

3.2.2.2.6 Kül tayini

Kapari örneklerinin kül içerikleri, A.O.A.C. (2000) tarafından önerilen 940.26. No'lu metoda göre belirlenmiştir. Bu amaçla ilk önce 120°C'de kurutulup soğutulan porselen kapsüllerin daraları alınmıştır. Daha sonra yaklaşık 3 g kadar önceden homojenize edilmiş örnek tartılmış ve alkol ile bir ön yakma işlemi yapılmıştır. Kapsüller kademeli olarak 550°C'de kalıntı beyazlaşıncaya kadar yakılmıştır. Bu sürenin sonunda desikatöre alınıp soğutulan kapsüller tartılmış ve ağırlık farkından yüzde kül içeriği hesaplanmıştır.

3.2.2.2.7 Asitte çözünmeyen kül tayini

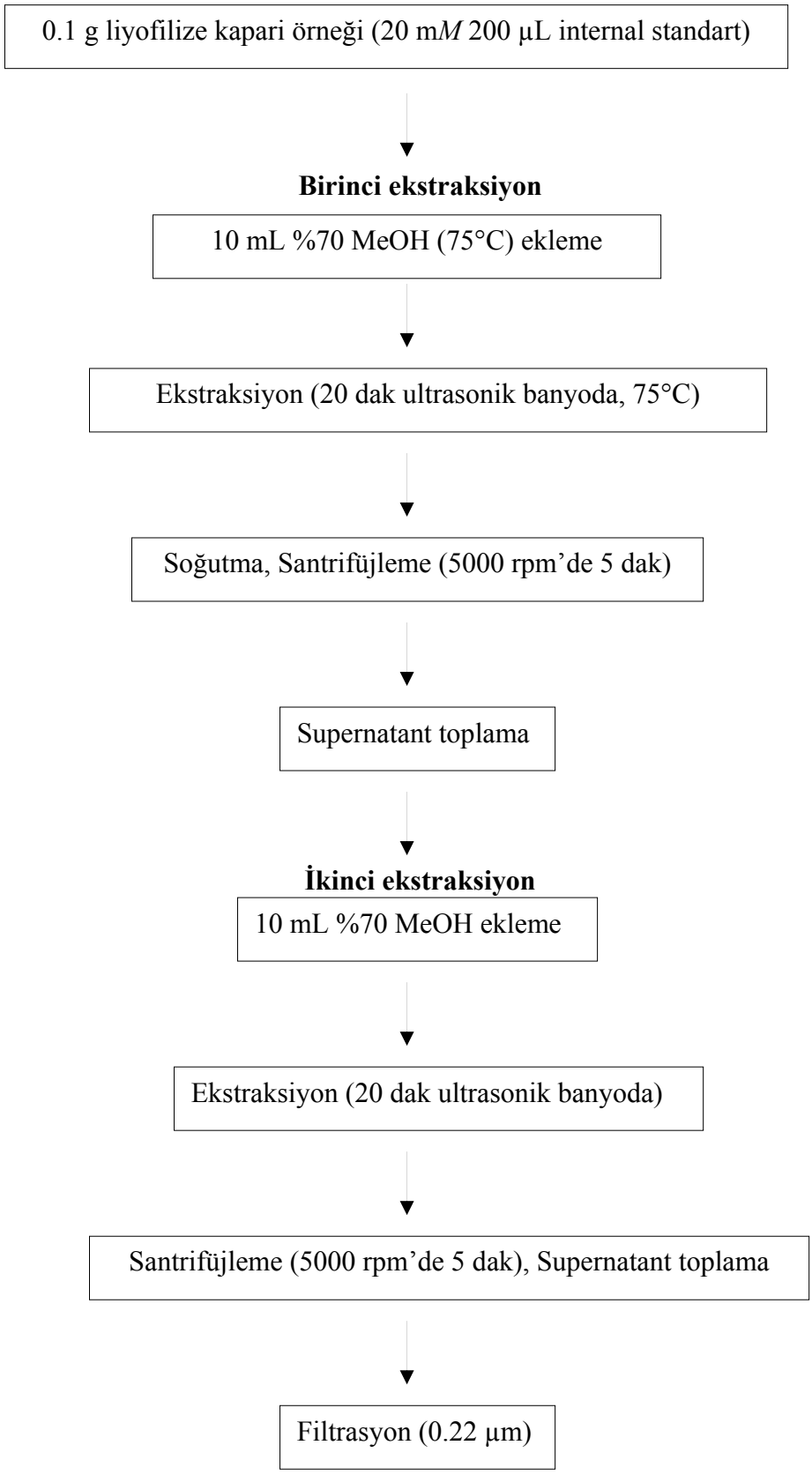
Asitte çözünmeyen kül miktarının tayininde A.O.A.C. (2000) tarafından önerilen 975.12. No'lu yöntem izlenmiştir. Yakma işlemi uygulanmış kapsüllerdeki kül üzerine 25 mL % 10'luk HCL eklenip kaynatılmış ve daha sonra külsüz filtre kağıdından (whatman 42) filtre edilmiştir. Kapsül tekrar 25 mL asitle yıkanarak filtre edilmiş ve böylece kül kalıntısı filtre kağıdında toplanmıştır. Filtre kağıdına kül tayininde olduğu gibi tekrar yakma işlemi uygulanmıştır. Desikatöre alınıp soğutulan kapsüller tartılmış ve ağırlık farkından yüzde asitte çözünmeyen kül içeriği hesaplanmıştır.

3.2.2.2.8 Glukosinolatların analizi

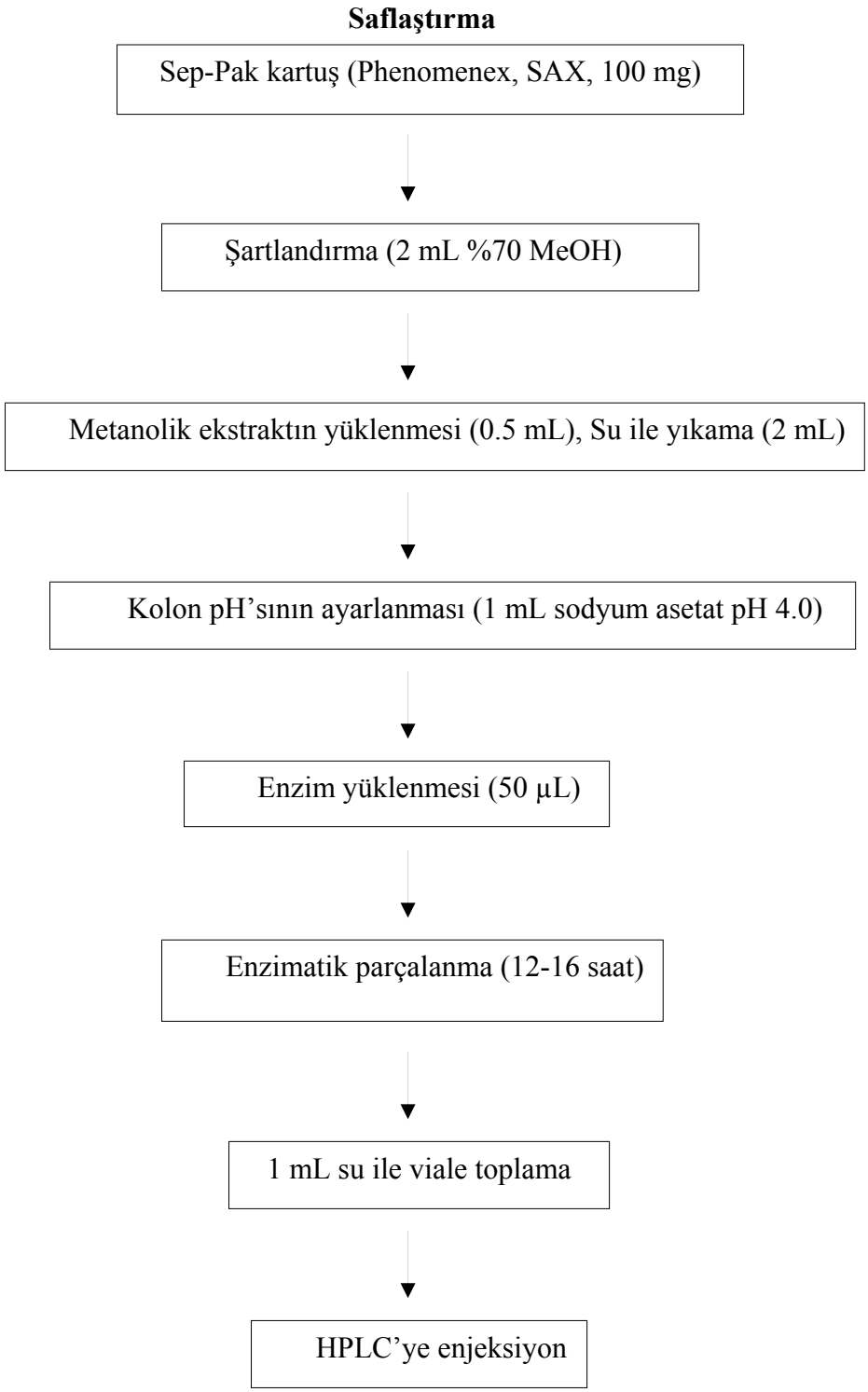
Ekstraksiyon işlemi

Liyofilizerde 5 gün süre ile dondurularak kurutulan kapari örnekleri, porselen havanda ezilerek toz halinde homojen bir kitle elde edilmiştir. Bu kitleden polietilen santrifüj tüplerine doğrudan 0.1 g örnek tartılmış ve üzerine 20 m*M* 200 µL internel standart (glukotropaeolin) eklenmiştir. Örnek ile beraber internel standart içeren bu tüplere önceden 75°C'ye ısıtılmış %70'lik MeOH'den 10 mL eklenmiş ve 75°C'ye ayarlanmış 59 KHz frekanslı bir ultrasonik su banyosunda (Falc, Treviglio, İtalya) 20 dak süreyle

ekstrakte edilmiştir. Bu sürenin sonunda tüpler musluk suyu altında soğutulmuş ve 5000 rpm'de 5 dak süreyle santrifüjlenerek (Sigma 3K 15, Osterode am Harz, Almanya) supernatantlar ayrı bir ölçü balonuna aktarılmıştır. Kalıntı daha sonra ultrasonik banyoda tekrar 10 mL %70'lik MeOH ile 20 dak ekstrakte edilerek santrifüjlenmiş ve süpernatantlar aynı ölçü balonunda birleştirilmiştir. Elde edilen metanolik ekstrakt 0.22 µm'lik şırınga ucu PTFE filtreden (Millipore, Bedford, ABD) filtre edilmiş ve bu ekstrakt saflaştırma işleminde kullanılmıştır. Saflaştırma işleminde tek kullanımlı 100 mg dolgu maddesine sahip Sep-Pak (Phenomenex, SAX, Torrance, CA, A.B.D.) kartuşlardan yararlanılmıştır. Bu amaçla kartuş ilk önce 2 mL %70 MeOH ile şartlandırılmış ve daha sonra 0.5 mL filtre edilmiş metanolik ekstrakt kartuşa yüklenmiştir. Kartuş, daha sonra 2 mL su ile yıkanarak safsızlık unsurları uzaklaştırılmıştır. Kartuş üzerinde adsorplanmış halde tutulan başlangıç glukosinolatları enzimatik bir parçalanmaya tabi tutularak desülfoglukosinolat formunun oluşturulması amacıyla, 1 mL sodyum asetat ile kartuş pH'sı 4.0' a ayarlanmıştır. Bu işlem sonrası kartuşa 50 µL saflaştırılmış sülfataz enzimi yüklenerek 12-16 saat oda sıcaklığında enzimatik parçalanmaya bırakılmıştır. Bu enzimatik parçalanma sürecinin sonunda kartuş üzerinde desülfoglukosinolat formuna dönüşmüş olan glukosinolatlar HPLC saflığında 1 mL su ile yıkanarak HPLC viallerine toplanmıştır. Örneklerin saflaştırılmasında 20 adet örneği aynı anda ve sabit bir hızda elüe etme olanağı veren saflaştırma düzeneğinden (Waters, Milford, A.B.D.) yararlanılmıştır. Örnekler bekletilmeksizin HPLC'de analiz edilmiştir (Matthaus and Özcan 2002). Uygulanan bu işlem Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilmiştir. Sülfataz enziminin saflaştırılması Ek 2'de şematik olarak verilmiştir.



Şekil 3.1 Glukosinolatların iki aşamalı ekstraksiyon ve saflaştırma işlemi



Şekil 3.1 Glukosinolatların iki aşamalı ekstraksiyon ve saflaştırma işlemi (devam)

Kromatografi koşulları

Glukosinolatların saptanmasında Agilent Techonologies HP 1200 serisi G-1322A degasser, G-1312A ikili pompa, G-1329A ALS otomatik örnekleyici, G-1330A FC/ALS termostatlı örnekleyici, G-1316A TCC kolon fırını, G-1315 DAD diode array dedektör ve Agilent ChemStation (Rev. B.02.01) yazılım sisteminden oluşan Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) aygıtı kullanılmıştır.

Kolon özellikleri: Luna C18(2) Phenomenex (Torrance, CA, A.B.D.)

- ✓ Boyut : 250 x 4.6 mm, ID
- ✓ Dolgu maddesinin partikül büyüklüğü : 5 μm
- ✓ Dolgu maddesinin por çapı : 10 nm
- ✓ Dolgu maddesinin yüzey alanı : 400±30 m^2/g
- ✓ Toplam karbon yükü : %17

Mobil Faz : Gradient bir akış söz konusu olup Çizelge 3.1'de verilen akış programı uygulanmıştır.

Çizelge 3.1 Glukosinolatların HPLC ile analizde uygulanan gradient akış programı*

Süre (dak)	A (%100 Asetonitril)	B (%100 Su)
0	2.5	97.5
2.5	5	95
20	20	80
25	20	80
26	2.5	97.5
30	2.5	97.5

* *tarafımızca modifiye edilmiştir*

Kolon sıcaklığı : 30°C

Akış Hızı : 1 mL/dak.

Detektör : 229 nm DAD (Diode Array Dedector)

Enjeksiyon Hacmi : 50 μL

Basınç : 118–152 bar

3.2.2.2.9 Flavonoidlerin analizi

Ekstraksiyon işlemi

Flavonoidlerin analizinde Giuffrida *et al*. (2002) tarafından önerilen çalışma temel alınmış ve bu çalışmanın ekstraksiyon basamağında, küçük modifikasyonlar yapılmıştır. Bu amaçla 0.2 g liyofilize edilip öğütülmüş örnek, doğrudan polietilen santrifüj tüplerine tartılmış ve üzerine 30 mL %70 MeOH eklenmiştir. Santrifüj tüpü azot gazı altında kapatılarak, 1 dak süreyle vorteks ile karıştırıldıktan sonra 60 dak süre ile ultrasonik banyoda 40 KHz frekans ile ekstrakte edilmiştir. Bu sürenin sonunda ekstrakt 11000 rpm'de +4°C'de 15 dak süre santrifüjlenmiş ve berrak supernatant elde edilmiştir. Süpernatant 0.22 µm şırınga ucu filtre (Millipore, Bedford, A.B.D) yardımı ile amber renkli HPLC viallerine filtre edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar bekletilmeksizin HPLC cihazında analize alınmıştır.

Kromatografi koşulları

Flavonoidlerin belirlenmesinde Agilent Techonologies HP 1200 serisi G-1322A degasser, G-1312A ikili pompa, G-1329A ALS otomatik örnekleyici, G-1330A FC/ALS termostatlı örnekleyici, G-1316A TCC kolon fırını, G-1315 DAD diode array dedektör ve Agilent ChemStation (Rev. B.02.01) yazılım sisteminden oluşan HPLC aygıtı kullanılmıştır.

Kolon özellikleri: Ace 5 C18 Act (Aberdeen, İskoçya)

- ✓ Boyut : 250 x 4.6 mm, ID
- ✓ Dolgu maddesinin partikül büyüklüğü : 5 µm
- ✓ Dolgu maddesinin por çapı : 100 nm
- ✓ Dolgu maddesinin yüzey alanı : 300 m^2/g
- ✓ Toplam karbon yükü : %15.5

Mobil Faz : Asetik asit ile asitlendirilmiş, HPLC saflığında su (pH 3.1) (A) ve % 100 asetonitrilden (B) oluşan ikili mobil faz sistemi kullanılmıştır. Ayrımda kullanılan gradient akış programı Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Flavonoidlerin HPLC ile analizde uygulanan gradient akış programı*

Süre (dak)	Su (pH 3.1) A (%)	Asetonitril B (%)
0	95	5
10	75	25
20	60	40
30	50	50
35	0	100
40	0	100
50	95	5
60	95	5

* *tarafımızca modifiye edilmiştir*

Akış Hızı : 1 mL/dak.

Detektör : 254 ve 365 nm DAD (Diode Array Dedector)

Enjeksiyon hacmi : 20 μL

Basınç : 129–132 kgf/cm^2

3.2.2.2.10 Antioksidan aktivite tayini

Re *et al*. (1999) tarafından önerilen *ABTS*'in *(2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit))* oksidasyonuyla üretilen $ABTS^{\bullet+}$ radikal çözeltisi üzerine, antioksidan bileşikleri içeren materyalden elde edilmiş ekstraktın eklenmesiyle radikalin indirgenmesi ve indirgenme sonucu oluşan renk açılmasının spektrofotometrede belirlenmesine dayanan yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla 2.45 m*M* potasyum persülfat içeren 7 m*M*'lık ABTS çözeltisi oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 12-16 saat bekletilerek radikal formun ($ABTS^{\bullet+}$) oluşması sağlanmıştır. Daha sonra 19 mL 0.2 *M* monobazik sodyum fosfat çözeltisi ile, 81 mL 0.2 *M* dibazik sodyum fosfat çözeltisi karıştırılarak, üzerine 8.77 g NaCl eklendikten sonra 1 L'ye tamamlanmak suretiyle pH'sı 7.4 olan PBS *(Phosphate buffer saline: tuzlu fosfat tampon)* çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen bu PBS çözeltisi, hem fenolik bileşikleri içeren ekstraktın,

hem de radikal çözeltisinin seyreltilmesinde ve ayrıca troloks standardının hazırlanmasında kullanılmıştır.

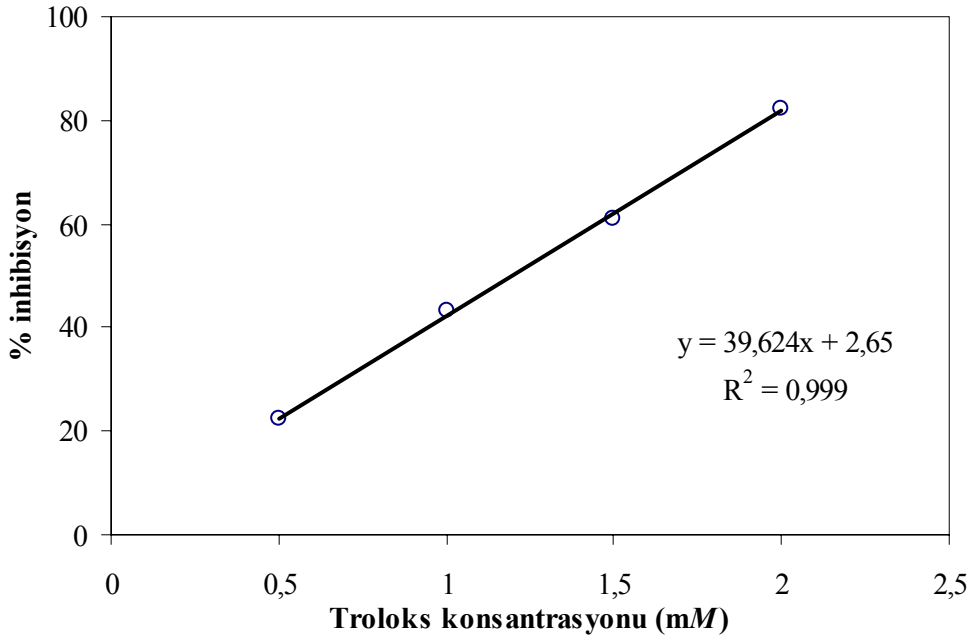
Antioksidan aktivitesi belirlenecek kapari tomurcukları için yeni bir ekstraksiyon işlemi yapılmamış, flavonoidlerin analizi için 3.2.2.2.9. No'lu başlık altında açıklanan yöntemle elde edilen ekstrakt bu analizde de kullanılmıştır. Bu amaçla, fenolik bileşikleri içeren %70'lik metanolik ekstrakttan 1 mL alınıp 5 mL ölçü balonuna aktarılmış ve PBS ile balon hacmine tamamlanmıştır ($S_f = 5$).

Analize başlamadan önce 16 saat sonunda elde edilen 2.45 m*M* potasyum persülfat içeren 7 m*M*'lık radikal $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisi PBS çözeltisi ile 734 nm'de 0.700 (±0.02) absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiştir. Bu seyreltik radikal $ABTS^{\bullet+}$ çözeltisinden 990 µL alınarak mikro küvete aktarılmış ve başlangıç absorbans değeri kaydedilmiştir. Mikro küvet içerisindeki radikal çözeltisinin üzerine, PBS ile seyreltilmiş 10 µL kapari fenolik ekstraktı eklenmiştir. Ekstraktın eklenmesi ile beraber ılımlı bir karıştırma yapılmış ve 6 dak boyunca radikal çözeltinin absorbansındaki azalış izlenmiştir. Bu sürenin sonunda absorbansın sabitlendiği değer kaydedilmiş ve başlangıç absorbans değeri esas alınarak yüzde "*inhibisyon oranı*" hesaplanmıştır. Bu işlem 3 paralel olarak yürütülmüş ve inhibisyon oranları hesaplanarak bunların ortalamaları saptanmıştır. Bu işlem 10 µL dışında ayrıca 20 µL, 30 µL ve 40 µL örnek ekstraktları ile de gerçekleştirilmiş ve böyle 4 farklı örnek miktarına bağlı olarak yüzde inhibisyon oranları ve bunların ortalamaları hesaplanmıştır (Kırca ve Özkan 2007).

Standart eğrinin hazırlanması

Ekstrakt kullanılarak saptanan yüzde inhibisyon oranları, standart bir antioksidan madde üzerinden ifade edilebilmesi için *Trolox* (suda çözünen E vitamini analoğu, sentetik bir antioksidant) standart maddesi kullanılmıştır. Bu amaçla, ilk önce 31.28 mg troloks (MW = 250.29) tartılıp kayıpsız olarak 50 mL'lik bir ölçü balonuna aktarılmış ve PBS ile çözündürülerek hacme tamamlanmak suretiyle 2.5 m*M* konsantrasyonda bir stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen 2.5 m*M* troloks stok çözeltisinden 10 mL'lik 4 ölçü balonuna, sıra ile 2, 4, 6 ve 8 mL stok çözelti alınıp balonlar PBS çözeltsi

ile hacmine tamamlanmıştır. Böylece 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 m*M* çalışma standart çözeltileri elde edilmiştir. Bu çalışma standart çözeltilerinden 10 µL alınıp, mikro küvet içerisinde bulunan 990 µL radikal çözeltisi üzerine eklendiğinde mikro küvet içerisinde oluşan son troloks konsantrasyonları 5 µ*M*, 10 µ*M*, 15 µ*M* ve 20 µ*M* olmuştur. Bu şekilde hazırlanmış troloksun farklı konsantrasyonlarından (5, 10, 15 ve 20 µ*M*) radikal çözeltisinin yüzde inhibisyon oranları saptanmıştır. Bu amaçla hazırlanmış standard eğri Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2 Troloks standart eğrisi

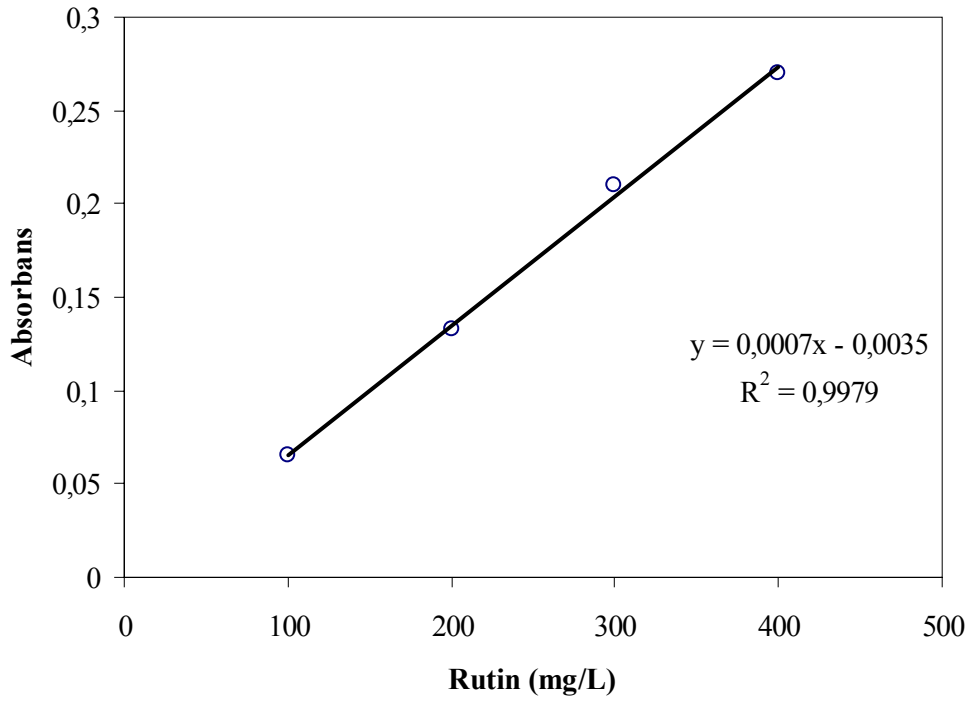
Kapari tomurcuklarının antioksidan aktivitesi, örneğe ait yüzde inhibisyon eğrisinin eğimi, troloks standart eğrisinin eğimine bölünmesi ve seyreltme faktörüyle çarpılmasıyla "m*M* troloks eşdeğeri/g örnek" (TEAC, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) hesap edilmiştir. Burada elde edilen sonuç, seyreltme faktörü göz önüne alınarak hesaplanmıştır.

3.2.2.2.11 Toplam fenolik madde tayini

Kapari tomurcuklarının toplam fenolik madde içerikleri, Waterhouse (2005) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem ile saptanmıştır. Toplam fenolik içerikleri

saptanacak tomurcuklar için, antioksidan aktivite tayininde olduğu gibi yeni bir ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmemiş, flavonoidlerin analizi için 3.2.2.2.9. No'lu başlık altında açıklanan yöntemle elde edilen ekstrakt bu analizde de kullanılmıştır. Kullanılan yöntem, fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayıracı ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan mavi rengin spektrofotometrik ölçülmesine dayanmaktadır. Bu amaçla, 20 µL kapari ekstraktı, 1580 µL damıtık su ve 100 µL Folin-Ciocalteu çözeltisi karıştırılarak 3 dak süre ile bekletilmiştir. Daha sonra bu çözelti üzerine 300 µL %35'lik doymuş Na_2CO_3 çözeltisi eklenerek 1 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda bir UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) yardımı ile 765 nm'de çözeltilerin absorbansları belirlenmiştir.

Sonuçlar "g rutin/100 g kapari (kuru ağırlık)" olarak ifade edilmiştir. Bu amaçla, kapari tomurcuklarının baskın flavonoid bileşiği olan rutin'in 100, 200, 300 ve 400 mg/L'lik seri çözeltilerinden yararlanılmıştır. Rutin'in bu farklı konsantrasyonları ve bu konsantrasyonlara karşı saptanan absorbans değerleri bir grafiğe aktarılarak standart eğri ile bu eğriyi tanımlayan eşitlik ($y = 0.0007x – 0.0035$, $R^2 = 0.9979$) elde edilmiştir (Şekil 3.3). Elde edilen bu eşitlik yardımı ile sonuçlar hesaplanmıştır.



Şekil 3.3 Rutin standart eğrisi

3.2.2.3 Mikrobiyolojik analizler

3.2.2.3.1 Laktik Asit Bakterisi (LAB) sayımı

İşlenmemiş kapari tomurcuklarından 10 g örnek, aseptik koşullara uyularak alınmış ve 90 mL steril serum fizyolojik (%0.85 NaCl) ile 2 dak süre ile homojenize edilmiştir. Salamuraya işlenmiş örneklerden ise, 10 mL salamura 90 mL steril serum fizyolojik (%0.85 NaCl) ile 2 dak süre ile manyetik karıştırıcıda homojenize edilmiştir. 10^{-1} olan bu seyreltiden serum fizyolojik kullanılarak 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} ve 10^{-6} seyreltikler hazırlanmıştır. Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Merck) besiyerine standart çift tabaka dökme plak yöntemi ile 10^{0} –10^{-6} aralığındaki tüm seyreltiklerden ekim yapılmış, 28^{o}C'da 48 saat inkübasyon sonrasında petri kutularındaki besiyeri üzerinde oluşan krem renkli, iğ şeklindeki kolonilerden 15–300 adet arasında olanlar sayılmıştır. Ham örneklerde gramında, işlenmiş örneklerde ise salamuranın mililitresinde koloni oluşturan birim hesaplanmıştır. Sayım sonuçları seyreltme faktörleri dikkate alınarak **k**oloni **o**luşturan **b**irim [kob/g (mL)] olarak ifade edilmiştir (Halkman ve Ayhan 2000).

3.2.3 Glukosinolatların parçalanmasına ilişkin kinetik katsayıların saptanması

Kinetik parametrelerin hesaplanmasında Özkan ve Cemeroğlu (2005) tarafından verilen hesaplama yöntemleri kullanılmıştır.

3.2.3.1 Reaksiyon hız sabitinin (k) hesaplanması

Bu çalışmada, kapari çiçek tomurcuklarının, %15 ve %20 tuz içeren salamuralarda 10°, 20° ve 30°C'lerdeki depolama sıcaklıklarındaki glukosinolatların parçalanma (degradasyon) kinetiği incelenmiştir. Uygulanan her bir sıcaklık (10°, 20° ve 30°C) için glukosinolatların parçalanmasına ilişkin olarak elde edilen deney verileri, aritmetik işaretli bir grafik kağıdına aktarılarak ve linear regresyon analizi uygulanmasıyla doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Böylece; glukosinolat kaybının sıfırıncı derece (zero-order) kinetik modele uygun olarak geliştiği saptanmıştır. Bu nedenle glukosinolatların parçalanma reaksiyonunda hız sabitinin hesaplanmasında sıfırıncı derece kinetik modeli tanımlayan 3.1 no'lu eşitlikten yararlanılmıştır.

$$C = -k_o\, t + C_o \qquad (3.1)$$

Burada;

C_o : Glukosinolatların başlangıç konsantrasyonu (µmol/g),

C : Glukosinolatların *t* süre sonundaki konsantrasyonu (µmol/g),

k_o : Sıfırıncı derece reaksiyon hız sabiti ($saat^{-1}$),

t : Süre (saat).

3.2.3.2 Aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanması

Reaksiyonun sıcaklığa bağımlılığı, yani glukosinolatların parçalanmasının sıcaklığa bağımlılığı 3.2 no'lu Arrhenius eşitliği yardımıyla aktivasyon enerjisinin (E_a) hesaplanmasıyla belirlenmiştir.

$$k = k_o \exp^{-Ea / RT} \qquad (3.2)$$

Hesaplamalarda 3.2 no'lu eşitliğin, 3.3 no'lu eşitlikte gösterilen diğer bir formu kullanılmıştır :

$$\ln k = \frac{-E_a}{R}\,\frac{1}{T} + \ln k_o \qquad (3.3)$$

Burada;

k : Reaksiyon hız sabiti ($saat^{-1}$),

k_o : Frekans faktörü ($saat^{-1}$),

E_a : Aktivasyon enerjisi (J mol^{-1}),

R : Gaz sabiti (8.314 J mol^{-1} K^{-1}),

T : Sıcaklık (K).

Aktivasyon enerjisinin hesaplanması amacıyla glukosinolatların parçalanmasına ilişkin farklı sıcaklıklardaki eğim değerlerinin (k) doğal logaritmaları (ln k) aritmetik ölçekli bir grafiğin "y" eksenine ve sıcaklık değerlerinin (Kelvin) resiprokali (1/T) aynı grafiğin "x" eksenine işlenerek, doğrusal bir eğri elde edilmiştir. Arrhenius grafiği denilen bu eğriye doğrusal regresyon analizi uygulanarak eğriyi tanımlayan eşitlik saptanmıştır. Eğrinin eğimi gaz sabiti ile çarpılarak, aktivasyon enerjisi hesaplanmıştır.

3.2.3.4 Q_{10} değerinin hesaplanması

Aktivasyon enerjisi gibi, reaksiyonun sıcaklığa bağımlılık düzeyini gösteren diğer bir katsayı olan Q_{10} değerinin hesaplanmasında 3.4 no'lu eşitlik kullanılmıştır.

$$Q_{10} = (k_2/k_1)^{10/(T2 - T1)} \quad (3.4)$$

Burada:

$k_1 = T_1$ derecede hız sabiti,
$k_2 = T_2$ derecede hız sabiti.

3.2.4 Verilerin istatiksel değerlendirilmesi

Kapari tomurcuklarının farklı sıcaklıklarda, %15 tuz içeren salamura ile işlenmesinin çeşitli kalite kriteleri (pH, asitlik, acılık, flavonoid kompozisyonu ve renk) üzerine etkisi ile ilgili elde edilen değerler, tesadüf parselleri deneme tertibinde faktöriyel düzende varyans analiz tekniği ile değerlendirilmiştir. Farklı sıcaklıklarda %20 salamura ile işlenmiş örneklerde ise, bu kalite kriterlerine ilişkin elde edilen veriler, 2 faktörden birisinin (süre) seviyeleri tekrarlanan ölçümlü varyans analiz tekniği ile değerlendirilmiştir. Alt grup ortalamaları arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Analizlerde tekerrür sayısı genel bileşim unsurları, toplam fenolik ve antioksidan aktivite için 4; pH, asitlik, LAB, glukokapparin, flavonoidler için en az 2; renk için 6 olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası (SE) şeklinde ifade edilmiştir. Ayrıca prosesin

başında ve sonunda kapari tomurcuklarında antioksidan ve toplam fenolik içeriklerinde meydana gelen değişim eş yapma t testi ile değerlendirilmiştir. Faktöriyel düzende varyans analizleri ve eş yapma t testi MINITAB (ver. 15, Minitab Inc., State College, PA, A.B.D.), Duncan çoklu karşılaştırma testi MSTAT-C (Michigan State University, East Lansing, MI, A.B.D.) ve tekrarlanan ölçümlü varyans analizi için SPSS (ver. 16.0, SPSS Inc., Chicago IL, A.B.D.) paket programlarından yararlanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Kapari Tomurcuklarının Başlıca Fiziksel ve Kimyasal nitelikleri

Denizli ilinden sağlanmış ve *Capparis ovata* Desf. var. *herbacea* olarak tür teşhisi yapılmış ham tomurcuklar, bir elek yardımı ile x≤8 mm boyutunda kalibre edildikten sonra nem, toplam kuru madde, yüz dane ağırlığı, pH değeri, titrasyon asitliği, protein, yağ, kül, asitte çözünmeyen kül, glukoz, fruktoz ve sakaroz miktarları saptanmıştır. Genel bileşime ait elde edilmiş veriler Çizelge 4.1'de toplu halde gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Kapari tomurcuklarının başlıca fiziksel ve kimyasal özellikleri

Analitik özellikler	**Miktar**
Nem (%)	78.90±0.04
Toplam kuru madde (%)	21.10±0.04
pH değeri	4.82±0.03
Yüz dane ağırlığı (g)	21.14±0.60
Titrasyon asitliği[a] (g/100 g)[1]	0.51±0.00
Glukoz (g/100 g)[1]	0.59±0.01
Fruktoz (g/100 g)[1]	0.79±0.02
Glukoz/ Fruktoz	0.75±0.01
Fruktoz/ Glukoz	1.33±0.01
Sakaroz (g/100 g)[1]	0.00±0.00
Protein (%)[2]	28.47±0.24
Yağ (%)[2]	1.12±0.05
Kül (%)[2]	8.42±0.07
Asitte çözünmeyen kül (%)[2]	0.00±0.00

[a] : susuz sitrik asit cinsinden, [1]: yaş ağırlık üzerinden, [2]: kuru ağırlık üzerinden

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, işlenmemiş ham kapari tomurcuklarının yaklaşık %79'unun su ve %21'inin toplam kuru maddeden oluştuğu saptanmıştır. Tomurcukların

0.51 g/100 g düzeyinde toplam asitlik (susuz sitrik asit) içerdiği ve pH değerinin 4.82 düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada uluslararası sınıflandırmada "Surfine" olarak adlandırılan 8 mm'den küçük tomurcuklar salamuraya işlenmiştir (Barbera 1991). 8 mm'den küçük bu tomurcukların yüz dane ağırlığı 21.14 g olarak tespit edilmiştir. Şeker içeriği açısından incelendiğinde; tomurcukların 0.59 g/100 g düzeyinde glukoz, 0.79 g/100 g düzeyinde fruktoz içerdiği, buna karşın sakaroz içermediği saptanmıştır. Şeker içeriklerine ilişkin elde edilmiş bu düşük değerler göz önüne alınınca, kapari tomurcuklarının laktik asit fermentasyonuna yeterince elverişli bir materyal olmadığı söylenebilir. Diğer taraftan tomurcukların kuru ağırlık üzerinden %28.47 protein, %1.12 yağ ve %8.42 kül içerdiği belirlenmiştir. Kantitatif açıdan yüksek bir protein ve kül içeriğine sahip olan tomurcukların beslenme açısından iyi bir mineral kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Tomurcuklarda toprak kaynaklı kirlilik göstergesi kabul edilen "asitte çözünmeyen kül" değeri %0.0 bulunmuştur. Elde edilen bu değerin, tomurcukların toprak ile doğrudan temas halinde olmamasından ve elle hasat edilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İşlenmemiş ham kapari tomurcuklarının genel bileşim unsurlarına yönelik çalışmalarda bulgularımızla benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Rodrigo *et al*. (1992), *Comun* ve *Mallorquina* çeşidi ham kapari tomurcuklarının bileşimi üzerine yaptıkları çalışmada tomurcukların yaş ağırlık üzerinden ortalama %79 nem, %1.6 kül, %5.8 protein ve %1.6 oranında yağ içermekte olduğunu belirlemişlerdir. Yaş ağırlık üzerinden saptanan bu değerler, kuru ağırlık üzerinden hesaplandığında, kapari tomurcuklarının %7.6 kül, %27.6 protein ve %7.6 oranında yağ içermekte olduğu görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen nem, kül ve protein içeriklerinin, araştırma bulgularımız ile uyumlu olduğu, buna karşın yağ içeriğinin araştırmamızda elde edilen değerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada, 8 mm'den küçük ve büyük olmak üzere iki tomurcuk büyüklüğü, Haziran ve Ağustos olmak üzere iki farklı hasat zamanı ve iki çeşit incelenmiştir. Büyük tomurcukların (x>8 mm) daha yüksek bir nem ve daha düşük bir kül içermekte olduğu bulunmuştur. Protein miktarının ise, küçük tomurcuklarda daha fazla olduğu (%20-40) saptanmıştır (Rodrigo *et al*. 1992).

Ülkemizde yaygın olarak yetişen *Capparis spinosa* ve *Capparis ovata* çeşidi kapari tomurcuklarının genel bileşim unsurları üzerine yapılan bir çalışmada, Ağustos ayında

hasat edilen 8 mm'den küçük *Capparis ovata* çeşidi kapari tomurcuklarının %79.6 nem, %31.4 protein, %1.80 yağ, %7.18 kül ve %3.22 oranında indirgen şeker (kuru madde üzerinden) içerdiği belirlenmiştir (Özcan 1996, Özcan and Akgül 1998, Özcan 1999). Araştırmamızda materyal olarak seçilen *Capparis ovata* çeşidine ilişkin elde ettiğimiz genel bileşim unsurlarının bu çalışmada elde edilen veriler ile uyumlu olduğu görülmüştür. Buna karşın araştırıcıların belirledikleri pH değeri ve şeker içeriğinin araştırmamızda elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Giuffrida *et al*. (2002), İtalya'nın Salina adasından topladıkları *Capparis spinosa* L. çeşidi kapari tomurcuklarını büyük (>14 mm), orta (9-14 mm) ve küçük (<9 mm) olacak şekilde sınıflandırdıktan sonra tomurcukların kimyasal bileşimini incelemişlerdir. İşlenmemiş küçük (<9 mm) tomurcukların nem içeriklerini %80.41 olarak belirlemişler ve tomurcuk büyüklüğü arttıkça nem içeriğinin de arttığını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar küçük tomurcukların kül, protein, yağ ve karbonhidrat içeriklerini yaş ağırlık üzerinden sırasıyla %1.5, %8.98, %2.01 ve %7.1 olarak belirlemişlerdir. Tomurcuk büyüklüğü arttıkça kül, protein ve yağ içeriklerinin azaldığını saptamışlardır. Araştırmacıların bu genel bileşim unsurlarına yönelik elde ettikleri verilerden yalnızca kül ve nem değerlerinin, tarafımızdan elde edilen değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür. Araştırmacıların tomurcukların protein ve yağ içeriklerine ilişkin elde ettikleri değerler araştırma bulgularımızla kıyaslandığında bu değerlerin çok yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun, değinilen araştırmacıların inceledikleri kapari çeşidinin, tarafımızdan incelenen çeşit ile aynı olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

4.2 Kapari Tomurcuklarının İşlenmesi Sırasında pH ve Titrasyon Asitliği Değişimi

Kapari ham tomurcukları x≤8 mm olacak şekilde sınıflandırıldıktan sonra %15 tuz içeren salamuralarda bekletilmesi sırasında 10°, 20° ve 30°C'de 10 gün süreyle, 30°C'de ise 90 gün süreyle salamura sıvısında asitlik ve pH değişimi izlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Çizelge 4.2'den de görüldüğü gibi, %15'lik salamurada depolanan örneklerde sıcaklık artışı ile daha hızlı bir asitlik artışı ve pH azalışı gözlenmiştir.

Çizelge 4.2 %15 tuz içeren salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de pH ve titrasyon asitliği değişimi[1]

%15 salamuralı örnekler						
Sıcaklık	**10°C**		**20°C**		**30°C**	
Süre (saat)	pH	Asitlik[2]	pH	Asitlik[2]	pH	Asitlik[2]
0	7.89±0.00^{aA}	0.00±0.00^{gA}	7.89±0.00^{aA}	0.00±0.00^{gA}	7.89±0.00^{aA}	0.00±0.00^{aA}
6	5.42±0.04^{bA}	0.07±0.00^{fA}	5.45±0.06^{bA}	0.08±0.01^{fA}	5.39±0.01^{bA}	0.09±0.00^{fA}
12	5.42±0.04^{bA}	0.07±0.01^{fB}	5.36±0.01^{bcA}	0.12±0.00^{efA}	5.31±0.09^{bcA}	0.15±0.00^{eA}
18	5.41±0.02^{bA}	0.12±0.01^{deB}	5.25±0.04^{cdB}	0.16±0.01^{eA}	5.20±0.00^{cB}	0.18±0.01^{deA}
24	5.43±0.02^{bA}	0.11±0.01^{efC}	5.28±0.02^{bcdB}	0.16±0.01^{eB}	5.15±0.01^{cB}	0.20±0.01^{dA}
36	5.35±0.00^{bA}	0.13±0.01^{deC}	5.11±0.01^{dB}	0.21±0.00^{dB}	4.63±0.01^{dC}	0.33±0.01^{cA}
48	5.33±0.07^{bA}	0.16±0.01^{dC}	4.90±0.06^{eB}	0.25±0.01^{dB}	4.56±0.02^{dC}	0.40±0.01^{bA}
72	5.12±0.00^{cA}	0.21±0.01^{cC}	4.67±0.02^{fB}	0.34±0.01^{cB}	4.50±0.01^{dC}	0.60±0.01^{aA}
120	4.84±0.03^{dA}	0.28±0.01^{bC}	4.44±0.02^{gB}	0.43±0.01^{bB}	4.50±0.00^{dB}	0.60±0.01^{aA}
240	4.45±0.00^{eA}	0.35±0.06^{aC}	4.51±0.00^{fgA}	0.49±0.01^{aB}	4.54±0.00^{dA}	0.58±0.01^{aA}
Süre (gün)						
30					4.51±0.01	0.56±0.01
45					4.50±0.00	0.57±0.00
60					4.48±0.00	0.58±0.00
90					4.48±0.02	0.58±0.01

[1]: Titrasyon asitliği ve pH tayini salamura sıvısında yapılmıştır
[2]: laktik asit cinsinden g/100 mL olarak ifade edilmiştir
Herbir pH ve asitlik için, aynı sütundaki farklı küçük harfler (a-j) ve aynı satırdaki farklı büyük harfler (A-C) istatiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

%15 salamura ile işlenmiş örneklerde 10. günün sonunda 10°C'de 0.35 g/100 mL, 20°C'de 0.49 g/100 mL ve 30°C'de 0.58 g/100 mL asitlik değerlerine ulaşılmıştır. %15 salamuralı 30°C'de depolanan örneklerde asitliğin 72. saatin sonunda 0.60 g/100 mL değerine ulaştığı ve 90 gün boyunca önemli bir değişim olmadığı saptanmıştır. %15 salamuralı örneklerde 10. günün sonunda ulaşılan asitlik değerleri, sıcaklığın asitlik üzerine etkili olduğunu ortaya koymuştur ($p<0.01$). Örnekler pH değişimi açısından irdelendiğinde ise, 10°, 20° ve 30°C'de depolanan %15 salamura ile işlenmiş örneklerde 10. günün sonunda sırasıyla 4.45, 4.51 ve 4.54 pH değerlerine ulaşılmıştır. 30°C'de depolanan %15 salamura ile işlenmiş örneklerde depolamanın 72. saatinden itibaren pH değerlerinde önemli bir değişim gözlenmemiştir.

%15'lik salamurada yapıldığı gibi bu defa, taze tomurcukların %20 tuz içeren salamurada 10°, 20° ve 30°C'de depolanması sırasında 90 gün süreyle asitlik ve pH değişimi izlenmiştir (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi 10°C'de bekletilen %20 salamuralı örneklerde 10. günün sonunda asitlik 0.35 g/100 mL düzeyine, 20° ve 30°C'de ise 0.48 g/100 mL düzeyine ulaşıldığı saptanmıştır. 30°C'de depolanan %20 salamuralı örneklerin asitlik gelişimini 72. saatin sonunda tamamladığı gözlenmiştir. Tüm prosesin sonunda ulaşılan asitlik değerleri 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 0.45, 0.51 ve 0.51 g/100 mL olarak saptanmıştır. 30°C'de %20 salamuralı örneklerde pH'nın 72 saat sonunda 4.52 değerine ulaştığı ve daha sonra 90 günlük tüm proses boyunca önemli değişimler olmadığı saptanmıştır. %20 salamuralı örneklerde, 10. günün sonunda ulaşılan asitlik değerlerine sıcaklığın 10°C'de etkisinin olduğu görülürken ($p<0.05$), 20° ve 30°C arasındaki sıcaklık farklılığının önemli olmadığı saptanmıştır. Benzer durum 90. günün sonunda da saptanmıştır. 10°, 20° ve 30°C'de depolanan örneklerde 10. günün sonunda pH değeri sırasıyla 4.45, 4.47 ve 4.52 düzeyine ulaşmıştır. Tüm prosesin sonunda ulaşılan pH değerleri ise, 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 4.46, 4.48 ve 4.48 olarak saptanmıştır. 90 günün sonunda ulaşılan bu pH değerlerine sıcaklığın etkili olmadığı anlaşılmıştır.

Çizelge 4.3 %20 tuz içeren salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de pH ve titrasyon asitliği değişimi[1]

%20 salamuralı örnekler						
Sıcaklık	**10°C**		**20°C**		**30°C**	
Süre (saat)	pH	Asitlik[2]	pH	Asitlik[2]	pH	Asitlik[2]
0	7.89 ± 0.00^{aA}	0.00 ± 0.00^{iA}	7.89 ± 0.00^{aA}	0.00 ± 0.00^{jA}	7.89 ± 0.00^{aA}	0.00 ± 0.00^{jA}
6	5.69 ± 0.11^{bA}	0.04 ± 0.00^{hB}	5.71 ± 0.08^{bA}	0.05 ± 0.00^{iB}	5.51 ± 0.16^{bB}	0.08 ± 0.02^{iA}
12	5.53 ± 0.02^{cA}	0.07 ± 0.01^{gB}	5.41 ± 0.04^{cB}	0.09 ± 0.01^{hA}	5.26 ± 0.00^{cC}	0.12 ± 0.00^{hA}
18	5.45 ± 0.02^{cA}	0.09 ± 0.00^{fgC}	5.33 ± 0.07^{cB}	0.11 ± 0.01^{ghB}	5.05 ± 0.05^{dC}	0.16 ± 0.02^{gA}
24	5.42 ± 0.07^{cA}	0.09 ± 0.00^{fgC}	5.12 ± 0.02^{dB}	0.15 ± 0.01^{fB}	4.83 ± 0.00^{eC}	0.19 ± 0.00^{fA}
36	5.29 ± 0.06^{dA}	0.11 ± 0.01^{fB}	5.13 ± 0.00^{dB}	0.13 ± 0.00^{fgB}	4.61 ± 0.01^{fC}	0.28 ± 0.01^{eA}
48	5.17 ± 0.01^{eA}	0.12 ± 0.00^{eC}	4.87 ± 0.01^{eB}	0.19 ± 0.02^{eB}	4.54 ± 0.01^{fgC}	0.34 ± 0.00^{dA}
72	4.85 ± 0.00^{fA}	0.17 ± 0.00^{dB}	4.60 ± 0.00^{fB}	0.46 ± 0.00^{cA}	4.52 ± 0.00^{fgB}	0.46 ± 0.00^{cA}
120	4.58 ± 0.00^{gA}	0.23 ± 0.00^{cC}	4.49 ± 0.00^{fgA}	0.43 ± 0.00^{dB}	4.52 ± 0.00^{fgA}	0.47 ± 0.01^{bcA}
240	4.45 ± 0.00^{hB}	0.35 ± 0.01^{bB}	4.47 ± 0.01^{gAB}	0.48 ± 0.03^{bcA}	4.52 ± 0.03^{fgA}	0.48 ± 0.02^{abA}
Süre (gün)						
30	4.44 ± 0.02^{hA}	0.44 ± 0.01^{aB}	4.45 ± 0.03^{gA}	0.49 ± 0.02^{abA}	4.51 ± 0.00^{fgA}	0.49 ± 0.00^{abA}
45	4.40 ± 0.00^{hA}	0.46 ± 0.01^{aB}	4.45 ± 0.03^{gA}	0.49 ± 0.01^{abA}	4.48 ± 0.00^{gA}	0.50 ± 0.01^{aA}
60	4.43 ± 0.01^{hA}	0.45 ± 0.01^{aB}	4.48 ± 0.00^{gA}	0.51 ± 0.01^{aA}	4.48 ± 0.00^{gA}	0.51 ± 0.00^{aA}
90	4.46 ± 0.02^{ghA}	0.45 ± 0.00^{aB}	4.48 ± 0.01^{fgA}	0.51 ± 0.00^{aA}	4.48 ± 0.00^{gA}	0.51 ± 0.00^{aA}

[1]: Titrasyon asitliği ve pH tayini salamura sıvısında yapılmıştır
[2]: laktik asit cinsinden g/100 mL olarak ifade edilmiştir
Herbir pH ve asitlik için, aynı sütundaki farklı küçük harfler (a-j) ve aynı satırdaki farklı büyük harfler (A-C) istatiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

Hem %15 hem de %20 tuz içeren salamuralarda depolanan örneklerde her üç sıcaklıkta (10°, 20° ve 30°C) 10 günden sonra kayda değer bir asitlik ve pH değişiminin olmadığı sonucuna varılmıştır. Titrasyon asitliği ile saptanan asitlik değerlerinin laktik asit fermentasyonu sonucu meydana gelen laktik asitten ziyade, tomurcukların salamuraya işlenmesi sırasında yapısındaki bileşenlerden veya bunların işleme ile asidik bileşenlere dönüşmesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Ağustos ayında hasat edilmiş $8 < x \leq 13$ mm boyutundaki *Capparis ovata* çeşiti tomurcukları %5, %10, %15 ve %20 tuz içeren salamuralarda işleyen Özcan (1996) 10. günün sonunda %15 salamuralı örneklerde %0.74 asitlik ve 4.96 pH değerleri saptarken, 60. günün sonunda %0.57 asitlik ve 4.90 pH değeri saptamıştır. Aynı çalışmada %20 salamuralı örneklerde 10. günün sonunda %1.1 asitlik ve 4.67 pH değerleri 60. günün sonunda %0.99 asitlik ve 4.43 pH değeri belirlenmiştir. Üç farklı sıcaklığın ve iki farklı tuz konsantrasyonun incelendiği tarafımızdan yürütülmüş bu çalışmada ise, %15 salamuralı 30°C'de depolanan örneklerde 10. günün sonunda ulaşılan asitlik (0.58 g/100g) ve pH (4.54) değerinin Özcan'ın (1996) elde ettiği bulgularla uyumlu olmadığı; ancak 60. günün sonunda ulaşılan asitlik değeri (0.58 g/100g) ile uyumlu, pH (4.48) değeri ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Yine tarafımızdan yürütülmüş bu çalışmada %20 salamuralı 30°C'de depolanan örneklerde, 10. günün sonunda 0.48 g/100g düzeyinde asitlik ve 4.52 pH değerine ulaşılmıştır. Özcan (1996) %20 tuz içeren salamura ile işlediği örneklerinde 10. günün sonunda %1.1 asitlik ve 4.67 pH değeri saptamış, ve elde ettiği bu değerlerin tarafımızdan saptanan değerlerden daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Benzer durum 60. günün sonunda da gözlenmiş, bu sürenin sonunda ulaşılan asitlik değeri bu çalışma ile uyumlu olmadığı, yalnızca pH değerinin benzer olduğu saptanmıştır.

4.3 Kapari Tomurcuklarının Salamurada Depolanması Sırasında Laktik Asit Bakteri (LAB) Sayısındaki Değişmeler

Kapari tomurcuklarının %15 salamurada 30°C'de depolanması boyunca laktik asit bakterilerinin gelişimi izlenmiştir (Çizelge 4.4). Kapari tomurcuklarının başlangıçtaki laktik asit bakteri sayısı $3.83x10^7$ kob/g düzeyinde iken, depolama ile bu sayıda azalma görülmüş ve daha 3. günün sonunda <10 kob/mL seviyesine düşmüştür. Oda sıcaklığında laktik asit bakterileri (LAB) gelişimi için uygun tuz konsantrasyonunun %5-10 arasında olduğu bilinmektedir (Özcan 1999).

Çizelge 4.4 %15'lik salamurada işlenmiş örneklerin 30°C'de depolanması boyunca laktik asit bakterisi (LAB) değişimi

Süre (gün)	Laktik asit bakteri (LAB) sayısı
0	$3.83x10^7$ kob/g
1	$4.05x10^4$ kob/mL
2	$4.57x10^4$ kob/mL
3	<10 kob/mL

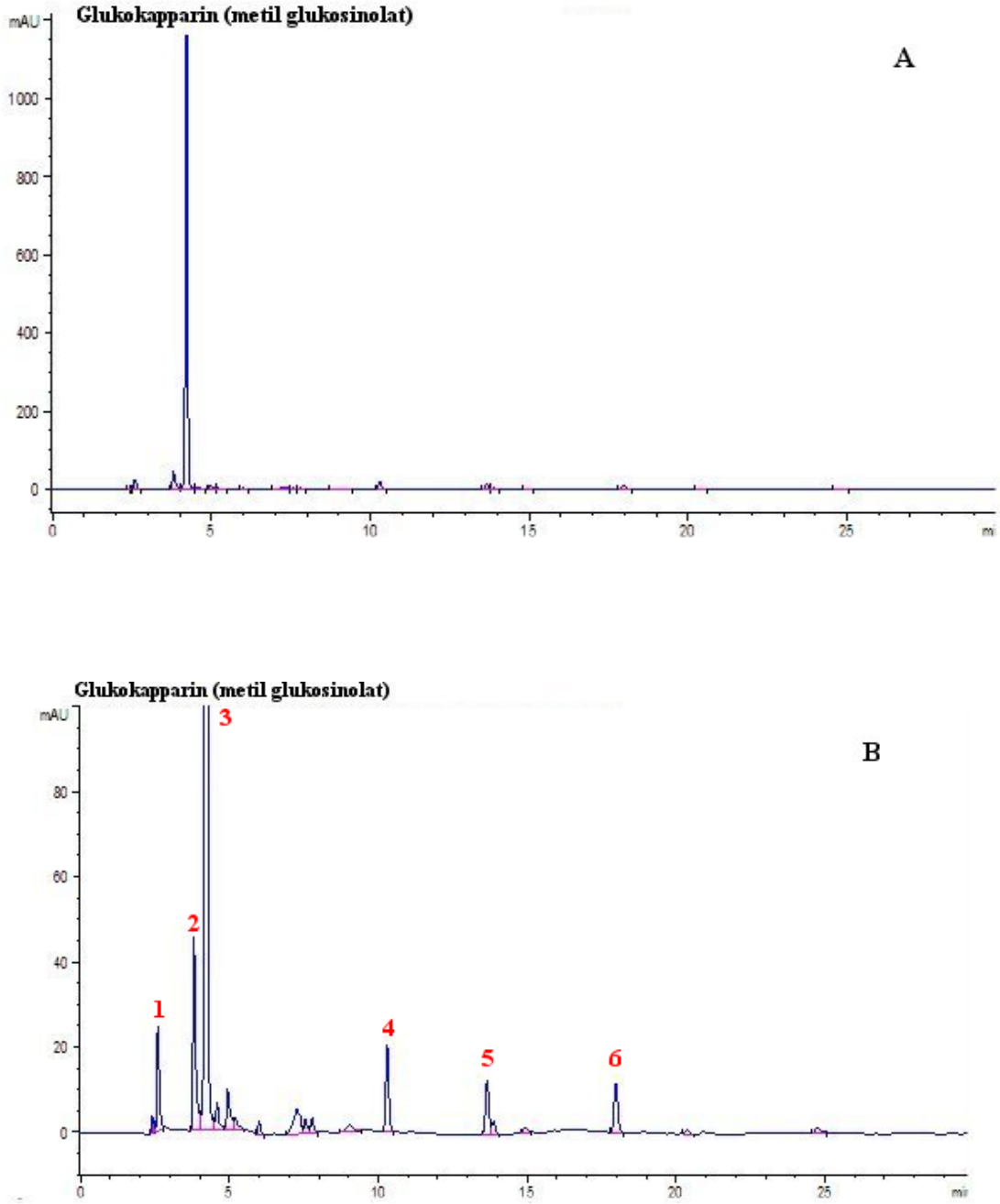
Alvarriuz *et al*. (1990), %5, %7, %10, %15 ve %20 tuz içeren salamuralar kullanarak kapari tomurcuklarında 30°C'de 90 gün boyunca LAB gelişimini izlemiş, %7 ve daha yüksek tuz konsantrasyonundaki salamuraların kullanıldığı örneklerde ilk 10 gün içerisinde LAB sayısının hızla azaldığını saptamışlardır. Buna karşın Sanchez *et al*. (1992) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, yine farklı tuz konsantrasyonlarındaki salamuralarda işlenen kapari tomurcuklarının LAB sayısının 12 gün içerisinde 10^6 kob/mL seviyesine ulaştığı, *Enterobacteriaceae*'nın 2 günün sonunda tamamen inhibe olduğunu saptamışlardır. Özcan (1996) tarafından gerçekleştirilen ve %5, %10, %15 ve %20 konsantrasyonundaki salamuralı örneklerde, konsantrasyonunun artmasına paralel olarak LAB sayısının zamanla azaldığı, yalnızca %5 tuz içeren salamuralı örneklerde LAB sayısının arttığı saptanmıştır. Özcan (1996), %15 ve %20 salamuralı örneklerde 10. günün sonunda sırasıyla $1.17x10^7$ kob/mL ve $7.4x10^5$ kob/mL düzeyinde LAB saptamıştır. %15 salamuralı örneklerde 30. günde tuz konsantrasyonun %13.92'ye ulaştığı ve LAB'nin tamamen inhibe olduğunu, buna karşın %20 salamuralı örneklerde

20. günün sonunda ulaşılan %12.88 tuz konsantrasyonunda LAB'nin tamamen inhibe olduğunu belirlemiştir. Kapari tomurcuklarının işlenmesi sırasındaki mikrobiyel gelişime ilişkin elde ettiğimiz verilerin, Alvarriuz *et al*. (1990) tarafından ulaşılan bulgularla uyumlu olmasına karşın, Sanchez *et al*. (1992) ve Özcan'ın (1996) çalışmaları ile ulaşılmış bulgularla uyumlu olmadığı görülmüştür. Tarafımızdan yürütülen bu çalışmada fermentasyon sonucu önemli bir asitlik gelişimi gerçekleşmediğinden kapari tomurcukları için uygulanan bu prosesin bir fermentasyon değil, yalnızca yüksek tuz konsantrasyonlarında acılık giderilmesi işlemi olduğu düşünülmektedir. Depolama sırasında kısa bir süre içerisinde laktik asit bakterileri sayısında gözlenen azalmada, başlangıç glukosinolatların kısa bir süre sonunda parçalanma ürünlerinin antibakteriyel aktivitesinin de rol oynadığı düşünülmektedir.

4.4 Kapari Tomurcuklarının Glukosinalat İçeriği

4.4.1 Glukosinalatların HPLC analiz sonuçları

Kapari tomurcuklarının yapısında bulunan en önemli bileşen grubu glukosinolatlardır. Tomurcukların acı lezzetinden sorumlu olan bu bu bileşen grubu, HPLC tekniği yardımıyla belirlenmiştir. Kapari örneklerinin glukosinolat kompozisyonunu gösteren bu araştırma sırasında saptanmış tipik bir HPLC kromatogramı Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Şekil 4.1. A incelendiğinde, kapari tomurcuklarının glukosinolat kompozisyonunun yalnızca bir bileşenden oluştuğu anlaşılsa da, aynı kromatogram 100 mAU ölçekte (Şekil 4.1. B) değerlendirildiğinde ise, iz miktarda da olsa birçok glukosinolatın mevcut olduğu anlaşılmıştır. Ancak Şekil 4.1. B'den de anlaşılacağı üzere yalnızca en yüksek konsantrasyondaki 6 adet pik göz önünde bulundurulmuştur. Tüm glukosinolat kompozisyonu, bu iz miktardaki 6 adet glukosinolat ile beraber değerlendirildiğinde glukosinolat profilinin yaklaşık %92.1'inin glukokapparinden oluştuğu belirlenmiştir. Diğer iz miktardaki glukosinolatların standart maddelerinin mevcut bulunmaması nedeniyle tanımlaması gerçekleştirilememiştir. Bu nedenle araştırmada acılık bileşenlerinin değişimi, yalnızca tanımlanması yapılmış ana bileşen olan glukokapparin üzerinden incelenmiştir.



Şekil 4.1 Kapari tomurcuklarında (T=0) glukosinolat kompozisyonuna ilişkin tipik bir HPLC kromatogramı.

A: 1200 mAU ölçekte, **B**: 100 mAU ölçekte görünümü

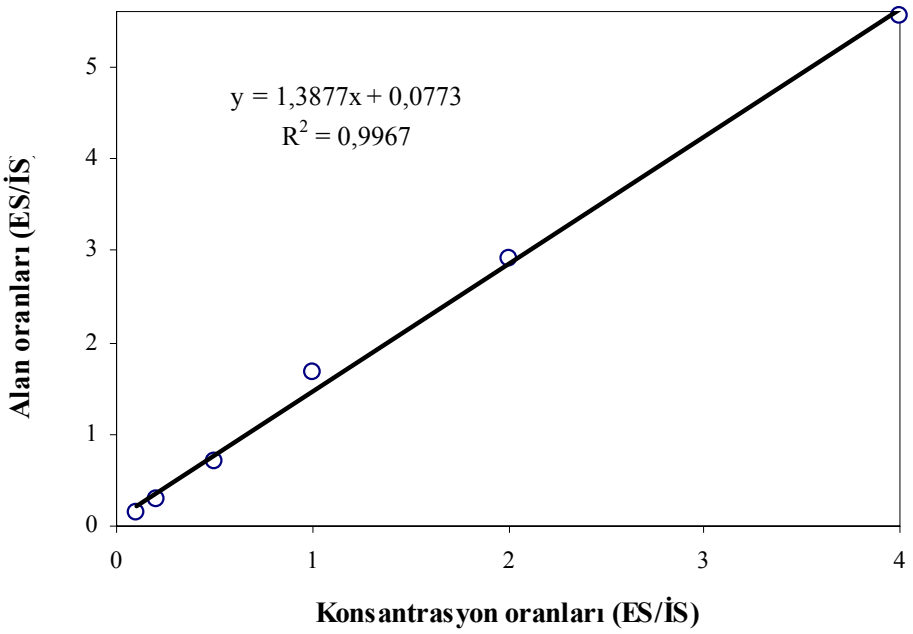
Miktarsal hesaplama ve tanımlama

Bu amaçla öncelikle standart maddelerin 20 m*M*'lık stok çözeltileri hazırlanmış ve daha sonra bu stok çözeltilerden 1, 2, 3, 5, 10, 20 ve 40 µmol/L glukokapparin (External

Standart, ES) ve 10 µmol/L glukotropaeolin (İnternal Standart, İS) içeren çözeltiler enzimatik olarak saflaştırılıp HPLC'de analiz edilmiştir. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında yararlanılan veriler Çizelge 4.5'de verilmiştir. Konsantrasyon oranları (x), bunlara karşı elde edilmiş alanların oranları (y) bir grafiğe işlenerek, standart eğri ve bu eğriyi tanımlayan "y=1.3877x + 0.0773" eşitliğine ulaşılmıştır (Şekil 4.2). Glukokapparinin kantitatif hesaplanmasında internal standart tekniği kullanılmıştır. Bu teknikte her ekstraksiyon başlangıcında belli bir miktarda internal standart (glukotropaeolin) örneğe eklenmekte ve ekstraksiyon boyunca miktarı saptanacak bileşen (glukokapparin) ile beraber ekstraksiyona tabi tutulmaktadır. Eğer ekstraksiyon sırasında herhangi bir kayıp söz konusu ise, bu kayıp başta miktarı bilinen internal standartda da meydana gelecektir. Dolayısıyla glukokapparine ilişkin bu hesaplamada internal standart dikkate alınarak hesaplama gerçekleştirildiği için karşılaşılacak herhangi bir kaybın sonuca yansıması önlenmiş olmaktadır. Böylece geri kazanım (recovery) testlerine gereksinim duyulmadan sonuç alınmaktadır.

Çizelge 4.5 Glukokapparin standart eğrisi için saptanmış veriler

External standart (glukokapparin)		Internal standart (glukotropaeolin)			
Konsantrasyon (µmol/L)	Alan	Konsantrasyon (µmol/L)	Alan	Konsantrasyon oranları, ES/IS (X)	Alanların oranı, ES/IS (Y)
1	242	10	1720	0.1	0.1407
2	494	10	1700	0.2	0.2905
5	1203	10	1712	0.5	0.7026
10	2921	10	1740	1	1.6787
20	5267	10	1803	2	2.9212
40	9531	10	1716	4	5.5541

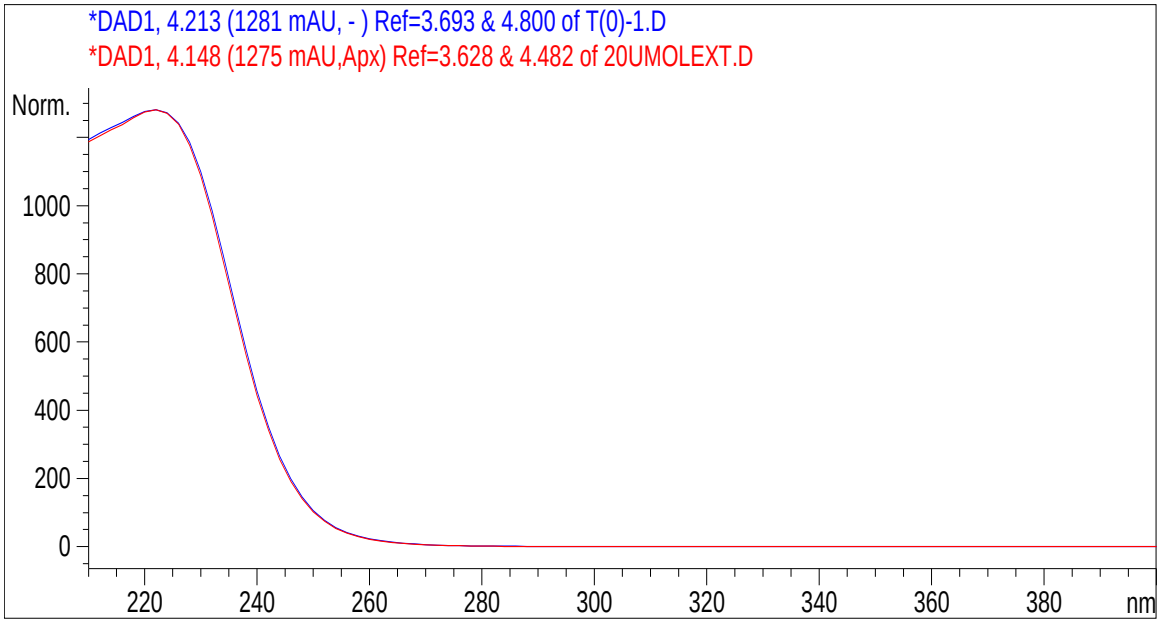


Şekil 4.2 Glukokapparin standart eğrisi

Araştırmada glukokapparin tanımlanması aşağıda değinilen 3 farklı şekilde gerçekleştirilmiştir.

- Standart glukokapparinin geliş süresinden yararlanılması ile,
- standart glukokapparinin UV spektrumu ile örneğe ait bileşenin UV spektrumu karşılaştırılması ile (Şekil 4.3),
- standart glukokapparinin ekstraksiyon sırasında örneğe eklenmesi ile gerçekleştirilmiştir.

Glukokapparinin tanımlanmasında öncelikle standart glukokapparinin geliş süresi (4.1 dak) dikkate alınmış, daha sonra bu esas pikin PDA (PhotoDiodeArray) detektör yardımı ile saptanan UV spektrumu, standart glukokapparin UV spektrumu ile karşılaştırılmıştır. Şekil 4.3'den de görüleceği üzere örnekteki baskın bileşen pikinin UV spektrumunun standart glukokapparin'in UV spektrumu ile tam olarak örtüştüğü görülmüştür.



Şekil 4.3 Standart glukokapparin ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması

4.4.2 Salamura yapılmış tomurcuklarda glukosinolatların parçalanmasının izlenmesi

Kapari tomurcuklarının %15'lik salamura ile 10°, 20° ve 30°C'de depolanması sürecinde glukokapparinin parçalanmasına ilişkin değişim Çizelge 4.6'da toplu halde verilmiştir. Çizelge 4.6'de de görüldüğü üzere tomurcukların prosesin başında glukokapparin içeriğinin kuru ağırlık bazında 259.69 µmol/g düzeyinde olduğu saptanmıştır. %15'lik salamurada depolanan bu örneklerin 10°C'de 240 saat (10 gün) bekletilmesi sonunda glukokapparin içeriğinin 259.69 µmol/g KA'dan 6.18 µmol/g KA düzeyine düştüğü belirlenmiş; %97.6 oranında bir parçalanmanın gerçekleştiği hesaplanmıştır. 20°C'de 240 saatin sonunda glukokapparinin tamamen parçalandığı, buna karşın 120 saatin sonunda ulaşılan 4.43 µmol/g KA ile 240 saatin sonunda ulaşılan 0.00 µmol/g KA arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı, dolayısıyla parçalanmanın 72 saatin sonunda sona erdiği anlaşılmıştır. Benzer bir durum 30°C'de de gözlenmiş, 120 saatin sonunda glukokapparinin tamamen parçalandığı görülse de, 36 saatten sonra ulaşılan değerler arasında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı, dolayısıyla parçalanmanın 48 saatin sonunda tamamlandığı görülmüştür. Sıcaklıklar kıyaslandığında ise, 120 saatten sonra 20° ve 30°C'de saptanan glukokapparin miktarları arasında farklılığın önemli olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.6 %15 konsantrasyondaki salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de glukokapparin içeriğinin değişimi (µmol/g KA)*

	Sıcaklık		
Süre (saat)	**10°C**	**20°C**	**30°C**
0	259.69 ± 1.76^{aA}	259.69 ± 1.76^{aA}	259.69 ± 1.76^{aA}
6	256.92 ± 1.58^{aA}	241.38 ± 4.89^{bAB}	235.84 ± 5.24^{bB}
12	237.58 ± 3.47^{bA}	230.05 ± 2.41^{bcA}	202.72 ± 0.30^{cB}
18	233.19 ± 3.80^{bA}	222.55 ± 0.96^{cdA}	173.1 ± 3.56^{dB}
24	220.05 ± 1.31^{cA}	214.84 ± 3.05^{dA}	107.5 ± 5.17^{eB}
36	216.15 ± 1.43^{cdA}	185.56 ± 3.34^{eB}	21.58 ± 0.79^{fC}
48	207.87 ± 1.37^{dA}	161.47 ± 9.87^{fB}	3.36 ± 0.23^{gC}
72	196.69 ± 4.82^{eA}	76.67 ± 0.19^{gB}	0.11 ± 0.01^{gC}
120	125.21 ± 5.97^{fA}	4.43 ± 0.88^{hB}	0.00 ± 0.00^{gB}
240	6.18 ± 0.74^{gA}	0.00 ± 0.00^{hB}	0.00 ± 0.00^{gB}

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a-h) ve aynı satırdaki farklı büyük harfler (A-C) istatiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

Literatürde kapari tomurcuklarının depolanması sırasında meydana gelen değişime yönelik bir çalışma bulunmamasına karşın, işlenmemiş ham tomurcukların glukosinolat kompozisyonunu belirlemeye yönelik bir çalışma Matthaus and Özcan (2002) tarafından gerçekleştirilmiştir. Matthaus and Özcan (2002), *Capparis ovata* Desf. var. *canescens* ve *Capparis spinosa* L. var *spinosa* çeşidi kapari tomurcuklarının glukosinolat kompozisyonlarını belirledikleri çalışmalarında, enzimatik yöntem ile saflaştırdıkları ekstraktları HPLC yardımı ile analiz etmişlerdir. Referans kolza tohumu (BCR RM 367) yardımı ile 12 farklı glukosinolat tanımlamışlar ve toplam

glukosinolatın %90'ını glukokapparinden oluştuğunu saptamışlardır. *Capparis ovata* Desf. var. *canescens* çeşidi x≤8 mm boyutundaki ham tomurcukların 24.23 µmol/g YA düzeyinde glukokapparin ve toplamda ise 25.52 µmol/g YA, düzeyinde glukosinolat içeriğine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Araştırıcılar tomurcuk büyüklüğünün glukosinolat içeriğine etkili olduğunu saptamışlardır. Sözü edilen bu araştırmada glukokapparin miktarına ilişkin değerler yaş ağırlık üzerinden verilmiş olup, kuru ağırlık üzerinden hesaplandığında 121.15 µmol/g KA'a eş olduğu görülmüştür. Tarafımızdan gerçekleştirilen bu araştırmada, kapari tomurcuklarına ilişkin elde ettiğimiz glukokapparin içeriği 259.69 µmol/g KA saptanmıştır. Bu değerin, Matthaus and Özcan (2002) tarafından elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Kapari tomurcuklarının %20'lik salamura ile 10°, 20° ve 30°C'de işlenmesi sırasında glukokapparinin parçalanmasına ilişkin meydana gelen değişimler, Çizelge 4.7'da toplu halde verilmiştir. Çizelge 4.7 incelendiğinde, 10°C'de işlenen kapari tomurcuklarının başlangıç glukokapparin içeriği 259.69 µmol/g KA'dan 240 saatin sonunda 14.14 µmol/g KA düzeyine düştüğü ve bu sürede glukokapparinin %94.55'inin parçalandığı belirlenmiştir. %20'lik salamurada hazırlanmış bu örneklerde glukokapparinin 20°C'de 240 saatin sonunda ve 30°C'de 120 saatin sonunda tümüyle kaybolduğu saptanmıştır. Ancak 20° ve 30°C'deki parçalanma istatistiksel olarak irdelendiğinde, 20°C'de 72 saat sonunda ulaşılan değerler arasında farklılık olmadığı görülmüştür. Bu nedenle 20°C'de kapari örneklerinin glukokapparin içeriğinin tümüyle parçalanması 72 saatin sonunda tamamlanmıştır. Benzer durum 30°C'deki örneklerde de gözlenmiş, yine 72 saatten sonra elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı saptanmıştır. Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesinden, 30°C'de işlenmiş kapari tomurcuklarının glukokapparin içeriğinin parçalanmasının, 20°C'de olduğu gibi 72 saatin sonunda tamamlandığı anlaşılmıştır. Çizelge 4.7'de sabit sürelerde sıcaklıkların glukokapparin parçalanması üzerine etkisi kıyaslandığında ise, 48 saatten sonra sıcaklığın 20° ve 30°C için glukokapparin miktarına etkili olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 %20 konsantrasyondaki salamurada depolanan örneklerin 10°, 20° ve 30°C'de glukokapparin içeriğinin değişimi (µmol/g KA)*

	Sıcaklık		
Süre (saat)	**10°C**	**20°C**	**30°C**
0	259.69 ± 1.76^{aA}	259.69 ± 1.76^{aA}	259.69 ± 1.76^{aA}
6	264.97 ± 6.11^{aA}	238.58 ± 3.67^{bB}	236.93 ± 0.53^{bB}
12	243.63 ± 8.01^{bA}	208.20 ± 8.41^{cB}	203.71 ± 2.70^{cB}
18	210.06 ± 0.95^{cA}	197.50 ± 5.00^{dB}	129.08 ± 4.15^{dC}
24	182.20 ± 0.99^{dA}	142.31 ± 3.63^{eB}	83.07 ± 2.55^{fC}
36	186.80 ± 3.54^{dA}	128.15 ± 6.87^{fB}	104.02 ± 5.34^{eC}
48	169.11 ± 6.41^{eA}	53.92 ± 2.75^{gB}	42.43 ± 2.75^{gB}
72	132.38 ± 0.81^{fA}	12.70 ± 0.74^{hB}	1.46 ± 0.42^{hB}
120	72.79 ± 2.07^{gA}	7.12 ± 0.96^{hB}	0.00 ± 0.00^{hB}
240	14.14 ± 0.38^{hA}	0.00 ± 0.00^{hiB}	0.00 ± 0.00^{hB}

*Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a-i) ve aynı satırdaki farklı büyük harfler (A-C) istatiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

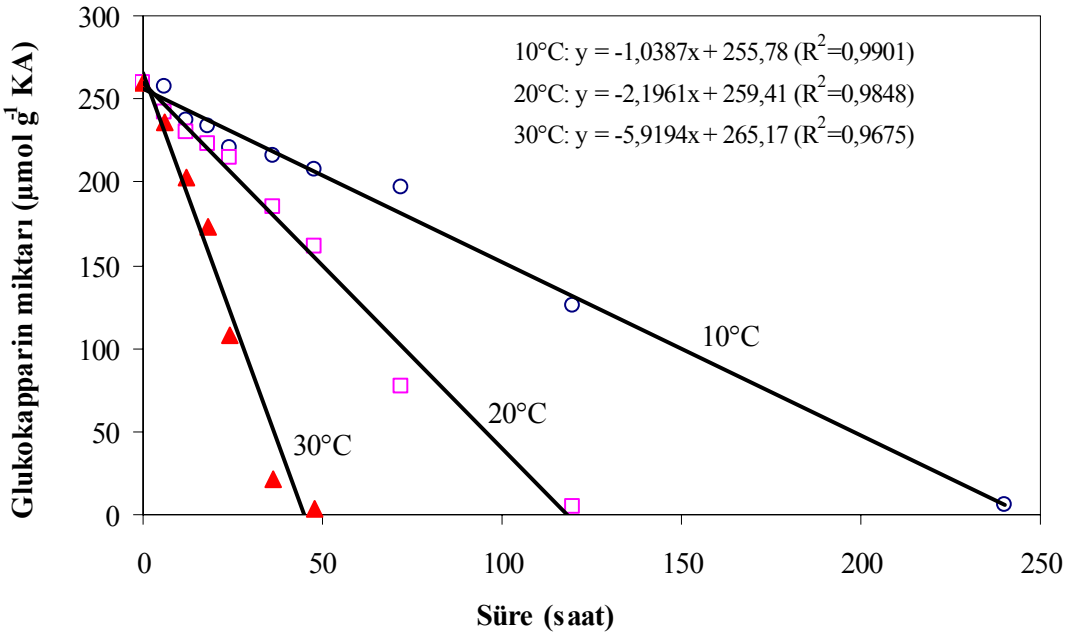
Literatürde glukosinolat içeren sebzelerin işlenmesi sırasında meydana gelen değişimi inceleyen pek çok araştırma mevcuttur. Bu sebzelerin işleme basamakları daha çok yıkama, doğrama, haşlama, pişirme, dondurma, kurutma veya fermentasyon basamaklarından oluşmaktadır (De Vos and Blijleven 1988). Daxenbichler *et al*. (1980), üç farklı beyaz lahana çeşidinden lahana turşusu üretiminde, tüm glukosinolatların 2 haftalık fermentasyon süreci sonunda tamamen hidrolize olduğunu saptamışlardır. Gail-Eller and Gierschner (1984), beyaz lahana turşusu üretiminde fermentasyon sıcaklığının glukosinolat parçalanması üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırıcılar başlangıç glukosinolatlarının 19°C'de 3 gün, 15°C'de 4 gün, 10°C'de 6 gün ve 5°C'de 8 gün sonunda tamamen parçalandığını saptamışlardır (De Vos and Blijleven 1988). Kapari

glukosinolatlarının parçalanmasına ilişkin tarafımızdan ortaya konan değerlerin bu araştırma sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

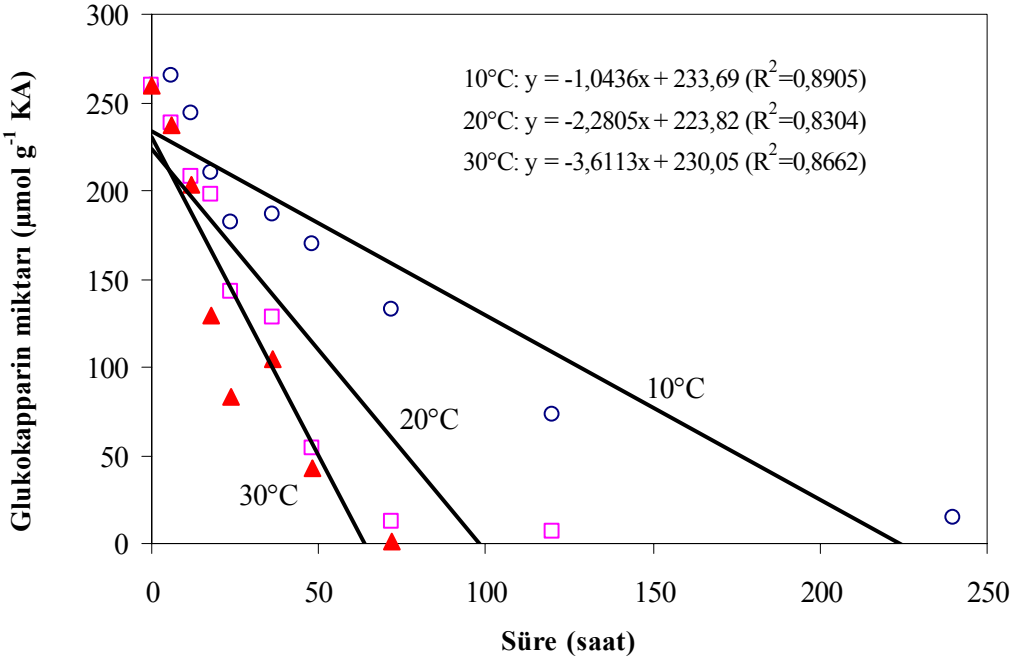
4.4.3 Glukosinolatların parçalanmasının kinetik modeli

Kapari tomurcuklarının hem %15'lik ve %20'lik salamuralarda depolanması sırasında, başat glukosinolat olan glukokapparinin her üç sıcaklıkta parçalanmasının en iyi şekilde sıfırıncı derecede (zero-order) kinetik modelle tanımlanabileceği saptanmıştır (Şekil 4.4 ve 4.5).

%15 ve %20 salamuralı örneklerde glukokapparinin parçalanmasına ilişkin kinetik katsayılar Çizelge 4.8'de toplu halde verilmiştir. Çizelge 4.8'den de görüldüğü üzere, hem %15 hem de %20'lik salamuralı örneklerde sıcaklık artışı ile reaksiyon hız sabitlerinin (k) arttığı, dolayısıyla glukokapparinin parçalanma hızının arttığı belirlenmiştir. %15 salamuralı örneklerde 10°, 20° ve 30°C'de reaksiyon hız sabitleri sırasıyla 1.0387, 2.1961 ve 5.9194 saat^{-1} olarak hesaplanmıştır. Benzer durum %20'lik salamuralı örneklerde de gözlenmiş, k değerleri 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 1.0436, 2.2805 ve 3.6113 saat^{-1} olarak bulunmuştur. Q_{10} değerleri açısından karşılaştırıldığında, %15 salamuralı örneklerde sıcaklığın 10°C'den 20°C'ye arttırılmasında Q_{10} değeri 2.45, 20°C'den 30°C'ye arttırılmasında ise 2.31 olarak hesaplanmıştır. Buradan sıcaklığın 10°C arttırılmasında, 10°C'den 20°C'ye yükseltilmesinin glukokapparinin parçalanması açısından 20°C'den 30°C'ye yükseltilmesinden daha fazla olduğu anlaşılmıştır. Benzer durum %20 salamuralı örneklerde de saptanmış, Q_{10} (10°–20°C) değeri 1.90 ve Q_{10} (20°–30°C) değeri 1.82 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.4 %15'lik salamura ile işlenmiş örneklerde glukokapparin miktarındaki azalma



Şekil 4.5 %20'lik salamura ile işlenmiş örneklerde glukokapparin miktarındaki azalma

Çizelge 4.8 Farklı konsantrasyondaki salamura ve farklı sıcaklıklarda işlem görmüş kapari tomurcuklarında glukokapparinin parçalanmasına ilişkin kinetik veriler

Salamura konsantrasyonu	Sıcaklık (°C)	– k (saat^{-1})	Q_{10} (10°–20°C)	Q_{10} (20°–30°C)	E_a (kJ mol^{-1})
%15	10	1.0387 (0.9901)	2.45	2.31	61.9 (0.9900)
	20	2.1961 (0.9848)			
	30	5.9194 (0.9675)			
%20	10	1.0436 (0.8905)	1.90	1.82	44.4 (0.9835)
	20	2.2805 (0.8304)			
	30	3.6113 (0.8662)			

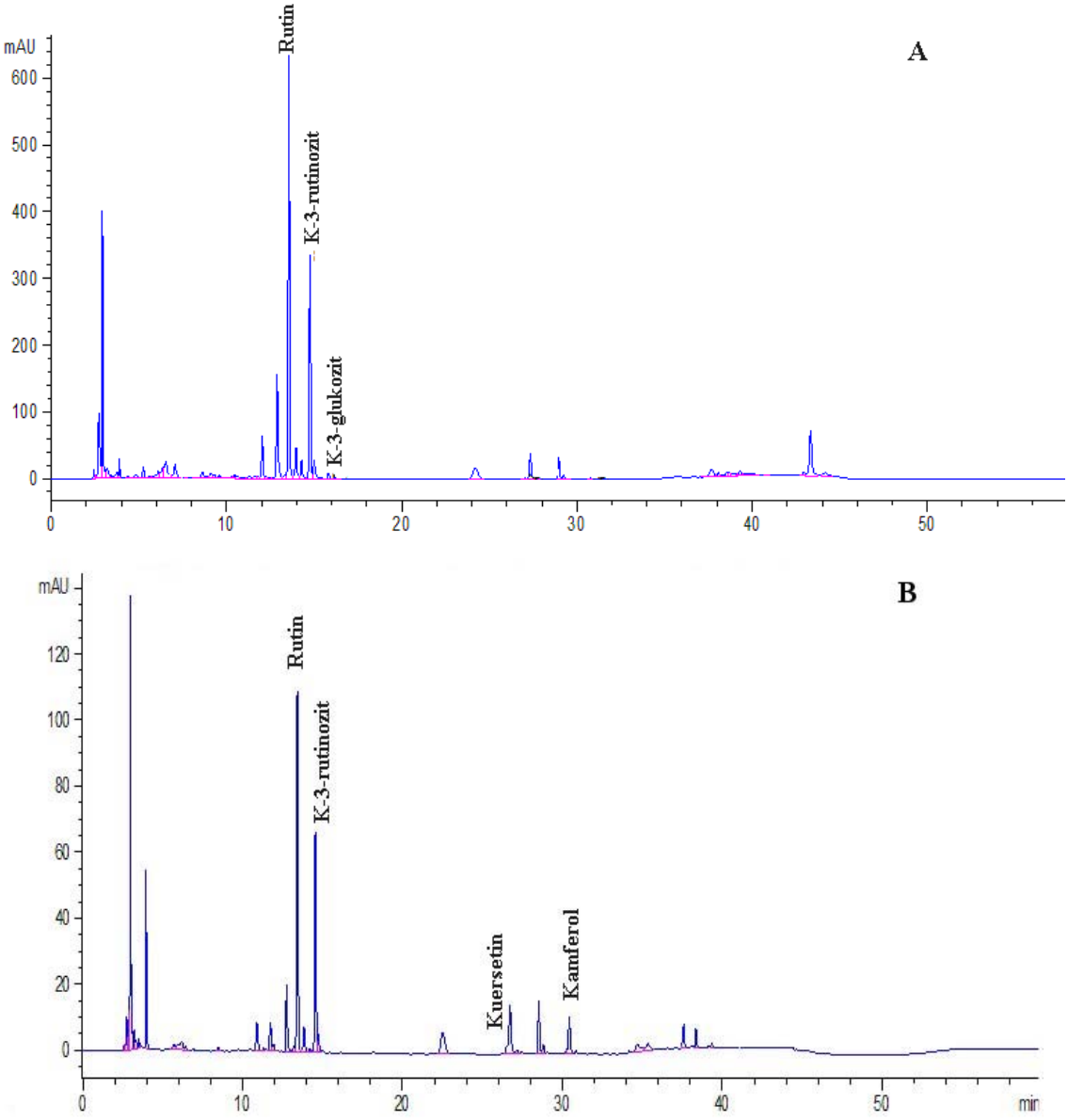
**Parantez içindeki değer determinasyon katsayısıdır (R^2).*

Bu araştırmada, glukokapparinin parçalanmasına ilişkin aktivasyon enerjileri (E_a) aynı sıcaklık aralığında (10°–30°C), %15 salamuralı örneklerde 61.9 kJ mol^{-1}, %20 salamuralı örneklerde ise 44.4 kJ mol^{-1} olarak hesaplanmıştır. Glukokapparinin E_a değerleri kıyaslandığında, [61.9 kJ mol^{-1} (%15 salamuralı örneklerde) > 44.4 kJ mol^{-1} (%20 salamuralı örneklerde)] %15'lik salamuralı örneklerde %20 salamuralı örneklere göre sıcaklık değişimlerinden daha fazla etkilendiği anlaşılmıştır. Literatürde glukokapparinin parçalanmasında aktivasyon enerjisine ilişkin bir veriye rastlanmamıştır.

4.5 Kapari Tomurcuklarının Flavonoid İçeriği ve Proses Sırasındaki Değişimi

Kapari tomurcuklarında bulunan diğer önemli bir bileşik grubu da flavonoidlerdir. Kapari tomurcuklarının flavonoid içerikleri tek tek bileşen bazında modern analitik bir yöntem olan HPLC tekniği yardımıyla saptanmıştır. Kapari örneklerinin flavonoid kompozisyonunu gösteren tipik bir HPLC kromatogramı Şekil 4.6'de gösterilmiştir. Elde edilen metanolik ekstraktlarda rutin (kuersetin-3-rutinozit), kamferol-3-rutinozit, kamferol-3-glukozit, kuersetin ve kamferol tanımlanmıştır. Bu bileşenlerin kromatografik ayrılmasında geliş süreleri; rutin için 13.62 dak, kamferol-3-rutinozit için 14.83 dak, kamferol-3-glukozit için 15.97 dak, kuersetin için 27.31 dak ve kamferol için 30.84 dak olarak saptanmıştır. Elde edilen kromatogramdan da görüleceği üzere kapari

tomurcuklarında baskın flavonoidin rutin olduğu, bunu daha sonra kamferol-3-rutinozit'in takip ettiği belirlenmiştir. Şekil 4.6'den de görüleceği üzere işlenmemiş başlangıç örneklerinde iz miktarda bulunan kamferol-3-glukozit, prosesin sonunda saptanamamıştır. Bu durumun tersine, başlangıç örneklerinde kamferol ve kuersetin saptanmazken, prosesin sonunda bu bileşenlerin varlığı gözlenmiştir.



Şekil 4.6 Kapari tomurcuklarında prosesin başında (**A**) ve sonunda (**B**) flavonoid kompozisyonuna ilişkin HPLC kromatogramı

Literatürde kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonunun HPLC tekniği yardımı ile belirlendiği benzer çalışmalara rastlanmıştır. Rodrigo *et al*. (1992) *Comun* ve

Mallorquina çeşidi ham kapari tomurcuklarını 8 mm'den büyük ve küçük olmak üzere iki sınıfa ayırmış ve flavonoid kompozisyonunu HPLC ile belirlemişlerdir. Bu çalışmada baskın flavonoidin rutin olduğu belirlenmiş, bununla beraber kamferol-3-rutinozit, kamferol-3-ramnorutinozit, kamferol-3-glukozit flavonoidlerinin varlığı saptanmıştır. Buna karşın aglikon formda kamferol ve kuersetin belirlenememiştir. Araştırma bulgularımızda da benzer sonuçlara ulaşılmış, ham kapari örneklerinde aglikon formda kamferol ve kuersetin belirlenememiştir. *Mallorquina* çeşidi küçük (x<8 mm) kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonunun bağıl olarak %53.71'nin rutin olduğu, 8 mm'den büyük kapari tomurcuklarında rutinin %38.08 düzeyinde olduğu saptanmıştır. Bu durumun *Comun* çeşidinde farklı olduğu ve küçük tomurcukların daha düşük düzeyde rutin içerdiği belirlenmiştir.

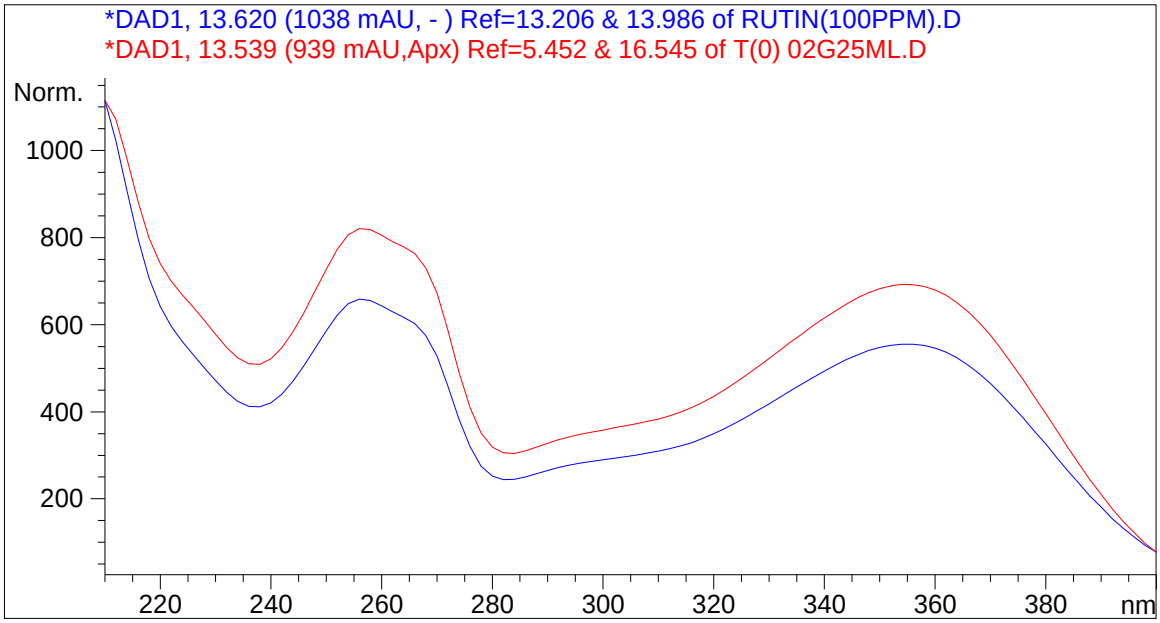
Tanımlama ve doğrulama

Kromatogramlardaki bileşiklerin tanımlanması,

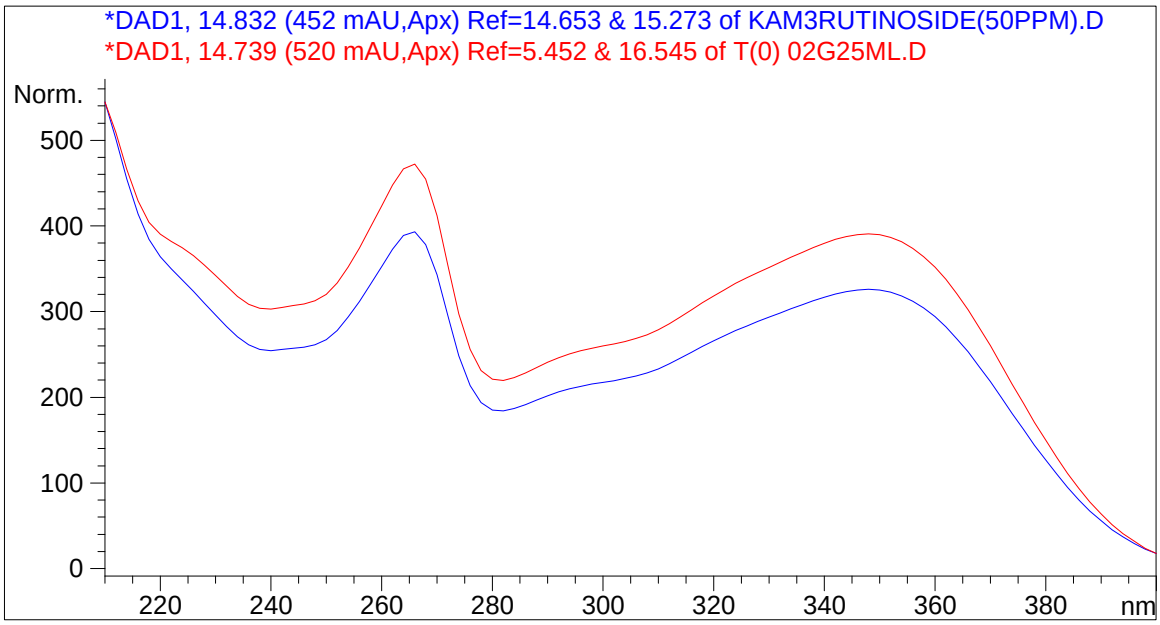
- söz konusu bileşiklerin UV spektrumları standart bileşiklerinkiler ile karşılaştırılarak (Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11),
- standart bileşenlerin geliş süreleri ile karşılaştırılarak,
- standart bileşenler elde edilen ekstrakta eklenerek,

gerçekleştirilmiştir.

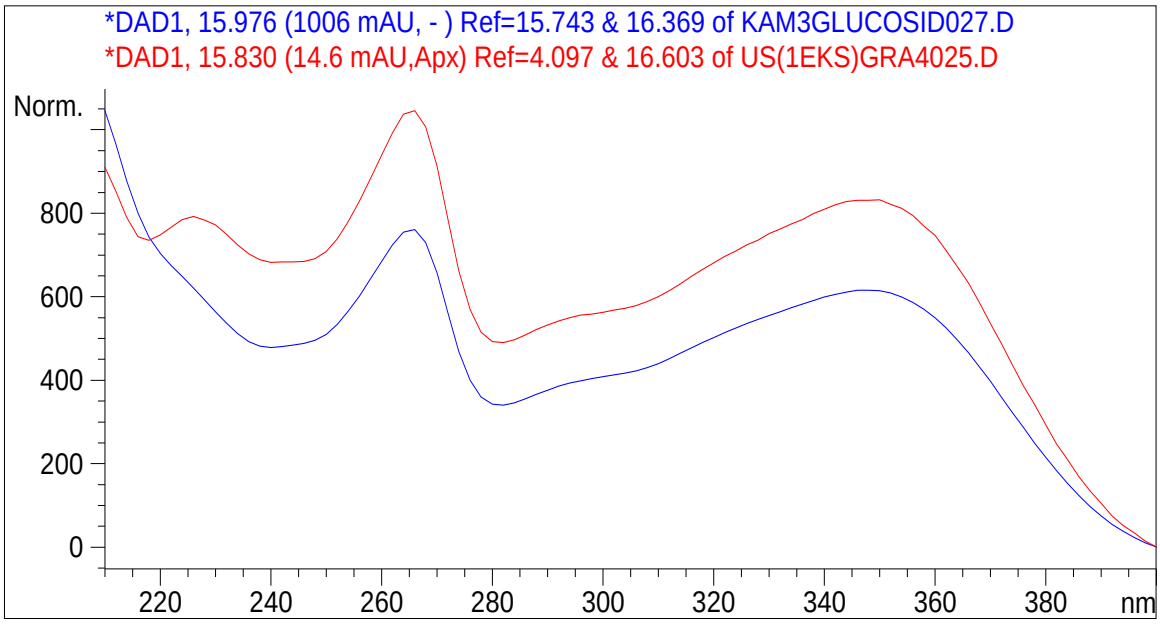
Saptanan bu bileşenlerin tanımlanmasında yalnızca flavonoid standartlarının geliş süreleri dikkate alınmamış, PDA (PhotoDiodeArray) detektör yardımı ile standart maddelerin UV spektrumları, tanımlanmaya çalışılan piklerin UV spektrumları ile karşılaştırılmıştır. Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11'den de görüleceği üzere tanımlanmaya çalışılan piklere ilişkin UV spektrumların standart flavonoidlerin UV spektrumları ile tam olarak örtüştüğü belirlenmiştir.



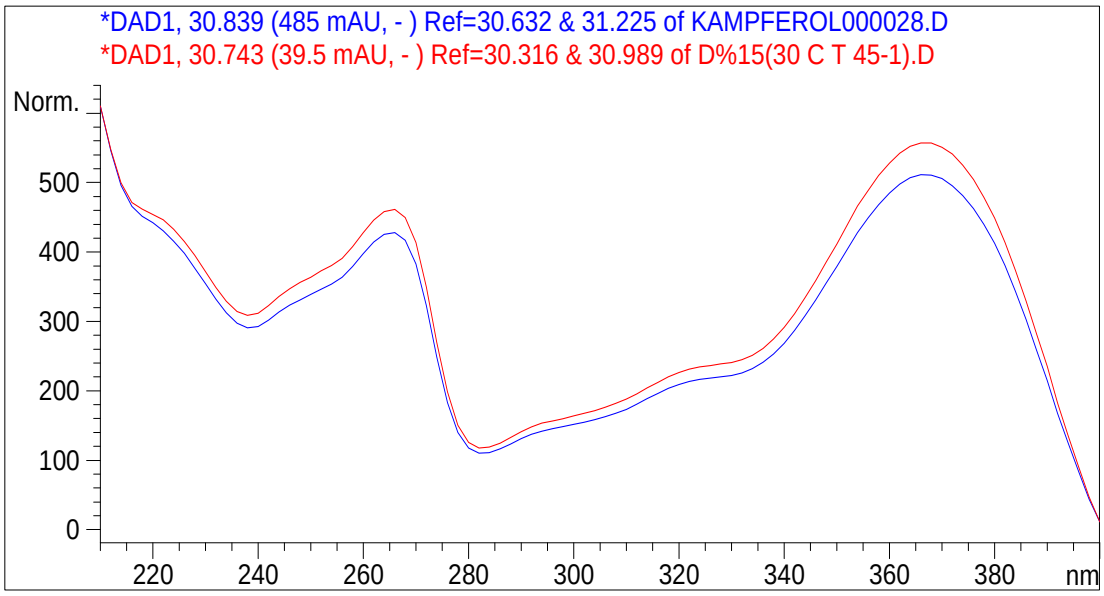
Şekil 4.7 Standart rutin (kuersetin-3-rutinozit) ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması



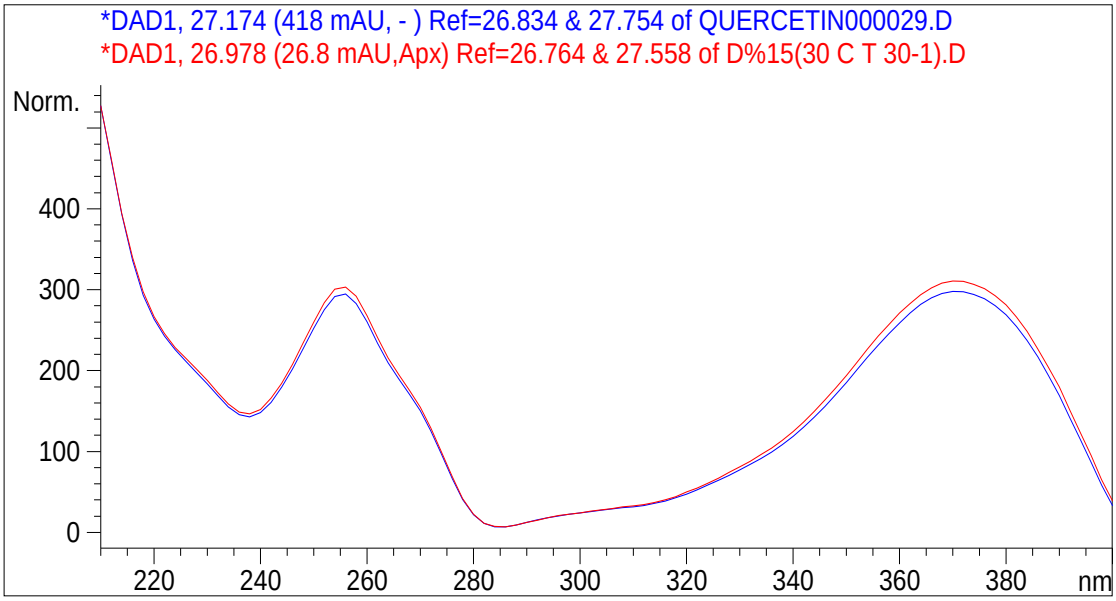
Şekil 4.8 Standart kamferol-3-rutinozit ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması



Şekil 4.9 Standart kamferol-3-glukozit ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması



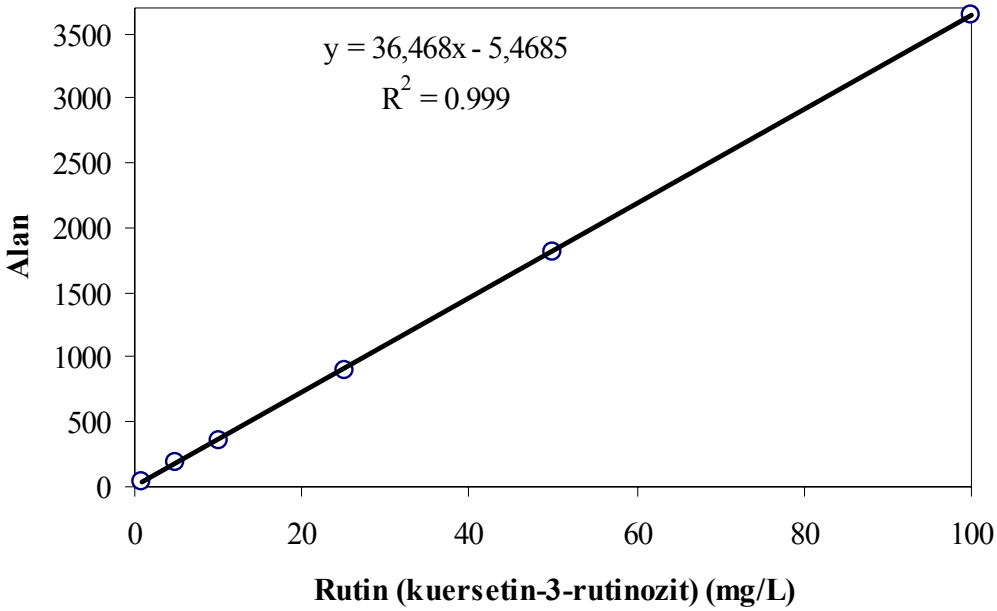
Şekil 4.10 Standart kamferol ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması



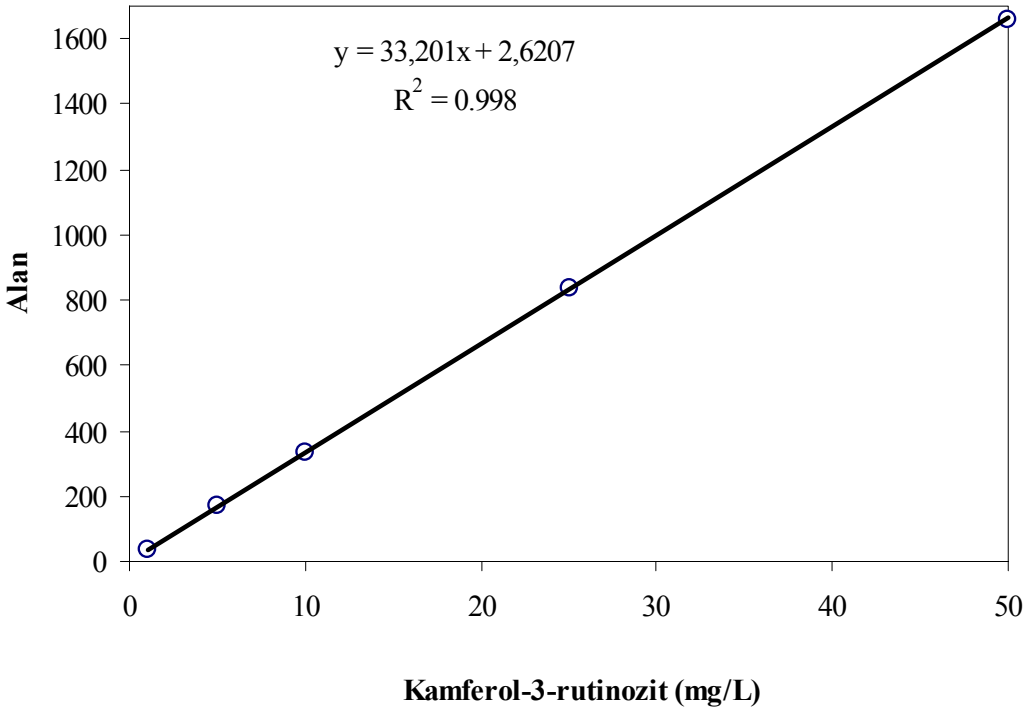
Şekil 4.11 Standart kuersetin ve kromatogramdaki ilgili pikin UV spektrumlarının karşılaştırılması

Miktarsal hesaplama

Standart maddelerden örnekteki flavonoid içeriklerine göre uygun seyreltmeler yapılarak bir seri çözelti hazırlanmış ve daha sonra bu bileşenlere ilişkin standart eğriler elde edilmiştir. Rutin ve kamferol-3-rutinozit için ilgili standart eğriler Şekil 4.12 ve 4.13'de verilmiştir. Kaemferol-3-glukozit, kaemferol ve kuersetin için tek noktalı kalibrasyon ile miktarsal hesaplama yapılmıştır. Standart eğrileri tanımlayan eşitliklerden yararlanılarak ve seyreltme faktörleri göz önünde bulundurularak flavonoid miktarları hesaplanmıştır.



Şekil 4.12 Rutin (Kuersetin-3-rutinozit) standart eğrisi



Şekil 4.13 Kaemferol-3-rutinozit standart eğrisi

Kapari tomurcuklarının %15 tuz içeren salamurada (30°C) ve %20 tuz içeren salamuralarda (10°, 20° ve 30°C) depolanmış örneklerinde 90 gün boyunca flavonoidlerde meydana gelen değişim, belli aralıklarla incelenmiş ve sonuçlar sırasıyla Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelge 4.9 ve 4.10'dan da görüleceği üzere işlenmemiş (ham) kapari tomurcuklarında kuru ağırlık bazında 1.45 g/100 g rutin, 0.88 g/100 g kamferol-3-rutinozit ve 0.02 g/100 g kamferol-3-glukozit saptanırken, aglikon formda kamferol ve kuersetin belirlenmemiştir. Guiffrida *et al*. (2002), *C. spinosa*'nın küçük boyuttaki (x<9 mm) kapari ham tomurcuklarında kuru ağırlık bazında, %1.7 rutin, %1.23 kamferol-3-rutinozit, %0.11 kamferol-3-glukozit, %0.8 oranında kuersetin ve %0.92 oranında kamferol saptamışlardır. Görüldüğü gibi tarafımızdan yürütülen bu araştırmada *C. ovata* çeşidi x≤8 mm boyutunda kapari tomurcuklarının flavonoid içerikleri Guiffrida *et al*. (2002) tarafından saptanmış bulunan flavonoid miktarlarından daha düşüktür. Aynı araştırıcıların çalışmasında ham örneklerde aglikon formda %0.8 oranında kuersetin ve %0.9 oranında kamferol saptanmasına karşın, araştırmamızda ham örneklerde aglikon formda kuersetin ve kamferol belirlenememiştir. Flavonoid içeriklerindeki bu farklılığın, çalışılan örneklerin farklı çeşit olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kapari çiçek tomurcuklarının flavonoid profillerinin geniş bir aralıkta değişim gösterdiği, çevresel ve fizyolojik faktörlerin flavonoid profili üzerine etkili olduğu bilinmektedir (Inocencio *et al*. 2000).

Kapari çiçek tomurcuklarının flavonoid kompozisyonuna ve tomurcukların işlenmesi ile meydana gelen değişimlere yönelik benzer bir çalışma Inocencio *et al*. (2000) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmacılar; İspanya, Türkiye, Fas, İtalya ve Yunanistan'dan topladıkları ticari kapari örneklerinin flavonoid kompozisyonunu HPLC tekniği yardımı ile ortaya koydukları çalışmalarında; rutin'i ana bileşen, kamferol-3-rutinoziti ise, ikincil bileşen olarak belirlemişlerdir. Tüm örneklerde; kamferol-3-ramnosilrutinozit, rutin, kamferol-3-rutinozit ve kamferol-3-glukozit'den oluşan genel bir profil saptandığını, ancak bu bileşenlerin bağıl oranlarının çeşide göre büyük bir değişim gösterdiğini ortaya koymuşlardır. İşlenmemiş ham örneklerde serbest aglikon formda kamferol ve kuersetin belirleyememelerine karşın, salamuraya işleme ile beraber işlenmiş örneklerde değişen miktarda kamferol ve kuersetin saptamışlardır.

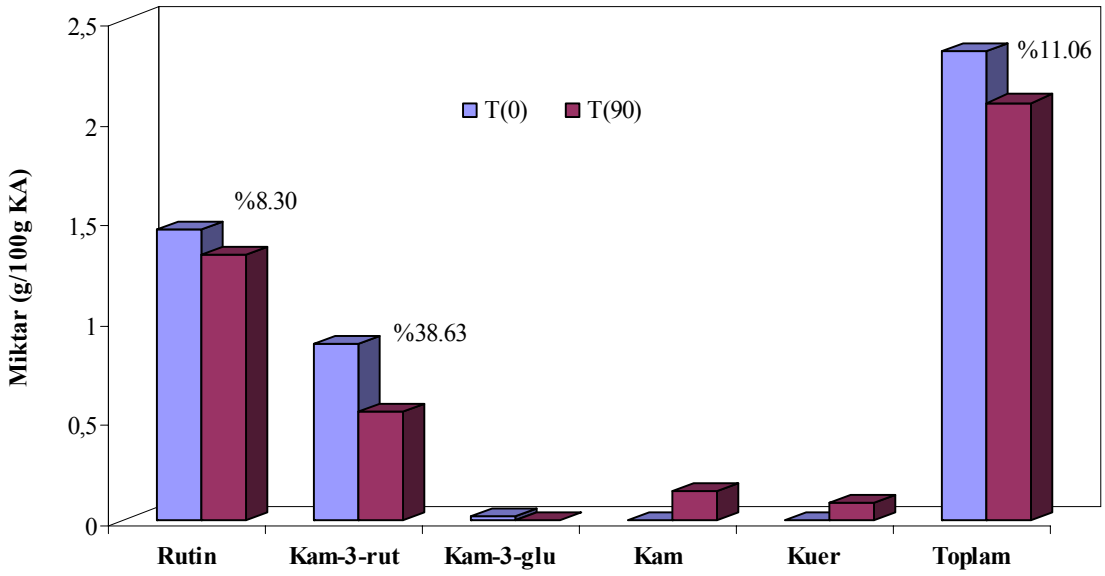
Çizelge 4.9 % 15 tuz içeren, 30°C'deki salamurada depolanmış kapari tomurcuklarında flavonoidlerdeki değişim (g/100 g KA)

Bileşen	Süre (gün)					
	0	10	30	45	60	90
Rutin	1.45±0.03^{a}	1.29±0.02^{ab}	1.21±0.00^{b}	1.26±0.04^{b}	1.27±0.00^{b}	1.33±0.02^{ab}
Kamferol-3-rutinozit	0.88±0.02^{a}	0.66±0.01^{b}	0.58±0.00^{bc}	0.58±0.02^{bc}	0.52±0.01^{c}	0.54±0.02^{c}
Kamferol-3-glukozit	0.02±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Kamferol	0.00±0.00^{c}	0.04±0.00^{bc}	0.07±0.00^{abc}	0.08±0.00^{abc}	0.13±0.03^{ab}	0.14±0.00^{a}
Kuersetin	0.00±0.00^{b}	0.05±0.01^{ab}	0.06±0.01^{a}	0.06±0.01^{a}	0.07±0.01^{a}	0.08±0.01^{a}
Toplam	2.35±0.01^{a}	2.04±0.02^{b}	1.92±0.01^{b}	1.98±0.04^{b}	1.99±0.04^{b}	2.09±0.04^{b}

Aynı satırda farklı harflere sahip ortalamalar arasındaki farklar $p<0.01$ seviyesinde önemlidir

Çizelge 4.9'den de görüleceği üzere, 30°C'de %15'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının 90. günün sonunda rutin içeriği kuru ağırlık bazında 1.45 g/100 g'dan 1.33 g/100 g'a, kamferol-3-rutinozit içeriği 0.88 g/100 g'dan 0.54 g/100 g'a düştüğü saptanmıştır. Başlangıç örneklerinde kuru ağırlık bazında 0.02 g/100 g düzeyinde saptanan kamferol-3-glukozit, prosesin 10. gününden sonra tamamen parçalandığı görülmüştür. Başlangıç örneklerinde serbest formda kamferol ve kuersetin belirlenemezken, prosesin sonunda 0.14 g/100 g kamferol ve 0.08 g/100 g düzeyinde kuersetin saptanmıştır. Kamferol ve kuersetinde belirlenen bu artış, glukozit yapıdaki diğer flavonoidlerin prosesle beraber ortamın daha asidik bir yapıya dönüşmesi sonucu meydana gelen bir hidroliz olayından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kapari tomurcuklarının toplam flavonoid miktarları açısından incelendiğinde, prosesin başında 2.35 g/100 g düzeyinde saptanan miktar 10. günden sonra istatistiksel olarak önemli değişimlere uğramadığı anlaşılmıştır ($p>0.01$).

30°C'de %15'lik salamurada depolanan kapari tomurcuklarının flavonoidlerinde meydana gelen değişimi daha belirgin bir şekilde ifade edebilmek için sonuçlar Şekil 4.14'de sütun grafik olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.14 % 15'lik salamura ile işlenmiş kapari flavonoidlerinin 30°C'de proses sırasındaki değişimleri

Örneklerde ana bileşen olan rutinde 90. günün sonunda yalnızca %8.30 oranında bir azalma olduğu, meydana gelen değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır. Örneklerimizde ikincil bileşen olan kamferol-3-rutinozitin, 90. günün sonunda %38.63 oranında bir parçalanmaya uğradığı ve rutin'e kıyasla stabilitesinin düşük olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.14). Kamferol-3-rutinozitte meydana gelen bu değişimin istatistiksel olarak $p<0.01$ seviyesinde önemli olduğu görülmüştür. Başlangıç örneklerinde iz miktarda saptanan kamferol-3-glukozitin, işlemenin 10. gününden sonra tamamen parçalandığı saptanmıştır. Prosesin başında saptanamayan kamferol ve kuersetinin, 10. günden sonra nisbi olarak arttığı belirlenmiştir. Kapari tomurcuklarının toplam flavonoid miktarlarındaki azalmanın %11.06 oranında olduğu hesaplanmıştır (Şekil 4.14). Bu değişim prosesin 10. gününden sonra sabit kaldığı ve miktarlar arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı saptanmıştır.

%20'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının flavonoid içerikleri %15'lik salamuralarda işlenenlere kıyasla daha farklı değişim göstermiştir. Çizelge 4.10'dan da görüldüğü üzere baskın flavonoid rutin, başlangıçta kuru ağırlık bazında 1.45 g/100 g düzeyinde saptanırken prosesin sonunda 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 0.59 g/100 g, 0.63 g/100 g ve 0.78 g/100 g düzeyinde saptanmıştır. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz, rutin ve kuersetinde meydana gelen değişime sıcaklığın etkili olmadığını, yalnızca sürenin etkili olduğunu ortaya koymuştur. Diğer yandan kamferol-3-glukozit ve kamferolün parçalanmasında süre*sıcaklık interaksiyonu görülmüştür. İkincil bileşen kamferol-3-glukozitin başlangıçtaki kuru ağırlık bazında 0.88 g/100 g düzeyindeki miktarının, 90. günün sonunda 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 0.43 g/100 g, 0.41 g/100 g ve 0.38 g/100 g düzeylerine düştüğü belirlenmiştir. Ulaşılan bu değerler arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı görülmüştür. Başlangıçta iz miktarda saptanan kamferol-3-glukozitin, %15'lik salamuralı örneklerde olduğu gibi 10. günün sonunda tamamen parçalanarak kaybolduğu saptanmıştır. Ham örneklerde saptanamayan aglikon formdaki kamferol ve kuersetin miktarında depolama boyunca çok küçük artışlar görülmüştür.

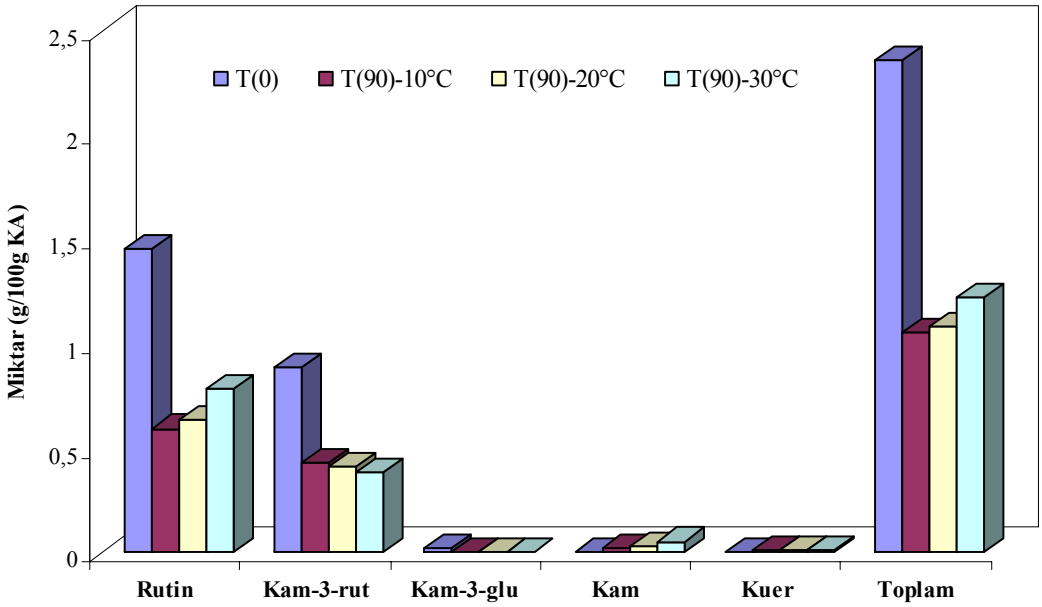
Çizelge 4.10 % 20 tuz içeren 10°, 20° ve 30°C'deki salamurada depolanmış kapari tomurcuklarında flavonoidlerdeki değişim (g/100 g KA)*

Bileşen	Sıcaklık (°C)	Süre (gün)					
		0	10	30	45	60	90
Rutin[1]	10	1.45±0.03	1.19±0.04	0.87±0.01	0.87±0.14	0.76±0.03	0.59±0.09
	20	1.45±0.03	1.07±0.05	0.92±0.02	0.87±0.03	0.78±0.06	0.63±0.04
	30	1.45±0.03	0.98±0.04	0.87±0.06	0.82±0.03	0.80±0.07	0.78±0.01
	Ortalama	1.45 ± 0.01^{a}	1.08 ± 0.04^{b}	0.88 ± 0.02^{c}	0.85 ± 0.04^{cd}	0.78 ± 0.0^{d}	0.66 ± 0.04^{e}
Kam-3-rutinozit	10	0.88 ± 0.02^{aA}	0.83 ± 0.02^{aA}	0.54 ± 0.01^{bA}	0.52 ± 0.04^{bcA}	0.47 ± 0.03^{cdA}	0.43 ± 0.02^{dA}
	20	0.88 ± 0.02^{aA}	0.64 ± 0.04^{bB}	0.46 ± 0.01^{cdB}	0.52 ± 0.01^{cA}	0.45 ± 0.01^{cdA}	0.41 ± 0.01^{dA}
	30	0.88 ± 0.02^{aA}	0.55 ± 0.01^{bC}	0.51 ± 0.01^{bAB}	0.44 ± 0.00^{cB}	0.40 ± 0.01^{cB}	0.38 ± 0.01^{cA}
Kam-3-glukozit	10	0.02±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	20	0.02±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	30	0.02±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Kamferol	10	0.00 ± 0.00^{cA}	0.02 ± 0.00^{bB}	0.02 ± 0.00^{bC}	0.02 ± 0.00^{aC}	0.02 ± 0.00^{bC}	0.02 ± 0.00^{bB}
	20	0.00 ± 0.00^{dA}	0.03 ± 0.01^{cA}	0.05 ± 0.00^{aA}	0.04 ± 0.00^{bB}	0.04 ± 0.00^{bB}	0.03 ± 0.00^{cB}
	30	0.00 ± 0.00^{dA}	0.03 ± 0.00^{cA}	0.03 ± 0.00^{cB}	0.05 ± 0.00^{aA}	0.05 ± 0.00^{aA}	0.05 ± 0.00^{bA}
Kuersetin[1]	10	0.00±0.00	0.05±0.01	0.05±0.00	0.03±0.01	0.01±0.01	0.01±0.00
	20	0.00±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.04±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00
	30	0.00±0.00	0.04±0.00	0.05±0.00	0.05±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00
	Ortalama	0.00 ± 0.00^{e}	0.05 ± 0.00^{a}	0.05 ± 0.00^{a}	0.04 ± 0.00^{b}	0.02 ± 0.00^{c}	0.01 ± 0.00^{d}

* Herbir sure için aynı satırda farklı küçük harflerle (a-e) ve herbir sıcaklık için aynı sutunda farklı büyük harflere (A-C) sahip ortalamalar arasındaki farklar $p<0.01$ seviyesinde önemlidir.

[1] : Rutin ve Kuersetin, sadece süre faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

10°, 20° ve 30°C'de %20'lik salamurada depolanmış kapari tomurcuklarında flavonoidlerdeki değişim Şekil 4.15'da daha anlaşılır bir şekilde gösterilmiştir.



Şekil 4.15 % 20 salamura ile işlenmiş kapari flavonoidlerinin 10°, 20° ve 30°C'de 90 gün sonunda meydana gelen değişim

%20'lik salamurada 10°, 20° ve 30°C'de işlenmiş örneklerin rutin içeriklerinin prosesin sonunda sırasıyla %59.31, %56.55 ve %46.20 oranında parçalandığı hesaplanmıştır. Tomurcukların başat flavonoidi olan rutinin, sıcaklık artışı ile parçalanmasında yavaşlama görülmüştür (Şekil 4.15). Tomurcukların ikincil bileşeni kamferol-3-rutinozit'in değişimi ise sıcaklıkla doğru orantılı olarak gerçekleşmiştir. Bu bileşenin 90. günün sonunda 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla %51.13, %53.40 ve %56.81 oranında azaldığı belirlenmiştir. Rutin'in proses sırasındaki parçalanması sıcaklığa paralel olarak artmamasına karşın, kamferol-3-rutinozit'in sıcaklığın yükselmesi ile parçalanmasının arttığı görülmüştür. Esasen iz miktarda bulunan kamferol-3-glukozitin, her üç sıcaklıkta da 10. günün sonunda tümüyle parçalandığı saptanmıştır. Aglikon yapıdaki kamferol miktarının sıcaklık artışı ile arttığı saptanmıştır. Prosesin başında miktarı saptanmayan kamferol, prosesin sonunda 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 0.02 g/100g, 0.03 g/100g ve 0.05 g/100g düzeyinde bulunmuştur. Gerçekte her üç sıcaklıkta da prosesin 10. gününden sonra kamferol miktarında önemli değişikler olmadığı görülmüştür.

Bileşimde yer alan diğer aglikon olan kuersetin miktarının değişimi, kamferol gibi bir seyir göstermemiştir. Nitekim kuersetin, prosesin 10. günün sonunda 0.05 g/100g seviyesine ulaşmış, fakat prosesin sonunda bu değerin 0.01 g/100 g'a düştüğü saptanmıştır. Benzer durum 20° ve 30°C'de işlenen örneklerde de görülmüştür.

Tomurcukların toplam flavonoid içerikleri değerlendirildiğinde, 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla %55.31, %54.04 ve %48.08 oranında azalma olduğu hesaplanmıştır. Ana bileşen rutin'in parçalanmasındaki benzer durum toplam flavonoid içeriklerinde de görülmüş, sıcaklık artışı ile parçalanma oranın azaldığı saptanmıştır.

4.6 Kapari Tomurcuklarının Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Proses Sırasında Değişimi

Kapari tomurcuklarının antioksidan aktivite düzeyini saptayabilmek için gerekli bulunan standart eğri, materyal ve yöntem bölümünde açıklandığı gibi "troloks" kullanılarak hazırlanmış ve eğri "y= 39.624x + 2.65" eşitliği ile tanımlanmıştır. Diğer taraftan, materyalden elde edilmiş farklı ekstrakt miktarlarına (hacimlerine) karşılık sağlanan inhibisyon oranları, örnek hacimlerine karşı bir grafiğe aktarılıp linear regresyon analizi uygulanmak suretiyle, örneklere ilişkin eğriler saptanmış ve bu eğrileri tanımlayan eşitlikler hesaplanmıştır. Ekstraktlara ilişkin elde edilen eğrilerin eğimleri, standart eğrinin eğimlerine bölünmüş ve seyreltme oranı göz önüne alınarak kapari kuru ağırlık bazında "m*M* Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite" (TEAK)/g olarak hesaplanmıştır.

Kapari tomurcuklarının %15 tuz içeren salamura ile 30°C'de işlenmesi ile antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklerinde meydana gelen değişim Çizelge 4.11'da verilmiştir. İşlenmemiş kapari tomurcuklarının antioksidan ve toplam fenolik içerikleri kuru ağırlık bazında sırasıyla 24.56 m*M* TEAK/g ve 4.61 g/100 g düzeyinde saptanmıştır. 90. günün sonunda bu değerlerin sırasıyla 12.38 m*M* TEAK/g ve 4.39 g/100 g düzeyine düştüğü belirlenmiştir. Tomurcukların işlenmesi sırasında antioksidan aktivite değerinde %49.60 toplam fenolik içeriğinde %4.8 oranında azalma olduğu hesaplanmıştır.

Çizelge 4.11 %15'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının 30°C'de 90 gün depolama sonunda antioksidan (m*M* TEAK) ve toplam fenolik (TF) içeriklerinin değişimi

Süre (gün)	TEAK	TF
0	24.56±1.20	4.61±0.19
90	12.38±0.19	4.39±0.19

Benzer şekilde %20'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarında 10°, 20° ve 30°C'de antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklerinde meydana gelen değişim Çizelge 4.12'de verilmiştir. Çizelge 4.12'den de anlaşılacağı üzere %20'lik salamurada depolanmış örneklerde 90. günün sonunda 10°, 20° ve 30°C'de antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 12.88, 13.12 ve 14.21 m*M* TEAK/g olarak bulunmuştur. %20'lik salamuralı örneklerde 90. günün sonunda toplam fenolik içerikleri ise 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla 2.48, 2.52 ve 3.86 g/100 g olarak saptanmıştır.

Hem %15, hem de %20'lik salamurada depolanan kapari tomurcuklarının antioksidan aktivitelerinin ve toplam fenolik içeriklerinin 90 günün sonunda meydana gelen değişimi Şekil 4.16 ve 4.17'de toplu halde gösterilmiştir. %20'lik salamurada depolanan örneklerde prosesin sonunda antioksidan aktivite değerlerinde 10°C'de %47.55, 20°C'de %46.17 ve 30°C'de %42.14 oranında azalma olduğu görülmüştür (Şekil 4.16).

Prosesin sonunda toplam fenolik içeriklerindeki azalma, 10°C için %46.20, 20°C için %45.33 ve 30°C için %16.26 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.17). %20'lik salamuralı 10° ve 20°C'de işlenen örneklerin antioksidan aktivesi ile toplam fenolik içeriklerinde azalmalar arasında bir paralellik görülmüştür. Buna karşın 30°C'deki örneklerde toplam fenolik içeriğindeki azalma ile antioksidan aktivite arasında uyumlu bir ilişkinin olmadığı belirlenmiştir.

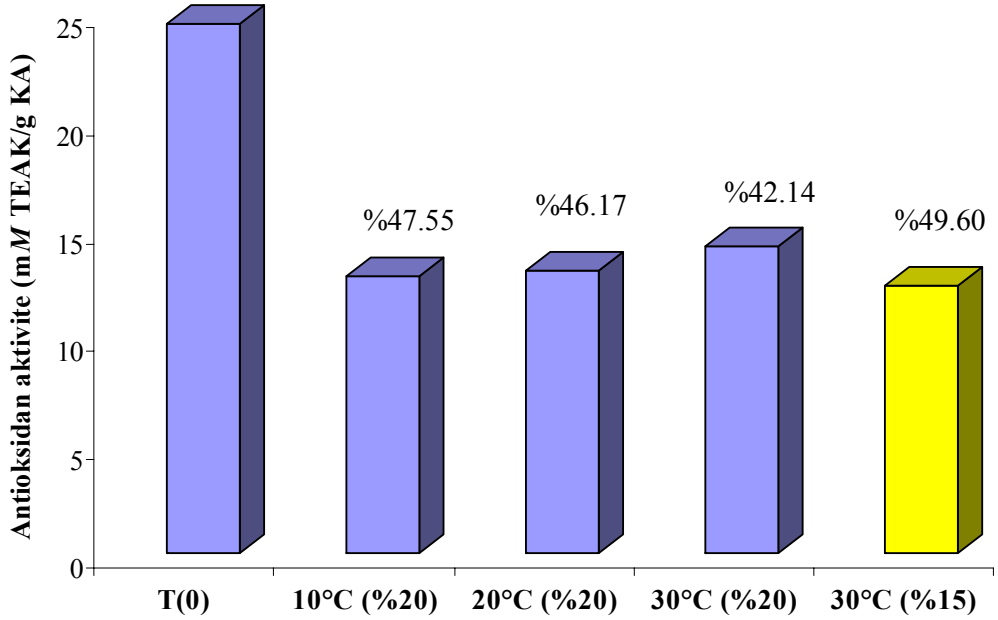
Çizelge 4.12 %20'lik salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının 10°, 20° ve 30°C'de 90 gün depolanması sonucunda antioksidan (m*M* TEAK[1]) ve toplam fenolik (TF[2]) içeriklerinin değişimi

	10°C		20°C		30°C	
Süre (gün)	TEAK	TF	TEAK	TF	TEAK	TF
0	24.56±1.20	4.61±0.19^{aA}	24.56±1.20	4.61±0.19^{aA}	24.56±1.20	4.61±0.19^{aA}
90	12.88±0.23	2.48±0.17^{bA}	13.12±0.05	2.52±0.02^{bB}	14.21±0.75	3.87±0.04^{bC}

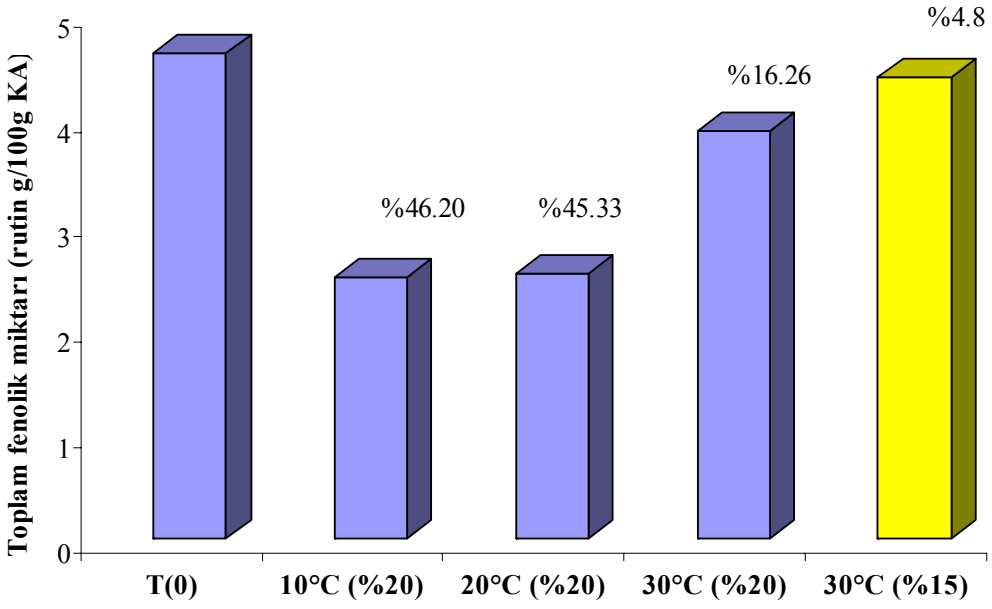
TEAK : Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (m*M* TEAK/g kapari, kuru ağırlık üzerinden);TF: Toplam Fenolik (g/100g kapari, kuru ağırlık üzerinden)

[1] : TEAK özelliğinde sadece süre faktörünün seviye ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

[2] : Aynı satırda farklı büyük harflere (A-C) ve aynı sütunda farklı küçük harflere (a-b) sahip ortalamalar arasındaki farklar $p<0.01$ seviyesinde önemlidir



Şekil 4.16 %15 ve %20'lik salamuralarda 90 gün boyunca depolanan kapari tomurcuklarının antioksidan aktivite değişimleri



Şekil 4.17 %15 ve %20'lik salamuralarda 90 gün boyunca depolanan kapari tomurcuklarının toplam fenolik içeriğinin değişimleri

Gıda maddelerinin toplam fenolik içerikleri ile antioksidan aktiviteleri arasında çoğu zaman doğrusal bir ilişkinin olduğu göz önünde bulundurulursa, %15 ve %20'lik salamuralı 30°C'de işlenmiş örneklerde böyle bir ilişkinin olmadığı, buna karşın %20'lik salamuralı 10° ve 20°C'de işlenen örneklerde yeterli bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Literatürde kapari tomurcuklarının işlenmesi süresince toplam fenolik içeriklerinde meydana gelen değişime ilişkin benzer bir sonuça ulaşıldığı bildirilmektedir. Nitekim Giuffrida *et al*. (2002), *Capparis spinosa* L. çeşidi kapari tomurcuklarını büyük (>14 mm), orta (9-14 mm) ve küçük (<9 mm) olacak şekilde sınıflandırmış ve bunların salamura yapılması sonunda toplam fenolik içeriklerinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. 9 mm'den küçük ham tomurcukların toplam fenolik içeriklerini %4.28 olduğu ve bu değerin salamuraya işlenmesi ile %1.67'ye düştüğü belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından ham örneklerde elde edilmiş bu değerlerin, araştırma bulgularımızla uyumlu olduğu görülmüştür. Değinilen araştırmada toplam fenolik içeriğinde meydana gelen azalmanın yaklaşık %61 düzeyinde olduğu hesaplanmıştır. Tarafımızdan gerçekleştirilen bu araştırmada ise, %20 salamura ile işlenen örneklerde 10°C'de %46.20 ve 20°C'de %45.33'lük bir azalma saptanmıştır (Şekil 4.17).

4.7 Kapari Tomurcuklarının Salamurada Depolanması Sırasında Reflektans Renk Değerlerindeki Değişimler

Renk, ham veya işlenmiş olsun bitki kökenli ürünlerde meyve sebzelerde en önemli kalite kriterlerinden bir tanesidir. Meyve ve sebze gibi bitkisel ürünlerin yapısında doğal olarak bulunan pigmentler işleme ile beraber yapısal olarak değişikliğe uğramakta ve dolayısıyla ürünün rengi değişmektedir. Bezelye, ıspanak, fasulye gibi bazı yeşil sebzelerde klorofil pigmentlerinin ürüne kazandırdığı yeşil rengin korunması arzulanırken, yeşil zeytin, hıyar turşusu gibi fermente ürünlerde yeşil rengin sarıya dönüşmesi istenen bir özelliktir (Cemeroğlu 2004).

Kapari tomurcuklarının işlenmesi ile meydana gelen renk değişiminin belirlenmesi için, CIE sisteminde L*, a*, b*, C* ve h° değerleri ölçülmüştür. Bu parametrelerden L* (lightness) aydınlık derecesini, +a* kırmızı, –a* yeşil, +b* sarı, –b* mavi rengi ifade

etmektedir. Ayrıca C* (chroma) değeri, 0 ile 60 aralığında matlık ve parlaklığı yansıtmaktadır. Diğer önemli bir parametre olan h° (hue) ise renk tonunu ifade etmektedir. Kapari tomurcuklarının 30°C'de %15 tuz içeren salamura ile depolanması sırasında reflektans renk değerlerinde meydana gelen değişim Çizelge 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.13 %15 salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının reflektans renk değerleri*

Süre (gün)	L*	–a*	b*	C*	h°	-a*/b*
0	39.95±0.38^{a}	9.09±0.66^{a}	15.75±0.68^{a}	18.18±0.92^{a}	119.93±0.75^{a}	0.58±0.02^{a}
5	47.61±0.33^{b}	4.64±0.36^{b}	24.04±0.45^{c}	24.44±0.45^{c}	100.88±1.05^{b}	0.19±0.02^{b}
10	46.94±0.12^{b}	3.96±0.05^{bc}	24.33±0.53^{c}	24.64±0.53^{c}	99.15±0.10^{bc}	0.16±0.00^{bc}
15	47.74±0.67^{b}	3.02±0.01^{bc}	20.31±0.06^{b}	20.53±0.06^{ba}	98.36±0.01^{bc}	0.15±0.00^{bc}
20	46.69±0.29^{b}	2.50±0.14^{c}	21.38±0.07^{b}	21.51±0.10^{b}	96.63±0.33^{c}	0.12±0.01^{c}
30	47.04±0.32^{b}	2.52±0.09^{c}	20.98±0.21^{b}	21.13±0.22^{b}	96.79±0.19^{c}	0.12±0.00^{c}

*Aynı sutunda farklı harflere (a-d) sahip ortalamalar arasındaki farklar $p<0.05$ seviyesinde önemlidir

Diğer sebzelerin fermente ürünlere işlenmesinde olduğu gibi, işlenmemiş kapari ham tomurcuklarının sahip oldukları yeşil renk, tomurcukların salamuraya işlenmesi ile sarıya dönüşmektedir. Çizelge 4.13 incelendiğinde, yeşil renkte meydana gelen değişimi yansıtan –a*, h° ve –a*/b* değerlerinde aynı istatistiksel sonuçlar elde edilmiştir. Yeşil rengin değişimini ifade eden bu parametrelerde değişimin büyük oranda prosesin ilk 5 gününde gerçekleştiği saptanmıştır. Prosesin 10. gününden sonra kısmi değişimler gözlenmiş ve bu değişikliklerin istatistiksel açıdan önemli olmadığı anlaşılmıştır. Başlangıçta kapari tomurcuklarında 39.95 olarak tespit edilen L* değeri, 5. günün sonunda 47.61 değerine ulaşmış, bundan sonra ve prosesin sonuna kadar geçen sürede belirlenen değerlerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.14 %20 salamura ile işlenmiş kapari tomurcuklarının reflektans renk değerleri*

Süre (gün)	L*	–a*	b*	C*	h°	–a*/b*
0	39.95±0.38[a]	9.09±0.66[a]	15.75±0.68[a]	18.18±0.92[a]	119.93±0.75[a]	0.58±0.02[a]
10	46.87±0.13[b]	3.87±0.06[b]	22.89±0.12[b]	23.29±0.22[b]	99.49±0.06[b]	0.17±0.00[b]
20	46.62±0.38[b]	2.25±0.06[b]	19.71±0.12[b]	19.84±0.12[a]	96.49±0.21[b]	0.11±0.00[b]
30	46.40±0.26[b]	2.37±0.05[b]	20.27±0.48[b]	20.42±0.49[a]	96.61±0.01[b]	0.12±0.00[b]

*Aynı sutunda farklı harflere (a-c) sahip ortalamalar arasındaki farklar $p<0.05$ seviyesinde önemlidir

%20'lik salamurada 30°C'de depolanan kapari tomurcuklarının reflektans renk değerlerinde de benzer bir değişim gözlenmiştir (Çizelge 4.14). Çizelge 4.14'den de görüleceği üzere yeşilden sarıya renk dönüşümünün prosesin ilk 10 gününde gerçekleştiği görülmüştür. %15'lik salamurada işlenen örneklerde gözlendiği gibi, %20'lik salamurada işlenen örneklerde de yeşil rengin değişimini ifade eden –a*, h° ve –a*/b* değerlerinde aynı istatistiksel değişimler söz konusu olmuştur. Prosesin 10. gününden sonra –a*, h°–a*/b* ve L* parametrelerinde saptanan değerler arasında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı, %15'lik salamurada depolanan örneklerdeki gibi rengin değişimi prosesin ilk 10 günde tamamlandığı anlaşılmıştır ($p>0.05$). Literatürde kapari tomurcuklarının depolanması sırasında reflektans renk değerlerinin değişimini ortaya koyan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada ulaşılan başlıca bulgular aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

1. Kapari tomurcuklarının genel bileşim unsurları açısından yüksek bir protein ve kül içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan kapari tomurcuklarının fermentasyona işlenen sebzelere kıyasla daha düşük bir şeker içeriğine sahip olduğu, bu nedenle laktik asit fermentasyonun için yeterince elverişli bir materyal olmadığı sonucuna varılmıştır.

2. Kapari tomurcukları x≤8 mm olacak şekilde boyutlandırıldıktan sonra %15 ve %20 tuz içeren salamuralarda 10°, 20° ve 30°C'de 90 gün süreyle depolanmıştır. Depolama süresince salamura sıvılarında asitlik ve pH gelişimi izlenmiş, prosesin ilk 10 günü içerisinde sıcaklık artışı ile daha hızlı bir asitlik oluşumu ve buna bağlı olarak pH azalışı saptanmıştır. %15 ve %20'lik salamurada 30°C'de depolanan örneklerde 72 saatin sonunda asitlik ve pH gelişiminin tamamlandığı anlaşılmıştır. Ayrıca %20'lik salamurada her üç sıcaklıkta (10°, 20° ve 30°C) depolanan örneklerde prosesin 10. gününden sonra kayda değer bir asitlik ve pH değişiminin olmadığı belirlenmiştir.

3. %15 tuz içeren salamurada, 30°C'de depolanan örneklerde laktik asit bakterisi (LAB) gelişimi izlenmiştir. İşlenmemiş ham tomurcuklarda başlangıçta oldukça yüksek düzeyde ($3.83x10^7$ kob/g) LAB saptanmasına karşın, daha prosesin 3. gününde LAB sayısı 10 kob/mL düzeyinin altına düşmüştür. LAB sayısının bu kadar hızlı bir şekilde azalmasının nedeninin, yapısında kükürt bulunduran glukosinolatların, işleme ile beraber oluşan parçalanma ürünlerinin mikrobiyel gelişimi önlemiş olması olasılığıdır. LAB sayısının gelişimine ilişkin elde ettiğimiz verilerin bazı çalışmalarla uyumlu olduğu görülürken, bazı çalışmalarla uyumlu olmadığı görülmüştür. Kapari tomurcuklarının sahip olduğu düşük şeker içerikleri, LAB sayısındaki hızlı azalma ve nihayet salamurada önemli bir asitlik artışının meydana gelmemesi göz önüne alındığında, kapari tomurcuklarının işlenmesinin aslında bir fermentasyon işlemi değil, sadece salamurada depolanmak suretiyle tomurcuklardaki glukosinolatların neden olduğu acılığın giderilmesi işlemi olduğu sonucuna varılmıştır.

4. Kapari tomurcuklarının acı lezzetinden sorumlu başlangıç glukosinolatlarının tanımlanması HPLC tekniği ile gerçekleştirilmiş ve glukosinolat profilinin %92.1'inin glukokapparinden oluştuğu saptanmıştır. %15 ve %20'lik salamuralarda 10°, 20° ve 30°C'de 10 gün süreyle glukokapparinin parçalanmasının izlenmesiyle, beklendiği gibi her iki konsantrasyondaki salamuralı örneklerde sıcaklık artışı ile glukokapparinin parçalanmasının hızlandığı saptanmıştır. Hem %15 hem de %20'lik salamuralarda 10°C'de depolanan örneklerde 10. günün, 20°C'de 5. günün ve 30°C'de 2. günün sonunda parçalanmanın tamamlandığı belirlenmiştir. Başlangıç glukosinolatlarının bu kadar hızlı parçalanmasına karşın, tomurcukların yenilebilir niteliğe kavuşmadığı anlaşılmıştır. Dolayısıyla başlangıç glukosinolatlarının parçalanması ile lezzet bileşenlerinin oluşumunun eş zamanlı olmadığı sonucuna varılmıştır.

5. Kapari tomurcuklarının acılığından sorumlu ana bileşen olan glukokapparinin parçalanmasının, sıfırıncı derece kinetik modele uygun olarak gerçekleştiği saptanmıştır. Hem %15 hem de %20'lik salamuralarda depolanan örneklerde, glukokapparinin sıcaklık artışı ile parçalanma hızının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, glukokapparinin parçalanma reaksiyonunun %15'lik salamurada depolanan örneklerde %20'lik salamurada depolanan örneklere kıyasla sıcaklık değişimlerinden daha çok etkilendiği saptanmıştır.

6. Kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonları HPLC tekniği ile belirlenmiştir. Tomurcuklarda başat flavonoidin rutin olduğu ve bunu kamferol-3-rutinozitin takip ettiği saptanmıştır. İşlenmemiş ham tomurcuklarda başlangıçta iz miktarda saptanan kamferol-3-glukozit, prosesin 10. gününden itibaren tamamen parçalanmış ve kaybolmuştur. Ham tomurcuklarda başlangıçta aglikon formda kamferol ve kuersetin saptanmazken, tomurcukların salamuraya işlenmesi ile ortaya çıkan kısmi asidik bir ortamda bu bileşenler görülmeye başlanmıştır. Kapari tomurcuklarının flavonoid kompozisyonuna ilişkin elde ettiğimiz bulguların, literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Kapari tomurcuklarının sahip oldukları yüksek flavonoid içeriği özellikle de rutin miktarı göz önüne alındığında, sağlık açısından değerli bir ürün olarak kabül edilebileceği sonucuna varılmıştır.

7. Kapari tomurcuklarının salamuraya işlenmesi ile flavonoid profilinde meydana gelen değişim, %15 ve %20'lik salamuralı örneklerde farklı bir seyir izlemiştir. %15'lik salamurada 30°C'de depolanan örneklerde ana bileşen rutinin, ikincil bileşen kamferol-3-glukozite kıyasla çok daha stabil olduğu ve 90 günlük prosesin sonunda toplam flavonoid miktarında %11.06 oranında bir azalma gerçekleştiği saptanmıştır. %20'lik salamuralarda 10°, 20° ve 30°C'de depolanan örneklerde ise, depolama sıcaklığının artışı ile rutinin parçalanma oranın azaldığı, kamferol-3-rutinozitin parçalanma oranın ise, arttığı belirlenmiştir. Sıcaklık artışı ile parçalanma oranının artacağı beklenmesine karşın, rutinde böyle bir sonuç ortaya çıkmamıştır.

8. %20 tuz içeren salamuralarda depolanan örneklerin HPLC yöntemi ile tanımlayabildiğimiz toplam flavonoid miktarlarında, 90 günlük prosesin sonunda 10°, 20° ve 30°C'de sırasıyla; %55.31, %54.04 ve %48.08 oranında azalma olduğu saptanmıştır. Bu azalmada paralel sonuçlara, Folin-Ciocalteu yöntemi ile saptanan toplam fenolik madde miktarlarında da ulaşılmıştır. Folin-Ciocalteu yöntemi ile %20'lik salamuralı örneklerde prosesin sonunda toplam fenolik içeriklerinde 10°C'de %46.20, 20°C'de %45.33 ve 30°C'de %16.26 oranında azalmalar saptanmıştır.

9. %15'lik salamurada 30°C'de, %20'lik salamurada 10°, 20° ve 30°C'de depolanan kapari tomurcuklarının antioksidan aktivitelerinde yaklaşık %50 oranında bir azalma saptanmıştır. Hem %15 hem de %20'lik salamurada 30°C'de depolanan örneklerin toplam fenolik içeriklerindeki azalmalar ile antioksidan aktivitelerindeki azalmalar arasında bir paralellik saptanmamıştır. Bu durumun kapari tomurcuklarının yapısındaki flavonoidlerin farklı stabilitelere ve farklı antioksidan aktivitelere sahip olmasından kaynaklanmış olabileceği kanısına varılmıştır.

10. Ham tomurcukların sahip oldukları yeşil rengin salamuraya işleme ile parlak sarıya dönüştüğü saptanmıştır. Hem %15 hem de %20'lik salamurada 30°C'de depolanan kapari tomurcuklarının renk dönüşümü, prosesin ilk 10 gününde tamamlandığı gözlenmiştir.

11. Ham tomurcukların acı lezzetine neden olan başlangıçtaki glukosinolatların, tomurcukların yapısında doğal olarak bulunun mirosinaz enzimi ile çok hızlı bir şekilde parçalanmaktadır. Ancak tomurcukların yenilebilir niteliğe kavuşması için salamurada daha uzun bir süre bekletilmesi gerekmektedir. Bu beklemenin nedenlerinin ve sonuçlarını ortaya koymak amacıyla tomurcukların salamurada depolanması süresince, tipik lezzet bileşenlerinin oluşumunun daha sonra yürütülecek araştırmalarla GC/MS tekniği ile incelenmesi ve bu bulguların duyusal analiz sonuçları ile ilişkisi ortaya konması gerekmektedir.

12. Salamurada depolanan tomurcukların, uzun süre herhangi bir mikrobiyel bozulmaya uğramadan korundukları görülmüştür. Bunun başlıca nedeni yüksek tuz konsantrasyonu olmakla birlikte, buna tomurcukların bileşiminde yer alan hangi biyoaktif fitokimyasalların katkıda bulunduğu, daha sonraki araştırmalarda ortaya konmalıdır.

KAYNAKLAR

Afsharypuor, S., Jeiran, K. and Jazy, A.A. 1998. First investigation of the flavour profiles of the leaf, ripe fruit and root of *Capparis spinosa var. mucronifolia* from Iran. Pharmaceutica Acta Helvetiae,72, 307-309.

Ahmed, Z.F., Rizk, A.M., Hammouda, F.M. and Seif El Nasr, M.M. 1972. Phytochemical investigation of Egytian capparies species : lipids and flavonoids. Planta Medica, 21, 156-160.

Akgül, A. 1996. Yeniden keşfedilen lezzet: Kapari (*Capparis* spp). Gıda, 21(2), 119-128.

Aktan, N., Kalkan, H. ve Yücel, U. 1999. Kapari salamurası. *Turşu teknolojisi*. Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları No:23, s. 109-126, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

Alvarruiz, A., Rodrigo, M., Miquel, J., Giner, V. and Vila, R. 1990. Influence of brining and packing conditions on product quality of capers. Journal of Food Science, 55, 196-198.

Anonim. 2003. Dış Ticaret Müsteşarlığı, İhracat Geliştirme Merkezi, Ankara.

A.O.A.C. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, U.S.A.

Astwood, E.B. 1943. The chemical nature on compounds which inhibit function of the thyroid gland. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 78(1), 79-89.

Barbera, G. 1991. Le Caprier (*Capparis* spp.) Commission des Communautes Europeenes, 62p., Luxembourg.

Berteli, D., Plessi M., Braghiroli D. and Monzani, A. 1998. Separation by solid phase extraction and quantification by reserve phase HPLC of sulforaphane in brocccoli. Food Chemistry, 63(3), 417-421.

Björkqvist, B. and Hase, A. 1988. Speration and determination of intact glucosinolates in rapeseed with HPLC. Journal of Chromatography, 435, 501-507.

Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutrition Reviews, 56(11), 317-333.

Brevard, H., Brambilla, M., Chaintreau, A. and Marion, J.P. 1992. Occurence of elemental sulphur in capers (*Capparis spinosa* L.) and first investigation of the flavour profile. Flavour and Fragnance, 7(6), 313-321.

Cemeroğlu, B. 2007. Gıda analizlerinde genel yöntemler, *Gıda Analizleri*. Cemeroğlu, B. (ed.), Bizim Büro Basımevi, s. 45-125, Ankara.

Cemeroğlu B., Yemenicioğlu A. ve Özkan, M. 2004. Meyve ve sebzelerin bileşimi, *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*. Cemeroğlu, B. (ed.), Cilt I, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:24, Başkent Klişe Matbaacılık, s. 1-188, Ankara.

Conaway, C., Yang-Ming Y. and Fung-Lung, C. 2002. Isothiocyanates as cancer chemoproventive agents: Their biological activity and metabolism in rodents and humans. Current Drug Metabolism, 3(3), 233-255.

Davis, P.H. 1982. Flora of Turkey. Vol. 1, p. 497, Oxford of the University Press, Edinburg, England.

Daxenbichler, M.E., Van Etten, C.H. and Williams, P.H. 1980. Glucosinolate products in commercial sauerkraut. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28, 809-811.

Delaquis, P.G. and Mazza, G. 1995. Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. Food Technology, 49(11), 73-84.

De Vos, R.H. and Blijleven, W.G.H. 1988. The effect of processing conditions on glucosinolates in cruciferous vegetables. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung, 187, 525-529.

Donkin, S.G., Eiteman, M.A. and Williams, P.L. 1995. Toxicity of glucosinolates and their enzymatic decomposition products to carnorhabditis elegans. Journal of Nematology, 27(3), 258-268.

Fahey, J.W., Zalcmann, A.T. and Talalay, P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocynates among plants. Phytochemistry, 56, 5-51.

Fenwick, G.R., Haney, R.K. and Mullin, W.J. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. Critical Reviews Food Science and Nutrition, 18, 123-201.

Freeman, G.G. and Mossadeghi, N. 1973. Studies on relationship between water regime and flavour strength in watercress (*Rorippa nasturtium-aquacitum* (L), cabbage (*Brassica oleracea capitata*) and onion (*Allium cepa*). Journal of Horticulture Science, 48, 365-378.

Gail-Eller, R. and Gierschner, K. 1984. Zum gehalt und verhalten der glucosinolate in weibkohl und sauerkraut. Deutsch. Lebenm.-Runds., 80, 341-346.

Giuffrida, D., Salvo, F., Ziino, M., Toscano, G. and Dugo, G. 2002. Initial investigation on some chemical constituents of capers (*Capparis spinosa* L.) from the island of Salina. Italian Journal of Food Science, 14(1), 25-33.

Gmelin, R. and Kjaer, A. 1970. Glucosinolates in some new world species of capparidaceae. Phytochemistry, 9, 601-602.

Goodrich, R.M., Anderson J.L. and Stoewsand, G.S. 1989. Glucosinolate changes in blanched broccoli and Brussels sprouts. Journal Food Proctection and Preservation, 13, 275-280.

Grayer, R.J. and Harborne, J.B. 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants 1982-1993. Phytochemistry, 37(1), 19-42.

Greer, M.A. 1965. The natural occurrence of goitrogenic agents. Recent Progress in Hormone Research, 18, 450-451.

Halkier, B.A. and Du, L. 1997. The biosynthesis of glucosinolates. Trends in Plant Science, 2(11), 425-431.

Halkman, A.K. ve Ayhan, K. 2000. Gıdalaın mikrobiyolojik analizi 1. Mikroorganizma sayımı. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, s. 229-254, Ankara.

Harborne, J.B. 1994. The flavonoids: Advances in Research since 1986. Harborne, J.B. (ed.), p.638, Chapman & Hall, London, England.

Heaney, R.K. and Fenwick, G.R. 1980. Glucosinolates in brassica vegetables. Analysis of 22 varieties of Brussels sprouts (*Brassica oleracea var. Gemmifera*). Journal of the Science of Food and Agriculture, 31, 785-793.

Hecht, S.S. 1999. Chemoprevention of cancer by isothiocyanates, modifiers of carcinogen metabolism. Journal of Nutrition, 129, 768-774.

Helboe, P., Olsen, O. And Sorensen, J. 1980. Separation of glucosinolates by high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 197, 199-205.

Inocencio, C., Rivera, D., Alcaraz, F. and Tomas-Barberan, F.A. 2000. Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in mediterranean countries. European Food Research and Technology, 212, 70-74.

ISO. 1992. Rapeseed-Determination of glucosinolates content-Part 1: Method using high-performance liquid chromatography. ISO 9167-1, 1-24.

Josefsson, E. 1967. Distribution of the thioglucosides in different parts of Brassica plants. Phytochemistry, 6, 1617-1627.

Kalkan, H., Arıcı, Ö. and Aktan, N. 1999. Saf kültür kullanılarak kapari (*Capparis* spp) çiçek tomurcuklarından turşu yapımı. Gıda, 24(6), 391-395.

Kaushik, N. and Agnihotri, A. 1999. HPLC method for separation and quantification of intact glucosinolates. Chromatographia, 49(5/6), 281-284.

Keck, A.S. and Finley, J.W. 2004. Cruciferous Vgetables: Cancer protective mechanism of glucosinolate hydrolysis products and selenium. Integrative Cancer Therapies, 3(1), 5-12.

Kırca, A. ve Özkan, M. 2007. Değişik amaçlı bazı test ve analiz yöntemleri, *Gıda Analizleri*. Cemeroğlu, B. (ed.), Bizim Büro Basımevi, s. 463-484, Ankara.

Kjaer, A. and Thomsen, H. 1963. Isothiocyanate-producing glucosides in species of Capparidaceae. Phytochemistry, 2, 29-32.

Kore, A.M., Spencer, G.F. and Walling, M.A. 1993. Purification of the *w*-(Methylsulfinyl)alkyl glucosinolate hydrolysis products: 1-Isothiocyanato-3-(methylsulfinyl) propane, 1-Isothiocyanato-4-(methylsulfinyl) butane, 4-(methylsulfinyl) butanenitrile, and 5-(methylsulfinyl) pentannitrile from Broccoli and *Lesqurella fendleri*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 89-95.

Lawless, H.T. and Heymann, H. 1998. Psychological and psychysical foundations of sensory fuction. In H.T. Lawless & H. Heymann (ed), *Sensory evaluation of food : principles and practices*. pp. 28-82, Chapman and Hall, New York, USA.

Lazzeri, L., Tacconi, R. and Palmieri, S. 1993. In vitro activity of some glucosinolates and their reactia products toward a population of the nematode Heterodera schactii. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 825-829.

MacLeod, A.J. and MacLeod, G. 1968. Volatiles of cooked cabbage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 19, 273-277.

Manici, L.M., Lazzeri, L. and Palmieri, S. 1997. In vitro fungitoxic activity of some glucosinolates and their enyzme-derived products towards plant pathogenic fungi. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 2768-2773.

Matthaus, B. and Fiebig, H.J. 1996. Simultaneous determination of isothiocyanates, indoles, and oxazolidinethiones in myrosinase digests of rapeseeds and rapeseed meal by HPLC. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 44, 3894-3899.

Matthaus, B. and Lufmann, H. 2000. Glucosinolates in members of the family Brassicaceae: seperation and idenficationby LC/ESI-MS-MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 2234-2239.

Matthaus, B. and Özcan, M. 2002. Glucosinolate composition of young shoots and flower buds of capers (capparis species) growing wild in Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 7323-7325.

Matthaus, B. and Özcan, M. 2005. Glucosinolate and fatty acid, sterol, and tocopherol composition of seed oils from *Capparis spinosa* Var *spinosa* and *Capparis ovata* Desf. Var. *canescens* (Coss.) Heywood. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 7136-7141.

Matsuo, M., Kirkland, D.F. and Underhill, E.W. 1972. 1-Nitro-2-phenylethane, a possible intermediate in the biosynthesis of benzylglucosinolate. Phytochemistry, 11, 697-701.

Mawson, R., Heaney, R.K., Zdunczyk, Z. and Kozlowska, H. 1994. Rapeseed meal glucosinolates and their antinutritional effects.Part4 Goitrogenicity and internal organs abnormalities in animals. Nahrung, 38, 178-191.

McDanell, R., McLean, A.E.M., Hanley, A.B., Heaney, R.K. and Fenwick, G.R.1988. Chemical and biological properties of indole glucosinolates (glucobrassicins): a review. Food Chemical and Toxicology, 26, 59-70.

McGhee, J.E., Kirk, L.D. and Mustakas, G.C. 1965. Methods for determining thioglucosides in Crambe abyssinica. Journal of the American Oil Chemists' Society. 42, 889-891.

Minchinton, I., Sang, J., Burke, D. and Truscott, J.W. 1982. Separation of desulphoglucosinolates be reversed phase high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography, 247, 141-148.

Mithen, R.F., Dekker, M., Verkerk, R., Rabot S. and Johnson, I.T. 2000. The nutritional signifinance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 967-984.

Nishie, K. and Daxenbichler, M.E. 1980. Toxicology of glucosinolate, related compounds (nitriles, R-goitrin, isothiocyanates) and Vitamin K found in Cruciferae. Food and Cosmetics Toxicology, 18(2), 159-172.

Ono, H., Tesaki, S., Tanabe, S. and Watanabe, M. 1998. 6-methylsulfinylhexyl isothicyanate and its homologues as food-originated compounds with antibacterial activity aganist *Escherichia coli* and *Staphhlococcus aureus*. Bioscience and Biotechnology and Biochemistry, 62(2), 363-365.

Özcan, M. 1996. Kapari (*Capparis* spp.) çiçek tomurcuklarının bileşimi ve salamura ürüne işlenmesi. Doktora Tezi (yayınlanmamış), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, , 98 s, Konya.

Özcan, M. and Akgül, A. 1998. Influence of species, harvest date and size on composition of capers(*Capparis* spp.) flower buds. Nahrung, 42(2), 102-105.

Özcan, M. 1999. Ham ve salamura kapari (*Capparis* spp.) meyvelerinin fiziksel, kimyasal özellikleri ve yağ asitleri bileşimi. Turkish Journal of Agriculture and Foresty, 23(3), 771-776.

Özkan, M. ve Cemeroğlu, B. 2005. Isıl işlem sırasında gıda bileşenlerinin parçalanma kinetiği, *Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler*. Başkent Klişe Matbaacılık, s. 435-490, Ankara.

Pedras, M., Soledade, C. and Sorensen, J.L. 1998. Phytoalexin accumulation and antifungal compounds from the crucifer wasabi. Phytochemistry, 49(7), 1959-1965.

Peterson, C.J., Tsao, R. and Coats, J.R. 1998. Glucosinolate aglucones and analogues:insecticidal properties and a QSAR. Pesticide Science, 54, 35-42.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26, 1231-1237.

Rodrigo, M., Lazaro, M.J., Alvarruiz, A. and Giner, V. 1992. Composition of capers(capparis spinosa): Influence of cultivar, size and harvest date. Journal of Food Science, 57, 1152-1157.

Romeo, V., Ziino, M., Giuffrida, D., Condurso, C. and Verzera, A. 2007. Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. Food Chemistry, 101(3), 1272-1278.

Sanchez, A.H., De Castro, A. and Rejano, L. 1992. Controlled fermentation of caperberries. Journal of Food Science, 57(3), 675-678.

Slominski, B.A. and Campell, L.D. 1987. Gas chromatographic determination of indole glucosinolates. Journal of the Science of Food and Agriculture, 40(2), 131-143.

Szimigielska, A.M., Schoenau, J.J. and Levers, V. 2000. Determination of glucosinolates in canola seeds using anion exchange membrane extraction combined with the high-pressure liquid chromatography. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 4487-4491.

Troyer, J.K., Stephenson, K.K. and Fahey, J.W. 2001. Analysis of glucosinolates from broccoli and other cruciferous vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography. Journal of Chromatography A, 919, 299-304.

Underhill, E.W. and Wetter, L.R. 1973. Biosynthesis of glucosinolates. Biochemical Society Symposium, 38, 303-326.

VanEtten, C.H., McGrew, C.E. and Daxenbicher, M.E. 1974. Glucosinolate determination in cruciferous seeds and meals by measurement of enzymically released glucose. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 22(3), 483-487.

Veberic, R. and Stampar, F. 2005. Quality of apple fruits (Malus domestica) from organic versus integrated production. Information and Technology for Sustainable Fruit and Vegetable Production, Post Harvest Technology pp. 19-26, FRUTIC 05, 12-16 September 2005, Mentpellier, France.

Waterhouse, A.L. 2005. Determination of total phenolics, Polyphenolics, Handbook of Food Analytical Chemistry. Wrolstad, R.E. (ed.), John Wiley & Sons, Inc. p. 461-471, New Jersey, U.S.A.

Wetter, L.R. and Youngs, C.G. 1976. A thiourea UV assay for total glucosinolate content in rapeseed meal. Journal of the American Oil Chemist's Society, 53, 162-164.

World Cancer Research Fund. 1997. Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: a Global Perspective, American Institute of Cancer Research, Washington, U.S.A.

Yamaguchi, T. 1980. Mutagenicity of isothiocyanates, thiocyanates and thioureas on Salmonella typhimurium. Agricultural and Biological Chemistry, 44, 3017-3018.

Zhao, F., Evans, E.J., Bilsborrow, P.E., Schung, E. and Syers, J.K. 1992. Correction for protein content in the determination of the glucosinolate content of rapeseed by the X-RF method. Journal of the Science of Food and Agriculture, 58(3), 431-433.

Ek 1. Farklı kapari resimleri





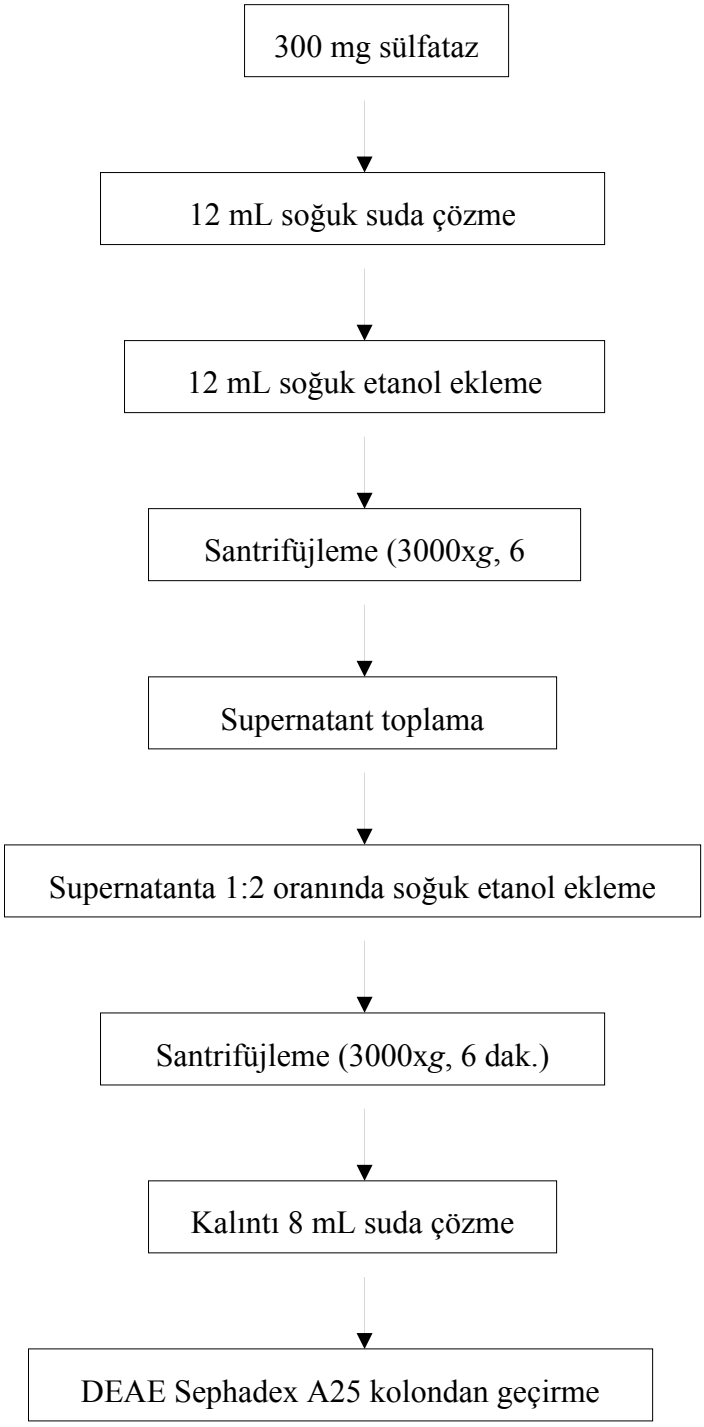








Ek 2. Sülfatazın saflaştırılması



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı **:** Oktay YEMİŞ

Doğum Yeri **:** Ankara

Doğum Tarihi **:** 11/07/1975

Medeni Hali **:** Bekar

Yabancı Dili **:** İngilizce

Eğitim Durumu

Lise **:** Ankara Cumhuriyet Lisesi (1989-1992)

Lisans **:** Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü (1994–1999)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2000–2001)

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

2001–2003 **:** Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü–Araştırma Görevlisi

2003– **:** Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü–Araştırma Görevlisi

Yayınlar :

A) Science Citation Index'e Giren Araştırma Makaleleri

1. Poyrazoğlu ES, **Yemiş O**, Kadakal Ç, Artık N. 2005. Determination of capsaicinoid profile of different chilli peppers grown in Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(9): 1435-1438.

2. Bakkalbaşı E, **Yemiş O**, Aslanova D, Artık N. 2005. Major flavan-3-ol composition and antioxidant activity of seeds from different grape cultivars grown in Turkey. *European Food Research and Technology*, 221(6): 792–797.

3. Kırca A, **Yemiş O,** Özkan M. 2006. Chlorophyll and color changes in grapevine leaves preserved by passive modification. *European Food Research and Technology*, 223(3): 387–393.

4. **Yemiş O,** Bakkalbaşı E, Artık N. 2008. Antioxidative activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts obtained from different varieties grown in Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(1), 154–159.

B) Yurt İçi Hakemli Dergilerdeki Yayınlar

1. Kadakal Ç, **Yemiş O**, Artık N. 2002. Türkiye'de üretilen kırmızıbiberlerin karotenoid ve kapsaisinoid miktarı. *Gıda Teknolojisi*, 6(5): 54-60.

2. **Yemiş O**, Bakkalbaşı E, Artık N. 2004. Kapsaisinoid kaynağı kırmızıbiberler. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 8(18): 30-37.

3. Yılmaz Y, **Yemiş O**. 2005. Hipertansiyon ve beslenme. *Gıda Teknolojisi*, 9(7): 69-73.

4. **Yemiş O**, Artık N. 2007. Glukosinolatlar ve insan sağlığı. *Gıda,* 32(6), 293-303.