

HAŞLAMA YETERLİLİK TESTİ (PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ)

Haşlama işlemi, sebzelerin kurutularak, dondurularak, konserve edilerek işlenmeleri sırasında en yaygın kullanılan ön işlemler arasındadır. Haşlama ile;

- Üründe bulunan enzimler inaktif hale getirilir böylece işleme ve depolama esnasında enzimlerin gıdanın yapısında sebep olabileceği değişimler engellenir, sınırlandırılır
- Bitkisel dokularda, hücreler arası boşlukta bulunan hava uzaklaştırılır, oksidasyon sınırlandırılır
- Ham ve acı tat giderilir, ürün renginde parlaklık sağlanır, gıdanın mikroorganizma yükü azaltılır
- Fazla hacimli ve sert yapılı sebzelerin ambalaja kolayca sığmasını sağlar, hacim küçültülür
- Nişastalı ürünlerde sonraki aşamalarda dolgu sıvısına nişastanın geçmesini önlenir
- Kusurlu bölgelerin belirgin hale gelmesi, kolayca fark edilmeleri sağlanır
- Daha sonra uygulanacak pişirme işleminin süresi kısaltılır

Haşlama işlemi, yukarıda belirtilen faydalarının yanında eğer aşırı şekilde uygulanırsa;

- Üründe tekstür, renk, lezzet ve besleyici maddelerin kaybolmasına
- Pişmiş tat oluşumuna
- Kurumadde (ağırlık) kaybına
- Fazla enerji ve su harcanır tüketilmesine sebep olabilmektedir.

Haşlama işlemi yetersiz yapılırsa;

- Doku bozulması
- Enzim faaliyetlerinde artış görülmektedir.

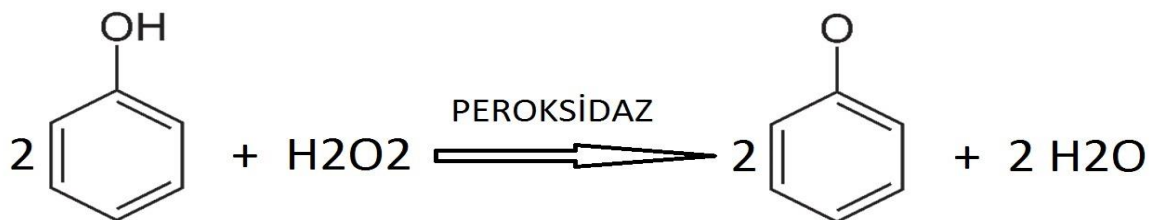
Dolayısıyla haşlama işleminin olumsuz etkilerinin en aza indirilebilmesi için haşlamanın kontrollü olarak ve hedeflenen noktaya ulaşacak yeterlilikte uygulanması gerekmektedir.

Gıdaların yapısında doğal olarak bulunan bazı enzimler (lipaz, pektinaz, polifenol oksidazlar, askorbik asit oksidaz, klorofilaz) gıdaların işlenmesi ve depolanması süreçlerinde gıdanın yapısı, rengi, lezzeti, besin içeriği üzerinde istenmeyen değişimlere neden olarak kaliteyi bozabilmektedirler.

Haşlama, **esas olarak gıdada bulunan enzimlerin inaktif edilmesi** amacıyla uygulanır.

Üretimde haşlama işleminin aşırı ya da yetersiz şekilde uygulanmasını engellemek için çeşitli haşlama yeterlilik testleri yapılmaktadır. Haşlamanın temel amacı enzimlerin inaktif hale getirilmesi olduğu için, uygulanan haşlama işleminin yeterli olup olmadığı, üründe doğal olarak bulunan bazı enzimlerin haşlama işlemi sonunda inaktif hale gelip gelmedikleri ölçülerek belirlenir. Test sonucunda eğer bu enzimlerin aktivitesinin sonlanmış olduğu tespit edilirse haşlama işleminin yeterli düzeyde yapıldığı sonucuna varılır. Haşlama yeterlilik testinde genellikle peroksidaz enzimi indikatör enzim olarak test edilir çünkü **peroksidaz enzimi ısıya en dayanıklı enzimdir. Eğer haşlama işleminde peroksidaz inaktif hale gelmiş ise diğer tüm enzimler inaktif hale gelmiş olacaktır.**

Peroksidaz meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bir enzimdir. Peroksidaz (E.C. 1.11.1.7), fenol gibi hidrojen atomlarını verebilen bileşikler ile bu atomları alıcı durumunda olan hidrojen peroksit (H_2O_2) bileşiği arasındaki reaksiyonu katalizleyen bir oksidoredüktazdır. Reaksiyon sonucunda hidrojen peroksit suya parçalanırken guaiakol, kateşin gibi fenolik bileşikler okside olur.

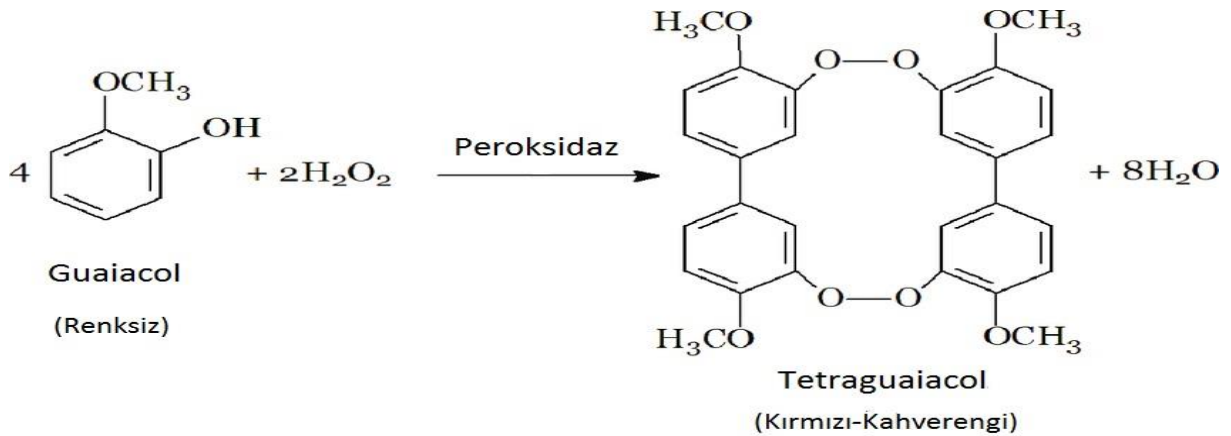


Peroksidazın hücredeki görevi, oksitleyici özelliğe sahip olan H_2O_2 'yi, suya (H_2O) indirgeyerek hücreyi H_2O_2 'nin sebep olduğu oksidatif strese korumaktır. Peroksidaz bu özelliği ile bitki dokularında bulunan çok sayıdaki fenol ve aromatik halkaları okside ederek meyve ve sebzelerde rengin bozulması, lezzetin değişmesi, beslenme değerinin azalması gibi olumsuzluklara neden olmaktadır. Bu sebeplerle peroksidaz ile birlikte diğer enzimlerde dondurulmuş, kurutulmuş ve konserve edilmiş gıdaların üretiminde haşlama işlemi ile inaktif edilmelidir.

Ancak, haşlama işlemi enzim inaktivasyonu sağlarken aşırı haşlamanın gıdanın kalitesi üzerinde olumsuz etkileri olmaktadır. Bu etkileri en düşük düzeyde tutabilmek için haşlamanın sadece enzim inaktivasyonunu sağlayacak düzeyde uygulanması gerekmektedir. Uygulanacak haşlama süresi, haşlama yeterlilik testi sonucuna göre belirlenebilir.

Haşlama yeterlilik testinde (peroksidaz aktivitesi tayini) basitçe;

- Gıda örneği, guaiacol ve hidrojen peroksit gibi peroksidaz enziminin substratları ile aynı ortamda tutulur
- Gıdada bulunan peroksidaz enziminin guaiacol üzerinde aktivite göstermesi sağlanır
- Peroksidaz enzimi eğer aktif ise guaiacolu indirger
- İndirgeme sonucunda ortamda renkli bileşikler açığa çıkar
- Ve oluşan renkten enzimin ne kadar aktif olduğu yorumlanır.



Test esnasında peroksidaz enzimi guaiacolden hidrojen peroksit hidrojen transferini katalizleyerek H_2O_2 'yi H_2O 'ya indirger ayrıca guaiacolu okside eder ve bu süreç sonucunda ortamda kırmızı kahverengi renk oluşur. Bu rengin oluşması peroksidaz enziminin aktif olduğunu, rengin oluşmaması peroksidaz enziminin inaktif olduğunu gösterir.

Oluşan rengin kuvveti uygulanan haşlama işleminin etkinliği hakkında fikir vermektedir.

- Hiç renk oluşmaması veya belli belirsiz renk oluşumu enzimin inaktif olduğunu dolayısıyla haşlamanın yeterli olduğunu,
- Koyu renk oluşumu enzimin aktif olduğunu dolayısıyla haşlamanın yeterli olmadığını göstermektedir.

Yöntemin Prensibi

Belirli sürelerle haşlanmış gıda örneğinin guaiacol ve hidrojen peroksit (H_2O_2) çözeltileri ile muamele edilerek örnekte oluşan renk değişiminin gözlenmesi ve oluşan renge göre haşlama işleminin etkinliğinin belirlenmesi.

Kullanılan Kimyasallar

- % 1'lik guaiacol çözeltisi (guaiacol, % 95'lik alkolde çözündürülür)
- % 0,5'lik hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi (H₂O₂ çözeltisi saf su ile seyreltilir)

Analizin Yapılışı

- Analiz edilecek sebzededen bir miktar alınarak belirli sürelerle (1 dk., 5 dk., 10 dk. gibi) haşlanır.
- Haşlanmış örnekten 5–10 g kadar alınır, küçük parçalara ayrılır.
- Parçalanmış örnekten 5 g kadar alınıp 2,5–3,0 cm çapındaki bir tüpe konur.
- Tüpe örneğin üstünü örtecek kadar (yaklaşık 5–10 ml) su konur.
- Üzerine önce 1 ml % 1'lik guaiacol çözeltisi daha sonra 1 ml % 0,5'lik hidrojen peroksit çözeltisi eklenir.
- Çalkalanıp 2. ve 5. dakikalarda renk değişimi olup olmadığı ve oluşan rengin tonu gözlemlenir.
- Kullanılan çözeltilerin kontrol edilmesi için aynı işlemler haşlanmamış taze örnek ve 15 dakika haşlanmış örnek için tekrarlanır. Test sonucunda haşlanmamış taze örnekte kuvvetli bir kırmızı-kahverengi renk oluşması, 15 dakika haşlanmış olan örnekte ise renk değişimi olmaması gerekir.

Sonuç ve Değerlendirme

- Herhangi bir renk değişikliği görülüyorsa peroksidaz enziminin inaktive olduğu ve haşlama işleminin yeterli olduğu şeklinde yorumlanır.
- Doku aralarında, belli belirsiz küçük kahverengi izler görülmesi durumunda peroksidazın yüksek miktarda inaktive olduğuna ve haşlamanın yeterli olduğuna karar verilir.
- Tüm dokunun açık kahverengi ve bazı parçaların da koyu kahverengi olması peroksidaz enziminin yeterince inaktive olmadığını gösterir. Haşlamanın yeterli olmadığına karar verilir, haşlama süresi uzatılmalıdır.
- Kırmızı-kahverengi renk oluşumu peroksidazın inaktive olmadığını, haşlamanın etkisiz olduğunu gösterir, haşlama süresi uzatılmalıdır.

Örneğin; patates için yapılan haşlama yeterlilik testinde, patates örneği sırası ile 1, 3, 5, 7 ve 10 dakikalık sürelerle haşlanmış ve her haşlama süresi için peroksidaz aktivitesi tayini yapılmış ise,

Haşlama süresi	Peroksidaz aktivitesi tayininde oluşan renk
1 dakika	Koyu kahverengi renk
3 dakika	Koyu kahverengi renk
5 dakika	Açık ancak tüm yüzeyi kaplayan kahverengi renk
7 dakika	Belli belirsiz kırmızı noktalar
10 dakika	Renk yok

Ve tabloda belirtilen şekilde sonuçlar elde edilmişse,

- Hiç rengin oluşmadığı 10 dakikalık haşlamanın etkili olduğuna,
- Ancak 7 dakikalık haşlamanın da yeterli olduğuna,
- Diğer sürelerin yetersiz olduğuna karar verilir.

Patates için uygulanacak haşlama işlemi 7-10 dakika aralığında seçilebilir.