

NOHUT (*Cicer arietium* L.)'UN B VİTAMİNİ ve OLİGOSAKKARİT İÇERİĞİNE IŞINLAMANIN ETKİSİ

Ayça AYLANGAN, Berna ÖZYARDIMCI, Erhan İÇ

Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Kazan-
Ankara

Özet

Ülkemiz açısından ekonomik öneme sahip bakliyat ürünlerinin ticaretinde ve özellikle Ortadoğu'ya yapılan ihracatta böceklenmeden kaynaklanan büyük problemler yaşanmaktadır. Bakliyat ürünlerinde üretimden tüketime kadar, depolara taşınma esnasında, depolama ve raf ömrü süresince böcek gelişmesiyle karşılaşmaktadır ve bu durum ürün ticaretini kısıtlamaktadır. Bakliyat ürünleri zararlıları çok düşük ışınlama dozları ile kontrol altına alınabilmektedir. Böceklenmeye karşı uygulanan bu dozlar, bakliyatın kimyasal yapısında olumsuz değişikliğe neden olmamaktadır. Bu çalışmada, nohut örneklerinde (*Cicer arietium* L.) B vitamini (tiamin, riboflavin) ve oligosakkarit (rafinoz, stakiyoz) içeriğine gama ışınlarının etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, nohut örnekleri 3 farklı ışınlama dozunda (0.25 kGy, 0.50 kGy ve 1.00 kGy) ışınlanmış ve HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) kullanılarak analiz edilmiştir. Işınlanmamış kontrol örneği ile ışınlanmış nohut örnekleri karşılaştırıldığında B vitamini içeriğinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Oligosakkarit içeriği dikkate alındığında ise, özellikle stakiyoz miktarında ışınlama dozuna bağlı olarak azalma olmuştur. Işınlama teknolojisi kullanılarak düşük ışınlama dozları (<1 kGy) ile nohut gibi bakliyat ürünlerinin böceklenmeden kaynaklanan depo kayıpları engellenebilmektedir.

Anahtar kelimeler: Nohut, ışınlama, B vitamini, oligosakkaritler

Abstract

Pulses has economic importance in our country and especially in trade of products for exports to Middle East, there are major problems caused by insects. Pulses, from production to consumption, during the transport, storage and shelf-life are encountered infestation of stored product pests. Therefore, the trade and the roaring trade of pulses are restricted. Insect pests of pulses products can be controlled by low dose irradiation. These doses do not caused the negative change in chemical quality of pulse commodities. In this study, effect of gamma irradiation to B vitamins (tiamin and riboflavin), oligosaccharides (raffinose and stachyose) content were investigated in chickpea samples. For this purpose, 3 different irradiation dose (0.25 kGy, 0.50 kGy ve 1.00 kGy) were applied to chickpea samples and analysed by HPLC (High performance liquid chromatography). Compared to irradiated and control samples, it was not observed significant changes in B vitamins content. The content of oligosaccharides especially amount of stachyose was decreased depend on irradiation doses. It is prevented that pulses such as chickpea during storage losses caused insect pests by low irradiation doses (less than 1 kGy) of irradiation technology.

Key words: Chickpea, irradiation, B vitamins, oligosaccharides

1. Giriş

Mercimek, nohut, fasulye, bezelye, bakla ve börülceyi içine alan baklagiller, dünya üzerinde büyük bir kitle için besin değeri bakımından önemli bir gıda maddesidir. Gelişmekte olan ülkelerde önemli protein kaynağının başında gelmektedir. Ayrıca baklagiller iyi bir karbonhidrat, mineral ve B vitamini kaynağıdır. Son yıllarda fonksiyonel bir gıda maddesi olarak algılanmaya başlanması ile bazı gelişmiş ülkelerin bakliyat tüketiminde değişimler olmuştur (Anonim, 2009). Bu ürünler daha çok kuru olarak büyük miktarlarda depolanmaktadır. Depolanan bu ürünlerin önemli bir miktarı her yıl böceklenme sorunu nedeniyle kaybedilmektedir. Dünyanın birçok ülkesinde böceklenmeden kaynaklanan gıda kayıpları hasat edilen ürünün %30'una kadar ulaşmaktadır. Depolama süresince gıdalara 600'den fazla böcek türü, 70 kadar güve ve 355 akar türünün zarar verdiği bildirilmiştir (Rajendran, 2002). Depolanmış gıdalarda böceklenmeden kaynaklanan kuru madde kaybının tahıllarda % 0.5-17 aralığında, baklagillerde ise % 50'nin üzerinde olduğu belirtilmektedir (Snelson, 1987). Gıda koruma yöntemlerinden biri olan gıda ışınlama ile depolama sırasında böceklenmeden kaynaklanan ürün kayıpları önlenabilmektedir. Işınlama teknolojisi baklagillerin ticaretinde karşılaşılan karantina problemlerini çözen, nohutta da zarar yapan fasulye ve börülce tohum böceklerine karşı 1 kGy'in çok altında dozlarda etkinliği ve başarısı kanıtlanmış bir teknolojidir. Gıda ışınlama ile ilgili olarak Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agricultural Organization, FAO), Uluslar arası Atom Enerjisi Ajansı (International Atomic Energy Agency, IAEA) ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) tarafından kurulan komite toksikolojik, mikrobiyolojik ve beslenme açısından 10 kGy'e kadar gıdalara uygulanan dozların güvenli olduğunu belirtmiştir (Lara et al., 2002).

06.11.1999 tarih ve 23868 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan Gıda Işınlama Yönetmeliği'nde baklagiller için böceklenmeyi önlemek amacıyla maksimum 1.0 kGy'e kadar ışınlama yapılmasına izin verilmektedir (Anonim, 1999; 2002; 2003).

Bu çalışmada farklı dozlardaki gama ışınlarının nohut örneklerinin B vitamini (tiamin, riboflavin) ve oligosakkarit (rafinoz, stakiyoz) içeriğine etkisi incelenmiştir.

2. Materyal ve metod

2.1 Örnek ve kimyasallar

Bu çalışmada Mersin ilinde faaliyet gösteren ticari bir firmadan temin edilen ilaçlanmamış İspanyol tipi nohut örnekleri kullanılmıştır. Oligosakkarit analizinde kullanılan rafinoz ve stakiyoz standartları ile B vitamini analizinde kullanılan tiamin ve riboflavin standartları Sigma (St. Louis, Missouri, USA) kaynaklıdır. Millipore membranlar (0.45 µm) Millipore'dan alınmıştır. Diğer tüm kimyasallar analitik saflıktadır.

2.2 Işınlama kaynağı

Örnekler polietilen ambalaj içinde 0.25; 0.50 ve 1.00 kGy'lik dozlarda ışınlanmışlardır. Işınlama işlemi, Türkiye Atom Enerjisi Kurumu (TAEK), Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde (SANAEM) bulunan ve Teknoloji Bölümü, Dozimetre Birimi tarafından işletilen Gama Işınlama Tesisi bünyesindeki, deneysel amaçlar için kullanılan ve ışınlama kaynağı Co⁶⁰ elementi olan Gama-hücrelerinde (Issledovatelj-TENEX, Russia) yapılmıştır. Bu çalışmada, uygulanan ışınlama dozlarını tespit edebilmek amacıyla 0.1 – 3 kGy'lik doz aralığında ölçüm yapabilen Harwell perspex dozimetreler (Harwell Gammachrome YR[®],

Perspex Dosimeter, Batch 62, Harwell, UK) kullanılmıştır. Işınlamadan sonra tüm nohut örnekleri +4 °C’de depolanmışlardır.

2.3 B vitamini (Tiamin ve riboflavin) tayini

Tiamin ve riboflavin ekstraksiyonu Batifoulie ve ark. (2006) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. 1 mm’lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş 5 g örnek 100 ml’lik erlene tartılır ve üzerine 23,5 ml 0.05 M sodyum asetat (pH 4.5) eklenir ve karıştırılır. Erlen 100 °C’de çalkalamalı su banyosunda 10 dak bekletilir. Soğuduktan sonra üzerine sırasıyla 500 µl asit fosfataz (20 mg/ml), 500 µl papain (100 mg/ml), 500 µl alfa-amilaz (10 mg/ml), 500 µl beta glukozidaz (20 mg/ml), 1.25 ml glyoxylic acid (1 M), 200 µl demir sülfat çözeltisi (%2’lik) ve 250 µl glutathion (%1’lik) eklenir. Solüsyon 37 °C’lik çalkalamalı su banyosunda 18 saat süreyle inkübasyona bırakılır. Inkübasyondan sonra su ile 50 ml’ye tamamlanan karışım vortekslenir. 5000 g’de 10 dak santrifüjlenir. Süpernatant 0.45 µm’lik Millex filtreden (Millipore) geçirilir. Bu örnek riboflavin analizinde kullanılır. Tiamin için süpernatanttan 4 ml alınır ve üzerine 3 ml %1’lik potasyum ferrisiyanit (% 15’lik NaOH’te hazırlanmış) ilave edilir. 10 saniye vortekslenir. 1 dak bekletilir. Solüsyon önceden şartlandırılmış SepPack C18 (5 ml saf su ve daha sonra 2 ml metanol ile yıkanarak şartlandırılmış, 10 ml) kartuştan geçirilir. Örnek geçirildikten sonra Seppack C18 kartuş 10 ml 0.05 M sodyum asetat (pH 6.0) ile yıkanır. Daha sonra kartuştan metanol-su karışımı (70:30, v:v) geçirilir ve bu kısım toplanır. Toplanan kısım metanol-su karışımı (70:30, v:v) ile 10 ml’ye tamamlanır. 0.45 µm’lik Millex filtreden (Millipore) geçirilir ve filtrat tiamin analizi (thiochrome olarak) için kullanılır. Kalibrasyon kurvesi için tiamin’den 1 mg/ml konsantrasyonda destile su ile stok standard çözelti hazırlanır. Riboflavin stok standard çözeltisi (0.1 mg/ml) için ise 50 mg riboflavin üzerine 400 ml 0.02 M asetik asit ilave edilir. Orta derecede ısıtılıp 1 h karıştırılarak tamamen çözülür. Soğuduktan sonra pH 4.5’a 2.5 M sodyum asetat ile ayarlanır. Saf su ile 500 ml’ye tamamlanır. Riboflavin ve tiamin floresan dedektörlü Waters 2695 model yüksek performans sıvı kromatografisi ile ayrılmıştır. Ayırmada kullanılan kolon µ-Bondapak C18 (150 mm x 3.9 mm), mobil faz ise (isocratic) 0.05 M Sodyum asetat – metanol (70:30, v:v, pH 6.0)’dir. Dalga boyu: tiamin için excitation 365 nm, emission 435 nm; riboflavin için excitation 422 nm, emission 522 nm’dir. Sıcaklık 30 °C, akış hızı 1 ml/dak ve enjeksiyon hacmi 20 µl’dir.

2.4 Rafinoz ve stakioz tayini

Rafinoz ve stakioz için Xiaoli ve ark. (2008) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. 85 °C’de 2 h kurutulan örnekler 0.25 mm’lik elekten geçirilecek şekilde öğütülür (Retsch ZM100). 10 g kuru örnek, 40 ml petrol eteri ile karıştırılıp yağı alınır ve 4 °C’de saklanır. 1 g yağı alınmış örnek 3 kere 10 ml % 50’lik etanol-su karışımı ile 50 °C’lik su banyosunda 30 dakika süreyle ekstrakte edilir. Her ekstraksiyondan sonra örnekler 2500 g’de 20 dak santrifüjlenir. Her 3 ekstraksiyondan elde edilen süpernatantlar birleştirilir ve rotary evaporatörde konsantre edilir. 5 ml mobil faz çözeltisinde (asetonitril-su 75:25) çözülür. 0.45 µm’lik Millex filtreden (Millipore) geçirilir ve filtrat HPLC analizinde kullanılır. Standard çözelti su ile 0.5,1.0,2.0,5.0,10.0,15.0 ve 20.0 µg/600µl konsantrasyonda hazırlanmıştır. Rafinoz ve stakioz refraktif indeks dedektörlü Waters 2695 model yüksek performans sıvı kromatografisi ile ayrılmıştır. Ayırmada kullanılan kolon Separon SGX NH2 5 µm (250 mm x 4.0 mm), mobil faz ise (isocratic) Asetonitril–su (75:25, v/v)’dir. Sıcaklık oda sıcaklığı, akış hızı 1 ml/dak ve enjeksiyon hacmi 20 µl’dir.

3. Sonuçlar

3.1 B vitamini (tiamin ve riboflavin) analizi sonuçları

Tablo 1’de ışınlanmamış kontrol örneği ve ışınlanmış nohut örneklerine ait B vitamini değerleri gösterilmektedir. Karbonhidrat metabolizmasında önemli rol oynayan tiamin (Vitamin B₁) ve protein-yag metabolizmasında etkili olan riboflavin (Vitamin B₂) içeriği değerlendirildiğinde uygulanan 3 farklı ışınlama dozunun (0.25; 0.50 ve 1.00 kGy) önemli bir değişikliğe yol açmadığı görülmektedir.

Tablo 1. Nohut örneklerindeki tiamin ve riboflavin miktarı^a

	Tiamin	Riboflavin
Kontrol	0.579±0.0113	0.195±0.0090
0.25 kGy	0.588±0.0107	0.195±0.0051
0.50 kGy	0.579±0.0075	0.193±0.0081
1.00 kGy	0.583±0.0276	0.199±0.0051

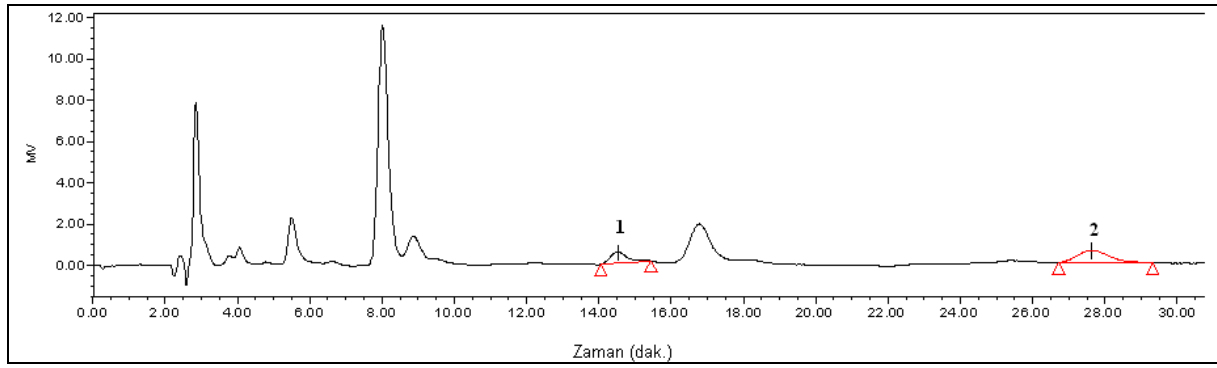
^a Veriler kuru maddede mg/100 g olarak ifade edilmiştir (ortalama±standard sapma) n=3.

Vitaminlerin sulu veya diğer çözeltileri ışınlamaya karşı oldukça duyarlı iken gıdalardaki vitaminler için bu doğru değildir (Villavicencio et al., 2000). Bunun yanı sıra, riboflavin tiamine göre iyonize radyasyona karşı daha dirençlidir (Khattak ve Klopfenstein, 1988; Stewart, 2001). Ayrıca, tiaminin ışınlamaya kıyasla ısıya karşı daha hassas olduğu unutulmaması gereken önemli bir noktadır (Stewart, 2001).

Villavicencio et al. (2000) Brezilya fasulyesinin iki çeşidinde (Carioca ve Macaçar) yaptıkları çalışmada Carioca çeşidinde 2.5 kGy’den daha yüksek dozlarda tiamin içeriğinde çok küçük bir azalma gözlenirken, diğer Macaçar çeşidinin tiamin içeriğinde önemli bir kayıp olmadığı bulunmuştur Carioca çeşidinin riboflavin içeriği 6 aylık depolama süresi ve uygulanan ışınlama dozlarından etkilenmez iken, Macaçar çeşidinde riboflavin içeriği ışınlama dozuna bağlı olarak artış göstermiştir. Literatürdeki diğer çalışmalar da değerlendirildiğinde 1 kGy’e kadar böceklenmeyi önlemek amacıyla yapılan ışınlamalarda nohut örneklerinin B vitamini (tiamin ve riboflavin) değişiklik olmamaktadır. Pişmiş ve çiğ börülce örnekleriyle yapılan bir başka çalışmada 0.5 kGy ile 10 kGy arasında uygulanan ışınlama dozlarının tiamin içeriğinde önemli bir farklılığa yol açmadığı bulunmuştur (Lima ve ark., 2011).

3.2 Oligosakkarit (rafinoz ve stakiyoz) analizi sonuçları

Şekil 1 nohut örneklerinden ekstrakte edilen serbest şekerlerin kromatografik profilini göstermektedir. Standard şeker çözeltilerinin alıkonma süresine göre rafinoz ve stakiyoz sırasıyla 1 ve 2 numaralı piklerden tanımlanmaktadır. Literatürden derlenen bilgilere göre kromatogramda görülen diğer pikler monosakkarit (fruktoz ve glukoz) ve disakkaritlere (sukroz ve maltoz)’a aittir (Xiaoli et al., 2008).



Şekil 1. Nohut örneğinden ekstrakte edilen serbest şekerlerin kromatografik profili. 1: Rafinoz; 2: Stakiyoz.

Rafinoz ve stakiyoz ısıya karşı stabil olan oligosakkaritlerdir ve mide, bağırsak gazlarına, karın rahatsızlıklarına neden olan faktörlerdendirler (Dixit et al., 2011). Gama ışınlama ile oligosakkaritler glukoz ve fruktoz gibi monosakkaritlere parçalanarak yol açtıkları sindirim problemleri azaltılabilmektedir. Yapılan çalışmada ışınlanmamış kontrol örneği özellikle stakiyoz içeriği bakımından en yüksek değere sahip iken (5.100 ± 0.2828 g/100 g), ışınlama dozu arttıkça stakiyoz içeriğinde azalma gözlenmektedir. Tablo 2’den görüleceği gibi 0.25, 0.50 ve 1.00 kGy’lik dozlarda ışınlanan nohut örneklerinin stakiyoz içeriği sırasıyla 4.770 ± 1.0748 g/100 g, 3.820 ± 0.0494 g / 100 g ve 3.990 ± 0.1594 g/100 g’dır. Al-Kaisey et al. (2003) ışınlanmış bakla örneklerinde gaz problemlerine neden olan oligosakkaritlerin azaldığını belirtmiştir. Dixit et al. (2011) soya fasulyesinde ışınlamanın etkisini incelemiş ve ışınlanmış (0.5 ve 5.0 kGy) soya fasulyelerinde rafinoz içeriğinin azaldığı bulunmuştur.

Tablo 2. Nohut örneklerindeki α -oligosakkaritlerin (rafinoz ve stakiyoz) miktarı^a

	Rafinoz	Stakiyoz
Kontrol	3.650 ± 0.6150	5.100 ± 0.2828
0.25 kGy	4.080 ± 0.8761	4.770 ± 1.0748
0.50 kGy	3.800 ± 0.2616	3.820 ± 0.0494
1.00 kGy	3.430 ± 0.1721	3.990 ± 0.1594

^a Veriler kuru maddede % (w/w) olarak ifade edilmiştir (ortalama $\pm$ standard sapma) n=3.

Piştirilmiş börülce örneklerinin 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ve 10.0 kGy’lik dozlarda ışınlanması sonucu rafinoz ve stakiyoz içerikleri ışınlanmış örnekler ve kontrol karşılaştırıldığında doza bağlı olarak azalma gösterdiği bulunmuştur. En büyük azalma 5.0 kGy ile 10 kGy’lik yüksek ışınlama dozlarında olmuştur. (Lima ve ark., 2011).

Sonuç olarak, nohut örneklerinde tohum böcekleri depo zararlılarına karşı 1 kGy’den çok daha düşük dozlarda yapılan ışınlamalar nohutta böceklenmeden kaynaklanan kayıpları önlemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca, yüksek B vitamini içeriğine sahip bu örneklerde düşük ışınlama dozlarının B vitamini içeriğinde önemli bir değişime yol açmazken, sindirim problemlerine neden olan oligosakkaritler ışınlama dozuna bağlı olarak monosakkaritlere parçalanmakta ve bu sayede baklagillerin sindirim problemleri azaltılabilmektedir.

Kaynaklar

- Al-Kaisey MT, Alwan AKH, Mohammad MH, Saeed AH. 2003. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad beans. *Radiat. Phy. and Chem.*, 67, 493 – 496.
- Anonim.1999. Gıda Işınlama Yönetmeliği. 06.11.1999 tarih ve 23868 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Anonim 2001. Tarımsal Değerleri Ölçme Denemeleri Teknik Talimatı, Yemeklik tane baklagiller, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü, 43 s.
- Anonim. 2002. Gıda Işınlama Yönetmeliğinde değişiklik yapılması hakkında yönetmelik. 15.10.2002 tarih ve 24907 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Anonim. 2003. Gıda Işınlama Yönetmeliğinde değişiklik yapılması hakkında yönetmelik. 19.12.2003 tarih ve 25321 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Anonim. 2009. Dünya ve Türkiye Bakliyat Sektörü, Akdeniz İhracatçılar Birlikleri Araştırma Serisi, 62, 36 s.
- Batifoulie F, Verny MA, Chanliaud E, Remesy C, Demigne C. 2006. Variability of B vitamin concentrations in wheat grain, milling fractions and bread products. *Europ. J. Agronomy*. 25, 163 – 169.
- Sadasivam S, Manickam A. 2005. Revised second edition. *Biochemical Methods*. New Age International Publishers, New Delhi.
- Dixit AK, Kumar V, Rani A, Manjaya JG, Bhatnagar D. 2011. Effect of gamma irradiation on lipoxygenases, trypsin inhibitor, raffinose family oligosaccharides and nutritional factors of different seed coat colored soybean (*Glycine max* L.). *Radiat. Phy. and Chem.*, 80, 597-603.
- Khattak AB, Klopfenstein CF. 1988. Effects of gamma irradiation on the nutritional quality of grain and legumes. I. Stability of Niacin, Thiamin, and Riboflavin. *Cereal Chem.*, 66 (3), 169-170.
- Lara JD, Fernandez PS, Periago PM, Palop A. 2002. Irradiation of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* with electron beams. *Innovative Food Sci. and Emerg. Technol.*, 3, 379 – 384.
- Lima KSC, Souza LB, Godoy RLO, França TCC, Lima ALS. 2011. Effect of gamma irradiation and cooking on cowpea bean grains (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Radiat. Phy. and Chem.*, 80, 983-989.
- Rajendran S. 2002. Postharvest pest losses. In “*Encyclopedia of Pest Management*” (D. Pimentel, ed.), pp. 654-657. Marcel-Dekker, New York.
- Snelson JT. 1987. Grain Protectants. ACIAR Monograph 3. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.

Stewart EM. 2001. Food Irradiation Chemistry, Edited by R.A. Molins, Food Irradiation: Principles and Applications, The National Academies, John Wiley & Sons, Inc., Publication, Canada. 469 s.

Villavicencio ALCH, Mancini-Filho J, Delince H, Bognar A. 2000. Effect of gamma irradiation on the thiamine, riboflavin and vitamin B₆ content in two varieties of Brazilian beans. *Radiat. Phy. and Chem.*, 57, 299 – 303.

Xiaoli X, Liyi Y, Shuang H, Wei L, Yi S, Hao M, Jusong Z, Xiaoxiong Z. 2008. Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) seeds by high performance liquid chromatography. *Food Chem.*, 111, 215 – 219.