



Fonksiyonel Gıdalarda Biyoteknoloji Uygulamaları

Evren Çağlar EROĞLU
Gıda Mühendisi

Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyon MùdùrlùĐù

Erdemli/MERSİN

30.04.2014



T.C.
GIDA TARIM VE HAYVANCILIK
BAKANLIĞI



Eğitim



- **Eğitimin Konusu:** Fonksiyonel Gıdalarda Biyoteknoloji Uygulamaları
- **Eğitimin Başlangıç Tarihi:** 15.12.2012
- **Eğitimin Bitiş Tarihi:** 15.04.2013
- **Eğitimin Süresi:** 4 Ay
- **Eğitim Yeri:** Rhode Island Üniversitesi
 - a) Gıda Bilimi ve Beslenme Araştırma Birimi
 - b) Eczacılık Fakóltesinde
- **Danışmanlar:**
 - a) Prof .Dr. Chong LEE (Rhode Island Üniversitesi Gıda Bilimi ve Beslenme Araştırma Birimi)
 - b) Yrd. Doç. Dr. Emmanouil Apostolidis (Framingham State Üniversitesi, Kimya ve Gıda Bilimi Bölümü)



Beslenme Bilimindeki Değişiklikler



20 yüzyıl başlarından itibaren:

- Eksikliklerin önlenmesi
- Büyümenin sağlanması
- Devamlılık
- Gelişim

amacıyla

- 1) Temel besin öğeleri keşfedilmiş
- 2) Besin Standartları, diyet önerileri, ve gıda kılavuzları oluşturulmuştur.

20.Yüzyılın sonlarından itibaren ise

- Sağlık masraflarının önlemez artışı
- Yaşam kalitesi ve beklentilerindeki artış
- Bilimsel ilerlemeler
- Yaşam stilini etkileyen yeni teknolojik gelişmelerin etkisiyle



Dengeli beslenme fikri kabul görmeye başladı



Dengeli Beslenme



Uygun bir beslenme:

- Vücut için kritik önemdeki temel besin öğelerini içermeli
- Büyümenin ve vücut ağırlığının korunabilmesi için gerekli gıda bileşenlerini içermeli
- Vücut sağlığını desteklemeli
- Hastalık risklerini azaltmalı



Fonksiyonel Gıda



- ✓ Günlük diyetin bir parçası olmasının yanında sağlığa yararlı etkileri olduğu bilinen gıdalar olup minimum günlük besin gereksiniminden fazlasını yaparlar.
- Hastalık riskini azaltır
- Daha sağlıklı bir yaşam için katkıda bulunurlar



Fonksiyonel Gıdaların Sınıflandırılması

- **Temel Gıdalar:** Havuç (doğal seviyede anti-oksidant beta karoten içerir) (Fonksiyonel gıda)
- **İşlenmiş Ürün:** Yulaf kepekli mısır gevreği (doğal seviyede beta gluklan içerir) veya Kalsiyumca zenginleştirilmiş meyve suyu (Fonksiyonel gıda)
- **İslah edilmiş Gıda ürünleri (geleneksel islah çalışmaları, özel hayvan besleme yöntemleri ve genetik mühendisliği):** (Fonksiyonel gıdalar)
 - Yüksek likopen içeriğine sahip domates
 - Yüksek beta gluklan içeriğine sahip yulaf kepeği



Fonksiyonel Gıdalar Tarihi



- **2000 yıldan öncesi** : Hipokrat “Gıdalar ilaçlarıdır ”
- **1900’lerin başı**: ABD’de gıda üreticileri guatr hastalığını önlemek için tuza iyot eklemeye başladılar
- **1900’lerin ortaları**: Süte A ve D vitaminleri eklenmeye başladı
- **1900’lerin ortaları**: Bakliyalara Niasin ve folik asit takviyesi yapılmaya başladı
- **1900’ların sonları**: Araştırmalar kronik hastalıkların önlenmesi ve iyileştirilmesi yönüne çevrildi.
- **Günümüzde**, Araştırmacılar yüzlerce yeni fonksiyonel gıda bileşeni tanımlamış olup yeni araştırmalarla gıdaların kompleks yapısı çözülmeye devam etmektedir.

- Gıda biyoteknolojisi modern biyoteknolojik yöntemlerin uygulandığı gıda bilimi branşıdır.
- Yeni gıda ve içecek geliştirmede kullanılan bazı biyoteknoloji yöntemleri:
 - Fermentasyon ve enzim çalışmaları, bitki ve hayvan kültürleri ve genetiği değiştirilmiş gıdalar...





Gıda Biyoteknolojisinin Tarihçesi



- **MÖ 6000** --> Babiller ve Sümerler bira yapmak için maya kullandılar.
- **MÖ 4000** --> Mısırlılar ekme yapmak için maya kullanmaya başladılar.
- **1871** --> Ernst Hoppe-Seyler şekerleme yapmada kullanılan invertaz buldu.
- **1935** --> Andrei Nikolaevitch Belozersky DNA saflaştırdı.
- **1953** --> James Watson and Francis Crick çift helezon yapıdaki DNA zincirini keşfetti.
- **1986** --> Virüslere dayanıklı genetiği değiştirilmiş tütün üretimi yapıldı



Gıda Biyoteknolojisinin Tarihçesi



- **1990** --> ABD de peynir üretiminde modifiye edilmiş enzim kullanılmaya başlandı.
- **2000** --> Avusturalya'da klonlanmış koyun üretildi.
- 2001 --> Arabidopsis den elde edilen genler domates bitkilerine eklendi. Böylece domates tuzlu ve su ve toprakta daha kolay üretilmeye başlandı.
- **2002** --> Pirinç gen haritası çıkarıldı
- **2006- 2014** --> Gıdalarda binlerce yeni genetik, ıslah ve biyoteknoloji çalışması yapılmaya devam ediyor.

Enzimatik Hidroliz Nedir?

- **Makromoleküllerin enzim ve su ilavesi ile özel koşullar altında parçalanmasına hidroliz denir.**
- **Enzimatik reaksiyon:**



Amilaz nişastayı basit şekerlere parçalar.

- Şurup üretimi
- Dekstroz üretimi
- Pastacılık ürünleri

Invertaz Sükrozu glukoz ve fruktoza parçalar.

- Yapay bal üretimi, invert şeker üretimi, içi sıvı şekerleme üretimi

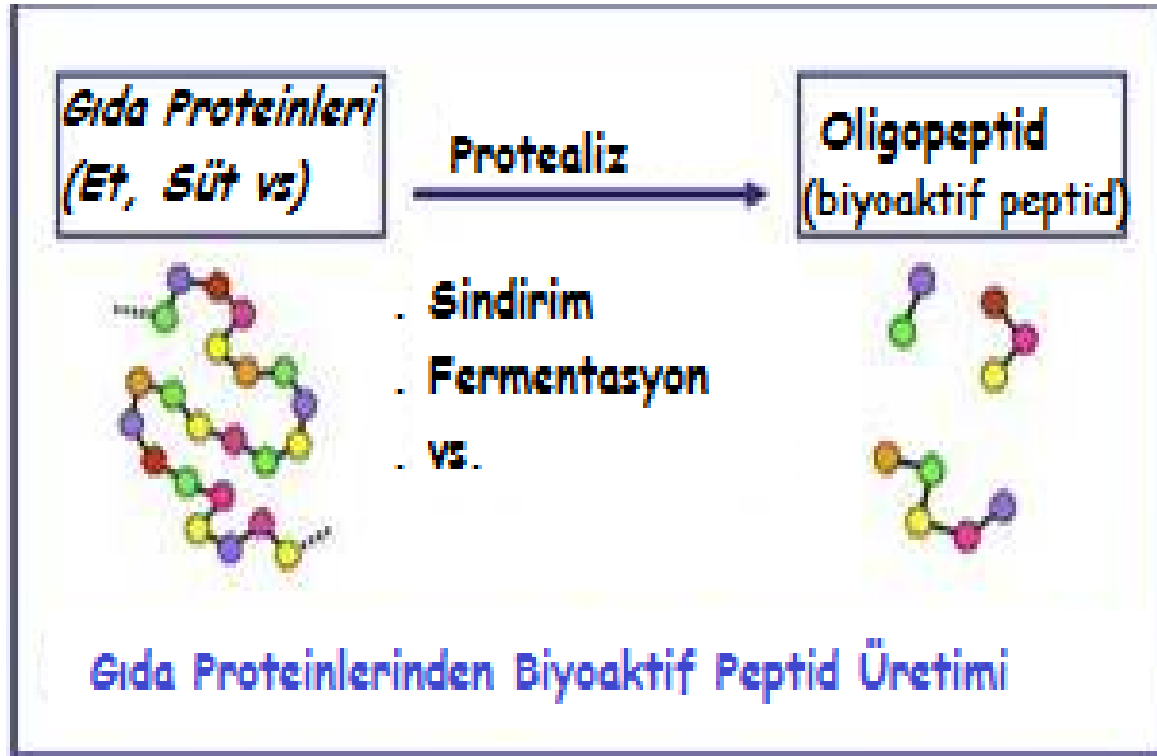
Laktaz Laktozu glukoz ve fruktoza parçalar.

- Laktoz hazımsızlığını azaltmak

Glukoz Oksidaz-Katalaz Bazı ürünlerdeki oksijen varlığı azaltılarak oksidasyon ve esmerleşme gibi reaksiyonların oluşumu engellenir.

- Bira, Peynir, Kurutulmuş yumurta, Meyve suyu, Et ve balık, Süt tozu

Proteazlar Uzun protein zincirlerini parçalar.





Protein Hidrolizi Konusunda Bilimsel Çalışmalar



- **Soya fasulyesi isolatının enzimatik hidrolizi sonucu oluşan hidrolizatın fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi**
Allaoua Achouri, Wang Zhang & Xu Shiyong (1998)
- **Sonuç:** Hidroliz sonucunda protein çözünürlüğü ve diğer fonksiyonel özellikler artmıştır.



Protein Hidrolizi Konusunda Bilimsel Çalışmalar



- **Yağı alınmış soya fasulyesi ununun farklı proteazlarla enzimatik hidrolizi ve fonksiyonel özelliklerinin anlaşılması**
Martina Hřčková, Monika Rusňáková ve Jaroslav Zemanovič (2002)
- **Sonuç:** Daha iyi jelleşme özelliği



Protein Hidrolizi Konusunda Bilimsel Çalışmalar



- **Kinoa tohumlarındaki Protein Hidrolizatlarının Fonksiyonel ve Biyoaktif Özellikleri**
R.E. Aluko and E. Monu (2003)
- **Sonuç:** Yüksek protein çözünürlüğü, yüksek emülsifiye aktivite, düşük köpük kapasitesi ve anjiyotensin dönüştürücü enzim aktivitesinin engellendiği görülmüştür.

Spirulina

Mavi-yeşil yosun

- Suda yetişir.
- Kolayca hasat edilip işlenebilir
- Çok fazla makro ve mikro komponent içeriği vardır.
- Protein ve vitamin içeriğinden kaynaklı iyi bir diyet ürünüdür.



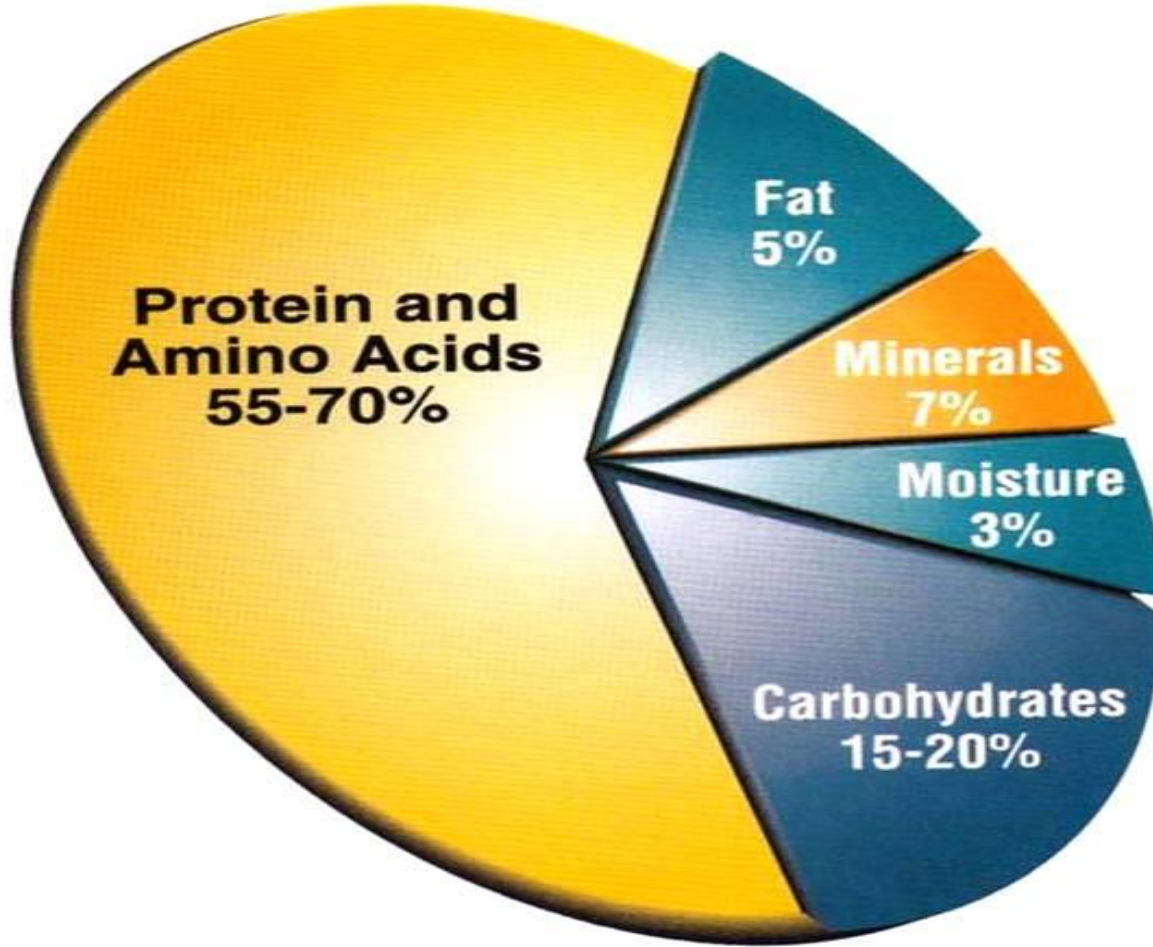


Spirulina'nın Önemi



Spirulina çok geniş bir besin içeriğine sahiptir.

- B-Kompleks vitaminleri
- Mineraller,
- Gama-linolenik asit
- Süper antioksidant,
- Beta-karoten,
- Vitamin E
- **Yüksek kalitede protein içeriği**



Composition of Spirulina



Spirulina Protein Hidrolizi



- **Spirulina yosunun alkalaz hidrolizi sonucu yüksek tansiyonu engelleyen peptitlerin izolasyonu**
JUN LU, DI-FENG REN, YOU-LIN XUE
- **Sonuç:** Fareler üzerinde yapılan çalışmada, spirulina uygulamasının ardından Sistolik (SBP) ve diastolik (DSB) kan basınçlarında düşme.



Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE)

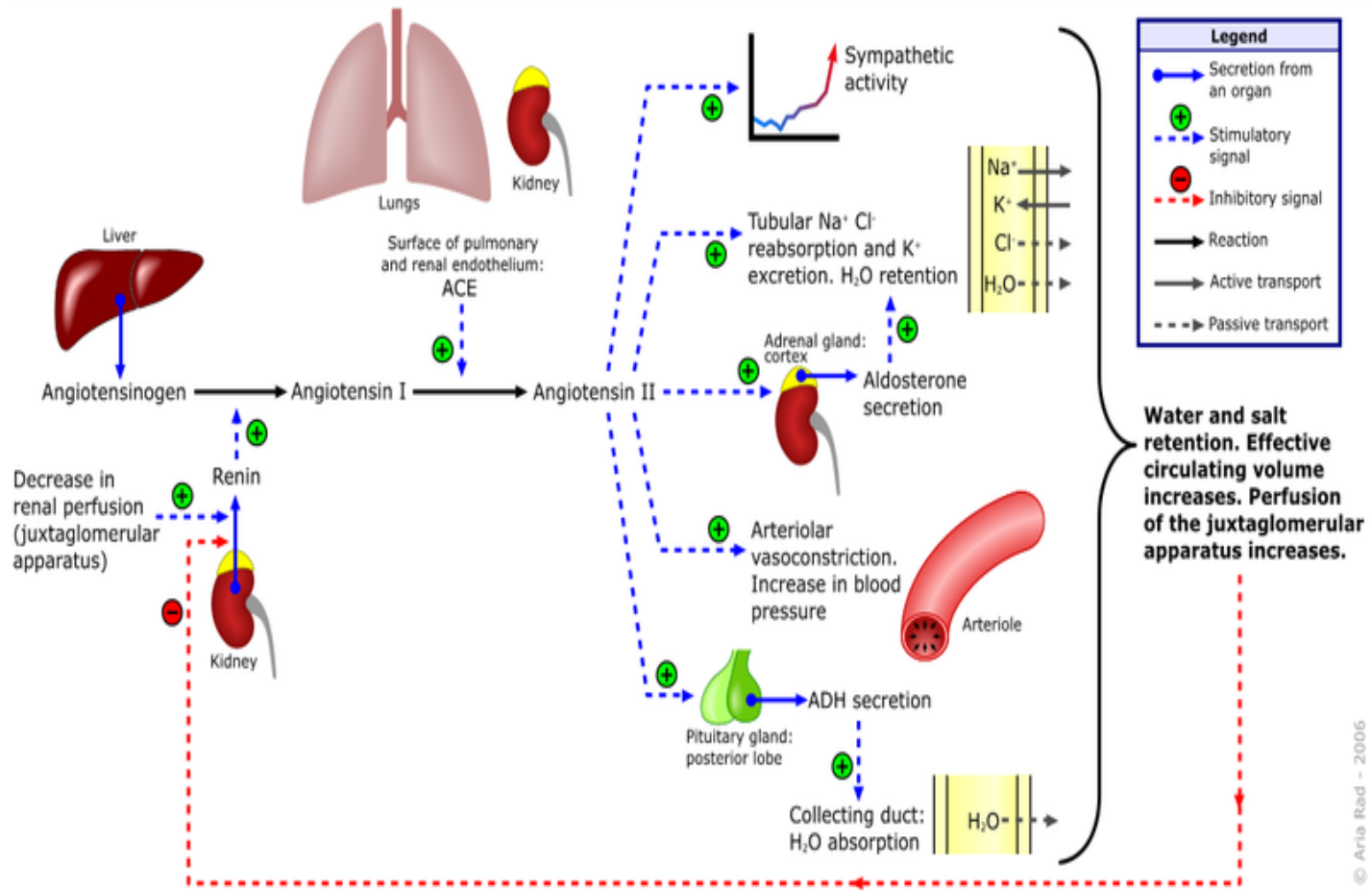


ACE, renin-angiotensin sistemin (RAS) bir parçasıdır. Ve sıvı hacmini kontrol ederek kan basıncını ayarlar.

ACE mekanizması:

- a) anjiyotensin I \longrightarrow anjiyotensin II (damar tıkkayıcı madde – vasoconstrictor)
- b) Bradikinin yıkımı (damar açıcı –vasodilator)
- Sonuç: Bu iki mekanizma yüksek kan basıncı, kalp krizi ve Tip 2-diabet hastalıklarının temel nedenleridir.

Renin-angiotensin-aldosterone system





Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE)



ACE ile yüksek tansiyon arasındaki bu direk bağlantı nedeniyle ACE aktivitesi durdurmak amacıyla captopril, enalapril, alcacepril ve lisinopril gibi inhibitörleri içeren bir çok ilaç olsa da öksürük, çeşitli cilt problemleri, anjiyonerotik edema gibi bir çok yan etkisi nedeniyle araştırmalar doğal ve güvenilir olanı bulmaya doğru kaymıştır.



Çalışmanın Amacı



- Spirulina yosununun 5 farklı enzimle hidroliz ederek peptitlerin ACE aktivitesini engelleme etkisini gözlemlemek

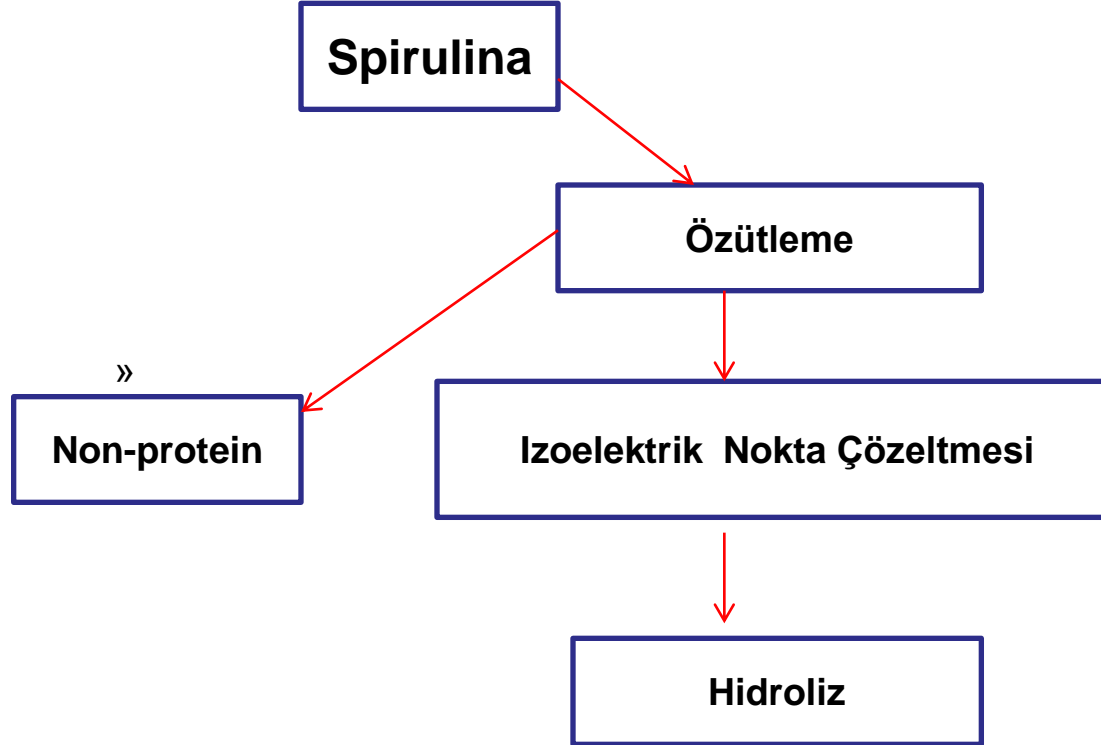


Materyal ve Metod



- **Materyal:** Çalışmada ticari olarak temizlenmiş, kurutulmuş ve toz haline getirilmiş *Spirulina plasentis* yosunu kullanılmıştır.
- **Enzimler:** Alcalaz, tripsin, floverzin, papain, pepsin
- **Analizler:**
 - Protein analizi,
 - Toplam yağ analizi,
 - Nem tayini,
 - Kül tayini,
 - SDS-PAGE analizi,
 - Hidroliz Derecesi Tayini,
 - ACE inhibisyon analizi

Çalışmanın Akım Şeması



Hidroliz

- İzolattan %5 protein içerikli solüsyon hazırlanır
- Su banyosundaki sıcaklık ayarlanır.
- %2 (0.1 gr) enzim (w/w protein eklenir.
- 0, 60,120,180 ve 240 dakikalarda 15 ml örnek alınır.
- Örnekler enzim inaktivitesi için 85°C 'de 10 dak ısıtılır.
- 6000g 'de 10 dak santrifüj edilir.
- DH, SDS-PAGE, Protein, Nem, ACE inhibisyon analizleri yapılır.



Hidroliz Derecesi Analizi



- 3 ml OPA 10ml test tüplerine konulur
- 400 μ L serin standart veya 400 μ L of örnek tüplere eklenir.
- Karışım 5sn vortekslenir.
- 340nm'de Spektrofotometre okumasından önce tam 2 dak beklenir.
- Kör 400 μ L H₂O ile hazırlanır



ACE İnhibisyonu



- **100µl** örnek+ **200µL** 2.0mU ACE solüsyonu karıştırılır. İnkübasyon için 37°C'de 10dak beklenir.
- **200µL** 5mM HHL solüsyonu eklenir ve preinkübasyon için 37°C'de 10dak beklenir. Sonra 37°C'de 1sa inkübe edilir.
- 300µL 0.5N HCl eklenerek reaksiyon dururulur.
- Okumalar HPLC'de yapılır.

- ✓ Spirulina proteinlerinin pigmentlerle çok kuvvetli bağ oluşturduğu anlaşılmıştır. Bu durum özütlemelerde ve izoelektrik nokta çökeltilmelerinde protein kayıplarına neden olmuştur.

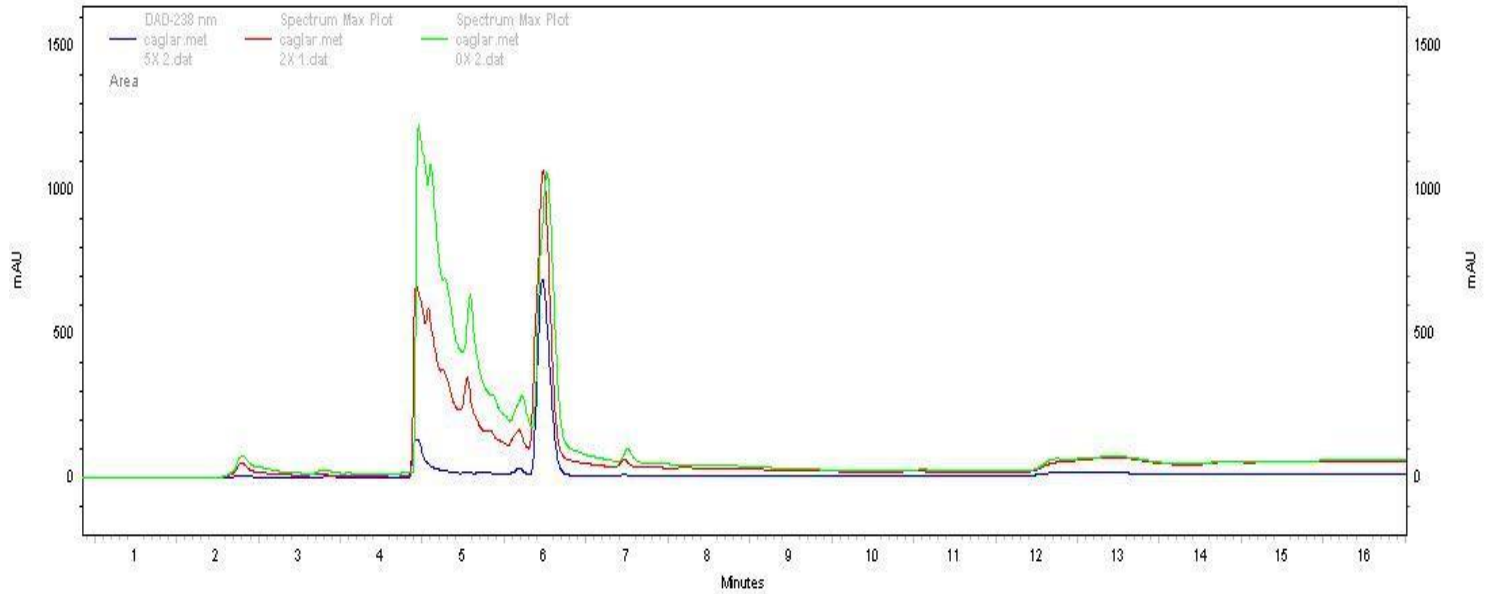


Sonuçlar



- İnsan sindirim sisteminde bulunan tripsin ve pepsin minimum Hidroliz derecesi vermiştir. (%4-8). Alkalaz %20 ile maksimum hidroliz derecesine ulaşmıştır.

- ✓ Pigment ve proteinler arasında güçlü kovalent bağlar nedeniyle HPLC okumaları yapılamamıştır. Çalışmanın bu kısmının Türkiye'de Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisiği Bölümünde yapılması planlanmıştır.





Eğitimin Getirileri, Beklentiler, Hedefler



- Eğitimde bölgemizde ve ülkemizde üretilen birçok gıda ürününe daha fazla artı değer kazandırabilecek temel biyoteknoloji ve gıdaların temel fonksiyonel özellikleri ile ilgili bilgiler edinilmiştir.



Eğitimin Getirileri, Beklentiler, Hedefler



Bölgemizde üretilen meyve ve sebzeler eğitim sonucu edinilen biyoteknoloji yöntemleriyle :

- antihipertansif,
- anti-mikrobiyal,
- anti-kanserojen,
- kolesterol düşürme gücü,
- Tip 2 diabet önleme potansiyelleri

gibi fonksiyonel özellikler bakımından incelenebilecek ve ulaşılan sonuçlar bölge ve ülke kalkınmasında kullanılabilir.



Eğitimin Getirileri, Beklentiler, Hedefler



Başta protein içeriği yüksek **gıda atıkları** olmak üzere, değerinin çok altında piyasaya ve dış ticarete gönderilen çeşitli fonksiyonel gıdalara uygulanacak biyoteknolojik işlemlerle bu ürünler gerçek değerine ulaşabilecektir.

Bölgemizde bol miktarda üretilen **zeytinyağının** proteince zengin posası, **keçiboynuzu çekirdeğinin** gam alındıktan sonra zengin protein içeriğine sahip atık kısmı buna örnek verilebilir.



Eğitimin Getirileri, Beklentiler, Hedefler



Alata Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu bünyesinde yürütülen **ıslah çalışmaları** sonucu elde edilen materyaller, hasat sonrasında biyoteknolojik yöntemlerle fonksiyonel özellikleri bakımından irdelenebilecek ve böylece ıslah çalışmalarına ışık tutabilecektir.



Eğitimin Getirileri, Beklentiler, Hedefler



- Bölgedeki sektörler tarandıktan sonra protein içerikleri fazla olan sektörlerdeki üreticilerle çeşitli ortak projeler yapılması planlanmaktadır.
- Bu kapsamda Mersin'de **keçiboynuzu gamı üreticisi** bir firma ile temasa geçilmiş ve Mersin Üniversitesi ile birlikte proje hazırlıklarına başlanılmıştır.



Eğitimin Getirileri, Beklentiler, Hedefler



- Eğitim sonucu edinilen bilgiler ışığında Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde devam eden Yüksek Lisans tez konusu

“Farklı fındık hidrolizatlarının ACE inhibisyon aktivitesinin belirlenmesi “

olarak belirlenmiş bu konuda çalışmalar devam etmektedir.

Prof. Dr. Chong Lee





URI Gıda Bilimi ve Beslenme Birimi



Teşekkür ederim....

