



Investigating the Recovery Potential of Protein and Antioxidant Compounds from Sesame Bran using Selected Basic Component Analyses

Ahmet Görgüç^{1,a}, Fatih Mehmet Yılmaz^{1,b*}

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Aydın Adnan Menderes University, 09010 Efeler/Aydın, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 14/11/2018 Accepted : 01/03/2019</p> <p>Keywords: Sesame Food by-product Protein Extraction Phenolic compound</p>	<p>Sesame bran is an industrial waste which is either not currently evaluated technologically or has limited use as animal feed. In this study, recovery potentials of protein and antioxidant compounds were investigated from three different sesame brans which are emerge as waste from dry and wet processing lines of the sesame - an intensively used input by roasted sesame seed, tahini and tahini halva plants especially in our country. In this context, protein extraction by alkaline method was conducted on brans obtained from three different processing lines (Dry line I, Dry line II and Wet line II). In addition, effects of aqueous solutions (70%, v/v) of acetone, ethanol and methanol on the extraction of phenolic compounds from sesame brans were investigated. Dry processing line sesame bran was found to have lower protein content than wet processing line bran; however, higher protein extraction yield was obtained by dry processing line bran. Phenolic compound extracts of dry and wet processing line sesame brans were found to have higher total phenolic content and antioxidant capacity values (DPPH and ABTS assays) than protein extracts obtained by alkaline method. It was determined that the most effective solvent for the extraction of phenolic compounds from sesame bran was 70% acetone solution; and the results of the ethanol and methanol extracts used as solvents were not significantly different.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(4): 624-630, 2019

Susam Kepeğinden Protein ve Antioksidan Özellikli Maddelerin Geri Kazanım Potansiyelinin Bazı Temel Bileşim Analizleri ile İncelenmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 14/11/2018 Kabul : 01/03/2019</p> <p>Anahtar Kelimeler: Susam Gıda yan ürünü Protein Özütleme Fenolik madde</p>	<p>Susam kepeği endüstriyel bir atık olup günümüzde teknolojik olarak değerlendirilmemekte ya da sınırlı miktarda hayvan yemi olarak besicilere sunulmaktadır. Bu çalışmada, özellikle ülkemizde kavrulmuş susam, tahin ve tahin helvası işletmelerinde yoğun bir girdi olarak kullanılan susamın kuru ve ıslak hat adı verilen susam işleme hatlarından atık olarak açığa çıkan toplam üç farklı susam kepeklerinden protein ve antioksidan özellikli maddeleri geri kazandırma potansiyelleri incelenmiştir. Bu kapsamda, üç farklı noktadan çıkan kepek atıklarından (Kuru hat I, Kuru hat II ve ıslak hat II) alkali yöntem ile protein özütlemesi yapılmış ve ayrıca susam kepeklerinden fenolik maddelerin özütlenmesinde %70'lik (v/v) aseton, etanol ve metanolün sulu çözeltilerinin etkileri incelenmiştir. Kuru hat susam kepeğinin ıslak hat kepekten daha düşük protein içeriğine sahip olduğu belirlenmiş; buna karşın kuru hat kepekten daha yüksek protein özütleme verimi elde edilmiştir. Kuru ve ıslak hat susam kepeklerine ait fenolik madde özütlerinin, alkali yöntem ile elde edilen protein özütlerinden daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine ve antioksidan kapasite değerlerine (DPPH ve ABTS yöntemleri sonucu) sahip oldukları tespit edilmiştir. Susam kepeğinden fenolik maddelerin özütlenmesinde en etkili çözügenin %70'lik aseton çözeltisi olduğu belirlenmiş; etanol ve metanolün kullanıldığı özütlere ait sonuçlarda istatistiki olarak önemli farklılık bulunmamıştır.</p>

^a ahmet.gorguc@adu.edu.tr

^{ib} <http://orcid.org/0000-0003-3018-4595>

^b fatih.yilmaz@adu.edu.tr

^{id} <http://orcid.org/0000-0002-1370-1231>



Giriş

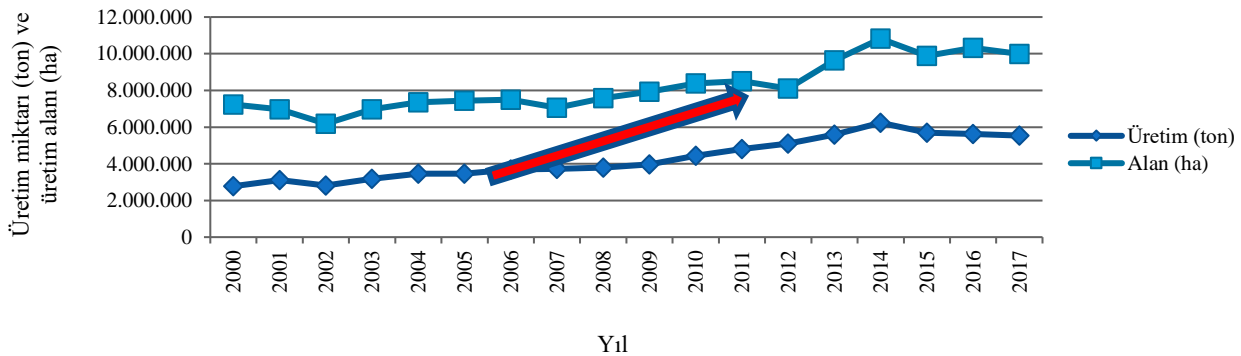
Susam (*Sesamum indicum* L.), *Pedaliaceae* familyasına ait, diploid ($2n = 46$) ve çift çenekli, tropik ve sıcak bölgelerde yetişen bir bitkidir. Susam, yağ elde edilen eski tohumlardan olup tarımı 5.000 yıldır özellikle Asya ve Afrika'da yaygın bir şekilde yapılmaktadır (Wei ve ark., 2011; Akbar ve ark., 2012). Dünya çapında susam üretimi, 2002 yılında 2,8 milyon ton iken 2017 yılında 5,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (FAOSTAT, 2019). Dünyada toplam susam ekim alanı ise 2017 yılı itibarı ile 10 milyon hektara ulaşmıştır. Son 10 yıl incelendiğinde, susam ekili arazi alanının ve toplam susam üretiminin dünyada arttığı ve halen de artmakta olduğu gözlenmektedir (Şekil 1). Türkiye, dünya genelinde en fazla susam ithalatı yapan ülkeler arasındadır. Özellikle tahin ve tahin helvası üretiminde yoğun olarak kullanılan bir hammadde olan susam; Nijerya, Etiyopya, Sudan, Pakistan, Hindistan ve Çin gibi ülkelere yüksek miktarlarda ithal edilmektedir. Ülkemizde yıllık ithal edilen susam miktarı yaklaşık 110.000 ton olup bu susamların ekonomik değeri 150 milyon dolar civarındadır (FAOSTAT, 2019).

Susam tohumları, yağ (%44 - 58), protein (%18 - 25) ve karbonhidrat (%13 - 20) zengin bir besindir. Susam, içeriğindeki doymamış yağ asitleri ve antioksidan bileşiklerden dolayı özel bir konuma sahiptir. Susamda yer alan sesamin, episesamin, sesaminol ve sesamolin gibi lignanların obeziteyi önleme, kandaki kötü kolesterol (LDL) düzeyini düşürme, antikanseröz özellik gösterme gibi sağlık üzerine olumlu etkileri rapor edilmiştir (Sarkis ve ark., 2015). Susamda en yaygın bulunan lignan glikozitleri ise sesaminol triglikozit ve sesaminol diglikozittir (Jeong ve ark., 2004; Warra, 2011). Susam, hidrofilik özellikteki pinoresinol ve sesamolinol glikozitleri gibi antioksidan bileşikler de içermektedir (Sarkis ve ark., 2014). Susam proteinleri, diğer bitkisel proteinlere kıyasla esansiyel amino asitlerden metiyonin ve triptofanı önemli oranda içermektedir; ayrıca diğer bitkisel kaynaklarda oldukça az bulunan ve insan metabolizması için önemli olduğu belirtilen kükürt içeren amino asitlere (metiyonin ve sistein) sahiptir. Bu nedenlerle, susam proteininin diğer bitkisel protein kaynakları arasında önemli bir yere sahip olduğu vurgulanmaktadır (Gandhi ve Srivastava, 2007; Karataş, 2015).

Susamdan elde edilen ürünler arasında en yaygın kullanım alanı bulan ürün, tohumundan elde edilen yağdır. Susam tohumları genel olarak ısıya maruz bırakılmaksızın kullanılırken Doğu Asya ülkelerinde tohumlar kavruarak

ekmek, bisküvi gibi ürünlerde; ülkemizde ise yaygın olarak simit ve poğaça gibi fırıncılık ürünlerinde kullanılmaktadır. Endüstriyel üretim olarak incelendiğinde ise susam yağı dışında susamdan en yaygın olarak üretilen ürünler tahin ve tahin helvasıdır (Namiki, 1995). Türkiye'de 1980'li yıllarda yılda 35 - 40 bin ton tahin helvası üretilmekte iken, günümüzde bu değer 80 bin tondan yüksek seviyelerdedir (Batu ve Elyıldırım, 2009). Susam tanesinin %15 - 18'i tahin üretim sürecinde kabuk ve kepek olarak ayrılmaktadır. Geriye kalan kısım ise öğütülerek tahin üretilmektedir. Böylelikle 100 kg susamdan 82 - 85 kg tahin elde edilebilmektedir (Yazıcıoğlu, 1953). Her ne kadar kavrulmuş susam ve tahin üretiminde kabuk ve kepeğin susam çekirdeğinden ayrılması teknolojik olarak zaruri olsa da yapılan bir çalışmada kepek kısmından arındırılmamış susamlardan elde edilen yağların daha yüksek stabiliteye sahip olduğu; bu durumu da susam kepeğinde yer alan antioksidan özellikli bileşiklerin sağladığı bildirilmiştir (Jeong ve ark., 2004). Aynı çalışmada kabuk ve kepek ayırma işleminin, susam tohumunun depolama süresini de azalttığı ifade edilmiştir.

Susam tohumundan kabuk ve kepek ayrımı, ıslak ve kuru hat adı verilen iki farklı yöntem ile gerçekleştirilmektedir. Geleneksel olarak kullanılan ıslak hat yönteminde susam tohumları öncelikle içme suyu içerisinde birkaç saat bekletilmektedir. Bu esnada susam tanesinin en dış katmanı olan kabuk şişerek taneden ayrılmaktadır. Ardından dışta kalan kepek katmanını ayırmak için susam taneleri sıralı iki tuzlu su içeren havuzlarda bekletilmekte ve böylelikle kepekler de uzaklaştırılmaktadır (*Islak hat II*). Daha yeni ve sınırlı kullanımı olan kuru işleme yönteminde ise su havuzları kullanılmamakta; kabuk (*Kuru hat I*) ve kepek (*Kuru hat II*) katmanları sırasıyla mekanik sıyrıcılar yardımı ile susam tanesinden ayrılmaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı; kuru ve ıslak susam işleme hatlarından atık olarak açığa çıkan susam kepeklerine bazı temel kompozisyonel analizler uygulayarak protein ve antioksidan özellikli maddelerin geri dönüşüm potansiyellerini ortaya koymaktır. Bu kapsamda, ayrıca, farklı organik çözücülerin sulu çözeltilerinin fenolik madde özütleme ve antioksidan kapasite değerlerine etkileri ile alkali yöntemle elde edilen özütlerin protein verimine ve antioksidan özellikli madde miktarlarına etkileri incelenmiştir.



Şekil 1 Dünya çapında susam üretimi ve ekim alanı istatistikleri (FAOSTAT, 2019)

Figure 1 Sesame production and plantation area statistics in the world

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışmada kullanılan atık susam kepekleri, Tunaş & Çelikler Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti. (Gaziantep, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Özütleme işlemleri ve analizlerde kullanılan sodyum hidroksit ve sülfürik asit teknik saflıkta olup Tekkim Kimya (Türkiye)'dan temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar ise analitik saflıkta olup Kjeldahl katalizör tablet (3,5 g potasyum sülfat + 400 mg bakır sülfattan oluşan tabletler) Ekiciler Kimya (Türkiye)'dan; etanol Tekkim Kimya (Türkiye)'dan; 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) Roche Diagnostics (İsviçre)'ten; borik asit, hidroklorik asit, aseton, Folin-Ciocalteu ayracı, sodyum karbonat, potasyum persülfat ve sodyum klorür Merck (Almanya)'ten; metilen kırmızısı, metilen mavisi, metanol, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), monobazik sodyum fosfat, dibazik sodyum fosfat, potasyum kromat, gümüş nitrat, gallik asit ve troloks ise Sigma-Aldrich (Birleşik Devletler)'ten temin edilmiştir.

Yöntem

Susam kepeğine uygulanan ön işlemler: Tedarik edilen susam kepekleri, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Gıda Mühendisliği laboratuvarlarına taşınmış ve ilk etapta hızla yabancı maddelerden ayrıştırılmıştır. Ardından fanlı tepe silindesinde (60 ± 2°C; 1,4 m/s hava akış hızı; <10 bağıl nem) nem içeriği %10'un altına düşene dek kurutulmuştur. Kurutma sonrası kepekler 500 mikronluk elekten geçirilmiş ve 212 - 500 µm partikül boyutuna sahip kepekler hava geçirmez polietilen torbalar içerisine alınarak buzdolabında (+4°C) depolanmıştır.

Alkali yöntem ile protein özütlenme: Bitkisel protein üretiminde en yaygın kullanılan ve konvansiyonel yöntem olan alkali yöntem ile özütlenme işlemi için ilk olarak kapaklı cam şişe içerisine 10 g susam kepeği tartılmış ve üzerine 92 mL deiyonize su eklenmiştir; böylelikle 1:10 (w/v) oranında bir karışım elde edilmiştir. Karışımın pH değeri, 2 N NaOH çözeltisi ile 9,5'e ayarlanmış ve çalkalamalı su banyosunda (45°C sıcaklık ve 50 rpm hızında) 120 dk. bekletilmiştir. Ardından karışım filtre edilmiş, 4000 g'de 30 dk. santrifüj işlemi sonrası süpernatant kısmı toplanmıştır (Guan ve Yao, 2008). Elde edilen özütler, analiz edilene kadar -20°C sıcaklıkta depolanmıştır.

Farklı çözümler ile fenolik madde özütlenme: Susam kepeğinden fenolik maddelerin özütlenmesinde farklı çözümlerin etkilerinin belirlenmesi amacıyla aseton, etanol ve metanolün %70'lik (v/v) sulu çözeltileri kullanılmıştır. Özütlenme işlemi için ilk olarak 10 g susam kepeği, 92 mL çözelti ile karıştırılmıştır (1:10, w/v). Ardından çalkalamalı su banyosunda 50 rpm hızında ve 55°C sıcaklıkta bir saat boyunca bekletilen karışım, filtre kağıdından geçirilerek falkon tüplerde toplanmıştır. Elde edilen özütler, analiz edilene kadar buzdolabında depolanmıştır.

Analizler

Toplam kuru madde miktarı: Toplam kuru madde miktarı tayini, AOAC (1998) yöntemine göre yapılmış; sonuçlar ise %KM (kuru madde) cinsinden hesaplanmıştır.

Toplam kül miktarı: Toplam mineral madde miktarı

(kül) tayini, AOAC (1988) resmi metoduna göre yapılmış ve sonuçlar yüzde olarak belirlenmiştir.

Tuz tayini: Susam kepeklerinin tuz tayini, Kırdar (2001)'a göre yapılmıştır. Sonuçlar ise "% tuz miktarı" cinsinden ifade edilmiştir.

Toplam protein miktarı ve protein verimi: Toplam protein miktarı tayini, Kjeldahl yöntemine (AOAC, 1998) göre yapılmıştır. Analizler, yarı otomatik Kjeldahl sistemi (Velp Scientifica UDK132, İtalya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar "% protein miktarı" cinsinden ifade edilmiştir. Alkali özütlerin protein verimi, özütteki protein miktarının hammaddedeki protein miktarına oranlanması ile elde edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı: Toplam fenolik madde analizi, Sarkis ve ark. (2014)'nın önerdiği yöntemle göre, bazı modifikasyonlar ile spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Özütlerden 30 µL alınıp, 2,37 mL deiyonize su ve 150 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ile oda sıcaklığında karıştırılmış ve karanlıkta 8 dk. bekletilmiştir. Ardından 450 µL doygun sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Etüvde 40 °C sıcaklıkta 30 dk. bekletilen karışımın 750 nm dalga boyundaki absorbans değeri UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu V-1800, Japonya) ile ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı, gallik asit ile oluşturulan standart eğri (R²= 0,9998) kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar "mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g örnek" cinsinden ifade edilmiştir.

DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi

DPPH yöntemi ile antioksidan kapasite tayini, Grajeda-Iglesias ve ark. (2016)'na göre, bazı modifikasyonlar ile yapılmıştır. Öncelikle 0,1 mL özüt üzerine 2,9 mL 0,1 mM etanolde hazırlanmış DPPH çözeltisi eklenip çalkalanmış ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dk. bekletilmiştir. Ardından absorbans değeri, 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmüştür. DPPH radikali temizleme aktivitesi, troloks ile oluşturulan standart eğri (R²= 0,9999) kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar "µmol troloks eşdeğeri (TE)/g örnek" cinsinden ifade edilmiştir.

ABTS Yöntemi İle Antioksidan Kapasite

ABTS yöntemi ile antioksidan kapasite tayini, Cemeroglu (2010)'na göre yapılmıştır. Analiz için öncelikle 2,45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM ABTS radikal çözeltisi, PBS (Phosphate buffer saline: tuzlu fosfat tampon; pH 7,4) çözeltisi ile 734 nm dalga boyunda absorbans değeri 0,700 (±0,02) olana dek seyreltilmiştir. Seyreltilen ABTS radikal çözeltisinden spektrofotometre küvetine 2,98 mL aktarılıp, başlangıç (0. dk.) absorbans değeri not edilmiştir. Ardından radikalın bulunduğu küvete 20 µL özüt ilave edilmiştir. Altı dakika sonunda 734 nm dalga boyundaki absorbans değeri (6. dk.) de not edilmiş ve yüzde inhibisyon değeri, Eşitlik (1) yardımı ile hesaplanmıştır. ABTS yöntemi ile antioksidan kapasite, troloks ile oluşturulan standart eğri (R²= 0,9936) kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar "µmol troloks eşdeğeri (TE)/g örnek" cinsinden ifade edilmiştir.

$$\% \text{inhibisyon} = \frac{0. \text{ dk. absorbans} - 6. \text{ dk. absorbans}}{0. \text{ dk. absorbans}} \times 100 \quad (1)$$

Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistik Analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS paket programı (SPSS 15.0, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen verilerde, parametrelerin sonuçlar üzerine etkileri varyans analizi (ANOVA) ile tespit edilmiş; ortalamalar arasındaki farklılıklar ($P < 0,05$) ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir ($n=3$).

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada kullanılan kurutulmuş ve öğütülmüş susam kepeklerine, bazı temel özelliklerinin belirlenmesi açısından toplam kuru madde, toplam mineral madde (kül), tuz ve toplam protein analizleri uygulanmış; elde edilen sonuçlar ise Tablo 1’de sunulmuştur. Susam kepeklerinin kuru madde içerikleri %91,58–96,49 aralığında

değişmiştir. Kuru ve ıslak susam işleme hatlarından elde edilen Kuru II ve Islak II kepeklerin kuru madde içerikleri arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$). Toplam mineral madde içerikleri, Kuru I, Kuru II ve Islak II kepekler için sırasıyla %32,14, %20,79 ve %18,98 olarak bulunmuştur. Susam kepeklerinin, buğday (Noort ve ark., 2010) ve pirinç kepeği (Bandyopadhyay ve ark., 2008) gibi birçok tahıl kepeklerine kıyasla yüksek mineral madde içeriğine sahip oldukları ifade edilebilir. Elde edilen verileri destekler nitelikte Obeidat ve Gharaybeh (2011) de hayvan yemlerine farklı rasyonlarda kattıkları susam kabuklarının yüksek oranda mineral madde içerdiğini rapor etmişlerdir. Kuru I’in, Kuru II ve Islak II’den daha yüksek oranda mineral madde içermesi, minerallerin ağırlıklı olarak işlenmemiş susam tohumunun en dış katmanında bulunduğuna işaret etmektedir.

Tablo 1 Susam kepeklerinin kimyasal analizlerine ait sonuçlar

Table 1 Chemical analyses results of sesame brans

	Kepek		
	Kuru hat I	Kuru hat II	Islak hat II
Kuru madde (%)	91,58±0,10 ^a	96,37±0,07 ^b	96,49±0,06 ^b
Mineral madde (%)	32,14±0,12 ^c	20,79±0,11 ^b	18,98±0,16 ^a
Tuz (%)	0,21±0,07 ^a	0,78±0,07 ^c	0,62±0,07 ^b
Protein (%)	5,59±0,24 ^a	11,40±0,31 ^b	16,82±0,07 ^c

Aynı sütunda üst indis olarak gösterilen harflere (a, b, c) sahip ortalamalar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamaktadır ($P > 0,05$).

Tablo 2 Aseton, etanol ve metanolün üç farklı sulu çözeltilerinin susam kepeği özütlemeye işlemlerinde toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite üzerine etkileri

Table 2 Effects of three different aqueous solutions as acetone, ethanol and methanol on the total phenolic content and antioxidant capacity of the sesame bran extraction procedures

	Özüt		
	Kuru hat I	Kuru hat II	Islak hat II
Toplam fenolik madde (mg GAE/g)			
% 70 aseton	4,93±0,48 ^{b,A}	6,03±0,25 ^{c,C}	2,08±0,52 ^{a,B}
% 70 etanol	4,84±0,42 ^{c,A}	3,88±0,31 ^{b,B}	1,10±0,00 ^{a,A}
% 70 metanol	4,32±0,42 ^{b,A}	3,90±0,09 ^{b,B}	0,67±0,17 ^{a,A}
DPPH (µmol TE/g)			
% 70 aseton	9,91±1,42 ^{b,A}	4,96±0,09 ^{b,B}	4,69±0,09 ^{a,C}
% 70 etanol	10,52±0,51 ^{c,A}	5,21±0,04 ^{b,C}	3,36±0,48 ^{a,B}
% 70 metanol	9,68±1,14 ^{c,A}	5,32±0,03 ^{b,C}	3,67±0,10 ^{a,B}
ABTS (µmol TE/g)			
% 70 aseton	97,89±4,73 ^{c,A}	42,08±0,12 ^{b,C}	10,63±1,17 ^{a,B}
% 70 etanol	95,62±4,42 ^{c,A}	31,87±2,91 ^{b,A}	8,00±0,37 ^{a,A}
% 70 metanol	93,87±3,81 ^{c,A}	30,16±0,36 ^{b,A}	9,53±0,67 ^{a,AB}

Üst indis olarak gösterilen küçük harfler (a, b, c) aynı sütundaki, büyük harfler (A, B, C) ise hücre içerisinde aynı satırdaki olmak üzere; aynı harfe sahip ortalamalar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamaktadır ($P > 0,05$).

Tablo 3. Alkali özütlemeye işleminin susam kepeklerinde protein verimi, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerlerine etkisi

Table 3 The effect of alkaline extraction procedure on the protein yield, total phenolic content and antioxidant capacity values of sesame brans

	Susam kepeği kaynağı		
	Kuru hat I	Kuru hat II	Islak hat II
Protein verimi (%)	8,33±2,09 ^a	24,52±3,94 ^c	15,73±0,75 ^b
Toplam fenolik madde (mg GAE/g)	6,20±0,09 ^c	3,45±0,22 ^b	1,09±0,11 ^a
DPPH (µmol TE/g)	4,00±0,20 ^c	1,14±0,05 ^b	0,49±0,04 ^a
ABTS (µmol TE/g)	72,40±3,16 ^c	36,75±1,99 ^b	16,00±1,23 ^a

Aynı sütunda üst indis olarak gösterilen harflere (a, b, c) sahip ortalamalar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamaktadır ($P > 0,05$).

Susamdan kabuk ve kepek ayırma esnasında susamın tuzlu su havuzlarında bekletilmesi yoğunluk farkından kaynaklı kabuk ve kepek ayırımı kolaylaştırmaktadır ve ülkemizde ıslak işleme proseslerinde kullanılmaktadır. Islak işleme haricinde kuru işlemede de gerek olmamasına rağmen son ürünün duyu özelliklerini önemli ölçüde etkilediği için kuru hatta tuzlu su aşamasına yer verildiği görülmektedir. Kepek örneklerinin tuz içerikleri Kuru I, Kuru II ve Islak II için sırasıyla %0,21, %0,78 ve %0,62 olarak belirlenmiştir. Susam işleme hatlarında kepek ayırımı aşamasında tuzlu su havuzlarında bekletme işleminin, susam kepeğinin kabuk katmanına kıyasla daha fazla tuz içeriğine sahip olmasında etkili olduğu yorumu yapılabilir.

Çalışmada kullanılan Kuru I susam kabuğunun %5,59; Kuru II ve Islak II susam kepeklerinin ise sırasıyla %11,40 ve %16,82 protein içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir. Kuru susam işleme hattında kabuk ayırımı aşamasında mekanik sıyrıcılar ile düşük miktarda kepek katmanı da ayrılabilir. Bu durumun, Kuru II ve Islak II susam kepeklerinin protein içerikleri arasındaki farklılığa neden olduğu yorumu yapılabilir. Susam kepeği, özütleme çalışmalarına en fazla konu olan kepeklerden yulaf kepeği (%17,6) (Guan ve Yao, 2008), pirinç kepeği (%12,6) (Jiamyangyuen ve ark., 2005) ve buğday kepeği (%15,9) (Noort ve ark., 2010) ile karşılaştırılabilir protein içeriğine sahiptir. Bu nedenle, özellikle susam yağı ve ülkemizde tahin üretim proseslerinden atık olarak çıkan susam kepeği de, bitkisel bir protein kaynağı olarak değerlendirilebilir potansiyeline sahiptir.

Kuru I, Kuru II ve Islak II susam kepeklerine uygulanan fenolik madde özütlemeye ait alkali özütlemeye ait analiz sonuçları Tablo 2'de verilmiştir. Susam kepeklerinden fenolik madde özütlenmesinde aseton, etanol ve metanolün %70'lik (v/v) sulu çözeltileri kullanılmış; elde edilen özütler ise toplam fenolik madde (TFM) miktarı ile DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak iki farklı antioksidan kapasite (AK) analizleri uygulanmıştır. Fenolik madde özütleri, kepeklerden elde edilen alkali özütler ile de kıyaslanmıştır (Tablo 3). TFM miktarı sonuçları ele alındığında, en yüksek değerler Kuru I kabuğun kullanıldığı özütler ile elde edilmiştir. Kuru II kepeğe ait tüm özütlerde ise Islak II'den daha yüksek sonuçlar bulunmuştur. Her iki susam kepeği türü için en yüksek TFM miktarları, %70'lik aseton çözeltilisinin kullanıldığı özütlerde elde edilmiştir. Kuru II kepekte TFM miktarları yüksekten düşüğe %70'lik aseton, metanol, etanol ile elde edilen fenolik madde özütleri ve alkali protein özütü için sırasıyla 6,03, 3,90, 3,88 ve 3,45 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Islak II kepekte ise en yüksek TFM miktarı 2,08 mg GAE/g değeri ile %70'lik asetonlu özütte bulunmuş, etanol ve metanollü fenolik madde özütleri ile alkali özütün TFM miktarları arasında istatistiki açıdan fark gözlenmemiştir ($P>0,05$). Her iki kepek türü (Islak II ve Kuru II) için de özütleme yöntemleri kendi aralarında kıyaslandığında ise alkali özütlerin fenolik madde özütlerinden daha düşük miktarda TFM içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir. DPPH ve ABTS yöntemleri ile yapılan AK analizlerinden elde edilen değerlerin, Kuru II kepeğe ait protein ve fenolik madde özütlerinde Islak II kepeğe ait aynı çözenler ile elde edilen özütlerle kıyasla daha yüksek oldukları tespit edilmiştir. Hem DPPH hem de ABTS yöntemleri sonucu elde edilen AK değerleri, Islak

hat II'nin ABTS değeri hariç alkali özütlerin fenolik madde özütlerine kıyasla daha düşük AK gösterdiğini işaret etmektedir. Her iki kepek türü için etanol ve metanollü fenolik madde özütlerine ait DPPH yöntemi ile elde edilen AK değerleri arasında istatistiki açıdan fark gözlenmemiştir ($P>0,05$). DPPH yöntemi ile elde edilen AK değerleri Kuru I için 9,68 – 10,52 $\mu\text{mol TE/g}$; Kuru II kepek için 1,14 – 5,32 $\mu\text{mol TE/g}$; Islak II kepek için ise 0,49 – 4,69 $\mu\text{mol TE/g}$ aralığında değişim göstermiştir. ABTS yöntemi ile Kuru II kepeğe ait AK değerleri aseton, etanol ve metanollü fenolik madde özütleri ile alkali özütte sırasıyla 42,08, 31,87, 30,16 ve 36,75 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak belirlenmiştir. ABTS yöntemi ile AK değerleri, Islak II kepek ile elde edilen özütlerde ise 8,00 – 15,73 $\mu\text{mol TE/g}$ aralığında değişiklik göstermiştir. Çalışma kapsamında TFM miktarı ve AK değeri sonuçları ele alınarak susam kepeğinden fenolik madde özütlenmesinde çözenlerin etkisi kıyaslandığında, %70'lik asetonun %70'lik etanol ve metanole kıyasla daha etkili olduğu sonucuna varılabilir. Benzer şekilde, %70'lik etanol ve metanol çözeltileri ile elde edilen özütlerin TFM ve AK değerleri arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır ($P>0,05$). Kuru I susam kabuğunun Kuru II ve Islak II susam kepeklerinden daha yüksek TFM miktarı ve AK değerlerine sahip olması, antioksidan özellikli maddelerin daha çok işlenmemiş susam tohumunun en dış katmanında bulunduğu işaret etmektedir. Konuyla ilgili yapılan benzer çalışmalara bakılacak olursa, Zhou ve Yu (2004) buğday kepeğinden fenolik madde özütlenmesinde farklı çözenlerin etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında %70'lik metanol, %70'lik etanol ve %50'lik aseton çözeltileri için TFM değerlerini sırasıyla 1,00, 0,84 ve 2,63 mg GAE/g; ABTS değerlerini ise sırasıyla 7,83, 9,23 ve 15,26 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak belirlemişlerdir. Sonuç olarak, en uygun çözenin %50'lik aseton çözeltilisi olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada, farklı pirinç kepeği örneklerinde yapılan TFM analizleri sonucunda elde edilen değerlerin ise 2,51 – 3,59 mg GAE/g aralığında olduğu rapor edilmiştir (Iqbal ve ark., 2005). Alkali protein özütlerinin TFM ve AK değerleri literatür bulguları ile kıyaslanacak olursa; Kim ve ark. (2006), farklı buğday kepeklerinden alkali özütleme sonucunda serbest fenolik asitler için 0,10 – 0,15 mg GAE/g ve bağlı fenolik asitler için ise 2,15 – 2,33 mg GAE/g aralığında değerler elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Torre ve ark. (2008) ise mısır koçanı kullanarak elde ettikleri alkali özütte TFM miktarını 5,00 mg kafeik asit eşdeğeri (KAE)/g olarak bildirmişlerdir. Literatür bulguları ile kıyaslandığında susam kepeğinin TFM ve AK değerlerinin, buğday ve pirinç kepeği gibi farklı gıda atıkları veya yan ürünlerinden daha yüksek fenolik madde miktarına ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Bitkisel materyallerden protein özütlenmesinde kontrol yöntemi olarak kullanılan alkali özütleme işlemleri sonucu, protein verimleri Kuru I susam kabuğu için %8,33, Kuru II susam kepeği için %24,52, Islak II kepek için ise %15,73 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Islak II kepeğin %16,82 ile Kuru II kepeğe kıyasla (%11,40) daha yüksek protein içeriğine sahip olmasına karşın, hammaddeden özütlenebilen toplam protein yüzdesini ifade eden protein verimi sonuçları ele alındığında Kuru II susam kepeğinden daha yüksek bir verim elde edildiği görülmektedir. Materyale ait hücresel yapının, özütleme işlemlerinde

protein gibi makro bileşenlerin hücre dışına salınımını etkileyen faktörlerden birisi olduğu ifade edilmektedir (Roselló-Soto ve ark., 2015). Bu nedenle, bu durumun nedenleri arasında gösterilebilecek susam kepeklerinin hücresel yapıları, taramalı elektron mikroskopisi (Scanning electron microscopy, SEM) ile görüntüleme gibi yapılacak ileri yöntemlerle açıklığa kavuşturulabilir. Yağı alınmış susam posasının kullanıldığı bir çalışmada alkali yöntem ile özütleme sonucu protein veriminin, değişen ortam pH'sı gibi uygulanan farklı işlemlere bağlı olarak %15,0 – 20,0 aralığında değiştiği bildirilmiştir (Achouri ve ark., 2012). Farklı gıda kepekleri ile yapılan çalışmalar ele alındığında, Hourigan ve Chesterman (1997) pirinç kepeğinden alkali yöntem ile özütleme işlemi sonucu protein veriminin %25,4 olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise buğday kepeğinden alkali özütleme sonucu elde edilen protein veriminin %18,5 olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2010). Literatür sonuçları dikkate alındığında, susam kepeğinden alkali özütleme sonucu elde edilen protein verimi ve fenolik madde miktarının, farklı kepek ve gıda atığı türlerinden edinilen değerler ile de benzeştiği görülmektedir.

Sonuç

Bu çalışmada, kuru ve ıslak susam işleme hatlarından gıda atığı olarak ortaya çıkan susam kepeklerinin bazı kimyasal özellikleri ortaya konulmuş; ayrıca susam kepeklerinden protein özütlenmesinde alkali yöntemin ve fenolik madde özütlenmesinde farklı sulu çözümlerin (%70'lik (v/v) aseton, etanol ve metanol) etkileri ile bu çözümlerin antioksidan kapasite değerleri üzerine etkisi incelenmiştir. Kuru hat susam kepeğinin ıslak hat kepekten daha düşük protein içeriğine sahip olmasına karşın, protein özütlenmesinde daha yüksek protein verimi elde edildiği belirlenmiştir. Her üç kepek türü için de fenolik madde özütlerinin, alkali yöntem ile elde edilen protein özütlerinden daha yüksek toplam fenolik madde içeriğine ve antioksidan kapasite değerlerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Kullanılan çözümlerin etkileri kıyaslandığında susam kepeğinden fenolik madde özütlenmesinde en uygun çözümler, %70'lik aseton çözeltisi olarak belirlenmiştir. Susamdan kepek ayırma aşamasında toplam susamın %5 - 6'sı kepek olarak ayrılmaktadır. Ülkemizde yıllık toplam işlenen susam miktarı (~130.000 ton) göz önüne alındığında, yıllık yaklaşık 7.800 ton susam kepeği değerlendirilmeden atılmaktadır. Susam kepeğinin yaklaşık %15 toplam protein içeriği hesaba katıldığında ise, sadece ülkemizde yıllık 1.200 tona yakın önemli bir bitkisel protein kaynağının değerlendirilmeden atıldığı anlaşılmaktadır. Sonuç olarak, özellikle ülkemizde kavrulmuş susam ve tahin üretim proseslerinden yoğun bir şekilde atık olarak çıkan susam kepeğinin, antioksidan maddelerce zengin bir bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilebileceği görülmektedir. Yapılacak ileri çalışmalar ile farklı özütleme tekniklerinin etkileri ve elde edilecek proteinin karakterizasyonunun yapılması sonucu, bir gıda atığı olan susam kepeğinin katma değer oluşturan ürün ya da ürünlere dönüştürülme potansiyeline sahip olduğu ifade edilebilir.

Teşekkür

Yazarlar olarak çalışmaya maddi destek sağlayan TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığına (Proje No: 217O066) ve çalışmalarda kullanılan hammadde teminini sağlayan Tunas & Çelikler Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti. (Gaziantep, Türkiye)'den Üretim Müdürü Mehmet Ali Çelik'e teşekkürü borç biliriz.

Kaynaklar

- Achouri A, Nail V, Boye JI. 2012. Sesame protein isolate: Fractionation, secondary structure and functional properties. *Food Research International*, 46(1): 360-369.
- Akbar F, Yousaf N, Rabbani MA, Shinwari ZK, Masood MS. 2012. Study of total seed proteins pattern of sesame (*Sesamum indicum* L.) landraces via sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). *Pakistan Journal of Botany*, 44(6): 2009-2014.
- AOAC (1988) Official Method of Analysis. 7th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- AOAC (1998) Official Method of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Bandyopadhyay K, Misra G, Ghosh S. 2008. Preparation and characterisation of protein hydrolysates from Indian defatted rice bran meal. *Journal of Oleo Science*, 57(1): 47-52.
- Batu A, Elyıldırım F. 2009. Geleneksel helva üretim teknolojisi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3): 32-43.
- Cemeroğlu, B. 2010. Gıda analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 2. Baskı, Ankara.
- FAOSTAT. 2019. Production quantities of Sesame seed by country, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim: 07.02.2019)
- Gandhi AP, Srivastava J. 2007. Studies on the Production of Protein Isolates From Defatted Sesame Seed (*Sesamum indicum*) Flour and Their Nutritional Profile. *ASEAN Food Journal*, 14(3): 175-180.
- Grajeda-Iglesias C, Salas E, Barouh N, Barea B, Panya A, Figueroa-Espinoza MC. 2016. Antioxidant activity of protocatechuates evaluated by DPPH, ORAC, and CAT methods. *Food Chemistry*, 194: 749-757.
- Guan X, Yao H. 2008. Optimization of Viscozyme L-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106: 345-351.
- Hourigan JA, Chesterman CF. 1997. Application of carbohydrases in extracting protein from rice bran. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(2): 141-146.
- Iqbal S, Bhangar MI, Anwar F. 2005. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*, 93(2): 265-272.
- Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Nam KC, Ahn DU, Lee SC. 2004. Effect of seed roasting conditions on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. *Journal of Food Science*, 69(5): C377-C381.
- Jiamyangyuen S, Srijesdaruk V, Harper WJ. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. *Extraction*, 27(1): 55-64.
- Karataş G. 2015. Effects of pre-treatments on quality characteristics and oil yields of sesame seeds. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.
- Kırdar SS. 2001. Süt ve ürünlerinde analiz metodları uygulama kılavuzu. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları, Isparta.
- Kim K, Tsao R, Yang R, Cui SW. 2006. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*, 95: 466-473.
- Namiki M. 1995. The chemistry and physiological functions of sesame. *Food Review International*, 11: 281-329.

- Noort MW, Van Haaster D, Hemery Y, Schols HA, Hamer RJ. 2010. The effect of particle size of wheat bran fractions on bread quality—Evidence for fibre–protein interactions. *Journal of Cereal Science*, 52(1): 59-64.
- Obeidat BS, Gharaybeh FF. 2011. Effect of feeding sesame hull on growth performance, nutrient digestibility, and carcass characteristics of Black goat kids. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(2): 206-213.
- Roselló-Soto E, Barba FJ, Parniakov O, Galanakis CM, Lebovka N, Grimi N, Vorobiev E. 2015. High voltage electrical discharges, pulsed electric field, and ultrasound assisted extraction of protein and phenolic compounds from olive kernel. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4): 885-894.
- Sarkis JR, Michel I, Tessaro IC, Marczak LDF. 2014. Optimization of phenolics extraction from sesame seed cake. *Separation and Purification Technology*, 122: 506–514.
- Sarkis JR, Boussetta N, Blouet C, Tessaro IC, Marczak LDF, Vorobiev E. 2015. Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29: 170-177.
- Torre P, Aliakbarian B, Rivas B, Domínguez JM, Converti A. 2008. Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3): 500-506.
- Warra AA. 2011. Sesame (*Sesamum indicum* L.) seed oil methods of extraction and its prospects in cosmetic industry: a review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 4(2): 164-168.
- Wei W, Qi X, Wang L, Zhang Y, Hua W, Li D, Lv H, Zhang X. 2011. Characterization of the sesame (*Sesamum indicum* L.) global transcriptome using Illumina paired-end sequencing and development of EST-SSR markers. *BMC Genomics*, 12: 451.
- Yazıcıoğlu T. 1953. Tahin helvasının yapılışı ve terkibi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı*, 1(2): 109-116.
- Zhou S, Liu X, Guo Y, Wang Q, Peng D, Cao L. 2010. Comparison of the immunological activities of arabinoxylans from wheat bran with alkali and xylanase-aided extraction. *Carbohydrate Polymers*, 81(4): 784-789.
- Zhou K, Yu L. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT-Food Science and Technology*, 37(7): 717-721.