

**GIDA** (Gıda Teknolojisi Derneği Yayını)  
**THE JOURNAL OF FOOD** (Published by the Association of Food Technology; Turkey)  
Cilt / Volume: 41 • Sayı / Number: 2 • 2016  
İki ayda bir yayımlanır / Published bimonthly  
**ISSN 1300 - 3070; ISSN 1309 - 6273 (GIDA on-line)**

**Sahibi / Owner**

Gıda Teknolojisi Derneği Adına / *On behalf of the Association of Food Technology; Turkey*

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / *President of the Association*

<b>Editörler Kurulu / Editorial Board</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
<b>Baş Editör/ Editor-in Chief</b> Halkman, A. Kadir <i>Ankara University, Turkey</i>	Alichanidis, Efsthios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Aran, Necla <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrrem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Ögel, Zümrüt <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atıla <i>Ankara University, Turkey</i>
<b>Editörler / Co-Editors</b> Çakır, İbrahim <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> Taban, Birce <i>Ankara University, Turkey</i> Tekin, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> Velioglu, Y. Sedat <i>Ankara University, Turkey</i>	
<b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/ Ankara Turkey	
<b>Tel:</b> (+90) 312 596 1180 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org/dergi.asp	
<b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli	
<b>Basım Yeri / Printing House</b> Sim Matbaacılık Ltd. Şti İvedik Organize San. Böl. Mat-Sit İş Mrk. 1518. Sk. No:2/14 Yenimahalle / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 Faks: (+90) 312 230 41 39 e-mail: simmatbaasi@gmail.com	
<b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 04 2016	

Bu dergi, uluslararası **CAB Abstracts, Citefactor, Index Copernicus, EBSCO, ULAKBİM** (Yaşam Bilimleri) **FAO Agris** ve **DOAJ** veri tabanları kapsamındadır.

This journal is covered by **CAB Abstracts, Citefactor, Index Copernicus, EBSCO, ULAKBİM** (National Databases) **FAO Agris** and **DOAJ** database systems.

## İçindekiler / Content

---

- Kilercioglu M, Özel B, Öztop MH; *Characterization and comparison of Turkish table olive varieties with NMR relaxometry and magnetic resonance imaging / NMR relaksometri ve manyetik rezonans görüntüleme ile sofralık Türk zeytin çeşitlerinin karakterizasyonu ve karşılaştırılması* . . . . . **61-67**
- Ünal MÜ, Kardeşin Z, Şener A; *Effect of some postharvest treatments on physical and biochemical properties of Anamur bananas (Musa acuminata Colla (AAA group) during shelf-life period / Bazı hasat sonrası uygulamalarının raf ömrü boyunca Anamur muzunun (Musa acuminata Colla (AAA grup) fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi* . . . . . **69-76**
- Hüner İD, Güleç HA; *Gıda endüstrisinde kullanılan polimerik yapıda ultrafiltrasyon membranlarının serbest yüzey enerjisi analizinde farklı yaklaşımların karşılaştırılması / Surface free energy analysis of polymeric ultrafiltration membranes used in food industry: A comparison of different approaches* . . . . . **77-84**
- Çilak GÖ, Selamoğlu H, Dülger D, Kurukama F, Çağlar C, Assylbekov D, Halkman AK; *Hızlı Escherichia coli tanımlanmasında ultraviyole destekli indol ve MUG esaslı testlerin kıyaslanması / The comparison of rapid Escherichia coli tests based on MUG and ultraviolet supported indole* . . . . . **85-90**
- Alifakı YÖ, Demirkol ÖŞ, Mikrodalga ile pişirilen pirinç kekinin formülasyonu ve işlem koşullarının optimizasyonu / *Optimization of process conditions and formulation of microwave baked rice cake* . . . . . **91-98**
- Taş E, Türker S, Ertaş N; *Bazı kabartıcı kombinasyonlarının bisküvinin kalitatif özelliklerine etkisi / The effect of some leavening agent combinations on qualitative properties of biscuit* . . . . . **99-105**
- Darıcı M, Çelik ZD, Cabaroğlu T; *Mahlep şarabının aroma maddelerinin belirlenmesi / Determination of aroma compounds of Mahalep wine* . . . . . **107-113**
- Ertop MH, Hayta M; *Ekşi hamur fermantasyonunun ekmeğin biyoaktif bileşenleri ve biyoyararlanımı üzerindeki etkileri / The effect of sourdough fermentation on bread bioactive compounds and their bioavailability* . . . . . **115-122**

# Editörden,

---

Merhaba,

GIDA Dergisi 40. yayın yılını tamamladı. Artık 41. yayım yılına girdik. 40 yıl boyunca kesintisiz olarak GIDA Dergisi 41. yayın yılının 2. sayısında öncekilerden farklı olarak 7 araştırma ve 1 derleme makalesi var. Önceki dergilerde en az 5 araştırma ve en çok 3 derleme makalesi olmasına gayret göstermiştik.

Bu sayıdaki ciddi değişikliğin nedeni yazarlardan ve hakemlerden ilerlemedir. Geliş tarihi çok öncesi olmasına rağmen yazarlardan ve/ veya hakemlerden yeterli ilerleme olmayınca bir alt sıradaki makale öne çıkıyor.

GIDA Dergisi olarak yazarları, hakemleri uyarıyoruz ama herkesin kendince makul bir mazereti var.

Bu dergide 2 adet İngilizce makale yayımladık. Bu tarihte işlem gören 11 adet İngilizce makale var. Bunların 2 adedi yurtdışı kaynaklı. Derginin giderek sadece İngilizce araştırma makalesi kabul edeceği günler yaklaşıyor.

GIDA Dergisinin yayın politikası açıktır. Makalenin tüm işlemleri tamamlandığında elektronik ortamda yayımlarız. Yıllarca hep böyle yaptık. Derginin basılı olarak yayımlanmasında İngilizce araştırma > Türkçe araştırma > Türkçe derleme kuralına uyduk.

Gıdada bilgi kirliliğine karşı oluşturduğumuz facebook sayfasına [www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org) sayfasının en altından erişilebilir.

Önceki sayıda 2016 Edirne Ulusal ve 2018 Kapadokya Uluslararası kongrelerimiz için yapılan duyuruları yeni gelişmeler ile tekrarlıyorum. Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü ile ortaklaşa yapacağımız Türkiye 12. Ulusal Gıda Kongresinin tarihi kesinleşti: 05-07 Ekim 2016. 04 Ekim 2016 tarihinde tam gün olarak küçük bir katılım ücreti ile Gıda Mikrobiyolojisi ve paralel olarak Bitkisel Yağ Analizleri kursları olacak. Kongre çarşamba sabahı başlayacak, cuma öğle saatinde bitecek. Cuma öğleden sonra Edirne şehir turu var. Cumartesi günü ise gününbirlik Balkan turu olacak. Devamında alternatif olarak Cumartesi-Pazar Balkan turu da var. Kongre web sayfası 2015 Ağustos tarihinde kullanıma açıldı: [www.gidakongresi2016.org](http://www.gidakongresi2016.org)

Devamında, Kapadokya'da yapmayı planladığımız 3. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongresi için 2018 yılı sonbaharını kurşun kaleminden biraz daha silinmez bir kalem ile ajandanıza kaydedin.

Sevgi ve saygılarımla,

Prof. Dr. A. Kadir Halkman

## A Message from the Editor-in-Chief

---

Hello,

Unlike the previous issues of Food Journal, there are 7 research and 1 review articles in the 2<sup>nd</sup> issue of the 41<sup>st</sup> publication year of our journal. We endeavor to have at least 5 research and up to 3 review articles in the previous issues. The serious change in this issue arises both from the authors and the reviewers. The Although the submission dates of some articles are early, when enough and on-time progress cannot be provided from their authors and their appointed reviewers, the publication progress of the next article comes out. We warn the authors and the reviewers of Food Journal, but everyone has a reasonable excuse.

We published 2 articles in English in this issue. Currently, there are 11 articles in English, which have ongoing publication progress. Two of them are of foreign origin. The days that the journal will accept only research articles in English, are getting closer.

The editorial policy of Food Journal is clear. When the entire progress of the article is completed, we print it in electronic form. We have always done like that for years. In the publication progress, we obeyed the rule: research article in English > research article in Turkish > the review article in Turkish.

You can access the facebook page which we created against the information pollution on food, from the bottom of the page of the link [www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org).

I would like to repeat the announcements, mentioned in previous issue, of the 12<sup>th</sup> National Food Congress in Edirne in 2016 and 3<sup>rd</sup> International Congress in Cappadocia in 2018, with the newest information. The date of the 12<sup>th</sup> National Food Congress, which will be organized collectively by the Trakya University Department of Food Engineering, announced as on 05-07<sup>th</sup> October 2016. On 04<sup>th</sup> October, there will be whole day food microbiology and vegetable oil analysis courses in parallel sections with a little attendance fee. The congress will begin on Wednesday morning and end at noon on Friday. Edirne city tour will be organized after Friday afternoon and, there will be the daily Balkans tour on Saturday. The congress web site opened: [www.gidakongresi2016.org](http://www.gidakongresi2016.org).

Subsequently, please save to your agenda of the 3<sup>rd</sup> International Congress in Cappadocia in 2018 autumn with a pen that is a little more indelible than a pencil.

Best Regards,  
Prof. A. Kadir Halkman

## CHARACTERIZATION and COMPARISON of TURKISH TABLE OLIVE VARIETIES with NMR RELAXOMETRY and MAGNETIC RESONANCE IMAGING

Mete Kilercioglu<sup>a</sup>, Baris Ozel<sup>a,b</sup>, Mecit Halil Oztop<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Middle East Technical University, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey

<sup>b</sup>Ahi Evran University, Department of Food Engineering, Kırşehir, Turkey

Received / Geliş tarihi: 01.10.2015

Received in revised form / Düzeltilek Geliş tarihi 03.12.2016

Accepted / Kabul tarihi 05.01.2016

### Abstract

Olive is one of the fruits that is mostly consumed in the Mediterranean region. Depending on the variety, oil quality of the olive changes significantly. In this study, Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Relaxometry and Magnetic Resonance Imaging (MRI) experiments were used to characterize different Turkish table olive varieties, (*Ayvalik*, *Mega*, *Sele*, *Light*) in terms of tissue structure, fat and water contents. Moisture and fat content were measured using an infrared moisture analyzer and soxhlet extraction, respectively. NMR Relaxometry and MRI experiments were performed with a 0.32 T and 3T system, respectively. Longitudinal relaxation time ( $T_1$ ) and transverse relaxation time ( $T_2$ ) signals were acquired. Furthermore, non-negative least square (NNLS) method was implemented to T2 decay curves to investigate water and oil distributions. Turbo Spin Echo sequence with fat and water suppression was used for MRI experiments. Significant correlation existed between the physical measurements and NMR relaxation times.

**Key Words:** Table Olives, magnetic resonance relaxometry, magnetic resonance imaging

## NMR RELAKSOMETRİ ve MANYETİK REZONANS GÖRÜNTÜLEME ile SOFRALIK TÜRK ZEYTİN ÇEŞİTLERİNİN KARAKTERİZASYONU ve KARŞILAŞTIRILMASI

### Özet

Zeytin, çoğunlukla Akdeniz bölgesinde tüketilen bir meyvedir. Çeşidine bağlı olarak, kalitesi önemli ölçüde değişir. Bu çalışmada, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR), Relaksometre ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) deneyleri, farklı sofralık zeytin tiplerini (Ayvalık, Mega, Sele, Light) yapı, yağ ve su içerikleri açısından karakterize etmek için kullanılmıştır. Su ve yağ içerikleri, sırasıyla, kızılötesi nem analizörü ve soxhlet çıkarma kullanılarak ölçülmüştür. NMR relaksometre ve MR deneyleri sırasıyla 0.32 T ve 3 T sistemi ile yapılmıştır. T1-longitudinal salınım relaksasyon zamanı ve T2- transverse salınım değerleri elde edilmiştir. Ayrıca, T2 relaksasyon eğrisine NNLS yöntemi uygulanarak su ve yağ dağılımlarına dair bilgi elde edilmiştir. Turbo Spin Eko sekansı MRG ile yağ ve su baskılama deneyleri için kullanılmıştır. Fiziksel ölçümler ve NMR T1 ve T2 süreleri arasında ilişkiler bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Sofralık zeytin, manyetik rezonans relaksometre, manyetik rezonans görüntüleme

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mecit@metu.edu.tr,

☎ (+90) 312 210 5632 / 7327,

☎ (+90) 2312 210 2767

## INTRODUCTION

Olive has been cultivated in Aegean coast of Turkey for over 8000 years. Around 75-80% of the total olive oil production in Turkey is located in the Aegean region (1). Olive is a rich source of nutrients, bioactives and phenolic compounds as antioxidants, antimicrobials and has protective impact against cardiovascular diseases (1). Olive fruit is obtained from the olive tree (*Olea europaea* L.) which is a native of Mediterranean basin. *Olea europaea* L. tree is a small tree and mainly distributed in coastal regions of eastern Mediterranean Basin, coastal areas of southeastern Europe, Western Asia and Northern Africa. 98% of the world's olive cultivation takes place in Mediterranean region (2). Olive became more and more popular because of its promoting health aspects. Olive oil which is extracted from the olive fruit has also importance due to its known health effects. Olive oil production and consumption increased significantly over the past decades. Thus, characterization of oil contents of olive varieties and quality assessments became more important than ever (3).

The oil and water content of olives contribute to the acceptability and quality parameters of olives in a great extent. Oil content is usually determined by conventional extraction methods. Soxhlet extraction is one of the methods used and new methods are being sought for this purpose (4-6).

Magnetic Resonance Imaging (MRI) is a nondestructive technique which allows to observe internal structures of materials (7-9). This method can be used determine quality parameters of foods (10). MRI was also used to observe the internal structure of olive samples. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) is a nondestructive method which is a reliable method to determine moisture and fat content of substances (11-13). In recent studies, NMR technique was started to be preferred over other conventional techniques because of its fast and easy use. NMR relaxometry is based on  $T_1$  and  $T_2$  measurements.  $T_1$  (longitudinal relaxation time) characterizes the increase in the applied RF (Radio Frequency) waves in different planes while  $T_2$  characterizes the decrease of applied RF pulses. Proton pools of samples are also determined by NMR relaxometry (14-16). NMR relaxometry technique takes advantage of

different relaxation properties of water and oil. Therefore, determination of moisture and oil contents of food can be achieved by low field NMR (17, 18).

In this study, four table olive types (*Ayvalik*, *Mega*, *Light and Sele*) were chosen to determine oil and water contents through the use of NMR Relaxometry and MRI. Different NMR sequences (one pulse, inversion recovery, CPMG) and different MR imaging sequences (Turbo Spin Echo w/wo suppression) were used throughout the study to quantify the oil and water content of samples.

## MATERIALS and METHODS

4 different table olive varieties were bought from a local store and they were stored at refrigeration temperature. The table olive varieties *Sele* and *Mega* are Gemlik type olives. *Sele* is obtained by a salt treatment of Gemlik olive.

### Moisture Analysis

Moisture content of the table olives was determined using an infrared moisture analyzer (RADWAG MAC 50, Poland). Table olive samples were cut into pieces after the removal of the stone to dry the sample uniformly before placing in the moisture analyzer. Five measurements were recorded for each type olives.

### Free Induction Decay (FID)

In Tiwari and Burk's study, oil contents of mustard, sunflower and soybean were correlated to Free Induction (FID) signal as 0.988, 0.945 and 0.931 respectively (19). This study showed that FID could be used for oil content determination of food materials. In order to utilize this method, moisture content of the olive samples were lowered below 5% via drying. FID was performed by using a 0.32 T (13.52) MHz low resolution system (Spin Track, Russia) to low-moisture olive samples to obtain the signal that was excluded from water. FID parameters were set as 7 ms echo time and 512 scans. Each olive samples were put into a tube separately and then measurements were conducted. For each type of olive, five measurements were taken.

To determine the oil contents of the samples through NMR, a calibration curve was established for the FID. Commercially available olive oil was obtained from the local markets and used in different amounts for different amounts of olive

oil in the tube, the signal intensity obtained from the sample changes. Signal intensity versus the amount of oil (ml) was plotted and calibration curve equation ( $R^2 = 0.99$ ) was found as shown Figure 1.

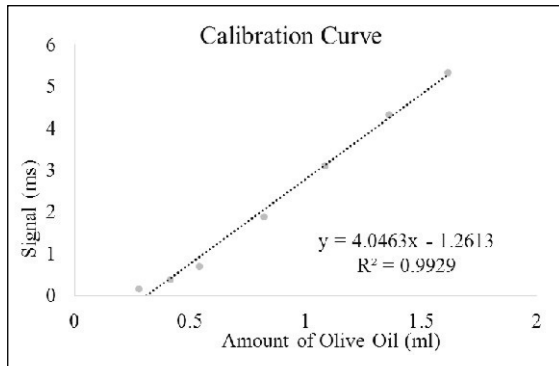


Figure 1: Calibration Curve prepared with Olive Oil in NMR

### Oil Content Determination by Soxhlet Method

Soxhlet method was used to determine oil contents of olive types. *n*-Hexane was used as the extracting solvent for 6 hours (20). Moisture free samples were weighed before and after extraction. The differences of weights were attributed to the olive contents of table olive varieties.

### T<sub>1</sub> (longitudinal relaxation time) & T<sub>2</sub> (transverse relaxation time) Determination

Each table olive samples with stones were put into tubes and tubes were placed in the 0.32 T system properly. For T<sub>1</sub> measurements, Saturation Recovery sequence was used with delay times changing between 10 us to 4 ms for 16 different times with 32 scans. For T<sub>2</sub> measurements, Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) sequence was used with parameters of 1ms echo time, 400 echoes and 32 scans. 5 replicates were used for the measurements.

### NNLS (Non-Negative Least Square) Analysis

Prospa 3.1 (Magritek Inc., Wellington, New Zealand) software was used to perform Non-Negative Least Square Analysis (NNLS). Amplitude and number of peaks of the relaxation spectrum of olives and their relative areas were analyzed in this method. NNLS macro is based on Lawson and Hanson algorithm that depends on regularization function that seeks to find a smooth spectrum of exponentials satisfying the data in a chi-squared sense (7).

### Magnetic Resonance Imaging Experiments

For MRI experiments, a 3.0 T system (123.5MHz, SIEMENS, Germany) at Bilkent University National Magnetic Resonance Research Center (Ankara, Turkey) was used. Turbo Spin Echo sequence of 15 ms echo time and 1000 ms repetition time with water and fat suppression options were used for image acquisition. To calculate the proton density ( $M_0$ ) of the samples, the signal intensity equation given below was used by substituting the T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> times acquired for each sample.

$$SI = M_0 \left( 1 - 2 \exp\left(-\frac{TR - TE}{T_1}\right) + \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right) \right) \exp\left(-\frac{TE}{T_2}\right)$$

Equation 1: Signal intensity equation TE: Echo Time, TR: Repetition Time, T<sub>1</sub>: longitudinal relaxation time, T<sub>2</sub>: transverse relaxation time

From the above equation proton densities for each table olive type were calculated with help of fat and water suppression images. MR images were analyzed using MATLAB (2013b).

### Statistical Analysis

In order to correlate water and oil content with NMR results and MR signal intensity, linear regression analysis was conducted for all data. One-way ANOVA was used to detect if there was significant difference between the factors studied.

## RESULTS

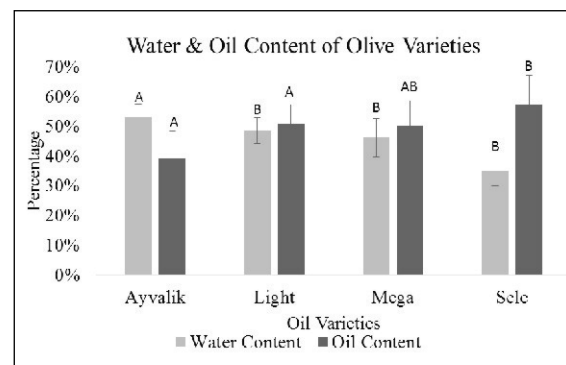


Figure 2: Water and Oil Content for Ayvalik, Light, Mega, Sele Olive Varieties

According to water content analysis in Figure 2, *Ayvalik* had the highest water content of 52%, and *Sele* had the lowest water content of 34%,

among all varieties. However, when compared with oil content in Figure 2, *Sele* had the highest content, 57%, and *Ayvalik* had the lowest oil content, 39%, among all varieties. In terms of water content *Ayvalik* was significantly different from other table olive varieties whereas oil content of *Sele* was significantly different from others. ( $P < 0.05$ )

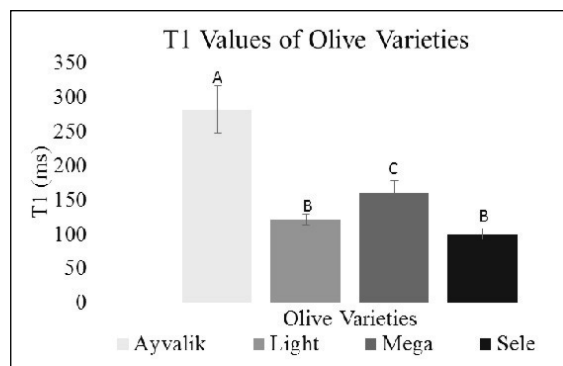


Figure 3: NMR T1 Values for Ayvalik, Light, Mega, Sele Olive Varieties

NMR T1 results in Figure 2 showed that *Ayvalik* had the longest T1 with 281 ms, among all varieties, whereas T1 times of *Light*, *Mega* and *Sele* were found to be 120, 159 and 100 ms respectively. T1 times of *Ayvalik* and *Mega* were significantly different among all varieties. ( $P < 0.05$ )

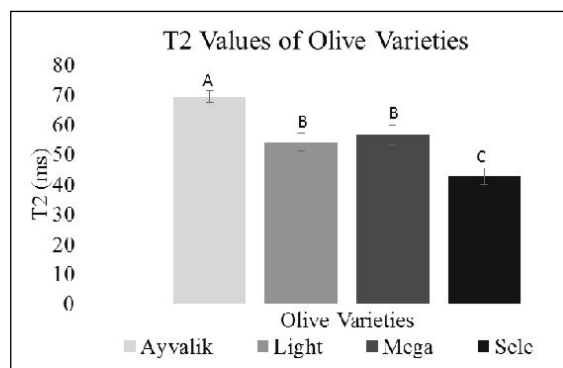


Figure 4: NMR T2 Values for Ayvalik, Light, Mega, Sele Olive Varieties

NMR T2 results in Figure 3 indicated that *Ayvalik* had the longest T2 with value of 69 ms. T2 times of *Light*, *Mega* and *Sele* were found to be 54, 56, 42 ms, respectively. *Ayvalik* and *Sele* were significantly different while *Light* and *Mega* were not found different. ( $P < 0.05$ )

Using the calibration curve in Figure 4, theoretical oil content of *Sele* was found to be the highest,

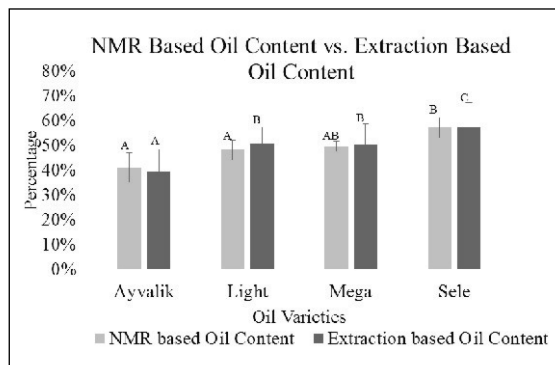


Figure 5: Oil Content prepared with Calibration Curve

with 57%, while *Ayvalik* had 41%, *Light* had 48% and *Sele* had 57% as seen in Figure 5. In extraction based oil content, *Mega* and *Light* samples were not significantly different from each other but they were significantly different in terms of their oil contents from *Ayvalik* & *Sele* samples ( $P < 0.05$ ). In addition, *Ayvalik* and *Sele* varieties had significantly different oil contents from each other ( $P < 0.05$ )

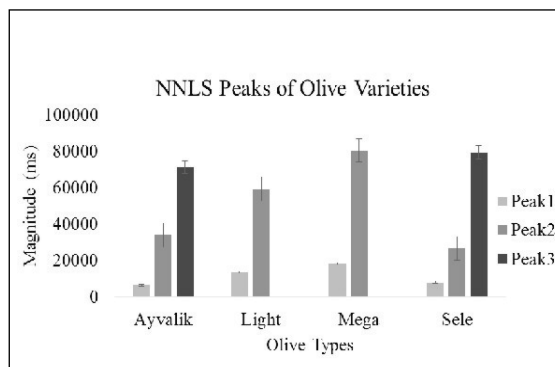


Figure 6: NNLS Peak results for Ayvalik, Light, Mega, Sele Olive varieties

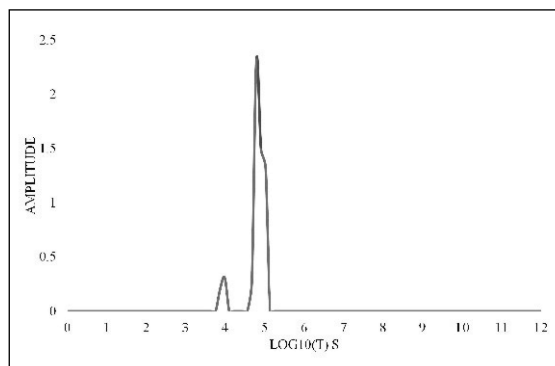


Figure 7: Representative image of NNLS spectrum of olive varieties, Ayvalik



NNLS analysis in Figure 6 showed that all olive types had two peaks but *Ayvalik* and *Sele* had one additional peak. Figure 7 shows a representative NNLS spectrum of *Ayvalik* variety.

T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> correlation with oil content in Table 1 was significant (P<0.05). M<sub>0</sub> found with water suppression equation was also significant (P<0.1). However, signal intensities obtained from MR images were not found to be proper for determination of water content as shown Table 1.

MR fat suppression images in Figure 8 show

distribution of water in all varieties.

MR water suppression images in Figure 9 display distribution of oil in all varieties.

**DISCUSSION**

**T<sub>1</sub> Relaxation Times (Oil & Water Content of Table Olive Varieties)**

In Figure 3, the highest T<sub>1</sub> value observed in *Ayvalik* that had the highest water content. This justified that T<sub>1</sub> value was mostly related to water

Table 2: Correlation Table of MR results for all varieties with linear regression, R<sup>2</sup> and P value.

	Moisture Correlation	Oil Correlation
T <sub>1</sub>	Water Content = 0.336 + 0.000721 x T <sub>1</sub> R <sup>2</sup> = 0.576 P=0.241	Oil Content = 0.637 - 0.000877 x T <sub>1</sub> R <sup>2</sup> = 0.943 P=0.029
T <sub>2</sub>	Water Content = 0.0875 + 0.0066 x T <sub>2</sub> R <sup>2</sup> = 0.875 P=0.065	Oil Content = 0.861 - 0.00661 x T <sub>2</sub> R <sup>2</sup> = 0.971 P=0.014
Peak1	Water Content = 0.441 + 0.000001 x Peak1 R <sup>2</sup> = 0.008 P=0.912	Oil Content = 0.448 + 0.000004 x Peak1 R <sup>2</sup> = 0.077 P=0.723
Peak2	Water Content = 0.406 + 0.000001 x Peak2 R <sup>2</sup> = 0.099 P=0.685	Oil Content = 0.486 + 0.0000001 x Peak2 R <sup>2</sup> = 0.002 P=0.955
Peak1 Area	Water Content = 0.434 + 0.0179 x Peak1 Area R <sup>2</sup> = 0.033 P=0.818	Oil Content = 0.467 + 0.214 x Peak1 Area R <sup>2</sup> = 0.053 P=0.771
Peak2 Area	Water Content = 0.43 + 0.047 x Peak2 Area R <sup>2</sup> = 0.033 P=0.819	Oil Content = 0.455 + 0.068 x Peak2 Area R <sup>2</sup> = 0.077 P=0.723
M <sub>0</sub> (Water Suppression)		Oil Content= 0.53 - 0.121 x M <sub>0</sub> (Water Suppression) R <sup>2</sup> = 0.855 P=0.075
M <sub>0</sub> (Oil Suppression)	Water Content = 0.426 + 0.123 x M <sub>0</sub> (Oil Suppression) R <sup>2</sup> = 0.442 P=0.33	

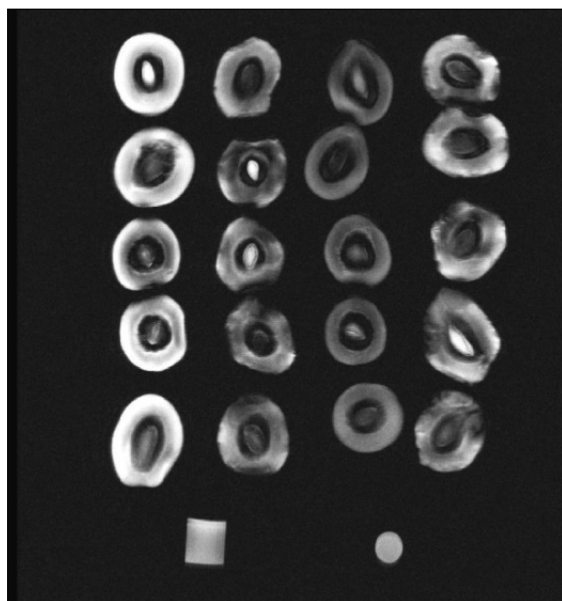


Figure 8: MR fat suppression images for all varieties with 5 replica; *Mega* is first column at the left, *Light* is second column at the left, *Ayvalik* is second column at the right, *Sele* is first column at the right. Above the MR image, there are two reference samples to increase signal to noise ratio.

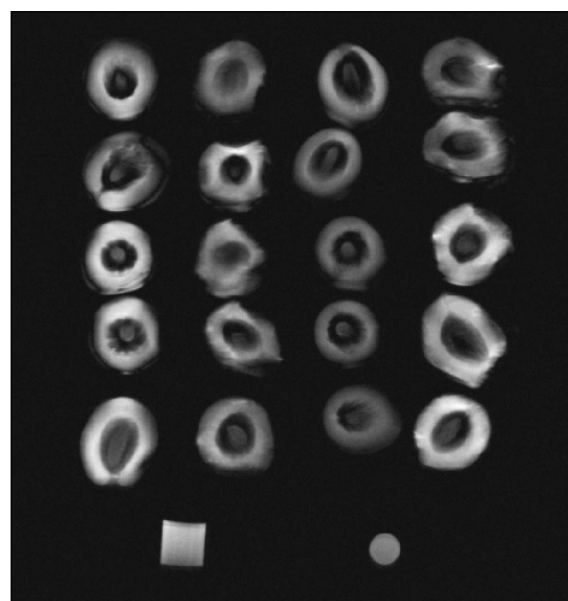


Figure 9: MR water suppression images for all varieties with 5 replica; *Mega* is first column at the left, *Light* is second column at the left, *Ayvalik* is second column at the right, *Sele* is first column at the right. Above the MR image, there are two reference samples to increase signal to noise ratio.

content. The lowest  $T_1$  value was observed for *Sele* which had the least amount of water.  $T_1$  values were also attributed to oil contents. The highest amount of oil containing table olive type which was *Sele* had the shortest  $T_1$  time. This reverse relation was also applicable for *Ayvalik* since it had little amount of oil it had a long  $T_1$  value. Due to high salt concentration of *Sele*, water molecules bind to salt ions resulting in decrease of  $T_1$  value. Since the relaxation time depends on proton relaxation properties, in the presence of salt ions there is less free water to relax.

### **$T_2$ Relaxation Times (Oil & Water Content of Table Olive Varieties)**

In Figure 4, it was observed that with increase in oil content the  $T_2$  values decreased. When the oil content in a water-oil system gets higher,  $T_2$  value of the sample decreases since the  $T_2$  value of oil is shorter than the  $T_2$  value of water (21, 22). In this study this hypothesis was justified.  $T_2$  value of *Sele* was lower than the other table olive varieties and it was related to binding of free water to ions. A similar trend was also observed in  $T_1$  values of *Sele* samples but relatively small decrease in  $T_2$  values in *Sele* compared to  $T_1$  values originated from the high oil contribution to  $T_2$  values. High oil concentration triggers a rapid decrease in  $T_2$  values.

### **FID Measurements**

In Figure 5, which shows the oil contents of table olive varieties based on NMR experiments, it was observed that *Light* & *Mega* samples were not significantly different from each other in terms of oil content. The same relation was observed for *Mega* & *Light* samples in conventional method. In addition, *Ayvalik* & *Sele* olive samples were found significantly different from each other in terms of oil contents ( $P < 0.05$ ). The conventional method again gave the same relation for *Ayvalik* & *Sele* which shows that NMR based experiments are reliable and consistent when compared to conventional method in determining oil contents (23). Figure 6 indicates the  $T_2$  times of different compartments that are present on olive tissue.

### **NNLS Analysis**

NNLS shows the  $T_2$  values of individual proton pools that come from oil and water. The presence of the third peak in *Ayvalik* & *Sele* samples affected the oil vs. peak area correlations in an undesirable manner as shown in Table 1 (24). 3rd peak indicates that there is another proton pool in those olive types which is related with the microstructure of the samples.

### **CONCLUSION**

This study indicated that NMR relaxometry was a good method to determine the oil contents of different table olive samples (25).  $T_1$ ,  $T_2$  and  $M_0$  values gave satisfactory correlations with oil contents. However, for moisture contents, NMR results were not satisfactory correlations as they were in oil contents (26). It was confirmed with the study that NMR was a sufficient and promising nondestructive method and it could be preferred over conventional oil determination methods in olives.

### **REFERENCES**

1. Turktas M., Inal B., Okay S., Erkilic EG., Dundar E., Hernandez, P. 2013 Nutrition metabolism plays an important role in the alternate bearing of the olive tree (*Olea europaea* L.). *PLoS one*, 8, e59876..
2. Rodriguez AR, McAdam J, and Mosquera-Losad MR. 2009. Agroforestry in Europe: Current Status and Future Prospects. Springer.
3. Diraman H, and Dibeklioglu H. 2009. Characterization of Turkish Virgin Olive Oils Produced from Early Harvest Olives. *J Am Oil Chem Soc*, 86, 663-674..
4. Sriti J, Talou T, Faye M, Vilarem G, and Marzouk, B. 2011. Oil extraction from coriander fruits by extrusion and comparison with solvent extraction processes. *Industrial Crops and Products*, 33, 659-664.
5. Khoddami A, Ghazali HM, Yassoralipour A, Ramakrishnan Y and Ganjloo A. 2010. Physicochemical Characteristics of Nigella Seed (*Nigella sativa* L.) Oil as Affected by Different Extraction Methods. *J Am Oil Chem Soc*, 88, 533-540.

6. Lopez-Sánchez M, Ayora-Cañada MJ, and Molina-Díaz A. 2010. Olive fruit growth and ripening as seen by vibrational spectroscopy. *Agric Food Chem*, 58, 82-7.
7. Oztop MH, Rosenberg M, Rosenberg, Y McCarthy, KL and McCarthy MJ. 2010. Magnetic resonance imaging (MRI) and relaxation spectrum analysis as methods to investigate swelling in whey protein gels. *J Food Sci*, 75, E508-15.
8. Oztop MH, McCarthy KL, McCarthy MJ and Rosenberg M. 2012. Uptake of divalent ions (Mn<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup>) by heat-set whey protein gels. *J Food Sci*, 77, E68-73.
9. Oztop MH, McCarthy KL, McCarthy MJ and Rosenberg M. 2014. Monitoring the effects of divalent ions (Mn<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup>) in heat-set whey protein gels. *LWT - Food Sci Technol*, 56, 93-100.
10. Haiduc AM, van Duynhoven JPM, Heussen P, Reszka A and Reiffers-Magnani C. 2007. Multivariate modelling of the microstructural quality of food emulsions based on NMR. *Food Res Int*, 40, 425-434.
11. Wei F, Furihata K, Miyakawa T and Tanokura M. 2014. A pilot study of NMR-based sensory prediction of roasted coffee bean extracts. *Food Chem*, 152, 363-369.
12. Koda M, Furihata K, Wei F, Miyakawa T and Tanokura M. 2012. NMR-Based Metabolic Profiling of Rice Wines by F<sub>2</sub>-Selective Total Correlation Spectra. *J Agric Food Chem*, 2012.
13. Anokura MAT. 2007. Nondestructive Quantification of Organic Compounds in Whole Milk without Pretreatment by Two-Dimensional NMR Spectroscopy. *J Agric Food Chem*, 2007.
14. Graff RA. 2007. In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques. John Wiley and Sons.
15. Aroni SIB, Onsonni ROC, Errante GIF and Ime SIA. 2009. Relaxometric Studies for Food Characterization: The Case of Balsamic and Traditional Balsamic Vinegars. *J Agric Food Chem*.
16. Slichter CP. 1989. Principles of magnetic resonance. *Springer Series in Solid-State Sciences*.
17. Hickey H, MacMillan B, Newling B, Ramesh M, Van Eijck P and Balcom B. 2006. Magnetic resonance relaxation measurements to determine oil and water content in fried foods. *Food Res Int*, 39, 612-618.
18. MacMillan B, Hickey H, Newling B, Ramesh M and Balcom B. 2008. Magnetic resonance measurements of French fries to determine spatially resolved oil and water content. *Food Res Int*, 41, 676-681.
19. Tiwari PN and Burk W. 1980. Seed oil determination by pulsed nuclear magnetic resonance without weighing and drying seeds. *J Am Oil Chem Soc*, 57, 119-121.
20. Oztop MH, Sahin S and Sumnu G. 2007. Optimization of microwave frying of potato slices by using Taguchi technique. *J Food Eng*, 79, 83-91.
21. Hashemi RH, Bradley WG and Lisanti CJ. 2010. MRI The Basics. *Lippincott Williams and Wolters Kluwer*.
22. Solland GH, Larsen PM, Lundby F, Rudi AP and Guiheneuf T. 2004. Determination of total fat and moisture content in meat using low field NMR. *Meat Sci*, 66, 543-550.
23. Shawat AD, Camillob A, Vlahovb G, Jonesa A, Bianchib G, Rowlandc J. 1997. Discrimination of the variety and region of origin of extra virgin olive oils using <sup>13</sup>C NMR and multivariate calibration with variable reduction. *Anal Chim Acta*, 348, 357-374.
24. Marchand J, Hitti E, Monge F, Saint-Jalmes H, Guillin R, Duvauferrier R. 2014. MRI quantification of diffusion and perfusion in bone marrow by intravoxel incoherent motion (IVIM) and non-negative least square (NNLS) analysis. *Magnetic Resonance Imaging*, 32, 1091-1096.
25. Kilercioglu M, Ozel B, Karacam CH, Pöcan P and Oztop MH. 2015. Investigating Of The Effect Of High Temperature And Humidity On Water And Fat Distribution In Hazelnuts By Magnetic Resonance Imaging (Mri) And Nmr Relaxometry Techniques. *GIDA*, 40, 141-148.
26. Li T, Rui X, Wang K, Jiang M, Chen X, Li W and Dong M. 2015. Study of the dynamic states of water and effects of high-pressure homogenization on water distribution in tofu by using low-field nuclear magnetic resonance. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 30, 61-68.

## Yazım Kuralları

GIDA (2009) 34 (1): 55-58

[www.gidadernegi.org/](http://www.gidadernegi.org/) Gıda Dergisi / Yayın kuralları

## Makale Gönderimi ve Telif Hakkı Devir Formu

GIDA (2009) 34 (1): 65

[www.gidadernegi.org/](http://www.gidadernegi.org/) Gıda Dergisi / Makale Gönderimi ve Telif Hakkı Devir Formu

## Son Kontrol Listesi

GIDA (2009) 34 (1): 66

[www.gidadernegi.org/](http://www.gidadernegi.org/) Gıda Dergisi / Son Kontrol Listesi

adreslerinden erişilebilir. Yazarlar, makale göndermeden önce yazım kurallarını tam olarak okumalı ve makalelerini burada verilen kurallara göre hazırlamalıdır.

## EFFECT OF SOME POSTHARVEST TREATMENTS ON PHYSICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF ANAMUR BANANAS (*Musa acuminata* Colla (AAA GROUP) DURING SHELF-LIFE PERIOD

Mustafa Ümit Ünal<sup>1</sup>, Zafer Kardeşin<sup>2</sup>, Aysun Şener<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>University of Cukurova, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Adana, Turkey

<sup>3</sup>University of Adiyaman, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Adiyaman, Turkey

Received / Geliş tarihi: 28.10.2015

Accepted / Kabul tarihi 31.12.2015

### Abstract

Effects of modified atmosphere packaging (MAP) and 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatments on physical and biochemical properties of Anamur bananas during shelf life period were investigated. The fruits treated with 1-MCP sustained better brightness and green color, measured with  $L^*$  and  $a^*$  values, respectively, than did the MAP treated and non-treated fruits. Exposure to 1-MCP delayed changes in skin color and flesh softening of bananas.  $CO_2$  production steadily increased over time, with the lowest rate in 1-MCP treated samples. The lowest ethylene production was observed in the fruits treated with 1-MCP. The PPO activity in 1-MCP and MAP treated fruit flesh was erratic.

**Key Words:** Anamur banana, shelf-life, MAP, 1-MCP, postharvest changes

## BAZI HASAT SONRASI UYGULAMALARININ RAF ÖMRÜ BOYUNCA ANAMUR MUZUNUN (*Musa acuminata* Colla (AAA GRUP) FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

### Özet

Bu çalışmada raf ömrü boyunca Anamur muzlarının kimyasal ve biyokimyasal özellikleri üzerine modifiye atmosfer paketlemesinin (MAP) ve 1-metilsiklopropen uygulamasının (1-MCP) etkileri araştırılmıştır. 1-MCP uygulanmış meyvelerin, MAP uygulanmış ve hiçbir uygulama yapılmamış meyvelere göre parlak ve yeşil rengini koruduğu  $L^*$  ve  $a^*$  değerleri ile ölçülmüştür. 1-MCP uygulaması, muzların kabuk rengi değişimini ve meyve eti yumuşamasını geciktirmiştir.  $CO_2$  üretimi tüm örneklerde düzenli bir şekilde artmıştır ve en düşük artış oranı 1-MCP uygulanmış örneklerde olmuştur. En düşük etilen üretimi 1-MCP uygulanmış meyvelerde gözlemlenmiştir. 1-MCP ve MAP uygulanmış meyve etlerinin PPO aktivitesi ise değişkenlik göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Anamur muz, raf ömrü, MAP, 1-MCP, hasat sonrası değişimler

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ muunal@cu.edu.tr,

☎ (+90) 322 338 6094,

☎ (+90) 322 338 6614

## INTRODUCTION

Bananas are not only among the most important fruit in world trade but also among the most consumed fruits in the world. Global annual banana production amounts to 102 million metric tons. Bananas are usually harvested in the green-ripe stage. Once ripening begins, it is irreversible and is accompanied by a change in peel color from green to yellow, conversion of starch to sugars, flesh softening and aroma development. Brown spots appear on the yellow color at the end of ripening. The ripe fruit contains many of the elements that are essential for a balanced diet. Banana contains fat, natural sugars, protein, potassium and vitamins A, B complex and C (1-6).

Banana is a climacteric fruit which has a short shelf-life at ambient temperature. It was reported that consumers in Australia would purchase more bananas at one shopping occasion if the fruits had a longer shelf life. The short shelf life of bananas is attributed to a rapid senescence process leading to deterioration in visual appearances of the fruit peel. Therefore, an increase in the banana shelf life is expected to encourage consumers to purchase higher quantities at one shopping occasion (7). In order to extend postharvest shelf life fast cooling and temperature control (at ca. 13 °C) are commonly used, which are, however, costly and an alternative low-cost method that delays ripening is required for small operators and in developing countries (5, 8). Banana is extremely susceptible to chilling injury, which leads to pitting, peel discoloration, abnormal ripening, hardening of the central placenta, complete loss of flavor, flow of clear latex, subepidermal brown streaking, appearance of water-soaked areas and abnormal high susceptibility to mechanical damage and decay (9).

Modified atmosphere packaging (MAP) is a technique used for prolonging the shelf-life period of fresh or minimally processed foods. In this preservation technique the air surrounding the food in the package is changed to another composition. (10). Recently, a novel gaseous anti-ethylene compound 1-methylcyclopropene (1-MCP) has been reported to have inhibitory effects on ethylene action. Thus, 1-MCP has potential for the commercial control of ripening and senescence of harvested fruits and vegetables. 1-MCP treatment extended the green life and/or inhibited ripening of tomato, banana and plum fruit. 1-MCP is an inhibitor of ethylene action. 1-MCP delays postharvest ripening of several fruits, including banana (8, 11, 12).

According to Turkish Statistical Institute, annual banana production in Turkey was about 200 thousand tons in 2012, with Anamur banana (*Musa acuminata Colla* (AAA Group)) being the most common cultivar grown in Turkey, which is dwarf variety (13, 14). The present study was undertaken to investigate effects of 1-MCP and MAP treatment on physical and biochemical properties of Anamur banana during shelf life period.

## MATERIAL AND METHODS

### Plant material

Anamur banana fruits were harvested at green stage from the plantation of Alata Horticultural Research Station Directorate, Mersin, Turkey. The experiment was a completely randomized design (CRD) with 3 replications. For each replication 10 banana fingers were used.

### Pretreatments

The hands of green bananas were dipped into fungicide for (0.2% imazalil) and air-dried. Uniform, undamaged fruits were selected, separated, and randomized for use in experiments. 10 fruits in each recurrence of each application were placed in open plastic containers, which were then taken to ripening room where they were exposed to 33.3 ppm/m<sup>3</sup> ethylene gas at 20 °C. The fruits were ripened to the ripening stage 3 (more green than yellow). In study, smartfresh commercial formulation was used in tablet form with an activator. Each tablet used in the study, providing a volume of 1 m<sup>3</sup> 312.5 ppb concentrations. The fruit were treated with for the area 312.5 ppb/m<sup>3</sup> 1-MCP in a gas tight room, and then kept at 20 °C for 24 h. For modified atmosphere packaging (MAP) Xtend® plastic bags were used. These packages have been developed specifically for bananas, are packages with macro and micro-holes, modified atmosphere and modified humidity technology. The fruit in plastic were placed in Xtend® bags and then sealed. The 1-MCP and MAP treated fruits and control group were placed in a shelf at 20 °C. The samples were taken at two days intervals starting from the day zero.

### Color

The skin color of banana samples was determined using a Hunter Lab Colorimeter, (LabScan Minolta CR-300 model, Minolta Ramsey, NJ, USA). Instrument was calibrated with a black and white standard tiles. The results were expressed in terms of L\* values and hue angle. L\* values represents lightness. Hue angle, is a color circle, red-purple color between 0°-360° angle, yellow 90° angle, bluish-green color between 180° -270° angle (15).

**Firmness**

Fruit peel and flesh firmness were determined in three selected fruits in each replicate using a penetrometer (Fruit Pressure Tester, Model FT 327, Italy) fitted with an 6 mm diameter probe. Results were expressed as N/cm<sup>2</sup>.

**Titrateable acidity (TA) and total soluble solids (TSS)**

50 grams of flesh tissue was homogenized in 250 mL deionised water and then filtered. TA was determined by titrating filtrate (10 mL) with 0.1 N NaOH using phenolphthalein as indicator and expressed as percent malic acid. 50 g of samples in 250 mL of distilled water were homogenized and then filtered. Brix was measured with a hand refractometer (Atago N-20 Brix 0-20 %, Japan.). Results were expressed as % total soluble solids (16).

**Carbon dioxide and ethylene**

Carbon dioxide and ethylene production were measured by enclosing fruit samples in an airtight a volume of 2.5 liters container for 1 h at room temperature. CO<sub>2</sub> production within jars was monitored by measuring the CO<sub>2</sub> using dual Gas Analyzer (United Kingdom). The results were expressed as (mL CO<sub>2</sub> / kg.h) by the following formula (17).

$$(\text{mL CO}_2/\text{kg.h}) = \frac{\text{Gas Concentration Conversion} \times \text{Vessel's Volume (mL)}}{\text{Fruit Mass (kg)} \times \text{Time (h)}}$$

Ethylene production within jars was monitored by measuring the ethylene using ethylene analyzer (ICA56, United Kingdom). The results were expressed as (µL/kg.h) by the following formula (17).

$$(\mu\text{L/kg.h}) = \frac{\text{Gas Concentration Conversion (ppm)} \times \text{Vessel's Volume (L)}}{\text{Fruit Mass (kg)} \times \text{Time (h)}}$$

**Total Phenolics**

The total phenolic concentration in the samples was determined spectrophotometrically according to Folin-Ciocalteu colorimetric method (18). 50 g of peeled fruit or 25 g peel was homogenized in 50 mL methanol (80%) containing 0.5 g ascorbic acid. The homogenate was filtered thorough cheesecloth. One mL sample extract was introduced into a 100 mL flask, 5 mL of Folin-Ciocalteu reagent, 60 mL of dionized water and 15 mL sodium carbonate (20%) were added, and the content was mixed. Afterwards, the volume of the flask was made up to 100 mL with dH<sub>2</sub>O and allowed to stand for 2 hours in the dark. Absorption at 765 nm was measured in a Shimadzu 300 UV-vis spectrophotometer (Shimadzu UV-1700, Kyoto, Japan). The total

phenolic content was expressed as gallic acid equivalents in mg/L, using a standard curve generated with 50, 100, 150, 250 and 500 mg/L of gallic acid. Total phenolics were expressed as gallic acid equivalents (mg/L). The measurements were carried out in triplicate and the results are expressed as the means.

**Polyphenol oxidase (PPO) activity**

20 grams of material were homogenized in 100 mL of 0.1 M sodium phosphate buffer pH 6.8 containing 0.176 g ascorbic acid and 0.5 g polyvinylpyrrolidone, 0.5 mL Triton x-100, 0.0174 phenylmethylsulfonyl fluoride, and extracted with the aid of a magnetic stirrer for 1 h. The crude extract samples were centrifuged at 10000g for 20 min. The process was conducted at the temperature of 4 °C. The supernatant was used as the enzyme source. PPO activity was determined in 1.0 mL assay mixtures in a spectrophotometer by measuring the increase in absorbance at 410 nm at 30 °C. The initial rate was calculated from the slope of the linear part of the absorbance-time curve. The reaction mixture consisted of 0.1 mL of enzyme solution and 0.9 mL of catechol in phosphate buffer (pH 6.8 0). In all experiments, control experiments without enzyme were conducted and no significant oxidation of substrate was observed during the short period employed to measure PPO activity. One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme that caused an increase of 0.001 in the absorbance value per min under the assay conditions (19).

**Statistical analysis**

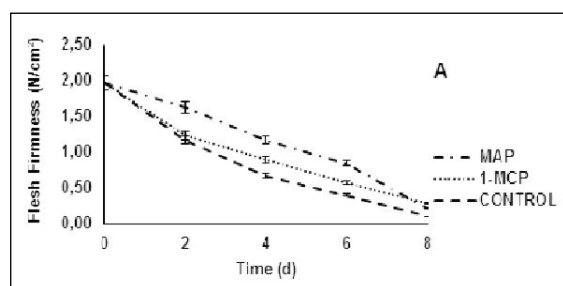
Statistical design was a completely randomized with a factorial arrangement for treatments. There were three replicates per treatment. Treatment effects were examined for significance using a least significant difference test (LSD) at the 5% level, using computational statistical program JUMP.

**RESULTS AND DISCUSSION****Firmness**

Changes in fruit peel and flesh firmness after 1-MCP and MAP pretreatment is shown in Fig. 1 A and 1 B. Fruit peel and flesh firmness decreased with storage at a faster rate in the untreated fruits than in MAP and 1-MCP treated fruits. However, the banana fruits exposed to 1-MCP had a higher peel and flesh firmness, suggesting that 1-MCP treatment was more effective than MAP in delaying fruit peel and flesh softening. Effect of the

treatments on peel firmness was found to be statistically insignificant at  $P < 0.05$ , while that on fruit flesh was significant. Ketsa et al. (2013) reported that a combination of 1-MCP and MAP treatment led to a gradual decrease in peel firmness and there was a small change in peel firmness during storage period. They also found that flesh firmness in MAP treated samples declined more rapidly than that of the control and 1-MCP (12).

Vilas-Boas and Kader (2006) reported that exposure to 1 mL/L 1-MCP for 6 h at 14 °C delayed the softening of fresh-cut banana slices stored for 3 days at 10 °C when applied after processing. However, they did not observe any effect of 1-MCP on the firmness of the slices stored for 2 days at 10 °C when it was applied on intact fruits. They asserted that the time between the 1-MCP application and peeling did not suffice to permit the permeation of the 1-MCP from peel to pulp (20). Softening of fruits is related to a change in cell wall component and starch degradation. The starch granules, packed in the tissue of banana flesh give rise to the toughness of the unripe fruit, and are hydrolyzed to sugar while an increase of the cell wall solubility allows water and nutrients to pass in and out of the cells (1). Jiang and Joyce (2003) reported that softening of bananas exposed to 1-MCP for 12 h followed by 5 days of storage in high O<sub>2</sub> atmospheres at 25 °C was enhanced with increasing O<sub>2</sub> concentration between 21 and 100% (21).



### Titratable acidity, total soluble solids

Reduced respiration rate may be reflected in lower changes titratable acidity (TA) and total soluble sugars (TSS) (22). Changes in titratable acidity (TA) of control and 1-MCP and MAP treated fruits are given in Fig. 2 A. As seen in the graph, TA steadily dropped in all groups during storage, with control group having the lowest TA. Effect of the treatments on TA was found to be significant at  $P < 0.05$ . The drop in TA may be explained by the fact that organic acids in banana were used as substrates for the enzymatic reactions of respiration (22). It was reported that acidity in the banana was at a maximum when the fruits turned yellow (9).

Changes in total soluble solids after MAP and 1-MCP treatment are given in Fig. 2B. TSS in treated and non-treated fruits fluctuated during storage. There was very little change in TSS in the first 2 days. It subsequently reached a peak on day four, followed a by a slight decrease. Effect of the treatments on TSS was not statistically significant at  $P < 0.05$ . Baez-Sanudo et al. (2009) who studied extending the shelf-life of bananas with 1-MCP and a chitosan-based edible coating reported a decrease of 0.15% titratable acidity and an increase of 8°Brix were observed in all treatments during the experiment (23).

### CO<sub>2</sub> and ethylene production

When plant products are harvested, living cells continue to respire, releasing CO<sub>2</sub> at the expense

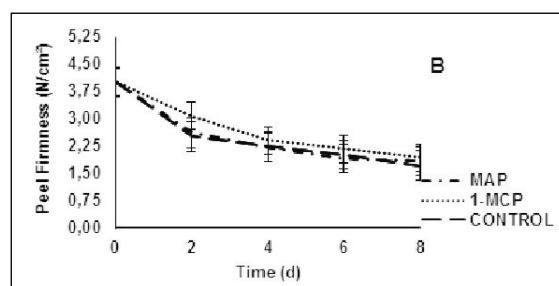


Figure 1. Effect of MAP and 1-MCP on (A) flesh firmness (B) peel firmness (N/cm<sup>2</sup>) Vertical bars indicate standard deviations of means

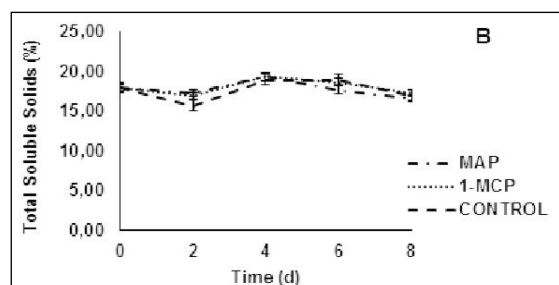
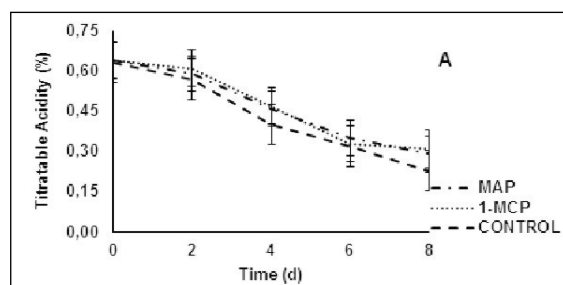


Figure 2. Changes in titratable acidity (A) and total soluble solids (B) of banana flesh after MAP and 1-MCP treatments (%). Vertical bars indicate standard deviations of means



of breaking down some substances in the cell in redox reactions (24). It is a major factor contributing to the post-harvest losses of perishables. The storage air temperature and its composition in terms of  $O_2$ ,  $CO_2$  and ethylene affect the post-harvest respiratory response of fresh produce. The diminution of enzymatic activities by providing low temperature, low  $O_2$  and slightly high  $CO_2$ , in general, reduces utilization rate of substrates (i.e. carbohydrates, organic acid and other reserves) and increases post-harvest life of the fruit beyond its normal span (25).

$CO_2$  and ethylene production by 1-MCP and MAP treated and untreated bananas are shown in Fig. 3A and 3B.  $CO_2$  production steadily increased over time, with the lowest rate in 1-MCP treated samples, indicating that 1-MCP treatment slowed down respiration of the fruits (Fig. 3A). Ethylene production by banana fruit increased in both untreated and 1-MCP and MAP treated fruits over time (Fig. 3B). The ethylene production accelerated from day 4 onwards in all groups. The lowest ethylene production was observed in the fruits treated with 1-MCP, followed by MAP treated samples. Effect of the treatments on  $CO_2$  and ethylene production was not statistically significant at  $P < 0.05$ .

Golding et al. (1999) reported that application of 1-MCP at 6 and 12 h after propylene treatment

resulted in delays in the onset of both ethylene production and respiration. All of the 1-MCP treatments used resulted in an increase in the rate of ethylene production and a decrease in respiration rates during ripening (26). Vilas-Boas and Kader (2006) reported that when fresh-cut banana slices were exposed to different doses of 1-MCP, an increase in ethylene production was observed at third day. However, exposure of fresh-cut banana slices to 1-MCP did not affect their ethylene production during storage at 10 °C. Even as low as 0,1 mL/L 1-MCP (applied on intact fruits) increased the ethylene production of the slices (20).

### Peel color ( $L^*$ values and hue angle)

The experimental results for peel color changes in the treated and non-treated bananas are shown in Fig. 4 A, B.  $L^*$  values remained almost constant in the first 4 days of storage after which it started to decline. Compared to MAP treatment, exposure to 1-MCP resulted in a higher  $L^*$  value on day 8 (Fig. 4A).

Hue angle, on the other hand, steadily decrease from day 0 to day 8, with the lowest value in the fruits treated with 1-MCP (Fig. 4 B). Effect of the treatments on  $L^*$  and hue angle was found to be statistically significant at  $P < 0.05$ . Decrease in hue angle corresponds to a change in color from green to yellow which is due to the breakdown

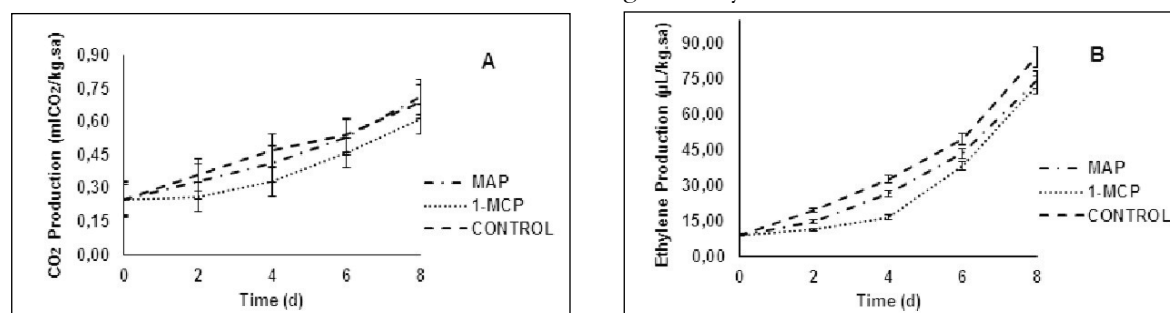


Figure 3. Changes in  $CO_2$  (A) and ethylene (B) production in non-treated and MAP and 1-MCP treated banana fruits. Vertical bars indicate standard deviations of means

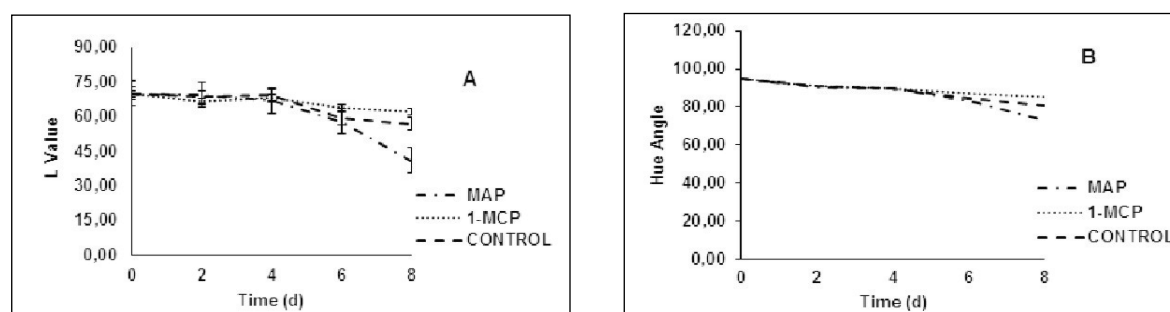


Figure 4. Effects of MAP and 1-MCP treatments on banana peel color. (A) L values. (B) Hue Angle. Vertical bars indicate standard deviations of means.

of the chlorophyll in the peel. From these findings, it can be stated that 1-MCP treated bananas sustained better brightness and green color, measured with  $L^*$  and hue angle, respectively, than did the MAP treated and non-treated fruits. In study carried out by Pelayo et al. (2003) it was found that exposure to 1-MCP delayed changes in peel color (27). According to Amiot et al. (1997),  $L^*$  value was closely related to the amount of phenols degraded (28).

### Total phenolics in fruit peel and flesh

Phenolic compounds are the potential main substrate for the browning reactions catalyzed by polyphenol oxidases and peroxidases (29). Change in total phenolics in fruit peel and flesh are illustrated in Fig. 5A and 5B. The level of total phenolics in fruit flesh in all groups dropped in the first two days of storage, which however reached a peak on day six in both MAP and 1-MCP treated samples, followed by a drop on day eight. The concentration of total phenolics in non-treated fruit peel remained almost unchanged during the entire storage period, that in treated fruits dropped on day two, which afterwards increased and then dropped. Effect of the treatments on total phenolics in fruit flesh and peel was statistically significant at  $P < 0.05$ . Nguyen

et al. (2003), who investigated relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage, reported that the total free phenolics level of Kluai Khai (Musa AA Group) and Kluai Hom Thong (Musa AAA Group) bananas cultivars decreased more rapidly at 6 °C than at 10 °C.

### PPO activity in fruit peel and flesh

Polyphenol oxidase (PPO) (EC 1.14.18.1), which is widely distributed in plant and animal kingdom is a copper containing enzyme and is responsible for the enzymatic browning reaction occurring in many plants and vegetables. The enzyme catalyzes the hydroxylation of monophenols to *o*-diphenols to *o*-quinones. The quinones thus formed are highly reactive substances, which normally react further with other quinones, amino acids and proteins to produce dark-colored compounds, resulting in the brown pigments spotting (14, 29-31).

There was only a slight increase in PPO activity in the control fruit flesh in the first 4 days, followed by a decline (Fig. 6 A). The PPO activity in 1-MCP and MAP treated fruit flesh was erratic; after an increase in 1-MCP treated fruits on day 2, it declined until day 6, and then increased again whereas that in MAP treated fruit flesh decreased on day

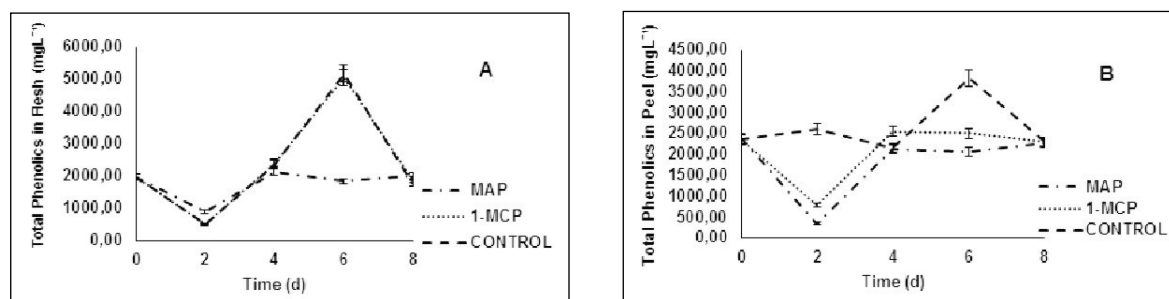


Figure 5. Change in total phenolics in fruits treated with MAP and 1-MCP (mg/L). (A) Fruit flesh (B) In fruit peel. Vertical bars indicate standard deviations of means.

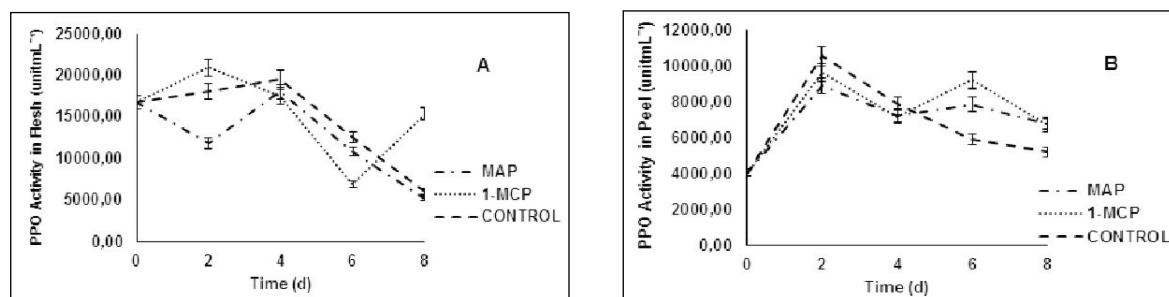


Figure 6. Change in PPO activity in fruits treated with MAP and 1-MCP (g/100 mL). A. Fruit flesh B. Fruit peel. Vertical bars indicate standard deviations of means.

2, followed by an increase on day 4 and then declined until day 8. These results indicate lack of consistency of effect of 1-MCP on PPO activity in fruit flesh, which was also reported by Pelayo et al. (2003) (27).

The PPO activity increased in both treated and non-treated fruit peel during the entire storage period, however, the increase in both 1-MCP and MAP treated fruit peel was more than that in control fruits (Fig. 6B). Effect of the treatments on PPO activity in fruit flesh and peel was found to be statistically significant at  $P < 0.05$ . Kamdee et al. (2009) also reported an erratic PPO activity in the peel of control banana fruits which tended to decrease during the 6 d of shelf-life (29). Nguyen et al. (2003) studied relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage Kluai Khai (Musa AA Group) and Kluai Hom Thong (Musa AAA Group) bananas. They reported that with the start of chilling injury PPO activities in the peel increased, and total free phenolics decreased. The decrease in total free phenolic compounds and the increase in PPO activities occurred more rapidly at 6 °C than at 10 °C, in both banana cultivars (32).

## CONCLUSIONS

The fruits treated with 1-MCP sustained better brightness and green color, measured with  $L^*$  and  $a^*$  values, respectively, than did the MAP treated and non-treated fruits. Exposure to 1-MCP delayed changes in skin color and flesh softening of bananas.  $CO_2$  production steadily increased over time, with the lowest rate in 1-MCP treated samples, indicating that 1-MCP treatment slowed down respiration of the fruits. The lowest ethylene production was observed in the fruits treated with 1-MCP, followed by MAP treated samples. The PPO activity in 1-MCP and MAP treated fruit flesh was erratic, indicating lack of consistency of effect of 1-MCP on PPO activity in fruit flesh, which was also reported other researchers.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study (ZF2012.YL.27) was funded by the Research Fund of the University of Cukurova, Turkey.

## REFERENCES

1. Amin N, Hossain M. 2012. Reduction of postharvest loss and prolong the shelf-life of banana through hot water treatment. *J Chem Eng IEB*, 27: 42-47.
2. Golding JB, Shearer D, Wyllie SG, McGlasson WB. 1998. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. *Postharvest Biol Tec*, 14: 87-98.
3. Gomesa JFS, Vieira RR, Leta FR. 2013. Colorimetric indicator for classification of bananas during ripening. *Sci Hort*, 150: 201-205.
4. Hassan A, Lizada MCC, Tan SC, Pantastico EB, Tongdee SC. 1990. Storage of banana., in: Hassan, A., Pantastico, E.B. (Eds.), *Banana: Fruit Development, Postharvest Physiology, Handling and Marketing in ASEAN*. ASEAN Food Handling Bureau, Kuala Lumpur, pp. 44-64.
5. Imahoria Y, Yamamotoa K, Tanakaa H, Bai J. 2013. Residual effects of low oxygen storage of mature green fruit on ripening processes and ester biosynthesis during ripening in bananas. *Postharvest Biol Tec*, 77:1-27.
6. Salvador A, Sanz T, Fiszman SM. 2007. Changes in colour and texture and their relationship with eating quality during storage of two different dessert bananas. *Postharvest Biol Tec*, 43: 319-325.
7. Klieber A, Bagnato N, Barrett R, Sedgley M. 2002. Effect of post-ripening nitrogen atmosphere storage on banana shelf life, visual appearance and aroma. *Postharvest Biol Tec*, 25: 15-24.
8. Jiang Y, Joyce DC, Macnish AJ. 1999. Extension of the shelf life of banana fruit by 1-methylcyclopropene in combination with polyethylene bags. *Postharvest Biol Tec*, 16: 187-193.
9. Thuy NTB, Saichol K. 2009. Physical and biochemical changes in cool-stored ripening bananas of two different dessert cultivars. *J Sci Dev*, 7: 230-238.
10. Sandhya. 2010. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *Food Sci Technol-LEB*, 43:381-392.
11. Bagnato N, Barrett R, Sedgley M, Klieber M. 2003. The effects on the quality of Cavendish bananas, which have been treated with ethylene, of exposure to 1-methylcyclopropene. *Int J Food Sci Technol*, 38: 745-750.

12. Ketsa S, Wisutiamonkul A, Doorn WG. 2013. Apparent synergism between the positive effects of 1-MCP and modified atmosphere on storage life of banana fruit. *Postharvest Biol Tec*, 85: 173-178.
13. Anon. 2012. 2012 Annual banana production in Turkey. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> [16.01.2014].
14. Ünal MÜ. 2007. Properties of Polyphenol Oxidase from Anamur Banana (*Musa Cavendishii*). *Food Chem*, 100: 909-913.
15. McGuire RG. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27: 1254 -1255.
16. Cemeroglu B. 2010. Food Analysis (In Turkish). *Gıda Teknolojileri Derneği Yayınları*, No: 34, Ankara.
17. Bower JH, Jobling JJ, Patterson BD, Ryan DJ. 1998. A method for measuring the respiration rate and respiratory quotient of detached plant tissues. *Postharvest Biol Tec*, 13: 263-270.
18. Ough CS, Amerine MA. 1988. Methods for Analysis of Musts and Wines, John Wiley and Sons, New York.
19. Ünal MÜ, Şener A. 2006. Determination of Some Biochemical Properties of Polyphenol Oxidase from Emir Grape (*Vitis vinifera* L. cv. Emir). *J Sci Food Agric*, 86: 2374-2379.
20. Vilas-Boas EVDB, Kader AA. 2006. Effect of atmospheric modification, 1-MCP and chemicals on quality of fresh-cut banana. *Postharvest Biol Tec*, 39: 155-162.
21. Jiang Y, Joyce DC. 2003. Softening response of 1-methylcyclopropene-treated banana fruit to high oxygen atmospheres. *Plant Growth Regul*, 41: 225-229.
22. Bico SLS, Raposo MFJ, Morais RMSC, Morais AMMB. 2009. Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. *Food Control*, 20:508-514.
23. Baez-Sanudo M, Siller-Cepeda J, Muy-Rangel D, Heredia, JB. 2009. Extending the shelf-life of bananas with 1-methylcyclopropene and a chitosan-based edible coating. *J Sci Food Agric*, 89: 2343-2349.
24. Kays SJ. 1991. Post-Harvest Physiology of Perishable Plant Products. Van Nostrand Reinhold Publication, New York.
25. Bhande SD, Ravindra MR, Goswami TK. 2008. Respiration rate of banana fruit under aerobic conditions at different storage temperatures. *J Food Eng* 87: 116-123.
26. Golding JB, Shearer D, McGlasson WB, Wyllie SG. 1999. Relationships between Respiration, Ethylene, and Aroma Production in Ripening Banana. *J Agric Food Chem*, 47: 1646-1651.
27. Pelayo C, Vilas-Boas EVB, Benichou M, Kader AA. 2003. Variability in responses of partially ripe bananas to 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol Tec*, 28: 75-85.
28. Amiot JM, Fleuriet A, Cheynier V, Nicolas J. 1997. Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruit and vegetables, in Tomas-Barberán, F.A., Robins, R.J. (Eds.), *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe, Clarendon Press, Oxford, pp. 51-85.
29. Kamdee C, Ketsa S, Doorn VWG. 2009. Effect of heat treatment on ripening and early peel spotting in cv. Sucrier banana. *Postharvest Biol Tec*, 52: 288-293.
30. Fan MH, Wang M, Zou P. 2005. Effect of sodium chloride on the activity and stability of polyphenol oxidase from Fuji apple. *J Food Biochem*, 29: 221-230.
31. Queiroz C, Lopes MLM, Fialho E, Valente-Mesquita L. 2008. Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Rev Int*, 24:361-375.
32. Nguyen TBT, Ketsa S, Doorn WGV. 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biol Tec* 30: 187-193.

## GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANILAN POLİMERİK YAPIDA ULTRAFİLTRASYON MEMBRANLARININ SERBEST YÜZEY ENERJİSİ ANALİZİNDE FARKLI YAKLAŞIMLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

İrem Damar Hüner\*, Hacı Ali Güleç

Trakya Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Edirne

Geliş tarihi / Received: 31.07.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 03.11.2015

Kabul tarihi / Accepted: 17.11.2015

### Özet

Bu çalışmanın amacı, polisülfon (PS) yapıda ultrafiltrasyon membranının serbest yüzey enerjisinin (SYE) hesaplanmasında kullanılan farklı yaklaşımların karşılaştırılmasıdır. PS membranının serbest yüzey enerjisi, Zisman Plot (ZP), Equation of State (ES), Fowkes/OWRK (GO), Wu (HO) ve vanOss-Chaudhury-Good (AB) yaklaşımları ile hesaplanmıştır. ZP ve HO yaklaşımları ile hesaplanan SYE sonuçları, diğer yaklaşımların sonuçlarından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $P<0.01$ ). GO yaklaşımında toplam SYE  $38.0\pm 2.3$  mN/m, AB yaklaşımında ise  $36.1\pm 1.8$  mN/m hesaplanmıştır. İki yaklaşımın dağılım ve polar bileşen sonuçları arasında da istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ( $P>0.01$ ). Ancak AB yaklaşımı yüzey enerjisinin elektron alıcı ( $1.0\pm 0.7$  mN/m) ve verici bileşenleri ( $12.8\pm 1.4$  mN/m) ile ilgili daha detaylı bilgi sağlamıştır. Sonuç olarak ayırım prosesleri süresince besleme çözeltilerinin karakteristik özelliklerinde değişimler meydana geldiği için, polimerik yapıda membran yüzey özelliklerinin üç farklı test sıvısıyla analiz edilmesinin daha doğru bir yaklaşım olduğu ortaya konulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Polisülfon, ultrafiltrasyon, membran, temas açısı, serbest yüzey enerjisi

## SURFACE FREE ENERGY ANALYSIS OF POLYMERIC ULTRAFILTRATION MEMBRANES USED IN FOOD INDUSTRY: A COMPARISON OF DIFFERENT APPROACHES

### Abstract

The aim of this study was to compare of different approaches used to calculate the surface free energy (SFE) of polysulfone ultrafiltration membrane. SFE of polysulfone membrane was calculated by Zisman Plot (ZP), Equation of State (ES), Fowkes/OWRK (GM), Wu (HM) and van Oss-Chaudhury-Good (AB) approaches. The results of ZP and HM approaches were significantly different than the others ( $P<0.01$ ). According to GM and AB methods, the total SFE values were  $38.0\pm 2.3$  and  $36.1\pm 1.8$  mN/m, respectively. No statistical difference observed between two approaches based on dispersive and polar components ( $P>0.01$ ). However, AB approach provided more detailed information about electron-acceptor ( $1.0\pm 0.7$  mN/m) and electron-donor ( $12.8\pm 1.4$  mN/m) components of the SFE. In conclusion, carrying out the analysis of surface characteristics of a polymeric membrane with three different test liquids used in AB approach have shown to be a more accurate way due to variation of characteristics of feed solutions during the separation processes.

**Keywords:** Polysulfone, ultrafiltration, membrane, contact angle, surface free energy

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ irem\_damar@hotmail.com,

☎ (+90) 284 226 1218/1315,

☎ (+90) 284 226 1225

## GİRİŞ

Son yıllarda membran teknolojileri gıda endüstrisi ve biyoteknoloji alanlarında ayırım ve saflaştırma süreçlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (1-3). Düşük sıcaklıkta çalışma olanağı, düşük enerji tüketimleri, proses hattına kolay entegrasyon ve çevre dostu özellikleri, geleneksel yöntemlere kıyasla bu tercihin en önemli nedenleridir (4, 5).

Membran ayırım süreçlerinde yaygın olarak polimerik yapıda ticari membranlar kullanılmaktadır (6). Ancak polimerik membranların doğal yapıları gereği oluşan membran kirlenmesi sonucu meydana gelen permeat akısındaki azalma, bu membranların özellikle gıda sanayinde kullanımını sınırlayan en önemli sorundur (7, 8). Membran kirlenmesi özellikle süreç verimliliğini olumsuz yönde etkilemekte ve oluşturduğu ek giderler nedeniyle ekonomik kayıplara neden olmaktadır (9). Membran kirlenmesi probleminin; membranın yüzey özellikleri, özellikle de yüzeyin hidrofobik karakteri ve pürüzlülüğü ile direkt ilgili olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (10-13). Bu nedenle, kullanılacak sürecin doğasına en uygun membran materyalinin seçimi ve dolayısıyla membran kirlenmesi probleminin en aza indirilmesi için ıslanma olayı temelinde materyalin yüzey özelliklerinin (yüzey enerjisi ve yüzey yükü) hızlı ve doğru bir şekilde saptanması ve gerekli ise hedefe yönelik modifikasyon yapılması son derece önemlidir (14). Bu bağlamda temas açısı ölçümleri, hem materyal yüzeyinin serbest enerjisi ve ıslatılabilirliği hakkında bilgi veren hem de yüzey yükünün belirlenmesini sağlayan bir yöntem olarak sıklıkla kullanılmaktadır (15). Temas açısı ölçümü kolay, kullanışlı ve duyarlı bir yöntemdir ve ilk kez 1805 yılında katı, sıvı ve gaz arasındaki denge göz önüne alınarak Thomas Young tarafından tanımlanmıştır (16).

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta \quad (1)$$

Bu eşitlikte;  $\theta$ : temas açısı;  $\gamma_{SV}$ : katı yüzey serbest enerjisi;  $\gamma_{SL}$ : sıvı yüzey serbest enerjisi;  $\gamma_{LV}$ : katı-sıvı ara yüzey serbest enerjisi değerlerini ifade etmektedir.

Temas açısı ölçümleri kullanılarak direkt olarak hesaplanamayan serbest yüzey enerjisi (SYE), Zisman Plot (ZP), Equation of State (ES), Fowkes/OWRK (Geometrik Ortalama, GO), Wu (Harmonik Ortalama, HO) ve vanOss-Chaudhury-Good (Asit-Baz, AB) olmak üzere beş farklı yaklaşımla dolaylı olarak hesaplanabilmektedir. Analiz edilen yüzeyin pürüzlü olması, temas açısı ölçümünde farklı yöntemlerin (asılı damla, tutuklanmış kabarcık vb.) kullanılması ve seçilen test sıvılarının farklılığı nedeniyle, genellikle SYE hesaplamalarında, hesaplamada kullanılan yaklaşıma bağlı olarak, farklı sonuçlar elde edilmektedir. Bununla birlikte, aynı temas açısı yöntemi, aynı test sıvısı ve aynı

materyal kullanılarak yapılan çalışmalarda da yaklaşımların farklı sonuç verdiği görülmektedir. Bunun temel nedeni kuramların kurulmasında yüzeye etki eden kuvvetlerin farklı şekillerde tanımlanması ve bu yönde çeşitli varsayımlar yapılmasıdır (17).

ZP yaklaşımı, SYE hesaplamak için kullanılmasına rağmen, temelinde düşük enerjili polimerlerin kritik yüzey gerilimlerini ( $\gamma_c$ ) tahmin edebilmek için tasarlanmış deneysel bir yaklaşımdır. Bu nedenle bir sıvının katı yüzeyini tamamen ıslatmadığı durumlarda doğru sonuçlar vermemektedir (18). ES yaklaşımında tek test sıvısı ile çalışılması ve SYE ile dağılım kuvvetlerin eşit öngörülmesi nedeniyle yaklaşımın tam olarak tanımlanamadığı ve eksik kaldığı kabul edilmektedir (19, 20). GO yaklaşımı literatürde sıklıkla kullanılmakta ve bu yaklaşımda, sıvı ile temas halindeki bir katının SYE dispersiyon ( $\gamma_{SV}^d$ ) ve polar ( $\gamma_{SV}^p$ ) bileşenlerin geometrik ortalaması olarak ifade edilmektedir. Temelinde yatan hipotez aynı olmakla birlikte, HO yaklaşımında geometrik ortalama yerine harmonik ortalama kullanılmaktadır (21). AB yaklaşımı, SYE'nin polar bileşenini ( $\gamma_{SV}^p$ ), asit ve baz olarak nitelendirilen iki kısma ayırarak, yüzeyin elektron alıcı ve verici özelliklerini tanımlamıştır. Bu nedenle son yıllarda SYE hesaplamalarında sıklıkla tercih edilen yaklaşım konumundadır (22). Literatürde farklı yapıdaki polimerik membranlarla yapılan çalışmalar incelendiğinde, SYE hesaplamak için farklı yaklaşımların kullanıldığı görülmektedir. Bu durum yapılan çalışmalar arasında farklılığa neden olarak, sonuçların bir bütünlük içerisinde değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu çalışmada, PS yapıdaki ultrafiltrasyon membranının yüzey özelliklerinin belirlenmesinde farklı yaklaşımlar arasındaki yorumsal farklılığın değerlendirilmesi ve yaklaşımlar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak ortaya koyulması amaçlanmıştır. Bu sayede, gıda endüstrisinde kullanılan farklı ayırım uygulamaları için polimerik materyal tercihinde, ıslanma olayı temelinde (serbest yüzey enerjisi ve yüzey yükü) yüzey özelliklerinin doğru bir şekilde tanımlanmasının önemi ortaya konulmuştur.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada kullanılan polisülfon (PS) yapısındaki ultrafiltrasyon membranı Mycrodyne NADIR® (Almanya) firmasından 5 m x 1 m boyutlarında temin edilmiştir. Temas açısı ölçümlerinde kullanılacak membranlar 76 mm x 20 mm boyutlarında kesilerek, cam bir destek üzerine sabitlenmiştir. Membrana ait spesifik özellikler Çizelge 1'de detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 1. Ticari membranın teknik özellikleri  
Table 1. Specific properties of commercial membrane

Ultrafiltrasyon Membrani Ultrafiltration Membrane	MWCO (kDa)	Membran materyali Material	Saf su akışı Pure Water Flux (L/m <sup>2</sup> h)
US100	100	PS	>300 <sup>1)</sup>

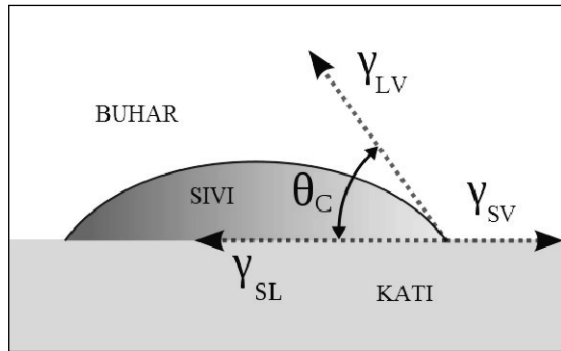
<sup>1)</sup>Çalışma koşulları: 0.7 bar, 20°C, 700rpm, PS: Polisülfon, MWCO: Molecular weight cut off

<sup>1)</sup>Test conditions: 0.7 bar, 20 °C, stirred cell 700rpm, PS: Polysulfone, MWCO: Molecular weight cut off

## Yöntem

### Temas Açısı Ölçümü

Temas açısı ölçümlerinde KSV AttensionTheta (Finlandiya) sistemi kullanılmıştır. Sistem, x-y-z düzleminde örnek hareketine izin veren bir gövde yanında, 60 fps hızında çekim yapabilen bir dijital kamera, otomatik sıvı dispenser, bilgisayar ve OneAttention yazılımından oluşmaktadır. Membran yüzeyinin temas açısı değerlerini ölçmek için asılı damla (sessile drop) tekniği kullanılmıştır. Temas açısı hesaplanan sistem sıvı (ultra saf su/formamid/diyodometan), katı yüzey ve hava içeren bir üçlü faz sisteminden oluşmaktadır (Şekil 1). Sistemde standart test sıvısı olarak, farklı yüzey enerjisi değerlerine sahip olan ultra saf su (PURELAB Option-Q), formamid (F7508, Sigma Aldrich) ve diyodometan (158429, Sigma Aldrich) (Çizelge 2) kullanılmıştır. Standart test sıvıları membran yüzeyine otomatik sıvı dispenser ile damla hacmi 2.5 µL ve damlatma hızı 2 µL/s olacak şekilde damlatılmıştır. Her bir yüzey için 10 farklı noktadan 1 dakikada 60 ölçüm alınmış ve bu ölçümlerin ortalaması derece cinsinden temas açısı olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar ortalama ve standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 1. Katı yüzey, sıvı damlası ve hava arasındaki üçlü faz dengesi

Figure 1. Contact angle in a three-phase system consisting of solid surface, liquid, and air

Çizelge 2. Kullanılan test sıvılarının OneAttention sisteminden alınan teknik özellikleri  
Table 2. Specific properties of the test liquids used in this study (from OneAttention software)

Test Sıvısı (Test Liquids)	$\gamma^{tot}$ [mN/m]	$\gamma^d$ ( $\gamma^{AW}$ ) [mN/m]	$\gamma^p$ ( $\gamma^{AB}$ ) [mN/m]	$\gamma^r$ [mN/m]	$\gamma^b$ [mN/m]	g [g/cm <sup>3</sup> ]	T [°C]	Ma [gmol]
Su (Water)	72.80	21.80	50.00	25.50	25.50	0.998	20.0	18.01
FA <sup>a</sup>	58.00	39.00	19.00	2.28	39.60	1.133	20.0	45.04
DIM <sup>b</sup>	50.80	50.80	0.00	0.00	0.00	3.325	25.0	267.84

<sup>a</sup>: Formamid, <sup>b</sup>: Diyodometan, <sup>a</sup>: Formamide, <sup>b</sup>: Diiodomethane

Ultra saf su, formamid ve diyodometan damlacıklarından elde edilen temas açısı değerleri ile yüzey enerjisinin toplam ( $\gamma^{tot}$ ), dağılım ( $\gamma^d$ ), polar ( $\gamma^p$ ), asit ( $\gamma^r$ ) ve baz ( $\gamma^b$ ) gibi bileşenlerin hesaplanması için 5 farklı SYE yaklaşımı kullanılmıştır.

### Serbest Yüzey Enerjisinin Hesaplanması

#### Zisman Plot Yaklaşımı (ZP)

Zisman ve ark. 1950 yılında düşük enerjili polimerlerin kritik yüzey gerilimlerini ( $\gamma_c$ ) tahmin edebilmek için deneysel bir yaklaşım geliştirmişlerdir (23). Bu yaklaşımın uygulanabilmesi için sıvının katıyı tamamen ıslatması gerekmektedir. Bu yaklaşımda, çalışılan katı üzerinde farklı yüzey enerjisine sahip organik sıvıların homolog serilerinin temas açısı ölçümü yapılarak, ölçülen temas açılarının kosinüslerine karşı sıvıların yüzey gerilimleri grafiğe geçirilmektedir. n-alkanlardan elde edilen temas açılarının kosinüs değerleri, sıvıların yüzey gerilimlerine karşı grafiğe geçirildiğinde doğrusal bir eğri elde edilmektedir.  $\cos\theta=1$  noktasında yani  $\theta=0^\circ$  iken bu doğrunun ekstrapolasyonu, o noktada sıvının yüzey gerilimine eşit olan katının kritik yüzey gerilimini ( $\gamma_c$ ) vermektedir (23, 24).

#### Equation of State Yaklaşımı (ES)

Neumann ve ark. (25) katı-sıvı arasındaki ara yüzey geriliminin ( $\gamma_{SL}$ ), kullanılan sıvı ve ideal katının yüzey gerilimlerinin bir fonksiyonu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Berthelot 19. yy'ın sonlarında ara yüzeydeki adhezyon işinin ( $W_{SL}$ ) katının kohezyon işi ( $W_{SS}$ ) ile sıvının kohezyon işinin ( $W_{LL}$ ) geometrik ortalamasına eşit olduğunu öngörmüştür (26). Buna göre adhezyon işi aşağıdaki eşitlikle tanımlanmıştır;

$$W_{SL} = \sqrt{W_{SS}W_{LL}} \quad (2)$$

Kohezyon işi ve Eşitlik (2)  $W_{SL}$  birleştirildiğinde aşağıdaki gibi tanımlanır;

$$W_{SL} = 2\sqrt{\gamma_{SV}\gamma_{LV}} \quad (3)$$

Eşitlik (3) ile Young-Dupree eşitliği birleştirildiğinde  $\gamma_{SL}$  aşağıdaki denklem ile hesaplanmaktadır;

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} - 2\sqrt{\gamma_{SV}\gamma_{LV}} \quad (4)$$

Girifalco ve Good (27), ES denklemine ara yüzey etkileşimlerini daha iyi karakterize etmek için  $\Phi$  parametresini eklemiştir ve aynı tip etkileşime sahip yüzeylerde  $\Phi = 1$  olarak kabul edilmiştir. Neumann ve ark.  $\Phi$  parametresini açıklamak için aşağıdaki eşitliği türetmişlerdir (28, 29);

$$\Phi = e^{-\beta(\gamma_{LV}-\gamma_{SV})^2} \quad (5)$$

Yaklaşımın moleküller arası etkileşimleri içermesi amacıyla aşağıdaki eşitlik geliştirilmiştir.

$$\gamma_{SL} = \frac{(\sqrt{\gamma_{SV}-\gamma_{LV}})^2}{1-0.015\sqrt{\gamma_{SV}\gamma_{LV}}} \quad (6)$$

Li ve Neuman (28) minimum  $\gamma_{SL}$  değerinin negatif değer alamayacağını göstermişlerdir. Sıfırın altında değer almaması için Eşitlik (6) aşağıdaki şekilde modifiye edilmiştir;

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} - [2(\sqrt{\gamma_{SV}\gamma_{LV}})\exp - \psi(\gamma_{LV} - \gamma_{SV})^2] \quad (7)$$

Bu eşitlikte  $\psi = 0.000115\left(\frac{m^2}{mJ}\right)^2$  değerini almaktadır

ve Young-Dupree eşitliği birleştirildiğinde ES yaklaşımının ana denklemi elde edilmektedir.

$$\cos \theta = -1 + 2\sqrt{\frac{\gamma_{SV}}{\gamma_{LV}}}\exp - \beta(\gamma_{LV} - \gamma_{SV})^2 \quad (8)$$

$\beta = 0.0001247$ 'dir ve deneysel olarak belirlenmiştir (30).

#### Fowkes/OWRK (Geometrik Ortalama) Yaklaşımı (GO)

Fowkes yaklaşımına göre, SYE'si birbiri ile ilişkili olmayan spesifik etkileşimlerin toplamı olarak tanımlanmıştır (31).

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SV}^d + \gamma_{SV}^p + \gamma_{SV}^h + \gamma_{SV}^i + \gamma_{SV}^{ab} + \gamma_{SV}^o \quad (9)$$

Eşitlikte, d; dispersiyon, p; polar, h; hidrojen bağı, i; indüksiyon, ab; asit-baz etkileşimleri ve o; bunların dışında kalan bütün etkileşimleri ifade etmektedir.

Fowkes'a (32) göre dispersiyon etkileşimler elektron dipol dalgalanmalarından kaynaklanan London etkileşimleri ile ilgilidir ve yaklaşım sadece dispersiyon etkileşimlerinin etkili olduğu bir ara yüzün serbest enerjisini bulmak üzerine kurulmuştur. Katı sıvı ara yüzün SYE'si adhezyon kuvvetlerinin geometrik ortalamasını kullanılarak hesaplanmaktadır.

Katı ile sıvı arasındaki adhezyon işinin dispersiyon bileşeni Eşitlik (10) ile ifade edilmektedir.

$$W_{SL}^a = 2\sqrt{\gamma_{SV}^d\gamma_{LV}^d} \quad (10)$$

London dispersiyon kuvvetlerinden etkilenen ara yüz gerilimi Eşitlik (11) ile tanımlanmıştır.

$$\gamma_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} - 2\sqrt{\gamma_{SV}^d\gamma_{LV}^d} \quad (11)$$

Eşitlik (11) ve Young-Dupree eşitliği birleştirildiğinde Fowkes-Young eşitliği elde edilmektedir.

$$\cos \theta = -1 + 2\sqrt{\gamma_{SV}^d}\left(\sqrt{\frac{\gamma_{LV}^d}{\gamma_{LV}}}\right) \quad (12)$$

Owens ve Wendt (33), Fowkes yaklaşımını temel alarak, Eşitlik (9)'daki dispersiyon ( $\gamma_{SV}^d$ ) kuvvetlerinin dışındaki bütün etkileşimleri polar ( $\gamma_{SV}^p$ ) etkileşim gibi varsayarak yeni bir yaklaşım geliştirmişlerdir. Bu yaklaşıma göre, katının yüzey gerilimi ( $\gamma_{SV}^n$ ) ve ( $\gamma_{SV}^p$ ) bileşenlerinin toplamından oluşmaktadır. Sıvı ile temas halindeki bir katının adhezyon serbest enerjisi dispersiyon ve polar bileşenlerin geometrik ortalaması ile ifade edilmektedir. Katı-sıvı sistem için dispersiyon ve polar kuvvetlerinden etkilenen ara yüz gerilimi tanımlanmakta ve ara yüz gerilimi Young eşitliği ile birleştirildiğinde OWRK eşitliği elde edilmektedir.

$$0.5\gamma_{LV}(1 + \cos \theta) = \sqrt{\gamma_{SV}^d\gamma_{LV}^d} + \sqrt{\gamma_{SV}^p\gamma_{LV}^p} \quad (13)$$

#### Wu (Harmonik Ortalama) Yaklaşımı (HO)

Wu (34) Owens ve Wendt'in teorisini kabul etmiş fakat geometrik ortalama yerine harmonik ortalama kullanmıştır. Eşitlik Young-Dupree eşitliği ile birleştirildiğinde Wu eşitliği oluşmaktadır.

$$0.25\gamma_{LV}(1 + \cos \theta) = \left[\frac{\gamma_{SV}^d\gamma_{LV}^d}{\gamma_{SV}^d+\gamma_{LV}^d} - \frac{\gamma_{SV}^p\gamma_{LV}^p}{\gamma_{SV}^p+\gamma_{LV}^p}\right] \quad (14)$$

Eşitlik (13 ve 14)'ün çözülmesi için yüzey gerilimi bilinen 2 test sıvısı ile çalışılmakta ve sıvıların dispersif ve polar bileşen değerleri eşitlikte yerine konularak katının SYE değerine ulaşılmaktadır.

#### vanOss-Chaudhury-Good (Asit-Baz) Yaklaşımı (AB)

Bu yaklaşım sıvı ve katı ara yüzündeki moleküller arasındaki elektron alma verme etkileşimleri göz önüne alınarak vanOss, Good ve Chaudhury tarafından ileri sürülmüştür (35). Bu yaklaşıma göre, katının yüzey gerilimi 2 bileşen arasındaki Lifshitz-van der Waals kuvvetlerinin  $[(\gamma)^{LW}]$  ve Lewis asit-baz etkileşimlerinin  $[(\gamma)^{AB}]$  toplamıdır (Eşitlik 15).  $\gamma^{LW}$  London dispersiyon kuvvetleri; dipol-dipol, Debye ve Keesom etkileşimleri gibi apolar etkileşimleri temsil ederken,  $\gamma^{AB}$  asit-baz etkileşimleri; hidrojen bağı,  $\pi$  bağı ve ligand oluşumları gibi polar etkileşimleri temsil etmektedir (36, 37).

$$\gamma_{SV}^{TOT} = \gamma_{SV}^{LW} + \gamma_{SV}^{AB} \quad (15)$$



Temas açısı ölçümü için kullanılan her iki faz içinde  $\gamma_{SV}^{AB}$  (polar bileşen) kendi içinde elektron alıcı (Lewis asit,  $\gamma^+$ ) ve elektron verici (Lewis baz,  $\gamma^-$ ) bileşen olmak üzere ikiye ayrılmaktadır ve bu bileşenlerin kohezyon kuvvetlerinin geometrik ortalaması asit-baz bileşenlerinin SYE'ni oluşturmaktadır (Eşitlik 16).

$$\gamma_{SV}^{TOT} = \gamma_{SV}^{LW} + \gamma_{SV}^{AB} \quad (16)$$

Katı sıvı arayüzey gerilimini ifade eden eşitlik, Young-Dupre eşitliği ile birleştirildiğinde asit-baz eşitliği ortaya çıkmaktadır.

$$\gamma_{LV}(1 + \cos \theta) = 2 \left[ \sqrt{\gamma_{SV}^{LW} \gamma_{LV}^{LW}} + \sqrt{\gamma_{SV}^+ \gamma_{LV}^-} + \sqrt{\gamma_{SV}^- \gamma_{LV}^+} \right] \quad (17)$$

Asit-baz eşitliğinin çözülebilmesi için katının yüzey gerilim bileşenlerinin  $\gamma_{SV}^+$ ,  $\gamma_{SV}^-$ ,  $\gamma_{SV}^{LW}$  bulunması gerekmektedir. Bu nedenle özellikleri bilinen en az 3 standart test sıvısına ihtiyaç duyulmaktadır. Temas açısı ölçümlerinde genellikle standart test sıvısı olarak yüzey gerilim bileşenleri bilinen, diiodometan gibi Lewis asit etkileşimi göstermeyen (dispersif) monopolar, formamid gibi yüksek oranda bazik, düşük oranda asidik karakter gösteren bipolar ve asit-baz karakteri eşit olarak barındıran su gibi sıvılar kullanılmaktadır (37, 38).

### İstatistik Değerlendirme

SYE hesaplamak için kullanılan yaklaşımların ortalamalarını birbirleriyle karşılaştırmak amacıyla ANOVA Tek Yönlü Varyans analizi kullanılmıştır. Yaklaşımlar arasında farklılığın önemi TUKEY çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Analizler Minitab (Release, 14.2) istatistik programında gerçekleştirilmiştir.

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

PS yapıda US100 kodlu ticari membranın su, diiodometan ve formamid temas açısı değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Bu sonuçlar US100 membranın kısmen hidrofobik ( $\theta > 65^\circ$ ) bir karakterde olduğunu göstermektedir. Metsamuuronen ve Nyström (39) aynı firmadan sağlanan US100 PS membranın su temas açısını asılı damla metodu kullanarak  $62 \pm 2^\circ$  olarak belirlemişken, Wavhal (40) farklı bir üreticiden sağladığı US100 membranın su temas açısını aynı yöntemle  $85^\circ$  olarak ölçmüştür. Muppala ve ark. (41) PS yapıda membranın su temas açısı değerini yaklaşık  $70^\circ$  olarak bildirmişlerdir.

Farklı kaynaklardan temin edilen polimerik membranların ıslanma özelliklerinde tespit edilen bu farklılığın nedenleri, üretim şekilleri ve üretimde kullanılan çözügen, stabilizatör ve katkı çeşit ve türlerindeki farklılıklar olarak düşünülmektedir.

Çizelge 3. US100 PS membrana ait temas açısı ölçümleri  
Table 3. Contact angle measurements of US100 PS membrane

Test sıvıları Test Liquids	Temas Açısı ( $\theta^\circ$ ) Contact Angle ( $\theta^\circ$ )	
	Ortalama Mean value	Standart Hata Standard Deviation
Ultra saf su Ultra pure water	71.00	6.46
Formamid/Formamide	55.73	5.76
Diiodometan/Diiodomethane	59.42	2.74

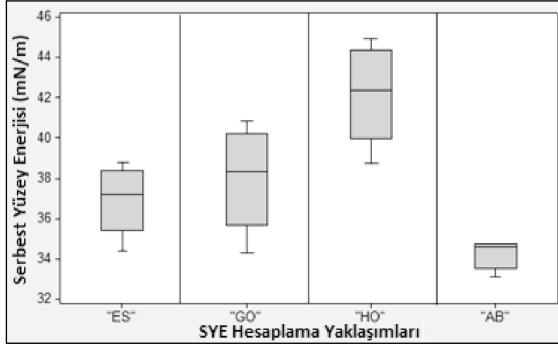
Çizelge 3'deki temas açısı ölçümleri kullanılarak, 5 farklı yaklaşımla SYE ve SYE bileşenleri hesaplanmıştır (Çizelge 4). ZP yaklaşımıyla elde edilen SYE değeri, diğer yaklaşımlara kıyasla daha düşük çıkmıştır. Wu (42) yapmış olduğu bir çalışmada, ZP yaklaşımıyla SYE değerinin %10-15 oranında daha düşük hesaplandığını göstermiştir. Bu durumun temel nedeni, yaklaşımda SYE'ne benzeyen bir ifade olan "kritik yüzey geriliminin ( $\gamma_c$ )" hesaplanmasıdır.  $\gamma_c$  katının yüzey karakteristiğini belirleyen deneysel bir veri iken, SYE termodinamik bir parametredir (18). Bu nedenle sonuçlar SYE'ni ifade etmemekte ve deneylerde homolog n-alkan serisi kullanılmadığı için yüksek standart hata ( $\pm 18.8$ ) oluşmaktadır. Standart hatanın diğer ölçümlere göre 2 kat yüksek çıktığı Gindl ve ark. (17) tarafından da ifade edilmiştir. Bu durum, yaklaşımın düşük enerjili yüzeylerde polar olmayan sıvılar ile çalışıldığında katının yüzey karakteristiğiyle ve ıslanılabilirlik ile ilgili doğru sonuçlar vermesiyle açıklanabilmektedir (22). Diğer yaklaşımlarla karşılaştırıldığında ZP yaklaşımının en önemli dezavantajları deney prosedürünün fazla zaman alması (23) ve teorik alt yapısının yetersiz olması nedeniyle SYE'nin polar ve dispersif bileşenlerinin tahminini olanaksız kılmasıdır (17).

Çizelge 4 incelendiğinde, ES, GO, HO ve AB yaklaşımlarının sonuçlarının birbirine yakın olmasına rağmen,  $\gamma^{tot}$  en yüksek HO yaklaşımında bulunmuştur. Bu sonuca göre HO yaklaşımı ANOVA tek yönlü varyans analizine göre diğer yaklaşımlardan farklıdır ( $P < 0.01$ ) (Şekil 2). Literatür

Çizelge 4. US100 PS membrana ait farklı yaklaşımlarla hesaplanan SYE ve SYE bileşenleri  
Table 4. The surface free energy (SFE) and SFE components of US100 PS membrane calculated with different approaches

Yaklaşımlar Approaches	$\gamma^{tot}$ [mN/m]	$\gamma^d$ ( $\gamma^{LW}$ ) [mN/m]	$\gamma^o$ ( $\gamma^{AB}$ ) [mN/m]	$\gamma^-$ (Asit) [mN/m]	$\gamma^+$ (Baz) [mN/m]
ZismanPlot (ZP)	23.6 $\pm$ 18.8	-	-	-	-
Equation of State (ES)	37.0 $\pm$ 1.5	37.0 $\pm$ 1.5	-	-	-
Fowkes/OWRK (GO)	38.0 $\pm$ 2.3	27.9 $\pm$ 1.9	10.2 $\pm$ 2.4	-	-
Wu (HO)	42.2 $\pm$ 2.2	28.3 $\pm$ 1.7	13.9 $\pm$ 2.5	-	-
vanOss-Chaudhury-Good (AB)	36.1 $\pm$ 1.8	28.9 $\pm$ 1.6	7.2 $\pm$ 1.1	1.0 $\pm$ 0.7	12.8 $\pm$ 1.4

verileri incelendiğinde, HO yaklaşımından elde edilen sonuçların genel olarak polimerik materyallerin SYE'si ve ıslanabilirliği konusunda yaygın olarak kullanılmadığı vurgulanmıştır (43).



Şekil 2. 5 farklı yaklaşımla hesaplanan SYE'nin ortalama ve standart hatalarının kutu-serim gösterimi.

Figure 2. Box and whisker plot of mean value and standard deviation of SFE calculated with 5 different approaches

ANOVA analizine göre, toplam SYE değerleri açısından ES, GO ve AB yaklaşımları arasında fark bulunmamaktadır ( $P>0.01$ ). Fakat ES yaklaşımı  $\gamma^{\text{ot}}$  bileşeni ile  $\gamma^{\text{d}}$  bileşenini eşit olarak kabul etmektedir ve bu durum yaklaşımın en büyük problemi olarak bilinmektedir (17). Yaklaşımın prensibinde sadece bir sıvı kullanılmaktadır ve hangi sıvı kullanılırsa kullanılsın toplam SYE aynı çıkmaktadır. Diğer teorilerle karşılaştırıldığında tek sıvı kullanan tek teorinin bu olduğu görülmektedir. Bu nedenle bu teori literatürde yoğun olarak eleştirilmiş ve yaklaşımın termodinamik açıdan doğru olmadığı gösterilmiştir (19, 20). Yaklaşımda elde edilen eşitlik sonucunda alınan sonuç ile deneysel veriler arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Neumann ve ark. (28) bu yaklaşımın temelini atarken yüzeyde oluşan hidrojen bağları ve asit-baz etkileşimleri gibi kimyasal etkileri göz ardı etmişlerdir. Bütün yüzey gerilimine etki eden kuvvetleri van der Waals etkileşimleri olarak öngörmüşlerdir. Bu nedenle yaklaşım tam olarak tamamlanmamış kabul edilmekte ve yüzey gerilimi hesaplamaları için yaklaşımın kullanılması tavsiye edilmemektedir (22).

GO ve AB yaklaşımında SYE'nin  $\gamma^{\text{ot}}$ ,  $\gamma^{\text{d}}$  ve  $\gamma^{\text{p}}$  değerleri arasında istatistiksel olarak fark olmamasına rağmen ( $P>0.01$ ), AB yaklaşımı polar bileşen bazında US100 membran yüzeyinin elektron alıcı ( $1.0\pm 0.7$  mN/m) ve verici bileşenleri ( $12.8\pm 1.4$  mN/m) ile ilgili detaylı bilgi vermiştir. Literatür incelendiğinde, bir materyalin SYE'nin hesaplanması için en yaygın kullanılan yaklaşımın GO yaklaşımı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, güçlü polar ya da hidrojen bağı etkileşimlerinin etkin olduğu katı yüzeylerde bu yaklaşımın doğru olmadığı ayrıca öne sürülmektedir (24). Yani yaklaşım ara

yüzeydeki asit-baz etkileşimlerini göz ardı ettiği için eksik olarak kabul edilmektedir (22). Zuove ark. (44) hidrofobik karakterdeki polivinilidenflorid (PVDF) membranın yağ kirlenmesine karşı olan direncini artırmak amacıyla hidrofilik yönde yüzey modifikasyonu yaptıkları bir çalışmada, işlem görmemiş membranın toplam SYE'ni 21.71 mN/m olarak hesaplamışlardır. Hidrofilik modifikasyon sonucunda bu değer 54.23 mN/m olarak bulunmuştur. Su teması açısındaki değişim ise  $120^\circ$ 'den  $5^\circ$ 'ye kadar azalma şeklinde rapor edilmiştir. Yani bir yüzeyin hidrofilisite düzeyi arttığında toplam SYE'nin de yükseldiği şeklinde yorumlanabilir. Ancak tam ve doğru bir değerlendirme yapmak için, SYE'nin elektron alıcı ve verici bileşenlerinin polarite düzeyine payasal katkısı matematiksel olarak değerlendirilmelidir. Gindl ve ark. (17) ahşap bir yüzeyin SYE'sini hesaplamak için 5 farklı hesaplama yaklaşımını kullanmıştır. Sonuç olarak AB yaklaşımının, doğal bir polimer olan ve selüloz, lignin ve hemiselüloz türevlerinden oluşan ahşabın kimyasal kompozisyonu hakkında diğer yaklaşımlara göre daha detaylı bilgi verdiği ve ahşap yüzeylerin kaplama (adhezyon) özelliklerini belirtmek için en uygun yöntem olduğu belirtilmiştir. Kompozit yapıda PVDF/PES membranın kirlenme direncinin artırılmasına yönelik yapılan bir çalışmada, işlem görmemiş membrana ait su teması açısı  $69.25\pm 2.02^\circ$  değerinden  $58.81\pm 1.57^\circ$  düşürülmüştür. Modifikasyon sonucunda toplam SYE ve SYE'nin dağılım bileşeni değerinde önemli bir değişim kaydedilemezken, SYE'nin baz karakterinde ( $\gamma$ ) 2 kat artış sağlanmıştır. Bu nedenle membranın yüksek elektron alıcı bileşenler içerdiği ve hidrofilik olduğu belirtilmiştir (45).

## SONUÇ

Ticari US100 membran için farklı yaklaşımlarla hesaplanan SYE sonuçları kıyaslamalı olarak incelendiğinde, AB yaklaşımının, yüzeyin asit/baz etkileşimleri ile ilgili daha detaylı veri sağladığı saptanmıştır. ZP yaklaşımı ile hesaplanan değerlerin, yaklaşımda termodinamik bir parametre olan SYE yerine deneysel bir parametre olan kritik yüzey gerilimi değerinin temel alınması nedeniyle, göreceli olarak daha düşük çıktığı belirlenmiştir. ES yaklaşımında ise toplam SYE'nin sadece dağılım bileşeninden oluştuğunun kabul edilmesi, yaklaşımın kullanımını sınırlandırmıştır. HO yaklaşımı ile elde edilen toplam SYE değeri diğer yaklaşımlara kıyasla daha yüksek bulunmuş ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P<0.01$ ) gösterilmiştir. GO ve AB yaklaşımlarının birbirlerine benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır. Yaklaşımlar arasındaki belirgin farklılıkların sadece temas açısı yönteminin uygulama koşullarına bağlı olmadığı; ayrıca kullanılan matematiksel formüller ve varsayımlara

bağlı olduğu gösterilmiştir. Bu sonuca ek olarak, SYE değerlerinde ortaya çıkan farklılığın bir diğer önemli nedeni de yöntemde kullanılan test sıvılarının çeşidi ve özellikleridir. AB yaklaşımında yüzey karakteristikleri birbirinden farklı en az üç test sıvısının kullanılması nedeniyle, SYE hakkında daha detaylı bilgi sağlanması mümkün olmuştur. Bu sayede SYE'nin polar bileşeni asit ve baz olmak üzere ayrıca iki bileşen üzerinden değerlendirilmiş ve bu değerlendirmenin de ticari polimerik membranların ıslanma olayı temelinde yüzey karakterizasyonunda daha doğru ve kesin sonuç verdiği saptanmıştır.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK (112O836) ve TUBAP (2014/75) tarafından desteklenen projelerin bir bölümünü oluşturmaktadır.

### KAYNAKLAR

- Baldasso C, Barros TC, Tessaro IC. 2011. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278 (1): 381-386.
- Onsekizoglu P. 2013. Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *J Membr Sci*, 442 (1): 264-271.
- Schmidt A, Schomacker R. 2007. Partial hydrogenation of sunflower oil in a membrane reactor. *J Mol Catal A: Chem*, 271 (1-2): 192-199.
- Lawrence ND, Kentish SE, O'Connor AJ, Barber AR, Stevens GW. 2008. Microfiltration of skim milk using polymeric membranes for casein concentrate manufacture. *Sep Purif Technol*, 60 (3): 237-244.
- Mirza S. 2008. Reduction of energy consumption in process plants using nanofiltration and reverse osmosis. *Desalination*, 224 (1-3): 132-142.
- Mulder M. 1996. *Basic Principles of Membrane Technology*. 2<sup>nd</sup> Edition, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 564 p.
- Argüello MA, Alvarez S, Riera FA, Alvarez R. 2002. Enzymatic cleaning of inorganic ultrafiltration membranes fouled by whey proteins. *J Agr Food Chem*, 50 (7): 1951-1958.
- Madaeni SS, Tavakolian HR, Rahimpour F. 2011. Cleaning optimization of microfiltration membrane employed form milk sterilization. *Separ Sci Technol*, 46 (4): 571-580.
- Madaeni SS, Mansourpanah Y. 2004. Chemical cleaning of reverse osmosis membranes fouled by whey. *Desalination*, 161 (1): 13-24.
- Xiao K, Wang X, Huang X, Waite TD, Wen X. 2011. Combined effect of membrane and foulant hydrophobicity and surface charge on adsorptive fouling during microfiltration. *J Membr Sci*, 373 (1-2): 140-151.
- Rahimpour A. 2011. Preparation and modification of nano-porous polyimide (PI) membranes by UV photo-grafting process: Ultrafiltration and nanofiltration performance. *Korean J Chem Eng*, 28 (1): 261-266.
- Juang R-S, Huang C, Hsieh C-L. 2014. Surface modification of PVDF ultrafiltration membranes by remote argon/methane gas mixture plasma for fouling reduction. *J Taiwan Inst Chem Eng*, 45 (5): 2176-2186.
- Rahimpour A, Madaeni SS, Amirinejad M, Mansourpanah Y, Zereszki S. 2009. The effect of heat treatment of PES and PVDF ultrafiltration membranes on morphology and performance for milk filtration. *J Membr Sci*, 330 (1-2): 189-194.
- Zhang M, Nguyen QT, Pinga Z. 2009. Hydrophilic modification of poly (vinylidene fluoride) microporous membrane. *J Membr Sci*, 327 (1-2): 78-86.
- Gulec HA, Sarıoğlu K, Mutlu M. 2006. Modification of food contacting surfaces by plasma polymerization technique. Part I. Determination of hydrophilicity, hydrophobicity and surface free energy by contact angle method. *J Food Eng*, 75 (2): 187-195.
- Young T. 1805. An Essay on the Cohesion of Fluids. *Philos T Roy Soc A*, 95: 65-87.
- Gindl M, Sinn G, Gindl W, Reiterer A, Tschegg S. 2001. A comparison of different methods to calculate the surface free energy of wood using contact angle measurements. *Colloid Surface A*, 181 (1-3): 279-287.
- David R, Neumann AW. 2014. Contact Angle Patterns on Low-Energy Surfaces. *Adv Colloid Interfac*, 206: 46-56.
- Siboni S, Volpe CD, Maniglio D, Brugnara M. 2004. The solid surface free energy calculation II. The limits of the Zisman and of the "equation-of-state" approaches. *J Colloid Interf Sci*, 271 (2): 454-472.
- Morrison ID. 1989. On the Existence of an Equation of State for Interfacial Free Energies. *Langmuir*, 5 (2): 540-543.
- Gancarz I, Pozniak G, Bryjak M. 2000. Modification of polysulfone membranes 3. Effect of nitrogen plasma. *Eur Polym J*, 36 (8): 1563-1569.
- Erbil HY. 2014. The debate on the dependence of apparent contact angles on drop contact area or three-phase contact line: A review. *Surf Sci Rep*, 69 (4): 25-36.
- Zisman WA. 1964. Relation of the Equilibrium Contact Angle to Liquid and Solid Constitution In: *Contact Angle, Wettability, and Adhesion*, Frederick M. Fowkes (chief ed), Volume 43, ACS Adv. Chem. Ser., Washington, DC, pp. 1-51.
- Zenkiewicz M. 2007. Methods for the calculation of surface free energy of solids. *J Achiev Mater Manuf Eng*, 24 (1): 137-145.

25. Neumann AW, Good RJ, Hope CJ, Sejpal M. 1974. An equation of state approach to determine surface tensions of low-energy solids from contact angles. *J Colloid Interf Sci*, 49 (2): 291-304.
26. Berthelot M. 1898. Sur le mélange de gaz. *Compt Rend Acad Sci*, 126: 1703-1706.
27. Girifalco LA, Good RJ. 1957. A Theory for the estimation of surface and interfacial energies. I. Derivation and application to interfacial tension. *J Phys Chem*, 61 (7): 904-909.
28. Li D, Neumann AW. 1990. A reformulation of the equation of state for interfacial tensions. *J Colloid Interf Sci*, 137 (1): 304.
29. Spelt JK, Li D, Neumann AW. 1992. The Equation of State Approach to Interfacial. In: *Tension Modern Approach of Wettability: Theory and Application*, Schrader ME and Loeb GI (chief ed), Chapter 5, Plenum Press, New York, pp. 101-141.
30. Kwok D, Neumann AW. 1999. Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Adv Colloid Interfac*, 81 (3): 167-249.
31. Fowkes FM. 1964. Attractive forces at interfaces. *Ind Eng Chem*, 56 (12): 40-52.
32. Fowkes FM. 1987. Role of acid-base interfacial bonding in adhesion. *J Adhes Sci Technol*, 1 (1): 7-27.
33. Owens DK, Wendt RC. 1969. Estimation of the surface free energy of polymers. *J Appl Polym Sci*, 13 (8): 1741-1747.
34. Wu W. 1994. Linkage Between  $\zeta$ -potential and Electron Donicity of Charged Polar Surfaces-the Mechanisms of Flocculation and Repeptization of Particle Suspensions, Ph.D. Dissertation, State University of New York at Buffalo, 460 p.
35. vanOss CJ, Chaudhury MK, Good RJ. 1988. Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems. *Chem Rev*, 88 (6): 927-941.
36. Cantin S, Bouteau M, Benhabib F, Perrot F. 2006. Surface free energy evaluation of well-ordered Langmuir Blodgett surfaces Comparison of different approaches. *Colloid Surface A*, 276 (1-3): 107-115.
37. Rieke PC. 1997. Application of Van Oss-Chaudhury-Good theory of wettability to interpretation of interfacial free energies of heterogeneous nucleation. *J Cryst Growth*, 182 (3-4): 472-484.
38. Hansen FK. 2004. The Measurement of Surface Energy of Polymers by Means of Contact Angles of Liquids on Solid Surfaces, A short overview of frequently used methods. *Surf Energ Polym*, 1-11p.
39. Metsämuuronen S, Nyström M. 2009. Enrichment of  $\alpha$ -lactalbumin from diluted whey with polymeric ultrafiltration membranes. *J Membr Sci*, 337 (1-2): 248-256.
40. Wavhal DS, Fisher ER. 2005. Modification of polysulfone ultrafiltration membranes by CO<sub>2</sub> plasma treatment. *Desalination*, 172 (2): 189-205.
41. Muppalla R, Jewrajka SK, Reddy AVR. 2015. Fouling resistant nanofiltration membranes for the separation of oil-water emulsion and micro pollutants from water. *Sep Purif Technol*, 143: 125-134.
42. Wu S. 1979. Surface tension of solids: An equation of state analysis. *J Colloid Interf Sci*, 71 (3): 605-609.
43. Roudman AR, DiGiano F. 2000. Surface energy of experimental and commercial nanofiltration membranes: effects of wetting and natural organic matter fouling. *J Membr Sci*, 175 (1): 61-73.
44. Zuo G, Wang R. 2013. Novel membrane surface modification to enhance anti-oil fouling property for membrane distillation application. *J Membr Sci*, 447: 26-35.
45. Zhang J, Wang Q, Wang Z, Zhu C, Wu Z. 2014. Modification of poly(vinylidene fluoride)/polyethersulfone blend membrane with polyvinylalcohol for improving anti fouling ability. *J Membr Sci*, 466: 293-301.

## HIZLI *Escherichia coli* TANIMLANMASINDA ULTRAVİOLE DESTEKLİ İNDOL VE MUG ESASLI TESTLERİN KIYASLANMASI

Gizem Özlük Çilak\*, Hilal Selamoğlu, Derya Dülger, Fadime Kurukama,  
Ceren Çağlar, Doszhan Assylbekov, Kadir Halkman

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı, Ankara

Geliş tarihi / Received: 20.08.2015  
Kabul tarihi / Accepted: 01.09.2015

### Özet

Bu çalışmada önceki ISO standardında (ISO 9308-1:2000) belirtilen UV destekli indol esaslı hızlı *E. coli* testi ile Bactident *E. coli* testi (MUG esaslı hızlı test) karşılaştırılmıştır. Bu amaçla çeşitli gıda örneklerinden izole edilen ve tanısı yapılmış olan 46 adet *E. coli* izolatu, 4 referans *E. coli* suşu ile koliform grup bakterilerin geliştirildiği besiyerlerinde tipik koliform kolonisi oluşturmaya da; gelişerek koloni oluşturabilen birer adet *Salmonella* Enteritidis ve *Klebsiella oxytoca* olmak üzere toplam 52 *Enterobacteriaceae* üyesi bakteri her iki yöntemle analiz edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre MUG esaslı hızlı test %100 doğru sonuç verirken UV destekli indol esaslı testte %94.1 doğru sonuç alınmıştır. *K. oxytoca*, bu testte soruna neden olmuştur. Laboratuvar koşullarında Bactident *E. coli* kitinin kullanılması UV destekli indol testine kıyasla çok daha hızlı ve kolay olarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Escherichia coli*, MUG, indol, hızlı tanımlama

## THE COMPARISON OF RAPID *Escherichia coli* TESTS BASED ON MUG AND ULTRAVIOLET SUPPORTED INDOLE

### Abstract

In this study, Bactident *E. coli* (rapid test based on MUG) and indole test supported by UV which was indicated in previous ISO method (ISO 9308:2000) was compared. Both methods were applied on 46 *E. coli* strains which were isolated from different food samples, 4 reference *E. coli* strains, 2 non-coliform bacteria as *Salmonella* Enteritidis and *Klebsiella oxytoca* which can be grown on the coliform media. 46 *E. coli* isolates, isolated from various foods and identified by MUG and indole tests. According to results accuracy of indole test supported by UV was determined as 94.1% whereas it was found 100% for Bactident *E. coli*. *K. oxytoca* has caused problem in UV supported indole test. In laboratory conditions, using Bactident *E. coli* is more rapid and easy than UV supported indole test.

**Keywords:** *Escherichia coli*, MUG, indole, rapid identification

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gizem.ozluk@gmail.com,

☎ (+90) 312 203 3300/3625,

☎ (+90) 312 317 8711

## GİRİŞ

Kontamine olmuş içme suyu, gelişmekte olan ülkelerin yanı sıra gelişmiş ülkelerde de sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1). İçme ve kullanma sularının hijyenik kalitesini belirlemek için kullanılan uluslararası yöntemlerin çoğu membran filtrasyon yöntemi ile koliform grup bakteri ve *Escherichia coli* analizi üzerine kurulmuştur (2). Avrupa Birliği'nde içme ve kullanma sularının yasal mikrobiyolojik analizinde de koliform ve *E. coli* analizi ağırlıklı olarak yapılmaktadır (3).

*E. coli*, diğer koliform grup bakterilerden farklı olarak spesifik olarak fekal kontaminasyon indikatörüdür. *E. coli* analizine yönelik yöntemlerin birçoğunda önce koliform bakteriler belirlenir, bunların içinde *E. coli* olanlar araştırılır. Bu analizlerin yine birçoğunda 44.5 °C'ta 24 sa inkübasyon sonunda triptofandan indol oluşturma testi ile  $\beta$ -D-glucuronidase (MUGaz) enzim varlığının gösterilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır (4). Koliform grup bakteriler içinde indol pozitif ve MUGaz enzimine sahip tek tür *E. coli* olmakla birlikte *E. coli* suşları içinde nadir de olsa (%1) indol negatif olanlar olduğu gibi (5) *E. coli* O157:H7 serotipinde MUGaz enzimi yoktur (6). Avrupa Birliği İçme Suları Yönergesi, sularda koliform ve *E. coli* analizinin ISO 9308-1'e göre yapılması gerektiğini belirtmiştir (2). TS EN ISO 9308-1 numaralı standart 2014 yılı sonunda revize edilmiş (7) ve koliform grup ve *E. coli* analizleri için bir besiyeri sunulmuştur: Chromogenic Coliform Agar (CCA). Bu standardın 9308-2 (EMS) ve 9308-3 (mikroplak) bölümlerinde değişiklik yoktur. Koliform grup bakterilerin analizinde kullanılan diğer selektif agarlardan farklı olarak CCA'da koliform grup bakteriler ve *E. coli* koloni rengine göre net bir şekilde ayrılır. Bir diğer deyiş ile diğer besiyerlerinden farklı olarak bu besiyerinde koliform grup olduğu belirlenmiş bakterilerin içinde *E. coli* analizi yapılmaz, *E. coli* farklı koloni rengi (mavi) ile diğer koliform grup bakterilerden (kırmızı) doğrudan ayrılır (8).

Öncelikle ekonomik nedenlerle mikrobiyolojide hızlı yöntemlere doğru giderek artan bir eğilim vardır. Bu amaçla yeni hızlı analiz yöntemleri geliştirilmekte ve yeni ürünler piyasaya sunulmaktadır. Buna göre laboratuvarlar farklı metotlar kullanabilmekte ancak kullandıkları

yöntemin en az referans yöntem kadar geçerli olduğunu kanıtlamak zorundadırlar (9).

Önceki uluslararası standart metot olan ISO 9308-1:2000'e göre sularda hızlı *E. coli* analizi; membran filtrasyon sonrası filtrelerin Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde 37 °C'ta 4 sa inkübasyona bırakılması, bu süre sonunda TSA yüzeyinden alınan membran filtrenin Tryptone Bile Agar (TBA) besiyerine aktarılması 44.5 °C'ta 19-20 sa süreyle inkübe edilmesi ve ardından filtrenin indol çözeltisi ile doyurulmuş filtre pedi üzerine yerleştirilip 254 nm UV lamba altında 10-30 dk bekletilmesi ile yapılmaktadır. Bu süre sonunda kırmızı-pembe renk verilen koloniler *E. coli* olarak tanımlanır (10).

Analizde seçici besiyeri olarak TBA kullanılması nedeni, besiyeri bileşiminde fermente edilebilir şeker bulunmaması ve triptofandan indol oluşumunu destekleyici etki göstermesidir. Membran filtrede tipik koloni oluşturmaya olanak vermez, besiyeri bileşimindeki safra tuzları ve yüksek inkübasyon sıcaklığı ile baskılanır (11-14). 254 nm UV lamba altında 10-30 dk süre içinde indol çözeltisi içinde bulunan p-Dimethylaminobenzaldehyde'in indole dönüşmesiyle kırmızı pigment oluşumuna yol açtığı Porubsky vd. tarafından gösterilmiştir (15). Fakat Niemi ve ark. (16) bu indol testiyle sahte negatif sonuçlar alınmasının mümkün olduğunu, bunun da testin geçerliliğini düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Triptofandan indol oluşturma testi, asıl olarak Tryptone Water gibi triptofan içeren bir sıvı besiyerine koloninin aşılması ve 24 saat inkübasyon sonunda kültüre birkaç damla indol çözeltisi damlatılması ile yapılır. *E. coli* şüphesi varsa inkübasyon sıcaklığı olarak 44.5 °C seçilir (17). Önceki ISO 9308-1 numaralı standartta yukarıda belirtilen yöntemin kullanılma nedeni membran filtre üzerindeki bütün kolonilere aynı anda ve beraberce indol testi uygulanmasıdır. Özellikle yoğun koliform grup bakteri ve refakatçi flora kolonisi olan filtreden kolonilerin tek tek alınması mümkün olmayabilir.

4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide (MUG) substratı *E. coli* Biyotip 1 için karakteristik olan MUGaz enzimi ile parçalanır. Parçalanma ürünlerinden 4-methylumbelliferone, uzun dalga boylu (366 nm) UV lamba ile floresan ışığa verir. MUG; VRB Agar, LST Broth gibi çeşitli selektif besiyerlerine doğrudan katılarak hızlı *E. coli*

analizinde kullanılabilir. Ayrıca MUG emdirilmiş şeritler ile tipik koliform grup bakteri kolonisinin *E. coli* olup olmadığı 2-4 saat içinde belirlenebilir. Bu çalışmada da kullanılan Bactident *E. coli* (Merck) kitinde plastik şeritlere MUG ve triptofan emdirilmiştir. Kitin özel küvetine 0.2 mL damıtık su ilave edilir, koloni bu su içinde suspand edilip 2-4 sa süreyle inkübasyona bırakılır. Bu sürenin sonunda uzun dalga boylu UV lamba altında floresan verenler *E. coli* olarak tanımlanır. Kitte bulunan Kovacs' indol çözeltilisi kullanılarak *E. coli* kesinleştirilir (18). Sonuçlar genellikle 2 sa içinde alınır. Bu kadar kısa süre içinde sonuç alınmasının nedeni 0.2 mL su içinde koloninin yoğun bir şekilde inoküle edilmiş olmasıdır.

Weber ve Schäfer 1989'da yaptıkları çalışmada Bactident *E. coli* testinin, hızlı *E. coli* tanımlaması için uygun bir test olduğunu kanıtlamışlardır (19).

Bu çalışmada, laboratuvar koşullarında kullanımı kolay olan MUG esaslı Bactident *E. coli* ile ISO 9308-1:2000 standardında belirtilen UV destekli indol esaslı hızlı *E. coli* testi kıyaslanmıştır.

### MATERYAL ve YÖNTEM

#### Materyal

Toplu tüketim yerleri ve piyasadan toplanan çeşitli gıda örneklerinden 46 adet *E. coli* izole edilerek tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *E. coli* ATCC 10536, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 25927 ve *E. coli* NRLL-B-3008 suşları referans suşlar olarak kullanılmıştır. Ayrıca adı geçen koleksiyondan sağlanan ve koliform grup bakterilerin geliştirildiği besiyerlerinde tipik koliform kolonisi oluşturmasa da gelişerek koloni oluşturabilen *Salmonella* Enteritidis (indol negatif, MUGaz negatif) ile *Klebsiella oxytoca* (indol pozitif, MUGaz negatif) da denemelerde kullanılmıştır.

#### İzolasyon ve Tanımlama

Piyasadan toplanan gıda numunelerine Brilliant Green Bile 2% (BGB) Broth (Merck 1.05454) besiyerinde 44.5 °C'ta 24 sa inkübe edilerek zenginleştirme uygulanmıştır (25 g örnek + 225 mL BGB). Bu işlemin amacı numunede *E. coli* varsa izolasyon olasılığını artırmaktır. İnkübasyon süresi sonunda Fluorocult Violet Red Bile (FVRB) Agar (Merck 1.04030) besiyerine öze ile sürme

yapılmış ve Petri kutuları 44.5 °C'ta 18 sa inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 18 sa sürme nedeni floresan ışımının net bir şekilde gözlemlenmesi bir diğer deyiş ile, floresan ışımaya yoğunluğuna bağlı olarak floresan negatif olan kolonilerin alınmamasıdır (17). Bu süre sonunda UV lamba altında (366 nm) floresan ışımaya veren ve saf halde izole edilebilecek koloniler izole edilmiştir. Her gıda numunesinden farklı suş olması amacıyla Petri kutularından 1 adet *E. coli* kolonisi alınmış ve ayrı ayrı Fluorocult Lauryl Sulphate Tryptose (FLST) Broth (Merck 1.12588) besiyerine ekilmiştir. 37 °C'ta 24 sa inkübasyonun sonunda floresan testi yapılmış, pozitif sonuç veren tüplerden saflık kontrolü amacıyla yine FVRB Agara sürme yapılmış ve hemen ardından floresan pozitif sonuç veren bu tüplere indol testi uygulanmıştır. İndol testi de pozitif olan tüplerden ekimi yapılmış FVRB Agar besiyerleri 37 °C'ta 18 sa süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüm Petri kutusunun floresan kontrolü yapılmış ve pozitif sonuç veren koloniler saf *E. coli* kültürü olarak tanımlanarak Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerine (Merck 1.05459) aşılınmış ve 37 °C'ta 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda kültürler standart buzdolabına alınarak denemelerde kullanılmak üzere stoklanmışlardır (17). Denemeler sırasında kültürler aynı besiyeri (TSB) ve inkübasyon koşullarında aktifleştirilmişlerdir. Buna göre denemelerde indol ve MUGaz pozitif olduğu önceden saptanmış *E. coli* izolatları kullanılmıştır.

#### UV Destekli İndol Testi ile Hızlı *E. coli* Analizi

Bu çalışmanın amacı ISO 9308-1:2000 standardını sorgulama değildir. Sadece bu standartta belirtilen hızlı indol testi denenmiştir. Bu amaçla, aktifleştirilen kültürler TSA (Merck 1.05458) besiyeri üzerine yerleştirilen membran filtre (Sartorius 13005-50-AJN) yüzeyine öze ile sürülerek 37 °C'ta 4 sa inkübasyona bırakılmış ve bu süre sonunda TSA yüzeyinden alınan membran filtre steril koşullarda *E. coli* için selektivite sağlayan TBA (Oxoid CM0595) besiyerine aktarılarak 44.5 °C'ta 20 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İndol çözeltilisi ISO 9308-1:2000'de tanımlandığı şekliyle 100 mL 1 mol/L HCl asit içinde 0.5 g p-Dimethylaminobenzaldehide çözümlenmesiyle hazırlanmıştır. Bu çözelti ile doyurulmuş filtre pedi üzerine TBA'dan alınan membran filtre yerleştirilerek UV lamba altında 30 dakika bekletilmiş ve bu süre sonunda UV

lamba altında kırmızı-pembe renk koloni veren bakteriler indol pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### MUG Esaslı Hızlı Test

Aktifleştirilmiş kültürler, VRB Agar besiyerine öze ile sürülerek 37 °C'ta 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Buradan izole edilen koloniler Bactident E. coli kitindeki (Merck 1.13303) özel küvetlerde 0.2 mL damıtık su içinde yoğun bir bulanıklık verecek şekilde çözündürülmüş, test seridi bu süspansiyona daldırılarak ve her 30 dakikada kontrol edilerek en çok 2 sa süre ile 37 °C'ta inkübe edilmiştir. Uzun dalga boylu UV lamba ile yapılan kontrollerde floresan ışımaya görülmesi MUGaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (20). Floresan pozitif sonuç alınan küvetlere aynı kitin içinde bulunan Kovacs' indol çözeltisinden 1 damla damlatılarak indol testi yapılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Analizde kullanılan bakterilerin indol ve MUGaz analizlerinde beklenen ve elde edilen sonuçlar çizelge 1'de özetlenmiştir.

UV destekli indol testinde 46 *E. coli* izolatının kolonilerinden 43 adedi kırmızı renk (indol pozitif) ve 1 adedi açık pembe renk (zayıf indol) oluştururken, 2 adedinde renksiz (indol negatif) sonuç alınmıştır. Şahit olarak kullanılan 4 referans *E. coli* suşunun hepsi indol pozitif sonuç vermiştir. *S. Enteritidis*, 44.5 °C'ta gelişemediği için indol testi uygulanamamıştır ancak *K. oxytoca* TBA besiyerinde bu sıcaklıkta gelişebilmiş ve indol pozitif sonuç vermiştir. Bu durumda *S. Enteritidis* dışında 51 bakterinin 49 adedinden indol pozitif sonuç alınmıştır. Her ne kadar *K. oxytoca* kendisinden beklenen indol pozitif sonucu vermişse de analizin mantığı açısından bakıldığında sahte pozitif olarak değerlendirilmiş ve buna göre bu testin doğruluğu %94.1 (48/51) olarak

hesaplanmıştır.

MUG esaslı hızlı tayin yönteminin uygulandığı 46 *E. coli* izolatı ile 4 referans *E. coli* suşunun tamamının UV lamba altında floresan ışımaya (MUGaz pozitif sonuç) verdiği görülmüştür. *S. Enteritidis* MUGaz ve indol negatif sonuç verirken *K. oxytoca* MUGaz negatif ancak indol pozitif sonuç vermiştir. Bu sonuçlara göre Bactident E. coli için doğruluk payı %100'dür (52/52). Burada *K. oxytoca* için alınan pozitif indol sonucu doğru sonuç olarak değerlendirilmiştir çünkü kitin içindeki Kovacs' indol ayırıcı genel indol testi olarak kullanılmaktadır.

Bactident E. coli kiti ile yapılan analizde 46 *E. coli* izolatının tümünün MUGaz pozitif sonuç vermesi beklenen bir sonuçtur çünkü bu izolatların tümü pozitif MUGaz reaksiyonuna göre izole edilmişlerdir. Diğer 6 referans bakteri de bu kitte beklenen sonuçları vermişlerdir. Özetle, denemelerde kullanılan 52 bakterinin tümü Bactident E. coli kitinde beklenen sonucu vermiştir. Bu kit ile yapılan ilave indol testinde pozitif sonuç veren *K. oxytoca* sorun olarak görülmemektedir çünkü tüm indol pozitif bakteriler bu kit ile aynı sonucu vereceklerdir. Ancak bu kit, genel bir tanımlama kiti değil, sadece koliform grup olduğu selektif besiyerinde tipik koloni morfolojisi ile anlaşılan bakterilerin *E. coli* olup olmadığına yöneliktir. Bu besiyerlerinde seçicilik, genellikle laktozdan asit oluşturma ve selektif katkılar ile refakatçi floranın baskılanması ile sağlanır. Laktoz pozitif olan diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri, koliform grup için hazırlanmış selektif besiyerlerinde farklı morfolojide koloniler oluşturarak koliform grup bakterilerden ayrılır. Bu durumda bu bakteriler zaten Bactident E. coli kiti ile teste alınmayacaklardır ve zaten indol testi bu kitin asıl değil tamamlayıcı testidir (21).

Çizelge 1. Analizde kullanılan bakterilerin indol ve MUGaz beklenen ve elde edilen sonuçları  
Table 1. The expected and the acquired indole and MUGase results of the bacteria used.

Bakteri	MUGaz <sup>(1)</sup> MUGase <sup>(1)</sup>	İndol <sup>(1)</sup> Indole <sup>(1)</sup>	Hızlı İndol Testi <sup>(2)</sup> Rapid Indole Test <sup>(2)</sup>	Bactident E. coli MUGase <sup>(2)</sup>	İndole <sup>(2)</sup>
<i>E. coli</i> (46 izolat)	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i> (4 şahit)	+	+	+	+	+
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	*	-	-
<i>K. oxytoca</i>	-	+	+	-	+

<sup>(1)</sup> Beklenen reaksiyon Expected reaction

<sup>(2)</sup> Elde edilen sonuç Acquired reaction

\* Analiz yapılamamıştır; bakteri TBA besiyerinde 44.5 °C'ta gelişmemiştir Not analyzed, bacterium didn't growth at 44.5 °C



Bununla birlikte kit içeriğinde bulunan indol çözültüsü ile testin tamamlanması *E. coli* O157:H7 serotipinin yakalanması açısından önemlidir. Bu serotip MUGaz negatif olduğu için floresan ışımaya vermez ancak indol pozitif olması ile kendini belli eder (21).

İndol esaslı hızlı analizde TBA besiyerinde 44.5 °C'ta gelişerek indol pozitif sonuç veren *K. oxytoca* aslında beklenen sonucu vermiştir ancak testin amacı açısından sahte pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuç, *E. coli* dışında TBA besiyerinde 44.5 °C'ta gelişerek sahte indol pozitif sonuç verebilecek başka bakterilerin de olabileceği endişesini getirmektedir. Her ne kadar Niemi vd. 2003'te yaptıkları bir çalışmada *K. oxytoca*'nın bu analizde *E. coli* gibi davranmasının ayrımının 44-45 °C'de laktozdan gaz oluşturma analizi ile çözümleneceğini rapor etmişlerse de (16) bu çözümün pratik bir uygulama olmayacağı açıktır.

Weber ve Schäfer (19) yaptıkları çalışmada Bactident *E. coli* kitinde doğruluk payını 165/175 (%94) *E. coli* olarak bulmuş, bunun yanı sıra *Enterobacteriaceae* familyasına ait *E. coli* olmayan 52 izolatın hiçbirinin pozitif sonuç vermediğini, dolayısıyla bu testin hızlı *E. coli* tanımlanmasında güvenle kullanılabilirliğini bildirmiştir. Hansen ve Yourassowsky (20) MUGaz aktivite tayininin gerçekleştirildiği Bactident *E. coli* yönteminin geçerliliğini %94 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada izolatların MUG esaslı hızlı testte %100 doğru sonuç verme nedeni *E. coli* izolasyonunun FVRB Agarda MUG pozitif suşların seçilmesi ile açıklanmakta ve Bactident *E. coli* kitinin güvenilir olduğunu göstermektedir.

Bonadonna vd.'nin 2007'de yaptığı çalışmada ISO 9308-1:2000'de tanımlanan hızlı yöntemi iki farklı yöntemle karşılaştırılmış, ISO yönteminin selektivitesinin diğer iki yöntemle göre düşük olduğu, özellikle *K. oxytoca*'nın analizde sorun oluşturduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın MUG testinin, indol belirlemesine göre *E. coli* tanımlanmasında daha geçerli bir yöntem olduğunu rapor etmişlerdir (4).

Sonuç olarak *E. coli* için iki farklı hızlı tanımlama testinin kıyaslanmasına yönelik yapılan bu çalışmada MUG esaslı hızlı testin, UV desteği ile indol esaslı teste oranla daha güvenilir olduğu ve çok daha hızlı sonuç verdiği görülmüştür. Ayrıca bu kitin uygulanış şekli UV destekli indol testine kıyasla çok daha kolaydır. UV destekli indol testinde tek avantaj, filtre üzerinde gelişen tüm

kolonilere bu testin beraberce uygulanmasıdır. Ancak Bactident *E. coli* kiti için tek koloni zorunluluğu yoktur, membran filtre üzerinden öze ile çok sayıda koloni alınarak bu kite uygulanabilir. Floresan pozitif sonuç, en az 1 koloninin *E. coli* olduğunu gösterir.

### KAYNAKLAR

1. Fricker CR, Bullock S, Murrin K, Niemela SI. 2008. Use of ISO 9308-1 Procedure for the detection of *E. coli* in water utilizing two incubation temperatures and two confirmation procedures; comparison with defined substrate technology (DST). *J Water Health*, 06 (3): 389-397.
2. Pitkänen T, Paakkari P, Miettinen IT, Tanski HH, Paulin L, Hänninen ML. 2006. Comparison of media for enumeration of coliform bacteria and *Escherichia coli* in non-disinfected water. *J Microbiol Methods*, 68: 522-529.
3. Taştemür S, Halkman AK. 2014. Membran filtrasyon tekniği ile koliform analizinde kullanılan besiyerlerinin kıyaslanması. *GIDA*, 39 (5): 267-273.
4. Bonadonna L, Cataldo C, Semproni M. 2007. Comparison of methods and confirmation tests for the recovery *Escherichia coli* in water. *Desalination* 213: 18-23.
5. Farmer JJ. 1995. Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. In: *Manual of Clinical Microbiology* 6th Ed (Chief Ed. PR Murray). American Society for Microbiology ASM, Washington DC, USA, p 438-449.
6. Çakır İ, 2000. *Escherichia coli* O157:H7. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Sim Matbaacılık, Ltd. Şti., Ankara, Türkiye. s. 403-411.
7. ISO 9308-1:2014 Water Quality- Detection and Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria.
8. Lange B, Strathmann M, Oßmer R. 2013. Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. *Lett Appl Microbiol* 57: 547-553.
9. Schets FM, Nobel PJ, Strating S, Mooijman KA, Engels GB, Brouwer A. 2001. Comparison of methods for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in water samples in the Netherlands. National Institute of Public Health and the Environment. RIVM report: 289202 028.

10. ISO 9308-1:2000 Water Quality- Detection and Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Part 8.4: Rapid Test.
11. Holbrook R, Anderson JM, Baird-Parker AC. 1980. Modified Direct Plate Method for Counting *Escherichia coli* in foods. *Food Technol.* 32: 78-83.
12. Clarke PH, Cowen ST. 1952. Biochemical Methods for Bacteriology. *J Gen Microbiol*, 6, 187
13. MacFaddin JF. 1985. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria, Vol. I, *Williams and Wilkins*, Baltimore.
14. Finegold SM, Baron EJ, Bailey WR, Scott EG. 1986. *Diagn Microbiol*, 7th Ed., The C.V. Mosby Co., St. Louis.
15. Porubsky PR, Scott EE, Williams TD. 2008. p-Dimethylaminocinnamaldehyde Derivatization for Colorimetric Detection and HPLC-UV/Vis-MS/MS Identification of Indoles. *Arch Biochem Biophys.* 475: 14-17.
16. Niemi RM, Heikkilä MP, Lahti K, Kalso S, Niemelä SI. 2001. Comparison of methods for determining the numbers and species distribution of coliform bacteria in well water samples. *J Appl Microbiol* 90, 850-858.
17. Halkman K (ed). 2005. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., 358 s., Ankara.
18. Merck. 2010. Bactident E. coli, Test kit for the rapid identification of *E. coli*. *Merck Microbiology Manual* 12th Edition. s 180.
19. Weber A, Schäfer R. 1989. The rapid identification of *Escherichia coli* using Bactident E. coli (Article in German). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 102(1): 4-5.
20. Hansen W, Yourasowsky E. 1984. Detection of  $\beta$ -Glucuronidase in Lactose-Fermenting Members of the Family Enterobacteriaceae and its Presence in Bacterial Urine Cultures. *J Clin Microbiol*, 20; 1177-1179.
21. www.mikrobiyoloji.org. Erişim tarihi: 17.08.2015

## MİKRODALGA ile PİŞİRİLEN PİRİNÇ KEKİNİN FORMÜLASYONU ve İŞLEM KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU

Yaşar Özlem Alifakı, Özge Şakıyan Demirkol\*

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / Received: 05.08.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 16.11.2015

Kabul tarihi / Accepted: 27.11.2015

### Özet

Bu çalışmanın amacı, pirinç ununa farklı oranlarda keçiyoynuzu unu ve ginseng tozu ilave edilerek mikrodalga ile glutensiz ve fonksiyonel kek üretilmesidir. Bu amaçla farklı kek formülasyonları mikrodalga fırında farklı koşullarda (üç farklı güçte (yüksek, orta, düşük) ve üç farklı sürede (2.45dk; 3dk; 3.15dk)) pişirilerek fiziksel özellikleri incelenmiştir. Ek olarak ginseng ve keçiyoynuzu unu ilavesinin son ürün kalitesi üzerine etkisi incelenmiş ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda kek yapımında pirinç unu ile birlikte keçiyoynuzu ununun kullanılabilirliği test edilmiştir. Ayrıca çalışmada mikrodalga ile pişirilen pirinç keklerinin formülasyonunun ve işlem koşullarının optimizasyonu hedeflenmiştir. Bunun için yanıt yüzey yöntemi (RSM) kullanılmıştır. Optimum nokta mikrodalga gücü için 400 W, pişirme süresi için 3.15 dakika, ginseng konsantrasyonu için %1.1869 ve keçiyoynuzu unu konsantrasyonu için %35.051 olarak bulunmuştur. Kontrol örnekleri ile optimum koşullarda ve optimum formülasyonla mikrodalgada pişirilen kekler karşılaştırıldığında optimum örneklerin kütle kaybı, yükseklik ve gözeneklilik değerlerinin daha yüksek, renk farkı değerlerinin daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Mikrodalga, ginseng, keçiyoynuzu unu, kek, optimizasyon

## OPTIMIZATION OF PROCESS CONDITIONS AND FORMULATION OF MICROWAVE BAKED RICE CAKE

### Abstract

In this study, it was aimed to produce microwave baked functional gluten-free cakes by adding carob flour and ginseng powder to the rice flour in different concentrations. For this purpose, the physical properties of different cake formulations which were baked in microwave oven at different microwave powers (low, middle and high) and during different baking times (2.45 min; 3min; 3.15 min) were investigated. Moreover, the effect of ginseng powder and carob flour addition in terms of cake quality was also examined and the possibility of combining carob flour with rice flour was evaluated. In this study, it was also aimed to optimize the cake formulation and baking conditions by using Response Surface Methodology (RSM). The optimum point was determined as 400 W for microwave power, 3.15 min for baking time, 1.1869 % for ginseng concentration and 35.051 % for carob flour concentration. When the quality values of control and optimum point were compared, it can be concluded that the weight loss, height and porosity values of optimum samples were higher, while the color difference values were lower.

**Keywords:** Microwave, ginseng, carob flour, cake, optimization

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ osakiyan@ankara.edu.tr, © (+90) 312 203 3300/3618, ☎ (+90) 312 317 8711

## GİRİŞ

Çölyak hastalığı ince bağırsak duyarlılığı nedeniyle gelişen ve gluten tüketilmesi durumunda besin maddelerinin yeterince absorbe edilememesine neden olan kronik bir hastalıktır (1). Bu hastaların tek tedavisi gluten içermeyen bir diyetle beslenmeleridir. Ne yazık ki gluten içermeyen ürünler düşük hacim, zayıf tekstür, lezzet ve hızlı bayatlama gibi problemlere sahiptirler. Ek olarak bu ürünler yetersiz miktarda vitamin, mineral ve lif gibi bileşenleri içermektedir (2, 3). Tüketiciler gluten içermeyen fırıncılık ürünlerinden geleneksel lezzeti beklemektedirler ve bu nedenle araştırmacılar buğday unu yerine değişik formülasyonlar üzerinde çalışmaktadırlar (4). Glutenizasyonla pirinç unu kullanılmaktadır. Gluten içermemesi, düşük sodyum miktarı ve kolayca sindirilebilen karbonhidratlarının yüksek olması, pirincin özel diyetler için arzu edilen özellikleridir. Ne yazık ki pirinç unu buğdaya göre farklı oranda depo protein içermesi nedeniyle glutene benzer özellikte bir protein ağı geliştiremez. Pirinçte prolaminler minör fraksiyondayken temel depo protein glutelinlerdir (%65-85) (5).

Keçiboynuzu gibi yalancı tahıl diye adlandırılan hammaddeler de lif miktarını ve besleyici değeri arttırmak için glutensiz unlara eklenebilir. Keçiboynuzu genellikle keçiboynuzu zıncı izole edilmesi için kullanılır. Ancak keçiboynuzu unu insan beslenmesinde de kullanılır (6) ve çölyak hastaları için tahıl türevli gıda üretiminde potansiyel bir bileşendir (7). Keçiboynuzu unu bakla, bezelye ve soya fasulyesi ununa göre daha yüksek oranda protein içerir. Literatürde yapılan çalışmalarda bezelye unu protein miktarı %18.83 ve soya fasulyesi protein miktarı % 34.35 bulunmuşken (8) yağsız keçiboynuzu ununun lizin ve arginin miktarının %48.4 olduğu rapor edilmiştir (9). Keçiboynuzu unundaki proteinler farklı boyut ve polimerizasyon derecelerinde olup gluten ile benzer reolojik özellikler göstermektedir çünkü sulandığında daha düzenli ve kararlı bir yapı gösterirler (10). Bu sebeplerle maliyet açısından da düşünülürse keçiboynuzu soya fasulyesi ve süt ürünleri proteinlerine kıyasla daha kullanılabilir bir bileşendir (11). Gluten içermeyen formülasyonlarda keçiboynuzu unun kullanıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Minarro ve ark. (12) yaptıkları bir çalışmada dört farklı baklagil unundan (nohut, bezelye, keçiboynuzu ve soya) ekmek yapmışlar ve keçiboynuzu hamurunun yapısının diğer hamurlarla kıyaslandığında daha kalın olduğunu ve bunun nedeninin farklı protein yapısından ve keçiboynuzunun içerdiği gum

miktarından kaynaklandığını bulmuşlardır. Ginseng endüstrisi son yıllarda hızlı bir şekilde genişlemiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda insülin gibi davranış gösterdiği (13, 14), total kolesterol seviyesini düşürdüğü (15), kalp ve dolaşım sistemi üzerine olumlu etkileri (16) olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada mikrodalgada pişirilen pirinç kekine farklı oranlarda ginseng tozu katılmış ve ginseng tozu katılmayan keklerin nem miktarının düşük olduğunu, ginseng katılan keklerin renk, tekstürel ve duyuşal özelliklerinin iyileştiği gösterilmiştir (17).

Konvansiyonel ısıtma işleminde, enerji materyalin yüzeyinden başlayarak iletim, taşınım ve radyasyon ile transfer olur. Mikrodalga ısıtmadaysa materyale enerji direk olarak elektromanyetik alandan moleküler interaksiyon ile transfer olur. Bu farklılık mikrodalgaların gıda işlemede pek çok potansiyel avantajı olduğunu gösterir. Çünkü mikrodalgalar materyale nüfuz edebilir ve enerji depolar, ısı materyalin hacimsel olarak içinde oluşur. Isı aktarımı kondüksiyon ve konveksiyon ile olmadığı için ısınma kalın materyallerde bile hem çabuk hem de homojen olur (18).

Laboratuvar koşullarında yapılan birçok çalışmada mikrodalgaların gıda proseslerinde kullanımı araştırılmış ve bu proseslerden birkaçı endüstriyel ölçekte başarılı olarak uygulanmıştır (19). Günümüzde mikrodalga ısıtma, yüksek ısıtma hızı, pişirme zamanını önemli ölçüde kısaltması, daha homojen ısıtma sağlaması, güvenli ve kolay kullanım avantajı ve düşük bakım ihtiyacı gibi özellikleri sayesinde popülerlik kazanmıştır (20). Ek olarak, pişirme ve tekrar ısıtma sırasında mikrodalga ısıtma gıdanın besleyici değerini ve aromasını konvansiyonel ısıtmaya göre daha az etkilemektedir (21). Mikrodalga ısıtmanın hızlı ısıtmanın yanı sıra alandan tasarruf, enerji verimliliği, kolay proses kontrol, seçilebilen ısıtma ve gıdanın yüksek besleyici kalitesi gibi başka avantajları da mevcuttur (22). Mikrodalga işleminin konvansiyonel yöntemlere göre avantajları değerlendirildiğinde pek çok alanda yaygınlaştırılmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu çalışma mikrodalga teknolojisinin pişirme işlemine uygulanması üzerine bir araştırmadır.

Mikrodalgada pişirilen keklerle ilgili pek çok şikâyet onların düşük hacme ve sert tekstüre sahip olmaları ile ilgilidir. Son yıllarda mikrodalgada pişirilen keklerle ilgili çalışmalar genellikle keklerin kalite özelliklerini iyileştirmek üzerinedir (23). Mikrodalgada pişirilen kekler renk eksikliği, yüksek kütle kaybı ve düşük hacim gibi kalite kusurlarına sahiptirler. Bu çalışmanın amacı bu

kalite kusurlarının azaltılmasıyla birlikte keçiyoynuzu unu ve ginseng tozunun fonksiyonel faydaları ile zenginleştirilmiş hem çölyak hastalarının hem de arzu eden tüketicinin duyuşal isteklerine uygun karakterde ikame bir ürün geliştirilmesidir. Keçiyoynuzu unu gıda sanayinde kakao ve kahve yerine kullanılabilen ucuz bir ikamedir. Buna ek olarak literatürde mikrodalga fırında pişirilen keklerde keçiyoynuzu ununun renk ve hacim sorununu gidermek için formülasyona katılmasıyla ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Araştırmada kullanılan pirinç unu, keçiyoynuzu unu, ginseng tozu, süt tozu, katı yağ, şeker, yumurta beyazı tozu, tuz ve kabartma tozu yerel bir marketten temin edilmiştir.

### Metot

#### Kek Hamurunun Hazırlanması

Kek hamurunun hazırlanmasında pirinç unu ve keçiyoynuzu unu karışımları (%70 pirinç unu, %30 keçiyoynuzu unu; %60 pirinç unu, %40 keçiyoynuzu unu; %50 pirinç unu, %50 keçiyoynuzu unu olmak üzere) kullanılmıştır. Bu karışımlara %100 şeker, %25 yağ, %12 yağsız süt tozu, %9 yumurta beyazı tozu, %3 tuz, %5 kabartma tozu içeren formülasyon uygulanmıştır. Formülasyona ginseng tozu katkı olarak eklenmiştir. Ginseng tozu ekleme oranları % 0,5, %1,5 ve %2,5 olarak belirlenmiştir. Yüzdeler un bazındadır.

Kek hamuru hazırlanırken yağ ve şeker karıştırılmış, içerisine 9 g yumurta beyazı tozu ilave edilerek 1 dakika süreyle mikserin (Arçelik, K 1433, Türkiye) 1. kademesinde karıştırılmıştır. Una 12 g yağsız süttozu, 3 gram tuz, 5 g kabartma tozu ve formülasyona göre farklı miktarlarda (0.5; 1.5 veya 2.5 g olmak üzere) ginseng tozu karıştırılmış, elde edilen karışım yağlı karışıma eklenmiş ve 90 ml su katılarak bir dakika mikserin 1. kademesinde, bir dakika mikserin 2. kademesinde ve iki dakika mikserin 1. kademesinde olmak üzere çırpılmıştır. Hazırlanan kek hamurları 100 g olarak tartılmıştır.

#### Pişirme

Hazırlanan kek hamurları mikrodalga fırında (Arçelik, Türkiye) 3 farklı güçte (düşük: 400 W orta: 485 W, yüksek: 570 W) 3 farklı süre ile (2.45 dk.; 3 dk. ve 3.15 dk.) pişirilmiştir. Pişirme sürelerine ön denemeler ile karar verilmiştir. Fırın gücünün hesaplanmasında IMPI 2-litre testi kullanılmıştır. Fırın en yüksek derecede 2000±5g su içeren iki adet beherle çalıştırılmıştır. Başlangıç su sıcaklığı 20±2 °C olmalıdır. Beherler fırın boşluğunda yan yana olacak şekilde fırının merkezine yerleştirilmiştir.

Fırın 2 dakika ve 2 saniye çalıştırdıktan sonra son sıcaklıklar fırın kapatılır kapatılmaz ölçülmüştür. Sıcaklık ölçümü üç kere tekrarlanmıştır. Güç Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır;

$$P(W) = \frac{70(\Delta T_1 + \Delta T_2)}{2} \quad (1)$$

Eşitlikte  $\Delta T_1$  ve  $\Delta T_2$  beherdeki suların son sıcaklığı ve ilk sıcaklığı kullanılarak bulunan sıcaklık değişimleridir (24). Bu şekilde fırının gücü 805 W olarak tespit edilmiştir. Kontrol olarak %100 pirinç unu ile ginseng tozu ve keçiyoynuzu unu ilave edilmeden hazırlanarak konvansiyonel fırında (Arçelik, Türkiye) 175 °C'de 30 dk. pişirilen kekler kullanılmıştır.

#### Deney Tasarımı

Bu çalışmada daha az sayıda denemeye daha kısa sürede sonuç elde edilebildiği için Box-Benken tasarımı tercih edilmiştir (25). Dış faktörlerin etkilerini azaltmak amaçlı deney sıralaması rast gele hazırlanmıştır. Programın kullanılabilmesi için gerçek değerler kodlanmış değerlere çevrilmiştir (Çizelge 1).

#### Kekte Yapılan Analizler

Keklerde gerçekleştirilen başlıca analizler kütle kaybı, renk farkı, yükseklik ve gözeneklilik şeklinde listelenebilir.

#### Kütle kaybının hesaplanması

Kütle kaybının hesaplanabilmesi için, örnekler pişirme işlemi öncesi ve sonrasında tartılmış ve Eşitlik 2 kullanılmıştır;

$$\text{Kütle Kaybı (\%)} = \frac{W_i - W_s}{W_i} \times 100 \quad (2)$$

$W_1$  örneğin fırına konmadan önceki ağırlığını  $W_s$  ise pişirme sonrasındaki ağırlığını temsil etmektedir (26).

#### Renk ölçümü

Renk ölçümü için renk okuyucusu (Minolta CR-300, Japonya) kullanılmıştır. CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  renk değerleri not edilmiş ve Eşitlik 3 kullanılarak renk değişimi ( $\Delta E$  değeri) hesaplanmıştır;

$$\Delta E = [(L_o^* - L^*)^2 + (a_o^* - a^*)^2 + (b_o^* - b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

Eşitlikteki  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri örneğe,  $L_o^*$ ,  $a_o^*$  ve  $b_o^*$  değerleri ise referans olarak alınan baryum sülfata (beyaz renk) aittir (27).

#### Yüksekliğin belirlenmesi

Dijital yükseklik ve genişlik ölçüm cihazıyla 5 farklı noktadan ölçüm alınmak suretiyle her örnek için ortalama değerler hesaplanmıştır (28).

#### Gözeneklilik değerinin belirlenmesi

Gözeneklilik değerlerinin belirlenmesinde görüntü analizi metodu kullanılmıştır. Pişirilen kekler dikey olarak iki parçaya ayrılmıştır. Sabit ışıkta sabit mesafeden bir fotoğraf makinesi (Nikon

Çizelge 1. Kodlanmış ve kodlanmamış bağımsız değişkenleri içeren deney tasarımı  
Table 1. Experimental design including coded and uncoded independent variables

Kodlanmış Coded	X <sub>1</sub> (W) X <sub>1</sub> (W)	Kodlanmış Coded	X <sub>2</sub> (dk) X <sub>2</sub> (min)	Kodlanmış Coded	X <sub>3</sub> (%) X <sub>3</sub> (%)	Kodlanmış Coded	X <sub>4</sub> (%) X <sub>4</sub> (%)	Gerçek Real
	Gerçek Real		Gerçek Real		Gerçek Real		Gerçek Real	
1	Yüksek	-1	2.45	0	1.5	0	40	
0	Orta	1	3.15	0	1.5	1	50	
1	Yüksek	0	3.0	0	1.5	-1	30	
-1	Düşük	0	3.0	0	1.5	-1	30	
1	Yüksek	0	3.0	-1	0.5	0	40	
0	Orta	0	3.0	0	1.5	0	40	
0	Orta	0	3.0	0	1.5	0	40	
0	Orta	0	3.0	0	1.5	0	40	
-1	Düşük	1	3.15	0	1.5	0	40	
0	Orta	0	3.0	1	2.5	-1	30	
-1	Düşük	0	3.0	0	1.5	1	50	
0	Orta	-1	2.45	0	1.5	-1	30	
0	Orta	1	3.15	0	1.5	-1	30	
0	Orta	1	3.15	1	2.5	0	40	
0	Orta	-1	2.45	1	2.5	0	40	
0	Orta	0	3.0	-1	0.5	-1	30	
1	Yüksek	1	3.15	0	1.5	0	40	
0	Orta	0	3.0	-1	0.5	1	50	
0	Orta	0	3.0	1	2.5	1	50	
-1	Düşük	-1	2.45	0	1.5	0	40	
0	Orta	-1	2.45	-1	0.5	0	40	
1	Yüksek	0	3.0	1	2.5	0	40	
0	Orta	1	3.15	-1	0.5	0	40	
-1	Düşük	0	3.0	-1	0.5	0	40	
0	Orta	-1	2.45	0	1.5	1	50	
1	Yüksek	0	3.0	0	1.5	1	50	
-1	Düşük	0	3.0	1	2.5	0	40	

(X<sub>1</sub>, mikrodalga gücü; X<sub>2</sub>, pişirme süresi; X<sub>3</sub>, ginseng miktarı; X<sub>4</sub>, keçiyoynuzu unu miktarı)

(X<sub>1</sub>, microwave power; X<sub>2</sub>, baking time; X<sub>3</sub>, ginseng content; X<sub>4</sub>, carob flour content)

Coolpix S2600, Japonya) kullanılarak fotoğrafları çekilmiş ve Image J (Image Processing and Analysis in Java) programı yardımı ile işlenerek gözeneklilik hesaplanmıştır. Gözeneklilik hesaplaması sırasında yaklaşık 2 cm<sup>2</sup> lik kesit alanı kullanılmıştır. Bu programda iki faz arasındaki (gözeneklerin ve katı kısmın arasındaki) kontrastan yararlanılmaktadır (29).

#### İstatiksel Analiz:

Verilerin daha anlamlı hale gelebilmesi için istatistiksel analizler yapılmıştır. Bunun için MINITAB 16 programı (Minitab Inc., State College PA, ABD) ile yanıt yüzey yöntemi kullanılmıştır. Bütün bağımsız değişkenler için ikinci dereceden denklem kullanılarak elde edilen verilerin çoklu regresyon analizi yapılmıştır. Varyans analizi bağımsız değişkenlerin istatistiki olarak önemli ölçüde birbirlerinden farklılıklarını belirlemek için kullanılmıştır ( $P \leq 0.05$ ). Değişken ortalamaları Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Her bir deney koşulu için üç paralel çalışılmış ve bunların ortalamaları kaydedilmiştir.

#### Sonuçlar ve Tartışma:

Çalışmada bağımlı ve bağımsız değişkenleri birbirleri ile ilişkilendiren ikinci mertebeden bir model oluşturulmuştur (Eşitlik 4).

$$Y = B_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_1^2 + b_6X_2^2 + b_7X_3^2 + b_8X_4^2 + b_9X_1X_2 + b_{10}X_1X_3 + b_{11}X_1X_4 + b_{12}X_2X_3 + b_{13}X_3X_4 \quad (4)$$

Bu eşitlikte, X<sub>1</sub>'ler bağımsız değişkenleri (X<sub>1</sub> mikrodalga gücü, X<sub>2</sub> pişirme süresi, X<sub>3</sub> ginseng miktarı ve X<sub>4</sub> keçiyoynuzu unu miktarı), b<sub>i</sub>'ler model sabitlerini, ve Y'ler bağımlı değişkenleri (kütle kaybı, toplam renk değişimi, yükseklik ve gözeneklilik) göstermektedir. Çizelge 2'de verilen modeller yanıt yüzey yöntemi kullanılarak hesaplanan katsayıların Eşitlik 4'de yerlerine konulması ile oluşturulmuştur.

#### Kütle kaybı

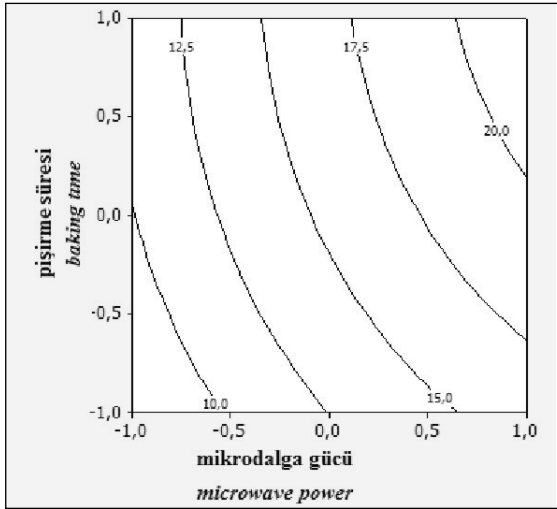
Kütle kaybı, nem kaybına ait bir belirteç olduğu için son derece önemlidir. Çizelge 2 incelendiğinde bağımsız değişkenlerden mikrodalga gücü ve pişirme süresinin kütle kaybı ile pozitif korelasyon gösterdiği anlaşılmaktadır (Şekil 1). Benzer bir sonuç literatürde başka çalışmalarda da rapor

Çizelge 2. Farklı mikrodalga güçleri ile farklı sürelerde pişirilen keklere ait modeller  
Table 2. Model equations for cakes baked at different microwave powers for different baking times

Kalite parametresi Quality Parameter	Eşitlik Equation	r <sup>2</sup>	Uyum Eksikliği Lack of fit
Kütle Kaybı Weight Loss	$Y_1=15.4396^*+4.7840^*X_1+2.1782^*X_2+0.0637X_3-0.2104X_4-$ $0.7381^*X_1^2-0.7218^*X_2^2+0.1677X_3^2+0.5424^*X_1^2+$ $0.5189^*X_1X_2+0.1409X_1X_3-0.2802X_1X_4+0.1686X_2X_3-0.1150X_2X_4+0.1732X_3X_4$	98.55	2.16**
Toplam Renk Farkı Total Color Change	$Y_2= 32.1567^*-0.1371X_1-0.5006^*X_2-0.4654X_3-1.1456^*X_4-$ $1.8351^*X_1^2+0.2910X_2^2-0.8210^*X_3^2-0.4835X_4^2+0.5864X_1X_2-0.3198X_1X_3+$ $0.3145X_1X_4-0.2065X_2X_3-0.8056X_2X_4+0.4496X_3X_4$	80.51	22.24**
Yükseklik Height	$Y_3=35.0143^*+1.3517^*X_1+0.2942X_2-0.3364X_3-0.4050X_4+$ $1.1717^*X_1^2-0.0769X_2^2-1.1462^*X_3^2-0.8630^*X_4^2-0.3736X_1X_2-$ $0.2686X_1X_3+1.0222X_1X_4-0.2411X_2X_3-1.0305X_2X_4-0.5869X_3X_4$	77.155	1.40**
Gözeneklilik Porosity	$Y_4=43.9887^*+3.0405^*X_1+1.9674^*X_2+1.5316^*X_3+1.1061^*X_4+3.3009^*X_1^2+$ $0.1299X_2^2+1.5835^*X_3^2-1.0655X_4^2-0.2833X_1X_2-0.0391X_1X_3+$ $0.0865X_1X_4+2.2477^*X_2X_3-1.1099X_2X_4+0.9220X_3X_4$	87.09	17.92**

\* P≤0.05 seviyesinde fark önemlidir. \*\* uyum eksikliğinin P≤0.05 seviyesinde önemli olmadığını göstermektedir. (X<sub>1</sub>, mikrodalga gücü; X<sub>2</sub>, pişirme süresi; X<sub>3</sub>, ginseng miktarı; X<sub>4</sub>, keçiyoynuzu unu miktarı.)

\* significant at P≤0.05. \*\* lack of fit is not significant at P≤0.05. (X<sub>1</sub>, microwave power; X<sub>2</sub>, baking time; X<sub>3</sub>, ginseng content; X<sub>4</sub>, carob flour content.)



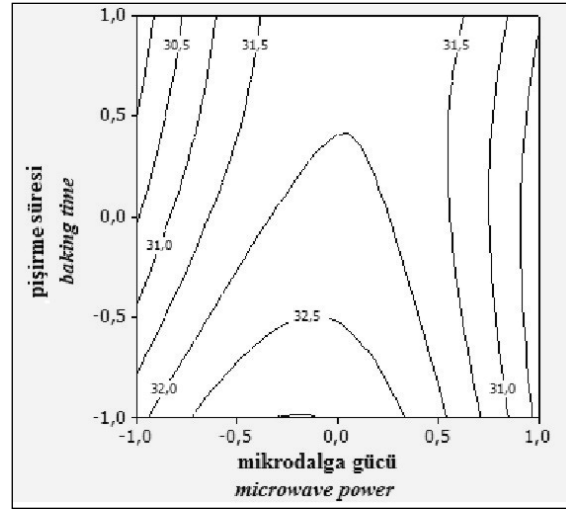
Şekil 1. Kütle kaybının pişirme süresi ve mikrodalga gücü ile değişimi (X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> sabit)

Figure 1. The variation of weight loss with baking time and microwave power (X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> are constant)

edilmiştir (30). Bu durum pişirme süresinin uzamasının ürünün daha fazla mikrodalgaya maruz kalmasına ve bu nedenle daha fazla nem kaybı oluşmasına bağlanabilir. Bir gıda materyali mikrodalga ile pişirildiğinde konvansiyonel fırında pişirilenlere göre daha fazla oluşan iç ısı gıdanın içerisinde pozitif basınç oluşmasına ve böylelikle daha fazla buharın gıda materyalinden ayrılmasına neden olmaktadır (31).

### Renk

Toplam renk değişimi açısından formülasyon ve pişirme koşulları değerlendirildiğinde pişirme



Şekil 2. Renk farkının pişirme süresi ve mikrodalga gücü ile değişimi (X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> sabit)

Figure 2. The variation of color difference with baking time and microwave power (X<sub>3</sub>, X<sub>4</sub> are constant)

zamanı ve keçiyoynuzu unu konsantrasyonunun etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Pişirme süresi ve toplam renk farkı arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (Şekil 2). Mikrodalga pişirmenin mekanizması gereği yüzeyde esmerleşme reaksiyonları gerçekleşmez. Bu durum renk oluşumunu engellemektedir. Pişirme zamanı ile renk arasındaki negatif ilişki tamamen kekin bileşenleri ve bu bileşenlerin mikrodalga ile interaksyonu ile açıklanabilir. İçöz ve ark. (32) yaptıkları çalışmada bu sonucu destekleyen verilere ulaşmışlardır.

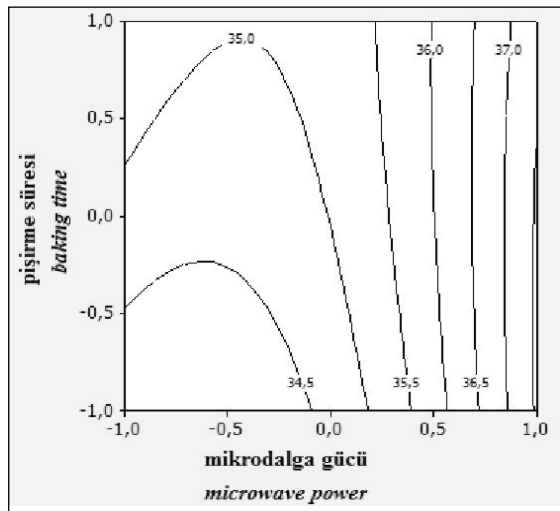
Renk değişimi üzerine negatif etkisi olduğu bulunan diğer bir bağımsız değişken keçiyoynuzu unu konsantrasyonudur (Çizelge 2). Bu duruma örneğin azalan L değerlerinin neden olduğu düşünülmektedir. Keçiyoynuzu unu konsantrasyonunun artması örneğin koyulaşmasına neden olmaktadır. Keçiyoynuzunun lif kaynağı olarak kurabiyelere eklendiği bir çalışmada keçiyoynuzu eklenmesiyle L değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir (33). Renk için oluşturulan model incelendiğinde diğer bağımsız değişkenler olan mikrodalga gücü ve ginseng konsantrasyonunun etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

### Yükseklik

Yükseklik değeri mikrodalga gücü ile pozitif ilişkili bulunmuştur (Çizelge 2, Şekil 3). Megahey ve ark. (29) çalışmalarında mikrodalgada pişirilen Medeira keklerinde benzer bir ilişki tespit etmişlerdir. Maksimum ve son örnek yükseklikleri güç artışıyla artmaktadır. Örneğin mikrodalgada pişirilen kekler incelendiğinde 900 W güçte maksimum yükseklik 52.2 mm iken, 250 W güçte maksimum ve son yükseklikler 48.2- 42.9 mm değerleri arasında değişmektedir. Bunun nedeni karbondioksit oluşumunun ve buna bağlı olarak hacim genişlemesinin güç artışıyla birlikte artışıdır.

### Gözeneklilik

Gözeneklilik değerleri incelendiğinde mikrodalga gücü, pişirme süresi, ginseng konsantrasyonu ve keçiyoynuzu unu konsantrasyonunun önemli etkileri olduğu bulunmuştur (Çizelge 2). Bütün bağımsız değişkenler gözeneklilik üzerine pozitif etkiye sahiptir.



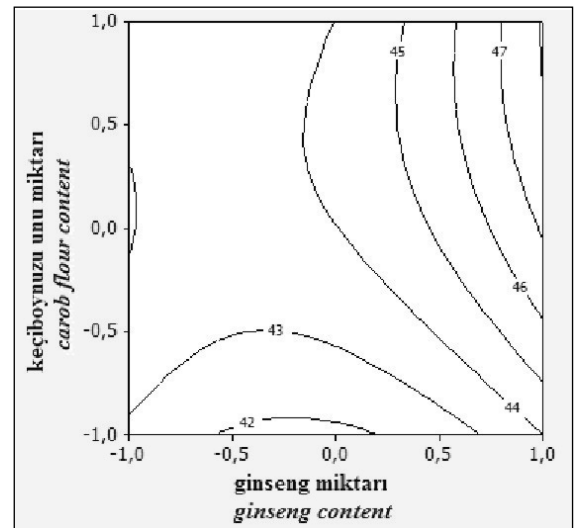
Şekil 3. Yüksekliğin pişirme süresi ve mikrodalga gücü ile değişimi ( $X_3, X_4$  sabit)

Figure 3. The variation of height with baking time and microwave power ( $X_3, X_4$  are constant)

Mikrodalga gücü ve pişirme süresindeki artışın gözeneklilik değerlerinde artışa neden olması ısınmakta olan hamurun kabarması ile açıklanabilir. Isıtma sırasında gazların çözünürlüğünde bir azalma gözlenir ve sıcaklık artışı ile karbondioksit gazı serbest kalır. Böylece gözeneklilikte bir artış gözlemlenir. Bu durum başka çalışmalarda da gözlemlenmiştir (34).

Gözeneklilik değeri keçiyoynuzu unu konsantrasyonu ile pozitif korelasyon göstermektedir (Çizelge 2, Şekil 4). Tsatsaragkou ve ark. (35) konvansiyonel fırında pişirilen glutensiz keçiyoynuzu pirinç ekmeklerinde yaptıkları çalışmada keçiyoynuzu ununun hamurun su absorpsiyonunu artırdığını bulmuşlardır. Su emiliminin artması gözenek miktarının artmasına neden olmaktadır. Ayrıca keçiyoynuzu unu miktarı arttıkça gözeneklerin boyutlarının da büyüdüğünü gözlemlemişlerdir. Bu durum keçiyoynuzu unu miktarı arttıkça keçiyoynuzu proteinlerinin miktarının artmasıyla açıklanmıştır.

Ginseng gözenekliliği pozitif etkilemesi hacmi de olumlu etkileyeceğini gösterebilir. Çünkü gözeneklilik yapıda bulunan karbondioksit gazı ve hacim ile ilişkili bir özelliktir. Yapılan bir çalışmada Panaks ginseng ekstraktları buğday ununa eklenmiş ve mikro-ölçümlü pişirme testi ile katkısız ekmekle karşılaştırılmıştır. Ginseng eklenen ekmeklerin hacimlerinin arttığı ve ginseng fırıncılık ürünleri için geliştirici özellik gösterdiği bulunmuştur. Bu durumun ginseng içeriğindeki ginsenosidlerle ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Ginsenosidler sulu ortamla interaksiyona



Şekil 4. Gözenekliliğin keçiyoynuzu unu miktarı ve ginseng miktarı ile değişimi ( $X_1, X_2$  sabit)

Figure 4. The variation of porosity with carob flour content and ginseng content ( $X_1, X_2$  are constant)



girerek kararlı baloncuklar oluşturmuş ve yüzey aktivitesini artırarak pişirme işlemini geliştirmiştir. Bu çalışmada ginsenosidler ilk kez mükemmel bir pişirme performansı göstermişler ve doğal ekmek yapım ingredientleri olarak önerilmişlerdir (36).

### **Piştirme Koşulları ve Formülasyonun Optimizasyonu**

Kek formülasyonu ve piştirme koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Keçiboynuzu unu ve ginseng miktarı ile piştirme süresi ve mikrodalga gücüne ait optimum değerler belirlenmiştir. Optimum mikrodalga gücünü, piştirme zamanını, keçiboynuzu unu miktarını ve ginseng miktarını bulmak için MINITAB 16 programı içerisindeki yanıt optimizasyonu aracından yararlanılmıştır. Optimum noktalar minimum kütle kaybı, maksimum renk farkı, maksimum yükseklik ve maksimum gözeneklilik incelenerek belirlenmiştir.

Optimum noktaların kodlanmış değerleri  $X_1$  için -1,  $X_2$  için 1,  $X_3$  için -0.3131 ve  $X_4$  için -0.4949 olarak bulunmuştur. Bu kodlanmış değerlerden kodlanmamış değerler hesaplandığında optimum nokta mikrodalga gücü için 400 W, piştirme süresi için 3.15 dakika, ginseng konsantrasyonu için %1.1869 ve keçiboynuzu unu konsantrasyonu için %35.051 olarak tespit edilebilmektedir. Optimum koşullarda elde edilen deneysel veriler kütle kaybı için %11.705, renk farkı için 31.8726, yükseklik için 32.302 mm ve gözeneklilik için %53.1005 olarak listelenebilir.

Ayrıca kontrol olarak optimum koşullarda mikrodalga fırında %100 pirinç ununu ve %0 ginseng kullanılarak pişirilen kekler kullanılmıştır. Kontrol değerleri yaklaşık olarak kütle kaybı için % 6.6847, renk farkı için 80.7104, yükseklik için 27.25 mm ve gözeneklilik için %14.876 olarak bulunmuştur. Optimum koşullarda ve optimum formülasyonla mikrodalgada pişirilen keklerin ise kütle kaybı için % 11.705 renk farkı için 31.8726, yükseklik için 32.302 mm ve gözeneklilik için %53.1 olarak bulunmuştur.

### **SONUÇ**

Yanıt yüzey yöntemi başarı ile keçiboynuzu ilave edilerek mikrodalgada pişirilen ginseng ilaveli pirinç kekleri için uygulanabilmektedir. Mikrodalga gücü kütle kaybı, yükseklik ve gözeneklilik üzerine; piştirme süresi kütle kaybı, renk farkı ve gözeneklilik üzerine; keçiboynuzu unu konsantrasyonu renk farkı ve gözeneklilik; ginseng konsantrasyonu ise gözeneklilik üzerine etkisi önemli bulunan bağımsız değişkenlerdir.

Bu çalışmada bulunan sonuçlar literatürde mikrodalgada pişirilen keklerdeki renk eksikliği sorununun çözümü için bir örnek teşkil edebilecektir. Ayrıca formülasyona keçiboynuzu unu ve ginseng tozu katılmasıyla elde edilen pirinç kekleri glutensiz kek formülasyonu geliştirilmesi açısından fonksiyonel faydaları ve gözeneklilik değerleri üzerine sağladığı olumlu etkilerle uygulanabilir sonuçlar içermektedir. Bu bağlamda bu çalışmadan elde edilen veriler mikrodalgada pişirilen fırın ürünlerinin geliştirilmesinde faydalı olabilecektir.

### **KAYNAKLAR**

1. Ellis HJ, Deward D, Pollock EL, Gonzales-Cinca N, Engel W, Wieser H. 2006. The toxicity recombinant HMW glutenin sub-units of wheat patients with celiac disease. In Stern M (ed), Proceedings of the 20th Meeting of the Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity, 35-40 pp.
2. Arendt EK, Morrissey A, Moore MM, Dal Bello F. 2008. Gluten-free Breads. Arendt EK, Dal Bello F (eds), *Gluten-free cereal products and beverages*, Oxford, Academic, UK, 289-321 pp.
3. Mendoza N. 2005. Celiac disease and overview of the diagnosis, treatment and management. *Br Nutr Bull.* 30, 231-236.
4. Demirkesen I, Sumnu G, Sahin S. 2013. Quality of gluten-free bread formulations baked in different ovens. *Food Bioprocess Tech.* 6, 746-753.
5. Huebner FR, Bietz JA, Webb BD, Juliano BO. 1990. Rice cultivar identification by high-performance liquid chromatography of the endosperm proteins. *Cereal Chem.* 67, 129-135.
6. Dakia PA, Wathelet B, Paquot M. 2007. Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chem.* 102, 1368-1374.
7. Feillet P, Roulland TM. 1998. Caroubin: a gluten-like protein isolate from carob bean germ. *Cereal Chem.* 75, 488-492.
8. Marcone MF, Kakuda Y, Yada RY. 1998. Salt-soluble seed globulins of various dicotyledonous and monocotyledonous plants-Isolation/purification and characterization. *Food Chem.* 62 (1), 27-47.
9. Maza MP, Zamora R, Alaiz M, Hidalgo FJ, Millan F, Vioque E. 1989. Carob bean germ seed (*Ceratonia siliqua*): study of the oil and proteins. *J Sci Food Agric.* 46, 495-502.
10. Wang Y, Belton PS, Bridon H, Garanger E, Wellner N, Parker ML, Grant A, Feillet P, Noel TR. 2001. Physicochemical studies of caroubin: a gluten-like protein. *J Agric Food Chem.* 49, 3414-3419.

11. Bengoechea C, Puppo MC, Romero A, Cordobes F, Guerrero A. 2008. Linear and non-linear viscoelasticity of emulsions containing carob protein as emulsifier. *J Food Eng.* 87, 124-135.
12. Minarro B, Albanell E, Aguilar N, Guamis B, Capellas M. 2012. Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. *J Cereal Sci.* 56, 476-481.
13. Lu SC. 1986. *Chinese system of food cures prevention and remedies*. Sterling, New York, 120 p.
14. Okuda H, Yoshida R. 1980. Studies on the effects of ginseng components on diabetes mellitus. Proceedings of the 3rd International Ginseng Symposium. 8-10 September, Seoul, Korea: Korea Ginseng Research Institute, 53-57 pp.
15. Muwalla MM, Abuirmeileh NM. 1990. Suppression of avian hepatic cholesterogenesis by dietary ginseng. *J Nutr Biochem.* 1: 518-521.
16. Kaku T, Miyata T, Uruno T, Sake I, Kinoshita A. 1975. Chemicopharmacological studies on saponins of Panax Ginseng. CA Meyer II. Pharmacological part. *Arzneimittel-forschung.* 25: 539-547.
17. Kang HJ, Kim SH, Kum JS, Lim JK. 2010. Effect of ginseng powder on quality characteristics of instant rice cake (baekseolgi). *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 39 (3), 435-442.
18. Thostenson ET, Chou TW. 1999. Microwave processing: Fundamentals and applications. *Compos Part A Appl Sci Manuf.* 30, 1055-1071.
19. Venkatesh MS, Raghavan GSV. 2004. An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-food materials. *Biosyst Eng.* 88 (1), 1-18.
20. Zhang M, Tang J, Mujumdar AS, Wang S. 2006. Trends in microwave-related drying of fruits and vegetables. *Trends Food Sci Technol.* 17: 524-534.
21. Vadivambal R, Jayas DS. 2007. Changes in quality of microwave-treated agricultural products. *Biosyst Eng.* 98, 1-16.
22. Decareau RV, Peterson R. 1986. *Microwave processing and engineering*. Chichester. UK: Ellis Horwood.
23. Sumnu G. 2001. A review on microwave baking of foods. *Int J Food Sci Technol.* 36, 117-127.
24. Buffler C. 1993. *Microwave Cooking and Processing: Engineering Fundamentals for the Food Scientist*. New York, USA: Avi Book. 6-7, 150-151 pp.
25. Lahlali R, Massart S, Serrhini MN, Jijakli MH. 2008. A Box-Behnken design for predicting the combined effects of relative humidity and temperature on antagonistic yeast population density at the surface of apples. *Int J Food Microbiol.* 122 (1-2), 100-108.
26. Ferraira SLC, Burns RE, Ferreira HS, Matos GD, David JM, Brandao GC, Silva EGP, Portugal LA, Reis PS, Souza AS, Santos WNL. 2007. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Anal Chim Acta.* 597(2), 179-186.
27. Keskin SÖ. 2003. Effects of different ovens and enzymes on quality parameters of bread. M.Sc., Department of Food Engineering, METU, Ankara, 28 p.
28. Megahey EK, McMinn WAM, Magee TRA. 2005. Experimental study of microwave baking of madeira cake batter. *Food Bioprod Process.* 83(4), 277-287.
29. Şakıyan Demirkol Ö. 2007. Investigation of physical properties of different cake formulations during baking with microwave and infrared-microwave combination. Ph.D., Department of Food Engineering, METU, Ankara, 47 p.
30. Demirekler P. 2004. Optimization of microwave-halogen lamp baking of bread. M.Sc., Department of Food Engineering, METU, Ankara, 31 p.
31. Datta AK. 1990. Heat and mass transfer in the microwave processing of food. *Chem Eng Progr.* 47-53.
32. Icoz D, Sumnu G, Sahin S. 2004. Color and texture development during microwave and conventional baking of breads. *Int J Food Prop.* 7: 2, 201-213.
33. Popov-Raljić JV, Mastilović JS, Lalić-Petronijević JG, Kevresan ZS, Demin MA. 2013. Sensory and color properties of dietary cookies with different fiber sources during 180 days of storage. *Hem Ind.* 67, (1), 123-134.
34. Şakıyan Demirkol O, Sumnu G, Sahin S, Meda V. 2007. Investigation of dielectric properties of different cake formulations during microwave and infrared-microwave combination baking. *J Food Sci.* 72, (4), 205-213.
35. Tsatsaragkou K, Yiannopoulos S, Kontogiorgi A, Poulli E, Krokida M, Mandala I. 2012. Mathematical approach of structural and textural properties of gluten free bread enriched with carob flour. *J Cereal Sci.* 56: 603-609.
36. Pflaum T, Selmaier PL, Horlacher P, Koehler P. 2013. Isolation and baking performance of ginsenosides from Panax ginseng. *Eur Food Res Technol.* 236: 89-100.

## BAZI KABARTICI KOMBİNASYONLARININ BİSKÜVİNİN KALİTATİF ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Esma Taş, Selman Türker, Nilgün Ertaş\*

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya

Geliş tarihi / Received: 02.09.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 18.11.2015

Kabul tarihi / Accepted: 29.12.2015

### Özet

Bu çalışmada 2 farklı bisküvi formülasyonu (formülasyon 1; 25 shortening ve %28 pudra şekeri içeren endüstriyel pova bisküvi reçetesi ve formülasyon 2; %45 shortening ve %40 pudra şekeri içeren tel keski AACC formülasyonu), 4 farklı kabartıcı kombinasyonu (sodyum bikarbonat (SBK), amonyum bikarbonat (ABK), sodyum bikarbonat+amonyum bikarbonat (SBK+ABK), sodyum bikarbonat+sodyum asit pirofosfat (SBK+SAPP)) ve bu kabartıcıların 3 farklı dozu (%0.5, 1.0 ve 1.5) kullanılarak bisküvi üretilmiş ve bazı fiziksel, kimyasal ve duyusal kalite özellikleri belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, formülasyon 1 kullanılarak üretilen bisküvilerin daha yüksek kalınlık, sertlik, nem ve L\* değerlerine ve daha düşük çap, yayılma oranı, kül, a\* ve b\* değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. ABK ilavesi bisküvi çapında ve yayılma oranında artışa neden olurken, SAPP ilavesi çap ve yayılma oranını azaltmıştır. Sonuç olarak; bisküvi üretiminde, formülasyon 1 kullanıldığında, %1 oranında SBK+ABK kombinasyonu, formülasyon 2 kullanıldığında ise; %1 oranında SBK+ABK ve SBK+SAPP kombinasyonu diğerlerine göre daha yüksek kalitede bisküviler vermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Bisküvi, kabartıcı, amonyum bikarbonat, sodyum asit pirofosfat, sodyum bikarbonat

## THE EFFECT OF SOME LEAVENING AGENT COMBINATIONS ON QUALITATIVE PROPERTIES OF BISCUIT

### Abstract

In this study, biscuits were produced by using two different formulations (formulation 1; industrial pova biscuit recipe containing 25% shortening and 28% powdered sugar, and formulation 2; wire cut cookies of AACC formulation containing 45% shortening and 40% powdered sugar) of biscuit, four different leavening agent combinations (sodium bicarbonate(SBK), ammonium bicarbonate (ABK), sodium bicarbonate+ ammonium bicarbonate, (SBK+ABK), sodium bicarbonate+sodium acid pyrophosphate(SBK+SAPP)) and three different application doses of these leavening combinations (0.5; 1.0 and 1.5 %). Some physical, chemical and sensorial quality characteristics of biscuits were determined. Biscuits produced using formulation 1 were found to have higher thickness, hardness, moisture and L\* values and lower diameter, spread ratio, ash, a\* and b\* values. While ABK addition caused an increase in the diameter and spread ratio of the biscuit, a decrease in the diameter and spread ratio of the biscuit occurred with SAPP addition. In conclusion; high quality biscuits can be produced by adding 1 % sodium bicarbonate+ammonium bicarbonate in formulation 1 and 1 % sodium bicarbonate+ammonium bicarbonate or sodium bicarbonate+ sodium acid pyrophosphate in formulation 2.

**Keywords:** Biscuit, leavening, ammonium bicarbonate, sodium acid pyrophosphate, sodium bicarbonate

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ dr.nilgunertas@gmail.com,

☎ (+90) 332 323 7926 /4040,

☎ (+90) 332 236 21 85

## GİRİŞ

Bisküvi yapımında kullanılan hammaddeler son ürünün özelliklerini etkilemektedir. Bisküvi, pasta ve kek gibi yumuşak buğday unu ile hazırlanan hamurlarda hacim artışı; hamurun karıştırılması sırasında karışıma kazandırılan hava kabarcıkları ile kabartma tozlarının kimyasal olarak CO<sub>2</sub> gazı üretmesi ve bu gazların hamurda yeterince tutulması sonucu sağlanmaktadır (1). Hamur ürünlerinin kabarması, ister maya hücrelerinin faaliyetleri isterse kabartma tozlarının kimyasal faaliyeti sonucu hamur içerisinde oluşan küçük CO<sub>2</sub> kabarcıklarının oluşması ile gerçekleşmektedir. Diğer bir deyimle hamurun kabarması; karakteristik bir şekilde hafifleme, gözenekli bir yapıya sahip olma, pişirilmiş maddeleri kabarmamış ürünlerden çok daha lezzetli ve hazmı kolay hale getirme işlemidir (2). Uluslararası Gıda Kodeks Komisyonu (CAC) tarafından "gıda içerisinde oluşan gazı açığa çıkararak hamurun hacminin artmasını sağlayan maddeler" olarak tanımlanan kabartıcılar, "hamur kabartma ajanı" olarak da adlandırılabilirler (3). Söz konusu maddeler, hamuru kabartmak suretiyle hamurun hafif ve gözenekli bir yapıya sahip olmasını sağlar, pişirme ile son ürüne yansıyan hamurun bu gözenekli yapısı ürünün içini yumuşatır, parlak bir iç rengi, yumuşak bir yapı gibi arzu edilen beğenilirliği artırıcı nitelikler vererek son ürünün yenme kalitesine katkıda bulunmakta ve iyi bir hacim sağlamaktadır (4). Kabartma ajanları, ince granüler yapıda bileşikler olup; genellikle bileşimlerinde tek alkali bileşen (sodyum bikarbonat), bir ya da daha fazla sayıda asidik tuz ve dolgu maddesi (mısır nişastası) bulunmaktadır (5). Çabuk etki eden kabartma tozları oluşturdukları gazın çoğunu hamurda, henüz oda sıcaklığında serbest bırakmaktadırlar. Orta etkili olan kabartma tozları üretimin her aşamasında gaz oluşturma yeteneğine sahiptirler. Yavaş etki eden kabartma tozları ise mevcut CO<sub>2</sub> gazının bir kısmını hamurun oluşumu sırasında serbest bırakırken çoğunluğunu yüksek fırın sıcaklıklarında gerçekleşen reaksiyonlar sonucu oluşturmaktadırlar. Çift etkili olan kabartma tozları ise genellikle 2 asit içermekte ve bu asitlerden biri oda sıcaklığında reaksiyona başlarken diğeri pişirme sırasında reaksiyon göstermektedir. Fırın ürünlerinde kullanılan kabartma tozlarının çoğunun çift etkili tip olduğu bildirilmektedir (4, 6, 7). Sodyum bikarbonat alkali nitelikte olup

şekerli bisküviler ve çerez tipi krakerler için kullanılan bir kabartma ajanı olup, düşük sıcaklıkta gaz oluşturmaya başlamakta fakat tamamen reaksiyona girmesi için yüksek sıcaklığa ihtiyaç duymaktadır ve bu özelliği sayesinde tüm işlem boyunca üründe homojen bir kabarma meydana getirmektedir (2, 4, 8). Diğer yaygın kullanılan CO<sub>2</sub> kaynağı amonyum bikarbonattır. Çoğu zaman düşük nem içeriğine sahip şekerli bisküvi ve kraker gibi ürünlerde kabartma ajanı olarak kullanılmakta ve fırın içinde sıcaklığın etkisi ile yapısı bozulmaktadır (6). CO<sub>2</sub> oluşumunu arttırmak ve kontrol etmek için kabartma tozu formüllerine asidik tuzlar ilave edilmektedir. Bu amaçla, yaygın olarak kullanılan asidik tuzlar arasında sodyum asit pirofosfat gelmektedir (9). Sodyum asit pirofosfat diğer kabartıcılarla kombine halinde her tür bisküvi, kek ve konservede kullanılmakta, son ürünün nemli ve yumuşak kalmasını sağlamaktadır (10). Bu çalışmada, iki farklı bisküvi formülasyonunda kullanılan, farklı kabartıcı kombinasyonları ve bu kombinasyonların farklı oranlarının bisküvinin kalitatif ve duysal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Bisküvi yapımında un, shortening, pudra şekeri, invert şeker, tuz, vanilya, sodyum meta bisülfid, sodyum bikarbonat (SBK), amonyum bikarbonat (ABK), sodyum bikarbonat+amonyum bikarbonat (SBK+ABK), sodyum bikarbonat+sodyum asit pirofosfat (SBK+SAPP) kullanılmıştır. Bisküvi yapımında iki farklı bisküvi formülasyonu kullanılmıştır. Formülasyon 1, endüstriyel olarak üretilen pova bisküvi formülasyonu olup, 100g un, 25 g shortening, 28 g pudra şekeri, 7 g invert şeker, 0.39 g tuz, 0.03 g vanilin, 0.02 g sodyum meta bisülfid, 20 ml su (değişebilen) ve 4 farklı kabartıcı kombinasyonunun (SBK, ABK, SBK+ABK ve SBK+SAPP) un esasına göre % 0.5, 1.0 ve 1.5 oranında kullanılmasından oluşmuştur. Formülasyon 2 ise AACC Metot 10-54 (11)'de belirtilen tel keski bisküvi formülasyonunun modifiye edilmesi ile; 100g un, 45 g shortening, 40 g pudra şekeri, 0.75 g tuz, 0.03 g vanilin, 0.02 g sodyum meta bisülfid, 22 ml su (değişebilen) ve farklı oranlarda kabartıcılardan (0.5, 1.0, 1.5 g) (SBK, ABK, SBK+ABK, SBK+SAPP) oluşmuştur.

Bisküvi yapımında kullanılan unun yaş gluten miktarı ile gluten indeks değerinin (AACC 38-12) tespitinde de Glutomatic-2200 yıkama cihazı ve Centrifuge 2015 santrifüj sistemleri (Perten Instruments AB, Huddinge, İsveç) kullanılmıştır (11). Bisküvi yapımında kullanılan unun zeleny sedimentasyon tayini ICC-Standart No.116/1 metoduna göre; düşme sayısı tayini ise AACC Standart Metot No: 56-81B'ye göre yapılmıştır (11, 12). Bisküvi yapımında kullanılan una ait farinograf özellikleri ACCC Standart Metot No: 54-21'e göre, ekstensograf özellikleri ise AACC Standart Metot No: 54/10'a göre tespit edilmiştir (11).

Formülasyonda yer alan kabartıcılar dışındaki tüm ingredient ve katkı maddeleri laboratuvar mikserinde (Kitchen Aid, Model 5KSM45, ABD) hamur oluşana kadar 7 dk. süreyle karıştırılmıştır. Kabartıcılar 10 ml suda çözündürülerek elde edilen hamura ilave edilmiş ve 3 dk. daha karıştırılmıştır. Elde edilen hamur, kalınlığı 5 mm olacak şekilde özel tablasında 5 mm yüksekliğindeki iki çıta arasında silindirlerle inceltilmiş ve silindirik metal hamur kesici kullanılarak 50 mm çapında yuvarlak hamur parçaları elde edilmiştir. Şekil verilen hamur parçaları daha sonra alüminyum tavalarda 180°C fırında (Arçelik ARMID, İstanbul, Türkiye) formülasyon 1; 10 dk., formülasyon 2 ise; 18 dk. pişirilmiştir. Elde edilen bisküvi örneklerinin bir kısmı soğuduktan sonra, öğütücüde (Moulinex 505 Süper junior) 500 mikrondan geçecek şekilde öğütülmüş, bir kısmı da diğer bazı analizlerde kullanılmak üzere polietilen poşetlerde muhafaza edilmiştir. Bisküvi örneklerinde çap ve kalınlık değerleri AACC Standart Metot No: 10-54 (11)'de belirtildiği şekilde dijital kumpas (0,001 mm Mitutoyo, Minoto-K4, Tokyo, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Bisküvilerde çap (mm) ve kalınlık (mm) belirlendikten sonra yayılma oranı bisküvi çaplarının (mm), kalınlıklarına (mm) oranlanmasıyla elde edilmiştir. Bisküvi yapımında kullanılan unun rengi L\*, a\* ve b\* değerleri cinsinden Hunter Lab Color Quest II Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak ölçülmüştür (13).

Bisküvi örneklerinin tekstür özelliklerinin tayininde AACC Standart Metot No: 74-09 (14) yöntemi esas alınmış ve tekstür analiz cihazı (TA-XT plus, Stable Microsystems, İngiltere) kullanılarak 3 nokta kırılma testi (three point bend rig) tekniğine göre kırılma kuvveti değeri (F, g) tespit edilmiştir

(load cell: 3 kg, ön-test hızı: 1.0 mm/s, test hızı: 3.0 mm/s, son-test hızı: 10.0 mm/s, uzaklık: 5 mm, trigger kuvveti: 50 g). Bisküvi yapımında kullanılan unun nem miktarı tayininde AACC 44-19 metodu, kül miktarı tayininde AACC 08-01 metodu, protein tayininde AACC 46-12 metodu kullanılmıştır (11). Bisküvi hamurlarında pH ölçümleri öğütülmüş bisküvinin % 20'lik süspansiyonun 45 dakika sonrası sıvı kısmında pH metre ile (WTW pH315 I /set) ölçüm yapılmıştır. Formülasyon 1 ve 2'nin 4 farklı kabartıcı kombinasyonunun %1.0 dozunda kullanılmasıyla üretilen bisküviler duyuşsal değerlendirmede renk, görünüş, tekstür, tat, koku, gevreklik ve genel kabul edilebilirlik özellikleri bakımından 5'lik hedonik skala ile değerlendirilmiştir. Denemeler 2 tekerrürlü olarak yürütülmüş olup, farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır (15).

### SONUÇ ve TARTIŞMA

Bisküvi üretiminde genellikle beyazlatılmamış sarımtırak un rengi tercih edilmektedir. Bisküvi yapımında kullanılan unun renk L\*, a\* ve b\* değerleri sırasıyla 106.20, 2.97, 6.37 olarak ölçülmüş, %11.72 nem, %0.688 kül ve %9.80 protein içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Doğan ve Uğur (16) ve Uysal (17) bisküvi üretiminde, benzer renk özelliklerine sahip bisküvilik unlar kullanmışlardır. Bisküvi yapımında kullanılan unun yaş gluten değeri % 21, gluten indeks değeri % 66, zeleny sedimantasyon değeri 18.50 cc, gecikmeli zeleny sedimantasyon değeri 11.00 cc ve düşme sayısı 271 sn. dir. Genellikle, düşük glutenli ve düşük kül içeriğine sahip ince unlar bisküvi yapımına daha uygundur (18). Bisküvi yapımında kullanılan unun farinograf özellikleri; su absorpsiyonu % 52.20, gelişme süresi 1.70 dk., stabilitesi 3.50 dk., yumuşama değeri 120 B.U., ekstensograf özellikleri ise; hamurun sabit deformasyon direnci 123 B.U., hamurun uzamaya karşı gösterdiği maksimum direnç 132 B.U., enerji 19 cm<sup>2</sup>, uzama kabiliyeti 102 mm ve oran sayısı 1.2'dir. Çap, kalınlık ve yayılma oranı değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 1'de yer almıştır. Denemelerde 50 mm çaplı ve 5 mm kalınlıktaki hamurdan üretilen bisküvilerin çap, kalınlık ve yayılma oranı ortalama değerleri sırasıyla 62.40 ± 4.46 mm, 10.51 ± 2.26 mm, 6.09 ± 1.81 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Bisküvi örneklerine ait çap, kalınlık, yayılma oranı ve sertlik değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları<sup>1</sup>  
 Table 1. Duncan multiple comparison test results of the average diameter, thickness, spread ratio and hardness values of biscuits<sup>1</sup>

Bisküvi Formülasyonu		Biscuit formulation								
	Çap (mm) Diameter	Kalınlık (mm) Thickness	Yayıl. Or. Spread ratio	Sertlik (F/g) Hardness	L*	a*	b*	Nem (%) Moisture	Kül (%) Ash	pH
F1 F1	59.3±1.2 <sup>b</sup>	12.1±0.5 <sup>a</sup>	4.8±0.1 <sup>b</sup>	6566±530 <sup>a</sup>	89.8±2.7 <sup>a</sup>	5.1±0.7 <sup>b</sup>	24.3±3.2 <sup>b</sup>	5.1±0.1 <sup>a</sup>	0.80±0.2 <sup>b</sup>	7.82±0.3 <sup>b</sup>
F2 F2	65.6±2.1 <sup>a</sup>	8.9±0.4 <sup>b</sup>	7.4±0.5 <sup>a</sup>	2198±238 <sup>b</sup>	81.3±2.4 <sup>b</sup>	7.0±0.6 <sup>a</sup>	28.2±1.7 <sup>a</sup>	2.4±0.2 <sup>b</sup>	0.85±0.2 <sup>a</sup>	7.98±0.3 <sup>a</sup>
Kabartıcı Kombinasyonu <sup>2</sup>		Leavening agent combination <sup>2</sup>								
	Çap Diameter	Kalınlık Thickness	Yayıl.Or. Spread ratio	Sertlik Hardness	L*	a*	b*	Nem Moisture	Kül (%) Ash	pH
SBK	62.3±3.4 <sup>b</sup>	10.6±1.9 <sup>a</sup>	6.1±1.4 <sup>b</sup>	4448±2534 <sup>a</sup>	82.7±4.7 <sup>c</sup>	6.4±0.9 <sup>a</sup>	29.1±2.4 <sup>a</sup>	3.8±1.4 <sup>b</sup>	0.96±0.2 <sup>b</sup>	8.03±0.2 <sup>a</sup>
ABK	63.7±3.8 <sup>a</sup>	10.6±2.1 <sup>a</sup>	6.3±1.6 <sup>a</sup>	4287±2387 <sup>b</sup>	85.7±5.2 <sup>b</sup>	6.5±1.5 <sup>a</sup>	25.3±2.7 <sup>a</sup>	3.7±1.5 <sup>d</sup>	0.60±0.1 <sup>d</sup>	7.98±0.2 <sup>a</sup>
SBK+ABK	63.4±4.3 <sup>a</sup>	10.6±2.0 <sup>a</sup>	6.2±1.6 <sup>a</sup>	4343±2412 <sup>a</sup>	85.8±4.2 <sup>b</sup>	6.1±0.9 <sup>b</sup>	25.8±2.5 <sup>b</sup>	3.7±1.6 <sup>b</sup>	0.74±0.1 <sup>c</sup>	8.04±0.1 <sup>a</sup>
SBK+SAPP	60.3±2.9 <sup>c</sup>	10.5±1.3 <sup>a</sup>	5.8±1.0 <sup>c</sup>	4452±2354 <sup>a</sup>	88.0±4.9 <sup>a</sup>	5.5±1.3 <sup>c</sup>	24.9±4.3 <sup>b</sup>	3.9±1.4 <sup>a</sup>	1.01±0.2 <sup>a</sup>	7.56±0.3 <sup>b</sup>
Kabartıcı Oranı (%)		Leavening agent doses (%)								
	Çap Diameter	Kalınlık Thickness	Yayıl. Or. Spread ratio	Sertlik Hardness	L*	a*	b*	Nem Moisture	Kül Ash	pH
0.5	61.6±3.1 <sup>c</sup>	10.5±1.6 <sup>b</sup>	5.97±1.2 <sup>b</sup>	4372±2387 <sup>a</sup>	86.8±5.3 <sup>a</sup>	5.6±1.4 <sup>b</sup>	24.6±3.9 <sup>c</sup>	3.8±1.3 <sup>b</sup>	0.729±0.11 <sup>c</sup>	7.72±0.3 <sup>c</sup>
1.0	62.4±21.1 <sup>b</sup>	10.7±4.0 <sup>a</sup>	6.08±2.5 <sup>b</sup>	4566±2698 <sup>a</sup>	85.4±28.9 <sup>b</sup>	6.2±2.3 <sup>a</sup>	26.2±9.2 <sup>b</sup>	3.8±1.9 <sup>a</sup>	0.816±0.32 <sup>b</sup>	7.94±2.7 <sup>b</sup>
1.5	63.3±21.5 <sup>a</sup>	10.5±3.9 <sup>a</sup>	6.24±2.5 <sup>a</sup>	4209±2548 <sup>b</sup>	84.4±28.5 <sup>c</sup>	6.5±2.4 <sup>a</sup>	27.9±9.6 <sup>a</sup>	3.7±1.8 <sup>c</sup>	0.937±0.40 <sup>a</sup>	8.05±2.7 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı eğildir ( $P<0.05$ ) <sup>2</sup>SBK: Sodyum bikarbonat, ABK: Amonyum bikarbonat, SBK+ABK: Sodyum bikarbonat+Amonyum bikarbonat, SBK+SAPP: Sodyum bikarbonat+Sodyum asit pirofosfat), F: Formülasyon, Yayıl. Or.: Yayılma Oranı

<sup>1</sup>Same letters indicate no significant difference ( $P<0.05$ ). <sup>2</sup>SBK: Sodium bicarbonate, ABK: Ammonium bicarbonate, SBK + ABK: ammonium bicarbonate + sodium bicarbonate, SBK + SAPP: sodium bicarbonate + Sodium acid pyrophosphate) F:Formulation

Bisküvi çap değerleri bisküvi formülasyonuna göre incelendiğinde; formülasyon 2'ye göre üretilen bisküvilerin çap değerinin (65.57 mm) formülasyon 1'e göre (59.26 mm) daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Bisküvi örneklerinde; en büyük çap değeri ABK (63.647 mm) ve SBK+ABK kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerde (63.43 mm) belirlenmiştir. Kullanılan kabartıcı oranı arttıkça, bisküvi örneklerinin çap değerinde de artış gözlenmiştir. Pareyt ve ark. (19) yaptıkları çalışmada, artan shortening ve şeker oranı ile birlikte bisküvi kalınlığının azaldığını, çapının ise arttığını belirlemişlerdir. Benzer şekilde formülasyon 2'nin, formülasyon 1'den daha yüksek oranda shortening ve şeker içermesi bisküvi çapının artmasına neden olmuştur. Formülasyon 1 kullanılarak üretilen bisküvilerin kalınlık değerinin (12.12 mm) formülasyon 2'ye (8.92 mm) göre daha büyük bulunmuştur. Formülasyon 2'deki shortening miktarı bisküvide yayılmanın artmasına neden olduğu, bunun da kalınlığı etkilediği düşünülebilir. Bisküvilerin kalınlık değerinin kullanılan kabartıcı oranına göre istatistiki olarak birbirinden farksız bulunmuştur. Bisküvide aşırı derecede kabarma şekil bozukluğuna ve gramaj

problemlerine neden olacağından arzu edilmemektedir. Öztürk (20), bisküvi imalatında kullanılan shorteninglerin, hamurda gluten ve nişastanın kitle oluşumunu olumsuz etkilediğini, hava kabarcıkları ile hamura yayılarak hamurun kabarmasına yardımcı olduğunu ileri sürmüştür. Bisküvi yayılma oranı bisküvi formülasyonuna göre incelendiğinde; formülasyon 2'ye göre üretilen bisküviler (7.37) formülasyon 1'e göre (4.82) daha fazla yayılma göstermiştir. ABK ve SBK+ABK kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerin yayılma oranlarının istatistiki olarak birbirinden farksız olduğu ve en yüksek yayılma oranlarına sahip oldukları belirlenmiştir. Bisküvide sertlik değeri üzerine bisküvi formülasyonu ve kabartıcı oranı  $P<0.01$ , kabartıcı kombinasyonu  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Sertlik değeri; formülasyon 1'e göre üretilen bisküvilerde (6566.57 F/g) formülasyon 2'ye göre (2198.23 F/g) yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Sertlik değerleri arasındaki bu farklılık formülasyonun 1'deki shortening oranının formülasyon 2'ye göre daha düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Baltsavias ve ark. (21), bisküvinin mekaniksel özelliklerinin geniş ölçüde formülasyondaki

shortening oranına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Akan (22), bileşiminde shortening bulunmayan bir fırıncılık ürününde gluten ve nişasta tanecikleri arasındaki etkileşimin daha fazla olduğunu, bu durumun ürünün sert ve kaba bir tekstüre sahip olması dolayısıyla da rahat bir biçimde tüketilmesini zorlaştırdığını belirtmiştir. Shortening varlığında ise gluten ve nişastanın sürekliliğinin bozulduğunu, bu durumda gluten ağlarının yağlanması sağlanırken, ürünün yumuşadığını ve daha iyi kabarmasının gerçekleştiğini özetlemiştir. Formülasyon 2'de sertlik değerinin düşük olması bu formülasyonaki şeker oranını yüksek olmasından da kaynaklanabilir. Hosney (6), hamur formülasyonunda artan sükröz oranı ile sertliğin değiştiğini, doğrusal bir azalmanın olduğunu kaydetmiştir. Birçok araştırmacı şeker oranının artmasıyla hamur sertliğinin azaldığına dikkat çekmiştir. Bunu hamurun likit özelliğinin sükröz oranıyla orantılı olarak artmasına bağlamışlardır (23, 24, 20). % 0.5 ve 1.0 oranları kullanılarak üretilen bisküvilerin sertlik değerinin (4372.338 ve 4565.449 F/g) istatistiki olarak birbirinden farksız ve %1.5 oranında bulunan sertlik değerine (4209.426 F/g) göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yüksek sertlik değeri bisküvinin yeme kalitesini düşüreceğinden, aşırı kırılabilir yapı da paketlemede sorunlara neden olacağından arzu edilmemektedir. Bundan dolayı bisküvi yapımında %1.5 oranında kabartıcı kullanılması bisküvi sertliği açısından önerilmektedir. Bisküvi örneklerine ait renk ölçüm değerleri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Bisküvi formülüne giren bileşenler üretilen bisküvinin yayılma

oranını, rengini, tekstürünü ve yeme kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. SBK+SAPP kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerin L\* değerinin (88.008) en yüksek, SBK ilave edilmiş bisküvilerin (82.645) ise en düşük olduğu belirlenmiştir. Doğan ve Uğur (16) yaptıkları çalışmada, standart şekerli bisküvilerin L\* değerinin 64 - 71 arasında, a\* değerinin 2.0 - 7.5 arasında ve b\* değerinin 20.0 - 25.5 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Kabartıcı oranına göre L\* değerleri incelendiğinde; kabartıcı oranının artmasıyla birlikte bisküvi rengi de koyulaşmıştır. Walker ve Walker (25) yaptıkları çalışmada, kek kabuk renginin kabartıcı oranından etkilendiğini yüksek kabartıcı konsantrasyonu kullanıldığında kek kabuk renginin koyulaştığını belirtmişlerdir. Formülasyon 2'de L\* değeri formülasyon 1'e göre düşük bulunmuştur. Bu durum formülasyon 2'de bulunan yüksek şeker miktarının maillard tipi kahverengileşme reaksiyonundan dolayı L\* değerini etkilemesinden kaynaklanabilir (26, 27). Her iki bisküvi formülasyonunda da SBK ürüne daha koyu renk verirken SBK+SAPP kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerin daha açık renge sahip oldukları belirlenmiştir. pH değeri son ürünün rengini etkilemiş ve yüksek pH'ya sahip SBK daha koyu renge, düşük pH'ya sahip olan SAPP da daha açık renge sebep olmuş olabilir (Çizelge 2).

Formülasyon 2'ye göre üretilen bisküvilerin a\* değeri (7.049) formülasyon 1'e göre (5.179) daha yüksek bulunmuştur. Formülasyon 2'nin içerdiği yüksek şeker miktarı a\* değerini maillard reaksiyonundan dolayı etkilediği düşünülmektedir. SBK (6.392) ve ABK (6.451) ilave edilmiş bisküvilerin

Çizelge 2. Bisküvi örneklerine ait duyu analizi sonuçları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları<sup>1</sup>

Tablo 2. Duncan multiple comparison test results of the average sensorial properties of biscuits<sup>1</sup>

Faktör Factor	N	Tat Taste	Koku Odor	Renk Color	Gevreklik Crispness	Görünüş Appearance	Tekstür Texture	Genel Kabul Edilebilirlik Overall acceptability
Bisküvi Formülasyonu Biscuit formulation								
F1 F1	8	4.04±0.33 <sup>b</sup>	3.88±0.21 <sup>b</sup>	4.00±0.59 <sup>b</sup>	3.82±0.21 <sup>b</sup>	4.24±0.45 <sup>a</sup>	4.13±0.29 <sup>a</sup>	4.13±0.29 <sup>b</sup>
F2 F2	8	4.48±0.17 <sup>a</sup>	4.13±0.05 <sup>a</sup>	4.15±0.29 <sup>a</sup>	4.32±0.18 <sup>a</sup>	4.16±0.44 <sup>a</sup>	4.09±0.15 <sup>a</sup>	4.46±0.22 <sup>a</sup>
Kabartıcı Kombinasyonu <sup>2</sup> Leavening agent combination <sup>2</sup>								
SBK	4	4.15±0.49 <sup>b</sup>	3.87±0.32 <sup>b</sup>	4.27±0.21 <sup>a</sup>	3.96±0.21 <sup>b</sup>	4.24±0.21 <sup>a</sup>	4.13±0.14 <sup>a</sup>	4.20±0.42 <sup>b</sup>
ABK	4	4.18±0.18 <sup>b</sup>	4.01±0.21 <sup>a</sup>	3.60±0.21 <sup>c</sup>	4.10±0.42 <sup>a</sup>	4.01±0.57 <sup>a</sup>	4.21±0.14 <sup>a</sup>	4.18±0.07 <sup>b</sup>
SBK+ABK	4	4.46±0.07 <sup>b</sup>	4.11±0.04 <sup>a</sup>	4.45±0.49 <sup>a</sup>	4.15±0.07 <sup>a</sup>	4.39±0.49 <sup>a</sup>	4.20±0.14 <sup>a</sup>	4.58±0.07 <sup>a</sup>
SBK+SAPP	4	4.25±0.64 <sup>a</sup>	4.04±0.21 <sup>a</sup>	3.98±0.42 <sup>b</sup>	4.07±0.64 <sup>a</sup>	4.16±0.64 <sup>b</sup>	3.91±0.28 <sup>b</sup>	4.21±0.42 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (P<0.05) <sup>2</sup>SBK: Sodyum bikarbonat, ABK: Amonyum bikarbonat, SBK+ABK: Sodyum bikarbonat+Amonyum bikarbonat, SBK+SAPP: Sodyum bikarbonat+Sodyum asit pirofosfat, F: Formülasyon,

<sup>1</sup>Same letters indicate no significant difference (P<0.05). <sup>2</sup>SBK: Sodium bicarbonate, ABK: Ammonium bicarbonate, SBK + ABK: ammonium bicarbonate + sodium bicarbonate, SBK + SAPP: sodium bicarbonate + Sodium acid pyrophosphate) F:Formulation

en yüksek  $a^*$  değerine sahip olduğu ve bunu sırasıyla SBK+ABK (6.088), SBK+SAPP (5.525) kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerin izlediği belirlenmiştir. Bu durum SBK ve ABK'nin pH'yı yükseltmesi, SAPP'ın ise pH'yı düşürmesi sonucunda meydana gelen pH değişikliğinin maillard reaksiyonunu etkilemesinden kaynaklanabilir. Kabartıcı oranının artmasına bağlı olarak bisküvilerin  $a^*$  değerinde de artış meydana gelmiştir. Bu durum muhtemelen kabartıcı oranının artmasıyla genişleyen spesifik yüzey alanının renk pigmentlerini oluşturan maillard reaksiyonunu artırmasından kaynaklanabilir. SBK ilave edilmiş bisküviler (29.068) SBK'nin sarılık verme özelliğinden dolayı en yüksek  $b^*$  değeri göstermiştir. Kabartıcı oranı arttıkça bisküvilerin  $b^*$  değeri de artış göstermiştir. %1.5 oranında bulunan  $b^*$  değerinin en yüksek olduğu tespit edilmiştir. %1.0 oranında kabartıcı ilave ederek aşırı derecede beyaz olmayan, arzu edilen sarılıkta bisküviler elde edilebilir. Bisküvi örneklerine ait nem, kül ve hamur pH değerlerine ait sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Kimyasal analiz sonuçlarına göre bisküvi örneklerinde ortalama nem değeri  $3.75 \pm 1.88$  bulunmuştur. Özkaya ve ark. (28) da yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişler, bisküvi çeşitlerinin nem oranlarının %2.1 ile %7.7 arasında değiştiğini ve ortalama nem oranının %4.3 olduğunu bildirmişlerdir. Ünal ve ark. (29) ise farklı tipteki bisküvi örneklerinde nem içeriğinin %3.22-9.15 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Formülasyon 1'e göre üretilen bisküvilerin yüksek nem içeriğine (%5.083) sahip olduğu, formülasyon 2'de ise daha düşük nem içeriği (%2.424) belirlenmiştir. SBK+SAPP kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerin en yüksek nem değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. En düşük nem değerinin ise ABK ilave edilmiş bisküvilerde elde edildiği görülmektedir. Kabartıcı oranı %1.0'e kadar arttırıldığında nem içeriğinin de arttığı, %1.0'den sonra ise düşüş gösterdiği belirlenmiştir. 2. formülasyona göre üretilen bisküvilerin (%0.851) 1.formülasyonuna göre üretilen bisküvilerden (%0.804) daha yüksek kül içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. SBK+SAPP kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerin en yüksek kül değerine (%1.013) sahip olduğu tespit edilmiştir. En düşük kül değeri ise ABK ilave edilmiş bisküvilerde (%0.596) görülmüştür. Bu durum muhtemelen reaksiyon sonucu ABK'nin parçalanarak uçup gitmesinden, SBK'nin ise

kasyonlarla bileşik yaparak çökmesinden kaynaklanmaktadır. Sağlam (30), amonyak ( $\text{NH}_3$ ) kayıpları üzerine yaptıkları denemelerde, amonyum bikarbonatın  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  ve  $\text{H}_2\text{O}$ 'ya parçalandığını ve bu nedenle  $\text{NH}_3$  kayıpları ortaya çıktığını ileri sürmüştür. Kabartıcı oranı arttıkça kül içeriğinin de arttığı tespit edilmiş, en yüksek kül içeriği %1.5 oranında kabartıcı kullanılan bisküvilerde elde edilmiştir. Formülasyon 2'nin (7.980) formülasyon 1'e (7.824) göre daha yüksek pH değerine sahip olduğu belirlenmiştir. SBK+ABK kombinasyonu (8.040), SBK (8.027) ve ABK (7.979) ilave edilmiş bisküvi hamurlarının pH değerinin SBK+SAPP kombinasyonu ilave edilmiş bisküvilerde (7.562) göre daha yüksek pH değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bisküvi örneklerinin duyusal analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir.

Bisküvilerin duyusal analizinde formülasyon 2'deki shortening tatta iyileşmeye yardımcı olmuş formülasyon 1'e göre üretilen bisküvilerde göre daha yüksek puanlar almıştır. Shorteningin yeme kalitesini iyileştirdiği ve ürünün tat ve tekstürüne katkıda bulunduğu Given (27) tarafından bildirilmiştir. SBK+ABK (4.45) ve SBK+SAPP (4.25) kombinasyonları ilave edilmiş bisküviler daha yüksek tat skorları alırken, SBK (4.14) ve ABK (4.17) ilave edilmiş bisküviler daha düşük tat skorları almıştır. Formülasyon 2 formülasyon 1'e göre daha yüksek puanlar (tat, koku, renk, gevreklik genel kabul edilebilirlik) almıştır. SBK (4.27) ve SBK+ABK (4.44) ilave edilmiş bisküviler, bisküvide arzu edilen renk özellikleri açısından üstün görülmüştür. Görünüş özellikleri bakımından incelendiğinde; SBK (4.24) ve SBK+ABK (4.38) kombinasyonu ilave edilmiş bisküviler yüksek puanlar almıştır. Genel kabul edilebilirlik açısından; formülasyon 1'de ABK ve SBK+ABK kombinasyonu ilave edilmiş bisküviler yüksek puanlar alırken, SBK ve SBK+SAPP daha düşük puanlar almıştır. Formülasyon 2'de ise SBK, SBK+ABK ve SBK+SAPP kombinasyonu ilave edilmiş bisküviler ABK ilave edilmiş bisküvilerde göre yüksek puanlar almıştır. Formülasyon 1 gibi shortening ve şeker içeriği düşük bisküvi üretiminde %1.0 oranında SBK+ABK kombinasyonunun kullanılabilceği, formülasyon 2 gibi shortening ve şeker içeriği yüksek bisküvilerde ise yine %1.0 oranında SBK+ABK kombinasyonuna yanı sıra %1.0 oranında SBK+SAPP kombinasyonu kullanarak yüksek kalitede ve duyusal açıdan genel kabul edilebilirliği yüksek bisküviler elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.



**KAYNAKLAR**

1. Dizlek H. 2002. Farklı kabartma tozlarının değişik oranlarda kullanılmasının ve kek hamurunun pişirme öncesinde bekletilmesinin pandispanya nitelikleri üzerine etkilerinin incelenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek lisans tezi, Adana, Türkiye, 85 s.
2. Labaw GD. 1982. Chemical leavening agents and their use in bakery products. *Bakers Dig*, 56 (1), 16-21.
3. Türker S. 2008. *Yumuşak buğday ürünleri ders notları*. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye, 54 s.
4. Pyler EJ. 1988. *Baking Science and Technology*. 3<sup>rd</sup> Edition Sosland Publishing Company, Kansas, USA, 1345 p.
5. Elgün A, Ertugay Z. 1992. *Tabii İşleme Teknolojisi*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 297, Erzurum, Türkiye, 481 s.
6. Hosney RC. 1986. *Principles of Cereal Science and Technology*, American Association of Cereal Chemists Inc., St. Paul, Minnesota, USA, 327 p.
7. Lawson H. 1995. *Food Oils and Fats Technology, Utilization, and Nutrition*. Chapman and Hall an International Thomson Publishing Company, USA, 339 p.
8. Matz SA. 1992. *Bakery Technology and Engineering*. 3<sup>rd</sup> Edition, Avi Book Published, New York, USA, 853 p.
9. Lajoie MS, Thomas MC. 1991. Versatility of bicarbonate leavening bases. *Cereal Foods World* 36 (5), 420-424.
10. Launk RM, Tieckelmann RH. May 1988. Alkali metal acid pyrophosphate leavening acid compositions and methods for producing the same. US Patent 4, 741, 917.
11. AACC. 1990. American Association of Cereal Chemists, 8<sup>th</sup> Edition, St. Paul, MN.
12. ICC. 2002. International association for cereal science and technology, Vienna, Austria.
13. Francis FJ. 1999. *Acidulants*. In: *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology*, Fuller (chief ed), Volume 1, 2nd Edition, John Wiley and Sons. Inc., Hoboken, NJ, pp. 1-5.
14. AACC. 2002. American Association of Cereal Chemists, 10<sup>th</sup> Edition, St. Paul, MN.
15. Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O, Gürbüz F. 1987. *Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistiksel Metotları-II)*. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:1021, Ankara, Türkiye, 381 s.
16. Doğan İS, Uğur T. 2005. Van ve çevresinde yetiştirilen bazı buğdayların bisküvilik kalitesi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (2): 139-148.
17. Uysal H. 2005. Farklı kaynaklardan elde edilen besinsel liflerin bisküvi kalitesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek lisans tezi, Konya, Türkiye, 67 s.
18. Gündoğdu H. 1996. Bisküvi sanayisinde kullanılan unun özellikleri ve temin edilmesinde yaşanan problemler. 2. Un-Bulgur ve Bisküvi Sempozyumu, 28-30 Mayıs, Karaman, Türkiye, 195-196.
19. Pareyt B, Delcour JA. 2008. The role of wheat flour constituents, sugar and fat in low moisture cereal based products: a review on sugar-snap cookies. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48 (9), 824-839.
20. Öztürk S. 1998. Bisküvi üretiminde kullanılan hammaddeler ve özellikleri. *Un Mamulleri Dünyası* 7 (2): 76-78.
21. Baltsavias A, Jurgens A, Van Vilet T. 1999. Fracture properties of short-dough biscuits: Effect of composition. *J Cereal Sci*, 29, 235-244.
22. Akan T. 2004. Kek üretiminde kullanılan interesterifiye yağların kek kalitesine etkisi. Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek lisans tezi, Van, Türkiye, 30 s.
23. Manohar RS, Horidos Rao PH. 1997. Effect of sugars on the rheological characteristics of biscuit dough and quality of biscuits. *J Sci Food Agric*, 75 (3), 383-390.
24. Maache-Rezzoug Z, Bouvier JM, Allaf K, Patras C. 1998. Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. *J Food Eng*, 35 (1), 23-42.
25. Walker AC, Walker CE. 1996. Cake baking in conventional, impingement and hybrid ovens. *J Food Sci*, 61 (1), 188- 191.
26. Kimple ND, Keppens M. 1996. Novel syntheses of the major flavor components of bread and cooked rice. *J Agric Food Chem*, 44, 1515-1519.
27. Martinez-Anaya MA. 1996. Enzymes and bread flavor. *J Agric Food Chem*, 44 (9), 2470-2480.
28. Özkaya H, Seçkin R, Ercan R. 1984. Bazı bisküvi çeşitlerinin kimyasal özellikleri ile mineral ve vitamin içerikleri üzerinde araştırmalar. *GIDA* 9 (5): 245- 251.
29. Ünal SS, Özer Ç, Olcay M. 1996. Farklı tipteki bisküvilerin bazı kalite nitelikleri. 2. Un-Bulgur ve Bisküvi Sempozyumu, 28-30 Mayıs, Karaman, Türkiye, 197-206.
30. Sağlam, M. T., 1975. Toprağa tatbik edilen azotlu gübrelerden meydana gelen amonyak şeklindeki azot kayıpları *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 6 (2): 217-239.

## Author Instructions

GIDA (2009) 34 (1): 59-63

[www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org) / English / The Journal of FOOD /Author Instructions

## Manuscript Submission and Copyright Release Form

GIDA (2009) 34 (1): 67

[www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org) / English / The Journal of FOOD /Manuscript Submission and Copyright Release Form

## Final Check List

GIDA (2009) 34 (1): 68

[www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org) / English / The Journal of FOOD /Final Check List

can be reached from those addresses. Authors must read carefully the author instructions and prepare the manuscript accordingly.

## MAHLEP ŞARABININ AROMA MADDELERİNİN BELİRLENMESİ

Merve Darıcı, Zeynep Dilan Çelik, Turgut Cabaroğlu\*

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

Geliş tarihi/ Received: 30.10.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi/ Received in revised form: 23.12.2015

Kabul tarihi/ Accepted: 30.12.2015

### Özet

Bu çalışmada Tokat ilinde yetiştirilen Mahlep meyvesi ile aromatize edilmiş Mahlep şarabının genel bileşimi ve aroma maddeleri araştırılmıştır. Aroma maddeleri sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiş ve GC-MS-FID tekniği ile belirlenmiştir. Mahlep şarabında 63 adet aroma maddesi tanımlanmıştır. Bunların toplam miktarı 267.3 mg/L olarak saptanmıştır. Mahlep şarabında en yüksek miktarda bulunan aroma bileşikler yüksek alkollerdir. Bunları sırasıyla esterler, uçucu asitler ve uçucu fenoller izlemiştir. Aroma maddelerinin gruplara göre dağılımı, yüksek alkoller 13 adet ve 186.21 mg/L, esterler 18 adet ve 44.14 mg/L, uçucu asitler 9 adet ve 12.4 mg/L, 6C'lu bileşikler 2 adet ve 1.77 mg/L, uçucu fenoller 11 adet ve 14.79 mg/L, laktonlar 3 adet ve 4.01 mg/L, karbonil bileşikler 2 adet ve 2.75 mg/L ve 7 adet diğer aroma bileşikler olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiklerin içerisinde aroma aktiflik değeriyle öne çıkan ve mahlep şarabının aromasında etkili bileşikler ise propanol (tatlı), izoamil alkol (viski), 2-feniletanol (gül), etilvanilat (vanilya), izoamilasetat (muz), etilsinnemat (tarçın), öjenol (karanfil), maltol (karamel) ve özellikle mahlep meyvesinden gelen kumarinler (vişne) olarak belirlenmiştir. Duyusal değerlendirme sonucunda şarap beğenilmiş ve aroma açısından yüksek puan almıştır.

**Anahtar kelimeler:** Mahlep, Şarap, Aromatize, Aroma, GC-MS-FID, Aroma Aktif

## DETERMINATION OF AROMA COMPOUNDS OF MAHALEP WINE

### Abstract

In this study, the general composition and aroma compounds of wine aromatized with the fruit of *Prunus mahaleb* grown in Tokat province have been investigated. Aroma compounds were extracted by liquid-liquid extraction method and analyzed by GC-MS-FID technique. 63 aroma compounds in Mahaleb wine were identified. The total amount of aroma compounds in Mahaleb wine was 267.3 mg/L. The highest amounts of aroma compounds in Mahaleb wine were higher alcohols and followed by esters, volatile acids and volatile phenols, respectively. According to groups in the distribution of aroma compounds, 13 high alcohols and 186.21 mg/L, 18 esters and 44.14 mg/L, 9 volatile acids and 12.4 mg/L, 2 compounds of 6C and 1.77 mg/L, 11 volatile phenol and 14.79 mg/L, 3 lactone and 4.01 mg/L, and 2 carbonyl compound and 2.75 mg/L, and 7 other aroma compounds, were defined. Aroma active compounds of Mahaleb wine were propanol (sweet), isoamyl alcohol (whiskey), 2-phenylethyl alcohol (rose), ethylvanilat (vanilla), isoamyl acetate (banana), ethylcinnamate (cinnamon), eugenol (clove), maltol (caramel) and especially, coumarin compounds (cherry) from Mahaleb fruit. As a result of sensory evaluations, the wine was liked by panelist and was rated higher in terms of aroma.

**Keywords:** Mahaleb, Wine, Aromatize, Aroma, GC-MS-FID, Aroma-Active

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ tcabar@cu.edu.tr,

© (+90) 322 338 61 73/2172,

☎ (+90) 322 338 6614

## GİRİŞ

Mahlep şarabı; kırmızı şarabın Tokat ve çevresinde yetişen mahlep meyvesi ile aromalandırılması sonucu elde edilen ve hacmen %18 alkol içeren özel bir aromatik şaraptır. Bu şaraba karakteristik özelliklerini kazandıran mahlep meyvesidir.

Yabani bir meyve olan siyah mahlep vişne ve kirazın anacıdır. Mahlep (*Prunus mahaleb*) ağacı Rosaceae familyası, prunoidae altfamilyası üyesidir. Türkiye florasına ait bölgeler incelendiğinde Kuzey, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinin uçucu yağ içeren bitkilerce zengin olduğu görülmektedir. Bu bölgelerde *Prunus* cinsine dâhil olan *Prunus mahaleb* L. bitkisi yaygın olarak bulunmaktadır (1). *Rosaceae* familyasına bağlı *Prunus mahaleb* L.'nin vatanı Avrupa ve Batı Asya'dır. Bu bitkiler Güney Avrupa, Fransa, Güney Almanya, Kuzey Asya, Kafkasya ve Türkistan içlerine kadar uzanan oldukça geniş bir sahada doğal olarak yayılmıştır. Mahlep önceden yalnız Kuzey Anadolu Bölgesinde sınır bitkisi olarak yetiştirilirken, son yıllarda, gerek iç tüketimin, gerekse ihracatın artması sonucu özellikle kapama bahçelerin kurulması ile yetiştiriciliği hızla artmıştır (2).

Türkiye'de Tokat, Mardin, Çorum, Amasya, Ordu, Erzurum, Uşak ve Van'da mahlep doğal olarak yetişmektedir. Ağacın yerli isimleri bölgelere göre farklılık gösterir. Zile'de (Tokat) Endülüs; Tokat ve Amasya'da Mahlep veya Melhem; Merzifon'da (Amasya) ise İdris veya Pis Ağaç olarak adlandırılır (1). Mahlep kirazı da denilen mahlep, kiraz ağacının bir türüdür. 40 cm çapında bir gövde ile 2-10 m boyunda büyüyen, yaprak dökken beyaz çiçekli bir ağaç veya büyük bir çalır. Meyveleri seyrek salkım halindedir. Mahlep, küçük, yuvarlak ve sulu bir meyvedir. Olgunluğun erken dönemlerinde meyve rengi sarıdan kırmızıya dönerken, olgunlukla birlikte siyaha döner. Mahlep meyvesinin acı badem benzeri kuvvetli bir aroması vardır (2, 3).

Türkiye'de mahlep üretilen arazinin 18.375 hektarlık bir alan olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde toplanan Mahlep büyük ölçekte ihraç edilmektedir. Mahlebin birçok kullanım alanı mevcuttur. Türkiye'de halk hekimliğinde tonik veya antidiyabetik olarak, kek ve şeker yapımında ise tatlandırıcı ajan olarak kullanılmaktadır. Bugün mahlep, ihracat potansiyeli nedeniyle Türkiye için önemlidir (1).

Mahlep şarabı Gıda Mevzuatı açısından vermutun da içerisinde bulunduğu "Aromatize Şaraplar" sınıfında değerlendirilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Aromatize Şarap, Aromatize Şarap Bazlı İçki ve Aromatize Şarap Kokteyli Tebliği'ne göre Aromatize Şarap sofr şarabına veya likör şarabına aromatize edilmiş gıda alkolünün eklenmesiyle elde edilen şarabı ifade etmektedir.

Mahlep şarabı ülkemizde sadece Tokat ilinde Diren Şarapçılık tarafından üretilmektedir. Üretim mahlebin az bulunması sebebiyle her yıl kısıtlı miktarlarda yapılmaktadır. Şarap üretiminde genellikle Boğazkere ve Öküzgözü üzümlerinden elde edilen şaraplar kullanılmaktadır. Bugüne kadar mahlep şarabı üzerine yapılmış bilimsel bir araştırma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, aromatize mahlep şarabının genel bileşimini ve aroma bileşiklerini ortaya koymaktır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada kullanılan aromatize mahlep şarapları Tokat ilindeki Diren Şarapçılık A.Ş.'den temin edilmiştir.

### Mahlep Şarabı Üretimi

Mahlep meyvesinin gıda alkolü ile belirli koşullar ve oranlarda maserasyonu sonucu elde edilen aromatize alkol ile Öküzgözü ve Boğazkere üzümlerinden üretilen kısmi fermente kırmızı şarap ile karıştırılarak mahlep şarabı elde edilmiştir.

Mahlep Meyvesi *Mahaleb Fruit* + Gıda Alkolü *Food Alcohol* ⇒ Ekstraksiyon *Extraction* ⇒ Kısmi Fermente Kırmızı Şarap ile Karıştırma *Mixing with Partial fermented Red Wine* ⇒ Mahlep Şarabı *Mahaleb Wine*

Şekil 1. Mahlep Şarabı Üretimi  
Figure 1. Production of Mahaleb Wine

### Şaraplarda Yapılan Analizler

Şaraplarda yoğunluk, alkol, kuru madde, toplam asitlik, pH, indirgen şeker, uçar asit, toplam fenol bileşikleri, renk yoğunluğu ve renk tonu analizleri, serbest ve toplam SO<sub>2</sub> analizleri (4, 5) yapılmıştır.

### Aroma Maddelerinin Analizleri

Aroma Ekstraksiyonu: Şarapların aroma maddelerinin ekstraksiyonu sıvı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile Darıcı ve Cabaroğlu (6)'na göre yapılmıştır.

**GC-FID, GC-MS ve GC-O koşulları:** Aroma maddelerinin miktar tayininde ve tanısında, "Agilent 6890N" marka alev iyonlaşma dedektörlü (FID) gaz kromatografisine bağlı "Agilent 5975B VL MSD" marka kütle spektrometresi kullanılmıştır. GC-FID ve GC-MS çalışma koşulları Selli ve ark. (7)' na göre uygulanmıştır. Piklerin tanısı, standardı bulunan bileşikler için standart çözelti enjekte edilerek, standardı olmayan bileşikler için kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki kütle spektrumlarıyla karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin konsantrasyonları iç standart yöntemiyle hesaplanmıştır (8, 9).

### Duyusal Analiz

Şarapların duyu analizlerinde "Lezzet Profil Analizi" uygulanmıştır (10). Duyusal analizler yaşları 23-50 arasında değişen 11 kişilik bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistlere 1 saat süren 5 farklı oturum uygulanmıştır. İlk oturumda, panelistler aromate şaraplar için tanımlayıcı terimler oluşturmuşlardır. İkinci ve üçüncü oturumlarda farklı lezzet standartları sunulmuş ve panelistler tarafından tartışılmıştır. Bu oturumlardan sonra 8 farklı lezzet kriteri belirlenmiştir. Son olarak dördüncü ve beşinci oturumlarda, panelistler her bir kriter için şarabı 10 puan üzerinden değerlendirmişlerdir. Her iki oturumda, şaraplar (20 ml ve 20 °C) kodlanmış lale şeklindeki şarap bardaklarında rastgele bir düzende servis edilmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Mahlep Şarabının Genel Bileşimi

Öküzgözü üzümlerinden elde edilen mahlep şarabının genel bileşimi Çizelge 1'de verilmiştir.

Mahlep şarabında gerçek alkol miktarı hacmen %18 bulunmuştur. İlgili kodekse göre aromate şarapların gerçek alkol miktarı hacmen %14.5 ile %22 arasında bulunmalıdır. Görüldüğü gibi Mahlep şarabının alkol miktarı gıda mevzuatına uygun bulunmuştur.

Asitlik şarabın tadı, dayanıklılığı ve renk tonu üzerine etkilidir, şaraba tazelik kazandırır ve tanenlerin burukluğunu artırarak şarabın aromasını etkiler (11, 12). Mahlep şarabının toplam asitliği tartarik asit cinsinden 7.8 g/L bulunmuştur.

Mahlep şarabının indirgen şeker miktarı 155 g/L olarak saptanmıştır. Aromate şaraplar tebliğine göre mahlep şarabı indirgen şeker miktarına göre tatlı aromate şarap grubuna dahildir (13).

Fenol bileşikleri üzümün ve şarabın önemli bileşenleri arasındadır ve şarabın rengi ve tadı üzerine etkilidir (14). Mahlep şarabındaki toplam fenol bileşiği miktarı gallik asit cinsinden 1270.1 mg/L olarak belirlenmiştir.

#### Mahlep Şarabının Aroma Maddeleri Bileşimi

Mahlep şarabında 63 adet aroma maddesi tanımlanmıştır. Şarapta bulunan toplam aroma maddelerinin miktarları Çizelge 2'de verilmiştir. Aroma maddelerinin toplam miktarı 267.3 mg/L olarak bulunmuştur. En yüksek miktarda bulunan bileşik grupları yüksek alkollerdir, bunu sırasıyla esterler ve uçucu asitler izlemiştir.

Çizelge 1. Mahlep Şarabının Bileşimi  
Table 1. Composition of Mahaleb Wine

Analizler Analyses	Mahlep Şarabı Mahaleb Wine
Gerçek Alkol (%h/h) <i>Real Alcohol</i>	18
Toplam Alkol (%h/h)* <i>Total Alcohol</i>	27
Yoğunluk (g/cm <sup>3</sup> , 20 °C) <i>Density</i>	1.0256
Kuru madde (g/L) <i>Dry Matter</i>	17.5
Toplam asitlik (g/L)** <i>Total Acidity</i>	7.8
pH <i>pH</i>	3.9
İndirgen şeker (g/L) <i>Residual Sugar</i>	155
Serbest SO <sub>2</sub> (mg/L) <i>Free SO<sub>2</sub></i>	13
Toplam SO <sub>2</sub> (mg/L) <i>Total SO<sub>2</sub></i>	35
Uçar asit (g/L)*** <i>Volatile Acidity</i>	0.35
Toplam fenol bileşikleri (mg/L)**** <i>Total Phenolic Compounds</i>	1270.1
Renk yoğunluğu (OY <sub>420</sub> +OY <sub>520</sub> +OY <sub>620</sub> ) <i>Colour Intensity</i>	1.091
Renk tonu (OY <sub>420</sub> /OY <sub>520</sub> ) <i>Tint</i>	0.94
% OY <sub>420</sub> % OD <sub>420</sub>	41.25
% OY <sub>520</sub> % OD <sub>520</sub>	43.81
% OY <sub>620</sub> % OD <sub>620</sub>	14.94

\*Gerçek alkol ile şekerden gelen potansiyel alkolün toplamı, \*\*Tartarik asit cinsinden, \*\*\*Asetik asit cinsinden,\*\*\*\* Gallik asit cinsinden  
\*Total of Real alcohol and potential alcohol from sugar, \*\*In terms of tartaric acid, \*\*\*In terms of acetic acid,\*\*\*\* In terms of gallic acid

Çizelge 2. Mahlep Şarabının Toplam Aroma Maddeleri Miktarları  
Table 2. Total Amounts of Aroma Groups in Mahaleb Wine

Gruplar Groups	Miktar (mg/L) Amounts
Yüksek alkoller <i>Higher alcohols</i>	186.2
Esterler <i>Esters</i>	44.1
Uçucu asitler <i>Volatile acids</i>	12.4
Uçucu fenoller <i>Volatile phenols</i>	14.8
Laktonlar <i>Lactones</i>	4.0
Karbonil bileşikler <i>Carbonyl compounds</i>	2.8
6 karbonlu bileşikler <i>C6 Compounds</i>	1.8
Diğerleri <i>Others</i>	1.2

Mahlep şarabında tanımlanan aroma maddeleri, Kovats indeks değerleri, miktarları ile Algılama Eşik Değeri (AED) ve Aroma Aktiflik Değerleri (AAD) Çizelge 3'de görülmektedir.

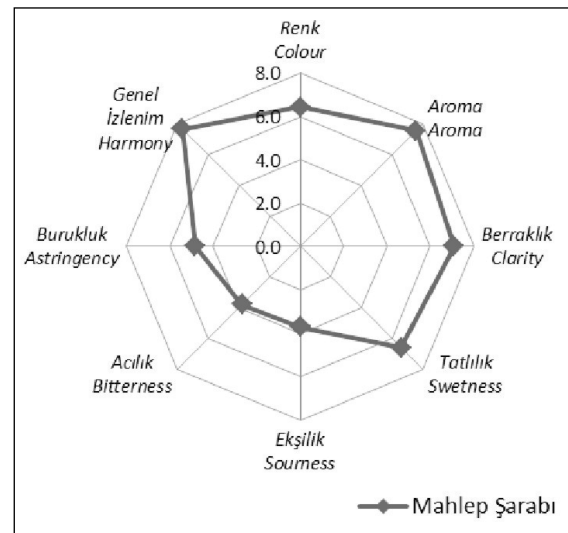
Aroma bileşiklerinin gruptaki toplam miktarlarına bakılacak olursa yüksek alkoller 186.2 mg/L ile en yüksek miktarda belirlenen gruptur. Yüksek alkoller şaraplarda miktar olarak en fazla bulunan aroma maddeleridir. Yüksek alkoller genellikle alkol fermantasyonu sırasında mayalar tarafından amino asitler ve şekerlerden üretilirler, çok düşük bir miktarda üzümde şaraba geçer. İsobutanol, 1-butanol, isoamil alkol, benzil alkol gibi şarapta yüksek miktarlarda bulunan alkoller güçlü ve keskin koku ve tatları ile tanımlanırlar. Bunlar içerisinde 2-fenil etanol ve benzil alkol aromatik açıdan önemli yüksek alkollerdir. Miktarları 400 mg/L'yi geçtiğinde şarap kalitesini negatif olarak etkilerler (15). Sayı olarak Mahlep şarabında 13 adet yüksek alkol bileşiği tanımlanmıştır. Aroma aktiflik değerlerine bakıldığında en yüksek değer propanol bileşiğinde belirlenmiştir ve bunu izoamil alkol ve 2-fenil etanol bileşiği takip etmiştir. Etievant (16), 2-fenil etanol bileşiğinin gül kokusuna sahip olduğunu ve şarapta önemli bir aroma maddesi olduğunu belirtmiştir.

Esteler meyvemsi tat ve kokulara sahiptirler. Kimyasal ve enzimatik reaksiyonlar sonucu oluşurlar. Asitler ve alkoller arasında meydana gelen kimyasal reaksiyonlar sonucu ester oluşumu yavaştır. Çoğunlukla mayalar tarafından fermantasyon ikincil ürünleri olarak biyokimyasal yolla üretilirler. Mahlep şarabında 18 adet ester bileşiği tanımlanmıştır. Esterler sayı olarak mahlep şarabında en fazla tanımlanan bileşikler olmuştur. Yağ asitlerinin ve asetatların etil esterleri uzun zamandan beri şarap aromasını arttıran önemli bileşikler olarak görülmektedirler. Bilindiği gibi bu bileşikler şarapta büyük oranda fermantasyon

sırasında açığa çıkarlar ve meyvemsi veya çiçeksi kokular vererek şaraba karakteristik bir özellik kazandırır (16, 17). Mahlep şarabında toplam ester miktarı 44 mg/L olarak belirlenmiştir. Mahlep şarabında saptanan esterler içerisinde aroma aktiflik değeri en yüksek bileşikler meyvemsi ve tarçın kokuları veren etil sinnemat ve muz kokusu veren izoamil asetat'tır.

Şaraplarda aroma üzerine etkili olan asitler yağ asitleridir. Bunların en önemlileri asetik, bütanoik, hekzanoik, 3-metil bütanoik ve oktanoik asitlerdir. Yağ asitleri maya ve bakteriler tarafından fermantasyon sırasında sentezlenir. Oktanoik, dekanolik ve hekzanoik asitler gibi orta uzunluktaki yağ asitleri mayalar tarafından üretilir (18). Mahlep şarabında toplam uçucu asit miktarı 12.4 mg/L bulunmuş ve 9 adet bileşik tanımlanmıştır.

Mahlep şarabında 11 adet uçucu fenol bileşiği tanımlanmış ve bunların toplam miktarı 14.8 mg/L bulunmuştur. Şarapta bulunan ve kuvvetli kokulara sahip olan uçucu fenoller üzümdeki fenolik asitlerin, fermantasyon sırasında mayalarda bulunan dekarboksilaz enziminin etkisiyle parçalanması sonucu oluşurlar (18). Mahlep şarabında daha önce normal şaraplarda tespit edilmeyen bazı önemli uçucu fenoller tanımlanmıştır. Miktar olarak en fazla bulunan maddeler kumarin ve türevleridir. Bu bileşikler kumaran, kumarin, 7-metoksi-kumarin, 3,4-dihidroksi-kumarindir. Kumarin ve türevlerinin mahlep meyvesinden geldiği ve büyük oranda mahlep şarabının karakteristik aromasını oluşturduğu belirlenmiştir. İeri ve ark (19), Mastelic ve ark (3)



Şekil 2. Mahlep Şarabının Lezzet Profil Diyagramı  
Figure 2. Flavor Profile Diagram of Mahaleb Wine

## Mahlep Şarabının Aroma Maddelerinin Belirlenmesi

Çizelge 3. Mahlep Şarabında Tanımlanan Aroma Maddeleri ve Miktarları  
Table 3. Aroma Compounds Identified and Quantified in Mahaleb Wine

RI	Aroma Maddeleri Aroma Compounds	Miktar(µg/L) Amount	AED* (µg/L) OTV	AAD OAV	ID
<b>Yüksek Alkoller Higher Alcohols</b>					
832	Propanol	4767	830	5.743	A,B,C
1165	1-Bütanol	1038	150000	0.007	A,B,C
1295	3-Pentanol	51	-	-	A,B,C
1302	3-Etoksiopropanol	129	-	-	B
1343	Izoamilalkol	128351	30000	4.278	B,C
1562	2,3-Bütandiol	1376	50000	0.009	B
1607	Metionol	378	1000	0.378	B
1613	Izobütanol	25051	40000	0.626	B,C
1804	Benzil alkol	585	200000	0.003	B,C
1808	2-Fenil etanol	18109	14000	1.290	A,B,C
2103	2-Dodekanol	51	-	-	B
2774	1H-İndol-3-etanol	732	-	-	B
2872	Tetrahidro-2-naftol	5598	-	-	B
<b>Esterler Esters</b>					
1034	Izoamilasetat	284	30	9.467	A,B,C
1248	Metil laktat	59	-	-	B,C
1429	Etil-3-hidroksi bütanoat	293	20000	0.014	B,C
1523	Etil laktat	21197	154000	0.137	B,C
1549	Etil oktanoat	404	580	0.696	A,B,C
1628	Etil benzoat	796	-	-	B,C
1714	Etil-4-hidroksi bütanoat	1035	-	-	B,C
1910	Metil-3-furan karboksilat	57	-	-	B,C
1929	Dietil malat	2681	760000	0.003	B
2016	Dietil süksinat	2817	200000	0.014	B,C
2058	Dietil-2-hidroksi pentandioat	364	-	-	B
2076	Etil hidrojen süksinat	11434	-	-	B,C
2194	Dimetil-2-propoksi bütandioat	30	-	-	B
2438	Metil vanilat	58	3000	0.019	B
2557	Etil vanilat	1935	990	1.954	B
2674	Monometil süksinat	171	-	-	B
2746	Etil sinnemat	66	1.1	60.0	B,C
2979	Etil paraben	699	-	-	B
<b>Uçucu Asitler Volatile Acids</b>					
1330	Asetik asit	4439	200000	0.022	B,C
1448	Propiyonik asit	614	8100	0.075	B,C
1524	Bütanoik asit	552	173	3.190	B,C
1746	Hekzanoik asit	1634	420	3.890	B,C
1861	2-Hekzanoik asit	51	-	-	B
1964	Oktanoik asit	1682	500	3.364	B,C
2176	Dodekanoik asit	308	-	-	B
2327	4-Hekzil-2,5-dioksifuran asetik asit	476	-	-	B
3248	Plumbagik asit	2688	-	-	B
<b>Uçucu Fenoller Volatile Phenols</b>					
1972	Fenol	43	-	-	B,C
1987	p-Cresol	118	-	-	B,C
2004	2,5-Dimetil fenol	25	-	-	B
2030	Ojenol	54	6	9.000	B,C
2091	4-Vinil guaiacol	444	1100	0.403	B,C
2142	3,4-Dihidrosikumarin	8503	-	-	B
2150	Kumaran	397	-	-	B
2284	Kumarin	1561	-	-	B
2804	Tirozol	1195	-	-	B
2821	7-Metoksikumarin	2231	-	-	B
2938	3,4,5-Trimetoksifenol	228	-	-	B
<b>Karbonil Bileşikleri Carbonyl Compounds</b>					
1204	Asetoin	2703	150000	0.018	B,C
1397	cis-5-Hidroksi-2-metil-1,3-dioksan	49	-	-	B
<b>6C'lu Bileşikler 6C Compounds</b>					
1314	cis-3-Hekzanol	118	400	0.295	B
1285	1-Hekzanol	1656	8000	0.207	B
<b>Laktonlar Lactones</b>					
1502	gama Bütirolakton	3379	35000	0.096	A,B,C
2414	Pantolakton	111	-	-	B
2673	4-Karboetoksi-gama bütirolakton	530	-	-	B
<b>Diğerleri Others</b>					
1606	Izopentin	184	-	-	B
1837	Maltol	30	-	-	B
2298	2,3-Dihidro tiopen	503	-	-	B
2767	Glutakonik anhidrit	113	-	-	B
2909	Nonakosen	365	-	-	B

\*Ferreira ve ark., 2002 (21). RI, Kovats indeks değeri; ID, Tanımlama; A, Standart kullanarak tanımlama; B, kütle spektrometresi kullanarak tanımlama; C, Alıkonma indeksi literatürle karşılaştırarak tanımlama; AED, algılanma eşik değeri; AAD, aroma aktiflik değeri.

\*Ferreira et al. 2002 (21). RI is identified in DB-Wax Column. ID, Identification; A, Identification with standards; B, Identification with mass spectrometer; C, Identification with retention index in the literature; OTV, Odour Threshold Value; OAV, Odour Activity Value

mahlep meyvesinde bulunan ana uçucu bileşiği kumarin olarak belirlemiştir.

Şaraptaki laktonların büyük bir kısmı maya faaliyetleri sonucunda oluşmaktadır. Gama bütirolakton şaraplardaki en önemli laktondur ve genellikle tüm şaraplarda bulunurlar (20). Mahlep şarabında miktar olarak en fazla bulunan lakton gama-bütirolakton olmuştur.

#### **Mahlep Şarabının Duyusal Özellikleri**

Lezzet profili analiz sonuçları Şekil 2' deki örümcek ağı diyagramında gösterilmiştir. Görüldüğü gibi mahlep şarabı duyusal olarak beğenilmiş renk ve aroma açısından yüksek puanlar almıştır.

#### **SONUÇ**

Mahlep şarabı, Tokat ilinde üretilen özel bir aromatize şaraptır. Mahlep şarabında 63 adet aroma maddesi tanımlanmış ve bunların toplam miktarı ise 267.3 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu bileşiklerin içinde aroma aktiflik (AAD) değeri 1'den yüksek olan mahlep şarabının aromasında etkili bileşikler sırasıyla etilsinnemat (tarçın), öjenol (karanfil), izoamilasetat (muz), propanol (tatlı), izoamil alkol (viski), hekzanoik asit, oktanoik asit, bütanoik asit, etilvanilat (vanilya), 2-feniletanol (gül) olarak saptanmıştır. Bunların yanında AAD'si hesaplanamayan fakat duyusal olarak mahlep şarabında etkili olduğu belirlenen mahlep meyvesinden gelen aroma bileşikleri ise kumaran, kumarin, 7-metoksikumarin, 3,4-dihidroksikumarin olarak tanımlanmıştır. Duyusal olarak Mahlep şarabı beğenilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları bu ürüne coğrafi işaret alınmasında ve bileşenlerinin standardize edilmesinde kullanılabilir.

**Teşekkür:** Bu araştırmayı destekleyen Diren Şarapları A.Ş.'ye ve Diren Şarapları'ndan Gıda Mühendisi Özgür Erciyes'e teşekkür ederiz.

#### **KAYNAKLAR**

1. Aydın C, Ögüt H, Konak M, 2002. Some Physical Properties of Turkish Mahalep. *Biosystem Eng*, 82(2), 231-234.
2. Öztürk İ, Karaman S, Başlar M, Cam M, Çalışkan Ö, Sağdıç O, Yalçın H, 2013. Aroma, Sugar and Anthocyanin Profile of Fruit and Seed of Mahalep (*Prunusu mahalep L.*): Optimization of Bioactive Compounds Extraction by Simplex Lattice Mixture Design. *Food Ana. Methods*. 10.1007/s12161-013-9679-4.

3. Mastelic J, Jerkovic I, Mesic M, 2006. Volatile constituents from flowers, leaves, bark and wood of *Prunus mahaleb L.* *Flavour Fragr J*, 21: 306-313.
4. Anonim, 2005. Community Methods for the Analysis of Wines, EEC No 2676/90. Office of Official Publications of the European Communities, 194 s.
5. Ough CS, Amerine MA, 1988. Methods for Analysis of Musts and Wines, John Willey and Sons, New York, 377s.
6. Darıcı M, Cabaroğlu T, 2013. Denizli ilinin değişik rakımlı alt bölgelerinden sağlanan Çalkarası üzümünden elde edilen pembe şarapların aroma maddelerinin belirlenmesi. *GIDA* 38 (4): 207-214
7. Selli S, Canbaş A, Cabaroğlu T, Erten H, Nurgel C, Lepoutre JP, Günata Z, 2004. Volatile composition of red wine from cv. Kalecik Karası grown in central Anatolia. *Food Chem*, 85, 207-213.
8. Schneider R, Baumes R, Bayanove C, Razungles A, 1998. Volatile compounds involved in the aroma of sweet fortified wines (Vins Doux Naturels) from Grenache Noir. *J Agric Food Chem*. 46: 3230-3237.
9. Schneider R, Razungles A, Augier C, Baumes R, 2001. Monoterpenic and Norisoprenoidic Glycoconjugates of *Vitis vinifera L.* cv. Melon B. As Precursors of Odorants in Muscadet Wines. *J Chromatogr A*, 936, 145-157.
10. Altuğ T ve Elmacı Y, 2005. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Müh. Bölümü, Meta Basım, Bornova, İzmir, 92s.
11. Navarre R, 1988. *L'Oenologie, Tec.&Doc.*, Lavoisier, Paris, 331 s.
12. Canbaş A, 2005. Şarap Teknolojisi Ders Notları, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi (Yayınlanmadı), Adana, 164(s).
13. Anonim, 2006. Tarım, Hayvancılık ve Gıda Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Aromatize Şarap, Aromatize Şarap Bazlı İçki ve Aromatize Şarap Kokteyli Tebliği, Tebliğ No: 2006/28, 9(s).
14. Deryaoğlu A, Colin JL, Canbaş A, 1997. Öküzgözü ve Boğazkere Üzümlerinden Elde Edilen Şaraplardaki Fenol Bileşikleri Üzerine Cibre Fermantasyonu Süresinin Etkisi. *GIDA*, 22(5), 337-343.
15. Rapp A, Versini G, 1991. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In: J.M. Rantz (Ed.): Proc. Int. Symp. on Nitrogen in Grapes and Wine, 18-19 June 1991, 156-164, Seattle, Washington, USA. ASEV publ, Davis, CA.



16. Etiévant PX, 1991. Wine. In: Volatile compounds of food and beverages, H. Maarse (Ed.), 483-546. Marcel Dekker, Inc., New York.
17. Ribéreau-Gayon P, Gloires Y, Maujean A, Dubourdieu D, 2006. Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments, John Wiley and Sons, Ltd., England.
18. Darıcı M, 2011. Denizli ilinin değişik rakımlı alt bölgelerinden sağlanan Çalkarası üzümlerinin ve bu üzümlerden elde edilen pembe şarapların aroma maddelerinin belirlenmesi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Ens. Gıda Müh. Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, (85)s.
19. Ieri F, Pinelli P, Romani A, 2012. Simultaneous determination of anthocyanins, coumarines and phenolic acids in fruits, kernels and liqueur of Prunus Mahalep L.. *Food Chem*, 135: 2157-2162.
20. Vornam AH, Sutherland JP, 1984. Beverages, Technology, Chemistry and Microbiology, Chapman and Hall, 386-392.
21. Ferreira V, Ortin N, Escudero A, Lopez R, Cacho JF, 2002. Chemical characterization of the aroma of grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *J Agric Food Chem*, 50, 4048-4054.

## Türkiye 12. Gıda Kongresi Takvimi

**01 Mayıs 2016 tarihinden sonra gönderilen bildirimler geç kayıt ücreti tarifesiyle ücretlendirilecektir.**

Kongre takvimi aşağıdaki gibidir

<b>01 Temmuz 2015</b>	: 1. Duyuru ve bildiri özetlerinin gönderilmeye başlanması
<b>01 Mayıs 2016</b>	: Bildiri kabulü için son tarih*
<b>01 Haziran 2016</b>	: Yazarlara sonucun bildirilmesi
<b>01 Ağustos 2016</b>	: Erken kayıt için son tarih
<b>15 Eylül 2016</b>	: Normal (standart) kayıt için son tarih
<b>04 Ekim 2016</b>	: Kongre merkezinde kayıtların başlaması, gıda mikrobiyolojisi ve bitkisel yağ analizleri kursları, açılış kokteyli
<b>05 Ekim 2016</b>	: Kongrenin başlaması
<b>07 Ekim 2016</b>	: Kongrenin kapanışı ve sosyal program (Edirne Şehir Turu)
<b>08 Ekim 2016</b>	: Sosyal Program

\*02 Mayıs-01 Eylül 2016 tarihleri arasında da bildiri başvurusu yapılabilir. Bunlar, içeriği ve yazarın tercihi her ne olursa olsun poster olarak değerlendirilmek üzere hakemlere gönderilecektir. Kabul edilenlerin, bildiri özeti kitabında basılacağı garantisizdir. Bu bildirimler, kongre takvimi uyarınca sadece geç kayıt ücreti ile kongre kaydına alınabilir.

Kongre programında bildiri özetleri gönderilmesi aşamasında yeterli bir esneklik olduğu için bildiri özetlerinin gönderilme ve erken/ standart/ geç kayıt ücreti ödeme tarihlerinde herhangi bir **uzatma yapılmayacaktır.**

Ayrıntılı bilgi: <http://gidakongresi2016.org/>

## EKŞİ HAMUR FERMANTASYONUNUN EKMEĞİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİ VE BİYOYARARLANIMI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Müge Hendek Ertop<sup>1\*</sup>, Mehmet Hayta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Gümüşhane

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

Geliş tarihi / Received: 24.08.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 18.11.2015

Kabul tarihi / Accepted: 20.01.2016

### Özet

Ekşi hamur çok uzun yıllardır ekmek üretiminde kullanılmakta olup, ekmeğin kalitesini ve raf ömrünü olumlu yönde etkileyen geleneksel bir üründür. Un, su ve ortamdan gelen mikroorganizmaların etkisiyle hamurun doğal fermantasyona uğraması veya starter olarak laktik asit bakterilerinin (LAB) un, su karışımına ilave edilmesi sonucunda oluşmaktadır. Her iki yöntemde de, ekşi hamur LAB mikroflorasının niteliklerine göre meydana gelen metabolitler, ekmeğin besinsel, lezzet, tekstürel ve diğer fizikokimyasal niteliklerini etkilemektedir. Ekşi hamur fermantasyonu sonucu meydana gelen biyokimyasal değişiklikler ve metabolitler sayesinde, ekmeğin biyoaktif bileşenleri ve bunların biyoyararlanımında da değişim meydana gelmektedir. Bunlar, protein ve mineral biyoyararlanımında artış, biyoaktif bileşen içeriğinde zenginleşme ve değişim, dirençli nişasta içeriğinde yükselme, eksopolisakkaritlerin oluşumu, gliadin (çölyak hastaları için toksik protein) degradasyonu, nişastanın mikrobiyel hidrolizi ile ekmeğin sertleşmesinin ve bayatlamasının önlenmesi, diyet lif içeriğinde yükselme, fitaz aktivitesinde ve safra bağlama kapasitesinde artış, fenolik bileşiklerin etkisiyle ortaya çıkan antioksidan aktivite gibi çoğu besinsel açıdan olumlu etkilerdir.

**Anahtar kelimeler:** Ekşi hamur, biyoaktivite, biyoyararlanım, protein sindirilebilirliği, enzime dirençli nişasta

## THE EFFECT of SOURDOUGH FERMENTATION on BREAD BIOACTIVE COMPOUNDS and THEIR BIOAVAILABILITY

### Abstract

The sourdough is a traditional method that has been used in bread making from ancient time and positively affects the quality and shelf life of bread. It occurs as a result of spontaneous fermentation of dough through the microorganisms from flour, water and environment; or it is produced by adding lactic acid bacteria (LAB) as starter to the flour/water mixture. In both methods, the formed metabolites depending on the sourdough microflora, affects the nutritional, flavour, textural and other physicochemical characteristics of the bread. The alterations on the bioactive attributes and the bioavailability of the bread result from biochemical reactions and metabolites of the sourdough fermentation. Most of them are nutritionally favorable effects such as; increase in the protein and mineral bioavailability, enrichment of bioactive compounds content, increase in resistant starch content, the formation of exopolysaccharides, gliadin (toxic to celiac patients) degradation, increase in dietary fiber content, increase in phytase activity, bile acids binding capacity and antioxidant activity due to phenolic compounds.

**Keywords:** Sourdough, bioactivity, bioavailability, protein digestibility, enzyme resistant starch

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ muge.ertop@gumushane.edu.tr,

© (+90) 456 233 7425/1871,

☎ (+90) 456 233 7567

## GİRİŞ

Ekşi hamur teknolojisi, un ve su karışımının ortamdaki ve hammaddeden gelen laktik asit bakterileri ve mayalarla doğal fermantasyona uğratılması, kademeli fermantasyonla hamur mikrobiyotasının teşekkülü ve asitlik gelişiminin sağlandığı bir yöntemdir (1). Ekmek üretiminde ekşi hamur çok uzun yıllardır kullanılan bir yöntem olup, geleneksel yapımla kademeli fermantasyon yöntemine dayanması, emek yoğun ve zaman alıcı bir yöntem olması, sektörel olarak kullanımını kısıtlamıştır. Özellikle günümüzde fırıncılık ürünleri sektörünün endüstriyel ölçekli yapıya geçişi, beraberinde kapasite artırma ve hızlı üretim gibi amaçlar, ekmeğin ve çeşitlerinde fermentasyon süresinin kısaltılmasını zorunlu kılmış, bu durum ekşi hamurun da içinde yer aldığı bazı geleneksel yöntemlerin terk edilmesine neden olmuştur. Oysa günümüz tüketici tercihleri doğal, katkısız, rafine olmayan ürünler ve üretim yöntemleri doğrultusunda değişmeye başlamıştır. Üstelik ekmekte olduğu gibi katkı maddelerinin kullanımına yasal sınırlar getirilmekte veya tamamen kullanımları yasaklanmaktadır. Tüketici tercihlerindeki bu yönelim, son dönemlerde geleneksel metotlara yönelişi ve bu yöntemlerin temelindeki inovasyonun bilimsel olarak irdelenmesini de beraberinde getirmiştir.

Ekşi hamur kullanımı ekmeğin aromatik yapısını zenginleştirmekte, raf ömrünü uzatırken kalitesini de geliştirmektedir. Bu olumlu etkiler, ekşi hamur fermantasyonu sırasında laktik asit bakterilerinin ürettiği laktik (2), asetik (3) ve propiyonik asit (2) gibi organik asitler, eksopolisakkaritler, enzimler gibi birçok metabolitin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (4-7). Ekşi hamurda, ortam kaynakları ve çevre koşullarının bir sonucu olarak laktik asit bakterileri ve mayalar rekabet gösterirler. Aralarındaki interaksiyonla birlikte sonuçta heterojen bir popülasyon ve farklı metabolitler meydana gelir (8). Ekşi hamurun temelinde tahıl fermantasyonu vardır ve tahıl fermantasyonu besinsel kaliteyi ve gıdaların sağlık etkilerini geliştirdiğinden dolayı önemli bir potansiyele sahiptir (9). Fermantasyon, özellikle tam tahıl, lifçe zengin ve glutensiz fırıncılık ürünlerinin duyu kalitesini geliştirmektedir. Ekşi hamur nişasta sindirilebilirliğini aktif olarak geciktirdiğinden dolayı kanın glisemik indeks değerini yükseltmez, kan şekeri seviyesini ayarlar, biyoaktif bileşiklerin gelişimini sağlar ve mineral biyoyararlanımı artırır. Tahılların fermantasyonu sindirilemeyen polisakkaritlerin üretimini sağlayabilme veya bağırsak mikrobiyotası için kompleks tahıl liflerinin geçişini modifiye edebilme özelliğine sahiptir.

Aynı zamanda gluten degradasyonunu sağlar ve bu durum çölyak hastaları için de kullanılabilir bir özelliktir (10).

## BIYOAKTİF BİLEŞİKLER

Fitokimyasallar biyolojik olarak aktif bileşikler olup, genellikle tahıl tanesinin kepek gibi dış katmanlarında lokalize olmuşlardır (11). Fitokimyasallar, fenolik asitler başta olmak üzere alkilresorsinol, lignanlar, fitosteroller ve tokollerden oluşmaktadır. Fırıncılık ürünlerinin antioksidatif özellikleri kullanılan tahılın değişken içeriğine (12) ve fitokimyasalların biyoyararlanımına bağlıdır (13) ki bu da gıdanın işleme, tahılın öğütme sürecine dayanmaktadır (11). Tahıl tanesindeki biyoaktif bileşiklerin seviyesi işleme ve prosesine bağlı olarak azalmakta veya artmakta, bu bileşiklerin biyoyararlanımı modifiye olabilmektedir. Ekşi hamur prosesi de biyoaktif bileşiklerin seviyesini etkileyen bir süreçtir (14). Buğday kepeği-un karışımı ve çavdar unu ekşi hamur fermantasyonuna maruz bırakıldığında, antioksidatif potansiyelinin normal ürünlere göre çok daha yüksek olduğu bildirilmektedir (15).

Fırıncılık ürünlerinde antioksidan kapasitenin çeşitli faktörlerden olumlu veya olumsuz yönde etkilendiği bilinmektedir. Bunlardan en önemlisi unlardaki yüksek ekstraksiyon oranıdır ki son üründe yüksek antioksidan kapasiteye neden olmaktadır. Ancak ürünün pişirilmesi sırasında uygulanan ısı işleminin un ve hamura göre son üründe düşüşe neden olduğu da bilinmektedir. Hendek Ertop (2014) tarafından yapılan çalışmada kontrol ekmeğinin antioksidan aktivitesi, % inhibisyon olarak % 6.37 olarak bulunurken, ekşi hamur fermantasyonuyla üretilen ekmeğin %11.92, kepekli unla üretilmiş ekşi hamur kullanılan ekmeğin ise %19.51 olarak bulunmuştur. Buna göre ekşi hamur ilavesi ve ekşi hamur yapımında kepek kullanımı ekmeğin antioksidan aktivitelerini artırdığı belirlenmiştir (16).

Ekşi hamur fermantasyonunun antioksidatif aktivitede artışa neden olması farklı biyokimyasal ve metabolik olaylarla açıklanabilir. Ekşi hamurdaki LAB'lerinin metabolizması, fermantasyon süresince lipit oksidasyonu yapabilir veya kuvvetli antioksidatif etki oluşturabilir. Homofermatif laktobasillerin lipit oksidasyonunu artırdığı bilinmektedir (17). Ayrıca pişme sırasında, indirgen şekerlerin karbonil grupları ve proteinler arasındaki reaksiyonun sonucu olarak Maillard reaksiyon ürünleri de baskın olarak ekmeğin kabuğunda meydana gelmektedir (18). Bu ürünler insan sağlığına zararlı olduğu bilinmekle birlikte, yapılan bazı çalışmalar bu bileşiklerin antioksidatif özellik

taşıdığını ve fırıncılık ürünlerinin özellikle kabuk kısımlarının da bu özelliğı kazanmasına neden olduklarını belirtmektedir (19).

Diğer bir yaklaşım da, ekşi hamur fermantasyonuyla meydana gelen asidifikasyon ve proteoliz arasındaki etkileşimin sonucunda biyoaktif peptitlerin oluşumudur (20). Biyoaktif peptitler insan vücut fonksiyonlarını ve kondüsyonunu direkt etkileyen spesifik protein fragmentleridir. Genellikle, biyoaktif peptitler bitkisel proteolitik enzimler ile mikrobiyel ve sindirim enzimlerinin bazı doğal proteinleri hidrolizi sonucunda meydana gelirler ve çoğunlukla gıdaların fermantasyonu sürecinde miktarları artar. Bu peptitlerin mineral bağlama, antioksidatif, antihipertansif (21) etkileri vardır. Seçilmiş bazı LAB'lerinin ekşi hamur fermantasyonu süresince sahip oldukları proteolitik enzimler sayesinde (22) antioksidan peptitler ürettikleri tespit edilmiştir (20).

Ekşi hamur fermantasyonu kolay ekstrakte edilebilir bileşiklerin seviyesini de artırmaktadır. Çimlenme ve fermantasyon sonrası, yapıdaki folatların seviyesinin 8 kat, fenolik asitlerin 10 kat artmaktadır (23). Diğer taraftan, fitat, alkilrezorsinol (24) ve tokoferollerin (25) seviyesi azalmakta, lignanların ki ise değişmemektedir. Fermantasyon sırasındaki asitlik gelişiminin bu değişimde etkili olduğu düşünülmektedir. Artan asitlikle birlikte toplam fenolik madde içeriğinde artış beklenirken, tiamin, ferulik asit dehidromerleri, tokoferoller ve tokotrienollerde azalma beklenmektedir (26). Ancak ekşi hamur fermantasyonunda biyoaktif bileşen düzeylerindeki bu değişimin mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır.

Tahıllarda bulunan ferulik, vanillik, kafeik ve p-kumarik asitin antioksidan aktiviteye sahip başlıca fenolik asitler olduğu, ekşi hamur ve maya fermantasyonunun toplam fenolik bileşikleri ve serbest fenolik asitleri artırdığı belirlenmiştir (13, 27, 28). Fenolik asitlerin varlığı, insan sağlığı açısından önem taşımaktadır, kronik hastalıklar ile karsinogenik ve mutajenik rahatsızlıklara karşı korumada etkinlikleri bilinmektedir (29, 30). Tahıllarda fenolik asitler, çoğunlukla arabinoksilan zincirlerine ester bağları vasıtasıyla veya ligninlere eter bağları vasıtasıyla bağlı formda bulunurlar. Liflere bağlı formdaki bu fenolik asitler, insan sindirim sisteminde hidrolize edilemezler, ancak kolonda mikrobiyel esteraz ve ksilanaz gibi bakteriyel enzimlerin etkisiyle serbest kalabilirler. Gerçekten de, insan ve hayvanlar üzerindeki çalışmalar tahıl ürünlerinin alınmasından sonra, kan örneklerinde kolon mikroflora tarafından üretilen ferulik asit ve fenolik asit metabolitleri konsantrasyonunda bir artış göstermektedir (31).

Ferulik asit arabinoksilana çapraz bağlanmış, tahıl hücre çeperlerinin yapısal bir bileşenidir. Fermente buğday kepeğı kullanımının ekmekteki folat ve ekstrakte edilebilir toplam fenolikler ile serbest ferulik asit içeriğini artırdığı, ancak fermantasyon koşullarının ferulik asit düzeyini değiştirdiğı tespit edilmiştir. Bu alanda yapılan çalışmalar fermantasyon ve buna bağlı asitlik ve enzim aktivitesi artışı ile tiamin ve ferulik asit gibi biyoaktif bileşenlerin azalabileceğini bildirmektedir (32). Katina ve ark. (32) tarafından yapılan bir çalışmada, fermente buğday kepeğı kullanımının ekmekteki folat ve ekstrakte edilebilir toplam fenolikler ile serbest ferulik asit içeriğini artırdığı, ancak fermantasyon koşullarının ferulik asit düzeyini değiştirdiğı tespit edilmiştir. Hendek Ertop (16), tarafından yapılan bir çalışmada da ekşi hamur kullanılmayan kontrol ekmeğında ferulik asit içeriğı 67.7 ppm bulunurken, spontan fermantasyonla üretilen ekşi hamur ekmeğında 39.1 ppm olarak tespit edilmiştir. Ekşi hamur fermantasyonunun diğer fenolik asitlerde artışa neden olurken ferulik asit düzeyinde düşüşe neden olmasının ferulik asitin hem enzimatik degradasyonundan kaynaklandığı hem de yoğurma prosesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ferulik asidin enzimatik degradasyonunun, ferulik asit esteraz (FAE) ile ester bağlarının parçalanmasına bağlı olduğu da bilinmektedir. Esterazlar, ksilanaz içeren hemiselülazlar gibi arabinoksilan parçalayan enzimler ile sinerji içinde çalışırlar. Selülazlar ve proteazlar ayrıca kepeğın hücre duvarı matriksindeki çapraz bağlı yapının da açılmasını sağlarlar (33). Ekşi hamur fermantasyonu ile artan enzim aktivitesinin ferulik asit parçalanmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, yalnızca hamur yoğurma işleminin ferulik asit içeriğinde önemli azalmaya neden olduğu, diğer fenolik bileşiklerin hiç birisinde hamur yoğurma, kabarma veya pişirme aşamalarında herhangi bir değişiklik olmadığı da bilinmektedir (26).

### **SİNDİRİLEBİLİRLİK VE BİYİYARARLANIM** **Fitik Asit, Fitaz Aktivitesi ve Mineral** **Biyoyararlanım**

Fitik asit, tahıl, baklagil ve yağlı tohumlarda fosforun ana depo formudur. Tanedeki toplam fosforun %50-80'nini oluşturur (34). Fitat, fitik asidin potasyum, magnezyum ve kalsiyum tuzlarının karışımıdır. Fitat tohum çimlenmesi için fosfor ve enerji kaynağı olarak görev yapar. Fitik asit merkez inositol halka yapısının etrafında yer alan ve altı fosfat grubundan oluşan bir molekül olmasından dolayı kanyonlar açısından yüksek afiniteye sahiptir ve şelatlama özelliğine sahiptir. Fitat, yüksek

derecede negatif yüklü bir iyon olarak geniş pH aralığında işlev görür. Bundan dolayı Ca, Mg, Fe, Zn, Mn gibi pozitif yüklü divalent veya trivalent iyonlarla şelat oluşturur. Böylelikle, ince bağırsakta çözünmez mineral-fitat komplekslerinin ve bağlı metallerin emilimini azalttığı için biyoyararlılığı negatif yönde etkiler (35). Bağlı fosfor insanlar, köpekler, kuşlar ve agastrik hayvanların bağırsaklarında fitaz sindirim enzimi bulunmamasından dolayı sınırlı hidrolize uğramakta ve çok az miktarda kullanılabilir. Oysa fitat fosforunun değerlendirilebilmesi için fitik asitin hidrolize uğraması gerekmektedir. Islatma, çimlendirme, fitaz aktivitesi, depolama, pişirme, otoklavlama, dış kabuğun soyularak öğütme yapma ve fermantasyon işlemleriyle fitat miktarı düşürülmektedir (36-38).

Fitaz enzimi, fitik asidi defosforilasyona uğratarak serbet inorganik fosfat ve inositol fosfat esterlerine dönüştürür. Bu bileşikler daha düşük şelatlama kapasitesine sahiptirler. Böylelikle mineral, protein, peptit ve amino asit biyoyararlanımında artış meydana gelir. Ekşi hamur fermantasyonu sırasında asitlik artışı tanedeki endojen fitaz aktivitesini teşvik eder (39).

Diyetle alınan kepekli gıdalar iyi bir mineral madde kaynağıdır. Bu gıdalar kalsiyum, potasyum, magnezyum, demir, çinko ve fosfor içerirler. Minerallerin biyoyararlanımları mümkün olmakla beraber fitik asit ve miyoinositol heksafosfatın varlığı ile sınırlı olabilir (10). Buğday ve çavdar unları yaklaşık % 1 oranında fitik asit içerir. Tanelerin 3-22 mg/g fitik asit içerdiği bildirilmiştir (39). Tanelerin alöron katmanlarında çözünmeyen güçlü kenetleme kapasitesine sahip fitik asit yoğun olarak bulunmaktadır. İnsanlarda katyonlar ile çözünmeyen kompleksler oluşturarak, diyetle alınan minerallerden yararlanılmasına engel olur. Mineral çözünürlüğü ve yararlanımı daha az kapasiteye sahip olan fitat, serbest fitazlar ile defosforile edilerek inorganik fosfat ve inositol fosfat esterlerine dönüşür. Fitaz aktivitesi maya ve laktik asit bakterilerinde olduğu gibi tahılın ham maddesinde de bulunmaktadır (10).

Fitat hidrolizi hamur içerisindeki taneden gelen endojen fitaz veya yapıda sonradan oluşan veya dışarıdan ilave edilen maya ve LAB kaynaklı mikrobiyel fitaz enziminin varlığına bağlıdır. Fitik asidin enzimatik hidrolizi genel olarak pH 3.5-5.0 aralığında meydana gelmektedir. Fitat kompleksleri katyonları ile pH 5.0 ve yukarısında çözünmez. Böylece enzimatik hidrolize ulaşamaz (40). Ekşi hamur fermantasyonunda oluşan asidik ortam endojen tahıl fitaz aktivitesini hızlandırır. Çünkü; buğdayda fitaz enzimi optimum pH 5.0'de aktivite gösterir. Ekşi hamur fermantasyonu sırasında

ortamın uygun pH'ya (pH<5.5) düşmesi buğday endojen fitazındaki aktivite artışından dolayı, buğday unundaki fitik asit içeriğinin %70 oranında azaldığını göstermektedir (41). Tahıl endojen fitazının yanı sıra, etkinlikleri türe özgü ve çevresel koşullara bağlı bazı LAB ve mayada fitaz aktivitesi bulunmaktadır, ancak bunların fitik asidi parçalayıcı etkileri daha azdır. Bu durum, tanenin fitaz aktivitesinin mikrobiyel fitaz aktivitesinden daha etkin olduğunu göstermektedir.

Enzimatik olarak fitik asidin degradasyonu birçok fermantasyon parametrelerine bağlıdır. Bunlar, mevcut fitaz aktivitesi, un partikül boyutu, asitlik, sıcaklık, zaman ve su içeriğidir (42).

Ekşi hamur fermantasyonu tam tahıl unlarının mineral çözünürlüğüne etkili, ancak yalnızca kepek kullanımı durumunda daha az etkilidir. Fermantasyon sırasında Ca ve Fe çözünürlüğünde parçacık büyüklüğü yani tanenin ince öğütülmüş olmasının da etkili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bir araştırmaya göre kepeğin ön fermantasyonu ile laktik asit bakterileri fitat parçalamasını %90 a kadar artırmakta ve bu artış özellikle magnezyum ve fosfor çözünürlüğünde olmaktadır (10). Mayalı ekmeğe karşılaştırıldığında, ekşi hamur ekmeği ile beslenen farelerde hemoglobin, hematokrit, ferritin ve demir düzeyleri anlamlı derecede yüksek, vücuttan atılan demir düzeylerinde ise önemli bir azalma belirlenmiştir (39).

Fitik asidin birçok elementi kuvvetlice bağladığı açıklanmıştır. Böylece parçalanmamış fitik asidin sindirim sisteminde bulunması bazı temel katyonların biyolojik elverişliliğini azaltmaktadır. Aynı zamanda fitat formundaki fosforun organik veya inorganik bileşiklerdeki fosfor kadar yararlılığı bulunmamaktadır. Fitik asit fosforu; hemen hemen tüm bitkisel üründe özellikle tahıllarda yer alır. Fitik asit kansızlık, yorgunluk, raşitizm, kalp rahatsızlıkları gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Ekşi hamur fermantasyonuyla maya ve laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan ve aktivasyonu hızlandırılan fitaz enzimi yardımıyla fitik asit miktarı düşürülmektedir. Bu durum buğday ununun mineral biyoyararlanımını dolayısıyla besleyici değerini artırmaktadır (16). Fitik asidin yalnızca mineralleri değil, proteinleri de kısmen bağlayarak onların biyoyararlılığını engellediği ve besinsel kalitede düşüşe neden olduğu belirtilmektedir. Ekşi hamur gibi fermente bir ürün olan tarhanada, sindirilebilir protein ve serbest mineral madde miktarı üzerine maya, malt unu ve fitaz katkılarının etkilerinin incelendiği bir çalışmada, tarhana hamurlarında %68.32 olan absorbe edilebilir serbest mineral madde miktarı oranı, fermantasyondan sonra tarhanada %82.07'ye çıktığı dolayısıyla malt unu ve fitaz enzimi

katkılarının fermantasyondan sonra serbest mineral madde oranını artırarak olumlu etkilerinin bulunduğu ifade edilmiştir (43).

### **Enzime Dirençli Nişasta (EDN) Oluşumu ve Biyoyararlanım**

Nişasta belli koşullar altında amilaz enzimleriyle veya asitlerle, hidroliz yoluyla değişik irilikteki karbonhidrat moleküllerine parçalanırlar. Bu reaksiyonu katalizleyen amilaz enzimleri glikoz arasındaki bağlara etki ederler. Hayvanlar ve insanlar amilaz enzimlerine sahip olduklarından nişastayı sindirebilirler. Karbonhidratları içeren besin maddeleri, ince bağırsağı inince, pankreastan salgılanan  $\alpha$ -amilaz ile bağırsak bezleri tarafından salgılanan maltaz, sakkaraz, laktaz ve oligo-1,6-glikosidaz gibi enzimlerin etkisine maruz kalır ve sindirim devam eder, bağlar parçalanır ve geriye maltoz ve glukoz kalır (44).

İnsan vücuduna alınan nişastanın, incebağırsakta tam olarak sindiriminin gerçekleşmediği görölmüş, enzimatik hidrolizden sonra bazı nişastaların sağlam kaldığı tespit edilmiştir ve sindirilemeyen bu nişasta kalıntılarına ilgi artmıştır. İlyostomi alanında yapılan çalışmalarda da mide ve bağırsakta sindirime direnç gösteren nişasta kalıntılarının var olduğu doğrulanmıştır (45). Yapılan çalışmalarda bu nişastaların kalın bağırsakta fermente edilebilir olduğu açığa çıkarılmıştır. Sindirilmeyen bu kalıntılar "Enzime Dirençli Nişasta (EDN)" olarak adlandırılmaktadır (44). Nişastanın sindirime karşı olan direnci nişasta polimerleri arasındaki ilişkinin doğasına bağlıdır. Amiloz içeriği fazla olan nişastalar sindirime daha dirençli ve retrogradasyona daha eğilimlidirler. Nişasta retrogradasyonu dirençli nişastanın yapısıyla doğrudan ilişki içindedir.

EDN kavramı nişastanın biyoyararlılığı ve besinsel lif kaynağı olarak kullanılması konusuna dikkat çekmiştir. Yapılan çalışmalar da EDN'nin fizyolojik fonksiyonlarının besinsel lif ile benzer olduğunu ortaya çıkarmıştır (46). İncebağırsakta sindirilmeyen nişasta kalıntıları kalın bağırsaktaki mikroorganizmalar için substrat görevi görmekte ve yararlı olan mikroorganizmaların, özellikle bifidobakterlerin gelişmesine öncülük etmektedir. İnce bağırsaktan sindirilmeden geçen EDN'nin kalın bağırsakta fermente edilmesiyle karbondioksit, metan, hidrojen, organik asitler ve Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA) gibi fermantasyon ürünleri oluşur. Üretilen KZYA asetat, bütirat ve propiyonattır. EDN'nin bu olumlu yönlerinin etkisinin KZYA'dan kaynaklandığı düşünölmektedir (47). EDN'nin yavaş sindirilmesi kandaki glikoz seviyesinin daha iyi kontrol edilmesini ve bunun sonucu olarak depo yağlarının kullanılmasını sağlayarak daha yararlı olabilmektedir.

Ekşi hamur ekmeğının mayalanması sırasında nişastanın hidrolize uğrayarak son üründe sindirilebilir nişastanın azaldığı ve enzime dirençli nişasta miktarının arttığı düşünölmektedir. Ekşi hamur fermantasyonu sonucu laktik asidin yanı sıra asetik asit, propiyonik asit gibi organik asitler meydana gelmekte (48), ekmeğın çeşidine bağlı olmakla birlikte (49), asetik ve propiyonik asitler gastrik enilim süresini uzatırken, laktik asit nişasta sindirim oranını düşürmektedir (50). Ekşi hamurdaki düşük pH ekmeğın yoğunluğunu artırmasının yanı sıra, düşük glisemik indeksi de sağlar. Ayrıca, ekşi hamur fermantasyonu sürecinde nişasta jelatinizasyonunun derecesini azaltacak ve dirençli nişasta oluşumunu düzenleyen bazı kimyasal değişiklikler meydana gelmekte, böylece yapı daha az sindirilebilir olmaktadır. Laktik asit, tannik asit gibi dışarıdan ilave edilen kimyasalların, nişastanın granüler yapısını değiştirerek ve gluten proteini gibi diğer tane komponentleriyle interaksyonu sonucu, tanenin genel nişasta yapısını değiştirebileceği de bilinmektedir. Ekşi hamur fermantasyonu sonucu oluşan organik asitlerin gerek granüler düzeydeki yapının değişmesi, gerekse nişasta granölünün özellikle proteinle interaksyonunun, nişastanın enzimatik hidrolizini azalttığı ve buna bağlı son üründeki enzime dirençli nişasta miktarını artırdığı da belirtilmektedir (51, 52).

Bunun yanı sıra ekşi hamur kullanımıyla, nişastanın enzimatik hidrolizinin azalması ve dirençli nişasta içeriğindeki artış ilişkilendirilmekle birlikte, bunun glisemik indeksle arasındaki mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Ancak ekşi hamur kullanımıyla ortamda organik asitlerin özellikle de laktik asidin bulunması nişasta hidrolizini (sindirimini) düşürmektedir. Bu etki, ekşi hamur veya laktik asit ilavesinin ekmeğın pişirme sürecinde amilopektin kısımlarının bir araya gelmesine ve dallanmasına engel olarak nişasta retrogradasyonunu engellemesi ve böylece dirençli nişasta oluşumunun artırılması şeklinde izah edilebilir (16). Buğday ekmeğında, ısıl işlem öncesi hamura ilave edilen laktik asidin, nişasta jelatinizasyonu süresince gluten-nişasta interaksyonunu teşvik ettiği böylece nişasta sindirim hızını azalttığı da belirtilmektedir. Bu etkileşim glutensiz ürünlerde ekşi hamur kullanımının araştırıldığı çalışmalarda laktik asidin yalnızca gluten varlığında nişasta sindirimini azalttığının belirlenmesiyle ortaya çıkmıştır (53). Diğer taraftan ekşi hamur ilavesinin nişastanın enzimatik hidrolizini azaltması, ekşi hamurun yapısından gelen organik asitlerin nişastayı hidrolize eden enzimlerin çalışmasını engellemesiyle de açıklanabilir. Çünkü yapılan in vitro çalışmalarda hamurda laktik asit bulunmasının buğday veya arpa

ekmeğinde in vitro nişasta hidrolizini düşürdüğünü göstermektedir. Bu durum laktik asidin, bazı tahıl ürünlerinin sindirim prosesini engellediği şeklinde yorumlanmaktadır (53). Çünkü insan sindirim sistemini taklit eden in vitro sindirim simülasyonu çalışmalarında da sindirim enzimleri belirli asidik ortamlarda çalışmaktadırlar.

### **Protein Sindirilebilirliği**

Proteoliz, proteinlerin veya peptitlerin, proteaz enzimleriyle peptit bağlarının hidrolizi sonucu daha küçük peptitlere veya aminoasitlere kadar parçalanmasıdır. Gluten proteini buğday unlarından ekmek yapımında kaliteyi belirlemektedir. Gluten proteinleri hamur hidrasyonu ve gaz tutmaya katkıda bulunurlar. Ekşi hamur fermantasyonu sırasındaki protein depolimerizasyonu, mikroorganizmaların metabolik aktivitesine ve tahılda bulunan enzimlere bağlıdır. Ortam pH'sının düşmesi ve düşük molekül ağırlıklı tiol grubu içeren bileşiklerin birikimi, gluten proteinlerinin çözünürlüğünü artırırken enzim aktivitelerini azaltır. Buğday ve çavdar proteinlerinin proteolizinde proteolitik enzim aktivitesi %5'in altında kaldığı bildirilmiştir. Tahıl proteinlerinin degradasyonunda bunun önüne geçmek için malt veya fungal enzimlerin ilavesinin gerekli olduğu ifade edilmiştir (40).

Bitkisel proteinlerden vücudun yararlanma oranı %75'in altındadır. Ekmekteki Protein Sindirilebilirlik Oranı (PSO) ekmek içeriğine göre değişik düzeylerde tespit edilmekle birlikte en yüksek %74 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (43). Hendek Ertop (16), tarafından yapılan çalışmada kontrol ekmeğinin % 58.70 protein sindirilebilirlik oranına sahip olduğu tespit edilirken, ekşi hamur kullanılan ekmekte bu oran %89.77 olarak tespit edilmiştir.

PSO'larındaki yükseklik ekşi hamur ekmeklerinin tüketilmesi durumunda vücutta metabolize edilebilirliğinin yani günlük diyetteki besinsel değerinin yüksekliğini ortaya koymaktadır. PSO'ndaki bu artışın LAB'lerinin sahip olduğu proteaz aktivitesi yanı sıra, ürettikleri en önemli metabolit olan organik asitlerle ortam asitliğini artırmaları ve tahılın doğal yapısında bulunan enzimleri aktif hale getirmeleridir. Böylelikle, hamurun yapısında hem direkt hem dolaylı olarak artan proteaz aktivitesi protein yapının parçalanmasına, bir anlamda insan vücudunda metabolize olmadan henüz ürün formunda ön-metabolize olmasına neden olmaktadır. Proteaz aktivitesi sonucu eriyebilir azotlu maddelerin artışının protein sindirilebilirlik oranını artırabileceği bildirilmektedir (39, 43).

Ancak tahılın yapısında bulunan fitik asidin

proteinlerle reaksiyona girerek bunların sindirilebilirliğini azalttığı çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir (54). Fitik asit, proteinlerin izoelektrik noktalarından daha düşük pH değerlerinde proteinlerle kompleks oluşturarak, enzimatik aktivitede proteinin çözünürlüğünde ve proteolitik parçalamada azalmalara neden olur ve proteinlerin sindirilebilirliğini de azaltmaktadır. Fitaz enzimi ise, fitik asidi parçalayarak proteinle reaksiyona girmesini engellemektedir. LAB'lerinin en önemli metabolitlerinden biri de fitaz enzimidir. Ekşi hamur katkı örneklerde protein sindirilebilirlik oranının yüksek olmasının fitaz etkinliğinden de kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekşi hamura fermentatif yönüyle çok benzeyen tarhanada PSO'nun araştırıldığı bir çalışmada tarhana yapım prosesinin PSO'nı %93'e kadar yükselttiği belirlenmiştir (43). Aynı çalışmada dışarıdan ilave edilen fitaz enzimi, maya ve malt katkısının PSO'nı artırdığı tespit edilmiştir.

### **SONUÇ**

Ekşi hamur fermantasyonu günümüzde geleneksel anlamda spontan yöntemle üretimi devam eden bir ekmek üretim metodudur. Bu konuda yapılan çalışmalar ekmeğin tekstürel, aromatik, raf ömrü üzerine olumlu etkilerinin olduğunu, nihai üründe çıkan bu etkilerin fermantasyon sırasında meydana gelen mikrofloraya bağlı olduğunu, mikrofloranın ise pek çok proses koşulu ve hammaddeden etkilendiğini ortaya koymaktadır. Ekşi hamur ekmeğini değerli kılan ve araştırmaya değer getiren diğer bir konu da yalnızca ekmeğe değil kullanıldığı diğer fırıncılık ürünlerine de sağladığı biyoaktif bileşikler ve bunların biyoyararlanımlarındaki artıştır. Günümüz tüketici tercihlerinin doğal, katkısız ürün ve üretim yöntemleri yönünde değiştiği, ekmek üretim politikalarının ise son yapılan yasal düzenlemeler çerçevesinde katkısız, tam buğday ekmeği ve kepekli ekmek yönüne çevrildiği göz önünde bulundurulursa, ekşi hamur kullanımı yalnızca ekmeğin fiziksel kalite özelliklerini iyileştirmekle kalmayacak, aynı zamanda tüketiciye biyoyararlanımları yüksek biyoaktif bileşikleri artırılmış dolayısıyla besinsel özellikleri geliştirilmiş fırıncılık ürünleri sunma konusunda iyi bir alternatif olacaktır.

### **KAYNAKLAR**

1. Ercolini D, Pontonio E, De Filippis F, Minervini F, La Stora A, Gobbetti M, Di Cagno R. 2013. Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation, *Appl Environ Microbiol*, 79 (24), 7827-7836.



2. Dalié D K D, Deschamps AM, Richard-Forget F. 2010. Lactic acid bacteria –potential for control of mould growth and mycotoxins: a review, *Food Control*, 21: 370-380.
3. Theron MM, Lues JFR. 2011. *Organic acids and food preservation*. CRC Press, ABD. pp. 21-95.
4. Chavan RS, Chavan SR. 2011. Sourdough technology-A traditional way for wholesome foods: A review. *Food Sci Food Safety*, 10, 170-183.
5. Mortazavi SA, Sadeghi A. 2011. Investigating the sourdough potential for enhance microbiological shelf life and roasty aroma of traditional Lavash bread, *Afr J Biotechnol*, 10 (47), 9668-9672.
6. Galle S, Arendt EK. 2014. Exopolysaccharides from sourdough lactic acid bacteria, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 54,891-901.
7. Torrieri E, Pepe O, Ventorino V, Masi P, Cavella S. 2014. Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread, *LWT - Food Sci Technol*, 56, 508-516.
8. De Vuyst, L, Van Kerrebroeck S, Harth H, Huys G, Daniel HM, Weckx S. 2014. Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform?, *Food Microbiol*, 37,11-29.
9. Vogel RF, Pavlovic M, Ehrmann MA, Wiezer A, Liesegang H, Offschanka S, Voget S, Angelov A, Bocker G, Liebl W 2011. Genomic Analysis Reveals *Lactobacillus sanfranciscensis* as a stable element in traditional sourdoughs. *Microb Cell Fact*, 10 (1), 1-11.
10. Poutanen K, Flander L, Katina K. 2009. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. *Food Microbiol*, 26, 693-699.
11. Slavin J. 2003. Why whole grains are protective: biological mechanisms. *Proc Nutr Soc*, 62, 129-134.
12. Dordevic TM, Marincovic SS, Brankovic SD. 2010. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chem*, 119, 957-963.
13. Mattila P, Pihlava J, Hellstro J. 2005. Contents of phenolic acids, Alkyl- and Alkenyl resorcinols and avenanthramides in commercial grain products, *J Agric Food Chem*, 53, 8290-8295.
14. Banu I, Vasilean I, Aprodu I. 2010. Effect of lactic fermentation on antioxidant capacity of rye sourdough and bread, *Food Sci Technol Res*, 16, 571-576.
15. Rizzello CG, Coda R, Mazzacane F, Minervini D, Gobbetti M. 2012. Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread. *Food Res Int*, 46, 304-313
16. Hendek Ertop, M. 2014. Ekşi hamur formül optimizasyonunun ekmeğin aromatik profili, biyoaktif nitelikleri ve raf ömrü üzerine etkileri, Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
17. Vermeulen N, Czerny M, Gänzle MG, Schieberle P, Vogel RF. 2007. Reduction of (E)-2-nonenal and (E, E)-2,4-decadienal during sourdough fermentation. *J Cereal Sci*, 45, 78-87.
18. Artan MY, Karim R, Chern BH, Ariffin AA, Man YC, Chin NL. 2010. The influence of different formulation of palm oil /Palm stearin –based shortenings on the quality of white bread. *Middle-East J Sci Res*, 5,469-476.
19. Yıldız O, Sahin H, Kara M, Aliyazıcıoğlu R, Tarhan Ö, Kolaylı S. 2010. Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. *Akademik Gıda*, 8,44-51.
20. Coda R, Rizzello CG, Pinto D, Gobbetti M. 2012. Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. *Appl Environ Microbiol*, 78,1087-1096.
21. Coda R, Rizzello CG, Gobbetti M. 2010. Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread of gaminobutyric acid (Gaba). *Int J Food Microbiol*, 137, 236-245.
22. Rizzello CG, Curiel JA, Nionelli L, Vincentini O, Cagno RD, Silano M, Gobbetti M, Coda R. 2014. Use of fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. *Food Microbiol*, 37, 59-68.
23. Katina K, Liukkonen KH, Kaukovirta-Norja A, Adlercreutz H, Heinonen SM, Lampi AM, Pihlava JM, Poutanen K, 2007. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. *J Cereal Sci*, 46,348,355.
24. Verdeal K, Lorenz K. 1977. Alkylresorcinols in wheat, rye, and triticale. *Cereal Chem*, 54,475-483.
25. Piironen V, Varo P, Koivistoinen P. 1987. Stability of tocopherols and tocotrienols in food preparation procedures. *J Food Compos Anal*, 1,53-58.
26. Hansen BH, Andersen MF, Nielsen LM, Back-Knudsen KE, Meyer AS, Christensen LP, Hansen A. 2002. Changes in dietary fibre, phenolic acids and activity of endogenous enzymes during rye bread baking. *Eur Food Res Technol*, 214,33-42.
27. Xie CY, Gu ZX, You X, Liu G, Tan Y, Zhang H. 2010. Screening of edible mushrooms for release of ferulic acid from wheat bran by fermentation. *Enzyme Microb Technol*, 46, 125-128.
28. Dordevic TM, Siler-Marinkovic SS, Dimitrievic-Brankovic SI. 2010. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chem*, 119, 957-963.
29. Requena T, Monagas M, Pozo-Bayon MA, Martin-Alvarez PJ, Bartolome B, del Campo R, Avila M, Martinez-Ciesta MC, Pelaez C, Morreno-Arribas MV. 2010. Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota. *Trends Food Sci Technol*, 21, 332-344.

30. Hole AS, Rud I, Grimmer S, Sigl S, Narvhus J, Sahlström S. 2012. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *J Agric Food Chem*, 60, 6369-6375.
31. Saura-Calixto F. 2011. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *J Agric Food Chem*, 59, 43-49.
32. Katina K, Laitila A, Juvonen R, Liukkonen KH, Kariluoto S, Piironen V, Landberg R, Åman P, Poutanen K. 2007. Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye. *Food Microbiol*, 24, 175-186.
33. Giet JM, Roiseux O, Blecker C. 2010. Enzymatic process development for the extraction of ferulic from wheat bran. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 14, p.539.
34. Magala M, Kohajdova Z, Karovicova J. 2015. Degradation of phytic acid during fermentation of cereal substrates. *J Cereal Sci*, 61,94-96.
35. Sümengen, M. 2011. Laktik asit bakterilerinden fitaz üretimi ve endüstriyel kullanım olanakları. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana
36. Ahmad AI, Abdalla AA, Ibrahim KA, El-Tinay AH. 2010. Effect of traditional processing on phosphorus content and some antinutritional factors of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). *Res J Agric Biol Sci*, 6,176-180.
37. Abdel Rahman, I.E. and Osman, M.A. 2011. Effect of sorghum type & traditional fermentation on trypsin inhibitors, phytic acid and tannins of three sorghum varieties during preparation of Kisra. *Int J Food, Agric & Environ*, 9:163-169.
38. Albarrac n M, Gonzalez RJ, Drago SR. 2013. Effect of soaking process on nutrient bio-accessibility and phytic acid content of brown rice cultivar. *LWT. Food Sci Technol*, 53, 76-80.
39. Gobbetti M, Rizzello CG, Cagno RD, Angelis MD. 2014. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiol*, 37, 30-40.
40. Ganzle MG. 2014. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiol*, 37, 2-10.
41. Leenhardt F, Levrat-Verny MA, Chanliaud E, Remesy C. 2005. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *J Agric Food Chem*, 53, 98-102.
42. Lopez H, Krspine V, Guy C, Messenger A, Demigne C, Remesy C. 2001. Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increases soluble magnesium. *J Agric Food Chem*, 49, 2657-2662.
43. Bilgiçli N, Türker S. 2004. Tarhanada sindirilebilir protein ve kül miktarı üzerine maya, malt unu ve fitaz katkılarının etkileri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (33), 90-97.
44. Keha, EE, Küfrevioğlu İ. 2014. Biyokimya, Aktif Yayınevi, 10.Baskı, 647 s., İstanbul.
45. Englyst H, Wiggins HS, Cummings JH. 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 107, 307-318.
46. Kahraman K, Köksel H. 2013. Formation of resistant starch from amylopectin corn starch and determination of the functional properties. *Qual Assur Saf Crop*, 5(4),295-302.
47. Rahman S, Bird A, Regina A, Li Z, Ral JP, McMaugh S, Topping D, Morell M. 2007. Resistant starch in cereals: Exploiting genetic engineering and genetic variation. *J Cereal Sci*, 46, 251-260.
48. Wu, C., Liu,R. Huang,W., Rayas-Duarte,P., Wang, F. Yao, Y., 2012. Effect of sourdough fermentation on the quality of Chinese Northern-style steamed breads. *J Cereal Sci*, 56,127-133.
49. Novotni D, Curic D, Bituh M, Baric IC, Skevin D, Cukelj N. 2011. Glycemic index and phenolics of partially-baked frozen bread with sourdough. *Int J Food Sci Nutr*, 62,26-33.
50. Liljeberg H, Björck I. 1998. Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. *Eur J Clin Nutr*, 52, 368-371.
51. Hallström E, Sestili F, Lafiandra D, Björck I, Östman E. 2011. A novel wheat variety with elevated content of amylose increases resistant starch formation and may beneficially influence glycaemia in healthy subjects. *Food Nutr Res*, 55, 7074:1-7074:8.
52. Deckardt K, Khiaosaard R, Grausgruber H, Zebeli Q. 2014. Evaluation of various chemical and thermal feed processing methods for their potential to enhance resistant starch content in barley grain. *Starch/Stärke*, 66, 558-565.
53. Wolter A. 2013. Fundamental studies of sourdoughs fermented with *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*: influence on baking characteristics, sensory profiles and in vitro starch digestibility of gluten free breads. PhD Thesis, University College Cork.
54. Osman MA, Gasseem M. 2013. Effects of domestic processing on trypsin inhibitor, phytic acid, tannins and in-vitro Protein Digestibility of three sorghum varieties. *J Agric Technol*, 9(5), 1187-1198.