

**GIDA** (Gıda Teknolojisi Derneği Yayını)  
**THE JOURNAL OF FOOD** (Published by the Association of Food Technology; Turkey)  
Cilt / Volume: 41 • Sayı / Number: 3 • 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, Efstathios <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, Mükerrerem <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, Atila <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) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org <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 06 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

---

Gloria EA, Norris EI; <i>Promoting food bank as a way of ensuring food security in Nigeria</i> / Nijerya'da gıda güvencesini sağlamak için gıda bankası teşviki . . . . .	<b>123-129</b>
Avcı A, Adem D, İnan İ, Yüksel S, Şahin KG, Kalkan Z; <i>Production of amylase by a novel Bacillus sp. ZBP10 in submerged fermentation</i> / <i>Bacillus</i> sp. ZBP10 suşu ile derin kültür fermantasyonunda amilaz üretimi . . . . .	<b>131-136</b>
İlyasoğlu H; <i>Changes in fatty acid composition of hazelnut during fruit development</i> / Fındıkta meyve gelişme döneminde yağ asitleri kompozisyonundaki değişimler . . . . .	<b>137-140</b>
Denli E, Şehribanoğlu S, Boran G; Şırnak'ta kırmızı et tüketim alışkanlıkları üzerine bir araştırma / <i>A research on consumption habits of red meat in ırnak</i> . . . . .	<b>141-148</b>
Arkan SB, Okutan N, Altay F; Kekik ve kakule yağlarının tek ve eş eksenli nanolif ile enkapsülasyonu / <i>Uniaxial and coaxial nanofiber encapsulation of thyme and cardamom oil</i> . . . . .	<b>149-154</b>
Turgut DY, Tokgöz H, Gölükcü M, Toker R, Yeğin AB; Farklı acılık giderme yöntemlerinin geleneksel turunc kabuğu reçelinin toplam fenolik madde ve flavonoid içeriği üzerine etkisi / <i>The effects of different debittering methods on total phenolic matter and flavonoid content in traditional bitter orange peel jam</i> . . . . .	<b>155-162</b>
Çetin H, Tuncer Y; Sucuktan izole edilen koagülaz-negatif <i>Staphylococcus</i> ve <i>Macrocooccus caseolyticus</i> suşlarında enterotoksin genlerinin araştırılması / <i>Investigation of enterotoxin genes in coagulase-negative Staphylococcus and Macrocooccus caseolyticus strains from Turkish dry fermented sausage (sucuk)</i> . . . . .	<b>163-170</b>
Erbaş M, Candal C, Kılıç Ö, Mutlu C; Gıdaların nem sorpsiyon izotermelerinin belirlenmesi ve eşitliklerinin çözümü / <i>Determination and solution of moisture sorption isotherms of foods</i> . . . . .	<b>171-178</b>
Aykın E, Erbaş M; Farklı kaynaklardan üretilen jelatinin özellikleri ve sağlık üzerine etkileri / <i>Characteristics of gelatine produced from different sources</i> . . . . .	<b>179-186</b>

# Editörden,

---

**Merhaba,**

GIDA Dergisi'nin 41. yayın yılının 3. sayısında iki adet ilk vardır:

- İngilizce olarak hazırlanmış bir inceleme makalesi yayımlandı,
- Bu sayıda 2 adedi derleme olmak üzere toplam 9 makale yayımlandı.

Dergimizin bu sayısının elektronik ortamda yayımlandığı 31 Mart 2016 tarihinde ayrıca 12 makale baskıya hazır olarak web sayfamızda beklemektedir. 8 makale ise elektronik ortamda basılmak üzeredir. Bir diğer deyiş ile Nisan 2016 ortasında baskıya hazır en az 20 makale olacaktır.

Bu yıl dergimize değerlendirmek ve yayımlanmak üzere, önceki yıllarla kıyasla çok sayıda makale geldi. 01 Ocak - 31 Mart 2016 tarihleri arasında gelen makale sayısı 32 adettir. Bu artışta Doçentlik kriterlerinin değişmesi büyük önem taşıyor. GIDA Dergisinin ulusal ve kısmen uluslararası ölçüde çok saygın bir yerde olması da, bu talebi doğal olarak artırıyor.

Dergimize makale gönderiminin artışına karşın, dergimizin asıl gelir kaynağı olan reklam verilmesinde geçmiş yıllara göre ciddi bir düşüş görülmektedir. Bu nedenle, Yönetim Kurulumuzun aldığı karar uyarınca, 31 Mart 2016 tarihinden sonra gönderilen makaleler için 100 TL basım ücreti isteyeceğiz. Bu miktar katkı, abone ve reklam gelirleri; derginin basımı ve dağıtımı, web sayfası ve muhasebe giderleri, IUFoST ve EFFoST üyeliği gibi dergimizin temel giderleri ancak karşılayabilir düzeydedir.

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,

There are two innovations in the 3<sup>rd</sup> issue of the 41<sup>st</sup> publication year of Journal of FOOD:

-A survey article in English is published,

-There are 9 articles, including 2 of them are review articles, are published in this issue.

In addition electronically published 3<sup>rd</sup> issue of volume 41 of our journal in March 31, 2016, 12 more completed articles have been waiting for publishing. 8 more articles will be complete in a few weeks. In other words, there will be at least 20 articles ready for publication in the mids of April 2016.

This year much more manuscripts were sent for reviewing and publishing to our journal, compared to the previous years. The number of manuscripts sent between January 01 and March 31, 2016 is 32. The change in application requirements to the academic degree exam is of great importance in this increase. The highly respected place in both national and international area of Journal of Food, makes also a certainly increase in this demand.

Despite the increase in article submission to our journal, there is a significant decrease in advertisement which is the main source of income of our journal, compared to the previous years. For this reason, in accordance with the decisions taken by our Board of Directors, we will ask 100 TL publishing fee for the articles which was sent after March 31, 2016. This contribution, subscription and advertising revenues, can only cover basic expenses such as publishing and distribution of the journal, web page and accounting costs and IUFoST/ EFFoST membership.

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

## PROMOTING FOOD BANK AS A WAY OF ENSURING FOOD SECURITY IN NIGERIA

Erhabor Aimien Gloria<sup>1</sup>, Erhabor Igbinosa Norris<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>University of Benin Teaching Hospital, Nigeria

<sup>2</sup>Department of Health Safety and Environmental Education University of Benin, Nigeria

*Received* / Geliş Tarihi: 20.11.2015

*Received in revised form* / Düzeltilerek Geliş Tarihi 14.02.2016

*Accepted* / Kabul Tarihi 27.02.2016

### Abstract

This paper reviewed the concept of food bank; the food security situation in Nigeria; the public health issues arising from food insecurity and sources of food for charitable organizations. The researcher advocates for an exceptional attention to be given to food bank as a system to ameliorate the health complication attributed to hunger and malnutrition. The food insecurity is emphatically high for Nigeria. Therefore, it is important to critically examine the long term potential of the food bank as a model to reduce food insecurity rate especially as food bank has the propensity to expand across the country.

**Keyword:** Food insecurity, food bank, and hunger


## NİJERYA'DA GIDA GÜVENCESİNİ SAĞLAMAK İÇİN GIDA BANKASI TEŞVİKİ

### Özet

Bu çalışmada; Nijerya'da gıda güvencesini sağlamak için gıda bankası kavramını gıda güvensizliği, gıda güvencesinden doğan kamu sağlığı sorunları ve hayırsever kuruluşlar ile ilişkileri incelenmiştir. Acil gıda ihtiyaçları için; araştırmacılar tarafından ortaya konan açlık ve yetersiz beslenme ve sağlık sorunları komplikasyonunun iyileştirilmesi için bir sistem olarak gıdaların gıda bankasına verilmesinin sağlanması çok önemlidir. Gıda yetersizliği yani gıda güvencesizliği Nijerya'da oldukça önemli bir problemidir. Bu nedenle, gıda bankası sisteminin ülke genelinde genişletilmesi ve özellikle gıda güvencesizliği oranını azaltmak için bir model olarak geliştirilmesi önemlidir. Gıda bankası konusunun ülke genelinde uzun vadeli potansiyelini incelemek ve geliştirmek çok önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** Gıda güvensizliği, gıda bankası, açlık

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

 norris.erhabor@uniben.edu

## INTRODUCTION

The recent recession threat posed on the Nigeria economy initiates the need to close the gap and manage effectively the resources available to boost the economy. One of such resources which have been wasted and abused is food. Food is a fundamental human right and not just a need; this is as stated in the 1948 universal declaration of human right. Although this fundamental right is not existent among large majority of the populace in Nigeria as the rate of hunger and malnutrition is observed to be high. Thus the scenario that leads to hunger and malnutrition among the populace of a country is known as food insecurity. Therefore food insecurity occurs due to the unavailability, inaccessibility, instability or inability for food utilization efficiency by individuals in a society. Although, there is a good domestic production of food in Nigeria but the major issue with food security in the country has to do with the poor storage, marketing and distribution arrangement which greatly reduce the availability supplies of food by the market (1). This food insecurity is a reality in Nigeria as revealed by the Africa Health, Human, and Social Development information service (AfriDev.Info) and Africa Coalition on Maternal, New Born and Child Health that Nigeria with 33 points out of 100, was placed 86<sup>th</sup> country globally and 14<sup>th</sup> in Africa on global food security index (2). Furthermore, the Africa multiple indicator scorecard on hunger and food security in 2014 revealed that Nigeria top the list of 11 Economic Community of West Africa States ECOWAS countries with 12.1 million people in a state of hunger.

Food security is a global issue giving rise to health inequalities affecting population at all stages of life. It is seen as one of the social determinants of health (3). Consequently, due to poverty and food insecurity, individuals and household lack the capacity or finance to access healthy foods in adequate amounts thereby posing health risk for them. Thus food insecure individuals have a less varied, nutritionally inadequate diet with lower intake of fruits and vegetables. It has also been linked to obesity, diabetes, dietary nutrient deficiencies. Studies still linked food insecurity and poorer academic performance, school absenteeism, suspension from school, involvement

in fights, headaches, depressions and other public health issues (3).

Accordingly, the FAO reported that there is enough food produced in the world to feed everyone, yet 842 million still go hungry (4). Also lots of consumables, surplus food and groceries are lost through waste. Meanwhile foods grown, processed, produced and manufactured are never consumed due to failure to harvest, post harvest losses, product disposal due to expiration, overproduction and damaged (5). Consequently, such scenario shows the rate in which food are being wasted in the world and still the rate of hungry and malnourished individuals and households keeps increasing steadily. As a result of such events, there is an urgent need to cut the spread of poverty, hunger, malnourishment and wastages in Nigeria and the world. It can therefore be stated that reducing the prevalence of hunger can cause ripples of positive changes throughout a community. Thus one pertinent form of social protection which is likely to be of growing importance involves the redistribution of unused, surplus or donated food to those who need it (6). This brings to a fore the emphasis of food bank as an urgent step towards ameliorating the health implications of hunger and a measure taken to improve the food insecurity situation in the country especially among the poor. Food bank is seen as a vehicle which enables many of the individuals and families to bridge the gap between hopelessness and renewed hope and enable them back to their feet. In pursuance of this concept of food bank in ameliorating the public health implications arising from food insecurity, the following will be discussed therein; the concept of food bank; food insecurity in Nigeria; Health implication of food insecurity in Nigeria and sources of food for charitable organizations.

## CONCEPT OF FOOD BANK

Food bank has emerged as a frontline response to the growing problem of food poverty and inequality. This food bank is necessary in Nigeria because of the inequality faced between the rich and the poor which creates a big gap in the accessibility to essential resources especially food. Consequently, food bank is seen as a centralized ware house or clearing houses registered as



nonprofit organization for the purpose of collecting, storing and distributing surplus food (donated shared) free of charge either directly to hungry people or to frontline social agencies which provide supplementary food and meals (7). This concept is sometime known as food pantries, shelves closets or soup kitchens. Food banking can be said to be in its infancy stage in Nigeria compared to what it entails in developing countries.

However, the first food bank was set up in 1967 Phoenix, Arizona in the United State of America. It started when John van Hengel decided to store food donations in a centralized warehouse where he could distribute same food to the regions hungry people (6). Meanwhile, it started with the philosophy of "simply to marry the interests of the food industry to cope effectively with surplus, unsellable food with those of grassroots poverty organization" (7). This shows that society as Nigeria which is modern, wasteful could act as one that provides resources to others who lack the capacity to eradicate their hunger impromptu or provide food aid to people who could otherwise not afford to feed themselves and their family often as a result of a temporary financial crisis resulting from redundancy, eviction, benefits changes/delay, unexpected large bills amongst others. Food banks are controlled either by charities, community group and churches or private individuals (8). They usually use "care" or "welfare" professionals and organizations such as social workers, doctors, health visitors, citizens' advice bureau and especially nurses who issue vouchers to people in acute need of food. Consequently, individuals and household access food from food bank through the following medium such as meal provided in a variety of agencies such as soup kitchens, shelters, hostels, school meal programs and community kitchen or directly from the banks or their outlets (pantries, depots, churches) which involves standing in queues and receiving an average a 3-4 days supply of groceries (7).

Therefore, it should be noted that food bank gained international recognition in 2006 when the Global Banking Network located in Chicago, Illinois was established (6). This is a nonprofit organization funded primarily by wealthy individuals and corporations including retailers and manufacturers. However, there are over 20 countries with active food bank groups under

their umbrella and Nigeria is inclusive. Food bank Nigeria is the body responsible for food banking in the country and they are clearing houses which coordinate and maximize the distributions of food through identified channels and food program (9). They assume the duty of providing food and relief programs with a reliable source of food. Their mission is to effectively address identified food gaps in the country through sourcing and distribution of food, appropriate innovative program, education and advocacy. From this brief background, it can be inferred that food bank Nigeria is geared towards emulating the model existing in the United States. This food banking system if well articulated, structured and effectively implemented, will go a long way in enabling anyone who experience hunger or in need of food assistance, can readily access timely, adequate, appropriate and sufficient food to see them safely through in the time of need. But the reality on ground actually shows that food banking in Nigeria is at its infancy stage and more need to be done to promote it in order to curb the public health issues that arise due to food insecurity in the country.

#### **FOOD SECURITY IN NIGERIA**

Since the 1974 World Food Conference, food security has developed and various countries have taken cognizance of this pertinent resource that affect the existence of her citizens. In this regard, food security is seen as a state of affairs where all people at all time have access to safe and nutritious food to maintain a healthy and productive life. However, it can be fully understood when analyzed from three dimensions: Food availability (which is achieved when there is sufficient supply and presence of food in large amount); accessibility (this is ensured when households and all individuals within them have adequate resources to obtain appropriate foods for nutritious diet); while food utilization is established when the body makes the most of various nutrients in the food. The physiological make up of individuals tend to influence the food utilization. Although FAO revealed a fourth dimension which is food stability due to the fact that even if an individual food intake is adequate today, he or she is still considered to be insecure if there is an inadequate access to food on a periodic basis therefore risking a deterioration of their nutritional status (10). It can

be observed that for food security objectives to be realized all four dimensions must be fulfilled simultaneously.

However, 70 percent of Nigeria population is living below the poverty line from the United State Central Intelligence Agency 2010 estimated report (11). Accordingly, a score card report to reveal hunger in Africa stated that Nigeria has the highest number of hungry people in West Africa as 12.1 million are hungry or undernourished in the country (2). This report also revealed that Nigeria with 33 points out of 100, placed a distant 86<sup>th</sup> country globally and 14<sup>th</sup> in Africa on the global food security index. The same rating also showed that South Africa is the only country from Africa in the global top 40 of most food secure country at 39 and this can be attributed to their well structured and efficient food programs especially the food banking system being employed in the country. Furthermore, the World Global Hunger index in 2011 reported that Nigeria contributes 58 percent in the global hunger problem and unfortunately, little or nothing is being done to reverse this ugly trend (12). This background discussed herein describes explicitly the food security state in Nigeria.

Meanwhile, achieving food security through the four dimensions is being deterred severely by various factors. Poverty rate reduces the accessibility of food by the general public due as a result of the reduced purchasing power concomitant with poverty thereby resulting in hunger and malnutrition. Thus, the key determinant for food security in Nigeria is insufficient income to dedicate to household food budget especially among the poor. Other factors include physical, economic, socio-cultural and political environmental influences (13). In pursuance of this, scholars such as Abdulrahman and Adebayo confirmed the existence of food insecurity in Nigeria (14, 15). Although the availability of food tends to be stable due to the increasing rate of importation, but the most prominent aspect which leads to malnutrition and hunger is the accessibility of these foods. There tend to be an uneven ability to access food by people due to the exuberant food prices, poverty, unemployment and the uneven distribution of resources. In terms of the stability of food in the country, various factors play huge roles such as political instability especially with the high level of violence (terrorism) in the

northern part of the country. According to the National Emergency Management Agency report, 65 percent of the Northern farmers had migrated because of insecurity they face (16). This result to instability in the food supplied and available to the populace due to attacks these farmers that produce major crops such as beans, onions, pepper are exposed to.

Meanwhile, another pertinent factor that influences the food security in the country is climate change. This is evident through multiple stresses such as limited water resources which leads to drought, loss of biodiversity and air pollution have all increased the sensitivity to climate change and reduce resilience in agricultural sector thereby affecting the availability of food to the populace in the country. According to the Ministry of Agriculture and Water resources, food crisis is unconnected with the fact that Nigeria's agriculture is mainly rainfed and she has not taken full advantage of its irrigation potential estimate of between two and 2.5 million hectares (17). Ojo and Adebahyo further asserted that the areas which are efficiently recognized for irrigation is estimated to be about 220,000 hectares or less than one percent of the total area under crop (17). This shows that irrigation has minimal impact on improving agricultural production in the country especially in areas prone to drought due to climate change. Also other extreme weather conditions culminating from climate change such as flooding, spread of pest and diseases, heat wave, hurricane, storm, erratic rainfall also deter the production of food. Thus the Gombe state emergency management agency in 2007 reported that 999 farmlands in the state were affected by flood which destroyed yams, maize, vegetables, sugar cane and cassava farms. To this end, the various scenario cited in this paper above shows that Nigeria food insecurity is looming and urgent steps need to be taken to curb its adverse aftermath on the general public in the country.

#### **SOURCES OF FOOD FOR CHARITABLE ORGANIZATIONS**

Food banking is observed to be at its infancy stage in Nigeria compared to other countries like South Africa, Ghana, United State, United Kingdom, Canada amongst others. The distribution of donated food by registered charities and NGOs is



well established practice in South Africa and other developed countries, this is attributed to the large centralized food bank which was established in 2005 in order to facilitate food distribution and reach greater numbers of food insecure individuals in these countries (6). It can therefore be inferred that an effective implementation of the food bank can play a major role in meeting the food need of the vulnerable populations.

However, nongovernmental organization which has the responsibility of providing food for the hungry do require some essential services and structures such as buildings and finance to pay staff. But the need for food is sacrosanct to the service they render to humanity. The limit of an organization's food supply often defines the scope of its operation. In this regard, as a guide for the Nigeria society or stakeholders in the food banking system, it is pertinent to highlight the six primary source of food for charity organization. They include:

-Food drive: This is the primary source of food for food bank. A food drive maybe entirely a local effort or it may be part of a longer statewide or national campaign coordinated by company or organization in order to offer donations through food to the various food banks (18). This food obtained here tends to have a very short shelf life, making it most suitable for programs like the food banking system.

-Purchasing: Many charities can raise money to be used to purchase food. This medium of getting food can lead to economies of scale, as buying in bulk is often less expensive but even in bulk food prices, purchasing by itself will not usually yield enough food to meet the need in a community on a sustainable basis (19).

-Prepared food and perishable food: Prepared food is seen as left over ready to eat food from restaurants, cafeterias, grocery stores, caterers, hotels, events and trade shows. Volunteers usually store the food in containers that are immediately refrigerated or frozen (18). For perishable food such as meat, fresh produce, milk, eggs, cheese, bakery item are usually contributed by grocery stores, produce stores, local farmers, home and community garden, food pantry gardens,

wholesalers, farmers market and road side produce stores who do not want to haul their food back home at the day's end and will gladly donate surplus to food bank.

-Gardens: food banks can get food from donations of individual home garden, community gardens. Food banks or pantries can also provide seeds and seedling to their clients to grow their own home gardens (18). This is done in order to increase family sufficiency and self esteem

-Gift cards: Gift cards from grocery or supermarket stores can supplement the donated and purchased food that food bank or pantries distribute to families because gift cards are easier and more efficient way to make money than food (18). That is to say, gift cards by pass considerable time, labour and cost because food banks do not have to buy, move, store, sort, pack, pay for or physically distribute as much food.

-Food bank and food rescue organization: Food banks and rescue agencies generally do not serve families directly but provide food at low or no cost for emergency food providers, who in turn serve low income households. They usually stock prepared and perishable food (18). They are non profit organizations that deal primarily with food manufacturers and distributors, gleaning product in quantities that would overwhelm most individual charities (19). Charitable organizations that use food bank are similar to purchasing although food bank's inventory changes more quickly than that of a grocery store and the food cost less in a food bank.

#### **PUBLIC HEALTH ISSUES ARISING FROM FOOD INSECURITY**

Food insecurity is a public health issue as it affects the entire population of a community, state, country or the world. Thus, this food insecurity tends to deter or diminish the public health status of a country because various health complications arises from such scenario. However, income determines food security of an individual or household, because as income drops and food budget shrink, food choices tend to shift towards cheaper produce, thereby making those with low income nutritionally vulnerable. Thus they

tend to compromise quality and variety in order to fill their bellies. This discussed scenario brings about the various health complications from food insecurity such as hunger, obesity, malnutrition and other health complications that affects the general public. Meanwhile, food insecurity can be inferred to be a condition that signifies either hunger resulting from problems with availability, access and use or vulnerability to hunger. Therefore hunger can be said to be a subset of food insecurity. Consequently, some specific indicators of food insecurity in a given region has been identified and categorized to include the number of hungry people, malnourished people, underweight children under five years of age, proportion of population below minimum level of dietary energy consumption and people suffering from micronutrient deficiency (16). Thus, hunger which is seen as one of the main indicators can be defined as an uncomfortable or painful sensation caused by insufficient food energy consumption. Therefore, hunger tends to lead to poor health by increasing the severity of infectious disease, which results in the risk of dying from a disease once ill.

Accordingly, the Ottawa Charter for health promotion asserted that food is recognized as a prerequisite for health (3). In this regards there are lots of literatures linking health issues to food insecurity. They include mental illness, depression, impaired fetal development, child growth delay, mineral and micronutrient deficiencies, malnutrition, chronic diseases and nutritional intake (3, 20-22). People who are food insecure are more likely to report poor health, of having poor functional health, restricted activity and multiple chronic conditions of suffering from major depression and distress and of having poor social support (22). Unfortunately, pregnant and breastfeeding women and infants are often the most severely affected by food insecurity (20). This is due to the fact that women child bearing age tend to acquire more nutritional and health needs than other age and gender groups due to the physiological demands during pregnancy and child birth. Also children especially below five years of age are more vulnerable to disease. Thus inadequate nutrition among pregnant women impacts on children's growth and development throughout their life cycle. In furtherance of this, Nestel reported that short stature among women,

a symptom of past hunger was associated with higher risk of preterm and difficult birth which affected foetal development (21). Therefore, it can be ascertained that maternal malnutrition affects the health and nutrition of children, which could impact on the cognitive development and school performance of these children, with negative consequences continuing into adulthood.

Moreover, the availability and absorption of micronutrients is one of the most important determinants of health because deficiencies in Vitamin A, Iron, Zinc, Folic acid are the main contributors to the world food burden. These deficiencies results in a weakened immunity among young children and adult making them susceptible to infectious diseases. To this end, severe scenario of food insecurity has the attributes to increase the mortality rate of a particular country due to the health complications associated with food insecurity and hunger.

## **CONCLUSION AND SUGGESTIONS**

In view of the various health complications and the embarrassment associated with food insecurity in Nigeria, this brings to fore the need to reiterate and advocate for an urgent program that will alleviate or ameliorate the food insecurity challenges faced by the populace. Thus, food banking is proposed by the researchers in meeting the food needs of the populace in order to avoid a bridge in their human right to food and make Nigeria be at par with other advanced country in term of food security.

Therefore, the researchers proposed the following suggestions. Nigeria should fully adopt the American food banking model and encourage their cooperation with the Global Food Banking network in order to ensure effective and efficient distribution of food to the hungry. This will help in increasing the number of institutions committed to food security and streamlining food donation process.

Private sectors such as food manufacturers and retailers should be encouraged to contribute the food banking model expounds by the Global Food Banking Network and Food Bank of Nigeria. Also federal, state and local governments should commit money and political will to achieve the broader aims of the food banking system in Nigeria. In this regard, more research needs to

be done in order to ensure the effective and efficient adaptation of the food banking system in Nigeria. This study implication on Nurses is that Nurses need to become more aware of food security especially on the health complications culminating from hunger and malnutrition and then need for proper nutrition. Nurses can also act as agents to propagate health information on the adequate dieting.

## REFERENCES

1. Omonona BT, Agoi GA. 2007. An analysis of food security situation among Nigeria households: Evidence from Lagos state, Nigeria. *J Central Eur Agric*, 18 (3), 397-406
2. Daily Independence. 2014. Nigeria: Country of hungry people. Retrieved September 5th, 2015 from <http://dailyindependentnig.com/2014/02/nigeri-country-of-hungry-people> (accessed September 5, 2015).
3. Nugent MA. 2011. *Journeys to the food bank: Exploring the experience of food insecurity among post secondary students*. A thesis submitted to the school of graduate studies of the University of Lethbridge, Canada.
4. Food and Agriculture Organization FAO. 2011. *National food response program*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, UN house, Abuja.
5. Watuleke J. 2015. The role of food banks in food security in Uganda. The case of the hunger project food bank, Mbala Epicenter. Nordic Africa Institute. ISBN 978-91-7106-761-6
6. Warshawsky DN. 2011. Urban Food Insecurity and the advent of food banking in southern Africa. Urban food security series No. 6. Queen University and AFSUN: Kingston and Capetown.
7. Riches G. 2002. Food banks and food security: Welfare reform, human rights and social policy. *Lessons from Canada. Social Policy and administration* 36 (6), 684- 663.
8. Downing E, Kennedy S, Fell M. 2014. Food bank and food poverty. House of commons library.
9. Food bank Nigeria. 2015. Food banking in Nigeria. Available at <http://foodbankng.com/agencyintroduction/feeding-nigeria/> (accessed November 20th , 2015)
10. Food and Agriculture Organization FAO. 2008. An introduction to basic concepts of food security information for action practical guides. Available at [www.foodsec.org/docs/conept-guide.pdf](http://www.foodsec.org/docs/conept-guide.pdf).
11. Mundi Index. 2015. Country facts and figures retrieved on 11th September, 2015 from <http://www.indexmundicom/facts/indictors/Nigeria>.
12. Vanguard newspaper. 2011. 2 in 5 Nigerian children chronically malnourished. Retrieved September 5<sup>th</sup>, 2015 from <http://www.vanguardngr.com/2011/12/2-in-5-nigerian-children-chronically-malnourished-experts/>
13. Gorton D, Bullen CR, Mhurchu CN. 2010. Environmental influence on food security in high income countries. *Nutrition reviews*, 68 (1), 1-29.
14. Abdulrahaman S. 2013. Population growth and food security in Nigeria (2010-2012). *Arabian J Business and management review (Nigeria chapter)*, 1 (1), 41-53
15. Adebayo AA. 2010. Food security status in Nigeria pre and post regulation review. *Int J Econ Dev Res and investment*. 1 (1), 132-150
16. Eme OI, Onyishi J, Uche O, Uche B. 2014. Challenges of food insecurity in Nigeria. Options before government. *Arabian J Business and Manag Rev*. 4(1), 15-25.
17. Adebayo PF, Ojo EO. 2012. Food security in Nigeria: An Overview. *Eur J Sustain Dev* 1(2) 199- 222.
18. Bader J, Wuennenburg E, Bauman M. (n.d). WISCAP's guide to resources for Wisconsin food pantries. Wisconsin community action program association, Madison, WL.
19. Thomas J. 2007. How to run a food pantry. Available at <http://www.foodbankrockies.org/wp-content/uploads/food-pantry-guide-isted.pdf>.
20. Population action international 2011. Why population matters to food security. Washington DC USA.
21. World Food Program WFP. 2007. World hunger series. Hunger and health. World Food Program, Rome, Italy
22. Tarasuk V. 2009. Health implications of food insecurity. In D. Raphael (ed). *Social determinants of health: Canadian perspectives* (2<sup>nd</sup> ed. pp. 205-220). Toronto. Canadian scholars press.

## 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.

## PRODUCTION of AMYLASE by A NOVEL *Bacillus* sp. ZBP10 in SUBMERGED FERMENTATION

Ayşe Avcı\*, Dzhanser Adem, İsmail İnan, Samet Yüksel,  
Kübra Gizem Şahin, Zekeriya Kalkan

Sakarya University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Sakarya, Turkey

Received / Geliş Tarihi: 11.01.2016

Received in revised form / Düzeltilerek Geliş Tarihi: 15.02.2016

Accepted / Kabul Tarihi: 17.02.2016

### Abstract

*Bacillus* sp. ZBP10 is an amylase producing strain isolated from a soil sample collected from a potato cultivation field in Sakarya. In this study, culture conditions were optimized for *Bacillus* sp. ZBP10 in order to increase amylase production using submerged fermentation. The effects of temperature (30-40°C), fermentation time (24-72 h), initial medium pH (6.0-9.0), carbon sources (soluble, wheat, rice and corn starches) and substrate concentration (5-30 g/L) on the production of amylase were determined. According to the results, the bacterium produced maximum amount of amylase, when the initial pH of the medium was 7.0, at 33°C, and within 48 h. Soluble starch was the best substrate among the starches tested. Optimum substrate concentration was 20 g/L for enzyme production with which 3.57±0.19 U/mL enzymatic activity was obtained.

**Key Words:** Amylase, *Bacillus*, enzyme production, starch.

## *Bacillus* sp. ZBP10 SUŞU İLE DERİN KÜLTÜR FERMANTASYONUNDA AMİLAZ ÜRETİMİ

### Özet

*Bacillus* sp. ZBP10, Sakarya'da patates yetiştirilen bir alandan alınan topraktan izole edilmiş olan amilaz üreticisi bir suşudur. Bu çalışmada, derin kültür fermantasyonu ile *Bacillus* sp. ZBP10'un amilaz üretimini arttırmak için üretim koşullarının optimizasyonu yapılmıştır. Amilaz üretimine sıcaklık (30-40°C), fermantasyon süresi (24-72 saat), besiyeri başlangıç pH'sı (6.0-9.0), karbon kaynakları (çözünür, buğday, pirinç ve mısır nişastaları) ve substrat konsantrasyonunun (5-30 g/L) etkisi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, bakteri en iyi amilaz üretimini başlangıç pH'sı 7.0 olan besiyerinde 33°C inkübasyon sıcaklığında, 48 saatte gerçekleştirmiştir. Çalışmada kullanılan nişasta kaynaklarından amilaz üretiminde en etkili olanının çözünür nişasta olduğu belirlenmiştir. Optimum substrat konsantrasyonunun ise 20 g/L olduğu belirlenmiş ve bu konsantrasyonda 3.57±0.19 U/mL amilaz aktivitesine ulaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Amilaz, *Bacillus*, enzim, nişasta.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ aysea@sakarya.edu.tr,

☎ (+90) 264 295 5464,

☎ (+90) 264 295 5608



## INTRODUCTION

Amylases (EC. 3.2.1.1) are extracellular enzymes that catalyze the hydrolysis of starch into dextrans, maltose and glucose (1). They are secreted by plants, animals and microorganisms. However, commercial production is dominated by microbial processes due to thermostability and higher enzyme yields and productivities. Moreover precise control of process conditions (e.g. temperature and pH) is more convenient and microorganisms can be manipulated more easily to increase the efficiency of the enzyme (2-4). Amylases command 25-30% of the global enzyme market, which is estimated to be 6 billion dollars in 2016 (5-7). The major industrial application of amylases is for starch hydrolysis, which has largely replaced chemical hydrolysis processes (8). The food industry is the main user of amylases where they are applied for glucose syrup production and by the brewing and baking industry. In addition, the textile, leather, detergent, paper and pulp industries also utilize amylases in their processes (9-13).

Industrial amylases are produced using *Aspergillus oryzae* and *Bacillus* species (8, 12, 14). *Bacillus* species are considered superior for production of amylases (15). The bacteria are also notable for their use in production of a variety of industrially important extracellular enzymes (5). Amongst *Bacillus* strains, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. stearothermophilus*, *B. megaterium* and *B. circulans* are widely used for amylase production (4). Each produces amylase with different properties. In the development of fermentation processes, optimization of the cultural conditions is necessary in order to improve the enzyme yield for eventual industrial application (3, 8). Solid-state fermentation or submerged fermentation can be applied for the production of amylases (8). Submerged fermentation is often preferred for industrial microbial based processes because of the ability to efficiently control culture conditions including temperature and pH. In addition, it facilitates sterilization and has lower labor costs (16, 17). The objective of this study, to investigate the relation of the environmental conditions, such as temperature, pH, time, substrate concentration, with the amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10 that was isolated from soil.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

3,5 Dinitrosalicylic acid (DNS) was purchased from Sigma-Aldrich (MO, USA), soluble starch, nutrient agar, nutrient broth, yeast extract, peptone, Tris-base were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Wheat and corn starches were purchased from a local vendor. All the chemicals used were analytical grade.

### Bacterial strain and seed culture

The strain was isolated from a soil sample collected from Sakarya district and identified as *Bacillus* sp. ZBP10 according to standard morphological and biochemical tests. The culture was stored at -18°C in 50% (v/v) glycerol. It was revived by growing on a nutrient agar plate incubated at 33°C for 24 h. Seed cultures were prepared by inoculating single colonies, from the plates, into 100 mL Erlenmeyer flasks containing 30 mL of nutrient broth. Growth was carried out at 33°C for 24 h on a shaking incubator (Benchmark Incu-Shaker/mini, NJ, USA) set at 120 rpm.

### Enzyme production

A basal medium containing soluble starch, 10 g; yeast extract, 5 g; peptone from meat, 5 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.2 g; NaCl, 0.5 g is prepared in one liter of deionized water and pH was adjusted to 7.0 by using 2N HCl. Media were filled into 100 mL flasks as 30 mL portions and sterilized at 121°C for 15 min. Five percent (v/v) fresh seed culture was used for inoculation. Unless otherwise indicated incubations were carried out at 33°C for 24 h on a shaking incubator at 120 rpm. In order to study the effect of temperature on the enzyme production, conditions mentioned above were used except for the incubation temperature, which were held at 30; 33; 37 and 40°C. For the pH experiments, initial pH of the basal media were adjusted to 6; 7; 8 and 9 by using either 2N NaCl or 2N HCl. Effect of substrate concentration on the enzyme production was determined using 5; 10; 15; 20 and 30 g/L soluble starch in the basal media. Production of enzyme from different substrates was tested by replacing soluble starch in the basal media with starch from rice, wheat or corn (each 10 g/L). Samples were taken at the end of the incubations and centrifuged at 10000 rpm for 10 min by using



Hettich Universal 320 R (Tuttlingen, Germany) centrifuge, and the resulting supernatants were analyzed for amylase activity. Experiments were carried out in duplicate.

### Analysis

For the determination of amylase activity, soluble starch (2%; w/v) was prepared in 100 mM Tris-HCl buffer, pH 7.0 and boiled until the starch gelatinized and then cooled to ambient temperature. A 0.1 mL of supernatant was added to the reaction mixture and incubated in a water bath (JSR, JSSB-30T, Gongju-City, Korea) at 60°C for 15 min. Released glucose was measured as reducing sugar content as determined by the DNS (3,5 dinitrosalicylic acid) method. Absorbance was measured at 540 nm using UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu UV Mini-1240, Kyoto, Japan). A glucose standard curve was constructed to estimate the reducing sugar content. One unit of amylase activity was defined as the amount of enzyme that liberates 1  $\mu$ mol glucose per min under the reaction conditions (18).

## RESULTS AND DISCUSSION

*Bacillus* is a workhorse of the enzyme industry, especially for production of amylases (5, 15). Eighty isolates from various environments were screened for amylase production using the starch iodine assay on agar plates. A total of 12 isolates were identified as amylase producers. *Bacillus* sp. ZBP4 was one of the best, thus it was chosen for the further studies. *Bacillus* sp. ZBP10 is Gram-positive, spore-forming, catalase positive, rod shaped bacterium. It was isolated from the soil taken from a potato cultivation area. Cultural conditions were optimized for amylase production. Maximizing enzyme production requires optimizing pH, temperature, substrate type and concentration (5).

### Effect of temperature on the amylase production

The bacterium was grown at 30–40°C to determine the optimal temperature (Figure 1). Enzyme production was detected throughout this range. Maximum enzyme production was at 33°C and the minimum at 30°C with a 41% spread in activities between them. Fermentation temperature affects cell growth rate and metabolite production (5, 19). Reported optimal temperatures for prorogating

*Bacillus* strains vary widely. *Bacillus* sp. VS.4 (6) and *B. altitudinis* (11) each had maximum production of amylase at 40°C, and *B. amyloliquefaciens* had its maximum at 42°C (5). On the other hand, there are also thermophilic *Bacillus* strains producing amylase optimally at 55–60°C (20, 21, 22). *Bacillus* sp. KR-8104 has produced amylase at 37°C (23). Ravindar and Elangovan (12) reported maximum amylase production at 32°C with a *B. subtilis* strain, which is quite similar to our finding.

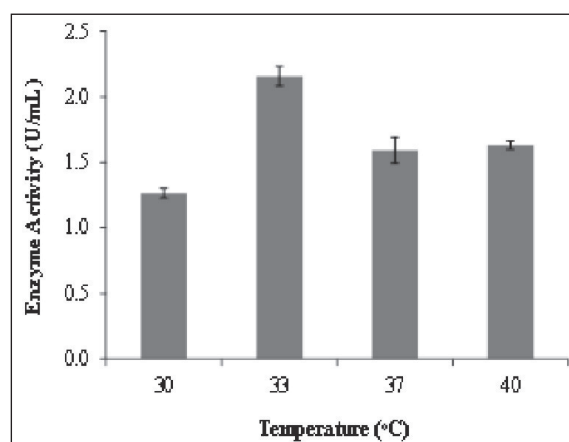


Figure 1. Effect of incubation temperature on amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10 in 24 h.

### Effect of pH on the amylase production

The results obtained when the bacterium was grown at varying pH values are shown in Figure 2. The pH of the medium alters cell morphology and enzyme secretion in microorganisms, and additionally affects the stability of the enzyme once secreted. Culture pH affects growth and enzyme production and optimal pH varies widely among bacteria (5, 24, 25). Generally, *Bacillus* strains produce the maximum amount of enzyme when the initial pH of the medium is between 6.0 and 9.0. In our case, the optimum pH was pH 7.0. Incubation at pH 6.0 decreased enzyme production by 30%. However, more alkaline pH values supported enzyme production. Measured amylase activities at pH 8.0 and 9.0 were only 3.5 and 7.1% lower than that observed at pH 7.0, respectively. This indicates that the amylase can be produced in a broad pH range by *Bacillus* sp. ZBP10. Various other *Bacillus* strains have also been reported to have an optimal growth pH value of 7.0 (11, 12, 24, 25).

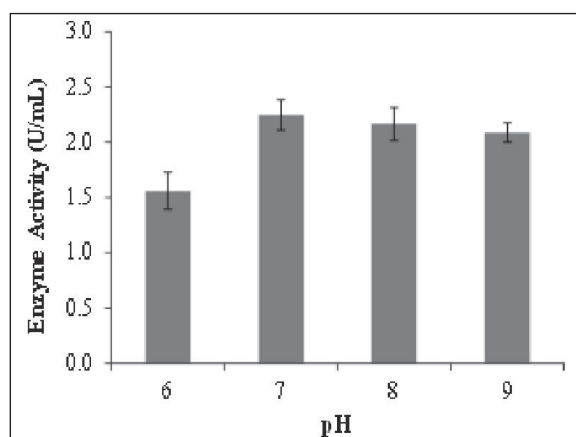


Figure 2. Effect of pH on amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10 at 33°C in 24 h.

### Effects of various starches on the amylase production

It has been observed that amylase production is induced in the presence of starch (2). For this reason, various starches (e.g. corn, wheat, rice and soluble) were tested to identify which starch is best for amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10. Amylase activities obtained with these substrates are presented in Figure 3. The highest enzymatic activity was observed using soluble starch ( $2.25 \pm 0.14$  U/mL). Activities using wheat, corn and rice starches were 41, 49 and 59% less than that observed with soluble starch, respectively. According to the literature, substrate requirement for growth of *Bacillus* strains vary widely. For instance, Divakaran et al (4) tested the production of amylase from soluble starch, rice and ground wheat by *B. licheniformis* MTCC strain and

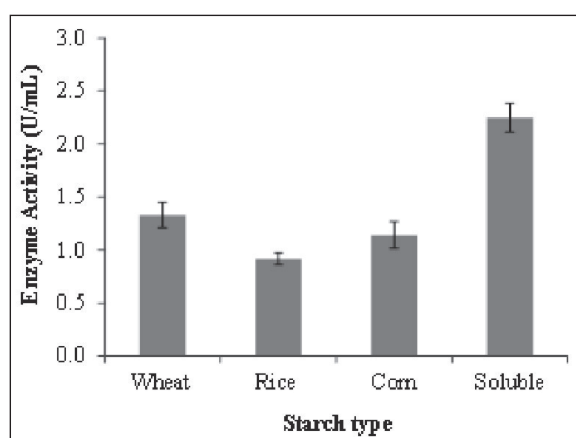


Figure 3. Effects of different carbon sources on the amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10.

observed maximum production on starch (2.59 U/mL). However, they obtained very similar activities with rice and ground wheat to result obtained with starch, which is not what was observed here.

### Effect of substrate concentration on the amylase production

Soluble starch in varying amounts (5-30 g/L) was used to determine the optimal substrate concentration for enzyme production. Enzyme production gradually increased with greater substrate concentration and the maximum amount of enzyme ( $3.57 \pm 0.19$  U/mL) was reached using 20 g/L soluble starch concentration (Figure 4). The lowest enzyme production was obtained using 5 g/L substrate concentration and there was a 5-fold increase in maximum enzymatic activity when the concentration was increased from 5 to 20 g/L. However, at 30 g/L soluble starch, the activity declined to  $3.13 \pm 0.56$  U/mL. Our findings are in agreement with those reported by Vishmu et al (6), and Mishra and Behera (26) who reported maximum amylase production at 2% starch concentrations. On the other hand, Saxena et al. (22) reported maximum amylase activity at 0.6% starch concentration.

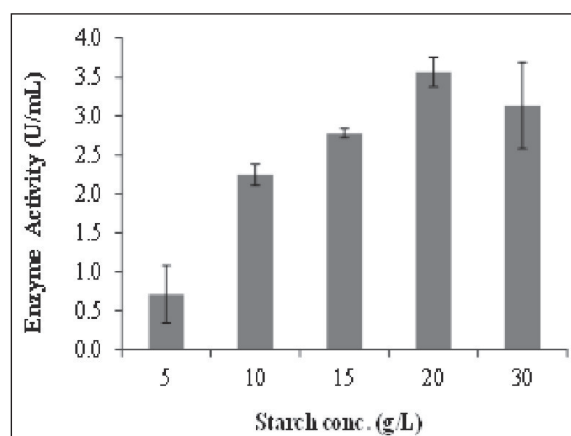


Figure 4. Effect of starch concentration on the production of amylase by *Bacillus* sp. ZBP10.

### Effect of incubation time on the amylase production

*Bacillus* sp. ZBP10 was incubated in the basal medium at 33°C for 72 h and periodically sampled for profiling enzyme production (Figure 5). The strain produced the maximum amount of enzyme ( $3.4 \pm 0.1$  U/mL) after 48 h of growth and enzymatic

activity declined at 72h. Enzyme production is growth related and in general reaches maximum at stationary phase (27). Minimizing culture time is important for enzyme production, because prolonged incubations increase the cost of production as well as allowing for enzyme degradation by proteases secreted by the microorganism (12). Most *Bacillus* species studied for amylase production also have been observed to achieve maximum activities at 48 h (11, 16). On the other hand, some *Bacillus* strains produce the maximum amount of amylase in 72 h (8, 28).

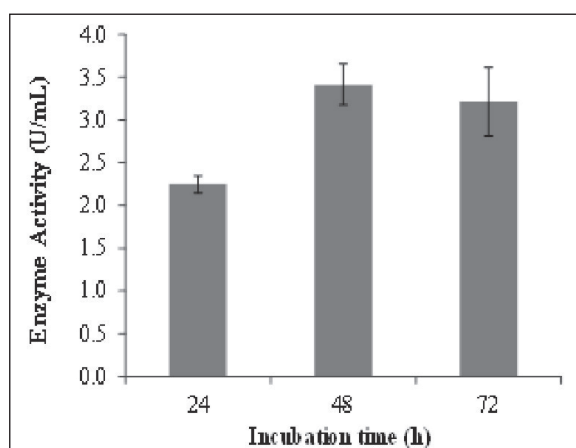


Figure 5. Time course of amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10.

## CONCLUSIONS

Culture parameters for amylase production by *Bacillus* sp. ZBP10 have been optimized in submerged culture. It produced maximum amylase with an initial pH of the medium at 7.0 after 48 h growth. Culturing on soluble starch led to higher amylase production than using wheat, rice and corn starches. The optimum substrate concentration was 20 g/L.

## REFERENCES

- Rajagopalan G, Krishnan C. 2008.  $\alpha$ -amylase production from catabolite depressed *Bacillus subtilis* KCC103 utilizing sugarcane bagasse hydrolysate. *Bioresour Technol*, 99, 3044-3050.
- Thippeswamy S, Girigowda K, Mulimani VH. 2006. Isolation and identification of  $\alpha$ -amylase producing *Bacillus* sp. from dhal industry waste. *Indian J Biochem Biophys*, 43, 295-298.
- Souza PM, Magalhães PO. 2010. Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry: A review. *Braz J Microbiol*, 41, 850-861.
- Divakaran D, Chandran A, Chandran PR. Comparative study on production of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* strains. *Braz J Microbiol*, 42, 1397-1404.
- Deb P, Talukdar SA, Mohsina K, Sarker PK, Abu Sayem SM. 2013. Production and partial characterization of extracellular amylase enzyme from *Bacillus amyloliquefaciens* P-001. *SpringerPlus*, 2, 154.
- Vishnu TS, Soniyamby AR, Praveesh BV, Hema TA. 2014. Production and optimization of extracellular amylase from soil receiving kitchen waste isolate *Bacillus* sp. VS 04. *World Appl Sci J*, 29 (7), 961-967.
- Popovic MK, Senz M, Bader J, Skelac L, Schilf W, Bajpai R. 2014. Positive effect of reduced aeration rate on secretion of alpha-amylase and neutral proteases during pressurized fermentation of thermophilic *Bacillus caldolyticus*. *N Biotechnol*, 31 (2), 141-149.
- Xie F, Quan S, Liu D, Ma H, Li F, Zhou F, Chen G. 2014. Purification and characterization of a novel  $\alpha$ -amylase from a newly isolated *Bacillus methylotrophicus* strain P11-2. *Process Biochem*, 49, 47-53.
- Ma Y, Yang H, Chen X, Sun B, Du G, Zhou Z, Song J, Fan Y, Shen W. 2015. Significantly improving the yield of recombinant proteins in *Bacillus subtilis* by a novel powerful mutagenesis tool (ARTP): Alkaline  $\alpha$ -amylase as a case study. *Protein Express Purif*, 114, 82-88.
- Roy JK, Rai SK, Mukherjee AK. 2012. Characterization and application of a detergent-stable alkaline  $\alpha$ -amylase from *Bacillus subtilis* strain AS-S01a. *Int J Biol Macromol*, 50, 219-229.
- Kumar Y, Singh PK, Singh AK, Masih H, Peter KJ, Benjamin JC, Rath S. 2014. Production optimization of alpha amylase from *Bacillus altitudinis*. *Int J Sci Eng Technol Res*, 3 (4), 0564-0573.
- Ravindar DJ, Elangovan N. 2013. Molecular identification of amylase producing *Bacillus subtilis* and detection of optimal conditions. *J Farm Res*, 6, 426-430.

13. Hmidet N, Ali NEH, Haddar A, Kanoun S, Alya SK, Nasri M. 2009. Alkaline proteases and thermostable  $\alpha$ -amylase co-produced by *Bacillus licheniformis* NH1: Characterization and potential application as detergent additive. *Biochem Eng J*, 47, 71-79.
14. Sahnoun M, Bejar S, Sayari A, Triki MA, Kriaa M, Kammoun R. 2012. Production, purification and characterization of two  $\alpha$ -amylase isoforms from a newly isolated *Aspergillus oryzae* strain S2. *Process Biochem*, 47, 18-25.
15. Anto H, Trivedi U, Patel K. 2006. Alpha amylase production by *Bacillus cereus* MTCC 1305 using solid-state fermentation. *Food Technol Biotechnol*, 44 (2), 241-245.
16. Sankaralingam S, Shankar T, Ramasubburayan R, Prakash S, Kumar C. 2012. Optimization of culture conditions for the production of amylase from *Bacillus licheniformis* on submerged fermentation. *American-Eurasian J Agric Environ Sci*, 12 (11), 1507-1513.
17. Benjamin S, Smitha RB, Jisha VN, Pradeep S, Sajith S, Sreedevi S, Priji P, Unni KN, Sarath Josh MK. 2013. A monograph on amylases from *Bacillus* spp. *Adv Biosci Biotechnol*, 4, 227-241.
18. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem*, 31, 662-666.
19. Naidu MA, Saranraj P. 2013. Bacterial amylase: A review. *Int J Pharm Biol Sci Arch*, 4 (2), 274-287.
20. Haki GD, Anceno AJ, Rakshit SK. 2008. Atypical  $\text{Ca}^{2+}$  independent, raw-starch hydrolyzing alpha-amylase from *Bacillus* sp. GRE1: Characterization and gene isolation. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 2517-2524.
21. Raj V, Hemashenpagam N. 2012. Production and medium optimization of amylase by using fermentation methods. *J Microbiol Biotech Res*, 2 (4), 481-484.
22. Saxena RK, Dutt K, Agarwal L, Nayyar P. 2007. A highly thermostable and alkaline amylase from a *Bacillus* sp. PN5. *Bioresour Technol*, 98, 260-265.
23. Hashemi M, Mousavi SM, Razavi SH, Shojaosadati SA. 2013. Comparison of submerged and solid state fermentation systems effects on the catalytic activity of *Bacillus* sp. KR-8104  $\alpha$ -amylase at different pH and temperatures. *Ind Crop Prod*, 43, 661-667.
24. Asgher M, Javaid Asad M, Rahman SU, Legge RL. 2007. A thermostable  $\alpha$ -amylase from a moderately thermophilic *Bacillus subtilis* strain for starch processing. *J Food Eng*, 79, 950-955.
25. Viswanathan S, Rohini S, Rajesh R, Poomari K. 2014. Production and medium optimization of amylase by *Bacillus* spp using submerged fermentation method. *World J Chem*, 9 (1), 01-06.
26. Mishra LS, Behera N. 2008. Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil receiving kitchen wastes. *Afr J Biotechnol*, 7, 3326-3331.
27. Liu XD, Xu Y. 2008. A novel raw starch digesting  $\alpha$ -amylase from a newly isolated *Bacillus* sp. YX-1: Purification and characterization. *Bioresour Technol*, 99, 4315-4320.
28. Vidyalakshmi R, Paranthaman R, Indhumathi J. 2009. Amylase production on submerged fermentation by *Bacillus* spp. *World J Chem*, 4 (1), 89-91.

## CHANGES IN FATTY ACID COMPOSITION OF HAZELNUT DURING FRUIT DEVELOPMENT

Huri İlyasoğlu\*

Gümüşhane University, Department of Nutrition and Dietetics, Gümüşhane, Turkey

Received / Geliş Tarihi: 19.01.2016

Received in revised form / Düzeltilerek Geliş Tarihi 24.02.2016

Accepted / Kabul Tarihi 26.01.2016

### Abstract

Hazelnut is rich in monounsaturated fatty acids, particularly oleic acid. The fatty acid composition of hazelnut has gained a great deal of attention due to its health benefits. The aim of this study was to evaluate the changes in the fatty acid composition of the Turkish hazelnut cultivars (Tombul, Palaz and Sivri) during fruit development. Four major fatty acids (oleic, linoleic, palmitic, and stearic acids) and three minor fatty acids (palmitoleic, linolenic, and arachidic acids) were detected in all hazelnut cultivars during all stages. The monounsaturated fatty acids content of the Turkish hazelnut cultivars increased during fruit development, whereas the polyunsaturated fatty acids content decreased. These results indicated that the oxidative stability of hazelnut oil may be enhanced during fruit development.

**Keywords:** *Fatty acids, fruit development, hazelnut*

## FINDIKTA MEYVE GELİŞME DÖNEMİNDE YAĞ ASİTLERİ KOMPOZİSYONUNDAKİ DEĞİŞİMLER

### Özet

Fındık oleik asit gibi tekli doymamış yağ asitleri bakımından zengindir. Fındığın yağ asidi kompozisyonu sağlık yararları nedeniyle önem kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı, meyve gelişimi sırasında Türk fındık çeşitlerinde yağ asidi kompozisyonundaki (Tombul, Palaz ve Sivri) değişimleri değerlendirmektir. Tüm fındık çeşitlerinde tüm gelişim dönemlerinde, dört makro yağ asidi (oleik, linoleik, palmitik ve stearik asit) ve üç minör yağ asidi (palmitoleik, linolenik ve araşidik asit) tespit edilmiştir. Meyve gelişimi sırasında Türk fındık çeşitlerinde tekli doymamış yağ asitleri içeriği artarken, çoklu doymamış yağ asidi içeriği azalmaktadır. Bu sonuçlar, meyve gelişimi sırasında fındık yağının oksidatif stabilitesinin artabileceğini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yağ asitleri, meyve gelişimi, fındık

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ huriilyasoglu@yahoo.com,

☎ (+90) 456 233 10 00/ 3817,

☎ (+90) 456 233 7119



## INTRODUCTION

Hazelnut (*Corylus avellana* L.) is a nut tree, mainly grown in the Black Sea region of Turkey, and southern Europe. The world's largest producer is Turkey, followed by Italy and the USA (1). Seventeen cultivars are known to be grown in Turkey, of which Tombul, Sivri, and Palaz are major commercial cultivars. Only the Tombul cultivar is sorted as prime quality. Sivri and Palaz cultivars are classified as the second grade in quality (2).

Hazelnut includes macronutrients (proteins, carbohydrates, and lipids) and micronutrients (vitamins and minerals). It also comprises of bioactive compounds (tocopherols, phytosterols, squalene, and phenolic compounds). This composition makes hazelnut a valuable food. Bioactive components of hazelnut may help to reduce the risk of heart diseases and cancers (3-4).

Research on the lipid characteristics of nut oils has gained attention recently. Hazelnut is rich in monounsaturated fatty acids (mainly oleic acid). This fatty acid composition may contribute to the beneficial health effects of hazelnut. An increase in the intake of saturated fatty acids may raise risk of the heart diseases and cancers. Therefore, the replacement of saturated fatty acids with unsaturated fatty acids is suggested (5).

The fatty acid composition of the Turkish hazelnut cultivars at the harvest stage has been investigated. However, there are limited reports on the fatty acid composition of the hazelnut during fruit development (6). Therefore, the aim of this study was to evaluate the changes in the fatty acid composition of the primary Turkish hazelnut cultivars during fruit development.

## MATERIAL AND METHODS

### Samples

Samples belonging to the Turkish native cultivars Tombul, Palaz and Sivri were collected from same orchard in the Giresun Province of Turkey (July-August 2012). The same marked trees were used for subsequent sampling. Hazelnuts were harvested at three stages: early stage (ES), July 8-15; middle stage (MS), July 22-30; and harvest stage (HS); August 12-30. Hazelnut samples were stored at -18°C until analyzed.

The orchard was not irrigated. Total rainfall was 128.3 mm in June, 113.1 mm in July, and 61.1 mm in August, according to the data taken from the Turkish Meteorological Institute.

### Fatty acid composition

Oil was extracted using the Soxhlet method (using petroleum ether as a solvent). The fatty acid composition was determined according to the analytical methods described in the AOAC methods. Fatty acid methyl ester was injected into a Shimadzu GC-2010 Plus gas chromatograph equipped with a flame ionization detector, a split/splitless injector, and a long capillary column (0.25 mm x 0.20 µm x 60 m, Teknokroma TR-CN100). The oven temperature program was as follows: the initial temperature of the column was 90°C, held for 5 minutes, then a 10°C/min ramp to 240°C, and held for 20 minutes. The carrier gas was nitrogen at a flow rate of 60 ml/min, the split ratio was 50:1, and the injection quantity was 1 µl. The identification of FAMES was performed by using a standard FAME reference mixture.

### Statistical analysis

Significant differences in the fatty acid composition among the maturation stages were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA). LSD analysis was applied to determine the differences among the maturation stages. SPSS 17.0 software (IBM Corporation, New York, USA) was used for the statistical data processing.

## RESULTS AND DISCUSSION

The fatty acid composition of the hazelnut cultivars is presented in Table 1. Oleic acid, linoleic acid, palmitic acid, and stearic acid were the major fatty acids detected in the hazelnut cultivars. Palmitoleic acid, linolenic acid, and arachidic acid were the minor fatty acids found in the hazelnut cultivars. The minor fatty acids contributed less than 1% to the total fatty acid content. The fatty acid composition of the hazelnut cultivars at the harvest stage was comparable to those reported in the literature (3, 7, 8).

Oleic acid, a monounsaturated fatty acid, was the most abundant fatty acid found in the hazelnut cultivars. The oleic acid content through the maturation stages ranged from 79.6 to 86.0% in the Tombul cultivar, from 81.4 to 87.1% in the Palaz cultivar, and from 80.8 to 86.8% in the Sivri



Table 1- Fatty acid composition (%) of hazelnut cultivars from early stage to harvest stage

Fatty acid	Tombul		
	ES	MS	HS
Palmitic acid	4.92±0.03 <sup>a</sup>	4.69±0.12 <sup>a</sup>	4.66±0.08 <sup>a</sup>
Palmitoleic acid	0.12±0.02 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>
Stearic acid	2.13±0.01 <sup>a</sup>	2.13±0.04 <sup>a</sup>	1.99±0.04 <sup>b</sup>
Oleic acid	79.57±0.23 <sup>b</sup>	85.73±0.25 <sup>a</sup>	86.04±0.37 <sup>a</sup>
Linoleic acid	12.43±0.02 <sup>a</sup>	7.07±0.02 <sup>b</sup>	6.99±0.28 <sup>b</sup>
Linolenic acid	0.32±0.01 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>c</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>
Arachidic acid	0.14±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.10±0.01 <sup>c</sup>
SFA	7.19±0.04 <sup>a</sup>	6.92±0.16 <sup>ab</sup>	6.74±0.11 <sup>b</sup>
MUFA	79.69±0.25 <sup>b</sup>	85.83±0.25 <sup>a</sup>	86.16±0.37 <sup>a</sup>
PUFA	12.74±0.01 <sup>a</sup>	7.16±0.01 <sup>b</sup>	7.11±0.27 <sup>b</sup>

Fatty acid	Palaz		
	ES	MS	HS
Palmitic acid	5.44±0.04 <sup>a</sup>	5.25±0.07 <sup>b</sup>	5.09±0.01 <sup>c</sup>
Palmitoleic acid	0.13±0.01 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>a</sup>	0.14±0.01 <sup>a</sup>
Stearic acid	2.37±0.01 <sup>b</sup>	2.51±0.02 <sup>a</sup>	2.30±0.01 <sup>c</sup>
Oleic acid	81.37±1.63 <sup>b</sup>	87.15±0.13 <sup>a</sup>	87.09±0.06 <sup>a</sup>
Linoleic acid	9.02±0.04 <sup>a</sup>	4.63±0.04 <sup>c</sup>	4.90±0.04 <sup>b</sup>
Linolenic acid	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	0.19±0.02 <sup>b</sup>
Arachidic acid	0.17±0.01 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>b</sup>
SFA	7.98±0.03 <sup>b</sup>	7.88±0.04 <sup>b</sup>	7.50±0.01 <sup>c</sup>
MUFA	81.50±1.63 <sup>b</sup>	87.28±0.13 <sup>a</sup>	87.23±0.24 <sup>a</sup>
PUFA	9.24±0.08 <sup>a</sup>	4.76±0.13 <sup>c</sup>	5.08±0.06 <sup>b</sup>

Fatty acid	Sivri		
	ES	MS	HS
Palmitic acid	5.25±0.06 <sup>a</sup>	4.79±0.05 <sup>b</sup>	4.46±0.02 <sup>c</sup>
Palmitoleic acid	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>a</sup>
Stearic acid	1.73±0.01 <sup>c</sup>	1.88±0.01 <sup>b</sup>	1.93±0.01 <sup>a</sup>
Oleic acid	80.78±0.28 <sup>c</sup>	84.98±0.01 <sup>b</sup>	86.78±0.12 <sup>a</sup>
Linoleic acid	11.48±0.04 <sup>a</sup>	7.89±0.09 <sup>b</sup>	6.36±0.13 <sup>c</sup>
Linolenic acid	0.28±0.01 <sup>a</sup>	0.20±0.01 <sup>c</sup>	0.22±0.01 <sup>b</sup>
Arachidic acid	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.09±0.01 <sup>c</sup>
SFA	7.12±0.06 <sup>a</sup>	6.78±0.04 <sup>b</sup>	6.47±0.01 <sup>c</sup>
MUFA	80.89±0.28 <sup>c</sup>	85.10±0.01 <sup>b</sup>	86.88±0.11 <sup>a</sup>
PUFA	11.67±0.08 <sup>a</sup>	8.04±0.02 <sup>b</sup>	6.58±0.12 <sup>c</sup>

Different letters in the rows represent significant differences ( $P<0.05$ )

ES; early stage, MS; middle stage, HS; harvest stage

SFA; saturated fatty acids, MUFA; monounsaturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids

cultivar. Linoleic acid was the predominant polyunsaturated fatty acid in the hazelnut cultivars. The linoleic acid content through the maturation stages varied from 12.4 to 7.0% in the Tombul cultivar, from 9.0 to 4.9% in the Palaz cultivar, and from 11.5 to 6.4% in the Sivri cultivar. Palmitic acid was the most abundant saturated fatty acid detected in the hazelnut cultivars, followed by stearic acid. The palmitic acid content through the maturation stages ranged from 4.9 to 4.7% in the Tombul cultivar, from 5.4 to 5.1% in the Palaz cultivar, and from 5.3 to 4.5% in the Sivri cultivar. The oleic acid ratio of the hazelnut cultivars increased during the fruit development, whereas

the linoleic acid ratio decreased ( $P<0.05$ ). The change in the palmitic acid content of the Tombul cultivar was not statistically significant during the fruit development ( $P>0.05$ ). However, a significant decrease was observed for the Sivri and Palaz cultivars ( $P<0.05$ ). The stearic acid ratio of the Tombul and Palaz cultivars appeared to decrease from the early stage to the harvest stage. However, the stearic acid ratio of the Sivri cultivar increased from the early stage to the harvest stage. The linolenic acid ratio decreased from the early stage to the middle stage, while it seemed to increase from the middle stage to the harvest stage. The arachidic acid ratio of the hazelnut cultivars

showed a decreasing trend during the fruit development, whereas no significant change was observed for the palmitoleic acid content.

Available data on the fatty acid composition of the hazelnut cultivars during fruit development was limited. Our results were compatible with Seyhan et al. (6). They reported that the monounsaturated fatty acid content of the Tombul, Palaz and Badem cultivars increased during the fruit development, whereas the polyunsaturated fatty acid content decreased. In our study, the monounsaturated fatty acid content of the Tombul, Palaz and Sivri cultivars showed an increasing trend, while the polyunsaturated fatty acid content exhibited a decreasing trend. Several enzymes, such as thioesterases, elongases, and desaturases are regulated by the demand of fruit tissues and take part in fatty acid biosynthesis (9). An increase in the monounsaturated fatty acid content may be attributed to the biosynthesis of oleic acid due to  $\Delta 9$ -desaturase activity. Stearoyl-ACP  $\Delta 9$ -desaturase is responsible for the formation of oleic acid by desaturation of stearic acid (10). The decreasing trend of the polyunsaturated fatty acid content may be related to a dilution effect. The quantity of linoleic acid may be constant while the level of oleic acid increased with the biosynthesis of triglycerides (11-12). Furthermore, lipoxygenase activity may have resulted in a reduction in the linoleic acid content. The ratio of oleic acid to linoleic acid improved from the early stage to the harvest stage. A high oleic acid to linoleic acid ratio is known to improve oxidative stability (13).

In conclusion, the fatty acid composition of hazelnut oil was related to the fruit maturation. The ratio of monounsaturated fatty acid to polyunsaturated fatty acid increased with the fruit maturation, which may also improve the oxidative stability of hazelnut oil. The high level of oleic acid during all stages of maturation revealed the high nutritional value of hazelnut oil.

## REFERENCES

1. FAOSTAT. FAO Statistical Databases. 2013. *Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations*.
2. Alasalvar C, Amaral JS, Satır G, Shahidi F. 2009. Lipid characteristics and minerals of native Turkish hazelnut cultivars. *Food Chem*, 113 (4), 919-925.
3. Alasalvar C, Amaral JS, Shahidi F. 2006. Functional lipid characteristics of Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). *J Agric Food Chem*, 54 (26), 10117-10183.
4. Shahidi F, Alasalvar C, Liyana-Patharina CM. 2007. Antioxidant and phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut by-products. *J Agric Food Chem*, 55 (4), 1212-1220.
5. Ros E, Mataix J. 2006. Fatty acid composition of nuts-implications for cardiovascular health. *British J Nut*, 96 (S2), S29-S35.
6. Seyhan F, Ozay G, Saklar S, Ertaş E, Satır G, Alasalvar C. 2007. Chemical changes of three native Turkish hazelnut varieties (*Corylus avellana* L.) during fruit development. *Food Chem*, 105 (2), 590-596.
7. Bada JC, Leon-Camacho M, Prieto M, Alanso L. 2004. Characterization of oils of hazelnuts from Austrias, Spain. *Eur J Lipid Sci Tech*, 106 (5), 294-300.
8. Crews C, Hough P, Godward J, Brereton, P, Lees M, Guiet S, Winkelmann W. 2005. Study of main constituents of some authentic hazelnut oils. *J Agric Food Chem*, 53 (12), 4843-4852.
9. Sakouhia F, Herchi W, Sebe K, Absalon C, Kallel H, Boukhchina S. 2011. Accumulation of total lipids, fatty acids and triacylglycerols in developing fruits of *Olea europea* L. *Sci Hortic*, 132 (1), 7-11.
10. Salas JJ, Sanchez J, Ramli US, Manaf AM, Williams M, Harwood JL. 2000. Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Prog Lip Res*, 39 (2), 151-180.
11. Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerratini L, Bendini A, Lercker G, Zarrouk M, Miled DDB. 2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chem*, 109 (4), 743-754.
12. Gutierrez F, Jimenez B, Ruiz A, Albi MA. 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved. *J Agric Food Chem*, 47 (1), 121-127.
13. Matos LC, Cunha SC, Amaral JS, Pereira JA. 2007. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olive with different maturation indices. *Food Chem*, 102 (1), 406-414.

## ŞIRNAK'TA KIRMIZI ET TÜKETİM ALIŞKANLIKLARI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Ekrem Denli<sup>1</sup>, Sanem Şhribanoğlu<sup>2</sup>, Gökhan Boran<sup>3</sup>

<sup>1</sup>İdil Kaymakamlığı, Sosyal Yardımlaşma ve Dayanışma Vakfı, Şırnak

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Van

<sup>3</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van

Geliş tarihi / *Received*: 03.08.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 16.11.2015

Kabul tarihi / *Accepted*: 13.01.2016

### Özet

Bu çalışmada, Şırnak'ta yaşayan halkın kırmızı et tüketim alışkanlıkları araştırılmıştır. Toplam 512 kişi araştırmanın örneklemini oluşturmuştur. Araştırma verileri, katılımcılarla yapılan yüz yüze görüşmelerle elde edilmiştir. Et tüketen katılımcıların %40.5'i kırmızı eti, %12.0'ı tavuk etini ve %10.4'ü balık etini tercih etmektedir. Katılımcıların %59.8'inin işlenmiş et ürünlerini tüketmediği belirlenmiştir. Bu katılımcıların %60.1'i işlenmiş et ürünlerini sağlıklı bulmadığını belirtmiştir. En çok tercih edilen kırmızı et kaynağı sırasıyla kuzu (%28.4), oğlak (%27.2), sığır (%15.4), koyun (%8.1) ve keçi (%5.6) olarak belirlenmiştir. İşlenmiş et ürünleri içinde en çok sucuk ve en az pastırma tüketilmektedir. Şırnak ilindeki et tüketim alışkanlıklarının gelir seviyesi, hayvan varlığı ve çeşitliliği, gelenek ve alışkanlıklar gibi faktörlerden etkilendiği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Şırnak, kırmızı et, tüketim alışkanlıkları, anket.

## A RESEARCH ON CONSUMPTION HABITS OF RED MEAT IN ŞIRNAK

### Abstract

In this study, red meat consumption habits of people in Şırnak were investigated. The total of 512 people was the subjects of this study. Study data were obtained by interviews in person with the subjects. 40.5% of the meat consumers stated their preference for red meat, 12.0% for chicken, and 10.4% for fish. It is determined that 59.8% of the subjects do not consume processed meat products. Among those, 60.1% stated that they do not find these products healthy. It was found that the most preferred red meat source was lamb (28.4%), kid (27.2%), cow (15.4%), sheep (8.1%) and goat (5.6%) in the descending order. It was also found that the most preferred processed meat product was sucuk while the least one was pastırma. It is concluded that meat consumption habits are affected by income level, animal stock and variety, habits and traditions.

**Keywords:** Şırnak, red meat, consumption habits, survey.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ gboran@yyu.edu.tr,

☎ (+90) 432 225 1025 - 21150,

☎ (+90) 432 225 1730

## GİRİŞ

Sağlıklı ve dengeli beslenmenin en önemli koşullarından biri, gıdalar yoluyla alınması gereken günlük protein miktarının %40-50'sinin hayvansal kaynaklı proteinlerden karşılanmasıdır (1-3). Kaynağına göre farklılıklar göstermekle birlikte genel olarak et; elzem aminoasitler, B grubu vitaminler ve bazı mineraller bakımından çok önemli bir besin kaynağıdır (4). Bu nedenle, ülkemizde et üretimini artırmaya yönelik çabaların yanında et tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi de büyük önem taşımaktadır.

OECD tarafından yayınlanan 2014 yılı verilerine göre, Türkiye'de kişi başına kırmızı et tüketimi yıllık 12.1 kg olarak gerçekleşirken, bu değer Arjantin'de 51.5 kg, Avustralya'da 50.7 kg, Brezilya'da 39.3 kg, Kanada'da 36.0 kg, Rusya'da 34.3 kg, Amerika Birleşik Devletleri'nde 45.8 kg düzeyindedir (5). Kişi başına kırmızı et tüketim miktarı dikkate alındığında, Türkiye'de yıllık tüketimin gelişmiş bazı ülkelerden geride olduğu görülmektedir. Türkiye'de kırmızı et tüketiminin düşük olmasının bir nedeni, kırmızı et ve işlenmiş et ürünlerinin diğer gıdalara göre pahalı olmasıdır (6). Türkiye'de kentsel ve kırsal kesimde, gelir gruplarına göre gıda talebini ve tüketim alışkanlıklarını ayrıntılı olarak inceleyen çalışma sayısı çok sınırlıdır (7). Şırnak ili özellikle coğrafi özellikleri nedeniyle küçükbaş hayvancılık için uygun koşullar sunmaktadır. Ekonomik olarak geri kalmış ve gelir düzeyi düşük bir il olan Şırnak, önemli bir hayvancılık üretimine ev sahipliği yapmaktadır. İlin ekonomik durumunu yakından ilgilendirdiği halde et ve işlenmiş et ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesine yönelik ilde daha önce bir çalışma yapılmamıştır. Bu araştırmanın amacı, Şırnak'ta et ve işlenmiş et ürünleri tüketim alışkanlıklarının ve bu alışkanlıklar üzerine etki eden faktörlerin belirlenmesidir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Şırnak ili ve ilçe merkezlerinde ikamet eden ve farklı gelir düzeylerinden gelişigüzel seçilen toplam 512 kişi ile yüz yüze gerçekleştirilen anket çalışması sonucunda elde edilen veriler bu çalışmanın materyalini oluşturmaktadır.

### Anket Hazırlama

Anket formunun hazırlanmasında öncelikle konu benzerliği olan çalışmalar incelenmiş ve söz konusu çalışmalarda (8-11) kullanılan anketler derlenmiştir. Daha sonra araştırma amacına uygun olan sorular derlenerek anket oluşturulmuştur. Bu çalışmada kullanılan anket nominal, ordinal aralıksal ve oransal ölçeklerden oluşmaktadır. Tüketicilerin bazı demografik özelliklerinin belirlenmesi için 7 adet, et tüketim alışkanlıklarının

belirlenmesi için 30 adet, katılım düzeylerinin belirlenmesi için 9 adet ve işlenmiş et ürünlerinin tüketilip tüketilmediği ile ilgili 6 adet 5'li Likert soru olmak üzere toplam 52 adet soru sorulmuştur. Söz konusu anket 2014 yılının Temmuz ve Ağustos aylarında uygulanarak veriler toplanmıştır.

### Veri Analizi

Anket çalışması ile elde edilen veriler bilgisayar ortamına aktarılmış, düzenlenerek analizler için hazırlanmış ve analiz edilmiştir. Tek veya birden fazla değişkeni bir arada incelemek üzere betimleyici ve çıkarımcı istatistik yöntemleri kullanılmış olup veri setleri arasında olabilecek ilişkiler %95 güvenlik sınırları içinde tespit edilmiştir (12, 13). Kolmogorov-Smirnov testi normallik varsayımını sınavan en bilinen ve en yaygın kullanılan hipotez testlerinden biridir. Örneklem verilerinin normal dağılım gösterip göstermediğini sınamak için kullanılmış ve verilerin normal dağılım göstermediği belirlenmiştir. Kruskal-Wallis testi normal dağılım göstermeyen gruplarda ortalamalar arasındaki farkın anlamlılığını test amacıyla kullanılan ve parametrik olmayan tek yönlü varyans analiz yöntemidir. Veriler Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiş ve gruplar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir. Spearman korelasyon analizi, normal dağılım göstermeyen veriler söz konusu olduğunda, değişkenler arasındaki ilişkiyi inceler. Değişkenler normal dağılım göstermediği için Spearman korelasyon katsayısı kullanılmıştır (14).

## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Et Tüketim Tercihleri

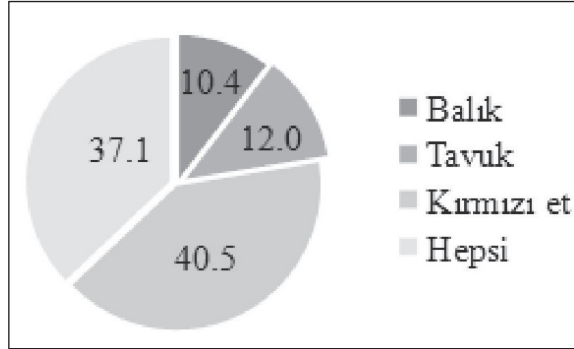
Araştırmaya katılan kişilerin bazı demografik özellikleri Çizelge 1'de verilmektedir.

Genel örnekleme katılımcıların %94.1'i et tükettiğini belirtmiştir. Erkeklerde bu oran %95.7, kadınlarda ise %89.0'dur. Cinsiyet ile et tüketimi arasındaki ilişki pozitif yönde, düşük ancak anlamlıdır ( $r=0.48$ ,  $P<0.05$ ). Katılımcılar 'Hangi eti severek tüketirsiniz?' sorusuna %40.5 oranında kırmızı et, %12.0 oranında tavuk eti, %10.4 oranında balık eti ve %37.1 oranında hepsi olarak cevabını vermiştir (Şekil 1).

Erkeklerin %43.2'si, kadınların ise %30.5'i kırmızı eti severek tükettiğini belirtmiştir. Kruskal-Wallis testi sonucunda, katılımcıların doğum yeri ile tercih edilen et türü arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Şırnak doğumlu katılımcıların %45.6'sı, diğer illerde doğan katılımcıların ise %26.0'ı kırmızı eti severek tükettiğini belirtmiştir. Lisans ve yüksek lisans mezunu katılımcıların diğer eğitim düzeylerindeki katılımcılara göre kırmızı et tercih etme oranı düşüktür. Kırmızı eti en az tercih eden meslek grubunu memurlar (%29.6), en fazla tercih eden meslek grubunu ise serbest

Çizelge 1. Araştırmaya katılan tüketicilerin bazı demografik özellikleri.  
Table 1. Some demographic characteristics of the subjects.

Değişken Variable	Açıklama Description	Toplam Total	%
Cinsiyet Gender	Kadın Female	118	23.0
	Erkek Male	394	77.0
Yaş Age	<30	209	40.8
	30-45	212	41.4
	>45	91	17.8
Eğitim Durumu Education Level	Okuryazar Değil Illiterate	29	5.7
	Okuryazar Literate	18	3.5
	İlkokul Primary	70	13.7
	Ortaokul Secondary	70	13.7
	Lise High	126	24.6
	Önlisans Associate	35	6.8
	Lisans Bachelor	148	28.9
Aylık Gelir (TL) Monthly Income	Yüksek Lisans Master	16	3.1
	<1000	112	23.2
	1000-2000	166	34.4
	2001-3000	126	26.1
Meslek Profession	>3000	78	16.3
	Memur Officer	152	31.5
	İşçi Worker	131	27.2
	Serbest Meslek Self-employed	79	16.4
	Öğrenci Student	27	5.6
	Esnaf Tradesman	77	16.0
	İşsiz Unemployed	16	3.3
Hane Halkı Household	1-4	173	35.9
	5-8	171	35.5
	9-12	85	17.6
	>12	53	11.0
Doğum Yeri Birthplace	Şırnak Şırnak	355	73.7
	Diğer Other	127	26.3



Şekil 1. Katılımcıların et türü tercihi (%).  
Figure 1. Meat type preference of the subjects (%).

çalışanlar oluşturmaktadır (%51.9). Kırmızı eti tercih etme nedenleri incelendiğinde; katılımcıların %52.1'i lezzetli olduğu için, %20.7'si besleyici olduğu için, %13.7'si alışkanlıklardan dolayı ve %2.5'i kolay ulaşabildiği için kırmızı et tercih etmektedir. Kruskal-Wallis testine göre, hane halkı sayısı ve kırmızı et tercih etme nedeni arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Katılımcıların hane halkı sayısı azaldıkça kırmızı eti besleyici bulduğu için tüketen kişi sayısı artmıştır. Katılımcıların kırmızı et kaynağı olarak tercih ettiği hayvan türleri içinde ilk sırayı kuzu alırken (%28.4), bunu sırasıyla oğlak (%27.2), sığır

(%15.4), koyun (%8.1) ve keçi (%5.6) izlemiştir (Çizelge 2). Şırnak doğumlu katılımcıların %4.2'si sığır eti, %34.6'sı oğlak eti ve %32.7'si kuzu eti tercih ederken, diğer illerde doğan katılımcıların %46.5'i sığır eti, %6.3'ü oğlak eti ve %16.5'i kuzu eti tercih etmektedir. Katılımcıların doğum yeri ile kırmızı et kaynağı olan hayvan türü tercihi arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Katılımcıların aylık geliri artarken sığır eti tüketimi de artmakta ancak herhangi bir tür tercihi belirtmeyen katılımcıların oranı azalmaktadır. Katılımcıların meslekleri ile kırmızı et tercihleri karşılaştırıldığında; memurların %29.6'sı sığır eti tercih etmekte, bununla birlikte işçilerin %37.4'ü, işsizlerin %31.3'ü ve öğrencilerin %51.9'u kuzu eti tercih etmektedir. Sonuçlara göre, serbest çalışanların %27.8'i ve esnafın %46.8'i oğlak eti tercih etmektedir. Katılımcıların aylık geliri ve meslekleri ile kırmızı et türü tercihi arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Tokat ilinde yapılan bir çalışmada, en çok tercih edilen kırmızı et çeşidinin sığır eti (%49), kuzu eti (%23) ve koyun eti (%15) şeklinde olduğu bildirilmiştir (15). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, sığır eti tercih edenlerin oranının daha düşük olduğunu, kuzu ve koyun etini tercih edenlerin oranının ise birbirine yakın olduğunu göstermiştir.



Çizelge 2. Kırmızı et türü tercihini etkileyen faktörler (%).  
Figure 2. Factors affecting the preferences on red meat sources (%).

	Aylık Gelir (TL) Monthly Income				Hane Halkı Sayısı Household			
	<1000	1000-2000	2000-3000	>3000	1-4	5-8	9-12	>12
Sığır Cow	5.4	5.4	25.4	34.6	27.7	12.3	1.2	7.6
Koyun Sheep	8.0	5.4	11.9	7.7	9.8	5.9	5.9	13.2
Keçi Goat	4.5	9.0	3.2	3.8	6.4	4.1	3.5	11.3
Oğlak Kid	23.2	32.0	27.0	23.1	19.1	30.4	35.3	30.2
Kuzu Lamb	38.4	29.5	21.4	23.1	24.9	32.7	28.2	26.4
Hepsi All	20.5	18.7	11.1	7.7	12.1	14.6	25.9	11.3

	Doğum Yeri Birthplace		Meslek Profession					
	Şırnak Şırnak	Diğer Other	Memur Officer	İşçi Worker	Serbest Meslek Self-employed	Öğrenci Student	Esnaf Tradesman	İşsiz Unemployed
Sığır Cow	4.2	46.5	29.6	7.6	12.6	11.1	5.1	12.5
Koyun Sheep	7.3	10.2	11.1	6.1	8.9	14.8	2.6	6.3
Keçi Goat	4.2	9.5	8.6	6.1	2.5	0.0	5.2	0.0
Oğlak Kid	34.7	6.3	17.8	30.5	27.8	11.1	46.8	18.8
Kuzu Lamb	32.7	16.5	18.4	37.4	24.1	51.9	28.6	31.2
Hepsi All	16.9	11.0	14.5	12.3	24.1	11.1	11.7	31.2

'Kırmızı eti nasıl pişirirsiniz?' şeklindeki soruya katılımcıların %45.0'ı fark etmez, %33.8'i haşlayarak, %12.0'ı ızgarada pişirerek, %5.1'i fırında pişirerek ve %4.1'i ise yağda kızartarak cevabını vermiştir (Çizelge 3). Katılımcıların doğum yeri ve yaşı ile et tüketim şekli arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Şırnak doğumlu katılımcıların %40'ı, diğer illerde doğan katılımcıların %16.5'i kırmızı eti haşlama olarak tüketmektedir. Aynı şekilde, Şırnak doğumlu katılımcıların %7.9'u, diğer illerde doğan katılımcıların ise %23.6'sı kırmızı eti ızgara olarak tüketmektedir. Katılımcıların hane halkı sayısı ve yaşı arttıkça kırmızı eti haşlama olarak tüketenlerin sayısı artmakta, diğer taraftan kırmızı eti ızgara olarak tüketenlerin sayısı azalmaktadır. Katılımcıların yaşı yükseldikçe kırmızı eti yağda kızartarak tüketenlerin sayısı azalmaktadır. Bu durum, tüketicilerin yaşlandıkça farklı pişirme yöntemlerine yöneldiğini ve sağlıklı beslenme için aşırı yağlı gıdalardan kaçınarak tercihlerini bu yönde değiştirdiğini göstermektedir.

#### Kırmızı Et Tüketim Miktarı

Kırmızı et tüketim miktarını belirlemek amacıyla katılımcılara 'Hane halkının aylık kırmızı et tüketim miktarı ne kadardır?' ve 'Kırmızı et tüketim sıklığınız nedir?' şeklinde iki soru sorulmuştur. Katılımcıların %26.6'sı hane halkının aylık 3 kg veya daha az, %29.3'ü ayda 3-7 kg arası, %14.9'u ayda 7-10 kg arası ve %29.2'si ayda 10 kg veya daha fazla kırmızı et tükettiğini belirtmiştir. Katılımcıların aylık geliri, cinsiyeti ve doğum yeri ile hane halkının aylık kırmızı et tüketim miktarı arasındaki ilişki anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Aylık geliri yüksek olan katılımcılarda hane halkının tükettiği aylık kırmızı et miktarı yüksektir. Katılımcıların %44.4'ü haftada birkaç kez, %27.0'ı haftada bir

kez, %9.3'ü her gün, %5.6'sı ayda bir kez, %11.8'i ayda birkaç kez ve %1.9'u yılda birkaç kez kırmızı et tükettiğini bildirmiştir. Aylık gelir düzeyi ile kırmızı et tüketim sıklığı arasındaki ilişki anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Yüksek gelir düzeyine sahip katılımcıların kırmızı et tüketim sıklığı beklendiği gibi daha fazladır.

Bir önceki yıla göre kırmızı et tüketiminin nasıl değiştiği sorulduğunda, katılımcıların %23.4'ü arttığını, %22.6'sı azaldığını, %53.9'u ise değişmediğini belirtmiştir. Katılımcıların cinsiyeti, eğitim durumu ve mesleği ile bir önceki yıla göre kırmızı et tüketimindeki değişim arasında anlamlı bir ilişki vardır ( $P<0.05$ ). Katılımcılar arasında erkeklerin %25.7'si, kadınların ise %15.2'si bir önceki yıla göre kırmızı et tüketimlerinin arttığını belirtmiştir. Bir önceki yıla göre kırmızı et tüketimi artan katılımcıların en fazla yüksek lisans mezunları arasından, azalan katılımcıların ise en fazla okuyamaz tüketiciler arasından olduğu anlaşılmıştır. Meslek gruplarına bakıldığında, bir önceki yıla göre kırmızı et tüketimi artan katılımcıların en fazla memurlar arasından (%28.3), kırmızı et tüketimi değişmeyen katılımcıların ise işsizler (%81.3) arasından olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde kırmızı et tüketiminin yeterli olup olmadığı sorulduğunda, katılımcıların %30.5'i yeterli, %69.5'i yetersiz bulmuştur. Erkeklerin %71.9'u, kadınların ise %61.0'ı kırmızı et tüketimini yeterli bulmadığını belirtmiştir.

#### Kırmızı Et Tüketimi ve Sağlık Algısı

Çalışmada kırmızı et tüketiminin sağlıklı beslenme bakımından nasıl algılandığı belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, kırmızı et tüketiminin sağlık üzerine etkisi ile ilgili bazı ifadeler katılımcılara yönlendirilmiş ve katılımcıların cevabı sorulmuştur.



'Sizce sağlığınız için hangi tür et daha faydalıdır?' sorusuna katılımcıların %60.6'sı balık eti, %27.8'i kırmızı et, %11.6'sı tavuk eti cevabını vermiştir. 'Kırmızı etin az tüketilmesi demir ve vitamin eksikliğine bağlı hastalıklara yol açar.' ifadesine katılımcıların %58.9'u katılıyor, %13.9'u katılmıyor, %3.7'si kararsız ve %23.5'i bilgilim yok cevabı vermiştir. 'Kırmızı et besin değeri yüksek bir gıdadır.' ifadesine katılımcıların %84.2'si katılıyor, %4.4'ü katılmıyor, %3.5'i kararsız ve %7.9'u bilgilim yok cevabı vermiştir. 'Seçme şansım olsa her gün kırmızı et yerim.' ifadesine katılımcıların %51.8'i katılıyor, %46.1'i katılmıyor, %1.9'u kararsız, %0.2'si bilgilim yok cevabı vermiştir. 'Et yerine kullanılan bitkisel kaynaklı ikame et fikrinden rahatsız oluyorum.' ifadesine katılımcıların %66.2'si katılıyor, %18.3'ü katılmıyor, %3.3'ü kararsız ve %12.2'si bilgilim yok şeklinde cevap vermiştir. 'Kırmızı et tüketimi damar tıkanıklığına neden olur.' ifadesine araştırmaya katılan kişilerin %60.7'si katılıyor, %18.5'i katılmıyor, %5.1'i kararsız, %15.7'si bilgilim yok cevabı vermiştir. 'Kırmızı et tüketimi kolesterolü olumsuz etkiler.' ifadesine katılımcıların %62.2'si katılıyor, %11.3'ü katılmıyor, %3.3'ü kararsız, %23.2'si bilgilim yok cevabı vermiştir. Katılımcılar kırmızı eti besin değeri yüksek bir gıda olarak görmekte, yetersiz kırmızı et tüketiminin çeşitli hastalıklara yol açabileceğini düşünmekte, diğer taraftan fazla kırmızı et tüketiminin damar tıkanıklığı ve yüksek kolesterol gibi sağlık sorunlarına neden olabileceğini bildirmektedir.

#### Satın Alma Alışkanlıkları ve Kalite Algısı

Kırmızı et satın alınırken yer ile ilgili soruya, araştırmaya katılanların %48.3'ü kasap, %13.3'ü market, %22.4'ü kendim keserim, %16.0'ı ise fark etmez cevabını vermiştir. Katılımcıların yaşı ile

kırmızı et satın alınan yer arasındaki ilişkinin düşük ancak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Bütün yaş gruplarında, en fazla kırmızı et satın alınan yerin kasap olduğu; 30 yaş altı katılımcıların %39.0'ının, 30-45 yaş arası katılımcıların %54.9'unun ve 45 yaş üstü katılımcıların %54.2'sinin kırmızı et satın alırken kasabı tercih ettiği belirlenmiştir. Kırmızı eti marketten alan katılımcıların çoğu memurdur (%29.6). Esnafların (%62.3) çoğu kasapları tercih etmektedir. Yaş ve hane halkı sayısı arttıkça kırmızı eti marketten satın alan kişilerin sayısı azalmıştır. Kırmızı et satın alınan yeri tercih etme nedenlerine bakıldığında; katılımcıların %47.5'i güvenli olduğu için, %29.3'ü temizliği için, %10.8'i ulaşım kolaylığı için, %5.8'i fiyatı için, %6.6'sı diğer nedenlerden cevabını vermiştir. Eti kasaptan alan katılımcıların %54.0'ı güvenli olduğu için, %22.7'si temizliği için, %9.9'u ulaşım kolaylığı için, %8.2'si fiyatı için, %5.2'si diğer nedenlerden cevabını vermiştir. Eti marketten alan katılımcıların ise %39.1'i güvenli olduğu için, %39.0'ı temizliği için, %17.2'si ulaşım kolaylığı için, %3.1'i fiyatı için, %1.6'sı diğer nedenlerden cevabını vermiştir. Katılımcıların aylık geliri yükseldikçe, et satın alınan yeri ulaşım kolaylığından dolayı tercih edenlerin oranı artarken, fiyat nedeniyle tercih edenlerin oranı azalmaktadır.

'Kırmızı et satın alırken nelere dikkat edersiniz?' sorusuna katılımcıların yarısından fazlası tazelik (%51.9) cevabını vermiştir. Aynı soruya verilen diğer cevaplar bütün özellikleri (%27.0), yağsız olması (%10.4), hangi tür olduğu (%6.8) ve fiyatı (%3.9) şeklindedir. Katılımcıların cinsiyeti ve eğitim durumu ile et satın alınırken dikkat edilen faktörler arasındaki ilişki düşük ancak anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Kırmızı et satın alınırken en çok dikkat edilen faktörün tazelik olduğu ve erkeklerin

Çizelge 3. Kırmızı et pişirme tercihlerini etkileyen faktörler (%).

Figure 3. Factors affecting the cooking of red meat (%).

	Aylık Gelir (TL) Monthly Income				Hane Halkı Sayısı Household			
	<1000	1000-2000	2000-3000	>3000	1-4	5-8	9-12	>12
Haşlama Poaching	40.1	36.1	27.8	29.5	28.9	32.7	36.5	49.1
Fırında Roasting	4.5	2.4	8.7	5.1	7.5	5.3	1.2	1.9
Kızartma Frying	4.5	3.6	4.8	3.9	4.1	2.3	5.9	7.5
Izgara Grilling	11.6	9.1	11.1	20.5	15.0	12.3	8.2	7.5
Fark Etmez No Preference	39.3	48.8	47.6	41.0	44.5	47.4	48.2	34.0

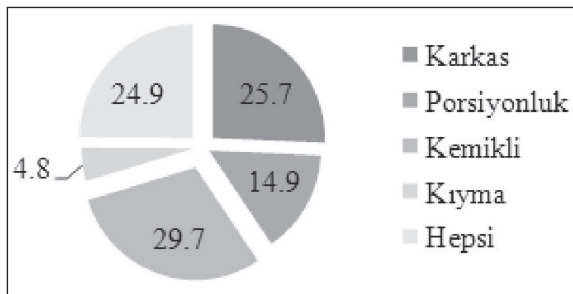
  

	Doğum Yeri Birthplace			Meslek Profession				
	Şırnak	Diğer Other	Memur Officer	İşçi Worker	Serbest Meslek Self-employed	Öğrenci Student	Esnaf Tradesman	İşsiz Unemployed
Haşlama Poaching	40.0	16.5	19.7	42.0	38.0	40.7	42.8	25.0
Fırında Roasting	3.7	8.7	7.9	6.1	3.8	0.0	1.3	0.0
Kızartma Frying	3.9	4.7	4.6	3.1	3.8	0.0	6.5	6.3
Izgara Grilling	7.9	23.6	17.8	6.9	6.3	22.2	11.7	12.5
Fark Etmez No Preference	44.5	46.5	50.0	42.0	48.1	37.1	37.7	56.2

%53.6'sı, kadınların ise %45.7'si tazeliğe dikkat etmektedir. Bütün eğitim gruplarında kırmızı et satın alırken dikkat edilen en önemli faktörün tazelik olduğu görülmektedir. Örneğin, okuryazar olmayan katılımcıların %41.7'si, yüksek lisans mezunu katılımcıların ise %53.3'ü en çok tazeliğe dikkat etmektedir.

2013 yılında yapılan bir çalışmada, kırmızı et tüketenlerin %49'u kırmızı etin pahalı olduğunu belirtmiştir. Kanatlı ve balık eti için ise söz konusu oranlar sırasıyla %13 ve %31 olarak tespit edilmiştir (16). Bu çalışmada, kırmızı et alırken fiyata dikkat eden katılımcı sayısının az olduğu görülmektedir. Buna göre, temin edildiği yere göre et fiyatlarında önemli bir fark beklenmediği söylenebilir. Başka bir çalışmada, kırmızı et satın alınırken fiyat ve gelir düzeyi dışında pek çok faktörün kırmızı et satın alınan yer tercihi üzerine etkili olduğu ve özellikle mesafe, hijyen, tazelik, kredi kartı kullanım imkanı, diğer ihtiyaçların birlikte temin edilebilmesi gibi faktörlerin kırmızı et satın alınan yer tercihi üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (17). Erzurum'da yapılan bir çalışmada, et satın alınırken en çok dikkat edilen kriterin tazelik olduğu, bunu sırasıyla fiyat, kalite ve markanın izlediği bildirilmiştir (18).

Kırmızı eti satın alma şeklini belirlemek amacıyla sorulan soruya, katılımcıların %29.7'si kemikli parça et, %25.7'si karkas, %14.9'u porsiyonluk et, %4.8'i kıyma, %24.9'u ise hepsi cevabını vermiştir (Şekil 2). Katılımcıların eğitim durumu ( $r=0.25$ ), cinsiyet ( $r=0.25$ ) ve meslek grubu ( $r=0.23$ ) ile kırmızı et satın alma şekli arasındaki ilişki anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Cinsiyet dikkate alındığında; erkeklerin %30.2'si karkas, %30.0'ı kemikli parça et tercih ederken, kadınların %28.6'sı kemikli parça et, %38.1'i hepsini (karkas, porsiyonluk, kemikli, kıyma) tercih etmektedir. Meslek gruplarına göre; işçilerin %36.6'sı kemikli parça et, serbest meslek sahiplerinin %34.2'si karkas, öğrencilerin %44.4'ü kemikli parça et, esnafın %46.8'i karkas, memur ve işsizlerin sırasıyla %38.2 ve %37.5'i hepsini tercih etmektedir. Kırmızı et satın alma şekli olarak kıymanın bütün gelir gruplarında çok az tercih edildiği belirlenmiştir.



Şekil 2. Kırmızı et satın alma tercihleri (%).  
Figure 2. Preferences on red meat products (%).

'Sizce satın aldığınız et hijyenik koşullarda kesilip, yetkili kişilerce denetlenmiş midir?' sorusuna katılımcıların %61.2'si hayır %38.8'i ise evet cevabını vermiştir. 'Kusurlu et veya işlenmiş et ürünü ile karşılaştığınızda şikayetinizi bildiriyor musunuz?' sorusuna katılımcıların %49.5'i evet, %50.5'i ise hayır cevabı vermiştir. Katılımcıların yaşı ( $r=0.22$ ), eğitim durumu ( $r=0.39$ ), aylık geliri ( $r=0.23$ ), mesleği ( $r=0.27$ ), hane halkı sayısı ( $r=0.23$ ) ve doğum yeri ( $r=0.26$ ) ile bu soruya verilen cevaplar arasındaki ilişki anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Meslek grupları dikkate alındığında; sadece memurların çoğunluğunun (%64.6) şikayet bildirdiği, diğer meslek gruplarında bu oranın daha düşük olduğu, ankete katılan işsizlerin ise tamamının şikayet etmediği tespit edilmiştir. Eğitim durumuna göre; okuryazar olmayan ve sadece okuryazar olan katılımcıların şikayet bildirmediği, diğer taraftan lisans mezunu katılımcıların %72.8'inin kusurlu et veya işlenmiş et ürünü ile karşılaştığında şikayetini bildirdiği görülmektedir. Hane halkı sayısı arttıkça kusurlu et ürünlerini şikayet edenlerin oranı düşmektedir. Yaş gruplarına göre; 30 yaş altı katılımcıların %58.4'ü, 30-45 yaş arası katılımcıların %45.3'ü ve 45 yaş üstü katılımcıların %16.7'si şikayetini bildirmektedir.

'Tükettiğiniz kırmızı eti lezzetli buluyor musunuz?' sorusuna katılımcıların %88.8'i evet, %11.2'si hayır cevabı vermiştir. Katılımcıların doğum yeri, hane halkı sayısı ve mesleği ile tüketilen kırmızı etin lezzetli bulunup bulunmaması arasındaki ilişki anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Şırnak kökenli kişilerin %91.8'i, diğer illerden gelen kişilerin ise %80.2'si tükettiği kırmızı eti lezzetli bulmaktadır. Hane halkı sayısı arttıkça tükettiği kırmızı eti lezzetli bulan katılımcıların sayısı artmaktadır. Tükettiği kırmızı eti lezzetli bulan en büyük meslek grubu öğrenciler (%96.3), en az lezzetli bulan meslek grubu ise memurlardır (%81.6). Daha önce yapılan benzer bir çalışmada, satın aldıkları kırmızı eti güvenli bulanların oranı %79, lezzetli bulanların oranı ise %49 olarak tespit edilmiştir (19). Bu çalışmada ise, kırmızı eti lezzetli bulan katılımcıların oranı çok daha yüksektir. Bu durum bölgedeki tüketici beklentilerinin düşük olması ile ilişkili olabilir. Bununla birlikte, bölgedeki hayvan yetiştiriciliğinin genellikle açık arazide yapılması, hayvanların doğal beslenmesi ve bu durumun et kalitesi ve lezzetine olumlu etkileri söz konusu olabilir. Başka bir çalışmada, kırmızı eti lezzetli bulduğu için tüketenlerin oranı %22, sağlıklı bulduğu için tüketenlerin oranı %31 ve yüksek besin değeri nedeniyle tüketenlerin oranı %47 olarak tespit edilmiştir (20).

#### Sakatat ve Kuyruk Yağı Tüketimi

Katılımcılar 'Sakatat tüketiyor musunuz?' sorusuna %60.2 oranında evet, %39.8 oranında hayır cevabı

vermiştir. Kruskal-Wallis testi sonuçlarına göre, araştırmaya katılanların hane halkı sayısı, yaşı, aylık geliri, mesleği ve doğum yeri ile sakatat tüketimi arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En fazla sakatat tüketen meslek grubu esnaflar (%72.7), en az tüketenler ise memurlardır (%45.4). Bütün yaş gruplarında sakatat tüketenlerin oranı yarıdan fazladır ve sırasıyla; 30 yaşın altındaki katılımcılarda %50.8, 30-45 yaş arası katılımcılarda %61.8 ve 45 yaş üstü katılımcılarda %78.3 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlara göre, tüketiciler yaşlandıkça sakatat tüketimi artmaktadır. Özellikle ciğer ve beyin gibi sakatatlar zengin bir besin içeriğine sahiptir. Yaşlı tüketiciler sakatat ürünlerini ihtiyaç duyulan bazı besin bileşenlerinin doğrudan karşılanabileceği önemli bir kaynak olarak görmektedir. 'Kuyruk yağı tüketiyor musunuz?' sorusuna katılımcıların %28.4'ü evet, %71.6'sı hayır cevabı vermiştir. Katılımcıların cinsiyeti, doğum yeri, yaşı, eğitim durumu ve mesleği ile kuyruk yağı tüketimi arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Eğitim durumuna göre, en fazla kuyruk yağı tüketen grubun yüksek lisans mezunu katılımcılar olduğu görülmektedir (%46.7). Meslek grupları içerisinde, en fazla kuyruk yağı tüketenler öğrenciler (%48.1), en az tüketenler ise esnaflardır (%18.2). Yaş gruplarına göre; 30 yaş altı katılımcıların %65.1'i, 30-45 yaş arası katılımcıların %75.0'i ve 45 yaş üstü katılımcıların %78.3'ünün kuyruk yağı tüketmediği belirlenmiştir. Hayvansal yağlar, yüksek doymuş yağ asidi içeriği nedeniyle kalp-damar hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir. Yaşlı tüketicilerin, kalp-damar hastalıklarına hassasiyet nedeniyle kuyruk yağından kaçındığı anlaşılmaktadır.

**İşlenmiş Et Ürünlerinde Tüketici Eğilimleri**  
Katılımcıların %40.2'si etten yapılan sucuk, sosis, salam, pastırma gibi işlenmiş et ürünlerini tüketmektedir. Katılımcıların yaşı, eğitim durumu, aylık geliri, mesleği, hane halkı sayısı ve doğum yeri ile işlenmiş et ürünlerinin tüketilip tüketilmemesi arasındaki ilişki düşük ancak anlamlıdır ( $P<0.05$ ). Aylık geliri 1000 liradan az olan katılımcıların %37.5'i, 3000 liradan fazla olan katılımcıların ise %59.0'ı işlenmiş et ürünleri tükettiğini belirtmiştir. Benzer şekilde, ilkökul mezunu katılımcıların %32.8'i, yüksek lisans mezunu katılımcıların ise %66.7'si işlenmiş et ürünleri tükettiğini belirtmiştir. Meslek gruplarına göre, işlenmiş et ürünlerini en fazla tüketen meslek grubu memurlardır (%52.0). İşlenmiş et ürünleri tüketmeyen katılımcılara yöneltilen sorularla işlenmiş et ürünlerini neden tüketmedikleri anlaşılmaya çalışılmıştır. Söz konusu nedenlere bakıldığında; katılımcıların %60.1'i işlenmiş et ürünlerini sağlıklı bulmadığını belirtmiştir. Benzer şekilde, katılımcıların %23.3'ü işlenmiş et ürünlerini tanımadığını, %10.1'i lezzetli bulmadığını ve %4.5'i pahalı bulduğunu

bildirmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, en fazla tüketilen işlenmiş et ürünü sucuk, en az tüketilen işlenmiş et ürünü ise pastırmadır. Katılımcıların %1.5'i sucuğu, %30.9'u sosisi, %27.8'i salami, %63.4'ü pastırmayı, %51.5'i hazır köfteyi, %47.9'u ise kavurmayı hiç tüketmediğini belirtmiştir. Katılımcıların %27.8'i hiç salam tüketmediğini, %34.5'i nadiren, %32.5'i ara sıra, %3.7'si düzenli, %1.5'i çok sık salam tükettiğini belirtmiştir. Katılımcıların %63.5'i hiç pastırma tüketmediğini, %23.7'si nadiren, %10.8'i ara sıra, %1.5'i düzenli, %0.5'i çok sık pastırma tükettiğini belirtmiştir. Katılımcıların aylık geliri artıca pastırma tüketenlerin sayısı artmaktadır. Katılımcıların %51.5'i hiç hazır köfte tüketmediğini, %22.2'si nadiren, %20.6'sı ara sıra, %2.6'sı düzenli ve %3.1'i çok sık hazır köfte tükettiğini belirtmiştir. Katılımcıların aylık geliri ve mesleği ile hazır köfte tüketimi arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Araştırmaya katılan kişilerin %47.9'u hiç kavurma tüketmezken, %16.5'i nadiren, %27.3'ü ara sıra, %5.7'si düzenli ve %2.6'sı çok sık kavurma tükettiğini belirtmiştir. Katılımcıların eğitim durumu, aylık geliri ve mesleği ile kavurma tüketimi arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Katılımcıların aylık geliri düştükçe kavurma tüketen katılımcıların sayısı azalmakta, diğer taraftan eğitim durumu yükseldikçe kavurma tüketenlerin sayısı artmaktadır.

Araştırmaya katılan kişilerin %31.4'ü işlenmiş et ürünlerini sağlıklı bulduğunu, %68.6'sı ise sağlıklı bulmadığını belirtmiştir. 'İşlenmiş et ürünlerini lezzetli buluyor musunuz?' sorusuna katılımcıların %78.9'u evet, %21.1'i hayır cevabını vermiştir. 'İşlenmiş et ürünlerini satın alırken hangi faktörlere dikkat edersiniz?' sorusuna katılımcıların %29.4'ü marka, %20.6'sı son kullanma tarihi, %13.4'ü kalite, %4.1'i fiyat, %2.1'i görünüş ve %30.4'ü bütün özellikleri cevabını vermiştir. 'İşlenmiş et ürünlerini nereden satın alırsınız?' sorusuna katılımcıların %82.5'i market, %8.2'si kasap, %1.1'i et balık kurumu ve %8.2'si fark etmez cevabını vermiştir. 'İşlenmiş et ürünlerini satın almadan önce etiketini okuyor musunuz?' sorusuna katılımcıların; %26.3'ü daima, %30.4'ü sık sık, %24.2'si bazen, %15.5'i nadiren ve %3.6'sı hiçbir zaman cevabını vermiştir. 'İşlenmiş et ürünlerinde etiket bilgilerinin gerçeği yansıttığını düşünüyor musunuz?' sorusuna katılımcıların %18.0'ı hiçbir zaman, %32.5'i nadiren, %26.8'i bazen, %15.5'i, sık sık ve %7.2'si daima cevabını vermiştir. 'İşlenmiş et ürünlerinin etiketinde aradığımız bütün bilgileri buluyor musunuz?' sorusuna katılımcıların %4.6'sı hiçbir zaman, %34.0'ı nadiren, %37.1'i bazen, %17.1'i sık sık ve %7.2'si daima cevabını vermiştir. 'İşlenmiş et ürünü satın alırken etiket bilgilerini okuduktan sonra satın almaktan vazgeçtiğiniz oldu

mu?' sorusuna katılımcıların %31.4'ü hiçbir zaman, %30.9'u nadiren, %26.8'i bazen, %6.7'si sık sık ve %4.2'si daima cevabını vermiştir.

#### SONUÇ

Bu çalışmada, Şırnak ili genelinde et tüketim alışkanlıkları ve bu alışkanlıkları etkileyen faktörler belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, Şırnak'ta küçükbaş hayvanlar kırmızı et kaynağı olarak daha çok tercih edilmektedir. Bunun en önemli nedeni, bölgenin coğrafi koşullarının küçükbaş hayvancılığa daha uygun olması ve küçükbaş hayvan varlığının iyi düzeyde olmasıdır. Çalışmada, et ve işlenmiş et ürünleri tüketiminin pek çok faktör tarafından etkilendiği belirlenmiştir. Gelir ve eğitim düzeyi bu faktörler arasında en önemlileri olarak öne çıkmaktadır. Gelir düzeyinin ve alım gücünün en düşük olduğu illerimizden biri olması ve taze et ürünlerinin daha çok tercih edilmesi nedeniyle Şırnak'ta işlenmiş et ürünleri tüketiminin sınırlı olduğu görülmektedir.

#### TEŞEKKÜR

Ekrem Denli'nin yüksek lisans tezinden derlenen bu çalışmada, Barış Yalınkılıç'a ve araştırmaya katılan Şırnak halkına değerli katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

1. Gökalp HY. 1986. Et Bilimi Ders Notu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum, Türkiye.
2. Göğüş AK. 1986. Et Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 991, Ankara, Türkiye, 243 s.
3. Odabaşoğlu F, Kayardı S, Yılmaz O. 1995. Melez Sığır Karkaslarından Elde Edilen Etlerin Kaliteye Göre Sınıflandırılması ile Bu Etlerin Fiziksel ve Kimyasal Analizi. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 5 (2): 35-38.
4. Lawrie RA, Ledward DA. 2006. *Lawrie's Meat Science, 7th Edition*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 442 p.
5. OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. OECD-FAO Agricultural Outlook 2015, OECD Publishing, Paris. <https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm> (Erişim tarihi 03.11.2015)
6. Yaylak E, Taşkın T, Koyubenbe N, Konca Y. 2010. İzmir İli Ödemiş İlçesinde Kırmızı Et Tüketim Davranışlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Hayvansal Üretim*, 51 (1): 21-30.
7. Şengül S. 2002. Türkiye'de Kentsel ve Kırsal Kesimde Gelir Gruplarına Göre Gıda Talebi. *Uludağ Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 21 (1): 257-282.

8. Atay O, Gökdal Ö, Aygün T, Ülker H. 2004. Aydın ili Çine ilçesinde kırmızı et tüketim alışkanlıkları. 4. Ulusal Zootehni Bilim Kongresi, 1-3 Eylül, Isparta, Türkiye, 348-354.
9. Aygün T, Karakuş F, Yılmaz A, Ülker H. 2004. Van ili merkez ilçede kırmızı et tüketim alışkanlığı. 4. Ulusal Zootehni Bilim Kongresi, 1-3 Eylül, Isparta, Türkiye, 361-364.
10. Karakuş K, Aygün T, Alarşlan E. 2008. Gaziantep İli Merkez İlçede Kırmızı Et Tüketim Alışkanlıkları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi. *Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 18 (2): 113-120.
11. Mutlu S. 2007. Gıda Güvenilirliği Açısından Tüketici Davranışları, Adana Kentsel Kesimde Kırmızı Et Tüketimi Örneği. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 205 s.
12. Gujarati ND. 1995. *Basic Econometrics*. McGraw-Hill, New York, USA, 838 p.
13. Mirer TW. 1994. *Economic Statistics and Econometrics*, 3rd Edition. Prentice Hall Inc., New Jersey, USA, 464 p.
14. Çelik MY. 2011. Nasıl? Biyoistatistik, Bilimsel Araştırma, SPSS. 558 s.
15. Karakaş G. 2010. Tokat İli Kentsel Alanda Et ve Et Ürünleri Tüketiminde Tüketici Kararlarını Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tokat, Türkiye, 81 s.
16. Nalinci S. 2013. Amasya İli Merkez İlçedeki Hane Halkının Et Tüketim Alışkanlıkları ve Et Tüketimini Etkileyen Faktörler. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tokat, Türkiye, 162 s.
17. Tosun ÖO, Hatırlı SA. 2009. Tüketicilerin Kırmızı Et Satın Alım Yerleri Tercihlerinin Analizi: Antalya İli Örneği. *Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 14 (2): 433-445.
18. Kızıloğlu S, Kızıloğlu R. 2013. Erzurum Merkez İlçede Et ve İthal Et Tüketme Durumunu İnceleyen Bir Araştırma. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3 (1): 61-68.
19. Şeker İ, Özen A, Güler H, Şeker P, Özden İ. 2011. Elazığ'da Kırmızı Et Tüketim Alışkanlıkları ve Tüketicilerin Hayvan Refahı Konusundaki Görüşleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17 (4): 543-550.
20. Akçay Y, Vatansver Ö. 2013. Kırmızı Et Tüketimi Üzerine Bir Araştırma: Kocaeli İli Kentsel Alan Örneği. *Çankırı Karatekin Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 4 (1): 43-60.



## KEKİK ve KAKULE YAĞLARININ TEK ve EŞ EKSENLİ NANOLİF İLE ENKAPSÜLASYONU

Saide Başak Arıkan, Nagihan Okutan, Filiz Altay\*

İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul

Geliş tarihi / Received: 14.09.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 28.12.2015

Kabul tarihi / Accepted: 10.01.2015

### Özet

Kekik ve kakule yağı gibi uçucu antimikrobiyal yağlar içerdikleri biyoaktif bileşenler ile mikroorganizmaların hücrelerine zarar verir. Biyoaktif bileşenlerin arzulanan etkilerini gerçekleştirebilmeleri için proses ve depolama koşullarındaki dış etkenlerden korunması gerekmektedir. Bu nedenle biyoaktif maddelerin enkapsülasyonu, etkinlikleri açısından önem taşımaktadır. Nanoliflerle enkapsülasyon, diğer yöntemlere göre daha etkin bir metottur. Çalışmanın amacı kekik ve kakule yağlarının tek ve eş eksenli nanoliflerle enkapsüle edilebilirliğinin araştırılmasıdır. Tek eksenli nanoliflerin eldesi için, jelatin %20 asetik asit-su çözeltisi (v/v) içinde çözülüp %20'lik jelatin (w/v) çözeltisi hazırlanmıştır. Jelatin çözeltisi 9:1 oranında kekik veya kakule yağıyla karıştırılarak elektroçizme cihazına beslenmiştir. Eş eksenli nanolif elde etmek için ise; aynı antimikrobiyal yağların her biri tek başına iç kısımda, %20 jelatin çözeltisi (w/v) ise dış kısımda olacak şekilde iki farklı mikropompa ile cihaza beslenmiştir. Kekik yağı içeren örneklerle nanolif yapısı elde edilebilmiş, kakule içeren örneklerde bu yapı gözlenmemiştir. İlerideki çalışmalarda kakule yağı içeren örnekler için farklı elektroçizme parametreleri kullanılabilir. Her iki uçucu yağın başarıyla enkapsülasyonundan sonra farklı ürünlerde ve farklı amaçlar için kullanımları açısından, değişik koşullar altındaki salım kinetiklerinin araştırılması çalışmaları yürütülebilir. Bu inceleme ileride yapılacak bu çalışmalara ışık tutacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Elektroçizme, nanolif, enkapsülasyon, kekik yağı, kakule yağı.

## UNIAXIAL and COAXIAL NANOFIBER ENCAPSULATION of THYME and CARDAMOM OIL

### Abstract

Volatile antimicrobial oils like thyme oil or cardamom oil containing bioactive ingredients adversely affect microorganism's cells. Bioactive ingredients should be protected from ambient conditions of processing and storage to exhibit their desired effects during consumption. Therefore, encapsulation of bioactive ingredients plays an important role in terms of their efficiency. Nanofiber encapsulation offers lots of advantages compared to the other encapsulation methods. In this study, the objective was to investigate that whether thyme oil or cardamom oil can be electrospun uniaxially or coaxially. To obtain uniaxial nanofiber, 20% gelatin-acetic (w/v) acid solution was prepared by gelatin dissolved in 20 % acetic acid-water solvent (v/v). The feed solutions were prepared by mixing of gelatin solution and thyme or cardamom oils (9:1). For coaxial geometry, same antimicrobial oils were encapsulated with 20% gelatin-acetic acid solution (w/v). The core was only the oil and the shell was the gelatin solution, which each was pumped by two different micropumps. Nanofiber structure was obtained for the samples containing thyme oil whereas no fiber formation was attained for the samples with cardamom oil. In the future, different electrospinning process parameters may be applied to obtain nanofibers containing cardamom oil. In addition, the release kinetics of nanofiber encapsulated oils may be studied at different conditions for various objectives. The outcome of this study will help such studies that will be conducted in the future.

**Keywords:** Electrospinning, nanofiber, encapsulation, thyme oil, cardamom oil.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ lokumcu@itu.edu.tr,

☎ (+90) 212 285 6948,

☎ (+90) 212 285 7333



## GİRİŞ

Güçlü bir antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bilinen kekik bitkisinin yağında timol (%50 civarında), karvakrol, borneol, pimen, tanen gibi bileşenler bulunmaktadır (1). Kakule yağının içerdiği önemli bileşenler ise a-terpinil asetat, linalol, linalil asetat, geraniol, limonen, a-terpinen, safrol, metilöjanol ve öjanol gibi maddeleridir (2). Esansiyel yağların içerdiği bileşenler hücre duvarından ve zarından geçerek hücrede sitoplazma koagülasyonuna, lipid ve protein hasarı gibi zararlara neden olmaktadır. Ayrıca hücre duvarına ve sitoplazmik membrana verdikleri tahribat ile makromoleküllerin hücre duvarından ve membrandan geçişinde bozulmaya neden olurlar (3).

Kekik ve kakule bitkileri pek çok biyoaktif bileşen içermektedir (1, 2). Biyoaktif bileşenlerin arzulanan etkilerini gerçekleştirebilmeleri için proses ve depolama süresince korunmalıdırlar. Enkapsülasyon işlemi ile korunmak istenilen maddeler bir matriks içerisinde ambalajlanır. Böylece hassas bileşenler ısı, ışık, nem, pH gibi pek çok etkenden, bileşenlerin serbest kalması istenilen zamana kadar korunmuş olurlar. Ayrıca gıdaya eklenilmek istenilen ve bunun için enkapsüle edilen bileşen, eklenildiği gıdada enkapsülasyonun maskeleyici etkisi sayesinde daha az tat değişimine neden olur (4).

Nanoenkapsülasyon işlemi hedef materyalin nano boyutta enkapsüle edilmesiyle gerçekleştirilebilir. Nano boyutta yapılan enkapsülasyon, oksidasyondan koruma, kontrollü salım, tat ve biyoyararlılık açısından pek çok fayda sağlamaktadır. Özellikle mikroenkapsülasyon tekniğiyle karşılaştırıldığında nanoenkapsülasyonun potansiyel faydalarının daha yüksek olduğu görülür. Artan enkapsülasyon etkinliği ve materyalde düzgün dağılım gibi avantajlar nanoenkapsülasyon yönteminin üstünlüklerinden bir kaçıdır. Nanoenkapsülasyon uygulamaları aktif maddeyi çevresel etmenlerden koruyuşu, biyoyararlılığı iyileştirici ve enkapsüle maddenin uyum sorununu azaltıcı etkileriyle etkin sonuçlar vermektedir (5).

Elektroegirme nanolif eldesi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle üretilen ve çapı nanometre mertebelerinde olan lif şeklindeki yapılar büyük bir yüzey alanına sahip olurlar. İşlem için polimer uygun bir çözücüde çözülür veya sıcaklıkla eriyik haline getirilir. Bu besleme çözeltisi bir mikropompa

yardımıyla yüksek gerilim uygulanan bir uca pompalanır. Besleyici ünitedeki iğnenin ucunda asılı durumda duran polimer çözelti damlası kritik bir voltaj değerine kadar küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan potansiyel fark bir eşik değerine ulaştığı anda polimer damlası şekil değiştirerek koni biçimini alır. Bu koniye Taylor konisi denir. Polimer damlası Taylor Konisi halini aldıktan sonra polimer fiskeye şeklinde koni ucundan fıskırır ve toplayıcı plakaya ilerler (6). Eşik eksenli nanolif eldesinde ise birbirine karışmayan iki ayrı besleme çözeltisi vardır. Bu çözeltilerden bir tanesi iç kısmı diğeri ise dış kaplamayı oluşturmak üzere elektroegirme sistemine beslenir. Bu işlemle birlikte birbiri içine geçmiş iki silindir yapı elde edilmiş olur (7).

Elektroegirmeyi etkileyen pek çok parametre vardır. Elektroegirme işleminde besleme ucu ve toplayıcı plaka arasındaki mesafe, toplayıcı plakanın yapısı ve yüzeyi işlemi etkileyen faktörlerdendir (8). Besleme hızı da elektroegirme işlemi etkilemektedir. Yüksek debilerde nanolif çapı artarken, nanoliflerde boncuklu yapının görülme ihtimali artar. Düşük debilerde ise nanolif çapı azalırken, çözücü maddenin toplama plakasına varana kadar uçması için gerekli süre kazanılır (9). Çözelti özelliklerinden elektriksel iletkenlik ve yüzey gerilimi işlemi etkileyen parametrelerdendir. Elektroegirme işlemi sırasında elektrik yüklerinin transferinden yararlandığı için elektrik iletkenliği prosesi etkiler. Sıfır elektrik iletkenliği olan bir maddeden nanolif elde edilemez. Yüzey gerilimi ise uygulanan voltaja direnen bir etki yaratır. Bu nedenle çözeltinin yüzey gerilimi, nanolif elde edilip edilemeyeceği konusunda oldukça etkilidir. Ancak voltaj ve yüzey gerilimi arasındaki ilişki her zaman doğrusal değildir (10). Çözelti konsantrasyonu da nanolif eldesini etkileyen etmenlerdendir. Çok düşük konsantrasyonlarda polimer nanolif haline gelmeden yüzeye damlacıklar halinde düşmekte, çok yüksek konsantrasyonlarda ise polimer akışı elektriksel kuvvetlerin yüzey gerilimini ve vizkoziteyi yenememesinden gerçekleşmemektedir (11).

Asetik asit ile hazırlanan çözeltilerde, asetik asit konsantrasyonunun artması ile birlikte çözeltinin yüzey geriliminin düştüğü bildirilmektedir. Yüzey geriliminin düşmesi, elektroegirme işlemi etkiler. Boncuklu lif yapısı çözeltide artan asetik asit konsantrasyonu ile yüzey geriliminin azalması sonucu düzgün bir yapı haline gelir (12). Jelatin,

elektroçizme yöntemiyle nanolif elde edilebilen polimerlerden bir tanesidir. Kullanılacak olan jelatin çözeltisinin konsantrasyonu oldukça önemlidir (13).

Bu çalışmanın amacı, içerdikleri biyoaktif maddeler sayesinde antimikrobiyal özellik gösteren kekik ve kakule yağlarının dış etkenlere karşı korunması için tek ve eş eksenli nanolif ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmektir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Bu çalışmada jelatin (Sigma- Aldrich, G9382-500G, ABD), %100 asetik asit (Sigma- Aldrich, 27225, ABD) ve saf su kullanılmıştır. Kakule yağı ve kekik yağı ise IFF Global Headquarters (Amerika)'ten temin edilmiştir.

### Metot

#### Besleme çözeltilerinin hazırlanması

Çizelge 1'de besleme çözeltilerinin bileşimleri verilmiştir. Tüm çözeltiler 35 °C'de bir karıştırıcıda (Yellowline, MSH Basic) 2 saat karıştırılarak hazırlanmıştır.

Çizelge 1. Besleme çözeltilerinin hazırlanması  
Table 1. Preparation of feed solutions

Örnek No Sample No	Elektroçizme Geometrisi Electrospinning geometry	İç Kısım Core composition	Dış kısım (Shell composition)
1	Tek eksenli Uniaxial	-	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kekik yağı 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, thyme oil 9:1
2	Tek eksenli Uniaxial	-	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kakule yağı 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, cardamom oil 9:1
3	Eş eksenli Coaxial	Kekik Yağı %100 Thyme oil 100%	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi 20% gelatin - aqueous acetic acid solution
4	Eş eksenli Coaxial	Kakule Yağı %100 Cardamom oil 100%	%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi 20% gelatin - aqueous acetic acid solution

Çizelge 2. Elektroçizme işlem parametreleri  
Table 2. Process parameters of electrospinning

Örnek No Sample No	İç Kısmı Beslenen Yağ Debisi ml/sa Flow rate of core material ml/h	Dış Kısmı Beslenen Polimer Debisi ml/sa Flow rate of shell material ml/h	Uygulanan Gerilim Applied Voltage kV
1	-	0.5	18
2	-	0.5	18
3	0.1	0.9	13
4	0.1	0.9	13

Toplayıcı plaka uzaklığı 10 cm'dir.  
The collector distance was 10 cm.

#### Besleme çözeltilerinin özelliklerinin belirlenmesi

Çözeltilerin elektriksel iletkenlikleri oda sıcaklığında iki tekrarlı olacak şekilde ölçülmüştür (WTW LF95, Almanya).

Çözeltilerin yüzey gerilimleri bir tensiyometre (Dataphysics DCAT, Almanya) ile oda sıcaklığında iki tekrarlı olacak şekilde ölçülmüş, sonuçlar bir yazılım programı (Dataphysics SCAT, Almanya) ile değerlendirilmiştir.

Çözeltilerin reolojik karakterizasyonu 25 °C'de, 0 ile 200 1/s, kayma hızı aralığında ve paralel plaka sensörü (çap= 35 mm, gap= 1 mm) ile iki tekrarlı olacak şekilde yapılmış, sonuçlar bir yazılım ile değerlendirilmiştir (RheoWin3 Data Manager, Almanya). Çözeltilerin viskoziteleri psödoplastik akışkanlar için kullanılan üslü yasa modeli ile hesaplanmıştır:

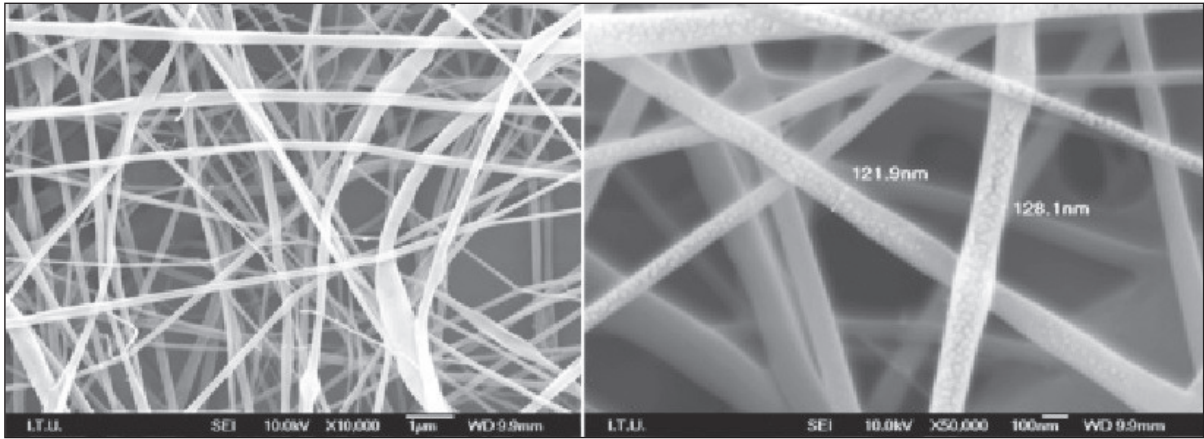
$$\tau = K (\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

Bu denklemde  $\tau$  kayma gerilimini (Pa), K kıvam indeksini (Pa.s<sup>n</sup>),  $\dot{\gamma}$  kayma hızını (1/s) ve n akış davranış indeksini (-) göstermektedir. Modelmeden sonra görünen veya anlık viskozite  $\mu$  (Pa.s) aşağıdaki denklemden hesaplanmıştır:

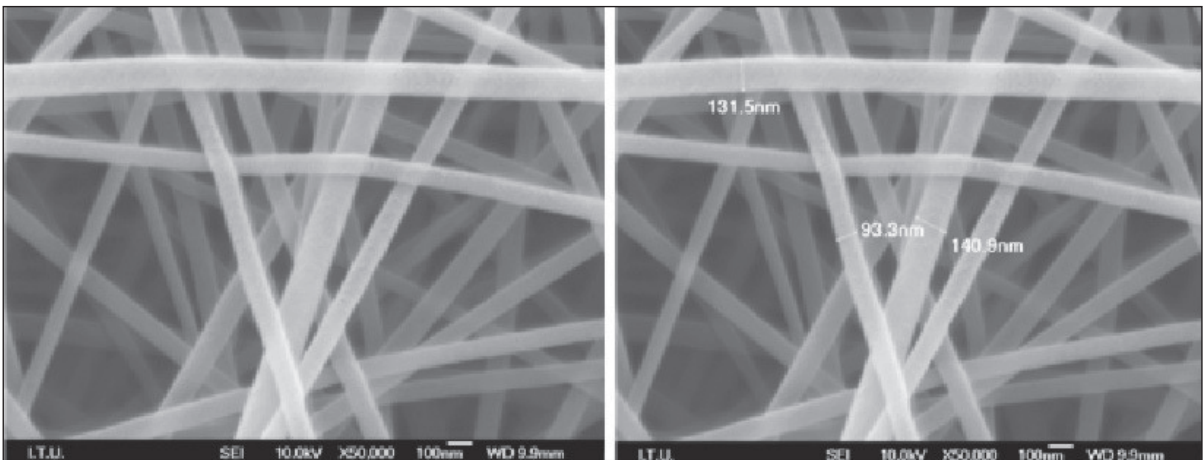
$$\mu = K (\dot{\gamma})^{n-1} \quad (2)$$

Çizelge 3. Besleme çözeltilerinin özellikleri  
Table 3. Properties of feed solutions

Örnek Sample	Elektriksel İletkenlik Electrical conductivity mS/cm	Yüzey Gerilimi Surface Tension mN/m	Reolojik Özellikler Reological Parameters		
			K Pa.s <sup>o</sup>	n -	μ Pa.s, 100 1/s'de at 100 1/s
%20 jelatin - asetik asit çözeltisi 20% gelatin - aqueous acetic acid solution	4.22 ± 0.02	36.90 ± 0.03	0.77 ± 0.02	0.56 ± 0.01	0.102
Kekik yağı Thyme oil	0.00 ± 0.00	24.15 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.004
Kakule yağı Cardamom oil	0.00 ± 0.00	24.62 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.21 ± 0.03	0.004
%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kekik yağı, Örnek No:1 9:1 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, thyme oil, Sample No:1	3.24 ± 0.03	34.67 ± 0.02	0.77 ± 0.05	0.52 ± 0.09	0.084
%20 jelatin - sulu asetik asit çözeltisi, kakule yağı, Örnek No:2 9:1 20% gelatin - aqueous acetic acid solution, cardamom oil, Sample No:2	3.26 ± 0.04	32.11 ± 0.02	0.87 ± 0.03	0.56 ± 0.01	0.115



Şekil 1. Jelatin-kekik yağı içeren (9:1) tek eksenli nanoliflerin SEM görüntüsü (Örnek No:1) -  
Figure 1. SEM images of uniaxial nanofibers containing gelatin-thyme oil (9:1) (Sample No:1)



Şekil 2. Jelatin-kekik yağı içeren eş eksenli nanoliflerin SEM görüntüsü (Örnek No :3)  
Figure 2. SEM images of coaxial nanofibers containing gelatin-thyme oil (9:1) (Sample No:3)

*Elektroegirme cihazında nanolif eldesi*

Elektroegirme işlemi bir elektroegirme cihazı (İnovento NE100, İstanbul, Türkiye) ile yürütülmüştür. Elektroegirme işleminde her bir örnek için kullanılan işlem parametreleri Çizelge 2'de verilmiştir.

## Çizelge 2

*Taramalı elektron mikroskobu (SEM)*

Elektroegirme cihazından alınan örneklerin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (Jeol JSM- 7000F, Japonya) ile incelenmiştir.

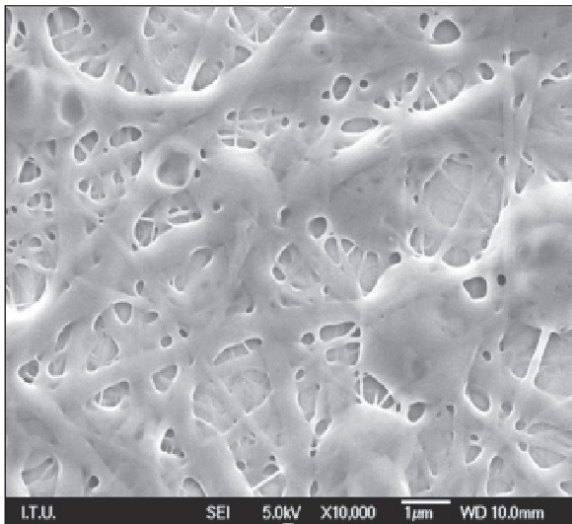
**BULGULAR***Besleme çözeltilerinin özellikleri*

Besleme çözeltilerinin özellikleri Çizelge 3'te verilmiştir.

*Elektroegirme işlemi ve örneklerin SEM ile incelenmesi*

Kekik yağı içeren tek ve eş eksenli nanolif örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 1 ve 2'de verilmiştir.

Kakule içeren tek eksenli örneğin SEM görüntüsü Şekil 3'te verilmiştir. Kakule yağı içeren sistemden eş eksenli geometride örnek eldesi mümkün olmamıştır.



Şekil 3. Jelatin-kakule yağı içeren (9:1) çözeltilerden elektroegirme ile elde edilen yapının SEM görüntüsü (Örnek No:2)

Figure 3. SEM images of uniaxial nanofibers containing gelatin-cardamom oil (9:1) (Sample No:2)

**SONUÇ ve DEĞERLENDİRME**

Elektroegirme cihazına beslenecek çözeltiler hazırlanırken ve elektroegirme işlemi boyunca kekik ve kakule yağı içeren örneklerde herhangi bir ayrışma gözlemlenmemiştir. Bu durumun jelatinin emülsifiye edici özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağların damlacıklar halinde çözelti içinde dağıldığı ve jelatin polimerinin karışımı stabilize edici olarak davrandığı tahmin edilmektedir.

Elektroegirme ile tek eksenli nanolif eldesi için besleme çözeltisinin sıfırdan farklı bir elektriksel iletkenliğe sahip olması gerekmektedir. Kekik yağı tek başına iletken değilken, jelatin-asetik çözeltisi ilave edildiğinde elde edilen karışım iletkenidir. Bu şekilde elektroegirme işleminin kekik yağı ile uygulanması mümkün olmuştur. Eş eksenli nanolif eldesinde iç kısım dış kısmın sahip olduğu elektriksel iletkenliğe bağlı olarak elektriksel alan kuvvetiyle lif şeklinde çekildiği için, iç kısmın elektriksel iletkenliği olmayan materyallerden oluşması sorun teşkil etmemektedir. Aynı durum kakule yağı içeren karışım için de geçerlidir, ancak nanolif yapısı elde edilememiştir. Bunun elektroegirmede etkili diğer bir parametre olan viskoelastik kuvvetlerle ilgisi olduğu düşünülmektedir.

Elektroegirme tekniği için önemli diğer bir parametre besleme çözeltilerinin reolojik özellikleridir. Reolojik ölçümlere göre bütün besleme çözeltileri psödoplastik özellik ( $n < 1$ ) göstermektedir. Başka bir deyişle çözeltilerin tek bir viskozite değeri olmamaktadır. Bu durumda kıvam indeksi (K) değerlerine bakılarak değerlendirme yapılabilir. Kakule yağı içeren örneğin (Çizelge 1'de verilen örnek 2) hem K değeri hem de 100 1/s'deki viskozite değeri, diğer bütün örneklerden büyük çıkmıştır (Çizelge 3). Bu da elektroegirmede uygulanması gereken voltajın daha yüksek olması anlamına gelmektedir. Çalışmada uygulanan elektroegirme parametreleriyle, kakule yağı içeren örnekten nanolif eldesi mümkün olmamıştır. Ancak viskoz kuvvetleri yenecek miktara karşılık gelecek şekilde daha yüksek voltaj uygulamalarında, kekik yağı gibi kakule yağı da enkapsüle edilebilir.

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan morfolojik incelemelerde, kekik yağı ve jelatin çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin düzgün



ve boncuksuz yapı oluşturabildiği görülmüştür. Bu tek eksenli nanoliflerin çapları 121.9 ile 128.1 nm arasında değişmektedir (Şekil 1). Eş eksenli elektroğirme uygulanan kekik yağlı örneklerden nanolif yapısı elde edilmiştir. Bu nanoliflerin çapları ise 93.3 ile 140.9 nm arasında değişmiştir (Şekil 2). SEM sonuçlarına göre tek eksenli elektroğirme tekniği ile üretilen nanolifler daha homojen çaplara sahiptir. Kakule yağı içeren çözüldüden düzgün nanolif yapısının elde edilemediği belirlenmiştir (Şekil 3). Eş eksenli elektroğirmeden jelatin - kakule yağı örneği için toplama plakasına doğru fiske oluşumu gözlenmemiştir. Bu sonuçlar kakule yağı içeren örneklerin kıvam indeksinin yüksek olması nedeniyle, daha yüksek voltaj uygulanması gerektiği şeklinde yorumlanabilir. Buna ilaveten farklı kaplama polimerleri denenebilir.

Oda koşullarında gerçekleştirilebildiği, enkapsülasyon için doğal polimerler kullanıldığı, toksik çözümler gerektirmediği ve kısa bir sürede gerçekleştirilebildiği için kekik yağının aktif bileşenlerinin enkapsülasyonunda elektroğirme yönteminin oldukça avantajlı olduğu görülmektedir. Ancak bu aktif bileşenlerin nanolifle enkapsülasyonundan sonra etkinliklerinin ve stabiliteilerinin analiz edilmesi gereklidir. Nanoliflerle enkapsülasyon ile kekik yağlı bileşenlerinin kontrollü salımı da sağlanabilir. Bu çalışma, gelecekte nanolifler ile enkapsüle edilmiş kekik yağının gıda ve gıda ambalajları alanında uygulanabilirliği konusunda yapılacak çalışmalar için kaynak olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Benli M, Yiğit N. 2005. Ülkemizde yaygın kullanımı olan Kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyol Derg*, 3(8), 1-8.
2. Kubo İ, Himejima M, Muroi H. 1991. Antimicrobial activity of flavor components of Cardamom *Elattaria cardamomum* (Zingiberaceae) Seed. *J Agric Food Chem*, 39(11), 1984-1986.
3. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils a review. *Food Chem Toxicol*, 46(2), 446-475.
4. Augustin M, Hemar Y. 2009. Nano-and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem Soc Rev*, 38(4), 902-912.
5. Xiao Z, Li W, Zhu G, Zhou R, Niu Y. 2013. The nanocapsulation research progress in food industry. *Appl Mech and Mater*, 395, 144-148.
6. Subbiah T, Bhat G, Tock R, Parameswaran S, Ramkumar S. 2005. Electrospinning of nanofibers. *J Appl Polym Sci*, 96(2), 557- 569.
7. Diaz J, Fernandez-Nieves E, Barrero A, Marquez E, Loscertales I. 2008. Fabrication of structured micro and nanofibers by coaxial electrospinning. *J Phys: Conference Series*, 127(1).
8. Arslan Y. 2007. Elektroğirme tekniğiyle polimer nano-liflerin memeli hücresi etkileşimlerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 51 s.
9. Bhardwaj N, Kundu S. 2010. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv*, 28(3), 325-347.
10. Okutan N, Terzi P, Altay F. 2014. Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers. *Food Hydrocoll*, 39, 19-26.
11. İkiz Y. 2009. Elektro çekim yöntemi işlem parametrelerinin PVA nanolif morfolojisine etkileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri dergisi*, 15(3), 363-369.
12. Geng X, Kwon O, Jang J. 2005. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*, 26(27), 5427-5432.
13. Nieuwland M, Geerdink P, Brier P, Van Den Eijnden P, Henket J, Langelaan M, Stroeks N., Deventer H., Martin A. 2013. Food-grade electrospinning of proteins. *Innov Food Sci & Emerg Technol*, 20, 269-275.



## FARKLI ACILIK GİDERME YÖNTEMLERİNİN GELENEKSEL TURUNÇ KABUĞU REÇELİNİN TOPLAM FENOLİK MADDE ve FLAVONOİD İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ

Demet Yıldız Turgut\*, Haluk Tokgöz, Muharrem Gölükcü,  
Ramazan Toker, Arzu Bayır Yeğın

Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya

Geliş tarihi / *Received*: 06.10.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 28.12.2015

Kabul tarihi / *Accepted*: 14.01.2016

### Özet

Bu çalışmada, Akdeniz Bölgesi'nde yaygın olarak üretilen geleneksel turunç kabuğu reçeli üretiminde hammaddedeki acılık bileşenlerinin uzaklaştırılmasında farklı acılık giderme yöntemlerinin etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Acılık giderme yöntemlerinin etkinliği toplam fenolik, toplam flavonoid ve acı flavonoidlerin miktarındaki değişimle belirlenmiştir. Bu amaçla 19 farklı acılık giderme yöntemi uygulanmış olup bunlardan üçü diğerlerine göre işlem süresi açısından daha avantajlı bulunmuştur. Bunlardan birincisi, 30 dk haşlama, 40 °C suda 48 saat bekletme, ikincisi %4 NaCl içeren suda 30+10 dk haşlama (iki kez), 48 saat suda bekletme ve üçüncüsü de %1 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> içeren suda 10 dk haşlama, 48 saat suda bekletme uygulamalarıdır. Bu uygulamaların pratikte kullanılabilir ve etkin olduğu, ayrıca reçel üretiminde ürün kayıplarını azaltma açısından da faydalı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Turunç kabuğu reçeli, acılık giderme, acı flavonoidler

## THE EFFECTS OF DIFFERENT DEBITTERING METHODS ON TOTAL PHENOLIC MATTER and FLAVONOID CONTENT IN TRADITIONAL BITTER ORANGE PEEL JAM

### Abstract

In this study, it was aimed to determine efficiency of different debittering methods on bitterness of peel in traditional bitter orange peel jam production which is produced commonly in Mediterranean Region of Turkey. Effectiveness of debittering methods have been determined with respect to total phenolic, total flavonoid and bitter flavonoids contents. For this purpose; 19 different debittering methods were applied and three of them were more successful than other applications. The first one was blanching the peel for 30 minutes and then keeping in 40 °C the water for 48 hours. Second one was blanching the peel for 30+10 minutes (two times) in 4 % salted (NaCl) water and then keeping in the water at ambient temperature for 48 hours. The last one was blanching the peel for 10 minutes in sodium carbonate contained water (1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) and then keeping in the water at ambient temperature for 48 hours. These methods could be applied practically and effectively. Additionally, these methods could provide decreasing in losses during bitter orange peel jam production.

**Keywords:** Bitter orange peel jam, debittering, bitter flavonoids

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ dyturgut@hotmail.com,

☎ (+90) 242 321 6797,

☎ (+90) 242 321 1512

## GİRİŞ

Turunç meyvesi, diğer turunçgil meyvelerinden gerek bileşim gerekse tüketim açısından farklı bir yere sahiptir. Genellikle diğer turunçgillerin üretiminde anaç olarak kullanılan turuncun, ekşi ve acı tadından dolayı taze tüketimi yaygın değildir. Endüstride genellikle kabuk yağı, pektin, sitrik asit ve şarap gibi çeşitli ürünlerin üretiminde kullanılabilir. İçerdiği antioksidan maddeler ekstrakte edilerek farklı gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Özellikle turunçgil üretiminin yoğun olduğu Akdeniz Bölgesi'nde, turunçgillerden geleneksel reçel ve marmelat üretiminde yararlanılmaktadır (1-4).

Turunçgil meyveleri ve ürünlerinde acılığa neden olan bileşiklerin flavonoidler ve limonoidler olduğu bildirilmektedir (5). Bu bileşikler biyolojik aktivitelere sahip olmalarının yanısıra turunçgillerden elde edilen meyve suyu, konsantre gibi ürünlerdeki aşırı miktarları tüketici tercihlerini önemli oranda etkilemektedir (6,7). Bu nedenle bu bileşenlerin üründen uzaklaştırılması amacıyla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (8-11). Turunçgillerde bulunan flavonoidlerden acı olanlar neohesperidin, poncirin ve naringin (12,13) olup, kabuk kısmında yüksek oranda bulunurlar (5). Özellikle turunçların karakteristik acılığında rolü olan neohesperidin alkol ve suda çözünebilir bir bileşiktir. Molekül ağırlığı esasına göre hazırlanan çözeltileri karşılaştırıldığında neohesperidin acılığı naringinin 1/10' u kadardır. Yapılan araştırmalar naringinin altıntop (*Citrus paradisi*), pomelo (*Citrus maxima*, *Citrus grandis*), turunç (*Citrus aurantium*) ve üç yapraklıda (*Poncirus trifoliata*) bulunduğunu göstermiştir (12). Suda ve alkolde çözünebilir naringinin, yaklaşık % 90'ı meyvenin albedo ve dilim zarında bulunur. 20 ppm düzeyinde bulunduğu hissedilebilir derecede yoğun bir acılığa sahiptir (14). Turunç kabuklarının naringin ve neohesperidini diğer flavonoidlere göre daha fazla içerdiği bildirilmektedir (15-17).

Geleneksel olarak turunç kabuğu reçeli, hasat edilen meyvelerin kabuklarının rendelenmesi, daha sonra acılığının giderilmesi ve şeker şurubu ile belirli bir kıvama ulaşıncaya kadar kaynatma işlemine tabi tutulmasıyla üretilmektedir. Turunç kabuğu reçeli üretiminde kabuktan gelen acılığın giderilmesi önemli bir problemdir ve son ürünün kalitesini etkilemektedir. Dolayısıyla turunç kabuğu reçeli üretiminde öncelikli olarak kabuktaki acılık

bileşenlerinin belli oranda uzaklaştırılması gerekmektedir. Acılık giderme işlemi genellikle kabukların haşlanması takiben, birkaç gün suda bekletilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Ancak mevcut yöntemlerde bu işlem sadece duyuşal olarak değerlendirilmekte, dolayısıyla bu yöntemlerin acılık bileşenlerinin uzaklaştırılmasında ne kadar etkin olduğu bilinmemektedir. Ayrıca geleneksel yöntemlerle acılık giderme işlemi zaman almakta ve bazı durumlarda hammaddede erime gibi problemlere yol açabilmektedir. Bu durum özellikle hasadı belli bir zaman aralığında olan turunç meyvesinin reçele işlenmesini geciktirmekte ve ürün kayıplarına yol açmaktadır. Dolayısıyla bu ürünlerin üretiminde pratikte kullanılabilir, etkin ve hızlı yöntemlerin geliştirilmesine ve standardize edilmesine ihtiyaç vardır.

Ülkemizde geleneksel olarak üretilen turunç kabuğu reçeli üretiminde acılık giderme yöntemleriyle ilgili bilimsel bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada geleneksel turunç kabuğu reçeli üretiminde, farklı acılık giderme yöntemlerinin, hammaddedeki acılık bileşenlerinin giderilmesinde kullanım olanağı ve etkinliği araştırılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal olarak Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü merkez biriminde bulunan turunç parselinden temin edilen meyveler kullanılmıştır. Turunç meyveleri 2013 yılı Ocak ayında hasat edilmiştir. Turunç meyveleri su ile yıkanıp, turuncu renkteki flavedo kısmı paslanmaz çelik bir rende yardımıyla derin olmayacak şekilde rendelenmiştir. Daha sonra kabuk kısmı, bıçak yardımıyla 6-8 parçaya ayrılarak, her bir kabuk parçası rulo haline getirilmiş ve 100-110 cm uzunluğundaki pamuk ipe dizilmiştir. Reçel üretiminden önce rulo haline getirilen kabuklarda acılık giderme amacıyla 19 farklı yöntem uygulanmıştır. Bu yöntemler Çizelge 1'de verilmiştir. Birinci yöntem turunç kabuğu reçeli üretiminde geleneksel olarak uygulanan bir yöntem olup, bu uygulama kontrol olarak değerlendirilmiştir.

Ön işlemler ve acılık giderme işleminden sonra, 1000 g turunç kabuğu (toplam kurumadde oranı %14.46), 1000 g şeker, 500 mL su ve 1 g sitrik asit formülasyonuna göre açık kazanda pişirme tekniği ile reçel üretimi gerçekleştirilmiştir. Kaynatma işlemine ürün suda çözünür kurumadde miktarı %70.03 (toplam kurumadde oranı da %82.26 olarak

Çizelge 1. Turunç kabuğu reçeli üretiminde kullanılan acılık giderme yöntemleri\*  
Table 1. Debittering methods in bitter orange peel jam production

No	Uygulama Applications
1	Kontrol (30 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme)- Control (30 min blanching, keeping in water for 72 h)
2	30 dk. haşlama, 40°C suda 24 saat bekletme- 30 min blanching, keeping in 40 °C water for 24 h
3	30 dk. haşlama, 40°C suda 48 saat bekletme- 30 min blanching, keeping in 40 °C water for 48 h
4	30 dk. haşlama, 40°C suda 72 saat bekletme- 30 min blanching, keeping in 40 °C water for 72 h
5	30+10 dk. haşlama*, 24 saat suda bekletme- 30+10 min blanching, keeping in water for 24 h
6	30+10 dk. haşlama, 48 saat suda bekletme- 30+10 min blanching, keeping in water for 48 h
7	30+10 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme- 30+10 min blanching, keeping in water for 72 h
8	%4 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 24 saat suda bekletme- Blanching in 4% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 24 h
9	%4 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 48 saat suda bekletme- Blanching in 4% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 48 h
10	%4 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme- Blanching in 4% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 72 h
11	%6 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 24 saat suda bekletme- Blanching in 6% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 24 h
12	%6 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 48 saat suda bekletme- Blanching in 6% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 48 h
13	%6 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme- Blanching in 6% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 72h
14	%8 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 24 saat suda bekletme- Blanching in 8% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 24 h
15	%8 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 48 saat suda bekletme- Blanching in 8% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 48 h
16	%8 NaCl içeren suda 30+10 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme- Blanching in 8% NaCl for 30+10 min, keeping in water for 72 h
17	%1 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (Sodyum karbonat) içeren suda 10 dk. haşlama, 24 saat suda bekletme- Blanching in 1% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> for 10 min, keeping in water for 24 h
18	%1 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> içeren suda 10 dk. haşlama, 48 saat suda bekletme- Blanching in 1% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> for 10 min, keeping in water for 48 h
19	%1 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> içeren suda 10 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme- Blanching in 1% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> for 10 min, keeping in water for 72 h

\* Uygulamalar içerisindeki 30+10 dk. haşlama işlemleri 30 dakika ve daha sonra 10 dakika olmak üzere iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir.

belirlenmiştir) olunca son verilmiş olup üretilen ürünlerde turunç kabuğu oranı ortalama %50'dir. Üretim sonrası reçeller 190 cc'lik cam kavanozlara sıcak dolun tekniğiyle (88 °C'de) doldurulmuş, kapakları kapatılarak analiz anına kadar +5 °C'de muhafaza edilmiştir. Reçel üretimi iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Acılık giderme yöntemlerinin etkinliği flavonoidlerin miktarındaki değişime göre belirlenmiştir. Bu amaçla kabukta ve reçel örneklerinde toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı ve LC/ MS-MS (High-performance Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry) ile neohesperidin ve naringin analizleri yapılmıştır. Hammadde analizleri kabukta, reçel analizleri ise ürünün tamamı Waring blendırda homojenize edilmiş örneklerde gerçekleştirilmiştir.

#### Analizler

Toplam fenolik, flavonoid madde ve LC/MS-MS analizlerinde kullanılmak üzere turunç kabukları ve reçel örnekleri metanolle ekstraksiyona tabi tutulmuştur (18). Örneklerde toplam fenolik madde miktarı Singleton vd. (19) tarafından önerilen Folin- Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir.

Sonuçlar mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri)/100 g olarak verilmiştir. Örneklerin toplam flavonoid miktarı alüminyum klorid (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) ile kolorimetrik olarak Zhishen vd. (20) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenerek, sonuçlar mg CE (Kateşin Eşdeğeri)/ 100 g olarak ifade edilmiştir. Örneklerin naringin, neohesperidin analizleri Zorbax SB-C18 (150x2.1 mm, 1.8 µm) kolon kullanılarak LC-MS/ MS (High-performance Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry) ile gerçekleştirilmiştir (21). Analizlerde Mass Hunter paket programı ile çalışan Agilent 6430 Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) marka elektrosprey iyon kaynaklı kütle spektrometresi ve Agilent-1290 Infinity (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) marka sıvı kromatografisi kullanılmıştır. Araştırma iki tekerrür ve tüm analizlerde her örnek için iki paralel olarak düzenlenmiştir. Elde edilen sonuçlar SAS istatistik programı ile varyans analizine tabi tutulmuş (verilmemiştir), önemli bulunan sonuçlar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile P<0.05 düzeyinde gruplandırılmıştır.

**BULGULAR ve TARTIŞMA**

Materyal olarak kullanılan turunç kabuğunda toplam fenolik madde, flavanoid madde, naringin ve neohesperidin miktarları sırasıyla 3205.27 mg GAE/100 g, 2564.60 mg CE/100 g, 871.55 mg/100 g ve 245.12 mg/100 g olarak belirlenmiştir (Çizelge 2.) Turunç kabuğunda toplam flavonoid miktarı, toplam fenolik miktarının % 80'ini oluşturmaktadır. Ersus ve Çam, (3), Aydın' da yetiştirilen turunç meyvesinin suyunda toplam fenolik madde içeriğini 56.9 mg GAE/100 mL, toplam flavonoid miktarını 7.7 mg CE/100 mL olarak; kabukta ise toplam fenolik madde miktarını 487.1 mg GAE/100 g, toplam flavonoid madde miktarını 387 mg CE/100 g olarak belirlemiştir. Ghasemi vd. (22), 13 farklı turunçgil türünün kabuk ve yenilebilir kısımlarının fenolik, flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitesini inceledikleri çalışmada turunç meyvesinin kabuk ekstraktlarında da toplam fenolik madde miktarını 232.2 mg GAE/g, toplam flavonoid içeriğini 7.7 mg Kuersetin Eşdeğeri/ g olarak belirlemişlerdir. Kabuk ekstraktlarının, yenilebilir kısımlarına göre yaklaşık 2 katı fenolik madde ve flavonoid madde içerdiğini saptamışlardır. Turunçgil kabukları fenolikler, özellikle flavonoidler açısından zengin bir kaynaktır. Turunç kabuklarında başlıca acılık bileşenleri naringin ve neohesperidindir (12). Bocco vd. (16), turunç meyvesinin kabuklarının metanolik ekstraktlarında naringin ve neohesperidini sırasıyla 10.97 mg/g ve 6.62 mg/g belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada turunç kabuklarında naringin miktarı 1470 mg/100 g, neohesperidin miktarı ise 1090 mg/100 g olarak tespit edilmiştir (17). Bulgularımız Ersus ve Çam, (3)'ün bulgularından yüksek, diğer literatür bulgularından düşüktür. Bu farklılıkların çeşit, ekstraksiyon yöntemi gibi etkenlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Turunçgil kabuk flavonoidlerinin önemli bir kısmının flavedo kısmında bulunduğu bildirilmiştir

(5). Çalışmamızda rendeleme aşamasında flavedo kısmının uzaklaştırılmasıyla toplam fenolik ve flavonoid miktarları yaklaşık %55 azaldığı, naringin ve neohesperidin miktarının ise sırasıyla %22.04 ve %8.45 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Turunçgil meyvelerinde flavonoidlerin yaklaşık %10-20'sinin kabuktaki flavedo kısmında, %30-50'sinin ise albedo kısmında bulunduğu bildirilmiştir (23-24). Dolayısıyla rendeleme aşaması kabuktan fenoliklerin uzaklaştırılmasında etkili olmuştur.

Farklı Acılık giderme yöntemleri uygulanarak elde edilen turunç kabuğu reçeli örneklerinde toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları ile hammaddeye göre değişim oranları ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. Reçel örnekleri arasında toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı açısından istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılıklar olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). En yüksek toplam fenolik madde miktarı 30+10 dk. haşlama, 24 saat suda bekletme sonucu elde edilen reçelde (5 nolu örnek) (423.69 mg GAE/100 g), en düşük toplam fenolik madde miktarı ise 30+10 dk. haşlama, 72 saat suda bekletme uygulaması sonucu elde edilen reçelde (7 nolu örnek) (105.72 mg GAE/100 g) tespit edilmiştir. Bir nolu kontrol örneğinin toplam fenolik madde miktarı açısından 3, 4, 10 ve 18 nolu reçel örnekleriyle istatistiksel açıdan aynı grupta yer aldığı görülmüştür ( $P>0.05$ ). En yüksek toplam flavonoid madde miktarı 338.88 mg CE/100 g ile 11 nolu reçel örneğinde, en düşük toplam flavonoid madde miktarı ise 92.38 mg CE/100 g ile 7 nolu reçel örneğinde tespit edilmiştir. Toplam flavonoid miktarları ise 1 nolu kontrol örneğinin toplam flavonoid madde miktarı açısından 3, 9 ve 18 nolu reçel örnekleriyle istatistiksel açıdan aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ).

Çizelge 2. Ham ve rendelenerek flavedo tabakası giderilmiş turunç kabuğunun (taze ağırlık) flavonoid içeriği ve değişim oranları \*  
Table 2. Flavonoid contents of raw and grated bitter orange peel and decreasing ratios

Özellik Parameters	Turunç kabuğu Bitter orange peel	Rendelenmiş turunç kabuğu Grated bitter orange peel	Değişim (%) Decreasing ratio (%)
TFM <sup>1</sup> (mg GAE/100g)	3205.27±12.81	1442.95±14.74	54.98
TFLM <sup>2</sup> (mg CE/ 100g)	2564.60±15.32	1154.30±12.54	54.99
Naringin (mg/100g)	871.55±5.83	679.46±16.78	22.04
Neohesperidin (mg/100g)	245.12±4.13	224.39±9.61	8.45

\*Ortalama±standart sapma

<sup>1</sup>TFM: Toplam Fenolik Madde-Total phenolic contents

<sup>2</sup>TFLM: Toplam Flavonoid Madde-Total flavonoid contents



Çizelge 3. Farklı acılık giderme yöntemleri uygulanarak üretilen reçel örneklerinde toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları\*  
Table 3. Total phenolic and flavonoid contents of the jams produced by applying different debittering methods\*

No	TFM <sup>1</sup> (mg GAE/100g)	Değişim (%) Decreasing ratio (%)	TFLM <sup>2</sup> (mg CE/100g)	Değişim (%) Decreasing ratio (%)
1	169.81±0.60 <sup>ik</sup>	94.70	153.87±0.47 <sup>i</sup>	94.00
2	364.48±2.82 <sup>c</sup>	88.63	318.47±8.80 <sup>bc</sup>	87.58
3	170.86±0.70 <sup>i</sup>	94.67	154.07±3.75 <sup>i</sup>	93.99
4	156.12±5.07 <sup>kl</sup>	95.13	137.09±1.20 <sup>j</sup>	94.65
5	423.69±3.29 <sup>a</sup>	86.78	327.18±1.50 <sup>ab</sup>	87.24
6	198.12±1.49 <sup>h</sup>	93.82	169.06±1.01 <sup>h</sup>	93.41
7	105.72±4.82 <sup>m</sup>	96.70	92.38±4.28 <sup>l</sup>	96.40
8	397.64±9.07 <sup>b</sup>	87.59	220.64±4.49 <sup>f</sup>	91.40
9	253.02±1.48 <sup>f</sup>	92.11	156.00±2.38 <sup>i</sup>	93.92
10	156.75±0.86 <sup>kl</sup>	95.11	133.88±0.67 <sup>j</sup>	94.78
11	409.26±5.78 <sup>b</sup>	87.23	338.88±0.50 <sup>a</sup>	86.79
12	312.68±2.53 <sup>e</sup>	90.24	278.92±2.00 <sup>d</sup>	89.12
13	231.14±2.75 <sup>g</sup>	92.79	203.73±0.83 <sup>g</sup>	92.06
14	376.12±3.51 <sup>c</sup>	88.27	311.51±1.46 <sup>c</sup>	87.85
15	335.86±1.97 <sup>d</sup>	89.52	273.67±0.75 <sup>d</sup>	89.33
16	315.22±1.06 <sup>e</sup>	90.17	237.20±2.67 <sup>e</sup>	90.75
17	221.20±1.48 <sup>g</sup>	93.10	177.58±1.48 <sup>h</sup>	93.08
18	170.75±1.89 <sup>ij</sup>	94.66	153.26±1.12 <sup>i</sup>	94.02
19	143.49±1.72 <sup>l</sup>	95.52	113.76±3.11 <sup>k</sup>	95.56

\*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ )

\*Different letters in the same column are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ),

<sup>1</sup>TFM: Toplam Fenolik Madde- Total phenolic contents

<sup>2</sup>TFLM: Toplam Flavonoid Madde- Total flavonoid contents

Farklı acılık giderme yöntemleri uygulanarak elde edilen turunç kabuğu reçeli örneklerinde acı flavonoidlerden naringin ve neohesperidin miktarları ile hammaddeye göre değişim oranları ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. Reçel örnekleri arasında naringin ve neohesperidin miktarı açısından istatistiksel düzeyde farklılıklar olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ). En yüksek naringin miktarı 11 nolu reçel örneğinde (203.09 mg/100 g) en düşük naringin miktarı ise 10 ve 7 nolu reçel örneklerinde (25.78; 27.12 mg/100 g) tespit edilmiştir. 1 nolu kontrol örneğinin naringin miktarı açısından 3, 9 ve 18 nolu reçel örnekleriyle istatistiksel açıdan aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). En yüksek neohesperidin miktarı 185.57 mg/100 g ile 5 nolu örnekte, en düşük neohesperidin miktarı ise 10.08 mg/100 g ile 7 nolu örnekte belirlenmiştir. 1 nolu kontrol örneğinin neohesperidin miktarı açısından 3, 4, 9, 10, 18 ve 19 nolu reçel örnekleriyle istatistiksel açıdan aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ).

Genel olarak incelenen kriterler dikkate alındığında, 1 nolu kontrol örneği ile 3, 4, 9, 10, 18 ve 19 nolu örneklerini istatistiksel açıdan aynı grupta yer aldığı görülmektedir. Ancak 4, 10 ve 19 nolu reçel örneklerinde acılık giderme aşamalarında 72 saatlik bekletme süresinin kontrol örneğine göre bir avantaj sağlamayacağı düşünülmektedir. Bu nedenle 3, 9 ve 18 nolu reçel örneklerinde 48 saat suda bekletme uygulamasının 1 nolu kontrol örneğine göre işlem süresi açısından daha avantajlı olduğu görülmüştür. Geleneksel turunç kabuğu reçeli üretiminde acılık giderme işlemiyle acılık maddelerinin bir kısmı kabuktan uzaklaştırılırken, bir kısmı kalmakta ve ürünün tipik lezzetini oluşturmaktadır. Bu durum tüketiciler tarafından istenilen bir özelliktir. Bu nedenle veriler kontrol değerleri doğrultusunda değerlendirmeye alınmıştır. Toplam fenolik, flavonoid, naringin ve neohesperidin miktarlarında hammaddeye göre reçel örneklerinde sırasıyla % 86.78-96.70, % 87.24-95.56, %76.70- 97.04 ve % 24.29-95.89 azalma gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu durumun rendeleme ile flavedo kısmının uzaklaştırılmasından,



Çizelge 4. Farklı Acılık giderme yöntemleri uygulanarak üretilen reçel örneklerinde naringin ve neohesperidin miktarları\*  
 Table 4. Naringin and neohesperidin contents of the jams produced by applying different debittering methods\*

No	Naringin (mg/100 g)	Değişim (%) Decreasing ratio (%)	Neohesperidin (mg/100 g)	Değişim (%) Decreasing ratio (%)
1	51.57±1.40 <sup>h</sup>	94.08	16.17±1.01 <sup>kl</sup>	93.40
2	169.65±1.54 <sup>b</sup>	80.53	117.89±2.70 <sup>b</sup>	51.91
3	60.31±2.89 <sup>h</sup>	93.08	17.35±0.71 <sup>jk</sup>	92.92
4	33.94±2.08 <sup>il</sup>	96.11	12.15±0.73 <sup>klm</sup>	95.04
5	145.18±1.53 <sup>d</sup>	83.34	185.57±1.71 <sup>a</sup>	24.29
6	81.65±1.45 <sup>g</sup>	90.63	72.81±2.04 <sup>e</sup>	70.30
7	27.12±2.33 <sup>l</sup>	96.89	10.08±0.77 <sup>m</sup>	95.89
8	158.25±1.40 <sup>c</sup>	81.84	62.19±1.87 <sup>f</sup>	74.63
9	53.39±1.77 <sup>h</sup>	93.87	15.20±0.89 <sup>klm</sup>	93.80
10	25.78±1.71 <sup>i</sup>	97.04	15.43±1.36 <sup>klm</sup>	93.70
11	203.09±6.18 <sup>a</sup>	76.70	70.93±0.36 <sup>e</sup>	71.06
12	164.26±1.71 <sup>bc</sup>	81.15	56.29±1.37 <sup>g</sup>	77.04
13	158.21±1.46 <sup>c</sup>	81.85	43.41±1.33 <sup>h</sup>	82.29
14	133.81±2.26 <sup>e</sup>	84.65	119.30±1.18 <sup>b</sup>	51.33
15	112.66±0.82 <sup>f</sup>	87.07	108.68±0.67 <sup>c</sup>	55.66
16	78.66±0.63 <sup>g</sup>	90.97	82.88±2.43 <sup>d</sup>	66.19
17	79.63±2.20 <sup>g</sup>	90.86	25.06±0.77 <sup>l</sup>	89.77
18	55.93±2.49 <sup>h</sup>	93.58	18.11±0.89 <sup>l</sup>	92.61
19	40.34±1.93 <sup>i</sup>	95.37	10.88±0.92 <sup>lm</sup>	95.56

\*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ )

\*Different letters in the same column are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

acılık giderme yöntemleri ve açık kazanda pişirme koşullarından (termal proses) kaynaklandığı düşünülmektedir. Fenolik bileşikler metanol, etanol, aseton, etil asetat, propanol gibi çözünenlerin yanında suda da çözünebilmektedir (25). Çalışmada acılık giderme yöntemlerinde uygulanan haşlama ve suda bekletme uygulamalarının fenolik bileşiklerin suyla uzaklaşmasını sağladığı düşünülmektedir. Haşlama sıcaklığı ve süresi bazı enzimleri inaktif ederken, ürünün besin kalitesinde kayıplara yol açabilmektedir. Farklı turuncgil (Satsuma Mandarin, Shiranui, Navel Portakal) kabuklarının farklı yöntemlerle marmelata işlenmesinin araştırıldığı çalışmada, kabuklar acılık giderme amacıyla 90 °C'de 15 dk. suda haşlama işlemine tabi tutulmuştur. Haşlama ile toplam fenolik miktarında % 67-77 oranında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Fenoliklerin suda çözünebilme özelliğinden dolayı haşlama suyuna geçtiği ifade edilmiştir (26). Şahin (27), greyfurt kabuğunun reçele işlenmesi sırasında farklı acılık giderme yöntemlerini denemiş, duyuşal değerlendirmede panelistlerin ortaya koyduğu görüşler doğrultusunda % 6'lık tuzlu suda 5+5

dakika haşlama işlemi ve daha sonra bir gün suda bekletme işleminin acılık gidermede diğer uygulamalara göre daha etkili olduğunu tespit etmiştir. Çalışmamızda %4 NaCl içeren suda 30+10 dk haşlama, 48 saat suda bekletme uygulamasının incelenen parametreler açısından kontrol örneğiyle istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı görülmüştür. Benzer şekilde %1 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> içeren suda 10 dk haşlama, 48 saat suda bekletme uygulamasının incelenen parametreler açısından kontrol örneğiyle istatistiksel olarak aynı grupta yer aldığı görülmüştür. Vibhakara and Bawa, (28), tarafından sodyum karbonatın turunc kabuklarının reçele işlenmeden önce hızlı bir şekilde yumuşatılması için kullanıldığı bildirilmektedir. Ancak bu uygulamanın acılık bileşenleri üzerine ne gibi etkisi olduğu açıklanmamıştır. Çalışmamızda sodyum karbonatın turunc kabuğundaki bitkisel hücreleri parçalayarak fenolik bileşiklerin suya geçişini hızlandırdığı düşünülmektedir.

Isıl işlem, depolama ve diğer birçok proses gıdaların kalite parametreleri üzerine etkili faktörlerdendir. Gıdaların sahip oldukları bazı bileşen öğeleri bu gibi proseslerden oldukça fazla etkilenmekte ve

bu da gıdaların besinsel özelliklerinin azalmasına neden olmaktadır. Isıl işlem ortamı olarak suyun kullanıldığı durumlarda antioksidan bileşiklerin suya geçmesi de söz konusudur (29). Geleneksel reçel üretim proseslerinde uygulanan ısıl işlem süresi ve sıcaklığına bağlı olarak bir yandan mikrobiyel ve enzimatik inaktivasyon sağlanırken, diğer yandan meyvede doğal olarak bulunan bazı biyoaktif bileşiklerin kaybı söz konusu olabilmektedir (28-30). Kim ve Padilla-Zakour (18), erik, ahududu ve vişnenin reçele işlenmesiyle toplam fenolik, toplam antosiyanin ve antioksidan aktivitesinde azalma meydana geldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca reçellerde toplam fenolik maddelerin yaklaşık % 27' ye kadar azaldığını rapor etmişlerdir. Igual vd. (31), farklı yöntemler kullanılarak reçele işlenen greyfurtlarda narirutin, poncirin, naringenin ve kuersetinin azaldığını, naringenin ise stabil kaldığını tespit etmişlerdir. Patras vd. (32) tarafından, reçel prosesi sırasında fenolik maddelerin miktarındaki azalmanın meyvenin hücre yapısının parçalanması sonucu olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmamızda reçel pişirme prosesine bağlı olarak benzer şekilde toplam fenolik, flavonoid miktarının azaldığı görülmüştür.

## SONUÇ

Bu çalışma ile Akdeniz bölgesine özgü geleneksel bir gıda olan turunc kabuğu reçelinin üretiminde, farklı acılık giderme yöntemleri ile hammaddedeki acılık bileşenlerinin giderilmesi olanağı araştırılmıştır. Araştırmada elde edilen bilgiler ışığında 30 dk haşlama, 40 °C suda 48 saat bekletme (3 nolu örnek), %4 NaCl içeren suda 30+10 dk haşlama, 48 saat suda bekletme(9 nolu örnek) ve %1 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> içeren suda 10 dk haşlama, 48 saat suda bekletme acılık giderme yöntemleri uygulanarak (18 nolu örnek) gerçekleştirilen reçel örneklerinin kontrol örneğine göre proses süresi açısından daha avantajlı olduğu görülmüştür. Geleneksel olarak üretilen turunc kabuğu reçeli üretiminde 72 saatlik suda bekletme süresinin bu uygulamalarla 48 saate inebileceği tespit edilmiştir. Bu uygulamaların pratikte kullanılabilir ve etkin olduğu, ayrıca ürün kayıplarını engelleme açısından sektöre faydalı olacağı düşünülmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma TAGEM/HSGYAD/13/A05/P02/38 nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Desteklerinden ötürü Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Hayvan Sağlığı ve Gıda-Yem Daire Başkanlığı' na teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Putzbach K, Rimmer CA, Sharpless KE, Sander LC. 2007. Determination of Bitter Orange alkaloids in dietary supplements standard reference materials by liquid chromatography with ultraviolet absorbance and fluorescence detection. *J Chromatogr A*, 1156: 304-311.
2. Lota ML, De Rocca Serra D, Jacquemond C, Tomi F, Casanova J. 2001. Chemical variability of peel and leaf essential oils of sour orange. *Flavour Fragr J*, 16: 89-96.
3. Ersus S, Çam M. 2007. Determination of Organic Acids, Total Phenolic Content, And Antioxidant Capacity of Sour Citrus aurantium Fruits. *Chem Nat Compd*, 43(5): 605-609.
4. Penzak SR, Jann MW, Cold JA, Hon YY, Desai HD, and Gurley B.J. 2001. Seville (sour) orange juice: synephrine content and cardiovascular effects in normotensive adults. *J Clin Pharmacol*, 41: 1059-1063.
5. Binello A, Robaldo B, Barge A, Cavalli R, Cravotto G. 2008. Synthesis of cyclodextrin-based polymers and their use as debittering agents. *J Appl Polym Sci*, 107(4): 2549-2557.
6. Hsu W-J, Berhow M, Robertson GH, Hasegawa S. 1998. Limonoids and Flavonoids in Juices of Oroblanco and Melogold Grapefruit Hybrids. *J Food Sci*, 63 (1): 57-60.
7. Breksa III AP, Kahn T, Zukas AA, Hidalgo MB, Yuen ML. 2011. Limonoid content of sour orange varieties. *J Sci Food Agric*, 91: 1789-1794.
8. Shaw PE, Tatum JH, Wilson CW. 1984. Improved flavor of Navel orange and grapefruit juices by removal of bitter components with p-cyclodextrin polymer. *J Agric Food Chem*, 32: 832-836.
9. Kimball DA. 1987. Debittering of citrus juices using supercritical carbon dioxide. *J Food Sci*, 52(2): 481-482.

10. Puri A. 1990. Removal of bitter compounds from citrus products by adsorption techniques. In: *Bitterness in Foods and Beverages*, Rouseff RL (Chief Ed.), Elsevier Science Ltd, 1 edition, UK, pp. 325-336
11. Prakash S, Singhal RS, Kurkarni PR. 2002. Enzymic debittering of Indian grapefruit juice. *J Sci Food Agric*, 82: 394-397.
12. Altan A.1983. Turunçgil Sularında Acılık Ögesi Olarak Naringin. *Gıda*, 8(1): 29-32.
13. Castillo J, Benavente O, del Rio JA. 1992. Naringin and Neohesperidin Levels during Development of Leaves, Flower Buds, and Fruits of Citrus aurantium. *Plant Physiol*, 99: 67-73.
14. Aksay S, Ünal MÜ. 2002. Turunçgil Sularında Acılık Etmenleri Ve Giderilmesinde Kullanılan Yöntemler. *Gıda*, 27 (6): 481-488.
15. Sawalha SMS, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2009. Quantification of main phenolic compounds in sweet and bitter orange peel using CE-MS/MS. *Food Chem*, 116: 567-574.
16. Bocco A, Cuvelier ME, Richard H, Berset C.1998. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts. *J Agric Food Chem*, 46: 2123-2129.
17. Nogata Y, Sakamoto K, Shiratsuchi H, Ishii T, Yano M, Ohta H. 2006. Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species. *Biosci Biotech Biochem*, 70 (1): 178-192.
18. Kim DO, Padilla-Zakour OI. 2004. Jam processing effect on total phenolics and antioxidant activity capacity in anthocyanin-rich fruits: Cherry, plum, and raspberry, sensory and nutritive qualities of food. *J Food Sci*. 69: 395-400.
19. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299: 152-178.
20. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*, 64: 555-559.
21. Escobedo-Avellaneda Z, Gutiérrez-Urbe J, Valdez-Fragoso A, Antonio Torres J, Welti-Chanes J. 2014. Phytochemicals and antioxidant activity of juice, flavedo, albedo and comminuted orange. *J Funct Foods*, 6: 470-481.
22. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA, 2009. Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid Contents of 13 Citrus Species Peels And Tissues. Pak. *J Pharm Sci*, 22 (3): 277-281.
23. Braddock RJ. 1999. Handbook of Citrus by-Products and Processing Technology. John Wiley and Sons, Inc., New York, 247 p.
24. Ramful D, Bahorun T, Bourdon E, Tarnus E, Aruoma OI. 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicol*, 278: 75-87.
25. Naczka M, Shahidi F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*, 1054 (1-2): 95-111.
26. Yoshikawa H, Ogawa A, Fukuhara K, Kondo S. 2006. Antioxidant activity of tropical fruit jam and marmalade processed with different combinations of peel and flesh in Citrus fruit. *Int J Food Agric Environ*, 4(2): 78-84.
27. Şahin R. 2006. Düşük Kalorili Greyfurt Kabuğu Reçeli Eldesinde Bazı Katkı Maddelerinin Kaliteye Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 83 s.
28. Vibhakara HS, Bawa AS. 2006. Manufacturing Jams and Jellies. In: *Handbook of Fruits and Fruit Processing*, Hui YH (Chief Ed.), pp. 189-204.
29. Sağlam F. 2007. Antosiyanince zengin dut, kiraz ve gilaburu meyvelerinin fenolikler ve antioksidan kapasitesi üzerine reçel yapım işleminin etkisi. Yüksek lisans tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya. 43 s.
30. Kalia A, Gupta RP. 2006. Fruit Microbiology. In: *Handbook of Fruits and Fruits Processing*, Hui YH (Chief Ed.), pp.189-204.
31. Igual M, García-Martínez E, Camacho MM, Martínez-Navarrete N. 2013. Jam processing and storage effects on  $\beta$ -carotene and flavonoids content in grapefruit. *J Funct Foods*, 5 (2): 736-744.
32. Patras A, Brunton, NP, Tiwari BK, Butler F. 2011. Stability and degradation kinetics of bioactive compounds and color in strawberry jam during storage. *Food Bioprocess Technol*, 4: 1245-1252.

## SUCUKTAN İZOLE EDİLEN KOAGÜLAZ-NEGATİF *STAPHYLOCOCCUS* VE *MACROCOCCUS CASEOLYTICUS* SUŞLARINDA ENTEROTOKSİN GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI\*

Hasan Çetin, Yasin Tuncer\*\*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

Geliş tarihi / Received: 05.11.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 04.01.2016

Kabul tarihi / Accepted: 05.01.2016

### Özet

Bu çalışmanın amacı, starter kültür kullanılmadan üretilen geleneksel fermente Türk sucuklarından izole edilen 51 koagülaz-negatif *Staphylococcus* (KNS) ve 10 *Macrocooccus caseolyticus* suşlarında enterotoksin yapısal genlerinin varlığının araştırılmasıdır. Bu amaçla, toplam 61 sucuk izolatında 18 enterotoksin yapısal geninin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr* ve *tst1*) varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı. PZR denemeleri sonucu izolatların hiçbirinin enterotoksin yapısal geni içermediği tespit edildi. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar sucuktan izole edilen KNS ve *M. caseolyticus* suşlarının enterotoksin üretimi bakımından güvenilir olduklarını gösterdi.

**Anahtar kelimeler:** Enterotoksin genleri, koagülaz-negatif *Staphylococcus*, *Macrocooccus caseolyticus*, sucuk, multiplaks-PZR

## INVESTIGATION OF ENTEROTOXIN GENES IN COAGULASE-NEGATIVE *STAPHYLOCOCCUS* AND *MACROCOCCUS CASEOLYTICUS* STRAINS FROM TURKISH DRY FERMENTED SAUSAGE (SUCUK)

### Abstract

The aim of this study was to investigate the presence of enterotoxin structural genes in 51 coagulase-negative *Staphylococcus* (CNS) and 10 *Macrocooccus caseolyticus* strains isolated from traditional fermented Turkish sausages (sucuk) produced without using starter culture. For this purpose, the presence of 18 enterotoxin structural genes (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr* and *tst1*) were researched by polymerase chain reaction (PCR) in a total of 61 isolates from sucuk. The PCR results indicated that none of the isolates has contained enterotoxin structural gene. The results of this study showed that CNS and *M. caseolyticus* strains isolated from sucuk were safe in terms of enterotoxin production.

**Keywords:** Enterotoxin genes, coagulase-negative *Staphylococcus*, *Macrocooccus caseolyticus*, Turkish dry fermented sausage (sucuk), multiplex-PCR

\* Bu çalışma 15<sup>th</sup> International Nutrition & Diagnostics Conference Prag/Çek Cumhuriyeti'nde poster olarak sunulmuş ve kongre kitabında özet olarak basılmıştır. *This study was presented as a poster at the 15<sup>th</sup> International Nutrition & Diagnostics Conference in Prague, Czech Republic, and it was published as an abstract in the book of proceedings.*

\*\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yasintuncer@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1713,

☎ (+90) 246 237 0437



## GİRİŞ

Sucuk sığır, koyun ve/veya manda eti karışımına sığır yağı ve/veya koyun kuyruk yağı, tuz, şeker, nitrit/nitrat ve sarımsak, karabiber, kırmızıbiber, kimyon ve yenibahar gibi çeşitli baharatlar ilave edilerek üretilen bir et ürünüdür (1, 2). Türkiye’de üretilen et ürünleri arasında popüler bir ürün olan sucuk sadece Türkiye’de değil aynı zamanda birçok Orta Asya, Orta Doğu, Güneydoğu Avrupa ve Kuzey Avrupa ülkelerinde de oldukça popülerdir (2). Geleneksel sucuk üretiminde, hazırlanan sucuk hamuru özel kılıflara doldurulduktan sonra sucuk kangalları tipik duysal karakteristiğinin gelişmesi için fermente edilir ve olgunlaştırılır (3).

Yapılan çalışmalar fermente et ürünlerinin kendilerine has karakteristik tat, aroma ve tekstürünün oluşmasında rol oynayan temel bakteri gruplarının laktik asit bakterileri (LAB) ve KNS’ların olduğunu göstermiştir (4). Gram-pozitif, katalaz-pozitif, koagülaz-negatif koklar geleneksel yöntemlerle üretilen doğal fermente et ürünlerinden sıklıkla izole edilmektedirler. Geçmiş yıllarda yapılan çeşitli çalışmalar ile fermente sosislerden KNS (5-16) ve *M. caseolyticus* (16-18) suşlarının izole edildiği bildirilmiştir. Bu bakteriler sucuk fermantasyonu sırasında nitratı nitrite indirgeyerek renk oluşumunda ve stabilizasyonunda görev almalarının yanı sıra, lipolitik ve proteolitik aktiviteleri sonucu peptit, amino asit, aldehit, amin ve serbest yağ asitleri gibi düşük molekül ağırlıklı bileşenleri oluşturarak ürüne has tekstür ve karakteristik tat ve aromanın oluşmasında da etkin rol oynamaktadırlar. Bunların yanı sıra, et fermantasyonlarında aktif rol oynayan diğer bir bakteri grubu olan LAB’nin ürettiği bir metabolit ve okside edici ajan olan hidrojen peroksiti, ürettikleri katalaz enzimi ile parçalayarak ürünün aromasının, renginin ve raf ömrünün korunmasını da sağlamaktadırlar (19, 20).

KNS’ların fermente et ürünlerinde oynadıkları bu önemli rolün yanı sıra, çeşitli kaynaklardan izole edilen bazı üyelerinin enterotoksin üreterek tüketici sağlığı açısından risk oluşturdukları da yapılan çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (21-23). Günümüze kadar yapılan çeşitli çalışmalar, *Staphylococcus aureus*’un emetik aktivite gösteren stafilokokal enterotoksinler (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SER, SES ve SET) ve primat modellerde emetik aktivite göstermeyen (SEIL ve SEIQ) veya henüz primat modellerde test edilmeyen

(SEIJ, SEIK, SELM, SELN, SEIO, SEIP, SEIU, SEIU2 ve SEIV) stafilokokal benzeri proteinler gibi çeşitli toksinler ürettiğini göstermiştir. Ayrıca, *S. aureus*’un başlangıçta SEF olarak isimlendirilen emetik aktivite göstermeyen toksik şok stafilokokal toksini (TSST-1) de ürettiği tespit edilmiştir (24).

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinden temin edilen starter kültür kullanılmadan üretilen doğal fermente sucuk örneklerinden izole edilen ve 16S rDNA dizi analizi ile moleküler düzeyde tanımlanan 51 KNS ve 10 *M. caseolyticus* suşlarında 18 enterotoksin yapısal geninin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr* ve *tst1*) varlığının PZR ile araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışma, sucuktan izole edilen *M. caseolyticus* suşlarında enterotoksin yapısal genlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Mikroorganizmalar

Çalışma kapsamında kullanılan 51 KNS ve 10 *M. caseolyticus* suşu Geniş (25) tarafından Afyonkarahisar ilinden temin edilen starter kültür kullanılmadan üretilen fermente sucuk örneklerinden izole edilmiş ve 16S rDNA dizi analizi ile tür düzeyinde tanısı yapılmıştır. Genomik DNA’da spesifik bölgeler pA (ileri) 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3' ve pE' (geri) 5'- CCG TCA ATT CCT TTG AGT TT-3' genel 16S rDNA bakteri primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. PZR ürünlerinin DNA dizi analizi REFGEN Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Limited Şirketine (ODTÜ, Teknokent, Ankara) yaptırılmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri türleri ve sayıları Çizelge 1’de verilmiştir. KNS ve *M. caseolyticus* suşları Triptone Soy Broth (TSB, Lab M, Ltd., Bury, Lancashire, İngiltere) besiyeri ortamında 37 °C’de 18 saat inkübe edilerek geliştirilmiştir. Stok kültürler TSB besiyeri ortamına % 20 (w/w) oranında steril gliserol (Riedel-de Haën, Seelze, Almanya) ilave edilerek -32 °C’de muhafaza edilmiştir. Çalışma materyalleri ise, gliserol ilave edilmemiş TSB ortamında +4 °C’de ve haftalık transferler yapılarak saklanmıştır.

### Genomik DNA izolasyonu

Genomik DNA izolasyonu için KNS ve *M. caseolyticus* suşları TSB besiyerinde 37 °C’de 18 saat süreyle geliştirilmiştir. Suşlardan genomik DNA izolasyonu Cancilla ve ark. (26) tarafından önerilen yöntemle yapılmıştır. Genomik DNA örneğinin elektroforezi % 0.7 agaroz oranı



Çizelge 1. Çalışmada kullanılan bakteri türleri  
Table 1. Bacterial species used in this study

Bakteri türleri Bacterial species	Adet Count
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	21
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16
<i>Macroccoccus caseolyticus</i>	10
<i>Staphylococcus xylosus</i>	4
<i>Staphylococcus sciuri</i>	3
<i>Staphylococcus hominis</i>	2
<i>Staphylococcus warneri</i>	2
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	1

ile hazırlanan jelde 85 voltta 1.5-2.0 saat süreyle yapılmıştır. Elektroforez sonrası jel 0.2 µg/mL etidyum bromit içeren çözeltide 45 dakika boyanmıştır. Boyama işleminin sonunda jel fotoğrafı Nikon D-5100 dijital fotoğraf makinesi (Nikon Co., Japonya) kullanılarak çekilmiştir.

#### KNS ve *M. caseolyticus* suşlarında enterotoksin genlerinin PZR ile araştırılması

KNS ve *M. caseolyticus* suşlarında enterotoksin genlerinin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr* ve *tst1*) varlığı Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo #F-548L, Litvanya) kullanılarak multipleks-PZR yöntemi ile araştırılmıştır. Multipleks-PZR işlemi Techne TC3000 (Cambridge, İngiltere) termal döngü cihazında toplam 20 µL PZR karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enterotoksin genlerinin varlığının tespitinde kullanılan spesifik primerler ve ürün büyüklükleri Çizelge 2'de verilmiştir. Multipleks-PZR denemelerinde 4 takım primer (Takım 1: *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*; Takım 2: *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selp*; Takım 3: *selk*, *selm*, *selo*, *tst-1*; Takım 4: *sell*, *seln*, *selq*, *selr*) karışımı kullanılmıştır. Primer takımları her bir primerden 2 µM konsantrasyonda içerecek şekilde hazırlanmıştır. Denemelerde; 1 döngü 94 °C'de 120 saniye başlangıç denatürasyonu, 35 döngü 95 °C'de 30 saniye / 57 °C'de 90 saniye / 72 °C'de 90 saniye çoğaltma ve 1 döngü 72 °C'de 10 dakika son uzama aşamalarından oluşan PZR protokolü uygulanmıştır (27). Denemelerde *S. aureus* ATCC25923 suşu (*seg*<sup>+</sup> ve *sei*<sup>+</sup>) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Multipleks-PZR denemeleri sonucu zayıf PZR bandı verdiği tespit edilen örnekler kontrol amacıyla aynı primerler kullanılarak tekli PZR uygulanmıştır. Enterotoksin genlerinin tekli PZR ile çoğaltılmasında PCR Master Mix (Thermo

#K0172, Litvanya) kullanılmıştır. PZR denemelerinde; 1 döngü 94 °C'de 120 saniye başlangıç denatürasyonu, 30 döngü 94 °C'de 30 saniye / 55 °C'de 30 saniye / 72 °C'de 60 saniye çoğaltma ve 1 döngü 72 °C'de 10 dakika son uzama aşamalarından oluşan protokol uygulanmıştır (27).

Çoğaltılan enterotoksin genlerinin PZR fragmentlerinin agaroz jel elektroforezi Thermo OWL EASYCAST B2 cihazında % 2 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jellerde yapılmıştır. Multipleks-PZR ürünlerine 2'şer µL yükleme boyası (Orange DNA Loading Dye, Thermo #R0631, Litvanya) ilave edilmiştir. Daha sonra, hazırlanan örneklerden 15'er µL jel kuyucuklarına yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 85 voltta 1.5-2.0 saat süreyle yapılmıştır. Jeller 0.2 µg/mL konsantrasyonda etidyum bromit içeren boyama çözeltisinde 45 dakika boyanmıştır. Fragment büyüklükleri O'GeneRuler™ 100 bp Plus DNA marker (Fermentas #SM1153, Litvanya) kullanılarak hesaplanmıştır. Jel fotoğraflarının çekiminde Nikon D-5100 dijital fotoğraf makinesi (Nikon Co., Japonya) kullanılmıştır.

#### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada kullanılan 51 KNS ve 10 *M. caseolyticus* suşlarından izole edilen genomik DNA örneklerinin varlığı agaroz jel elektroforez yöntemi ile kontrol edilmiştir. Bazı KNS ve *M. caseolyticus* suşlarının genomik DNA örneklerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.

Çalışma kapsamında, starter kültür kullanılmadan üretilen doğal fermente sucuk örneklerinden izole edilen 51 KNS ve 10 *M. caseolyticus* suşlarında 18 enterotoksin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr* ve *tst1*) yapısal geninin varlığı 4 takım primer karışımı kullanılarak multipleks-PZR yöntemi ile araştırılmıştır. Multipleks-PZR denemeleri sonucu zayıf PZR bandı verdiği tespit edilen örnekler kontrol amacıyla aynı primerler kullanılarak tekli PZR uygulanmıştır. Multipleks-PZR (Şekil 2) ve tekli PZR denemeleri sonucu KNS ve *M. caseolyticus* suşlarından hiçbirinde enterotoksin yapısal geninin varlığı tespit edilmemiştir.

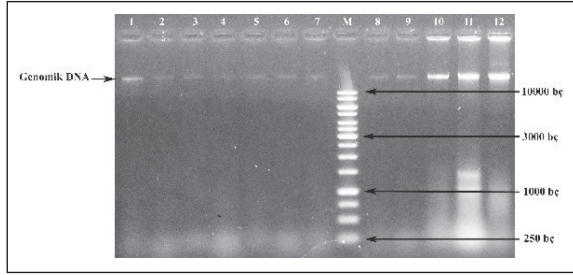
Enterotoksijenik stafilokoklara en fazla kırmızı et, kanatlı eti, balıketi ve ürünleri ile süt ve ürünleri gibi proteince zengin hayvansal kaynaklı gıdalarda rastlanılmaktadır (28). Bu nedenden dolayı proteince zengin bir gıda olan sucuktan izole edilen KNS'lerin enterotoksin üretim özelliklerinin

Çizelge 2. Enterotoksin genlerinin tespitinde kullanılan PZR primerleri, ürün büyüklükleri ve primer takımları  
Table 2. PCR primers, product sizes and primer sets for detection of enterotoxin genes

Gen Gene	Primer Primer	Primer sekansları (5' - 3') Primer sequences (5' - 3')	Ürün büyüklüğü (bp) Product size (bp)	PZR takımı PCR set
<i>sea</i>	SEA-3	CCTTTGGAAACGGTTAAAACG	127	1
	SEA-4	TCTGAACCTTCCCATCAAAAAC		
<i>seb</i>	SEB-1	TCGCATCAAACCTGACAAAACG	477	1
	SEB-4	GCAGGTAAGTCTATAAAGTGCCTGC		
<i>sec</i>	SEC-3	CTCAAGAACTAGACATAAAAGCTAGG	271	1
	SEC-4	TCAAAATCGGATTAACATTATCC		
<i>sed</i>	SED-3	CTAGTTTGGTAATATCTCCTTTAAACG	319	1
	SED-4	TTAATGCTATATCTTATAGGGTAAACATC		
<i>see</i>	SEE-3	CAGTACCTATAGATAAAGTTAAAACAAGC	178	1
	SEE-2	TAACCTACCGTGGACCCTTC		
<i>seg</i>	SEG-1	AAGTAGACATTTTTGGCGTTCC	287	2
	SEG-2	AGAACCATCAAACCTCGTATAGC		
<i>seh</i>	SEH-1	GTCTATATGGAGGTACAACACT	213	2
	SEH-2	GACCTTTACTTATTTGCTGTC		
<i>sei</i>	SEI-1	GGTGATATTGGTGTAGGTAAC	454	2
	SEI-2	ATCCATATTCTTGCCTTTACCAG		
<i>sej</i>	SEJ-1	ATAGCATCAGAACTGTTGTTCCG	152	2
	SEJ-2	CTTTCTGAATTTTACCACCAAAGG		
<i>selp</i>	SEP-3	TGATTTATTAGTAGACCTTGG	396	2
	SEP-4	ATAACCAACCGAATCACCAG		
<i>selk</i>	SEK-1	TAGGTGTCTCTAATAATGCCA	293	3
	SEK-2	TAGATATTGTTAGTAGCTG		
<i>selm</i>	SEM-1	GGATAATTCGACAGTAACAG	379	3
	SEM-2	TCCTGCATTAATCCAGAAC		
<i>selo</i>	SEO-1	TGTGTAAGAAGTCAAGTGATG	214	3
	SEO-2	TCTTTAGAAATCGCTGATGA		
<i>tst1</i>	TST-3	AAGCCCTTTGTTGCTTGCG	447	3
	TST-6	ATCGAACTTTGGCCATACTTT		
<i>sell</i>	SEL-1	TAACGGCGATGTAGGTCCAGG	383	4
	SEL-2	CATCTATTTCTTGTGCGGTAAC		
<i>seln</i>	SEN-1	TATGTTAATGCTGAAGTAGAC	282	4
	SEN-2	ATTTCCAAAATACAGTCCATA		
<i>selq</i>	SEQ-1	AATCTCTGGGTCAATGGTAAGC	122	4
	SEQ-2	TTGTATTGTTTTGTAGGTATTTTCG		
<i>selr</i>	SER-1	GGATAAAGCGGTAATAGCAG	166	4
	SER-4	GTATTCCAAACACATCTAAC		

araştırılması tüketici sağlığı açısından mevcut riskin ortaya konulması adına önem arz etmektedir. Çalışma kapsamında 18 enterotoksin geninin varlığının araştırıldığı KNS ve *M. caseolyticus* suşlarının hiçbirinde enterotoksin yapısal geninin tespit edilmemiş olması bir avantajdır. Son yıllarda hem PZR hem de PZR ve/veya DNA mikroarray teknolojisi kullanılarak yapılan çalışmalarda da et ürünleri, süt ve peynirlerden izole edilen KNS'larda stafilokokal enterotoksin genlerinin nadiren bulunduğu gösterilmiştir (29-33). Farklı araştırmacılar tarafından gıda kaynaklı KNS'lerin enterotoksin üretim özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar bu

çalışmadan elde edilen bulguları desteklemektedir. Rosec ve ark. (29), farklı gıdalardan izole ettikleri 51 KNS suşunun hiçbirinin enterotoksin SEA, SEB, SEC, SED ve SEE üretmediğini bildirmişlerdir. Blaiotta ve ark. (30) et ve süt ürünlerinden izole ettikleri KNS (84 adet) ve *M. caseolyticus* (2 adet) suşlarının hiçbirinin *seA*, *seB*, *seC*, *seD*, *seE*, *seG*, *sbe*, *seI*, *seJ*, *seM*, *seN*, *seO* ve *tst1* genlerini içermediğini rapor etmişlerdir. Even ve ark. (31), peynir ve kuru fermente sosislerden izole ettikleri 129 KNS suşundan sadece 1 adedinin (*S. saprophyticus*) *sec* geni içerdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda



Şekil 1. Bazı KNS ve *M. caseolyticus* Suşlarının Genomik DNA Örnekleri

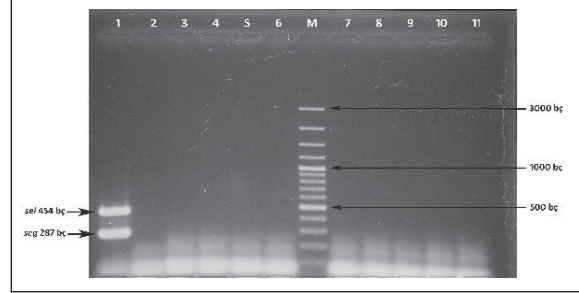
1: *S. saprophyticus* BYS1; 2: *S. saprophyticus* BYS2; 3: *S. saprophyticus* BYS4; 4: *M. caseolyticus* BYS5; 5: *S. saprophyticus* BYS7; 6: *S. saprophyticus* BYS8; 7: *S. cohnii* BYS9; M: O'GeneRuler™ 1 kb DNA marker (Fermentas, #SM1163, Litvanya); 8: *S. sciuri* BYS10; 9: *S. saprophyticus* BYS11; 10: *S. vitulinus* BYS12; 11: *S. saprophyticus* BYS13; 12: *S. xylosus* BYS14

Figure 1. Genomic DNA Samples of Some CNS and *M. caseolyticus* Strains

1: *S. saprophyticus* BYS1; 2: *S. saprophyticus* BYS2; 3: *S. saprophyticus* BYS4; 4: *M. caseolyticus* BYS5; 5: *S. saprophyticus* BYS7; 6: *S. saprophyticus* BYS8; 7: *S. cohnii* BYS9; M: O'GeneRuler™ 1 kb DNA ladder (Fermentas, #SM1163, Lithuania); 8: *S. sciuri* BYS10; 9: *S. saprophyticus* BYS11; 10: *S. vitulinus* BYS12; 11: *S. saprophyticus* BYS13; 12: *S. xylosus* BYS14

gıda kaynaklı KNS suşlarının stafilokokal enterotoksin üretimi açısından düşük risk içerdiğini bildirmişlerdir. Seitter ve ark. (32) tarafından yapılan çalışmada, *S. equorum*, *S. xylosus* ve *S. carnosus* türlerini içeren 32 KNS suşunun hiçbirinin stafilokokal enterotoksin geni içermediği tespit edilmiştir. Benzer olarak, iki farklı geleneksel Hırvat fermente sosisinden izole edilen 39 KNS suşunda 13 enterotoksin geninin (*sea*, *seb*, *sec*, *seg*, *sei*, *tst1*, *sed*, *see*, *seh*, *sej*, *sem*, *sen* ve *seo*) varlığının PZR ile araştırıldığı bir çalışmada suşların hiçbirinin enterotoksin geni içermediği tespit edilmiştir (33).

Bu çalışmada elde edilen bulguların aksine, farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda çeşitli gıdalardan ve gıda üretiminde çalışan işçilerin ellerinden izole edilen bazı KNS türlerinin stafilokokal enterotoksin genlerine sahip olduğu gösterilmiştir (34-42). Vernozy-Rozand ve ark. (34), süt ürünlerinden izole ettikleri *S. xylosus*, *S. equorum*, *S. capitis*, *S. lentus* ve *S. gallinarum* türlerinin Rodriguez ve ark. (35) ise, etten izole ettikleri *S. xylosus* ve *S. cohnii* türlerinin enterotoksin geni içerdiğini tespit etmişlerdir. Udo ve ark. (36), gıda üretiminde çalışan işçilerin ellerinden stafilokokal enterotoksin ve/veya TSST1 geni içeren *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. xylosus*, *S. warneri* ve



Şekil 2. KNS ve *M. caseolyticus* Suşlarında Takım 2 (*seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selp*) Primer Karışımı Kullanılarak Yapılan Multipleks-PZR Denemesi

1: pozitif kontrol (*S. aureus* ATCC25923 *seg*<sup>+</sup> ve *sei*<sup>+</sup>); 2: negatif kontrol (su); 3: *S. saprophyticus* BYS1; 4: *S. saprophyticus* BYS2; 5: *S. saprophyticus* BYS4; 6: *M. caseolyticus* BYS5; M: O'GeneRuler™ 100 bp Plus DNA marker (Fermentas); 7: *S. saprophyticus* BYS7; 8: *S. saprophyticus* BYS8; 9: *S. cohnii* BYS9; 10: *S. sciuri* BYS10; 11: *S. saprophyticus* BYS11

Figure 2. Multiplex-PCR Assay in CNS and *M. caseolyticus* Strains Used Set 2 (*seg*, *seh*, *sei*, *selj*, *selp*) Primer Mix

1: positive control (*S. aureus* ATCC25923 *seg*<sup>+</sup> and *sei*<sup>+</sup>); 2: negative control (water); 3: *S. saprophyticus* BYS1; 4: *S. saprophyticus* BYS2; 5: *S. saprophyticus* BYS4; 6: *M. caseolyticus* BYS5; M: O'GeneRuler™ 100 bp Plus DNA ladder (Fermentas); 7: *S. saprophyticus* BYS7; 8: *S. saprophyticus* BYS8; 9: *S. cohnii* BYS9; 10: *S. sciuri* BYS10; 11: *S. saprophyticus* BYS11

*S. schleiferi* gibi KNS suşları izole ettiklerini bildirmişlerdir. Cunha ve ark. (37), Brezilya'nın Botucatu şehrinde bulunan market ve şarküterilerden topladıkları farklı gıda örneklerinden izole edip biyokimyasal yöntemlerle tür düzeyinde tanısını yaptıkları 20 KNS suşunda enterotoksin genlerinin varlığını araştırdıkları çalışmalarında, izole ettikleri suşlardan 4 adedinin enterotoksin geni içerdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar 3 suşun *sea* geni, 1 suşun ise *sec* geni içerdiğini bildirmişlerdir. Ters pasif lateks aglutinasyon yöntemi ile enterotoksin üretimi araştırılmış ancak enterotoksin geni içerdiği tespit edilen 4 suştan hiçbirinin enterotoksin üretmediği belirlenmiştir. Rall ve ark. (38) tarafından yapılan bir çalışmada, Brezilya'da üretilen Minas peynirinden izole edilen 65 KNS suşunun % 26.2' sinin enterotoksin geni içerdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada, % 18.5 ile en sık rastlanan genin *sea* geni olduğu tespit edilmiştir. *sea* genini sırasıyla % 4.6 bulunma sıklığı ile *sec* ve % 3.1 ile *seb* genleri izlenmektedir. Ancak, enterotoksin geni içerdiği tespit edilen suşların hiçbirinin *in vitro* koşullarda enterotoksin üretmediği belirlenmiştir. Guimarães ve ark. (39), mastitis test sonuçları pozitif olan sütlerden izole ettikleri 128 KNS suşundan 85 adedinin (% 66) enterotoksin geni içerdiğini

rapor etmişlerdir. İzolatlarda *sea*, *seb* ve *sec* genlerinin daha yüksek sıklıkla bulunduğu saptanmıştır. Piechota ve ark. (40), mastitisli ve mastitissiz inek sütlerinden ve ahır ortamından izole ettikleri 185 *Staphylococcus* izolatının 22 adedinin (% 13) KNS olduğunu ve bu izolatların % 68'inde *sec*, % 18'inde *seb* ve *sed*, % 13.6'sında *see* ve % 4.5'inde *sea* geni bulunduğunu bildirmişlerdir. Aye ve ark. (41), 385 gıda örneğinden 62 (% 16) *Staphylococcus* suşu izole etmişlerdir. İzole edilen bu 62 suşun 49'u (% 79) koagülaz-negatif olarak tanımlanmış ve sadece çilekten izole edilen *S. lugdunensis* suşuna ait pozitif *sec* geni tespit edilmiştir. Bertelloni ve ark. (42), Tuscan, İtalya'da bulunan 3 çiftliğin süt toplama tanklarından tedarik ettikleri 120 süt örneğinden izole ettikleri 74 KNS izolatında *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* ve *tst-1* genlerinin varlığını araştırdıkları çalışmalarında, izolatların 40 adedinin (% 54.1) en az bir enterotoksin geni içerdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar 25 izolatın sadece bir enterotoksin geni, 15 izolatın ise 2 veya daha fazla sayıda enterotoksin geni içerdiğini rapor etmişlerdir. İzolatların hiçbirinde *seb* ve *sed* genleri tespit edilmemiştir. Enterotoksin genleri arasında en sık rastlanan genin *sea* geni olduğu, bunu *sec-1* geninin izlediği belirtilmiştir. 74 izolatın 31 adedinin *sea* geni, 19 adedinin ise *sec-1* geni içerdiğini saptamışlardır.

## SONUÇ

Bu çalışmada, starter kültür kullanılmadan üretilen fermente sucuk örneklerinden izole edilen 51 KNS ve 10 *M. caseolyticus* suşlarında 18 enterotoksin yapısal geninin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seb*, *sei*, *selj*, *selk*, *sell*, *selm*, *seln*, *selo*, *selp*, *selq*, *selr* ve *tst1*) varlığı PZR ile araştırılmış ve suşlardan hiçbirinin enterotoksin geni içermediği tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, sucuktan izole edilen KNS ve *M. caseolyticus* suşlarının enterotoksin üretimi bakımından güvenilir olduklarını göstermiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hasan Çetin'in yüksek lisans tezinden alınmış ve 4148-YL1-14 nolu proje ile Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Kaban G. 2010. Volatile compounds of traditional Turkish dry fermented sausage (sucuk). *Int J Food Prop*, 13: 525-534.
2. Ercoşkun H, Özkal SG. 2011. Kinetics of traditional Turkish sausage quality aspects during fermentation. *Food Control*, 22: 165-172.
3. Kaban G. 2013. Sucuk and pastırma: microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Sci*, 95: 912-918.
4. Talon R, Leroy S. 2011. Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentations. *Meat Sci*, 89: 303-309.
5. Mauriello G, Casaburi A, Blainotta G, Villani F. 2004. Isolation and technological properties of coagulase-negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. *Meat Sci*, 67: 149-158.
6. Kaban G, Kaya M. 2008. Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk). *J Food Sci*, 73: 385-388.
7. Kozacinski L, Drosinos E, Caklovica F, Cocolin L, Gasparik-Reichhardt J, Veskovc S. 2008. Investigation of microbial association of traditionally fermented sausages. *Food Technol Biotechnol*, 46: 93-106.
8. Resch M, Nagel V, Hertel C. 2008. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. *Int J Food Microbiol*, 127: 99-104.
9. Bonomo MG, Ricciardi A, Zotta T, Sico MA, Salzano G. 2009. Technological and safety characterization of coagulase-negative staphylococci from traditionally fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy). *Meat Sci*, 83: 15-23.
10. Coton E, Desmots M-H, Leroy S, Coton M, Jamet E, Christieans S, Donnio P-Y, Lebert I, Talon R. 2010. Biodiversity of coagulase-negative staphylococci in French cheeses, dry fermented sausages, processing environments and clinical samples. *Int J Food Microbiol*, 137: 221-229.
11. Marty E, Bodenmann C, Buchs J, Hadorn R, Eugster-Meier E, Lacroix C, Meile L. 2012a. Prevalence of antibiotic resistance in coagulase-negative *Staphylococcus* from spontaneously fermented meat products and safety assesment for new starters. *Int J Food Microbiol*, 159: 74-83.
12. Marty E, Buchs J, Eugster-Meier E, Lacroix C, Meile L. 2012b. Identification of staphylococci and dominant lactic acid bacteria in spontaneously fermented Swiss meat products using PCR-RFLP. *Food Microbiol*, 29: 157-166.



13. Cachaldora A, Fonseca S, Franco I, Carballo J. 2013. Technological and safety characterization of Staphylococcaceae isolated from Spanish traditional dry-cured sausages. *Food Microbiol*, 33: 61-68.
14. Landeta G, Curiel JA, Carrascosa AV, Munoz R, De Las Rivas B. 2013. Characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from Spanish dry cured meat products. *Meat Sci*, 93: 387-396.
15. Zdolec N, Dobranic V, Zdolec G, Duricic D. 2013. Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci and lactic acid bacteria from industrially produced dairy products. *Mljekarstvo*, 63: 30-35.
16. Kesmen Z, Yarimcam B, Aslan H, Yetim H. 2014. Application of different molecular techniques for characterization of catalase-positive cocci isolated from sucuk. *J Food Sci*, 79: 222-228.
17. Lacumin L, Manzano M, Comi G. 2012. Catalase-positive cocci in fermented sausage: variability due to different pork breeds, breeding systems and sausage production technology. *Food Microbiol*, 29: 178-186.
18. Busconi M, Zacconi C, Scolari G. 2014. Bacterial ecology of PDO Coppa and Pancetta Piacentina at the end of ripening and after MAP storage of sliced product. *Int J Food Microbiol*, 172: 13-20.
19. Hammes WP, Knauf HJ. 1994. Starters in the processing of meat products. *Meat Sci*, 36: 155-168.
20. Rantsiou K, Cocolin L. 2006. New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages determined by molecular methods: a review. *Int J Food Microbiol*, 39: 123-128.
21. Carmo LSD, Cummings C, Linardi VR, Dias RS, Souza JMD, Sena MJD, Santos DAD, Shupp JW, Pereira SRK, Jett M. 2004. A case study of massive staphylococcal food poisoning incident. *Foodborne Pathog Dis*, 1: 241-246.
22. Veras JF, Carmo LS, Tong LC, Shupp JW, Cummings C, Santos DA, Cerqueira MMOP, Cantini A, Nicoli JR, Jett M. 2008. A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais Brazil. *Int J Infect Dis*, 12: 410-415.
23. Zell C, Resch M, Rosenstein R, Albrecht T, Hertel C, Götz F. 2008. Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. *Int J Food Microbiol*, 127: 246-251.
24. Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR. 2010. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2: 1751-1773.
25. Geniş B. 2015. Fermente sucuktan izole edilen koagülaz-negatif *Staphylococcus* ve *Macroccoccus caseolyticus* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının ve dekarboksilasyon aktivitelerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 74 s.
26. Cancilla MR, Powell IB, Hillier AJ, Davidson BE. 1992. Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with <sup>32</sup>P and fluorescent labels. *Appl Environ Microbiol*, 58: 1772-1775.
27. Omoe K, Hu DL, Takahashi-Omoe H, Nakane A, Shinagawa K. 2005. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. *FEMS Microbiol Lett*, 246: 191-198.
28. Erol İ, İşeri Ö. 2004. Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51: 239-245.
29. Rosec JP, Gigaud O, Dalet C, Richard N. 1997. Enterotoxin production by staphylococci from foods in France. *Int J Food Microbiol*, 35: 213-221.
30. Blaiotta G, Pennacchia C, Villani F, Ricciardi A, Tofalo R, Parente E. 2004. Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausages. *J Appl Microbiol*, 97: 271-284.
31. Even S, Leroy S, Charlier C, Zakour NB, Chacornac JP, Lebert I, Jamet E, Desmonts MH, Coton E, Pochet S, Donnio PY, Gautier M, Talon R, Leloir Y. 2010. Low occurrence of safety hazards in coagulase-negative staphylococci isolated from fermented foodstuffs. *Int J Food Microbiol*, 139: 87-95.
32. Seitter M, Nerz C, Rosenstein R, Götz F, Hertel C. 2011. DNA microarray based detection of genes involved in safety and technologically relevant properties of food associated coagulase-negative staphylococci. *Int J Food Microbiol*, 145: 449-458.
33. Dobranic V, Zdolec N, Racic I, Vujnovic A, Zdelar-Tuk M, Filipovi I, Grgurevi N, Spicic S. 2013. Determination of enterotoxin genes in coagulase-negative staphylococci from autochthonous Croatian fermented sausages. *Vet Archiv*, 83: 145-152.



34. Vernozy-Rozand C, Mazuy C, Prevost G, Lapeyre C, Bes M, Brun Y, Fleurette J. 1996. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats' milk and cheese. *Int J Food Microbiol*, 30: 271-280.
35. Rodriguez M, Nunez F, Córdoba JJ, Bermudez E, Asensio MA. 1996. Gram positive catalase-positive cocci from dry cured Iberian ham and their enterotoxigenic potential. *Appl Environ Microbiol*, 62: 1897-1902.
36. Udo EE, Al-Bustan MA, Jacob LE, Chugh TD. 1999. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait city may be a potential cause of food poisoning. *J Med Microbiol*, 48: 819-823.
37. Cunha MLRS, Peresi E, Calsolari RAO, Júnior JPA. 2006. Detection on enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from foods. *Braz J Microbiol*, 37: 70-74.
38. Rall VLM, Sforcin JM, Augustini VCM, Watanabe MT, Fernandes AJ, Rall R, Silva MG, Júnior JPA. 2010. Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* sp. isolated from nasal cavities and hands of food handlers. *Braz J Microbiol*, 40: 1067-1073.
39. Guimarães FF, Nóbrega DB, Richini-Pereira VB, Marson PM, Pantoja JCF, Langoni H. 2013. Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. *J Dairy Sci*, 96: 2866-2872.
40. Piechota M, Kot B, Zdunek E, Mitrus J, Wicha J, Wolska MK, Sachanowicz K. 2014. Distribution of classical enterotoxin genes in staphylococci from milk of cows with- and without mastitis and the cowshed environment. *Pol J Vet Sci*, 17: 407-411.
41. Aye R, Gautam A, Reyaz A, Vinson H, Gibbs PS, Barigye R. 2014. Evaluation of selected toxigenic genes and antimicrobial agent susceptibility in *Staphylococcus* spp. isolated from foods purchased from North Dakota grocery stores. *J Food Nutr Disor*, 3(3): 1-5.
42. Bertelloni F, Fratini F, Ebani VV, Galiero A, Turchi B, Cerri D. 2015. Detection of genes encoding for enterotoxins, TSST-1 and biofilm production in coagulase-negative staphylococci from bovine bulk tank milk. *Dairy Sci & Technol*, 95: 341-352.

## GIDALARIN NEM SORPSİYON İZOTERMLERİNİN BELİRLENMESİ ve EŞİTLİKLERİNİN ÇÖZÜMÜ

Mustafa Erbaş<sup>1</sup>, Cihadiye Candal<sup>1</sup>, Özlem Kılıç<sup>1</sup>, Ceren Mutlu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

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

Geliş tarihi / Received: 20.07.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / Received in revised form: 24.11.2015

Kabul tarihi / Accepted: 17.02.2016

### Özet

Nem sorpsiyon izotermi, sabit sıcaklıkta gıdanın su içeriğinin ( $m$ ) gıdanın su aktivitesine ( $a_w$ ) karşı grafik edilmesiyle ( $m=f(a_w)_T$ ) oluşturulan ve gıdanın durumu hakkında oldukça yararlı bilgiler veren grafiklerdir. Bu nedenle gıdaların sorpsiyon izotermelerini temsil edebilmek için su aktivitesi, gıdanın nem içeriği ve suyun bağlanma enerjisi arasındaki ilişkiyi dikkate alan; *GAB*, *BET*, *Halsey*, *Henderson* gibi çok sayıda sorpsiyon eşitliği geliştirilmiştir. Bu çalışmada; sorpsiyon izotermi deneysel olarak belirlenmesi, sorpsiyon eşitlik sabitlerinin anlamları ve eşitliklerinin çözümü derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Su aktivitesi, sorpsiyon izotermi, sorpsiyon eşitlikleri, *GAB*, *BET*

## DETERMINATION and SOLUTION of MOISTURE SORPTION ISOTHERMS of FOODS

### Abstract

Moisture sorption isotherms are determined at a constant temperature by drawing a graph ( $m=f(a_w)_T$ ) of water content ( $m$ ) and water activity ( $a_w$ ) of food and they give us very useful information about condition of food. Some equations such as *GAB*, *BET*, *Halsey* and *Henderson*, considering relation among water activity, moisture content and binding energy of water, have been developed in order to symbolize sorption isotherms of food. Experimental determination of sorption isotherms, means of constants, and solving of sorption equations were reviewed in this article.

**Keywords:** Water activity, sorption isotherms, sorption equations, *GAB*, *BET*

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ cerenmutlu@akdeniz.edu.tr,

© (+90) 242 310 6575,

☎ (+90) 242 227 4564

## GİRİŞ

Su ve gıda arasındaki fizikokimyasal ilişkiyi anlamak gıdanın kalite stabilitesinin devamlılığı bakımından oldukça önemlidir (1-5). Gıdaların kalite stabiliteleri herhangi bir sıcaklıktaki denge nem içeriği ve su aktivitesi arasındaki ilişkinin bir sonucu olup, bu ilişki nem sorpsiyon izotermi olarak ifade edilmektedir (5-8). Gıdaların özellikleri üzerine, gıdanın su içeriğinden ( $m$ ; g su/100g kurumadde) ziyade su aktivitesi etkili olur. Su aktivitesi ( $a_w = P/P'$ ); gıdanın fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak gıdadaki suyun fizikokimyasal durumu hakkında bilgi veren ve su içeriğinden bağımsız olan bir büyüklük olup, gıdadaki suyun buhar basıncının ( $P$ ) aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına ( $P'$ ) oranı olarak tanımlanır (1, 9). Genel olarak su aktivitesi üzerine; gıda bileşenlerindeki su tutma özelliğine sahip aktif uçlar, suda çözünen gıda bileşenlerinin suyun koligatif özellikleri üzerine etkisi, su ile gıdanın yüzeyi arasındaki etkileşimler ve gıdanın kapiller özellikleri gibi etkenler kompleks bir şekilde etkili olmakta ve bunların toplam etkileri ancak sorpsiyon izotermi ile ölçülebilmektedir (1,7). Bu çalışmada; sorpsiyon izotermi deneyi olarak belirlenmesi, sorpsiyon eşitliklerinin çözümü, eşitlik sabitlerinin anlamı ve izotermi gıda stabilitesindeki önemi derlenmiştir.

## NEM SORPSİYON İZOTERMLERİNİN BELİRLENMESİ

Gıdaların nem sorpsiyon izotermi belirlemedeki en temel yaklaşım, gıdanın sabit sıcaklıkta farklı su aktivitesi değerine sahip kapalı ortamlar içerisinde bekletilmesi ve su buharı kazancından veya kaybından kaynaklanan ağırlık değişiminin statik veya dinamik olarak takip edilmesidir (10). Ağırlık değişimlerinin takibi; statik yöntemlerde gün veya hafta gibi uzun zaman aralıklarıyla yapılırken, dinamik yöntemlerde ise dakika gibi kısa zaman aralıklarıyla yapılır. Statik yöntemlerde örneğin içerisinde bulunduğu atmosfer sabit iken, dinamik yöntemlerde bir yük hücresi üzerinde bulunan örnek ( 5mg) üzerinden su buharı içeriği kontrol edilen bir atmosfer, sürekli bir döngü ile geçirilir (11). Dinamik yöntemler pahalı olmakla birlikte yüksek nem içeriği nedeniyle mikrobiyolojik olarak bozulma riski taşıyan örneklerin sorpsiyon özelliklerini kısa sürede belirlemeye elverişli olması nedeniyle kullanılabilir (12, 13).

## SABİT SU AKTİVİTESİ ORTAMLARININ SAĞLANMASI VE DİKKAT EDİLECEK HUSUSLAR

Sorpsiyon izotermi belirlenmesinde  $0$  ve  $1$  değerleri arasında sabit su aktivitesini temin eden çok sayıda ortama ihtiyaç duyulmaktadır. Deneysel çalışma için sabit su aktivitesi değerine sahip ortamların oluşturulmasında; asitler, alkoller ve

tuzlar gibi farklı kimyasal maddeler ve mekanik teknikler kullanılabilir (14). Sabit su aktivitesi ortamı hazırlamada, sülfürik asit (14) ve gliserolün farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılabilir (8). Ancak bu maddelerin çözeltileri ile sağlanan su aktivitesi değerleri çözeltilerin su buharı kazanım veya kaybına göre sürekli değişiklik göstermektedirler. Bu konsantrasyon değişikliklerinin de belirlenerek çözeltilerin sürekli olarak yeniden ayarlanması gerekmektedir. Ayrıca gliserolün uçuculuğa sahip olması ve polar uçları ile de gıdaya tutunabilmesi nedenleriyle izotermi belirlenmesinde hataya neden olabilmektedir. Farklı tuzların doymuş çözeltileri ile oluşturulan sabit su aktivitesi ortamları aşağıdaki konulara dikkat etmek koşuluyla en güvenilir yöntemdir. Doymuş tuz çözeltileri, analitik saflıkta tuzlar ve su kullanılarak en yüksek çalışma sıcaklığından bir miktar daha yüksek sıcaklıkta karıştırılarak hazırlanmalıdır. Tuz çözeltileri kap tabanında kristal çökelti (1-2 mm) oluşturacak şekilde ve az miktarlarda hazırlanmalıdır. Kullanılmadıkları zaman kapalı kaplarda tutulmalı ve kullanımlarından önce iyi bir şekilde karıştırılmalıdır. Bazı tuzlar (KBr, LiCl, NaNO<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) korozif ve toksik özellikleri ve bazı tuz (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltileri ise bünyelerinde fazla miktarda karbondioksit tutmaları sonucu değişken su aktivitesine sahip olmaları nedeniyle çalışmalarda tercih edilmemeli veya dikkatli olunmalıdır. Doymuş tuz çözeltilerinin su aktivitesi sıcaklık ile değişkenlik gösterir. Çünkü artan sıcaklıkla tuz daha fazla çözünür ve böylece buhar fazına geçebilecek su molekülü sayısını azaltıcı bir etki yapar. Buna karşın artan sıcaklık buhar fazına geçmeyi de teşvik eder. Bu iki etkinin karşılıklı büyüklüğüne göre tuz çözeltilerinin su aktivitesi sıcaklıkla değişir, ancak bu değişkenlik çoğunlukla su aktivitesinin azalışı yönünde gerçekleşir. Her tuz çözeltisi için her çalışma sıcaklığında su aktivitesi değeri ölçülerek veya literatürdeki doymuş tuz çözeltilerinin sıcaklık ve su aktivitesi ilişkisini gösteren eşitlikler kullanılarak su aktivitesi düzeltilmelidir.

İzotermi elde edilmesinde çalışmanın sıfıra yakın su aktivitesi değerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bunun için bir desikatörün içerisine nem çekici granül kalsiyum sülfat konularak hazırlanan ve oldukça düşük su aktivitesi değeri oluşturan (0.001) kuru desikatör yöntemi kullanılır. Neme doymuş kalsiyum sülfat 150 °C'de kurutularak yeniden kullanılabilir. Fosfor pentaoksit de iyi bir düşük su aktivitesi sağlayıcı (15) olmakla birlikte, neme veya organik çözücülere doyduğu zaman patlayıcı bir özellik kazanması nedeniyle çalışmalarda tercih edilmemelidir (16). Test edilecek örneğin miktana bağlı olarak desikatörler

veya hermetik kapaklı kavanozlar sorpsiyon ortamı olarak kullanılabilir (17). Desikatörler cam veya plastik olabilirler. Yüksek çalışma sıcaklığında (70 °C), plastiğin deforme olabileceği, metalik aksam içeren sorpsiyon ortamlarının ise yüksek su aktivitesinde pas oluşturabileceği ve bu pasın tartım hatalarına neden olabileceği dikkate alınmalıdır. Ayrıca yüksek su aktivitesi (>0.65) ve uygun sıcaklıkta mikrobiyal gelişmeye bağlı olarak örneklerde ağırlık kaybı veya kazancı olabileceği dikkate alınmalıdır. Bunu engellemek için sorpsiyon işlemine zarar vermeyecek şekilde ortamda anaerobik şartların oluşturulması veya uçucu bir antimikrobiyal ajanın (toluen vb.) (18, 19) küçük bir kap içerisinde sorpsiyon ortamına yerleştirilmesi gereklidir.

### SORPSİYON ORTAMI VE ÖRNEĞİN ÖZELLİKLERİ

İzotermlerin belirlenmesinde 0.01-0.90 su aktivitesi aralığı oldukça kullanışlıdır. İzotermlerin belirlenmesinde olabildiğince çok noktada su aktivitesi değerinin kullanılması doğru ise de, en az 5, yaygın olarak ise 8 su aktivitesi noktasından izotermlerin belirlenmesi yeterli görülmektedir. Adsorpsiyon başlangıç su içeriğinin tek tabaka su içeriği altında olmasına dikkat edilmelidir. Eğer başlangıç su içeriği tek tabaka su içeriğinden yüksekte veya histerisiz bölgesinde tutulursa, tek tabaka su içeriğini ve histerisizi doğru şekilde belirlemek mümkün olmayacaktır. Farklı sıcaklık ve su aktivitesindeki sorpsiyon verilerine ulaşabilmek için izotermlerin en az 2 sıcaklıkta belirlenmesi gereklidir. Böylelikle istenilen sıcaklık ve su aktivitesindeki sorpsiyon verileri de Clausius-Clapeyron eşitliği kullanılarak hesap edilebilir. Ancak izotermlerin en az 3 sıcaklıkta belirlenmesi (20) hem interpolasyonu daha güvenilir hale getirmesi hem de sorpsiyon kinetiği verilerine de ulaşılabilmesi bakımından oldukça yararlıdır. Sorpsiyon işleminde kullanılacak örnek, gıdanın tamamını temsil edecek özellikte olmalıdır. Heterojen gıdalarda sorpsiyon örneğinin ana örneği bileşen ve oran olarak doğru temsil etmesi çok önemlidir. Geneli temsil eden 1 gram kadar örnek sorpsiyon işlemi için yeterlidir. Ancak daha büyük tek parça gıdalar (cips, bisküvi, kraker vb) da kullanılabilir. Gıdaların desorpsiyon izotermlerini belirlemek için, örnek olduğu gibi kullanılabilir, ancak adsorpsiyon izoterminin belirlenmesi için, herhangi bir olumsuz reaksiyona neden olmadan örneğin olabildiğince düşük su aktivitesi değerine kadar kurutulması gereklidir. Düşük sıcaklıkta (<40 °C) ve tedrici vakum (<100 mmHg) (21) uygulaması, kurutma için en uygun yöntemdir. Şekerlerin yanması ve nişastanın çirilenmesi gibi bileşen ve yapı değiştiren reaksiyonlar oluştuğu için yüksek sıcaklıkta kurutma uygulanmamalıdır. Örnekler, sorpsiyon

ortamı olarak kullanılan desikatör gibi doymuş tuz çözeltisi içeren ortamlara küçük cam kap içerisinde konulmalıdır. Bu küçük kapların önceden çalışma sıcaklığı ve su aktivitesi şartlarında bir süre dengelenirilmiş ve hassasiyetle darası alınmış olmalıdır. Darası alınan kaplara örnekler en az 2 paralel halinde ve hava sirkülasyonsuz bir ortamda yüksek hassasiyetle (0.0001 g) hızlı bir şekilde tartılmalıdır.

Sorpsiyon işleminde ağırlık dengelenmesinin gerçekleşebilmesi için nemin örnekteki bariyerleri aşması ve bulunduğu sıcaklıkta dengelenmesi gereklidir. Desikatörün hacmi ve örneğin miktarı dengelenme süresi üzerine etkili olur. Doymuş tuz çözeltisi desikatör atmosferiyle dengelenirken, atmosfer de gıda örneğiyle dengelenmektedir. Tuz çözeltisinin yüzey alanı örnek kabının yüzey alanından en az 10 kat ve desikatör hacmi de örnek hacminden en az 20 kat daha büyük olmalıdır. Tuz çözeltisinin küçük olan yüzey alanı, büyük desikatör atmosferi ve yüksek örnek miktarı dengelenmeyi geciktirici etki yapar. Gıdanın kapiller sistemindeki havanın sorpsiyon hızını düşürücü etkisini kırmak için örneğe uygulanacak vakum ve çözeltinin manyetik bir karıştırıcı ile örneğe sıçratılmadan karıştırılması dengelenme süresini kısaltır. Boyut küçültme işlemi de dengelenme süresini kısaltır, ancak ürünün sorpsiyon özelliklerini değiştirebileceği dikkate alınmalıdır. Dengelenme süresi sorpsiyon başlangıç su aktivitesi değerinden uzaklaştıkça artmaktadır. Dengelenme sürecinde, amorf katılarda olduğu gibi yeniden bir kristallenme olması da dengelenme süresini uzatmaktadır. Örneklerin dengelenme süreleri ön denemelerle belirlenebilmekte olup, gıdaların %99'unun 21 günden daha kısa sürede dengelendiği belirlenmiştir (2). Örneğin ağırlık değişimi belli aralıklarla takip edilerek, değişim 1 mg/g kurumadde değerinden daha az olduğunda örnek dengelenmiş kabul edilebilir (8). Yapılan tartımlarda sıcaklık farkından kaynaklanan çığ damlaları örneğe düşerek veya oluşan konveksiyon nedeniyle toz örnekler uçarak tartım hatalarına neden olabilir. Eğer sisteme bir vakum uygulaması yapılırsa, bu da tuz çözeltilerinin örneğe veya örnek kabına sıçrayarak ve/veya toz örnekte uçmaya neden olarak tartım hataları oluşturabilmektedir. Sorpsiyon sonunda örneğin birim kurumadde için içerdiği su miktarı; örneğin sorpsiyon başlangıç su içeriği, sorpsiyon başlangıç ağırlığı ve son ağırlığı kullanılarak hesaplanabilir veya doğrudan kurumadde tayini ile tespit edilebilir.

### SORPSİYON İZOTERMLERİ VE İZOTERMLERİN GRAFİK EDİLMESİ

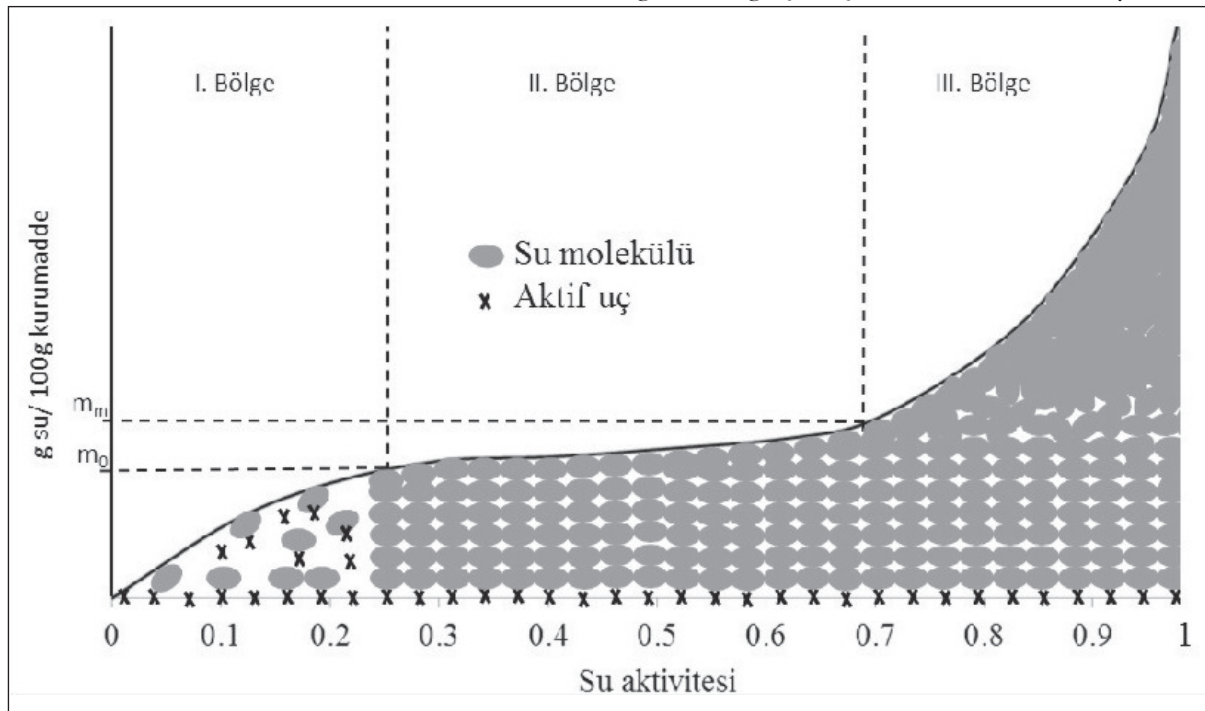
Sorpsiyon izotermleri, sabit sıcaklıkta gıdanın su içeriğinin gıdanın su aktivitesine karşı grafik edilmesiyle ( $m=f(a_w)_T$ ) belirlenen ve gıdanın



durumu hakkında oldukça yararlı bilgiler veren grafiklerdir (1, 5, 10). Bu izoterm grafikler temel olarak; sabit sıcaklıkta kuru gıdaların artan veya yaş gıdaların azalan su içeriğinin değişen su aktivitesine karşı gösterilmesiyle elde edilen adsorpsiyon veya desorpsiyon izotermidir (22). Aynı gıdanın adsorpsiyon ve desorpsiyon izotermi çoğunlukla aynı yolu izlemezler, aynı su aktivitesinde desorpsiyon izotermi daha yüksek su içeriğine sahip olmak üzere aralarında bir açıklık (histerisiz) oluşturarak farklı izoterm şekline gerçekleşirler (17, 20, 21, 23-26). Gıdaların sorpsiyon izotermi belli gruplarda toplanabilmesine rağmen, her gıda için kendisine özgüdür (20-24). Sorpsiyon izotermi Bruner-Emmet-Teller (BET) tarafından beş tip olarak tanımlanmış olup, bunlardan ilk üç tip belli grup organik materyalleri temsil ederken, son iki tip ise ilk üç tip izotermi karışık durumlarını temsil etmektedir (27, 28). Bunlardan Tip I olarak tanımlanan Langmuir izotermi, tipik bir kekleşmeyi önleyici yani antikek materyal izotermidir. Çoğu gıda koligatif etki, kapiller etki ve yüzey-su etkileşimlerinin ortak bir sonucu olarak Tip II (sigmoidal, S tipi) izoterm gösterir (29, 30). Tip III izotermi (J tipi), şekerler ve tuzlar gibi saf kristal katıların veya şeker içeriği yüksek gıdaların sorpsiyon izotermi olarak oluşur (18, 22, 31, 32). Tip IV izotermi su seven katıların maksimum hidrasyona ulaşmaya kadar gösterdikleri izotermi tanımlarken, Tip V izotermi ise çoklu tabaka izotermi tanımlar (33).

DeneySEL veriler elde edildikten sonra su aktivitesi değerlerine karşı nem içerikleri grafik edilir. Veri noktalarını en iyi temsil edecek şekilde çizilen eğri sorpsiyon izotermi olarak adlandırılır. Çoğunlukla gıdaların nem sorpsiyon izotermi Tip II yani S tipi izotermidir (Şekil 1). Bu izoterm, bölge sınırları gıdalara göre değişmekle birlikte temel olarak üç bölgede incelenir. Birinci ve ikinci bölgenin sınırı, izotermi ilk büküldüğü yer olarak yaklaşık 0.20–0.40 su aktivitesi değerleri arasında gerçekleşir ve bu sınırdaki gıdanın su içeriği tek tabaka su içeriği ( $m_0$ ) olarak tanımlanır. İkinci ve üçüncü bölgenin sınırı ise ikinci bükülmeyen gerçekleştiği yer olarak yaklaşık 0.60–0.80 su aktivitesi değerleri arasında gerçekleşir ve bu sınırdaki gıdanın su içeriği çoklu tabaka su içeriği ( $m_m$ ) olarak tanımlanır. Bükülmelerin büyüklüğü fizikokimyasal etkileşimlerin büyüklüğüne bağlıdır (1, 12, 34).

Gıdaların kalite stabilite için iyi bir gösterge olan tek tabaka su içeriği ( $m_0$ ) değeri birinci ve ikinci bölgenin sınırında yer alır. Birinci bölgede gıda yeterince suya sahip olmadığı için bazı aktif uçlar açıkta kalır ve gıdanın su içeriği tek tabaka su içeriğinin altında kalır. İkinci bölgede gıdanın sahip olduğu su ise çoklu tabaka su içeriği ( $m_m$ ) olarak tanımlanır. Üçüncü bölgede ise gıdanın içerdiği su, aktif uçlara göre tabakalı yerleşimden uzaklaşarak gıdanın mikro boşluklarını ve kapiller sistemlerini doldurduğu için yığın su veya kapiller su olarak tanımlanır (35). Kapiller su içeriği gıdalarda gerçekleşen temel bozucu reaksiyonların



Şekil 1. Tip II sorpsiyon izotermi (S tipi) ve suyun durumu



oluşmasını teşvik eden bir fizikokimyasal durumdur. İzoterm her üç bölgesinin büyüklüğü ve eğimi gıdaya bağlı olarak değişmekle birlikte, su ile olan ilişkileri bakımından oldukça yararlı bilgiler vermektedir. Gıdaların sorpsiyon izotermelerini temsil etmesi için su aktivitesi, gıdanın nem içeriği ve suyun bağlanma enerjisi arasındaki ilişkiyi dikkate alan çok sayıda sorpsiyon eşitliği (GAB, BET, Simit, Halsey, Henderson, Iglesias-Chirife, Chung-Pfost, Oswin, Caurie, Langmuir vd.) geliştirilmiştir (13, 36, 37). Ancak bu eşitlikler tüm gıdaları yeterli bir şekilde temsil edememektedir. Bunun nedeni ise, gıdaların yapısal ve bileşim olarak yüksek orandaki heterojenliğidir (38, 39). İlk sorpsiyon eşitliklerinden olan ve yaygın bir kullanım alanı bulan BET eşitliği ise su aktivitesinin 0.50'den küçük olduğunda izotermi başarılı bir şekilde temsil edebilmektedir (16, 40, 41). Suyun özelliklerini konu alan ve 1983 yılında yapılan uluslararası bir sempozyumda (ISOPOW) GAB (Guggenheim-Anderson-deBoer) eşitliğinin gıda sorpsiyon izotermelerini 0.90 su aktivitesine kadar iyi bir şekilde temsil ettiği kabul edilmiştir (14).

#### SORPSİYON EŞİTLİKLERİNİN ÇÖZÜMLENMESİ

İzoterm eşitlikleri çözümlenirken su içeriği, su aktivitesinin bir fonksiyonu ( $m=f(a_w)_T$ ) olarak sabit sıcaklıkta yeniden düzenlenir. İzotermi tanımlamada yaygın olarak kullanılan BET eşitliği lineer regresyon ve GAB eşitliği ise 2.dereceden lineer olmayan regresyon analizi kullanılarak çözümler. Çözümler sonucunda tek tabaka su içeriği ve suyun bağlanma enerjisi hakkında bilgi veren sabitlere ulaşılır. Sorpsiyon izotermi gibi tek tabaka su içeriği de sıcaklıktan etkilenir ve sıcaklık yükselişi ile azalır (18). Bunun temel nedeni sıcaklık artışının hidrojen bağlarının oluşması üzerindeki azaltıcı etkisidir (1). Ayrıca sıcaklık yükselişinin neden olabileceği faz geçişi ve yapısal değişimler de su bağlayan aktif uçlarda sayısal azalmaya neden olabilir (40). Bu azalış da tek tabaka su içeriğinin düşmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle GAB eşitliğinin tek tabaka su içeriği değeri BET eşitliğinkinden daha yüksek olarak hesap edilmektedir (8, 30). Aşağıda görülen BET eşitliğinin doğrusal regresyon analizi ile çözümü sonucu ulaşılan  $m_0$  değeri ürünün tüm aktif uçları bir tabaka su molekülü tarafından kaplandığı durumda ürünün su içeriğini ifade eden tek tabaka su içeriğini gösterir. BET

eşitliği incelendiğinde su aktivitesine bağlı olarak düzenlenmiş bir doğru denklemi olduğu;  $[1/m_0C]$  ifadesinin kesim noktasına,  $[C-1/m_0C]$  ifadesinin ise eğime eşit olduğu anlaşılmaktadır.  $C$  değeri ise sıcaklığa bağlı yüzeyin suya doygunluğu ile ilgili bir enerji sabiti olarak tanımlanmakta olup, net sorpsiyon enerjisi ile ilgilidir.  $C$  sabiti tek tabaka su içeriğinin bağlanma enerjisi ( $H_m$ ) ve saf suyun buharlaşma entalpisi ( $H_L$ ) değerlerine bağlı olarak gerçekleşir. BET eşitliğine göre eğer  $H_m > H_L$  ise izoterm Tip II,  $H_L > H_m$  ise izoterm Tip III olarak tanımlanır (18, 27, 31).

$$\frac{a_w}{m(1-a_w)} = \frac{1}{m_0C} + \left(\frac{C-1}{m_0C}\right)a_w \quad ; \quad C = e^{H_m-H_L/RT}$$

Aşağıda;  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\varepsilon$  katsayıları doğrusal olmayan regresyon analizi ile tespit edildikten sonra çözülebilen GAB eşitliği ve eşitlik sabitleri görülmektedir (16, 42). GAB eşitliğindeki  $m_0$  değeri tek tabaka su içeriğini gösterirken  $C$  değeri tek tabaka suyun molar bağlanma enerjisine ( $H_m$ ) ve  $k$  değeri ise çoklu tabaka suyun molar bağlanma enerjisine ( $H_n$ ) bağlı olarak gerçekleşen sıcaklığa bağlı sabitlerdir. Sıcaklık artışı ile  $k$  sabitinin değeri artarken  $C$  sabitinin değeri azalır (5).  $C$  ve  $k$  değerleri gıdaların kurutulması için önemli olan parametrelerdendir ve kurutma işlemi yapılırken  $k$  değerinin 1'e yaklaştığı ve  $C$  değerinin ise 1'in çok üzerinde olduğu durumlarda, gıdada bulunan su moleküllerinin buharlaştırılması ile saf suyun buharlaştırılması için gerekli olan enerji yaklaşık olarak eşittir. Bu yaklaşık eşitlik gıdada bulunan su içeriği tek tabaka düzeyine ulaşana kadar korunmaktadır ve su miktarı tek tabaka su içeriğinin altına düşürüldüğünde gereken enerji miktarı da artmaktadır (5, 20).

$C$  sabiti hem BET hem de GAB eşitliğinde izoterm tipine bağlı olarak 1 ila 200 arasında bir değer alır. Bu değer çoğunlukla Tip I izotermi için 50 ila 200, Tip II izotermi için 2 ila 50 ve Tip III izotermi için ise 0 ila 2 değeri arasındadır. GAB eşitliğine göre  $C$  sabiti değeri; 2'den büyük olduğu durumda izoterm Tip II, 0 ila 2 arasında olduğu durumda ise izoterm Tip III olarak tanımlanmaktadır (43, 44). GAB eşitliğindeki  $k$  değeri 0 ila 1 arasında yer alabilen ve çoklu tabaka su içeriğinin sıcaklığa bağımlılığını ifade eden bir enerji sabitidir (45). Bu değer ideal olarak 0.70 ila 1 arasında yer alır,

$$m = \frac{m_0 k C a_w}{[1 - k a_w][1 - k a_w + C k a_w]} \quad ; \quad \frac{a_w}{m} = \frac{k}{m_0} \left[ \frac{1}{C} - 1 \right] a_w^2 + \frac{1}{m_0} \left[ 1 - \frac{2}{C} \right] a_w + \frac{1}{m_0 k C}$$

$$\frac{a_w}{m} = \alpha a_w^2 + \beta a_w + \varepsilon \quad ; \quad k = \frac{\sqrt{\beta^2 - 4\alpha\varepsilon} - \beta}{2\varepsilon} \quad ; \quad C = \frac{\beta}{\varepsilon k} + 2 \quad ; \quad m_0 = \frac{1}{\varepsilon k C}$$

$$k = e^{H_L - H_n / RT} \quad ; \quad C = e^{H_m - H_n / RT}$$

değerin 1'den büyük olarak hesap edilmesi çoğunlukla modelin uyumsuzluğunun da bir göstergesi olarak değerlendirilir (42, 44). Hem BET hem de GAB eşitliğinde yer alan enerji sabitleri Arrhenius eşitliği ile de açıklanabilmektedir (44).

Farklı sorpsiyon izoterm eşitliklerinin deneysel sorpsiyon verilerine uyumu ortalama bağıl sapma, yani hesaplanan nem içeriğinin deneysel nem içeriğine yakınlığı ile belirlenmektedir. Farkın %10'dan daha küçük olması eşitliğin gerçek sorpsiyon verilerini iyi bir şekilde temsil ettiği şeklinde kabul edilmektedir (5, 37, 43). Aşağıda görülen bağıl fark eşitliğinde  $m_e$  deneysel verileri,  $m_c$  hesaplanan verileri,  $N$  ise deneysel nokta sayısını göstermektedir (2, 46-48).

$$\%E = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|m_e - m_c|}{m_e}$$

### SORPSİYON İZOTERMLERİNİN GIDA STABİLİTESİNDEKİ ÖNEMİ

Çoğu kuru gıdadaki kimyasal reaksiyonların hızları üzerinde yapılan çalışmalar, belli bir su içeriği altındaki kalite kayıp hızlarının ihmal edilebilir olduğunu göstermiştir. Bunu sağlayan su içeriği tek tabaka su içeriği olarak tanımlanmakta olup BET ve GAB eşitlikleri ile tespit edilebilmektedir. Bu su içeriği lipit oksidasyonu, enzim aktivitesi, enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ve tekstürel yapı hakkında oldukça yüksek bir öneme sahip olup, oksidasyon gibi gıda bozucu reaksiyonlar üzerine önemli bir sınırlayıcı etkiye sahiptir (49). Bu reaksiyonların hızı gıdalara göre değişmekle birlikte 0.30 su aktivitesi değerinden sonra hızla artmaktadır. Bu su aktivitesi değerinden sonra yüzeylere adsorbe olan su; çözücü gibi davranmaya başlayarak çözünür bileşenleri hareketli ve reaksiyon verebilir hale getirebilmektedir. Artan su aktivitesi çözünür bileşenlerin miktarı ve hareketliliğini de artırdığı için reaksiyon hızları belli bir noktaya kadar artmaktadır. Su aktivitesinin daha da yükseldiği durumlarda tüm çözünenler bittikten sonra reaksiyon hızı reaktantların seyrelmesi nedeniyle düşme eğilimi göstermektedir.

Ürünlerin raf ömürleri tek tabaka su içeriği ve maksimum reaksiyon hızını veren su içeriği arasındaki reaksiyon hızı tarafından, dolayısıyla bu değerleri sağlayan su aktiviteleri tarafından kontrol edilmektedir (50). Bu reaksiyon hızı nedeniyle gıdanın raf ömrü ve bunu sağlayan su aktivitesi değeri arasında yarı logaritmik ters bir ilişki vardır. Çoğu gıda için bu bölgede su aktivitesi değeri 0.1 birim arttığında raf ömrü 2-3 kat azalmaktadır. Daha önce de belirtildiği gibi nem sorpsiyon izotermi sıcaklığı da bağımlıdır. Bu

nedenle gıda paklendiği sıcaklıktan daha yüksek bir sıcaklıkta uzun süre depolanırsa bozulabilir (1). Bunun sebebi su içeriğinin aynı kalmasına rağmen yüksek sıcaklıkta su aktivitesinin yükselmesidir. Bu nedenle gıdada kalite kaybına neden olan bir reaksiyonun hızı, su aktivitesi ve sıcaklık çiftine bağlı olarak artar. Örneğin; gıdanın su aktivitesi 0.1 birim arttığında bozulma reaksiyonlarının hızı 2-3 kat artarken, sıcaklığın 10°C yükselmesi ( $Q_{10}$ ) reaksiyon hızını 4 kat kadar arttırmaktadır. İkisinin ortak etkisi nedeniyle ise reaksiyon hızı 8 kat kadar artabilmekte, yani gıdanın raf ömrü 8 kat hızla azalabilmektedir. Ayrıca doymamış lipit içeren; kuru et, balık, tahıl ürünleri ve sebze gibi gıdalarda su aktivitesi değeri tek tabaka su içeriğinin altında olsa dahi boşta kalan aktif uçların oksijen ile teması nedeniyle oksidasyona bağlı bozulmalar gerçekleşebilmektedir. Bu tür kuru gıdaların bozulmalarını yavaşlatmak ve raf ömürlerini de maksimum seviyede tutabilmek için su içeriklerini tek tabaka su içeriğine getirmek oldukça iyi bir yöntemdir. Tek tabaka su içeriği ve bu su içeriğinin sağladığı su aktivitesi değeri gıdalar için kritik su içeriği ve su aktivitesi değerleri olarak bilinmekte ve takip edilmektedir (50).

### SONUÇ

Sonuç olarak gıdaların nem sorpsiyon izotermeleri gıdaların işlenme, paketlenme ve depolanma süreçlerinde kalite stabilitesinin sağlanmasında ve takip edilmesinde oldukça yararlı olan araçlardır. Bu nedenle gıdaların sorpsiyon izotermelerinin bilinmesi ve matematiksel olarak çözümlenmesi gıdaların fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin takip edilmesi bakımından oldukça yararlıdır.

### KAYNAKLAR

1. Aykın E, Arslan S, Durak AN, Erbaş M. 2015. Gıdalarda bulunan suyun fizikokimyasal durumu ve sorpsiyon İzotermeleri. *GIDA*, 40(2), 109-116.
2. McMinn W, Magee T. 1999. Studies on the effect of temperature on the moisture sorption characteristics of potatoes. *J Food Process Eng*, 22(2), 113-128.
3. Staudt P, Kechinski C, Tessaro I, Marczak L, Soares RdP, Cardozo N. 2013. A new method for predicting sorption isotherms at different temperatures using the BET model. *J Food Eng*, 114(1), 139-145.
4. Basu S, Shivhare U, Muley S. 2013. Moisture adsorption isotherms and glass transition temperature of pectin. *J Food Sci Technol*, 50(3), 585-589.

5. Martinez-Monteagudo SI, Salais-Fierro F. 2014. Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of mexican mennonite-style cheese. *J Food Sci Technol*, 51(10), 2393-2403.
6. Knani S, Aouaini F, Bahloul N, Khalfaoui M, Hachicha M, Lamine AB, Kechaou N. 2014. Modeling of adsorption isotherms of water vapor on Tunisian olive leaves using statistical mechanical formulation. *Physica A*, 400,57-70.
7. Viganó J, Azuara E, Telis VRN, Beristain CI, Jiménez M, Telis-Romero J. 2012. Role of enthalpy and entropy in moisture sorption behavior of pineapple pulp powder produced by different drying methods. *Thermo Acta*, 528, 63-71.
8. Leceta I, Uranga J, Arana P, Cabezudo S, de la Caba K, Guerrero P. 2015. Valorisation of fishery industry wastes to manufacture sustainable packaging films: modelling moisture-sorption behaviour. *J Clean Prod*, 91, 36-42.
9. Ostrowska-Ligeza E, Jakubczyk E, Górska A, Wirkowska M, Brys J. 2014. The use of moisture sorption isotherms and glass transition temperature to assess the stability of powdered baby formulas. *J Therm Anal Calorim*, 118(2), 911-918.
10. Al-Mahasneh M, Alkoaiq F, Khalil A, Al-Mahasneh A, El-Waziry A, Fulleros R, Rababah T. 2014. A Generic Method for Determining Moisture Sorption Isotherms of Cereal Grains and Legumes Using Artificial Neural Networks. *J Food Process Eng*, 37(3), 308-316.
11. Carter BP, Schmidt SJ. 2012. Developments in glass transition determination in foods using moisture sorption isotherms. *Food Chem*, 132(4), 1693-1698.
12. Bingol G, Prakash B, Pan Z. 2012. Dynamic vapor sorption isotherms of medium grain rice varieties. *LWT-Food Sci Technol*, 48(2), 156-163.
13. Argyropoulos D, Alex R, Kohler R, Müller J. 2012. Moisture sorption isotherms and isosteric heat of sorption of leaves and stems of lemon balm (*Melissa officinalis L.*) established by dynamic vapor sorption. *LWT- Food Sci Technol*, 47(2), 324-331.
14. Staudt P, Tessaro I, Marczak L, Soares RdP, Cardozo N. 2013. A new method for predicting sorption isotherms at different temperatures: Extension to the GAB model. *J Food Eng*, 118(3), 247-255.
15. Rodr guez-Bernal JM, Flores-Andrade E, Lizarazo-Morales C, Bonilla E, Pascual-Pineda LA, Gutierrez-López G, Quintanilla-Carvajal MX. 2015. Moisture adsorption isotherms of the borojó fruit (*Borojoa patinoi. Cuatrecasas*) and gum arabic powders. *Food and Bioprod Process*, 94, 187-198.
16. Bell LN, Labuza TP. 2000. Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement. 2<sup>nd</sup> Edition, American Association of Cereal Chemists Press, USA, 122 p.
17. de Souza SJF, Alves AI, Vieira ÉNR, Vieira JAG, Ramos AM, Telis-Romero J. 2015. Study of thermodynamic water properties and moisture sorption hysteresis of mango skin. *J Food Sci Technol*, 35(1), 157-166.
18. Lago CC, Nore a CPZ. 2015. Thermodynamic analysis of sorption isotherms of dehydrated yacon (*Smallanthus sonchifolius*) bagasse. *Food Biosci*, 12, 26-33.
19. Bazardeh ME, Esmaili M. 2014. Sorption isotherm and state diagram in evaluating storage stability for sultana raisins. *J Stored Prod Res*, 59, 140-145.
20. Sormoli ME, Langrish TA. 2015. Moisture sorption isotherms and net isosteric heat of sorption for spray-dried pure orange juice powder. *LWT-Food Sci Technol*, 62(1), 875-882.
21. Pande R, Mishra HN. 2014. Influence of microwave heating on moisture sorption isotherm and drying characteristics of green gram (*Vigna radiata*) seeds. *J Food Process Pres*, doi: 10.1111/jfpp.12251.
22. Martins MG, Martins DEG, da Silva Pena R. 2015. Drying kinetics and hygroscopic behavior of pirarucu (*Arapaima gigas*) fillet with different salt contents. *LWT-Food Sci Technol*, 62(1), 144-151.
23. Zhao J-H, Liu F, Wen X, Xiao H-W, Ni Y-Y. 2015. State diagram for freeze-dried mango: Freezing curve, glass transition line and maximal-freeze-concentration condition. *J Food Eng*, 157, 49-56.
24. Lazouk M-A, Savoie R, Kaddour A, Castello J, Lanoisellé J-L, Van Hecke E, Thomasset B. 2015. Oilseeds sorption isotherms, mechanical properties and pressing: Global view of water impact. *J Food Eng*, 153, 73-80.
25. Lewicki PP. 2000. Raoult's law based food sorption isotherm. *J Food Eng*, 43(1), 31-40.
26. Shih F, Daigle K, Champagne E. 2011. Effect of rice wax on water vapour permeability and sorption properties of edible pullulan films. *Food Chem*, 127(1), 118-121.
27. Caurie M. 2005. The unimolecular character of the classical Brunauer, Emmett and Teller adsorption equation and moisture adsorption. *Int J Food Sci Technol*, 40(3), 283-293.
28. Erbaş M. 1998. Sert ve yumuşak buğday irmiklerinin nem sorpsiyon özelliklerinin bazı sorpsiyon eşitliklerine uygunluklarının araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans, Antalya, Türkiye, 102 s.

29. Pantuso F, Tolaba M, Aguerre R. 2014. A BET approach to multilayer adsorption in swelling products. *J Food Eng*, 122, 68-71.
30. Ahmat T, Bruneau D, Kuitche A, Aregba AW. 2014. Desorption isotherms for fresh beef: An experimental and modeling approach. *Meat Sci*, 96(4), 1417-1424.
31. Chirife J, Iglesias HA. 1978. Equations for fitting water sorption isotherms of foods: Part 1-a review. *Int J Food Sci Technol*, 13(3), 159-174.
32. Rodríguez-Bernal J, Flores-Andrade E, Lizarazo-Morales C, Bonilla E, Pascual-Pineda L, Gutiérrez-López G, Quintanilla-Carvajal M. 2015. Moisture adsorption isotherms of the borjón fruit and gum arabic powders. *Food Bioprod Process*, 94, 187-198.
33. Torres MD, Moreira R, Chenlo F, Vázquez MJ. 2012. Water adsorption isotherms of carboxymethyl cellulose, guar, locust bean, tragacanth and xanthan gums. *Carbohydr Polym*, 89(2), 592-598.
34. Murrieta-Pazos I, Galet L, Patry S, Gaiani C, Scher J. 2014. Evolution of particle structure during water sorption observed on different size fractions of durum wheat semolina. *Powder Technol*, 255, 66-73.
35. Altamirano-Fortoul R, Hernández-Muñoz P, Hernando I, Rosell C. 2015. Mechanical, microstructure and permeability properties of a model bread crust: Effect of different food additives. *J Food Eng*, 163, 25-31.
36. Navia D, Ayala A, Villada H. 2013. Determinación de isothermas de adsorción de agua en biocompuestos de harina termoplástica y fique. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 144-153.
37. Martínez-Las Heras R, Heredia A, Castelló M, Andrés A. 2014. Moisture sorption isotherms and isosteric heat of sorption of dry persimmon leaves. *Food Biosci*, 7, 88-94.
38. Bejar AK, Mihoubi NB, Kechaou N. 2012. Moisture sorption isotherms—Experimental and mathematical investigations of orange peel and leaves. *Food Chem*, 132(4), 1728-1735.
39. Mrad ND, Bonazzi C, Courtois F, Kechaou N, Mihoubi NB. 2013. Moisture desorption isotherms and glass transition temperatures of osmo-dehydrated apple and pear. *Food Bioprod Process*, 91(2), 121-128.
40. de Moura Neto LG, Rocha ÉMdFF, Afonso MRA, da Costa JMC. 2015. Adsorption isotherms of hog plum (*Spondias mombin L.*) pulp powder obtained by spray dryer. *Acta Sci Technol*, 37(2), 273-277.
41. Koua BK, Koffi PME, Gbaha P, Toure S. 2014. Thermodynamic analysis of sorption isotherms of cassava (*Manihot esculenta*). *J Food Sci Technol*, 51(9), 1711-1723.
42. Timmermann E, Chirife J, Iglesias H. 2001. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? *J Food Eng*, 48(1), 19-31.
43. Hazaveh P, Nafchi AM, Abbaspour H. 2015. The Effects of Sugars on Moisture Sorption Isotherm and functional Properties of Cold Water Fish Gelatin Films. *Int J Biol Macromol*, 79, 370-376.
44. Blahovec J. 2004. Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach. *J Food Eng*, 65(4), 489-495.
45. Hazaveh P, Mohammadi Nafchi A, Abbaspour H. 2015. The effects of sugars on moisture sorption isotherm and functional properties of cold water fish gelatin films. *Int J Biol Macromol*, 79, 370-376.
46. Andrieu J, Stamatopoulos A, Zafiroopoulos M. 1986. Corn pasta water desorption isotherms. *Lebensm-Wiss Technol*, 19(6), 415-418.
47. Lomauro C, Bakshi A, Labuza T. 1985. Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products. *Lebensm-Wiss Technol*, 18(2), 111-117.
48. Velázquez-Gutiérrez SK, Figueira AC, Rodríguez-Huezo ME, Román-Guerrero A, Carrillo-Navas H, Perez C.A. 2015. Sorption isotherms, thermodynamic properties and glass transition temperature of mucilage extracted from chia seeds *Carbohydr Polym*, 121, 411-419.
49. Yogendrarajah P, Samapundo S, Devlieghere F, De Saeger S, De Meulenaer B. 2015. Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of whole black peppercorns (*Piper nigrum L.*). *LWT - Food Sci Technol*, 64(1), 177-188.
50. Rascón MP, Beristain CI, García HS, Salgado MA. 2011. Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. *LWT - Food Sci Technol*, 44(2), 549-557.



## FARKLI KAYNAKLARDAN ÜRETİLEN JELATİNİN ÖZELLİKLERİ VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Elif Aykın\*, Mustafa Erbaş

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş tarihi / *Received*: 09.10.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 08.12.2015

Kabul tarihi / *Accepted*: 30.12.2015

### Özet

Son yıllarda jelatinin farklı kaynaklardan ekstrakte edilmesi ve ekstraksiyon koşullarının iyileştirilmesi konusunda yapılan çalışmaların sayısı artmıştır. Jelatinlerin fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri, aminoasit kompozisyonuna ve peptit içeriğine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Özellikle balık derisinden ekstrakte edilen jelatin, helal ve kosher ürünler için alternatif bir kaynak oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda tavuk derisinden elde edilen jelatinin ticari sığır jelatinine benzer fizikokimyasal özelliklerde olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, kollajen veya jelatinden enzimatik hidroliz yoluyla elde edilen biyoaktif peptitler antihipertansif/ ACE inhibitör aktivite, kriyoprotektan, antidiyabetik, antidepresyon ve anti-Alzheimer gibi fizyolojik fonksiyonlara sahip değerli bileşiklerdir. Bu makalede farklı kaynaklardan elde edilen jelatinin özellikleri ve jelatin hidrolizatlarının sağlık üzerine etkileri derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Jelatin, kollajen, peptit, üretim, sağlık

## CHARACTERISTICS of GELATINE PRODUCED from DIFFERENT SOURCES

### Abstract

In recent years, it increased the number of studies on extracting the gelatin from different sources and improving the extraction conditions. The physicochemical and functional properties of gelatin are different depending on the composition of amino acids and peptide content. In particular, the gelatin extracted from fish skin constitute an alternative source for halal and kosher products. In previous studies was determined that the gelatin derived from chicken skin had similar physicochemical properties to commercial beef gelatin. In addition, the bioactive peptides obtained by enzymatic hydrolysis of collagen or gelatin are valuable compounds having physiological functions such as antihypertensive/ACE inhibitory activity, cryoprotectant, antidiabetic, antidepression and anti-Alzheimer. In this article has been compiled characteristics of gelatin obtained from various sources and their effects on health of gelatin hydrolysate.

**Keywords:** Gelatin, collagen, peptide, production, health

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ elifaykin@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 4345,

☎ (+90) 242 227 4564



## GİRİŞ

Jelatin; domuz ve sığır gibi hayvanların derisi ve kemiklerinden ekstrakte edilen kollajenin ısı uygulamasıyla kontrollü hidrolizi sonucu üretilen denatüre bir proteindir. Jelatin, biyoyoumluluk ve biyobozunma özelliklerinin yanı sıra toksik olmaması ve bağımlılık yapmaması gibi olumlu özelliklerine bağlı olarak günümüzde en yaygın kullanılan gıda katkı maddelerinden biridir (1, 2). Bu katkı maddesi ilaç, kozmetik ve fotoğraf endüstrisinde özellikle jel oluşturma amacıyla kullanılırken; gıda endüstrisinde emülgatör, durultma ajanı ve kaplama materyali gibi çeşitli fonksiyonel özellikleri sağlayabilmektedir (3-5).

Jelatin, kaynağı ve üretim yöntemi tüketiciler tarafından tam olarak bilinmemesi nedeniyle tüketimine kuşku ile yaklaşılan bir katkı maddesidir. Jelatinin özellikleri, kullanılan hammaddenin çeşidi, hayvanın yaşı ve kollajenin tipi gibi farklı faktörlerden etkilenmektedir. En yaygın kullanılan ticari jelatinler, sığır ve domuzdan alınan deri ve kemikten üretilmektedir. Son yıllarda balık ve tavuk kaynaklı kemik ve deriden jelatin üretimi konusundaki gelişmeler de hızla artmaktadır. Özellikle balık derisinden jelatin üretimi, helal ve kosher ürünler için alternatif bir kaynak oluşturmaktadır. Ayrıca, bu kaynakların kullanımı jelatin tüketimi ile deli dana hastalığının (BSE) bulaşma riskini de ortadan kaldırmaktadır (4).

## DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE JELATİN ÜRETİMİ VE TÜKETİMİ

Dünyadaki jelatin üretimi yaklaşık olarak 326.000 ton/yıldır (6). Jelatin üretiminin en önemli kaynakları sırasıyla domuz derisi (%46), sığır derisi (%29) ve domuz ve sığır kemikleridir (%23) (7). Avrupa'daki jelatinlerin %60'ı domuzdan ve %40'ı ise sığır ve diğer hayvanlardan elde edilen deri, kemik gibi kaynaklardan üretilmektedir. Türkiye'de ise Halavet Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. ve Sel Sanayi Ürünleri Ticaret ve Pazarlama A.Ş. olmak üzere 2 firma tarafından sığır derisi jelatini üretilmektedir (8). Türkiye'nin 2013 yılında jelatin ihracatı yaptığı ilk beş ülke sırasıyla İsviçre, Almanya, İtalya, ABD ve İran'dır. Türkiye'nin jelatin ithalatında önde gelen ülkeler ise Brezilya, Arjantin, İspanya, Kolombiya ve Almanya'dır (9). Jelatin üretiminde özel tercih ve hassasiyetleri olan tüketiciler için uygun hammadde ve yöntemin seçilmesiyle dünyada ve Türkiye'de jelatin ihtiyacının daha da artacağı düşünülmektedir.

## KOLLAJENİN YAPISI

Hayvanın kesimi ve işlenmesi sırasında elde edilen kemik, deri ve bağ dokusundaki kollajen liflerinin

kısmi hidrolizi ile jelatin üretilmektedir. Bir bağ dokusu proteini olan kollajen, lif benzeri yapıda olup kas liflerini, kas fasiküllerini ve kasın etrafını sararak kas ile iç içe bulunmaktadır. Kollajen lifleri temel olarak tropokollajen adı verilen bir proteinden oluşmaktadır. Tropokollajenin kristalleşmesiyle mikrofibriller, mikrofibrillerin bir araya gelmesiyle kollajen fibrilleri ve kollajen fibrillerinin bir araya gelmesiyle de kollajen lifleri oluşmaktadır. Kollajenin bugüne kadar tanımlanmış 27 farklı tipi bulunmaktadır. Bunlardan tip 1 deri, kemik ve tendonlarda, tip 2 kırıldak dokuda ve tip 3 genç derilerde bulunurken; çok daha düşük miktarlardaki diğer kollajen tipleri ise organlara özgüdür (10).

Kollajen diğer proteinler gibi primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner yapıya sahiptir. Tip 1 kollajenin primer yapısı, zincir şeklinde bağlanmış 1014 tane aminoasit içermektedir. Kollajenin yapısında en fazla bulunan aminoasit glisindir (%33). Prolin ve hidroksiprolin ise aminoasit bileşiminin %22'sini oluşturmaktadır (11). Tip 1 kollajenin primer yapısı, üçlü heliks yapıdaki üç alfa zincirinden oluşmaktadır. Alfa zincirleri Gly-X-Y aminoasit sekanslarının sürekli tekrarlarından oluşmaktadır. Sekanslarda gösterilen X ve Y ifadeleri genellikle prolin ve hidroksiprolin aminoasitleridir (7, 10). Primer yapı içerisine düzenli bir şekilde yerleşen Gly-Pro-Hyp dizini kollajenin sekonder yapısından sorumludur (11).

Sekonder yapı, alfa zincirlerinin her birinin bir turda üç aminoasit bulunduracak şekilde dönmesiyle meydana gelmektedir. Kollajen üçlü heliks yapısı, esas olarak karbonil ve amin grupları arasındaki zincir içi hidrojen bağlarının oluşumu ile meydana gelmektedir. Yapının Pro-Hyp bakımından zengin bölgelerindeki pirolidin iminoasidinin toplam içeriği ile orantılı olarak polipeptit yapının dönmesi sınırlanmakta ve üçlü heliks yapının stabilitesine katkı sağlamaktadır (12). Özellikle hidroksiprolin aminoasidi, yapısında bulunan hidroksil gruplarının hidrojen bağlama yeteneği sayesinde stabilizasyonda önemli rol oynamaktadır. Aldehit türevlerinin yanı sıra büyük bir kısmı Lys ve Hyl aminoasitlerinden oluşan ve telopeptit (15-26 aminoasit) olarak adlandırılan C- ve N- terminal bölgeleri ise üçlü heliks yapı meydana getirmemektedir (10). Sekonder yapıdaki üç alfa zincirinin birbiri etrafında bükülmesiyle elde edilen ip şeklindeki tersiyer yapı, kollajen dokusunun temel yapı taşıdır. Kuaterner yapı ise, yük dağılımına bağlı olarak kollajen yapı taşının kıvrılmasıyla oluşmaktadır.

Kollajen lifleri bağ dokusunda serbest ya da demet şeklinde bulunabilmektedir. Deri ve kemik gibi dokular, kollajen liflerinin kovalent bağlarla çapraz

bağlanması sonucunda şekillenmektedir. Bağ dokusunun tipine bağlı olarak kollajen lifleri ağ şeklinde (deri) ya da paralel bir yapıya (tendon ve ligament) sahip olabilmektedir. Ağ yapıya sahip düzensiz bir bağ dokusu olan derinin büyük bir kısmını tip 1 kollajeni ve daha az bir kısmını ise tip 3 kollajeni oluşturmaktadır (10, 13). Ayrıca, kollajen bir glikoprotein olduğundan yapısında hidroksil gruplarına bağlı olarak galaktoz ve glukozilgalaktoz gibi çeşitli karbonhidrat birimleri de bulunmaktadır.

### JELATİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Jelatin; %51 karbon, %25 oksijen, %17 azot ve %7 hidrojen moleküllerinden oluşmaktadır. Jelatinin kimyasal bileşiminin %85-92'ini kollajen proteini ve geri kalan kısmını ise mineraller ve kurutma sonrasında kalan nemden oluşturmaktadır (4). Kollajen proteinin toplam 20 aminoasitten oluştuğu ve insan beslenmesi için esansiyel olan aminoasitleri içerdiği bilinmektedir.

Jelatinin aminoasit kompozisyonu türe özgüdür (3, 14, 15). Jelatinin yüksek oranda glisin, prolin, hidroksiprolin ve alanin aminoasitlerini içerdiği bilinmektedir (16). Bir çalışmada Tip 1 jelatini olarak tanımlanan zebra balığı jelatininin esansiyel aminoasitlerin tümünü içerdiği ve baskın aminoasidinin glisin olduğu tespit edilmiştir (1). Yapılan başka bir çalışmada domuz derisi jelatininde sistein aminoasidine rastlanılmasa da; bu aminoasidin özellikle tip 3 kollajeninde (deri jelatininde) bulunduğu bildirilmiştir (15, 17). Ayrıca, kollajenin yapısında metiyonin çok az düzeyde bulunduğu ve triptofan aminoasidinin olmadığı bilinmektedir. Jelatin hem hidrofilik hem de hidrofobik aminoasitleri içermesi nedeniyle ampifilik özellik göstermektedir. Bu özelliği

sayesinde jelatin su-yağ ara yüzeyinde adsorplanarak polimerik bir ağ yapısı oluşturmaktadır (18).

Jelatin üretiminde kollajen yapısındaki kovalent bağların kontrollü kısmi hidrolizasyonunun yanı sıra ideal molekül ağırlığı dağılımı da hedeflenmektedir. Jelatinin molekül ağırlığı dağılımı hidroliz işleminin tipine ve yoğunluğuna bağlıdır. Kollajen alfa zincirlerinin molekül ağırlığı 110000 g/mol'dür. Jelatinde ise alfa zincirlerindeki kovalent bağların parçalanması ile oluşan beta ve gama zincirleri sırasıyla 200000 ve 300000 g/mol molekül ağırlığına sahiptir. Farklı jelatin tiplerinin molekül ağırlığı dağılımı 10000-400000 g/mol aralığında değişmektedir. Jelatin üretimi sırasında peptitlerin hidrolize olmasına bağlı olarak ürünün molekül ağırlığı dağılımı değişmektedir. Örneğin jelatin ekstraksiyonunda pepsinin kullanılması düşük molekül ağırlıklı peptitlerin miktarını arttırmaktadır (7, 17, 19-21).

Belirli bir uygulamada kullanılacak jelatinin kalitesi çözünürlük, renk, koku ve tat gibi fizikokimyasal özelliklerinin dışında reolojik özelliklere bağlıdır. Jel kuvveti ve termal kararlılık (jelleşme ve erime sıcaklıkları) gibi reolojik özellikler jelatinin ticari kalitesini en iyi şekilde ifade etmektedir. Jel kuvveti ve termal kararlılık; jelatinin aminoasit kompozisyonu ve molekül ağırlığı dağılımına bağlı olarak değişmektedir (12). Farklı kaynaklardan ekstrakte edilen jelatinlerin jel kuvveti, jelleşme sıcaklığı ve erime sıcaklığı değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Bloom değeri olarak da bilinen jel kuvveti, jelatinin sertliğinin ve dayanıklılığının bir ölçüsü olup jelatin bileşenlerinin molekül ağırlığını ifade etmektedir. Jelatinin jel kuvveti genellikle 30 ile 300 bloom aralığında değişmektedir (<150 düşük bloom, 150-220 orta bloom ve 220-300 yüksek

Çizelge 1. Farklı kaynaklardan ekstrakte edilen jelatinlerin jel kuvveti, jelleşme sıcaklığı ve erime sıcaklığı değeri

Jelatin kaynağı	Jel kuvveti (g)	Jelleşme sıcaklığı (°C)	Erime sıcaklığı (°C)	Kaynak
Ton balığı derisi	167	15	22.5	49
Sığır derisi	211	20	30	49
Sazan balığı derisi	30-76	-	23.2-27.2	50
Tatlısu çipurası derisi	385	-	27.77	51
Levrek balığı derisi	140	-	19.23	22
Levrek balığı kılçığı	130	-	19.0	22
Kırlangıç balığı kılçığı	770	16	26	52
Orfoz balığı kılçığı	787	16	25	52
Tavuk derisi	355	25	34	14
Sığır derisi	259	24	32	14
Mürekkkep balığı derisi	120-198	12.9-21.8	19.2-25.4	27
Ahtapot derisi	62-284	13.7-19.6	19.4-24.5	20
Mercan balığı pulları	126	20	26	31
Mercan balığı kılçığı	87	14-15	22-23	31
Modifiye balık derisi	211-231	-	20.5-21.9	53
Yayın balığı derisi	234	-	25.7	23
Tavuk derisi	355	21.02-27.19	32.67-36.02	54

bloom) (4). Kollajenin hidrolizi sırasında primer yapıdaki peptit bağların yıkımının önlenmesiyle, yüksek jel kuvvetine sahip jelatin üretimi mümkün olmaktadır. Yani, jelatinin yapısında daha fazla alfa zincirinin bulunması sağlanarak yüksek jel kuvvetli jelatin üretilmektedir (4, 6, 14).

### **JELATİN ÜRETİM AŞAMALARI**

Büyük ölçekli firmalar jelatin üretiminde istenilen ürün kalitesini sağlamak amacıyla hammadde olarak sığır ve domuz kollajenini kullanmaktadır. Kökenleri farklı olan bu hammaddelerin ortak yönleri, sıkı denetim altında tutulmaları ve insan tüketimine uygunluğunun onaylanmasından sonra piyasaya sunulmalarıdır.

#### **Hammadde**

Kesimhane ve et işleme tesislerinden elde edilen ve kollajenin önemli bir kaynağı olan kemiklerin büyük bir kısmı jelatin üretiminde kullanılmaktadır. Hijyenik koşullar altında kemik materyali 0.5 cm'lik küpler haline getirildikten sonra 85-90 °C'deki sıcak su içerisinde yaklaşık 30 dk güçlü bir şekilde karıştırılarak kalıntı etler ve kemik derileri uzaklaşana kadar yıkanmaktadır (22). Bu işlemin ardından kemik parçaları bir kurutucu yardımıyla kurutulur ve partikül büyüklüğüne göre sınıflandırılarak ayrı ayrı işlenmektedir. Kemikten ayrılan yağ, et ve kemik unu özellikle hayvan yeminde kullanılmak üzere yan ürün olarak işlenmektedir.

Maserasyon ya da demineralizasyon aşamasında, kemik parçaları seyreltik hidroklorik asitle (%4-6) 10-20 °C'deki zıt akımlı bir tank içinde yaklaşık bir hafta muamele edilmektedir. Böylece, kemik yapısında bulunan kalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonatın çözünmesi ve ardından çöktürme işlemi ile ayrılması sağlanmaktadır. Maserasyon işlemi tamamlandığında geriye kemik proteini kalmaktadır. Ayrıca, maserasyon işlemine gerek kalmadan basınç hidrolizi yöntemiyle de kemikten jelatin üretilmektedir. Bu yöntemde kemik parçacıklarının boyutu küçüldükçe, proses süresi kısalmış ve renk, tat, koku ve jelleşme gücü bakımından daha iyi özelliklere sahip jelatin üretilmektedir.

Sığır derisinin daha az kollajen içeren dış kısmı ve iç kısımdaki yağ tabakası uzaklaştırıldıktan sonra geriye saf kollajen içeren orta tabaka kalır ve bu tabaka jelatin üretimi için hammadde olarak kullanılmaktadır. Jelatin verimini düşürmeme amacıyla kollajen içeriği düşük olan kıllar deriden uzaklaştırılmaktadır. Daha sonra deride boyut küçültme işlemi yapılarak alkali ve asit uygulamasının homojen dağılması ve ekstraksiyonun kolaylaşması sağlanmaktadır. Domuz derisinden

jelatin üretiminde ise; deriden yağ tabakası ayrıldıktan sonra mikrobiyel bozulmanın ve kalan yağların oksidasyonunun önlenmesi amacıyla soğutma ve dondurma işlemi yapılmaktadır. Kollajen proteini içeren domuz derisinin yağ dokusu da jelatin üretimi için kullanılabilir. Ancak, üretim sırasında yağların bulanıklığa neden olması nedeniyle özel uygulamalara gerek duyulmaktadır.

Son yıllarda deri ve kemik gibi yan ürünlerin büyük bir kısmı su ürünleri işleme tesislerinden elde edilmiştir. Su ürünlerinde toplam ağırlığın %75'i işleme artıklarından ve bu artıkların %30'u da deri ve kemikten oluşmaktadır (23). Elde edilen deri ve kemiklerin yanı sıra yüzgeç, pul ve hava keseciği gibi artıklar jelatin üretiminde kullanılabilir. Günümüzde morina, mezgit, somon, istavrit, ton balığı, köpekbalığı, levrek, uskumru ve tatlısu çipurası gibi farklı balıklardan jelatin üretimi yapılmaktadır (10, 19, 24, 25). Balık jelatini memeli jelatini ile benzer fonksiyonel özelliklere sahiptir (10). Ancak, balık kollajeni memeli kollajenine kıyasla daha düşük sıcaklıklarda denatüre olmaktadır. Bu durumun balık kollajeninin daha düşük miktarda prolin ve hidroksiprolin iminoasitlerini içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (4). Ayrıca, farklı balık jelatinlerinin memeli jelatinine göre daha düşük stabilite göstermesi ve kötü reolojik özelliklere sahip olması kullanım alanlarını sınırlandırmaktadır (3, 5).

#### **Alkali ve Asit Uygulaması (Ön muamele)**

Kollajenin yapısındaki çapraz bağları genellikle kimyasal uygulaması ile parçalanmaktadır. Yüksek sıcaklık uygulaması jelatin kalitesi üzerinde olumsuz etki göstereceğinden, çapraz bağların parçalanmasında tercih edilmemektedir. Kimyasal hidroliz uygulaması, kısmi olarak meydana gelir ve seyreltik asit ve/veya alkali çözeltisi çapraz bağları parçalarken kollajen protein zincirleri bozulmadan kalmaktadır (18).

Kimyasal hidroliz uygulamasında asit ve baz kullanımına göre üretilen jelatin sırasıyla A ve B tipi olarak tanımlanmaktadır. Kollajenin jelatine dönüşümü sırasında birçok aminoasidin moleküler yapısı da değişmektedir. A ve B tipi jelatinlerin izoelektrik noktalarının farklı olmasına bağlı olarak aminoasit kompozisyonu da farklı olmaktadır. A tipi jelatinin izoelektrik noktası 7-9 aralığında değişmektedir. B tipi jelatinin izoelektrik noktası ise, doğal kollajende bulunan asparagin ve glutamin aminoasitleri asidik aminoasitlere (aspartik ve glutamik asit) dönüştüğünden 5 civarındadır (7, 18). Genellikle domuz derisinden A tipi jelatin ve daha kompleks kollajen yapısına sahip sığır derisinden ise B tipi jelatin üretilmektedir (4, 20, 26).

Endüstriyel uygulamalarda üretilecek jelatinin tipi, hammaddedeki kollajenin çapraz bağlanma derecesine göre değişmektedir. Balık derisi gibi olgunlaşmamış kollajenin çapraz bağlarının aside direnci düşük olduğundan hafif bir asit uygulama işlemi kollajenin çözünmesini sağlamaktadır (10). Yaşlı hayvanlarda yoğun bir alkali uygulaması yapılırken, genç hayvanlarda ise seyreltik asitle kısa süreli muamele yeterli olmaktadır. Domuz derilerinin yağ içeriği yüksek olduğu için sabunlaşmayı önlemek amacıyla genellikle asitle muamele yapılmaktadır. Ancak, kollajen yapısındaki kararsız peptit bağlarının hidrolizine ve dolayısıyla proteinin denatürasyonuna neden olacağından fazla asidik koşulların uygulamasından kaçınılmaktadır (5, 16). Ayrıca, sığır derilerinde kılları uzaklaştırmak amacıyla uygulanan alkali de çapraz bağların parçalanmasına katkı sağlamaktadır.

Kimyasal hidroliz işlemi enzim uygulaması ile desteklenebilir ya da enzimatik hidrolizle yer değiştirebilir. Enzimatik ekstraksiyon ile daha yüksek verimli ve istenilen fonksiyonel ve reolojik özelliklere sahip jelatin üretimi mümkün olmaktadır (27, 28). Jelatin üretiminde en çok kullanılan enzimlerden biri olan pepsin, moleküller içi ve moleküler arası kovalent çapraz bağları içeren kollajenin telopeptit bölgesindeki peptit bağlarını yıkıma uğratmaktadır (3, 4). Ahtapot derisinden jelatin ekstraksiyonunun yapıldığı bir çalışmada, pepsin enzimi uygulamasının jelatin verimini arttırdığı belirlenmiştir (20).

Jelatin üretiminde kimyasal ve enzim uygulamasının dışında ultra-yüksek basınç uygulaması da yapılabilmektedir. Ultra-yüksek basınç uygulaması ile üretilen jelatinler yüksek molekül ağırlıklı jelatinlerle benzer özellikler göstermektedir. Yapılan bir çalışmada ultra-yüksek basınç uygulaması kollajenin termostabilitesini azaltırken, jelatinleşme derecesini arttırmıştır. Aynı çalışmada, ultra-yüksek basınç uygulanan jelatinlerin geleneksel jelatinlere göre daha yüksek jel kuvveti ve bileşen içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (29).

### **Ekstraksiyon**

Jelatin farklı yöntemlerle ekstrakte edilmektedir. Geleneksel yöntemle ekstraksiyonda 50-100 °C sıcaklık aralığında jelatin kademeli olarak çözünmektedir. Ekstraksiyon işlemi boyunca çok hafif karıştırma işlemi uygulanarak daha sonra uzaklaştırması zor olan yağ emülsiyonunun oluşumu engellenmektedir. Her ekstraksiyon kademesinde % 3-7 jelatin solüsyonu üretilmektedir. Üretilen jelatinin jel kuvveti, üretim sırasında sıcaklık artışı nedeniyle polipeptit zincirlerinin parçalanmasına bağlı olarak azalmaktadır. Ayrıca,

kemik ve derinin yapısından gelen şekerler nedeniyle geleneksel yöntemde Maillard reaksiyonu sonucu daha koyu renkli jelatin elde edilmektedir (7). Bu sorun ürün renginin açılmasını sağlayan oksitleyici ve indirgeyici ağartma ajanları kullanılarak çözülebilmektedir.

Sığır jelatinini üretiminde sürekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde, devamlı olarak hammaddenin ekstraktöre girişi sağlanır ve yüksek bloom değerli, düşük viskoziteli ve açık renkli homojen özellikte jelatin üretilmektedir. Eğer, proses sonunda ekstraktör dibinde kalan kısım tekrar ısıtılırsa düşük bloom değerli jelatin elde edilmektedir.

Genellikle yüksek kalitedeki jelatinler, kollajen yapısı kısmi olarak hidroliz edilmiş ve homojen yapıdaki hammaddeden 50 °C sıcaklıkta elde edilmektedir (30). Genellikle asit ve alkali uygulaması partikül dışına içinden daha fazla etki etmektedir. Ayrıca, farklı parça büyüklüğü ve parçaların farklı yaşlardaki hayvanlardan elde edilmiş olması işlemin homojen olarak gerçekleşmesini olumsuz yönde etkilemektedir.

### **Ekstrakte Edilen Jelatinin İşlenmesi**

Ekstrakte edilen jelatin çözeltisi üreticiler tarafından farklı şekillerde saflaştırılmaktadır. Saflaştırma işlemleri başlıca; filtrasyon ve durultma, deiyonizasyon, konsantrasyon, sterilizasyon, kurutma ve paketleme basamaklarından oluşmaktadır (22, 28, 31, 32).

### **JELATİNİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ**

Diyet proteinler sindirim sisteminde, gıdanın işlenmesi sırasında ya da fermantasyonla parçalanarak sağlığa yararlı etki gösteren biyoaktif peptitlere dönüşebilmektedir. Yapılan bazı *in vitro* araştırmalar, jelatinden elde edilen peptitlerin antioksidan, antihipertansif/ACE inhibitör aktivite, antimikrobiyal, bağışıklık sistemi düzenleyici, mineral bağlayıcı, yağ azaltıcı ve kriyoprotektan özellikleri sayesinde vücut sağlığı üzerine yararlı etki gösterdiğini bildirmiştir (4, 10, 31, 33-35).

Genellikle jelatin ve kollajen türevi hidrolizatlar enzimatik proteoliz ile elde edilmektedir. Tripsin, kimotripsin, pepsin, alkalaz, properaz E, pronaz, kollajenaz, bromelin ve papain hidrolizatlar ve peptitlerin üretiminde kullanılan ticari enzimlerdir. Balık derisi ve kemiğinden biyoaktif hidrolizat elde etmek amacıyla bu enzimlerin dışında balık iç organlarından elde edilen enzimatik ekstraktlar da kullanılmaktadır. Proteazların spesifikliği, serbest aminoasit kompozisyonunu ve peptitlerin miktar ve aminoasit dizilimini etkilemektedir (10, 36).

Peptitlerin antioksidan etkisi farklı mekanizmalara dayanmaktadır; biyoaktif peptitler lipid



peroksidasyonunu engellemekte, serbest radikalleri süpürmekte ve metal iyonları ile intereaksiyona girmektedir (24, 37). Peptitlerin aminoasit kompozisyonu, yapısı, molekül ağırlığı ve hidrofobikliği antioksidan özelliğini etkilemektedir (38, 39, 33, 34). Peptitlerin hidrofobik aminoasit içeriği arttıkça, yağda çözünürlükleri ve dolayısıyla antioksidan etkileri artmaktadır (10). Buna ek olarak, peptit molekül ağırlığı azaldıkça da antioksidan aktivite artmaktadır (40).

Karnjanapratum ve Benjakul (41) dikenliçütre balığının derisinden glisil endopeptidaz enzimi kullanılarak elde edilen jelatin hidrolizatlarının kriyoprotektan özellik gösterdiğini belirlemiştir. Enzim uygulamasının yapıldığı başka bir çalışmada ise; mercan balığı pullarına ait jelatinlerin esperaz (serin tipi proteaz) enzimi ile hidrolizasyonundan sonra oluşan peptit fraksiyonlarının (molekül ağırlığı 3kDa'dan düşük) yüksek ACE inhibitörü aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (31). Çalışmada da belirlendiği gibi ACE inhibitörü aktivitesine sahip peptitler genellikle düşük molekül ağırlıklıdır. ACE inhibitörleri genellikle üçlü C-terminal pozisyonlarının her birinde hidrofobik aminoasit kalıntılarını içermektedir. Kollajen ve jelatin hidrolizat ve peptitlerinin yapısındaki Pro miktarı ve hidrofobik aminoasit konsantrasyonu arttıkça ACE inhibitörü aktivitesi artmaktadır (10).

Bir biyoaktif peptitin antimikrobiyal özelliği; aminoasit kompozisyonuna, dizilimine, molekül ağırlığına ve bakteri tipine bağlı olarak değişmektedir (42). Hidrofilik karakterdeki aminoasitler peptitlerin hücre duvarından geçmesine izin vermektedir. Peptitlerin aktivitesi, bakteri dış membranın parçalanmasını takiben bakteriyel sitoplazmik membran ile etkileşimine bağlıdır (10, 43).

Jelatin hidrolizatları ya da jelatinden türetilmiş peptitlerin antidiyabetik, antidepresyon ve anti-Alzheimer gibi fizyolojik fonksiyonları da bulunmaktadır. Sila ve ark. (12) karakeçi balığı jelatinini çeşitli proteaz enzimleri ile parçaladıktan sonra elde ettikleri hidrolizatların biyolojik aktivitelerini değerlendirmiştir. Çalışmada, dipeptidil peptidaz-IV ve prolin endopeptidaz doğal inhibitörleri için hidrolizatların iyi bir kaynak olduğu ve bu hidrolizatların nöropatolojik bozuklukların ve tip 2 diyabetin tedavisinde diyet katkı maddeleri olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Başka bir çalışmada ise, domuz derisi jelatininden hidrolize edilen ve prolin içeren peptitin dipeptidil peptidaz-IV inhibitör aktivitesi belirlemiştir (44).

Yapılan diğer *in vivo* çalışmalarda da, jelatin ve kollajen peptitlerin biyolojik aktivitesi doğrulanmıştır.

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda, jelatin ve kollajen hidrolizatlarının lipit emilimini ve metabolizmasını düzenlediği (45), proinflatuar sitokin üretimini azalttığı (46), kan basıncını düşürdüğü (47) ve eklem hastalıklarını iyileştirdiği (48) belirlenmiştir.

## SONUÇ

Gıda endüstrisinde özellikle helal ve kosher gıdalar için yeni jelatin kaynaklarına talep artmaktadır. Jelatinin jel kuvveti, viskozite, erime ve kaynama noktası gibi reolojik özellikleri molekül ağırlığı ve aminoasit kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Ekstraksiyon işleminin yüksek sıcaklıkta ve uzun süre gerçekleştirilmesiyle yüksek verimli, fakat zayıf jel kuvvetine sahip jelatin elde edilebilmektedir. Diğer taraftan farklı kaynaklardan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile alfa ve beta zincir içeriği yüksek ve yüksek jel kuvvetli jelatin üretimi mümkündür. Yakın gelecekte, optimum proses koşulları sağlanarak farklı kaynaklardan maksimum verim ve kalitede jelatin üretimi hedeflenmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Ktari N, Jridi M, Nasri R, Lassoued I, Ayed HB, Barkia A, Nasri M. 2014. Characteristics and functional properties of gelatin from zebra blenny (*Salaria basilisca*) skin. *LWT - Food Sci Technol*, 58, 602-608.
2. Boran G. 2011. Bir gıda katkısı olarak jelatin: Yapısı, özellikleri, üretimi, kullanımı ve kalitesi. *GIDA*, 36, 97-104.
3. Lassoued I, Jridi M, Nasri R, Dammak A, Hajji M, Nasri M, Barkia A. 2014. Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. *Food Hydrocoll*, 41, 309-318.
4. Nur Hanani ZA, Roos YH, Kerry JP. 2014. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *Int J Biol Macromol*, 71, 94-102.
5. Niu L, Zhou X, Yuan C, Bai Y, Lai K, Yang F, Huang Y. 2013. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. *Food Hydrocoll*, 33, 336-341.
6. Shyni K, Hema GS, Ninan G, Mathew S, Joshy CG, Lakshmanan PT. 2014. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food Hydrocoll*, 39, 68-76.



7. Duconseille A, Astruc T, Quintana N, Meersman F, Sante-Lhoutellier V. 2015. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocoll*, 43, 360-376.
8. Tekle Ş, Sağdıç O, Nursaçan Ş, Yetim H, Erdem M. 2013. Ülkemizde ve Dünyada Helal Gıda Hususunda Karşılaşılan Problemler. *Eur J Sci Technol*, 1, 1, 1-6.
9. Anonim 2014. United Nations Commodity Trade Statistics Database <http://comtrade.un.org/db/dqBasicQueryResults.aspx?px=H2&cc=3503&r=792> (Accessed 11.12.2014)
10. Gómez-Guillén MC, Giménez B, López-Caballero ME, Montero MP. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll*, 25, 1813-1827.
11. Okuyama K, Miyama K, Mizuno K, Bachinger HP. 2012. Crystal structure of (Gly-Pro-Hyp)<sub>9</sub>: implications for the collagen molecular model. *Biopolymers*, 97, 607-616.
12. Sila A, Martinez-Alvarez O, Haddar A, Gómez-Guillén MC, Nasri M, Montero MP, Bougateg A. 2015. Recovery, viscoelastic and functional properties of Barbel skin gelatine: Investigation of anti-DPP-IV and anti-prolyl endopeptidase activities of generated gelatine polypeptides. *Food Chem*, 168, 478-486.
13. Bruckner P. 2010. Suprastructures of extracellular matrices: paradigms of functions controlled by aggregates rather than molecules. *Cell Tissue Res*, 339, 7-18.
14. Sarbon NM, Badii F, Howell NK. 2013. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocoll*, 30, 143-151.
15. Farris S, Song J, Huang Q. 2009. Alternative reaction mechanism for the crosslinking of gelatin with glutaraldehyde. *J Agr Food Chem*, 58, 998-1003.
16. Nikoo M, Benjakul S, Bashari M, Alekhorshied M, Cissouma AI, Yang N, Xu X. 2014. Physicochemical properties of skin gelatin from farmed Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) as influenced by acid pretreatment. *Food Biosci*, 5, 9-26.
17. Schrieber R, Gareis H. 2007. Theory and Industrial Practice. In: *Gelatine Handbook*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 335p.
18. Hattrem MN, Molnes S, Haug IJ, Draget KI. 2015. Interfacial and rheological properties of gelatin based solid emulsions prepared with acid or alkali pretreated gelatins. *Food Hydrocoll*, 43, 700-707.
19. Silva RSG, Bandeira SF, Pinto LAA. 2014. Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia (*Rachycentron canadum*). *LWT - Food Sci Technol*, 57, 580-585.
20. Jridi M, Nasri R, Ben Slama-Ben Salem R, Lassoued I, Barkia A, Nasri M, Souissi N. 2014. Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from the skin of octopus (*Octopus vulgaris*). *LWT - Food Sci Technol*, xxx, 1-9.
21. Guo L, Colby RH, Lusignan CP, Whitesides TH. 2003. Kinetics of triple helix formation in semidilute gelatin solutions. *Macromolecules*, 36, 9999-10008.
22. Koli JM, Basu S, Nayak BB, Patange SB, Pagarkar AU, Gudipati V. 2012. Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*). *Food Bioprod Process*, 90, 555-562.
23. Alfaro AT, Biluca FC, Marquetti C, Tonial IB, de Souza NE. 2014. African catfish (*Clarias gariepinus*) skin gelatin: Extraction optimization and physical-chemical properties. *Food Res Int*, 65, 416-422.
24. Yang JI, Liang WS, Chow CJ, Siebert KJ. 2009. Process for the production of tilapia retorted skin gelatin hydrolysates with optimized antioxidative properties. *Process Biochem*, 44, 1152-1157.
25. Gökçin M. 2013. Uskumru (*Scomber scombrus*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) kemiklerinden jelatin eldesi ve karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 76 s.
26. Coppola M, Djabourov M, Ferrand M. 2012. Unified phase diagram of gelatin films plasticized by hydrogen bonded liquids. *Polymer*, 53, 1483-1493.
27. Jridi, M., Nasri, R., Lassoued, I., Souissi, N., Mbarek, A., Barkia, A., Nasri, M. 2013. Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from alkali-pretreated skin of cuttlefish (*Sepia officinalis*) using pepsin. *Food Res Int*, 54, 1680-1687.
28. Karnjanapratum S, Benjakul S. 2014. Glycyl endopeptidase from papaya latex: Partial purification and use for production of fish gelatin hydrolysate. *Food Chem*, 165, 403-411.
29. Chen L, Ma L, Zhou M, Liu Y, Zhang Y. 2014. Effects of pressure on gelatinization of collagen and properties of extracted gelatins. *Food Hydrocoll*, 36, 316-322.
30. Sinthusamran S, Benjakul S, Kishimura H. 2014. Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (*Lates calcarifer*) as influenced by extraction conditions. *Food Chem*, 152, 276-284.
31. Akagündüz Y, Mosquera M, Giménez B, Alemán A, Montero P, Gómez-Guillén MC. 2014. Sea bream bones and scales as a source of gelatin and ACE inhibitory peptides. *LWT - Food Sci Technol*, 55, 579-585.

32. Mariod AA, Adam HF. 2013. Review: gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 12(2), 135-147.
33. Nikoo M, Benjakul S, Ehsani A, Li J, Wu F, Yang N, Xu B, Jin Z, Xu X. 2014. Antioxidant and cryoprotective effects of a tetrapeptide isolated from Amur sturgeon skin gelatin. *J Funct Foods*, 7, 609-620.
34. Wang L, Liang Q, Chen Q, Xu J, Shi Z, Wang Z, Liu Y, Ma H. 2014. Hydrolysis kinetics and radical-scavenging activity of gelatin under simulated gastrointestinal digestion. *Food Chem*, 163, 1-5.
35. Sun L, Zhang Y, Zhuang Y. 2013. Antiphotobleaching effect and purification of an antioxidant peptide from tilapia (*Oreochromis niloticus*) gelatin peptides. *J Funct Foods*, 5, 154-162.
36. Phanturat P, Benjakul S, Visessanguan W, Roytrakul S. 2010. Use of pyloric caeca extract from bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) for the production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. *LWT-Food Sci Technol*, 43(1), 86-97.
37. Weng W, Tang L, Wang B, Chen J, Su W, Osako K, Tanaka M. 2014. Antioxidant properties of fractions isolated from blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin hydrolysates. *J Funct Foods*, 11, 342-351.
38. Kim SE, Mendis E. 2006. Bioactive compounds from marine processing byproducts: a review. *Food Res Int*, 39, 383-393.
39. Li B, Chen F, Wang X, Ji BP, Wu YN. 2007. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chem*, 102(4), 1135-1143.
40. Gómez-Guillén MC, López-Caballero ME, López de Lacey A, Alemán A, Giménez B, Montero P. 2010. Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. In: *Sea by-products as a real material: New ways of application*, Le Bihan E, Koueta N (Eds.), Chapter 7, Transworld Research Network Signpost, Kerala, India, pp. 89-115.
41. Kamjanapratum S, Benjakul S. 2015. Cryoprotective and antioxidative effects of gelatin hydrolysate from unicorn leatherjacket skin. *Int J Refrig*, 49, 69-78.
42. Di Bernardini R, Harnedy P, Bolton D, Kerry J, O'Neill E, Mullen AM, Hayes M. 2011. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chem*, 124, 1296-1307.
43. Arfat YA, Benjakul S, Prodpran T, Sumpavapol P, Songtipya P. 2014. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. *Food Hydrocoll*, 41, 265-273.
44. Huang SL, Hung CC, Jao CL, Tung YS, Hsu KC. 2014. Porcine skin gelatin hydrolysate as a dipeptidyl peptidase IV inhibitor improves glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Funct Foods*, 11, 235-242.
45. Saito M, Kiyose C, Higuchi T, Uchida N, Suzuki H. 2009. Effect of colagen hydrolysates from salmon and trout skins on the lipid profile in rats. *J Agr Food Chem*, 57(21), 10477-10482.
46. Zhang Y, Kouguchi T, Shimizu K, Sato M, Takahata Y, Morimatsu F. 2010. Chicken collagen hydrolysate reduces proinflammatory cytokine production in C57BL/6.KOR-ApoEshl Mice. *J Nutr Sci Vitaminol*, 56, 208-210.
47. Cheng FY, Wan TC, Liu YT, Chen CM, Lin LC, Sakata R. 2009. Determination of angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides in chicken leg bone protein hydrolysate with alcalase. *Anim Sci J*, 80, 91-97.
48. Beynen AC, van Geene HW, Grim HV, Jacobs P, van der Vlerk T. 2010. Oral administration of gelatin hydrolysate reduces clinical signs of canine osteoarthritis in a double blind, placebo-controlled trial. *Am J Anim Vet Sci*, 5(2), 95-99.
49. Gómez-Estaca J, Montero P, Fernández-Martín F, Gómez-Guillén MC. 2009. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. *J Food Eng*, 90, 480-486.
50. Duan R, Zhang J, Xing F, Konno K, Xu B. 2011. Study on the properties of gelatins from skin of carp (*Cyprinus carpio*) caught in winter and summer season. *Food Hydrocoll*, 25, 368-373.
51. Jamilah B, Tan KW, Umi Hartina MR, Azizah A. 2011. Gelatins from three cultured freshwater fish skins obtained by liming process. *Food Hydrocoll*, 25, 1256-1260.
52. Shakila RJ, Jeevithan E, Varatharajakumar A, Jeyasekaran G, Sukumar D. 2012. Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper in comparison with mammalian gelatin. *LWT - Food Sci Technol*, 48, 30-36.
53. Mohtar NF, Perera CO, Hemar Y. 2014. Chemical modification of New Zealand hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skin gelatin and its properties. *Food Chem*, 155, 64-73.
54. Sarbon NM, Badii F, Howell NK. 2015. The effect of chicken skin gelatin and whey protein interactions on rheological and thermal properties. *Food Hydrocoll*, 45, 83-92.

## 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.